



ISSN 1580-4003

THE SCIENTIFIC JOURNAL OF THE VETERINARY FACULTY UNIVERSITY OF LJUBLJANA

SLOVENIAN VETERINARY RESEARCH

SLOVENSKI VETERINARSKI ZBORNIK

Supplement 23

SLOVENSKI VETERINARSKI KONGRES

Volume 56 Supplement 23

Slov Vet Res • Ljubljana • 2019 • Vol 56 • Supplement 23 • 1-260

ISSN 1580-4003

THE SCIENTIFIC JOURNAL OF THE VETERINARY FACULTY UNIVERSITY OF LJUBLJANA

SLOVENIAN VETERINARY RESEARCH

SLOVENSKI VETERINARSKI ZBORNIK

Supplement 23

Volume **56** Suppl **23**

Slov Vet Res • Ljubljana • 2019 • Vol 56 • Supplement 23 • 1-260

The Scientific Journal of the Veterinary Faculty University of Ljubljana

SLOVENIAN VETERINARY RESEARCH
SLOVENSKI VETERINARSKI ZBORNIK
Supplement 23

7th Slovenian Veterinary Congress
7. Slovenski veterinarski kongres
Portorož, Slovenia
3 - 6 April 2019

Editor in Chief / glavni in odgovorni urednik: Gregor Majdič
Co-Editor / sourednik: Modest Vengušt
Technical Editor / tehnični urednik: Matjaž Uršič
Assistants to Editor / pomočnici urednika: Valentina Kubale Dvojmoč, Klementina Fon Tacer

Programski odbor / Program Committee
Predsednik / President: Gregor Majdič, Veterinarska fakulteta Univerza v Ljubljani
Člani / Members: Alenka Dovč, Mitja Gombač, Urška Jamnikar Ciglencečki, Matjaž Ocepek, Darja Pavlin, Mateja Stvarnik, Modest Vengušt, Milka Vrecl Fazarinc, Veterinarska fakulteta Univerza v Ljubljani, Urška Kos, UVHVVR, Ožbalt Podpečan, Veterinarska zbornica

Organizacijski odbor / Organising Committee
Predsednik / President: Andrej Kirbiš, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Člani / Members: Urška Jamnikar Ciglencečki, Luka Milčinski, Nataša Tozon, Bojan Zorko, Veterinarska fakulteta Univerza v Ljubljani, Milan Matko, Slovensko združenje veterinarjev za male živali, Ožbalt Podpečan, Veterinarska zbornica Slovenije, Janez Posedi, UVHVVR

Prispevki niso lektorirani

Address: Veterinary Faculty, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenia
Naslov: Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenija
Tel.: +386 (0)1 47 79 100, 47 79 129, Fax: +386 (0)1 28 32 243
E-mail: slovetres@vf.uni-lj.si

Sponsored by the Slovenian Research Agency
Sofinancira: Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije

ISSN 1580-4003

Printed by / tisk: Milcom d. o. o., Ljubljana
Indexed in / indeksirano v: Agris, Biomedicina Slovenica, CAB Abstracts, IVSI Ulrich's International Periodicals Directory, Science Citation Index Expanded, Journal Citation Reports/Science Edition
<http://www.slovetres.si/>

Organizatorji:

Univerza
v Ljubljani *Veterinarska*
fakulteta



SZVMŽ



**Veterinarska zbornica
Slovenije**



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA KMETIJSTVO, GOZDARSTVO IN PREHRANO

UPRAVA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA VARNO HRANO,
VETERINARSTVO IN VARSTVO RASTLIN

Petek, 5. april 2019

9.00-9.30	Registracija			
9.00-9.30	Otvoritev			
9.30-10.30	Plenarno predavanje Sara Galac: Cushingov sindrom skozi čas			
10.30-11.00	Predavanje pokrovitelja - Krka Sabina S. Pipan: Srbež pri mački - od simptoma do diagnoze			
11.00-11.30	Odmor za kavo			
11.30-13.00	Varna hrana in krma Moderator: Urška Jamnikar Ciglencečki/Breda Jakovac Strajn Milorad Radaković: Does Vets' Work Benefit Wider Society? Mila Eeckhout: Insects as novel protein source for food and feed Zlatka Bajc: Tetradotoksin - novo tveganje na področju morskih biotoksinov v školjkah tudi v Evropi Janja Babič: Mikotoksini plesni iz rodu <i>Alternaria</i> v pšenici in tritikali	Psi in mačke Moderator: Alenka Seliškar Christopher Sturgess (Royal Canin): FIC Christopher Sturgess (Royal Canin): Urolithiasis in cats	Infekcijske bolezni Moderator: Matjaž Ocepek Nicola Decarro: Hobi-like pestivirus Brigita Slavec: Pojav virusov visoko patogene aviarne influenze podtipa H5 v letu 2017 v Sloveniji Mihajlo Erdeljan: Comparative analysis of methods for the diagnosis of influenza in horses Olga Zorman Rojs: Prvi pojavi okužb z virusom infektivnega laringotraheitisa pri perutnini v Sloveniji	Bujatrika Moderator: Ožbalt Podpečan Bart Pardon: Concepts and tools to rationalize antimicrobial use for calf diseases Bart Pardon: Infectious bronchopneumonia 2020: O2 for diagnostics and personalized advice
13.00 – 14.30	Kosilo			

14.30 – 16.00	Prašiči Moderator: Marina Štukelj/ Gorazd Vengušt Klaus Depner: Quo vadis African Swine Fever? Paulius Bušauskas: African swine fever in wildlife: lessons learned Jan Plut: Preliminarni rezultati poskusa peroralnega prekuževanja in aklimatizacije mladice s homolognim sevom virusa prašičjega reprodukcijskega in respiratornega sindroma z uporabo bombažnih vrvi Ivan Toplak: Afriška prašičja kuga se še naprej širi v vzhodnem delu Evrope: pregled najpomembnejših načinov za prenos virusa	Psi in mačke Moderator: Darja Pavlin Christopher Sturgess (Royal Canin): Urinary tract infections in dogs and cats Sara Galac: Novel forms of canine Cushing's syndrome	Čebele in ribe Moderator: Mitja Gombač Ivana Tlak Gajger: Naloge veterinarjev v čebelarstvu Vlasta Jenčič: Uporaba hmeljnih kislin za ekološko zatiranje varoj Rosvita Sitar: Prvi izbruh virusne encefalopatije in retinopatije pri gojenih brancinih (Dicentrarchus labrax) v Sloveniji Metka Pislak Ocepek: Primerjava prisotnosti nekaterih povzročiteljev bolezni pri medonosnih čebelah in čmrljih v Sloveniji	Upravno veterinarstvo Moderator: Breda Hrovatin Urška Kos: Pravna ureditev skrbi za zapuščene živali v nekaterih državah članicah EU: posledice za dobrobit psov in mačk Marko Potočnik: Primerjava različnih nacionalnih informacijskih sistemov za spremljanje in poročanje o pojavih bolezni živali Marko Cotman: Določanje napačno deklariranih ribjih proizvodov v Sloveniji z metodo molekularnega barcodinga Marko Oman: Mikročipiranje in registracija mačk Tanja Knific: Analiza poslovanja slovenskih veterinarskih podjetij Vojteh Cestnik: Živali, bolezni in veterinarska služba v 1. svetovni vojni
---------------	---	--	---	--

16.00 – 16.30	Odmor za kavo
16.30 – 17.30	Plenarno predavanje John Prescott: No magic bullets. Will One Health save us? The challenges and politics of antimicrobial stewardship
17.30 – 18.30	Skupščina veterinarske zbornice
19.00	Slavnostna večerja Koncert Mie Žnidarič in Steve Klink Tria, podelitev Zavrnikovega priznanja in nagrade, podelitev Bleiweisovega priznanja

Sobota, 6. april 2019

9.00 – 10.30	Patologija Moderator: Mitja Gombač Carlo Cantile: Approach to diagnostic neuropathology Tanja Švara: Redko ugotovljene glivične in parazitarne bolezni pri psih in govedu v Sloveniji Jana Brankovič: Primer hondrodisplazije pri abortiranem žrebetu Špela Vidrih: Izbruh salmoneloze pri domačih prašičih	Psi in mačke Moderator: Darja Pavlin Federico Fracassi: Treatment of diabetes mellitus in dogs and cats Federico Fracassi: Monitoring diabetes In dogs and cats	Mikrobiologija Moderator: Matjaž Ocepek Brian Markey: Veterinary microbiology for the clinician Bojan Papić: Preiskave izbruhov listerioze pri živalih s sekvenciranjem celotnih genomov Matic Pavlica: Izolacija avtohtonega probiotika iz peroralne mikrobiote zdravih psov. Jana Avberšek: Ali je bolnišnica za male živali vir okužb psov s proti meticilinu odporno bakterijo Staphylococcus pseudintermedius (MRSP)?	Eksotične živali Moderator: Alenka Dovč Joško Račnik: Kirurški posegi pri majhnih živalih – klinični primeri Maja Čonč: Razvoj protitelesne imunosti po cepljenju belega dihurja (Mustela putorius furo) s cepivom proti pasji kugi, registriranim za pse Valentina Kubale Dvojmoč: Razlike in posebne histološke strukture kože pri različnih skupinah plazilcev Nina Mlakar Hrzenjak: Računalniško tomografska diagnostika facialnih abscesov pri kuncih
--------------	--	--	---	---

10.30 – 11.00	Odmor za kavo			
11.00 – 12.30	Konji Modest Vengušt John Prescott: Outpacing the resistance tsunami: Antimicrobial stewardship in equine medicine Petra Kramarič: Klinični primer multinodularne fibroze pljuč pri konju Irena Zdovc: Kužni metritis kopitarjev zahteva stalno pozornost Maja Zakošek Pipan: Infekciозni metritis kobil (CEM) – dekolonizacija žrebcev in zdravljenje kobil	Psi in mačke Moderator: Darja Pavlin Miguel Campos: Making the diagnosis of thyroid disease in dogs and cats Miguel Campos: Feline hyperthyroidism: treatment options and follow-up	Raziskave v veterinarstvu Moderator: Milka Vrecl Fazarinc/Gregor Majdič Andre Ganswindt: The power of poo – Non-invasive endocrine monitoring of reproduction and stress in wild animals Tomaž Snoj: Ugotavljanje hormonskega stanja živali z določanjem koncentracije hormonov v dlaki Blanka Premrov Bajuk: Nevarnost alergije na beljakovine mokaev pri psih Maša Rutar: Primerjava lastnosti internalizacije GPCR receptorjev BILF, kodiranih v prašičjih in humanem herpesvirusnem genomu Alenka Seliškar: Translacijske raziskave na prašičjih	Dobrobit živali Moderator: Urška Kos Rebecca Garcia Piniloss: One welfare Jože Starič: Ocena dobrobiti na večjih farmah krav molznic v Sloveniji s protokolom Welfare Quality Assessment Protocol in analizo vsebnosti kortizola v dlaki Katja Skulj: Vpliv različnih metod rokovanja na zmanjšanje stresa pri laboratorijskih miših Olga Zorman Rojs: Dobrobit v rejah kokoši nesnic v Sloveniji Manja Zupan: Poškodbe grodnice in vpliv na počutje kokoši nesnic
12.30 – 14.00	Kosilo			

14.00 – 15.30	Prostoživeče živali Moderator: Urška Kuhar Peter Hostnik: Zaključna faza izkoreninjanja stekline znotraj Evropske Unije Joško Račnik: Detekcija virusa Zahodnega Nila pri sivi vrani (<i>Corvus cornix</i>) v Sloveniji Gorazd Vengušt: Ugotavljanje okužbe divjih prežvekovalcev z virusom Schmallenberg v Sloveniji	Psi in mačke Moderator: Sara Suhadolc Scholten Relja Beck (Bayer): Canine Vector- Borne Diseases (CVBD) on the road Sonja Prpar Mihevc: Kognitivna motnja pri psih – kaj se dogaja v pasjih možganih Ana Rejec: Pospešeni kemoradioterapevtski protokol obsevanja za zdravljenje ustnega ploščatoceličnega karcinoma pri 9 mačkah Aleksandra Slapšak: Vpliv načina poroda na pokazatelje stresa pri novorojenih psih in njihovo preživetje	Predstavitve študentskih projektov “Po kreativni poti do znanja” Moderator: Valentina Kubale, Alenka Nemec Svete Valentina Kubale, Peter Omejc: Projekti Po kreativni poti do znanja in skrb za dobro počutje eksotičnih živali Alenka Babič, Katarina Pavlin, Peter Omejc, Maša Rajšp: Kreiranje spletnih orodij za predstavitve najnovejših koristnih podatkov s področja zdravja in dobrobiti ljubiteljskih in eksotičnih živali Katja Zupančič, Špela Zgonik: Priročnik za domačo pripravo hrane psom in mačkam Ana Škorjanc, Neža Žnideršič, Ines Tekavec: Zdrav kot pes in mačka: informativni priročnik za lastnike živali in študijsko gradivo za študente veterinarstva Vladimira Erjavec, Špela Zgonik, Luka Šparaš, Rebeka Turk: Znanje za zdravje in dobro počutje psov brahicefaličnih pasem Matic Mrzdovnik, Eva Regoršek, Laura Vljaj, Anja Kalin, Lara Ravnik: Odnos slovenskih veterinarjev do bolečine in analgezije pri psih in mačkah: analiza stanja in uvedba ocenjevalnih lestvic v klinično prakso “Izvenštudijska dejavnost Dobrobit” Moderator: Valentina Kubale, Alenka Nemec Svete Barbara Pulko, Julija Herman: Delavnice v okviru razvoja podeželja – park prostoživečih živali, Vintarovci, Destrnik Žan Štokar, Anja Pečjak: Invazivne tujerodne vrste v Sloveniji	Bujatrika Moderator: Ožbalt Podpečan Dominika Peskar: Vpliv sistemskega mukolitika, prostoglandina E in stresa na viskoznost cervikalne sluzi in prehodnost zamrznjeno-odmrznjenega semena skozi maternični vrat pri ovcah Janko Mrkun: Vrednost plodnostnih parametrov krav v Sloveniji na podlagi podatkov o umetnih osemenitvah po kvartalnih letih 2010, 2016 in 2017 Maja Zakošek Pipan: Mikroelementi v semenski in krvni plazmi kot napovednik kakovosti bikovega semena po zamrzovanju Ivan Toplak: Ugotavljanje respiratornih patogenov pri govedu: nove molekularne metode omogočajo hitro in zanesljivo diagnostiko povzročiteljev pljučnic Jože Starič: Ugotavljanje povzročiteljev drisk pri teletih in vpliv zdravljenja na izločanje oocist <i>Cryptosporidium parvum</i> Ivan Toplak: Dvajset let molekularno epidemioloških študij virusa bovine virusne diareje v Sloveniji
15.30 – 16.00	Odmor za kavo			
16.00 – 17.00	Plenarno predavanje Rosie Allister: Mental health and wellbeing in the veterinary profession			

Kazalo

Plenarna predavanja.....	23
Cushing's syndrome through the time	24
Srbež pri mački – od simptoma do diagnoze	25
No magic bullets. Will One Health save us? The challenges and politics of antimicrobial stewardship.....	26
Mental health and wellbeing in the veterinary profession	27
 Vabljena predavanja	 29
Feline idiopathic cystitis (FIC).....	30
Urolithiasis in cats and dogs	31
Urinary tract infections (UTI) in dogs and cats	33
Novel forms of canine Cushing's syndrome.....	34
Treatment of diabetes mellitus in dogs and cats.....	35
Monitoring diabetes in dogs and cats.....	36
Making the diagnosis of thyroid disease	37
Feline hyperthyroidism: treatment options and follow-up.....	38
Canine Vector-Borne Diseases (CVBD) on the road.....	39
Infectious bronchopneumonia 2020: O ₂ for diagnostics and personalized advice	41
Concepts and tools to rationalize antimicrobial use in calf diseases.....	42
Kirurški posegi pri majhnih živalih – klinični primeri	43
One Welfare, why should vets care?.....	45
HoBi-like pestivirus: emergence, global spreading and clinicopathological features.....	46
Naloge veterinarjev v čebelarstvu.....	48
Veterinary Microbiology for the clinician	49
The power of poo – Non-invasive endocrine monitoring of reproduction and stress in wildlife	50
Ugotavljanje hormonskega stanja živali z določanjem koncentracije hormonov v dlaki.....	51
Does Vets' Work Benefit Wider Society?	53
Insects as novel protein source for food and feed	54
Quo vadis African Swine Fever?	55
African swine fever in wildlife: lessons learned.....	56
Outpacing the resistance tsunami: Antimicrobial stewardship in equine medicine	57

Klinični primer multinodularne fibroze pljuč pri konju	58
--	----

Kratka Predavanja..... 59

Kognitivna motnja pri psih – kaj se dogaja v pasjih možganih	60
Pospešeni kemoradioterapevtski protokol obsevanja za zdravljenje ustnega ploščatoceličnega karcinoma pri 9 mačkah	61
Vpliv načina poroda na pokazatelje stresa pri novorojenih psih in njihovo preživetje	63
Pravna ureditev skrbi za zapuščene živali v nekaterih državah članicah EU: posledice za dobrobit psov in mačk.....	64
Primerjava različnih nacionalnih informacijskih sistemov za spremljanje in poročanje o pojavih bolezni živali	66
Določanje napačno deklariranih ribjih proizvodov v Sloveniji z metodo molekularnega barcodinga.....	68
Mikročipiranje in registracija mačk	69
Analiza poslovanja slovenskih veterinarskih podjetij.....	70
Živali, bolezni in veterinarska služba v 1. svetovni vojni	71
Razvoj protitelesne imunosti po cepljenju belega dihurja (<i>Mustela putorius furo</i>) s cepivom proti pasji kugi, registriranim za pse	72
Razlike in posebne histološke strukture kože pri različnih skupinah plazilcev.....	74
Računalniško tomografska diagnostika facialnih abscesov pri kuncih.....	76
Ocena dobrobiti na večjih farmah krav molznic v Sloveniji s protokolom Welfare Quality® Assessment Protocol in merjenjem vsebnosti kortizola v dlaki	78
Vpliv različnih metod rokovanja na zmanjšanje stresa pri laboratorijskih miših	82
Dobrobit v rejah kokoši nesnic v Sloveniji	83
Poškodbe grodnice in vpliv na počutje kokoši nesnic	84
Vpliv sistemskega mukolitika, prostoglandina E in stresa na viskoznost cervikalne sluzi in prehodnost zamrznjeno-odmrznjenega semena skozi maternični vrat pri ovcah	85
Vrednost plodnostnih parametrov krav v Sloveniji na podlagi podatkov o umetnih osemenitvah po kvartalih za leta 2010, 2016 in 2017	87
Mikroelementi v semenski in krvni plazmi kot napovednik kakovosti bikovega semena po zamrzovanju	88
Ugotavljanje respiratornih patogenov pri govedu: nove molekularne metode omogočajo hitro in zanesljivo diagnostiko povzročiteljev pljučnic.....	90
Ugotavljanje povzročiteljev drisk pri teletih in vpliv zdravljenja na izločanje oocist <i>Cryptosporidium parvum</i>	93
Dvajset let molekularno epidemioloških študij virusa bovine virusne diareje v Sloveniji	97
Pojav virusov visoko patogene aviarnе influence podtipa H5 v letu 2017 v Sloveniji	100
Comparative analysis of methods for the diagnosis of influenza in horses	101
Prvi pojavi okužb z virusom infektivnega laringotraheitisa pri perutnini v Sloveniji.....	104
Uporaba hmeljnih kislin za ekološko zatiranje varoj	105
Prvi izbruh virusne encefalopatije in retinopatije pri gojenih brancinih (<i>Dicentrarchus labrax</i>) v Sloveniji.....	106
Primerjava prisotnosti nekaterih povzročiteljev bolezni pri medonosnih čebelah in čmrljih v Sloveniji.....	108

Preiskave izbruhov listerioze pri živalih s sekvenciranjem celotnih genomov.....	109
Izolacija avtohtonega probiotika iz peroralne mikrobiote zdravih psov.	110
Ali je ambulanta za male živali lahko vir okužb psov s proti meticilinu odporno bakterijo <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (MRSP)?	111
Nevarnost alergije na beljakovine mokaarjev pri psih	114
Primerjava lastnosti internalizacije GPCR receptorjev BILF, kodiranih v prašičjih in humanem herpesvirusnem genomu	116
Translacijske raziskave na prašičih.....	118
Kaj so projekti po kreativni poti do znanja in primer projekta s področja skrbi za dobro počutje eksotičnih živali	120
Kreiranje spletnih orodij za predstavitev najnovejših koristnih podatkov s področja zdravja in dobrobiti ljubiteljskih in eksotičnih živali	122
Zdrav kot pes in mačka: informativni priročnik za lastnike živali in študijsko gradivo za študente veterinarstva	124
Priročnik za domačo pripravo hrane psom in mačkam.....	126
Znanje za zdravje in dobro počutje psov brahicefaličnih pasem	128
Odnos slovenskih veterinarjev do bolečine in analgezije pri psih in mačkah: analiza stanja in uvedba ocenjevalnih lestvic v klinično prakso	130
Delavnice v okviru razvoja podeželja – park prostoživečih živali, Vintarovci, Destrnik	133
Invazivne tujerodne vrste v Sloveniji	134
Tetrodotoksin - novo tveganje na področju morskih biotoksinov v školjkah tudi v Evropi	135
Mikotoksini plesni iz rodu <i>Alternaria</i> v pšenici in tritikali	138
Preliminarni rezultati poskusa peroralnega prekuževanja in aklimatizacije mladic s homolognim sevom virusa prašičjega reprodukcijskega in respiratornega sindroma z uporabo bombažnih vrvi.....	141
Afriška prašičja kuga se še naprej širi v vzhodnem delu Evrope: pregled najpomembnejših načinov za prenos virusa.....	145
Redko ugotovljene glivične in parazitarne bolezni pri psih in govedu v Sloveniji	149
Primer hondrodisplazije pri abortiranem žrebetu	151
Izbruh salmoneloze pri domačih prašičih.....	152
Kužni metritis kopitarjev zahteva stalno pozornost	153
Infekcijski metritis kobil (CEM) – dekolonizacija žrebcev in zdravljenje kobil	156
Zaključna faza izkoreninjanja stekline znotraj Evropske Unije	157
Detekcija virusa Zahodnega Nila pri sivi vrani (<i>Corvus cornix</i>) v Sloveniji.....	160
Ugotavljanje okužbe divjih prežvekovalcev z virusom Schmallenberg v Sloveniji	162
Prispevki	163
Slikovne spremembe nadledvičnih žlez pri 40 psih.....	164
Leptospiroza pri mačkah - mit ali realnost?	168
Vsebnosti elementov v sledovih v obrokih za govedo.....	171

Določanje aktivnosti antioksidantnih encimov kot kazalcev oksidativnega stresa v vzorcih ustne tekočine in polne krvi pri prašičih	175
Ocene dobrobiti prašičev pitancev v konvencionalnih in alternativnih sistemih rej v Sloveniji	179
Uvedba dveh metod RT-PCR v realnem času za kvantifikacijo virusa akutne paralize (ABPV) in virusa deformiranih kril čebel (DWV) v preiskovanih vzorcih	183
Prisotnost šestih čebeljih virusov pri kranjskih čebelah delavkah (<i>Apis mellifera carnica</i>), vzorčenih na cvetočih travnikih	186
Določitev celotnih genomov in filogentska analiza astrovirusov pri srnah	189
Analysis of tracheal swab of clinically healthy chicken	193
Mortality rate examination of Mandarin ducklings (<i>Aix galericulata</i>)	195
Koncentracija elementov v sledovih v krmi, krvi in mleku krav molznic na območju Zgornje Mežiške Doline	197
Transport vzorcev živil - vpliv temperature in časa transporta na mikrobiološko stanje vzorcev	201
Pestrost sevov <i>Staphylococcus aureus</i> , izoliranih iz živil in brisov	204
Ugotavljanje najprimernejšega dela telesa za merjenje telesne temperature prašičev s termovizijsko kamero	208

Povzetki **211**

Tumoroza kalcinoza (<i>calcinosis circumscripta</i>) vratne hrbtenice: primer bernskega planšarskega psa s tumorozno kalcinozo v področju atlasa in okretača	212
Hranilna vrednost nekaterih komercialno pripravljenih presnih obrokov za pse	214
Sekvester roženice	215
Priprava kirurškega polja	216
Adenoleiomom maternice pri sterilizirani psici	217
Sepsa pri sesnem psičku, ki jo je povzročila večkratno odporna bakterija <i>Escherichia coli</i> (ESBL)	219
Ali imajo novorojeni psi že ob rojstvu svojo lastno mikrobioto?	221
Dva primera mukokele žolčnika pri psih	223
Neonatalna sepsa po načrtovanem carskem rezu pri psih: prenos bakterije <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> z materinim mlekom na mladičke	225
Klinično-patološke značilnosti kožnih mastocitomov psov, pomembne za napoved poteka bolezni	227
Nov način vitrifikacije pasjega semena	228
Pojavnost posameznih povzročiteljev mastitisa v kliničnih vzorcih	229
Evaluation of a protocol of Paromomycin oral administration regarding the control of neonatal cryptosporidiosis in calves	231
Naše izkušnje z levostransko zgornjo laparorumenotomijo po ljubljanski metodi in pregledna študija travmatskih retikuloperitonitisov na Kliniki za prežvekovalce v Ljubljani	232
Serološka diagnostika leptospiroznih okužb pri belem dihurju	233
Pregled bolezni afriških beloprskih ježev (<i>Atelerix albiventris</i>) v Sloveniji (2008-2018)	235
Obštudijska dejavnost za dobrobit na Veterinarski fakulteti	236

Hmeljeve beta kisline kot potencialni zaviralci zajedalca čebelje družine, <i>Varroa destructor</i> – komplementarni pristop.....	237
Spremljanje napadenosti izbranih čebeljih družin z varojami (<i>Varroa destructor</i>) v pomurski in podravski regiji v letih 2017 in 2018.....	238
Primer zatiranja varoj z zdravilom Formivar 85% in hlapilnikom Liebig	240
Mikobakterije pri ribah	241
Preskušanje gojišč v skladu z ISO 11133:2014.....	242
Izolacija <i>Paenibacillus larvae</i> v čebelji zalegi – rezultati v 2 dneh ali v 1 tednu?.....	243
Ugotavljanje invazij z notranjimi zajedavci v rejah pašne govede na področju NVI OE Maribor - Ptuj.....	244
Sekvenciranje naslednje generacije: primeri uporabnosti v veterinarski medicini.....	245
Srčni biomarker troponin I (cTnI) in seštevek hrbteničnih vretenc (VHS) v diagnostiki srčnih obolenj pri belih dihurjih (<i>Mustela putorius furo</i>)	247
Molekularno ovrednotenje hepatokarcinogeneze z uporabo transgenih mišjih modelov in alternativnega pristopa	249
Biomehanika stegnenic pubertetnih podgan izpostavljenih PCB	251
Prvi pojavi okužb z virusom infektivnega laringotraheitisa pri perutnini v Sloveniji	253
Identifikacija živalske vrste mesa v živilih z uporabo PCR: rezultati petletnega testiranja v Sloveniji.....	254
Anthelmintic efficacy of a new fenbendazole nanosuspension for pigs.....	255
Cefalotorakopagus kot vzrok distocije pri mački	256
Spontani zunajskeletni osteosarkom pri kunčici (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	258
Ugotavljanje in genetska karakterizacija herpesvirusov pri prostoživečih sovah v Sloveniji	259
Primer aktinomikoze v čelnem področju pri srnjaku (<i>Capreolus capreolus</i>).....	261
Primer malignega kožnega melanoma glave pri srnjaku z multiplimi metastazami.....	262

Kazalo avtorjev

A

Allister, Rosie 27
Andromako, Urša 256
Antanasova, Maja 251
Antolinc, David 251
Arič, Tina 66
Arko Strojan, Sara 126
Avberšek, Jana 111, 225, 245

B

Babič, Alenka 122
Babič, Janja 138, 171
Bajc, Zlatka 135, 197
Baumkircher, Aljaž 124
Beck, Relja 39
Belak Bučar, Sara 130
Benoit, Jerome 61
Bevk, Danilo 108, 186
Bezgovšek, David 122
Biasizzo, Majda 201, 204
Blagotinšek Cokan, Kaja 249
Brankovič, Jana 151, 251
Brložnik, Maja 164
Bubnič, Jernej 105, 237
Buonavoglia, Canio 46
Busauskas, Paulius 56
Butinar, Janoš 61

C

Cajnar, Samo 128
Campos, Miguel 37, 38
Cankar, Polona 64

Casal, Margaret L. 228
Celar, Franci Aco 138
Čemažar, Maja 118
Cerkvenik Flajs, Vesna 149
Černe, Luka 128
Černe, Živa 217
Červek, Matjaž 83, 138
Cestnik, Vojteh 71
Ciglarič, Renata 135
Čivnik, Vita 189
Claerhout, Lieven 231, 255
Cociancich, Vasilij 151, 152
Čonč, Maja 72, 233
Cotman, Marko 68, 254
Cugmas, Blaž 124
Cvetko, Erika 118
Cvetko, Marko 106, 149, 219

D

Damjanovska, Marija 118
Davidov, Ivana 101, 193, 195
Decaro, Nicola 46
Depner, Klaus 55
Depondt, Wouter 255
Dernovšek, Tina 126
Dežman, Rok 118
Dolenc, Jožica 135
Dolenšek, Tamara 106, 149, 217, 223, 235, 256, 258
Domanjko Petrič, Aleksandra 164, 247
Dovč, Alenka 74, 83, 104, 133, 134, 160, 236, 253
Dragan, Rok 122
Duquesne, Brigitte 231

E

Eeckhout, Mia 54
Erdeljan, Mihajlo 101
Erjavec, Vladimira 128, 216

F

Fajfar, Iztok 128
Fazarinc, Gregor 251
Fluher, Tine 258
Fonda, Irena 106
Fracassi, Federico 35, 36

G

Galac, Sara 24, 34
Ganswindt, Andre 50
Garcia Pinillos, Rebeca 45
Golinar Oven, Irena 175, 179
Golob, Majda 111, 153, 214, 219, 243
Golob, Zlatko 74, 120, 122
Gombač, Mitja 106, 149, 217, 219, 223, 256, 258
Grandič, Marjana 138, 171, 214
Grilc Fajfar, Aleksandra 72, 106, 245
Grom, Jože 97, 145, 245
Grosman, Maja 126
Gruden, Petra 120

H

Habič, Nina 124
Hadžić, Admir 118
Hari, Aleksandra 66, 100
Henigman, Urška 201, 204
Hercog-Gerbec, Natalija 128
Herman, Julija 133
Hodošček, Lena 229, 242

Horvat, Simon 82
Hostnik, Peter 90, 97, 157, 245
Hrček Kastelic, Andreja 124, 126
Hrovatin, Breda 64, 66

I

Ipša, Zdravko 100

J

Jablanovec, Kaja 126
Jakovac Strajn, Breda 88, 114, 126, 138, 171, 214
Jamnikar Ciglencečki, Urška 189, 245
Janežič, Sandra 245
Jan, Janja 251
Jarc, Marjeta 243, 244
Jenčič, Vlasta 105, 108, 122, 237, 238, 240, 241
Jernejčič, Barbara 93
Jeruc, Jera 249
Jevnikar, Peter 251
Ježek, Jožica 78, 93, 197
Jurić, Alenka 240
Jurman, Lana 130
Juvan, Peter 249

K

Kajdič, Leonida 221
Kalin, Anja 130, 221
Kermavnar, Anita 130
Kirbiš, Andrej 70, 245
Klinc, Primož 85
Kmetec, Jernej 162
Knific, Tanja 63, 70, 88
Kokalj, Maša 124
Koren, Simon 245

Košir, Iztok 237
Košir, Iztok Jože 105
Kos, Urška 64
Kotnik, Tina 114
Kovač, Anton 245
Kovač, Minka 245
Kozmos, Peter 105
Kozmus, Peter 237
Kramarič, Petra 58
Krapež, Uroš 100, 104, 160, 245, 253, 259
Krašna, Nina 219
Kubale, Valentina 74, 116, 120, 122
Kuhar, Metka 126
Kuhar, Urška 162, 189, 245
Kušar, Darja 109, 111, 225, 241, 245

L

Lešnik, Vida 238, 243
Lindtner Knific, Renata 160, 168, 233
Lorbek, Gregor 249
Lucente, Maria Stella 46
Lukanc, Barbara 63
Lulik, Matic 122

M

Majdič, Gregor 60
Malovrh, Tadej 72
Markey, Bryan 49
Marzel, Rok 93
Matko, Milan 212
Maurer Wernig, Jedrt 66, 157
Mičunović, Jasna 242
Miklavčič, Damijan 118
Milevoj, Nina 256

Mitrović, Nikola 122
Mlakar Hrzenjak, Nina 76, 160, 168, 233, 235, 247
Močnik, Andrejka 135
Modrijan, Katarina 93
Moškrič, Ajda 237
Mrkun, Janko 87, 88, 153, 156, 225, 228
Mrzdovnik, Matic 130
Mujagić, Emir 223

N

Nedeljković, Gordana 193
Nemec, Ana 61
Nemec Svete, Alenka 128
Njegovec, Peter 141
Noč, Nataša 242
Novakov, Nikolina 193, 195
Novak, Vika 128

O

Obidič, Kaja 124
Ocepek, Matjaž 70, 110, 241, 245
Ocvirk, Miha 105, 237
Oman, Marko 69
Omejc, Peter 120, 122
Ostaneč, Maruša 258

P

Paller, Tomislav 58, 90, 152
Palman, Anja 68
Papić, Bojan 109, 111, 225, 245
Pardon, Bart 41, 42
Pate, Mateja 109, 241, 245
Pavić, Tea 78
Pavlica, Matic 110

Pavlica, Zlatko 110
Pavlin, Darja 124, 164, 168, 227
Pavlin, Katarina 122
Pavšič Vrtač, Katarina 88, 171, 197
Pečjak, Anja 134
Perše, Martina 249
Peskar, Dominika 85
Petelin, Milan 110
Petrović, Tamaš 245
Pirman, Tatjana 82, 214
Pirš, Tina 245, 261
Pislak Ocepek, Metka 105, 108, 237
Plavec, Tanja 63, 124, 221
Plavša, Nada 195
Plut, Jan 141, 175, 179
Pogorevc, Estera 151
Potočnik, Marko 66
Premrov Bajuk, Blanka 114
Prescott, John 26, 57
Prešeren, Janez 237
Prešern, Janez 105
Prevolnik Povše, Maja 179
Prokić, Vladimir 195
Prpar Mihevc, Sonja 60
Pulko, Barbara 133, 236
Pušnik, Igor 208

R

Račnik, Joško 100, 122, 235
Račnik, Jožko 43, 72, 76, 104, 160, 233, 247, 253, 258, 259
Radakovic, Milorad 53
Radinović, Miodrag 101
Rajšp, Maša 122
Rakinić, Kristina 128

Rakuljič-Zelov, Simon 232
Raspor Lainšček, Petra 245
Raspor, Sara 63, 216
Ratiznojnik, Mateja 238
Ravnik, Lara 130
Regoršek, Eva 130, 247
Rejec, Ana 61
Rihtarič, Danijela 97, 157, 162, 245
Rosa, Teja 216, 233
Rosenkilde, Mette M. 116
Rozman, Damjana 249
Rupnik, Maja 245
Rupnik, Saša 229
Rutar, Maša 116
Rutland, Catrin Sian 74

S

Salobir, Janez 171
Šekler, Milenko 193
Seliškar, Alenka 118, 130
Seničar, Marija 106
Sernel, Tjaša 100, 160
Serša, Gregor 118
Šimenc, Laura 183, 186, 245
Šimundič, Metka 223
Šinkovec, Petra 223
Sitar, Rosvita 106
Škorjanc, Ana 114, 124
Škrajnar, Ana Lucija 114
Skubic, Cene 249
Skulj, Katja 82
Slapšak, Aleksandra 63
Slavec, Brigita 100, 104, 160, 245, 253, 259
Smodiš Škerl, Maja Ivana 105, 237

Snoj, Tomaž 51, 78, 85

Sodnik, Jaka 122

Sokolov, Cvetka 130

Šparaš, Luka 128

Spiess, Katja 116

Štabuc Starčević, Dominika 87, 244

Starič, Jože 78, 93, 197

Stariha Pipan, Sabina 25

Šterbenc, Nataša 156, 228

Štokar, Žan 134

Stopar Pintarič, Tatjana 118

Štrbenc, Malan 60, 85

Strehovec, Miha Jan 128

Štukelj, Marina 118, 141, 175, 179, 208

Sturgess, Kit 30, 31, 33

Šturm, Darko 262

Šturm, Sabina 106, 149

Stvarnik, Mateja 87, 236

Švara, Tanja 106, 149, 217, 223, 225, 227, 235, 256, 258, 261

T

Tavčar Kalcher, Gabrijela 138, 197

Tekavec, Ines 124

Tekavec, Kristina 106, 149, 223, 261

Tlak Gajger, Ivana 48

Tomsič, Katerina 130

Toplak, Ivan 90, 97, 108, 145, 157, 162, 183, 186, 245

Toplak, Nataša 245

Turk, Erika 126

Turk, Rebeka 128

U

Ujčič Vrhovnik, Igor 171

V

Vadnjal, Stanka 201, 204

Velebit, Branko 193

Vengar, Ana 82

Vengušt, Gorazd 162, 261

Vergles Rataj, Aleksandra 93, 149

Vesel, Urška 78

Veternik, Darko 262

Vidović, Bojana 101, 193, 195

Vidrih, Špela 152

Virant Klun, Irma 228

Vlaj, Laura 130, 247

Vrčkovnik, Eva 126

Vreček Šulgaj, Jerica 105, 108

Vrecl, Milka 251

Vrezec, Al 259

W

Winkler, Kaja 124

Z

Zabavnik Piano, Jelka 68, 254

Zadnik, Tomaž 232

Zadavec, Marko 43, 72, 76, 104, 160, 233, 235, 247, 253, 258, 259

Žagar, Žiga 227

Zajc, Urška 108, 245

Zakošek Pipan, Maja 60, 63, 88, 153, 156, 221, 225, 228

Zaninović, Vice 223

Zdovc, Irena 110, 111, 149, 153, 156, 214, 219, 221, 225, 243, 245

Žele, Diana 162, 261

Žel, Jurij 118

Zemljič, Tadej 215

Zgonik, Špela 126, 128

Zidar, Anja 130

Žlabravec, Zoran 76, 100, 104, 160, 233, 235, 253,
259

Žmuc, Jan 118

Žnidaršič, Neža 124

Žolnir-Dovč, Manca 241

Zorman Rojs, Olga 83, 100, 104, 160, 245, 253, 259

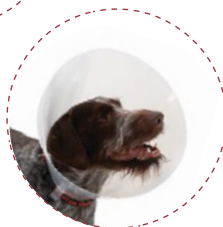
Zrimšek, Petra 88, 114, 228

Žugelj, Alenka 243, 244

Zupančič, Katja 126

Zupan, Manja 83, 84, 175, 179

Žvokelj, Lucija 105, 108



EPIC SPREMINJA VSE SEDAJ ŠUM POMENI MNOGO VEČ



Odkritje šuma in povečanega srca sta v predklinični fazi bolezni včasih pomenila le opazovanje in čakanje. Nič več. Zdaj lahko ukrepate...

Na podlagi prelomnih rezultatov študije EPIC ¹, je VETMEDIN® sedaj одобren za zdravljenje predklinične miksomatozne bolezni mitralne zaklopke* Zdaj lahko — samo z VETMEDIN® — zakasnite pojav kongestivnega popuščanja srca in psom podarite daljše življenje brez simptomov.

Popolnoma na novo postavlja smernice zdravljenja bolezni srca. Ukrepajte zdaj z VETMEDIN®.

Za več informacij v zvezi z zdravilom VETMEDIN®, se obrnite na vašega predstavnika za Boehringer Ingelheim.

vetmedin®

DANES. NE NEKEGA DNE.

* VETMEDIN Za zdravljenje psov z miksomatozno boleznijo mitralne zaklopke (MMVD) v predklinični fazi (asimptomatsko s sistoličnim mitralnim šumom in dokazi o povečani velikosti srca), da bi zakasnil nastanek kliničnih simptomov srčnega popuščanja.

Referenca: 1. Boswood A, Häggström J, Gordon SG, et al. Effect of pimobendan in dogs with preclinical myxomatous mitral valve disease and cardiomegaly: the EPIC Study—a randomized clinical trial. *J Vet Intern Med.* 2016;30(6):1765–1779.



SAMO ZA STROKOVNO JAVNOST. Vetmedin vsebuje pimobendan, Rp-Vet. Nadaljnje informacije v navodilu za uporabo in pri lokalnem predstavniku za Boehringer Ingelheim v Sloveniji: Vetpromet d.o.o., Cesta na Brdo 100, 1000 Ljubljana, info@vetpromet.si, 01/256 78 06. Datum priprave: Marec 2019. Zdravila uporabljajte odgovorno.

PLENARNA PREDAVANJA

Cushing's syndrome through the time

Sara Galac

Faculty of Veterinary Medicine, Dept. of Clinical Sciences of Companion Animals, Yalelaan 108, 3508 TD Utrecht, the Netherlands

Naturally occurring hypercortisolism, often referred to as Cushing's syndrome, is a common endocrine disorder in dogs. In 80–85% of cases, the condition is caused by an adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-secreting pituitary adenoma (pituitary-dependent hypercortisolism; PDH). In the remaining 15–20%, it is a result of a cortisol-secreting adrenocortical tumor (ACT), an adrenocortical carcinoma in the majority of cases (1).

The diagnosis of hypercortisolism should be based on the dog's medical history and clinical signs. When there is clinical suspicion of hypercortisolism, the results of a complete blood count, serum biochemistry panel, urinalysis support the diagnosis. Endocrine tests should be used to confirm the suspicion of hypercortisolism. The recommended screening tests are the low-dose dexamethasone suppression test or the urinary corticoid:creatinine ratio, which can be combined with the high-dose dexamethasone suppression test. Differentiating between the PDH and ADH is performed by measuring basal plasma ACTH concentrations and by diagnostic imaging. A CT or MRI scan is preferred to determine the size and contour of the pituitary and adrenal glands, to detect vascular invasion in ACTs and to screen for metastases. PDH and ADH each require specific treatment. The clinical signs of PDH can be managed with the adrenocorticostatic drug trilostane, but the drug will not affect the pituitary tumor. Hypophysectomy is therefore the preferred option. Inoperable pituitary tumors can be treated by radiotherapy. The best treatment in dogs with ADH is adrenalectomy. If surgery is not possible, because of vascular invasion or metastatic spread, mitotane is recommended. Treatment with trilostane can be considered in ADH as well, but is only palliative: it does not affect the ACT tissue. Current research focusses on the developments in novel adrenal-targeting and pituitary-targeting drugs (2). A more selective and preferably also tumor-targeted medical approach could have many advantages for both PDH and ACTs.

Reference

1. Galac S, Reusch CE, Rijnberk A, Kooistra HS. Adrenals. In: Rijnberk A, Kooistra HS, eds. *Clinical Endocrinology of dogs and cats*. Schlütersche, 2010: 93-154.
2. Sanders K, Kooistra HS, Galac S. Treating canine Cushing's syndrome: current options and future prospects. *Vet J* 2018; 24: 42-51.

Srbež pri mački – od simptoma do diagnoze

Sabina Stariha Pipan^{1*}

¹ Dona d. o. o., Ljubljana, Slovenija

* vinko.pipan@guest.arnes.si

Pri mački, pri kateri se je pojavil srbež, je treba po dermatološkem pregledu slediti določenemu protokolu izločanja, ki pripelje do diagnoze. Ta je nujna za pravilno in uspešno zdravljenje oz. vzdrževanje živali. Preobčutljivost se namreč kaže predvsem z enim ali več od štirih kliničnih vzorcev, iz katerih pa ne moremo sklepati, kaj je vzrok. Pri mački so najpogostejši dermatološki vzroki za srbež zunanji zajedavci, preobčutljivost za alergene iz okolja in/ali hrano, sledijo druge bolezni. Prispevek opozarja na težave, ki nas čakajo na poti do diagnoze, in nakazuje njihove rešitve. Ključnega pomena je sodelovanje skrbnika, ki ga najlaže pridobimo s pravilnim in natančnim izobraževanjem. Tako po podatkih iz literature kot po izkušnjah iz prakse so pri mački najpogostejši vzrok za srbež zunanji zajedavci. Glede na to, da jih samo s pregledom pravzaprav ni mogoče izločiti, je kot prva stopnja protokola nujna diagnostična terapija s primernim širokospektralnim antiparazitikom, za kar pa je potreben čas. Sočasno zdravimo morebitno okužbo z bakterijami in/ali s kvasovkami. Če je srbež po tem še vedno prisoten, je treba ločiti med preobčutljivostjo za hrano in za alergene iz okolja. To je možno le s pravilno izvedeno izločitveno dieto, pri čemer so ključnega pomena skrbnikova priпадnost, vztrajnost in potrpežljivost. Enako velja za različne postopke zdravljenja, ki sledi pravilno postavljeni diagnozi.

Ključne besede: srbež, mačka; diagnoza; protokol izločanja

Pruritus in cats – from symptom to diagnosis

In pruritic cats, after completing the dermatological examination, an elimination protocol has to be followed to establish the specific diagnosis. This is required for an efficient treatment or management of the animal. Hypersensitivity in cats usually presents with one or more of four clinical patterns that are not pathognomonic for any specific diagnosis. The most frequent dermatological causes of pruritus are external parasites, hypersensitivity to environmental allergens and/or food hypersensitivity, followed by other diseases. The paper discusses the problems in establishing the diagnosis and outlines their solutions. Owner compliance is of key importance and can be best achieved through proper education. Literature and practical experience demonstrate that external parasites are the most frequent cause of pruritus in cats. They cannot be completely excluded by examination only; therefore, diagnostic therapy with an efficient broad-spectrum antiparasitic is required, which takes some time. In the meantime bacterial and/or yeast infection can be treated. If pruritus persists after that, it is necessary to differentiate between food and environmental hypersensitivity. This is only possible by conducting a proper elimination diet, where owner compliance, persistence and patience are of crucial importance as they are in the treatment and/or management of the animal after the diagnosis.

Key words: pruritus; cat; diagnosis; elimination protocol

Reference

1. Hobi S et al. Clinical characteristics and causes of pruritus in cats: a multicentre study on feline hypersensitivity-associated dermatoses. *Veterinary Dermatology* 2011; 22:406-413
2. Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Hypersensitivity disorders. In: *Small Animal Dermatology*, 7th ed., Elsevier Mosby, St. Louis, 2013: 388-392, 404-405
3. Di Palma A et al. A case report of *Dermanyssus gallinae* infestation in three cats. *Veterinary Dermatology* 2018; 29:4

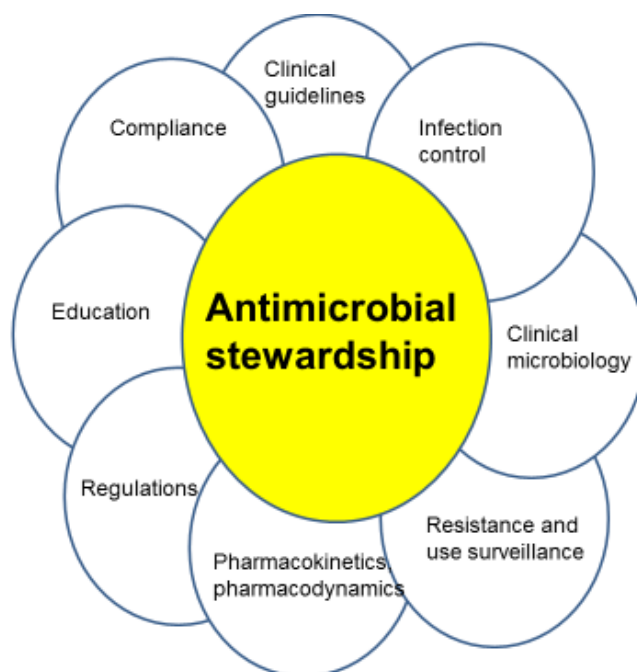
No magic bullets. Will One Health save us? The challenges and politics of antimicrobial stewardship

John Prescott

University Professor Emeritus, Department of Pathobiology, University of Guelph, Guelph, Ontario N1G 2W1, Canada.

prescott@uoguelph.ca

Antimicrobial resistance (AMR) is a global threat to modern medicine that requires urgent attention and action by all who use antibiotics. Antimicrobial Stewardship (AMS) is the term increasingly used in medicine to describe the multifaceted approaches required to sustain the efficacy of antibiotics and to minimize the emergence of AMR (1). The concept and practices of AMS are still developing but include the guiding “5R” set of principles of Responsibility, Reduction, Replacement, Refinement, and Review (1). The global and national political forces to change how we use antimicrobials are now immense. One Health is a collaborative approach by multiple disciplines at global, national and local levels to obtain optimal health for humans, animals and the environment. One Health problems such as AMR are so complex that no one, no group and no discipline can fully understand them. The global acceptance that a One Health approach is an appropriate response to AMR is a political response, which may be temporary, that moves us from blaming others to action to address the problem. The challenges of AMR are immense and require multiple solutions encapsulated by AMS approaches. This talk will give examples of the considerable potential for the combination of different practical AMS approaches to address AMR, encapsulated in the figure.



Reference

1. Weese JS, Page S, Prescott JF. Antimicrobial stewardship in animals. In: Giguère S, Prescott JF, Dowling PM, eds. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 5th ed. Iowa: John Wiley and Sons, 2013:117-132.

Mental health and wellbeing in the veterinary profession

Dr Rosie Allister

Mental health in the workplace is a global issue, with an estimated US\$ 1 trillion of productivity lost annually due to depression and anxiety disorders. The veterinary profession has been consistently found to have elevated rates of mental health problems and suicide. Reasons for this are complex and likely to include unique demands of the job, individual factors, and broader issues of working conditions and culture.

Individual factors change across the life course and across the course of professional careers, and interact with specific job-related factors and workplace culture. Interventions to improve mental health therefore need to be tailored to both workplace and individual factors. Although much emphasis is placed on personal resilience - the ability to manage and 'bounce back' from stress - an equal amount of attention must be invested in organisational resilience - the ability of the organisation to optimise working conditions and to minimise the impact of workplace stress on professionals.

Having identified risk factors, this session reviews what can be done to improve veterinary wellbeing and support veterinary mental health. Beyond workplace improvements, profession-specific support services have an important role. The Vetlife Helpline received more than 2,700 calls last year. This talk will offer insight into the reasons why people call, and how the service can support them.

THE REVOLUTION IS HERE

REVOZYN® RTU
READY TO PERFORM

Penetamat hidrijodid 400 mg/ml

Pripravljen za uporabo



Revozyn RTU 400 mg/ml suspenzija za injiciranje za govedo. Kakovostna in količinska sestava: 1 ml suspenzije vsebuje: Učinkovina: Penetamat hidrijodid 400 mg (kar ustreza 308,8 mg penetamata). Ciljne živalske vrste: Govedo (krave v laktaciji). Indikacije za uporabo pri ciljnih živalskih vrstah: Zdravljenje kliničnega in subkliničnega mastitisa pri kravah v obdobju laktacije, ki ga povzročajo stafilokoki in streptokoki, občutljivi za penicilin. Kontraindikacije: Ne uporabite v primerih preobčutljivosti na učinkovino ali na katero koli pomožno snov. Ne dajati v obliki intravenske injekcije. Odmerjanje in pot uporabe: Pred uporabo dobro pretresite. Samo za intramuskularno dajanje, najbolje v vrat. Dajajte izmenično na levo in desno stran. 10-15 mg penetamata hidrijodida na kg telesne mase na dan, enkrat na dan 3 dni zapored, kar ustreza 2,5-3,75 ml zdravila na 100 kg telesne mase na dan, enkrat dnevno 3 zaporedne dni. Neželeni učinki: Simptomi neželenih učinkov segajo od blagih kožnih reakcij, kot sta koprivnica in dermatitis, do hudih reakcij, kot je anafilaktični šok (zelo redko, pri manj kot 1 živali od 10.000 zdravljenih živali), kar je zelo redko smrtno. Poleg tega lahko pride do preobčutljivosti na peniciline. Posebni previdnostni ukrepi za uporabo pri živalih: Uporaba zdravila za uporabo v veterinarski medicini mora temeljiti na testiranju občutljivosti bakterije, izolirane iz živali. Če to ni možno, je treba pri zdravljenju upoštevati lokalne (regionalne, na ravni kmetije) epidemiološke podatke o občutljivosti ciljne bakterije. Uporaba zdravila naj bo v skladu z uradnimi, nacionalnimi in regionalnimi doktrinami protimikrobnega zdravljenja. Uporaba zdravila, ki ni v skladu z navodili iz Povzetka glavnih značilnosti zdravila, lahko poveča razširjenost bakterij, ki so odporne na benzilpenicilin in zmanjša učinek zdravljenja z drugimi beta-laktami, zaradi možne navzkrižne odpornosti. Izogniti se je potrebno hranjenju mleka, ki vsebuje ostanke penicilina, teletom, saj lahko v črevesju telet povzroči selekcijo bakterij odpornih na protimikrobne učinkovine (npr. ESBL). Posebni previdnostni ukrepi, ki jih mora izvajati oseba, ki živalim daje zdravilo: To zdravilo lahko povzroči preobčutljivost in kontaktni dermatitis. Preobčutljivost na penicilin lahko vodi k navzkrižni preobčutljivosti na cefalosporine in obratno. Alergične reakcije na te snovi so lahko resne. Izogniti se je potrebno neposrednemu stiku s kožo ali samo-injiciranju. Pri ravnanju z zdravilom za uporabo v veterinarski medicini je treba nositi rokavice. S tem zdravilom ne ravnajte, če veste, da ste občutljivi, ali če so vam svetovali, da ne delate s takšnimi preparati. Po dajanju zdravila si umijte roke. Če zdravilo pride v stik s kožo, takoj izperite z obilo vode. Če se po izpostavljenosti pojavijo znaki, kot je kožni izpuščaj, ali če je prišlo do samo-injiciranja, se takoj posvetujte z zdravnikom in mu pokažite navodila za uporabo. Zatekanje obraza, ustnic ali oči in težave z dihanjem so resni simptomi in zahtevajo nujno zdravniško pomoč. Karenca: mleko: 4 dni, Meso in organi: 10 dni. Uporaba v obdobju brejosti in laktacije: Lahko se uporablja v obdobju brejosti ali laktacije. Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij: Penicilini se ne smejo uporabljati sočasno z bakteriostatičnimi antibiotiki. Imetnik dovoljenja za promet: Eurovet Animal Health BV Handelsweg 25, 5531 AE Bladel Nizozemska. Način izdaje zdravila: Na veterinarski recept. Datum priprave informacije: marec 2019. Za vse nadaljnje informacije o tem zdravilu se obrnite na krajevno predstavništvo imetnika dovoljenja za promet z zdravilom: GENERA SI d.o.o., Parmova ulica 53, 1000 Ljubljana. Pred uporabo preberite navodilo za uporabo. SAMO ZA STROKOVNO JAVNOST.


Dechra
Veterinary Products

VABLJENA PREDAVANJA

Feline idiopathic cystitis (FIC)

Dr Kit Sturgess; MA; VetMB; PhD; CertVR; DSAM; CertVC; FRCVS

RCVS Recognised Specialist in Small Animal Medicine

Advanced Practitioner in Veterinary Cardiology

FIC or idiopathic feline lower urinary tract disease (iFLUTD) is a common presentation with an annual incidence in the UK of approximately 1% (80,000 cats – about 1 case per month per small animal veterinarian). Presenting clinical signs in female cats are typically frequent squatting and straining associated with the passage of small quantities of haematuria. In male cats similar signs can occur but a significant proportion of these cats present as emergencies with urinary obstruction associated with urethrospasm.

Typically cats with FIC are young → middle aged with some studies suggesting long haired and male cats being over-represented. Other predisposing factors include obesity, sedentary lifestyle, gastrointestinal signs, multicat households and fearful temperaments.

Of cats presenting with lower urinary tract signs, approximately a third have a defined underlying cause such as urolithiasis, infection or neoplasia. Other potential causes of similar clinical signs such as behavioural abnormalities leading to periuria should also be considered. The majority of cases, however, have no clear diagnosis and are termed idiopathic.

Investigation of potential FIC cases should, as a minimum, include full urinalysis (dipstick, USG, sediment, culture) and imaging of the urinary bladder, preferably ultrasound. Haematology and biochemistry are usually unremarkable unless there is other intercurrent disease such as chronic kidney disease. Cystoscopy can be performed if appropriate.

For most non-obstructed cats, clinical signs are self resolving over 2-5 days and recurrence intermittent and unpredictable. This gives rise to a lot of confusion over treatment efficacy as almost any treatment given at the start of an episode will appear to be effective. Studies on drug efficacy are limited and to date no drugs have been shown to be consistently effective. The most effective approach seems to be multi-modal addressing diet, lifestyle and behaviour.

For cats presenting with obstruction, catheterisation is usually necessary. Controversy remains about the optimal duration of time the catheter should remain in place and the value of adjunctive treatments such as diazepam and prazosin in managing an acute episode and in preventing occurrence.

Urolithiasis in cats and dogs

Dr Kit Sturgess; MA; VetMB; PhD; CertVR; DSAM; CertVC; FRCVS

RCVS Recognised Specialist in Small Animal Medicine

Advanced Practitioner in Veterinary Cardiology

Prevalence and type of urolith in cats and dogs is variable with country and region; they are a significant if relatively uncommon cause of lower urinary tract signs in dogs and cats in the UK. Clinical presentation of urolithiasis is variable. Ranging from incidental finding on imaging to chronic lower urinary tract signs to non-specific lethargy and depression to acute obstructive presentations. History and physical examination are rarely diagnostic for urolithiasis unless owners have observed passage of a stone. However, as urolithiasis is usually a very treatable condition either through diet or surgery it should always be on the differential list for dogs and cats presenting with compatible clinical signs.

Haematology and biochemistry are generally of limited value but urinalysis is important in the diagnostic work up particularly urine culture. The presence or absence of crystalluria is of limited value in the diagnosis of urolithiasis in that crystalluria is very common, extremely rarely associated with clinical disease AND may be absent in the presence of uroliths or can be of a different type to the urolith present.

Imaging is key to diagnosis either with radiography or ultrasound. The major weakness of radiography relates to the variable radiodensity of uroliths and the possibility of overlying structures, particularly faeces in the colon leading to false positive or false negative results. Ultrasound is more sensitive to the presence of uroliths in the bladder but can miss uroliths in the ureters and urethra.

Uroliths can be divided in to two main groups, those that are associated with errors of metabolism such a urate uroliths in Dalmatian dogs or cystine uroliths in English Bulldogs and those that are not. There are clear breed predispositions to urolith formation in dogs with terriers being over-represented as a group. Struvite uroliths can be associated with chronic infection, particularly in dogs.

Management of urolithiasis is dependent on type of the two most common types, struvite can be dissolved with diet whereas calcium oxalate uroliths cannot and require surgical removal, voiding urohydropulsion or lithotripsy.

Patients that have had uroliths are at increase risk of formation in the future but this risk can be markedly reduced by appropriate dietary management and potentially drug therapy (D-penicillamine or allopurinol).

POZORNOST VSAKEMU URINARNEMU OBOLENJU

Bolezni spodnjega urinarnega trakta zajemajo širok spekter obolenj, ki se kažejo z različnimi simptomi in jih povzročajo številni dejavniki. Zahvaljujoč 50 letom posvečanja znanosti, pozornega opazovanja in partnerstva z veterinarji danes vemo, da skrbno izbrana prehrana igra ključno vlogo pri okrevanju in vzdrževanju zdravstvenega stanja pri pacientih z obolenji sečil.

Zato smo razvili širok nabor izdelkov namenjenih specifičnim urinarnim obolenjem, sedaj z izboljšanimi formulami in inovacijami.



Urinary tract infections (UTI) in dogs and cats

Dr Kit Sturgess; MA; VetMB; PhD; CertVR; DSAM; CertVC; FRCVS

RCVS Recognised Specialist in Small Animal Medicine

Advanced Practitioner in Veterinary Cardiology

With current concerns about the use of antibacterial agents, the treatment of bacterial UTIs in dogs and cats has come under the spotlight not least because the medical profession are using much shorter durations of antibacterial treatment. It is important to realise that not all UTIs are the same and there is a wide range from occult infections through those causing non-specific lethargy and depression to typical localised signs of polyuria, pollakiuria, haematuria and ultimately patients that are septic and systemically unwell. In surveys of cats presenting with signs of cystitis, the presence of a UTI varied from 1 to 15%.

Diagnosis of UTI has to be based on culture and sensitivity of a suitable sample (mid-flow free catch, catheterised or cystocentesis) as the leucocyte square on the dipstick and presence of 'bacteria' on sediment analysis have low specificity and sensitivity. Basing decisions on samples that may be contaminated is fraught with difficulty and tends to lead to overuse of antibacterial agents. Deciding which patients to sample is difficult as signs can be non-specific.

E.coli is the most commonly isolated pathogen with gram positive cocci (staphylococci and streptococci) being the next most common making enrofloxacin, potentiated amoxicillin or first generation cephalosporins good empirical antimicrobial choices if a UTI is suspected whilst awaiting culture results.

Uncomplicated UTIs

An uncomplicated UTI is an occasional bacterial infection of the urinary bladder in an otherwise healthy individual with likely normal urinary tract anatomy and function; such cases tend to present with classical clinical signs of dysuria, pollakiuria, and/or increased urgency of urination. Haematuria and proteinuria are also often present. Traditional recommendation in the veterinary literature is 7-14 days of treatment with a narrow spectrum antibacterial. In people treatment duration of 1-3 days are now being used.

Complicated UTIs

Occurs in association with an anatomic or functional urinary tract abnormality or a comorbidity that predisposes the patient to persistent infection, recurrent infection, or treatment failure. Comorbid medical conditions such as urinary calculi, urinary neoplasia, neurogenic bladder, diabetes mellitus, hyperadrenocorticism and immunocompromising disorders (FIV, immunosuppressive drug therapies) often are associated with recurrent UTIs.

Reinfection - recurrence of a UTI within 6 months of completing apparently successful treatment.

Relapse - recurrence of a UTI within 6 months by an indistinguishable bacterial organism from the one that was present previously.

Refractory infection - persistently positive culture result during treatment.

Treatment of complicated UTIs can be challenging and risks creating multi-resistant bacteria.

Novel forms of canine Cushing's syndrome

Sara Galac

Faculty of Veterinary Medicine, Dept. of Clinical Sciences of Companion Animals, Yalelaan 108, 3508 TD Utrecht, the Netherlands

Pituitary-dependent hypercortisolism is the most common cause of adrenocorticotropin (ACTH)-dependent hypercortisolism in dogs, however, ectopic ACTH syndrome occurs as well. It should be considered in dogs with severe hypercortisolism with highly elevated plasma ACTH concentrations that are not suppressible with high doses of dexamethasone, and in which diagnostic imaging does not reveal a pituitary tumor. The most well-documented case of ectopic ACTH syndrome is a 8-year-old German shepherd dog with the initial diagnosis of pituitary-dependent hypercortisolism. However, after successful transsphenoidal hypophysectomy, the clinical signs of hypercortisolism only exacerbated. Endocrine testing with corticotropin-releasing hormone pointed to the ectopic source of the ACTH. On diagnostic imaging, a pancreatic mass with nodular changes in the liver has been detected. Histopathology revealed a pancreatic neuroendocrine tumor and metastases in the liver (1). Neuroendocrine tumors are the common cause of ectopic ACTH secretion in humans.

In addition to autonomous cortisol secretion by an adrenocortical tumor, ACTH-independent hypercortisolism may also be due to expression of ectopic or hyperactive ectopic hormone receptors in the adrenal cortex. Most of these receptors belong to the superfamily of G protein-coupled receptors that mimic the cellular events normally triggered by the ACTH receptor. Recently, food-dependent hypercortisolism (FDH) due to ectopic adrenocortical expression of GIP receptors, was reported in a six-year-old Vizsla (2). FDH should be suspected in dogs with clinical signs of hypercortisolism, suppressed basal plasma ACTH concentration, and bilateral adrenomegaly. Routine tests for hypercortisolism may be negative, as hypercortisolemia will only occur after binding of the ligand to its receptor. A distinct increase in UCCR and/or plasma cortisol concentration after ingestion of a meal, low or undetectable plasma ACTH concentrations, and prevention of a meal-induced rise in plasma cortisol concentration by octreotide administration strongly suggest FDH.

Ectopic ACTH secretion and FDH should be added as differential diagnoses of canine hypercortisolism.

Reference

1. Galac S, Kars VJ, Voorhout G, Mol JA, Kooistra HS. ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog. A case report. *Vet J* 2008; 13: 113-115.
2. Galac S, Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA, Van Den Berghe G, Meij BP. Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic adrenocorticotropin secretion. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 28: 338-348.

Treatment of diabetes mellitus in dogs and cats

Federico Fracassi

University of Bologna, Ozzano dell'Emilia, Italy

The primary goal of treatment diabetes mellitus (DM) is to eliminate the clinical signs of diabetes (e.g., polyuria, polydipsia, polyphagia, weight loss), to prevent complications (e.g., hypoglycaemia, DKA), and to increase the chance of diabetic remission (in cats). Another goal is to minimize the potential negative impact of the animal's disease on the owner and thereby avoid cessation of therapy or euthanasia. This usually applies when glycemic values are maintained between 90-250 mg/dL. Effective treatment is only achieved when there is good communication and mutual trust between the owner and the veterinarian. The crucial points for DM therapy are administration of insulin, appropriate diet, physical exercise and close therapeutic monitoring. It is also essential to identify and control any concomitant disorders (e.g., infections, malignancies, other endocrinopathies, and nephropathies) capable of causing insulin resistance. Various types of insulin can be used to treat canine and feline DM, and insulin analogues (e.g., glargine, detemir) may also be useful in managing the condition. It is important to ensure that the correct dose of insulin is given. Owners should be aware that the units/mL can vary with different types of insulin and must use the correct syringes. Some owners may find that an insulin "pen" helps improve administration of the insulin. Diet is an extremely important aspect in the therapeutic protocol. Dogs and cats with DM may be underweight or overweight; in both cases, the objective is to reach and maintain an ideal body weight. In cats a high protein and low carbohydrates diets are indicated. Underweight or emaciated dogs should be fed a balanced maintenance diet. As a rule, dogs with DM should be fed every 12 hours with a standardized amount of food, with insulin administered at the same time. Controlled physical exercise is recommended for all dogs with DM.

Monitoring diabetes in dogs and cats

Federico Fracassi

University of Bologna, Ozzano dell'Emilia, Italy

Serial glycemic curves are essential for both short and long-term monitoring, and enable rational adjustment of the insulin dose as necessary. To measure glycemia, portable glucometers (PBGM) are commonly employed, requiring a small blood sample usually obtained from the animal's pinna. PBGMs designed specifically for veterinary patients (e.g AlphaTrak) are preferred, as they require an extremely small sample volume (0.3 μ L) and deliver more precise results. Blood glucose curves (BGC) can be produced in the clinic or at home by the owner. The test requires glucose levels to be monitored every 2 hours, starting immediately before a meal and insulin administration and continuing for about 10-12 hours throughout the day. The trend of the glycemic curve is used to verify insulin effectiveness, identify the glycemic nadir (ideally between 90-150 mg/dL), and determine the time necessary to reach peak glycemia, as well as the degree of fluctuation in glucose concentrations. The BGC is considered optimal when most of the glycemic values fall between 90-250 mg/dL. More recently, continuous glucose-monitoring systems (CGMS) have been introduced which enable glycemic trends to be evaluated without the need for serial blood samples. These systems actually monitor interstitial glucose concentrations, which reflect serum glucose concentrations. Some CGMS are capable of recording a patient's glycemic trends by means of wireless technology, whereby a flexible sensor inserted subcutaneously transmits data to a monitor up to 3 meters distant. Newer technology (Freestyle Libre) enables real time monitoring of glucose values; a small sensor applied to the neck area delivers instant readouts to a monitor when scanned, with the added advantage that a sensor lasts for 14 days and does not require calibration. Serum fructosamine and glycated hemoglobin (HbA1c) can be also used to assess glycemic control in diabetic patients.

Making the diagnosis of thyroid disease

Miguel Campos

Lecturer in Small Animal Internal Medicine

Department of Clinical Veterinary Science

Vetsuisse Faculty - Bern University

Länggassstrasse 128, 3001 Bern, Switzerland

The diagnosis of hyperthyroidism in cats is primarily based on a combination of history, physical examination findings (e.g., palpation of thyroid nodule) and thyroid function tests.

Over the past 2 decades, many advances have been made in the availability of tests that can be used to diagnose feline thyroid disease. However, all of the commonly used tests have limitations, especially when evaluating cats suffering from nonthyroidal illness. Therefore, it remains overwhelmingly clear that we still do not have the perfect thyroid test capable of both confirming the diagnosis of thyroid disease in all affected cats and completely excluding it in cats that do not have thyroid disease.

The diagnosis of hyperthyroidism is usually straightforward, as 90% of hyperthyroid cats will have a serum total T_4 concentration that is clearly high. However, difficulties can arise in the routine diagnosis of hyperthyroidism. Although serum total T_4 is preferable as a screening test for hyperthyroidism, approximately 10% of all hyperthyroid cats (and 40% of cats with early or mild hyperthyroidism) have serum T_4 within the reference range limits. Such T_4 values are usually within the mid- to high-end of the reference range. Thus, finding a single reference range T_4 value does not preclude such a diagnosis. In general, the 2 main reasons why a hyperthyroid cat could have a normal T_4 value are early or mild hyperthyroidism and concurrent severe nonthyroidal illness capable of suppressing serum total T_4 concentrations to reference range. In this clinical context, the main diagnostic tools to confirm the clinical suspicion of hyperthyroidism are:

1. To repeat total T_4
2. Thyroid Scintigraphy
3. Measure Free T_4 Concentration
4. Measure Thyroid Stimulating Hormone (Thyrotropin or TSH)
5. Dynamic Thyroid Function Testing

References

1. Peterson M, Diagnostic Testing for Hyperthyroidism in Cats: More than Just T_4 . In: Proceedings of the Conference of the American Association of Feline Practitioners 2014.
2. Peterson M, Melian C, Nichols R. Measurement of serum concentrations of free thyroxine, total thyroxine, and total triiodothyronine in cats with hyperthyroidism and cats with nonthyroidal disease. J Am Vet Med Assoc 2001; 218: 529–536.
3. Peterson M. Feline focus: diagnostic testing for feline thyroid disease: hyperthyroidism. Compend Contin Educ Vet. 2013; 35:E3.

Feline hyperthyroidism: treatment options and follow-up

Miguel Campos

Lecturer in Small Animal Internal Medicine

Department of Clinical Veterinary Science
Vetsuisse Faculty - Bern University

Länggassstrasse 128, 3001 Bern, Switzerland

The medical management of feline hyperthyroidism is not curative but offers a practical treatment option. It is frequently used for long-term control and prior to surgery to decrease the metabolic and cardiac complications associated with anaesthetizing hyperthyroid cats. For many years, surgical thyroidectomy and radioactive iodine administration have been popular and effective curative methods available for feline hyperthyroidism.

Methimazole and carbimazole are the drugs most frequently used for long-term and preoperative medical management of hyperthyroidism because of their consistent and potent effect on lowering thyroid hormone concentrations. Both drugs are actively concentrated by the thyroid where they act by reversibly inhibiting thyroid hormone production. The length of time to achieve biochemical euthyroidism is relatively rapid, occurring within a week in most instances.

Surgical thyroidectomy is an effective treatment for hyperthyroidism that is simple, quick, curative and cost effective. In practice, it is often considered the treatment of choice. Thyroid imaging, if available, is an extremely useful procedure to determine lobe involvement and alterations in position.

Treatment with radioactive iodine (^{131}I) is simple, safe and effective and is possibly the best treatment for most hyperthyroid cats. ^{131}I can be administered intravenously or orally but the subcutaneous route is preferred. The dose is based on the severity of the clinical thyrotoxicosis, the size of the thyroid gland and a circulating total T4 concentration. A single treatment induces euthyroidism in over 90% of treated cats. There are few complications. Persistent hyperthyroidism can be successfully managed with a repeat injection, although in some cats euthyroidism spontaneously develops within weeks to months of treatment. Unfortunately, permanent hypothyroidism is not uncommon. Recurrence after successful treatment and other side effects are rare. The long-term prognosis for cats treated with radioiodine is excellent.

References

1. Mooney C. Feline Hyperthyroidism: Treatment and Postoperative Management. In: Proceedings of the British Small Animal Veterinary Congress 2011.
2. Frenais R, Rosenberg D, et al. Clinical efficacy and safety of a once-daily formulation of carbimazole in cats with hyperthyroidism. *Journal of Small Animal Practice* 2009; 50: 510–515.
3. Harvey A, Hibbert A, et al. Scintigraphic findings in 120 hyperthyroid cats. *Journal of Feline Medicine & Surgery* 2009; 11: 96–106.

Canine Vector-Borne Diseases (CVBD) on the road

Relja Beck, PhD, DVM

Department for Parasitology and Bacteriology, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Globalization and climate change have an unprecedented worldwide impact on emergence and re-emergence of animal diseases, especially vector borne diseases. Climate change is transforming natural ecosystems and providing more suitable environments for infectious diseases allowing the movement of bacteria, viruses, parasites and fungi into new areas where they can infect wild animals, companion animals and humans.

Dogs are competent reservoir hosts of several pathogens and can serve as a source of nutrition for many blood feeding arthropods. Increasing pet tourism and importation of animals from endemic areas of Southern Europe present permanent challenge for veterinary practitioners in detection of “exotic diseases”. Several diseases including babesiosis, leishmaniosis, hepatozoonosis, canine heartworm disease or other neglected pathogens can potentially be endemic in this region and pose a potential health risk for travelling dogs.

Vector borne nematodes represent emerging group of pathogens transmitted mostly with mosquitoes and flies. The heart worm *Dirofilaria immitis* is the most pathogenic but less prevalent than causative agent of subcutaneous dirofilariosis *D. repens*. *Thelazia callipaeda* causes ocular infection in dogs and cats represent “new” threat for “touristic” dogs.

Except *Babesia canis* as most important species number of *B. gibsoni* clinical cases but also subclinically infected dogs is increasing. Recently, first clinical case of “*Babesia vulpes*” was confirmed in Croatia. Another group of tick borne pathogens include *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys* and *E. canis* can be brought as an unwanted souvenir from their vacation. Single pathogen transmitted with the sand-flies, *Leishmania infantum*, highly endemic in Southern Europe with long incubation time represents life threaten disease, especially for dogs from non-endemic reagrions.

In the lecture, issues considering risk of CVBD for travelling dog going on „summer vacation“, different transmission strategies and general principles for diagnostics and protection will be adressed.



Kožne gliste



Spirocerka



Mikrofilarije

Pršice vrste

Notoedres

cati



Bolhe



Ličinke



Uši



Gliste



Trakulje



Bičeglavi



Srčne gliste



Gliste



Plučni črvi



Ušesne

garje



Garje

(Sarcoptes)



Garje

(Demodex)



Rastejo...



...in rastejo:

**Novo
v 2015:**
Zdravljenje kožne
oblike dirofilarioze



**ADVOCATE® - CELOVITA ZAŠČITA PRED
ZAJEDAVCI V PRIROČNI IN TAKOJ UPORABNI
OBLIKI**

Advocate® je več



Advocate®

Infectious bronchopneumonia 2020: O₂ for diagnostics and personalized advice

Bart Pardon

Department of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Respiratory diseases in calves result from the complex interplay between viral, bacterial and parasitic pathogens and environmental/genetic risk factors that suppress host defense mechanisms or facilitate pathogen spread. For decades, veterinary intervention was mainly situated in the area of treatment of affected animals and vaccination. Pressure to reduce antimicrobial use and to improve welfare demands a more analytical approach of the practitioner in order to prevent the disease. In this talk a pathogen based, risk analysis/prioritization approach to epidemic/endemic respiratory disease problems in calves will be presented. In this approach key elements for problem analysis of the farm are the use of lung ultrasonography to differentiate upper from lower airway disease, non-endoscopic broncho-alveolar lavage as an economically and practically achievable technique to identify etiological pathogens and correct interpretation of bacterial culture and PCR results. Further a systematic and holistic checking of all known risk factors present, with special reference to colostrum and stable ventilation is equally important. A major concept to comprehend is that 'one size fits all' and 'compare to best practice' herd health approaches, are unlikely to be profitable for a veterinary business as a single product. Using the presented approach, personalized advice can be provided, focusing on adjusting only the key risk factors related to the pathogens isolated, hereby resulting in economic revenue for farmer and veterinarian. The author will illustrate his experience with active demonstrations during the visits (ultrasonography, on farm cow-side testing, smoke profile of stable ventilation) and ways to effectively communicate in calf health problem farms.

Concepts and tools to rationalize antimicrobial use in calf diseases

Bart Pardon

Department of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Pressure to reduce antimicrobial use in food animal species has never been larger, and several European countries, like Belgium, are using benchmarking and treatment guidelines (formularies) as techniques to reduce antimicrobial use. However, fear of the industry is that at a decreasing antimicrobial use will increase mortality rates, creating a welfare issue next to an economic problem. Also, veterinarians experience difficulties with blindly following treatment guidelines, because in these documents the major reason for classification of drugs as primary, secondary or third choice, is their importance for human medicine and not their efficacy for the specific veterinary condition. Rationalizing antimicrobial use points to the concept that patients receive medication appropriate for their needs, avoiding adverse effects and assuring a minimum cost for society or the environment. The basic concept is that only individuals with an evidenced bacterial infection are treated. The decision process to treat an animal consists of (1) detection/clinical assessment, (2) a diagnostic work up, (3) therapeutic decision, (4) owner education and (5) evaluation of the initiated therapy. Steps in the therapeutic decision process to select an optimal antimicrobial include (1) estimation of severity, (2) source of infection, (3) drug resistance (recent antimicrobial use, local susceptibility data, recommendations of treatment guidelines), (4) patient factors and (5) culture results. An antimicrobial therapy is defined as empiric, if it is not based on sampling and antimicrobial susceptibility testing results, but only on own experience, (local) epidemiological data or treatment guidelines. At present, most initial antimicrobial therapies in veterinary medicine are empiric, especially with severe cases, as the time between sampling and availability of the antibiogram takes a minimum of two days under optimal conditions. When an antibiogram is available the already initiated antimicrobial therapy can be evaluated as appropriate (bacteria are susceptible to the antimicrobial currently used) or inappropriate (bacteria are resistant to the antimicrobial). Treatment failure is best defined as persistence or deterioration of clinical signs while under a given antimicrobial therapy. One major goal of rational antimicrobial use is to reduce resistance selection. Therefore, the number of animals and the number of bacterial species exposed as well as the duration of the exposure need to be minimized. Switching from group-to-individual treatments, de-escalation, reducing treatment duration, oral-to-parenteral conversion, dose optimization and a scheduled switch of antimicrobials are possibilities to achieve this. In the lecture, these concepts will be applied to pneumonia, calf diarrhea, neonatal septicemia and omphalitis. Current pitfalls, shortcomings in evidence and the potential of novel technologies to make rational antimicrobial use better possible in veterinary medicine will be covered.

Kirurški posegi pri majhnih živalih – klinični primeri

Jožko Račnik^{1*}, Marko Zadavec¹

¹Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

*Odgovorni avtor,

e-mail: josko.racnik@vf.uni-lj.si

Majhne živali - kanarčki, skobčevke, nimfe, hrčki, gerbili, leopardji gekoni, jemski kameleoni so pogosto veterinarski pacienti. Pri njih lahko ugotovimo različne bolezni in mnoge med njimi (npr. tumorje, rane, zlome kosti) lahko uspešno zdravimo s pomočjo kirurgije. Čeprav obstajajo nekatere posebnosti, ki so najpogostejše posledica drugačne anatomije in fiziologije ter majhnosti pacienta, so priprava na kirurški poseg in osnovne kirurške zakonitosti in tehnike tudi pri teh vrstah dokaj podobne v primerjavi z ostalimi vrstami malih živali. Pred vsakim kirurškim posegom s kliničnim pregledom temeljito ocenimo zdravstveno stanje pacienta. Po potrebi opravimo tudi laboratorijske diagnostične preiskave (hemogram, biokemija, preiskava urina), žival rentgensko slikamo in ultrazvočno pregledamo. Žal nemalokrat zaradi majhnosti pacienta dobimo s kliničnim pregledom omejeno količino podatkov ali pa določenih preiskav zaradi invazivnosti odvzema vzorcev (npr. odvzem krvi) ne moremo rutinsko opraviti. Za varno kirurško anestezijo najpogostejše uporabimo hlapne anestetike v kombinaciji z analgetiki in sedativi. Če je mogoče, pacienta tudi intubiramo in nadziramo dihanje. Med kirurškim posegom nadzorujemo vitalne funkcije ter preprečujemo ohlajenje pacienta. Uporabimo grelne blazine, jih ovijemo v izolacijske materiale, apliciramo toplo infuzijo in čas posega skrajšamo na minimum. Pazimo, da je ob operaciji izguba krvi čim manjša in rokovanje s tkivom nežno. Priporočamo uporabo ustreznega, mikrokirurškega orodja in primernih retraktorjev. Za dobro in jasno vidnost tkiv lahko uporabimo tudi povečevala in lupe. Nujen je dober in usmerjen vir svetlobe (kirurška luč in/ali naglavna luč). Po posegu blažimo bolečino z opioidnimi in/ali nesteroidnimi analgetiki. Stres pred in po posegu manjšamo in preprečujemo z ustreznimi ukrepi, kot so odsotnost plenilcev, ustrezna osvetlitev in temperatura okolja ter odsotnost hrupa. V predavanju bomo na podlagi kliničnih primerov predstavili nekatere kirurške posege pri majhnih živalih, osnovna kirurška priporočila in tudi omejitve.

Ključne besede: majhne živali; kirurgija; osnovna kirurška priporočila; klinični primeri

Reference

1. Bennett RA Rodents: soft tissue surgery. In: Keeble E and Meredith A, eds. BSAVA Manual of Rodents and Ferrets. Gloucester: British Small Animals Association, 2009.
2. Doneley B Avian Medicine and Surgery in Practice Companion and Aviary Birds. Boca Raton: CRC Press, 2016.
3. Hernandez-Divers SJ Surgery: principles and techniques. In: Girling SJ and Raiti P, eds. BSAVA Manual of Reptiles, Second edition. Gloucester: British Small Animals Association, 2004.

Surgery of very small animals – clinical cases

In recent years, very small animals such as canaries, budgerigars, cockatiels, hamsters, gerbils, leopard geckos, and chameleons have increased in popularity as pets. They are presented to veterinary practitioners with variety of reasons and many of diseases can be treated surgically. Even though very small animals have many different anatomical and physiological features, basic surgical principles and techniques remain similar as those used in domestic animals. Appropriate pre-surgical assessment should be performed in a form of prompt physical examination, laboratory diagnostics (blood work, serum biochemistry, urine analysis) and imaging such as

radiology and ultrasonography. For maintaining surgical anesthesia, inhalational anesthetic agents in combination with parenteral agents are most commonly used. If possible, tracheal intubation of all animals is advisable. Vital signs should be monitored, however in some cases they cannot be evaluated as accurately as in larger patients. During surgery, various techniques have been used to maintain body temperature including heating pads, isolation materials and warmed infusion fluids. It is recommended to use instruments and techniques that minimize tissue damage and blood loss. Surgical magnification and appropriate focal light source is necessary for identifying fine tissue structures. After surgery, pain and stress should be minimized using proper pain medication including opioids and/or nonsteroidal drugs. The aim of this presentation is to present basic surgical cases in very small animals. In order to maximize surgical outcome basic principles and common drawbacks will be presented.

Key words: very small animals; surgery; basic principles; clinical cases

One Welfare, why should vets care?

Dr. Rebeca Garcia Pinillos

Founder and Director One Welfare C.I.C.

This talk introduces the concept of One Welfare and the global consultation and dissemination work undertaken by the speaker to develop a global One Welfare framework supported with relevant practical examples.

The concept of One Welfare recognises the interconnections between animal welfare, human wellbeing and their physical and social environment.

Generally veterinarians tend to focus mainly on the health and welfare of animals under their care. The concept of One Welfare helps to describe how animal welfare can have wider implications, and the added value that each individual area may bring to the others. A One Welfare approach encourages the integration of the direct and indirect links between animal welfare, human wellbeing and environmentally friendly animal keeping systems. This concept enables the means to improve animal welfare, human and environmental wellbeing at local level worldwide as a basis for expanding opportunities within a number of disciplines related to the veterinary profession's role in sustainability including, for example, farming, livelihoods support or science industries.

The One Welfare Framework is made up of five sections which can help to promote key global objectives such as supporting food security, reducing human suffering (e.g. abuse and neglect of vulnerable people) or increasing resilience and security for communities in developing countries. It complements and extends the approach of the One Health theme used for human and animal health.

By starting to use the term 'One Welfare' within the Veterinary profession we can contribute to help identifying case studies and best practice which provide added value to society and contributors across animal welfare, human wellbeing and/or the environment.

Reference

Garcia Pinillos, R. One welfare: a framework to improve animal welfare and human well-being. CABI, ISBN: 9781786393845 2018

HoBi-like pestivirus: emergence, global spreading and clinicopathological features

Nicola Decaro, Maria Stella Lucente, Canio Buonavoglia

Department of Veterinary Medicine, University of Bari, Strada per Casamassima Km 3, 70010 Valenzano (Bari), Italy

The epidemiological and clinicopathological features of the infection caused by a novel bovine pestivirus, namely “HoBi” virus are reported. The virus emerged in South America, where it is now widespread, and it was subsequently reported in Asia. In 2010, HoBi-like strains were isolated from outbreaks of respiratory disease and reproductive failures in cattle herds of southern Italy. At the pathobiological level, HoBi-like pestivirus infection had the same outcome as bovine viral diarrhoea virus types 1 (BVDV-1) and 2 (BVDV-2), including: i) presence of cytopathogenic (cp) and noncytopathogenic (ncp) strains; ii) birth of persistently infected (PI) animals that are pestivirus seronegative (immunotolerance); iii) occurrence of mucosal disease in PI animals as a consequence of the emergence of cp strains in ncp-virus PI animals; iv) severe economic impact on cattle productions. Experimental infection of animal species, traditionally susceptible to pestivirus infections, was successful in cattle, sheep, goats and swine, albeit with various outcomes according to the different species and studies. Natural infections of sheep and goats by this group of emerging viruses were later reported in Asia. At the immunological level, HoBi-like pestiviruses displayed a poor serological cross-reactivity with BVDV-1/BVDV-2 and BVDV-3, which raised some concerns about the ability of currently available vaccines, mostly containing BVDV-1, to protect effectively against the new pestiviral species. Molecular tool were also developed to overcome the limitations of available diagnostic assays, thus ensuring the unambiguous molecular characterisation of all pestiviruses circulating in ruminants. Additional studies are required to assess the circulation of this pestivirus in Europe and to evaluate the real need to develop specific vaccines.

References

- Bauermann FV, Ridpath JF. HoBi-like viruses - the typical ‘atypical bovine pestivirus’. *Anim Health Res Rev* 2015; 16: 64-9.
- Bauermann FV, Ridpath JF, Weiblen R, et al. HoBi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. *J Vet Diagn Invest* 2013; 25: 6-15.
- Decaro N, Mari V, Lucente MS, (...), et al. Bovine viral diarrhoea virus type 3: A new threat to italian cattle industry? *Large Animal Review* 2013; 19: 174-85 [article in Italian].



Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veletrgovnica za prodajo zdravil z najširšo ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikujejo nas hitrost, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravstvene in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost ponuja nešteto izzivov. Premagamo jih lahko z nenehnim izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko izbiro zdravil ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev opravičevali tudi v prihodnje!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si



Naloge veterinarjev v čebelarstvu

Ivana Tlak Gajger^{1*}

¹ Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

* ivana.tlak@vef.hr

Čebele so ekonomsko in naravovarstveno pomembne žuželke, saj z opraševanjem povečujejo kmetijsko proizvodnjo in ohranjajo biotsko raznolikost. Zaradi različnih stresorjev v okolju ter povzročiteljev bolezni in škodljivcev čebel se zmanjšuje vitalnost čebel in povišuje smrtnost čebeljih družin. Dejavniki tveganja že sami zase vplivajo na čebelje družine, lahko pa se med seboj dopolnjujejo, zato je razumevanje teh tveganj in njihovih morebitnih interakcij svojevrsten izziv za veterinarje in čebelarje. Ključno vlogo imajo veterinarji, saj skrbijo za zdrave čebeljih družin ter nadzirajo in izkoreninijo bolezni, ki se zatirajo po zakonu. Vloga veterinarjev je tudi skrb za neoporečne čebelje pridelke v prehrani ljudi. Veterinarji morajo biti zato usposobljeni in imeti tudi mnoga praktična znanja za različne veterinarske dejavnosti v čebelnjaku. Vsej teh kompetenc pa pri rednem dodiplomskem študiju veterinarske medicine ne dobijo dovolj. Namen predavanja je predstavitev najpomembnejših nalog veterinarjev v čebelnjaku, kot je klinični pregled čebeljih družin, prepoznavanje bolezenskih znakov na čebelji zalegi, čebelah in čebelji družini ter pravilen odvzem uradnega vzorca. Predstavljene bodo osnove laboratorijske diagnostike, nadzor nad nevarnimi boleznimi ter preprečevanje in ukrepi za njihovo izkoreninjenje. Ker je čebelarstvo ogroženo, bo beseda tudi o glavnih dejavnikih za tako stanje in njihovem medsebojnem delovanju.

Ključne besede: čebelje družine; čebelnjak; naloge veterinarjev

Implementing of veterinary profession in beekeeping

Honeybees are economically and ecologically important insects because they enhance agricultural productivity and help maintain biodiversity by engaging in valuable pollination. The influences of multiple environmental stressors, pathogens and pests have been recognized as a possible cause of the decreased strength or increased mortality of honeybee colonies. Understanding of risk factors for honeybee colony losses present unique challenge for beekeepers and veterinarians because of possible co-occurrence of more stressors that can act indirectly, in association or synergistically. Health of honey bee colonies is crucial in successful beekeeping. Veterinarians have a vital role in the health of honey bee colonies and their notifiable disease control and eradication. Also, honey bee colonies are reared mainly because of apian products production intended mainly for human consumption. This veterinary position is reflected in all regulated areas worldwide. It is an area of veterinary medicine to which under graduate students get little exposure during their regular studies of veterinary medicine, but as veterinarians they should have knowledge about practical skills with clinical examinations of honey bee colonies and other veterinarian tasks at apiaries. Aim of this lecture is to present main veterinarian's tasks in apiary: clinical inspection of honeybee colony, recognizing of disease signs on brood and adult bees, official sampling, basic of laboratory examinations, and presentation of serious disease control, preventive and eradication measures. Also, because health crisis is preset in beekeeping sector, influence of the main causative factors and their interactions will be discussed.

Key words: honeybee colonies, apiary, veterinarian's tasks

Veterinary Microbiology for the clinician

Assoc. Prof. Bryan Markey,

Assoc. Prof. of Veterinary Microbiology, Veterinary Sciences Building, School of Veterinary Medicine, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland.

Many diseases of animals can be diagnosed on the basis of clinical signs together with pathological findings. However, confirmation of the involvement of specific microbial pathogens often requires recourse to a diagnostic microbiology laboratory.

Laboratory testing can be both expensive and time consuming, so it is important to ensure that both the sample collected and the tests requested are appropriate. Samples should be collected aseptically from the edge of affected site(s) as early as possible after the appearance of clinical disease. Collect as wide a range of samples as possible to permit greater flexibility in choosing the most appropriate assays. In the case of a group of animals it is advisable to collect samples from both clinically affected and in-contact animals. As a guide a minimum of three to six animals should be sampled. However, it may be more convenient and cheaper to consider using pooled samples. Bulk milk tank testing is a very cost effective way of assessing a dairy herd for infection but test sensitivity is reduced where herd size is large and the dilution effect is large.

Laboratory tests fall into two broad categories:

- Direct detection of the infectious microorganism
- Indirect detection of the presence of an infectious organism through evaluation of the immune response of the animals exposed, typically the humoral response (as detected by serological tests)

Interpretation of test results is not always straight forward and requires:

- consideration of all the available information such as case history, clinical signs, pathology
- judgement based on experience and knowledge of both the pathogenesis of the disease and the characteristics/limitations of the test being used

The isolation of an infectious agent is not always significant. For example the mere detection of an opportunistic pathogen such as *Escherichia coli* may not necessarily indicate a causal relationship. An evaluation of the quantity of microorganism present and/or detection of virulence factors may be a useful guide in such cases. On the other hand a negative test result does not necessarily rule out the involvement of a particular infectious agent. Reasons for a negative result could include cessation of shedding, intermittent shedding, loss of viability, degradation of sample, poor test sensitivity and inappropriate sample.

The power of poo – Non-invasive endocrine monitoring of reproduction and stress in wildlife

Andre Ganswindt

Mammal Research Institute, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Pretoria, South Africa;

andre.ganswindt@up.ac.za

Although possibly subject to change, wildlife is still often defined as organisms that have not been domesticated or tamed and are usually living in its natural environment. Thus, wildlife plays an important role in maintaining the ecological equilibrium of nature. However, due to progressing global resource utilization, an increasing amount of wildlife has to be managed in an attempt to balance its basic needs with the needs of people. Under these circumstances, the ability to monitor key reproductive events, such as ovulation and pregnancy, greatly facilitate attempts to manage wildlife populations by helping to either support or prevent population growth. In this regard, animal welfare is nowadays recognised to be a crucial component when managing wild animals. Especially the avoidance of stress, defined as a state of perturbed homeostasis, plays an increasingly important role in wildlife management. As stress is generally regarded as antipathetic to welfare, things can get challenging when wildlife encounter unfamiliar or prolonged stressors related to management interventions.

Monitoring alterations in hormone concentration is a precise and widely accepted approach for examining reproductive function and responses to stressors. Although hormones can be measured in various biological matrices, non-invasive methods have gained popularity over the past decades as a more practical approach for assessing ovarian, testicular and adrenocortical activity in especially intractable wildlife species. By using a series of case studies focussing on aspects like basic reproductive profiling, as well as endocrine correlates of secondary sexual traits, habitat conditions, translocation, or anthropogenic disturbance, this presentation will highlight the importance of non-invasive hormone analysis as a valuable tool for monitoring regulative endocrine mechanisms linked to reproduction and stress in wildlife, thereby underlining its assisting role during management and welfare decisions.

Ugotavljanje hormonskega stanja živali z določanjem koncentracije hormonov v dlaki

Tomaz Snoj

Inštitut za predklinične vede – Enota za farmakologijo in toksikologijo, UL - Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenija.

tomaz.snoj@vf.uni-lj.si

Številne snovi endogenega in eksogenega izvora iz krvi prehajajo v dlačni mešiček in se vgradijo v rastočo dlako. Na ta način poleg zdravil, strupov in različnih endogenih snovi prehajajo v dlako tudi steroidni hormoni (1). Hormoni se nahajajo tudi na površini dlake, kamor jih nanesejo izločki kožnih žlez in slina oziroma slina drugih živali v skupini. Koncentracija hormonov v dlaki ni povezana z dnevnimi nihanji hormonov v krvi, ampak prikazuje intenzivnost tvorbe določenega hormona v času rasti dlake. Tako z določanjem koncentracije steroidnih hormonov v dlaki dobimo retrospektivni vpogled v hormonsko stanje organizma. Naša pilotska raziskava kaže, da se v dlaki visoko brejih krav nahaja več progesterona kot v dlaki nebreh. Visoka koncentracija progesterona v dlaki brejih krav je rezultat intenzivne sinteze tega hormona v placenti. V drugi, poglobljeni raziskavi smo vrednotili stresni odziv živali z določanjem glukokortikoidov v dlaki. Ugotovljeno je bilo, da se v dlaki krav, ki so bile tretirane z zdravili za odganjanje krvosesnih insektov, nahaja manj kortizola kot v dlaki krav z iste farme, ki tega zdravila niso prejemale (2). Stalna prisotnost krvosesnih insektov pri živalih povzroča stres, pri odgovoru organizma na stres pa se poveča tvorba kortizola, kar se odrazi z višjo koncentracijo tega hormona v dlaki. Z določanjem hormonov eksogenega izvora v dlaki se lahko ugotavlja morebitna zloraba hormonov kot pospeševalcev rasti. Sintetični testosteron, progesteron in 17 β -estradiol v obliki valerata, benzoata, propionata ali drugih estrov bi se lahko zlorabljali za pospeševanje rasti. V organizmu estri steroidnih hormonov hitro hidrolizirajo na prosti hormon, ki ga je z običajnimi kemijskimi metodami nemogoče razlikovati od naravnega, endogenega hormona, in na ostanek estra (valerianska, benzojska, propionska kislina...). Eksogeni hormon v obliki estra se vgradi v rastočo dlako, kjer se ne presnovi, ostane v prvotni obliki, s kemijskimi metodami pa je možno dokazati njegovo prisotnost (3).

Reference

1. Snoj T, Čebulj-Kadunc N, Nemec Svete A, Kobal S. Determination of sex hormones in rat hair after administration of testosterone propionate and estradiol valerate. *Slo Vet Res* 2012; 49: 27-34.
2. Nedić S, Kirovski D, Vujanac I, Prodanović R, Jovanović L, Kobal S, Snoj T. Preventing ectoparasite infestations reduces glucocorticoid concentrations in the hair of cows – short communication. *Acta Vet Hun* 2018; 66: 390-3.
3. Stolker AAM, Groot MJ, Lasaroms JJP, Nijrolder AWJM, Blokland MH, Riedmaier I, Becker C, Meyer HHD, Nielen MWF. Detectability of testosterone esters and estradiol benzoate in bovine hair and plasma following pour-on treatment. *Anal Bioanal Chem* 2009; 395:1075-87.

Determination of the hormonal status of animals by measuring the hormone concentration in the hair

Several endogenous and exogenous compounds pass from blood to hair follicle and thus can incorporate in growing hair. Beside drugs and poisons several endogenous compounds such as steroid hormones can be incorporated in the hair by this pathway (1). Hormones are also present on the surface of the hair. They are transported to the hair surface by sweat, sebum, saliva or saliva of other animals in the group. Hair hormone's level is not associated with daily blood fluctuations and so it expresses the intensity of hormone production during the period of hair growth. Thus, the determination of hormone level in hair provides retrospective estimation of hormonal status of the organism. Our preliminary study showed that hair of pregnant cows contains more progesterone in comparison to

hair of non-pregnant cows. High hair progesterone level is a result of intensive placental progesterone production. In another study we evaluated stress response by determination of hair corticosteroids concentration. It was found that prevention of ectoparasite infestation in cattle reduces hair cortisol level in comparison to hair of untreated cows (2). The presence of blood-sucking insects causes stress and high cortisol production as a response to stress results in intensive cortisol loading into the hair. Additionally, the determination of hormones in the hair is useful for the control of hormonal growth promoters abuse. Synthetic testosterone, progesterone and 17β -estradiol in the form of valerate, benzoate, propionate or other esters are used in some countries as growth promoters. In the organism these esters hydrolyze to free hormones - which cannot be distinguished from endogenous hormones - and valeric, benzoic, propionic acid...). Exogenous hormones in the form of esters can be incorporated in the growing hair, where they are not metabolized and thus can be detected by appropriate chemical methods (3).

NARAVA IN ZNANOST

V POPOLNI HARMONIJI



PRVA NARAVNA VETERINARSKA DIETA

[Farmina.com](https://www.farina.com)

Uvoznik in distributer za Slovenijo: DJ PLUS d.o.o., Ob Savinji 5, 3313 Polzela



Does Vets' Work Benefit Wider Society?

Milorad Radakovic

*Corresponding author: Milorad Radakovic mr412@cam.ac.uk

The traditional veterinary clinical role of treating all animal species is well known and appreciated by the public. However, the benefits of non-clinical veterinary work are not widely understood by society.

All veterinarians, collaboratively with others, provide benefits for animals, humans and the environment they share. Vets' contribution to the 'One Health Concept' (or Veterinary Public Health) has been acknowledged by the UN Food and Agriculture Office (FAO), World Organisation for Animal Health (OIE) and the World Health Organisation (WHO) in **'A Tripartite Concept Note'** (1) on *"Sharing responsibilities and coordinating global activities to address health risks at the animal-human-ecosystems interfaces"*. FAO (2) summarises the veterinary contribution as *"Over the years veterinary professionals have played significant and contributory roles in animal and human health and welfare, food quality, food safety, food security, ecology, ethology, epidemiology, physiology, psychology, development of drugs and pharmaceuticals, biomedical research, as educators, trainers, and policymakers, and in wildlife conservation, and the protection of the environment and biodiversity."*

In the **'Vet Futures Report'** (3), the UK Royal College of Veterinary Surgeons (RCVS) and British Veterinary Association (BVA) acknowledged more needs to be done in promoting different career paths and the wider roles of vets in society. The UK Veterinary Public Health Association (VPHA) and the Association of Government Veterinarians (AGV) Conference in Birmingham in 2016 **'VPH Hands on-making a difference together'** explored with delegates whether different audiences such as politicians, business, industry (farming, trade, food), other professionals and the public need the different messages about vets wider involvement and contribution to society. Perhaps, non-clinical veterinarians should start communications with *'I am a vet and (not 'but')... I have an exciting non-clinical career from which wider society benefits.'* The use of the word *and* instead of *but* is more representative of the broad and continuously evolving scope of the veterinary profession. This terminology should therefore be used when explaining vets' contribution to the UN Sustainable Development Goals (4). It would read *'I am a vet **and** I contribute to the Sustainable Goals for example on the clean water and sanitation, responsible production and consumption etc. by*

References

1. The FAO-OIE-WHO Collaboration. Sharing responsibilities and coordinating global activities to address health risks at the animal-human-ecosystems interfaces: a tripartite concept note, 2013. http://www.who.int/influenza/resources/documents/tripartite_concept_note_hanoi/en/ (22 November 2018)
2. Cáceres SB. The Roles of Veterinarians in Meeting the Challenges of Health and Welfare of Livestock and Global Food Security. *Vet Res Forum* 2012; 3(3), 155-57.
3. Vet Futures. Taking charge of our future: A vision for the veterinary profession for 2030, 2015. <https://www.vetfutures.org.uk> (22 November 2018)
4. UN Sustainable Development Goals, 2015 <https://www.un.org/sustainabledevelopment/sustainable-development-goals/> (22 November 2018)

Insects as novel protein source for food and feed

Mia Eeckhout, E.M.

Laboratory for Feed Technology, Faculty of Bioscience-engineering, Ghent University of Belgrade, Valentin Vaerwyckweg 1, 9000 Gent

*Corresponding author:

E-mail address: mia.eeckhout@ugent.be

The last decade will be remembered by researchers, companies and regulatory bodies as the decade in which insect breeding and use of insect products in food and feed were proposed as a sustainable alternative for animal breeding and animal protein. With regard to food, insect breeding showed to be more efficient than the breeding of land animals, using less water, food and surface. With regard to feed, insects showed to be able to transform locally produced low value by-products of agro-food industry, waste and even manure into insect protein and fat, both of which might be good alternatives for imported soy meal and fish meal.

With regard to human consumption the difference should be made between the consumption of insects as such and the transformation of insect components as insect fat into food products. The first seems rather trendy and is judged as “novel” from a European point of view. As it is trendy and not fully accepted by nowadays consumers, one might doubt the existence of a European market for these products. The latter may be more realistic, as insect fats might be able to replace f.e. palm oil in oil-based products.

With regard to animal feed insects got our attention as local producers of high value proteins and fat, reared on low value side streams from agro-food industry judged as chemically and microbiologically safe. On the other hand they are seen as transformers of waste and manure into products for non-food applications.

Numerous European and national research projects have been elaborated during the last decade, most of them with a broad interest from food and feed industry. Topics of research are on the rearing of insects, the food and feed hazards, the feed conversion, the nutritional value, functional properties, the effects on the animal product, the automation, the sustainability, the biodiversity, etc...

At the beginning of the decade legislation was still lacking but today we see that national as well as European authorities took important steps forward, at one side to open doors for the use of insects in food and feed, on the other side to safeguard animals' and consumers' health.

Key words: insects; novel food; animal feed; legislation; research

Quo vadis African Swine Fever?

Klaus Depner

Friedrich-Loeffler-Institut, Federal Research Institute for Animal Health, 17493 Greifswald-Riems

Klaus.depner@fli.de

African swine fever (ASF) is considered internationally as one of the most dangerous animal diseases of swine, affecting trade and having serious socio-economic impact on people's livelihood. No drugs or vaccines are available to fight ASF. The most recent and severe epidemic which started in Georgia in 2007, spread throughout the Caucasus and the Russian Federation, reaching the European Union and China. In many countries the disease has become endemic in domestic pigs and wild boar. In wild boar populations ASF shows a pattern of habitat bound persistence lacking a tendency of dynamic spatial spread.

The high tenacity of the virus ensures its long term persistence in the environment, high case fatality rate makes the virus largely available, and the relatively low contagiousity prevents the rapid and complete depletion of the host population. The interaction of these three parameters maximizes both local persistence and geographical spread of the virus making its eradication a challenge.

Humans are recognized as the main cause of both long- distance transmission and virus introduction into domestic pig farms. Thus, it has become crucial to include social science when planning prevention-, control-, and eradication-measures. By considering only the biological particularities of the disease, contagiousity, tenacity and case fatality rate, but ignoring the human aspects, the epidemic will not be controlled.

Key words: geographical spread; transmission; control measures; anthropogenic factors

African swine fever in wildlife: lessons learned

Dr. Paulius Busauskas

State Food and Veterinary Services, Lithuania

- The biology of wild boar
- Surveillance
- Control measure
- Biosecurity during hunting

On 24th of January in 2014 Lithuania notified two primary cases of African swine fever (ASF) in wild boars. From this period Lithuania notified more than 3000 cases of ASF in wild fauna for hunted and found dead wild boars.

The wild boar inhabits a diverse array of habitats from boreal taigas to deserts. The main habitats favored by boars in Europe are deciduous and mixed forests, with the most favorable areas consisting of forest composed of oak and beech enclosing marshes and meadows. How much do we know about the wild boars? In our days there are more questions than answers about how far wild boar can move? Also there are a lot of risk factors to spread the disease in wild boars population. The virus can be transmitted by direct and indirect contacts. The rate of infection also depends of wild boars population size and density.

Based on the practice of 4 years it can be stated that passive surveillance is the golden key do not delay the diagnosis of ASF in free areas. According to risk assessment in high risk areas all found dead wild boars must be tested. Compensation mechanism for reporting of found dead or killed in road incidents wild boars should be foreseen.

The implementation of high biosecurity measures for hunters is one of the main requirements to prevent disease spreading from one area to another. Close cooperation between hunters and competent authorities is crucial. The hunters are our eyes and ears so we need to provide trainings for hunters about biosecurity, explain them the epidemiological role played by wild boars and the major risk linked with hunting activities.

To fight with ASF is quite hard, but then you are well prepared the ASF does not seem so scary.

Outpacing the resistance tsunami: Antimicrobial stewardship in equine medicine

John Prescott

University Professor Emeritus, Department of Pathobiology, University of Guelph, Guelph, Ontario N1G 2W1, Canada.

prescott@uoguelph.ca

Antimicrobial resistance (AMR) is a global threat to modern medicine that requires urgent attention and action by all who use antibiotics, including equine veterinarians. It is hard to get a clear picture of the scale of AMR in equine bacterial pathogens, but resistance generally seems to be increasing over time. AMR problems are most serious in hospitalized horses and include the multi-drug resistant (MDR) “ESKAPE” pathogens, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA. AMR is fortunately not inevitable. For the horse, *Streptococcus zooepidemicus* remains exquisitely sensitive to penicillin G despite its extensive use in horses for many decades. The increasing use of ceftiofur as an alternative to penicillin is associated with increasing ceftiofur resistance of equine origin *Escherichia coli*.

Antimicrobial Stewardship (AMS) describes the multifaceted approaches required to sustain the efficacy of antibiotics and minimize the emergence of antimicrobial resistance (AMR) (1). The multifaceted AMS approach involves the “5R” approach principles of Responsibility, Reduction, Replacement, Refinement, and Review (1). There is considerable room for improvement of AMS by equine veterinarians, examples of which will be given. The British Equine Veterinary Association (BEVA) has developed a very practical, prize-winning, “5R” approach to developing practice guidelines, PROTECT ME (2). A recent Australian study has shown that both equine surgical prophylaxis and treatment protocols are suboptimal compared to BEVA practice guidelines (3). Poor infection control practices by some equine veterinarians is highlighted by studies of the epidemiology of MRSA and hand hygiene.

References

1. Weese JS, Page S, Prescott JF. Antimicrobial stewardship in animals. In: Giguère S, Prescott JF, Dowling PM, eds. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 5th ed. Iowa: John Wiley and Sons, 2013:117-132.
2. <https://www.beva.org.uk/Resources-For-Vets-Practices/Medicines-Guidance/Protect-me>.
3. Hardefeldt LY, Browning GF, Thursky K, et al. Antimicrobials used for surgical prophylaxis by equine veterinary practitioners in Australia. Equine Vet J. 2018; 50:65-72.

Klinični primer multinodularne fibroze pljuč pri konju

Petra Kramarič, Tomislav Paller

UL Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

petra.kramaric@vf.uni-lj.si

Ekvidi so lahko okuženi z vsaj 11 različnimi tipi virusov herpes. Gama herpes virusi (EHV – 2 in EHV – 5) so virusi z nedefinirano patogenostjo, izražajo se neredno in povzročajo različne klinične znake, najmanj poznan je virus EHV – 5. Povezujejo ga z multinodularno fibrozo pljuč z značilnimi makroskopskimi in histološkimi značilnostmi. Kobilica pasme KWPN, stara 12 let, je zbolela z visoko temperaturo 39,5 – 40,5°C, povišano frekvenco in globino dihanja in zmanjšanimi respiratornimi šumi, kašljem, seroznim nosnim izcedkom, tahikardijo. V času trajanja bolezni je bila letargična in je hitro izgubljala telesno težo. Na RTG slikah so bili vidni številni difuzno razporejeni noduli po celotnem pljučnem polju, z ultrazvočno preiskavo pa dobro definirane 1 – 2 cm nodularne lezije na površini pljuč. Citološka preiskava vzorcev bronhoalveolarne tekočine je pokazala neznačilno nevtrofilno vnetno reakcijo. Kobilica je poginila po 3 tednih zdravljenja s kortikosteroidi, antibiotiki ter podpornim zdravljenjem. Pri raztelesbi smo ugotovili difuzno multinodularno fibrozo pljuč; pljuča so bila izrazito čvrsta, vezivasta, sivkasto rdeča. S patohistološko preiskavo smo ugotovili izrazito fibrozno zadebelitev interalveolarnih pretinov, ki so bili infiltrirani s posameznimi mononuklearnimi vnetnimi celicami. Zaradi močnega brstenja veziva je bilo število alveol zmanjšano, še ohranjeni pa so bili napolnjeni z deskvatom, makrofagi in nevtrofili. V posameznih makrofagih smo opazili eozinofilne intranuklearne inkluzije. Opisane patomorfološke spremembe so značilne za infekcijo z EHV – 5, kar je bilo potrjeno tudi z molekularnimi metodami. Po ugotovitvi vzroka bolezni so bili odvzeti vzorci nosnih brisov vsem konjem v hlevu kjer je nazadnje živela kobilica.

Ključne besede: ekvina multinodularna fibroza pljuč; virus EHV – 5; izvid raztelesbe

Clinical case of multinodular pulmonary fibrosis in a horse

Equids may be infected by at least 11 different herpes viruses. Gammaherpesviruses (EHV-2 in EHV-5) are viruses which pathogenicity is still ill-defined, with irregular expression of clinical signs, EHV – 5 is the less known virus. It is connected with multinodular pulmonary fibrosis with characteristic associated macroscopic and histological features. A mare, KWPN breed, 12 years old was presented with fever 39,5 – 40,5°C, increased respiratory rate and depth and decreased respiratory sounds, cough, mucosal nose fluid and tachycardia. In the time course of disease she was been lethargic and was losing the weight rapidly. On the x-rays there were multiple nodules visible overall the lung field and on the ultrasound well defined 1 – 2 cm nodular lesions on the surface of the lungs. Cytological examination of the bronchoalveolar lavage fluid showed non specific neutrophil inflammation. The mare died after 3 weeks of treatment with corticosteroids and antibiotics including supportive treatment. Necropsy revealed diffuse and multinodule pulmonary fibrosis. Lungs were very firm, fibrous and greyish red colour. Histopathological examination showed fibrotic thickening of the interalveolar septa, with mononuclear cell infiltration. There were less alveolae, which were filled with cell desquamate, macrophages and neutrophils. In some macrophages were eosinophilic intranuclear inclusions. Infection with EHV – 5 was confirmed with molecular methods. After the cause of disease was established, nose swabs were taken from all the horses where the mare has been stabled.

Key words: equine multinodular pulmonary fibrosis; EHV – 5 virus; necropsy findings

KRATKA PREDAVANJA

Kognitivna motnja pri psih – kaj se dogaja v pasjih možganih

Sonja Prpar Mihevc¹, Maja Zakošek Pipan¹, Malan Štrbenc¹, Gregor Majdič^{1,*}

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* gregor.majdic@vf.uni-lj.si

Kognitivna motnja pri psih je bolezen imenovana tudi pasja demenca, oboleli psi kažejo podobne simptome kot ljudje z Alzheimerjevo boleznijo (AD). Tipični simptomi pasje kognitivne motnje so nemirnost, slaba orientacija, dolgotrajno strmenje v stene in predmete, izgubljanje na znanih mestih, lajanje brez razloga, spremembe apetita, spremembe v spalnih vzorcih... Bolezen se pojavi pri psih starih 8 let ali več in je prisotna pri več kot 60 % psov starejših od 13 let. Mikroskopske spremembe v možganih človeških bolnikov z AD vključujejo nastanek senilnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj kot posledice kopičenja proteinov amiloid-beta in TAU. Cilj naše študije je raziskati te patološke akumulacije v možganih psov s kognitivno disfunkcijo. Depozite amiloida-beta, fosforiliranega TAU Ser181 (pTau Ser181) in fosforiliranega TAU Ser262 smo zaznali v možganih psov s kognitivno motnjo (v možganskih skorjah in hipokampusu) z imunohistokemičnimi barvanji. Poleg tega smo v teh možganih opazovali še izražanje proteinov TDP-43 in FUS, saj sta njuna citoplazemska agregacija in pomanjkanje v jedru povezana z neurodegenerativnima obolenjema amiotrofična lateralna skleroza (ALS) in frontotemporalna demenca (FTD). Celično porazdelitev teh proteinov smo zaznali s protitelesi proti proteinom GFAP (astrociti), TUBB3 (nevroni), NEUN (motorični nevroni). Nevroinflamacijo pa z imunocitokemičnimi barvanji proti proteinu IBA1, ki ga izražajo celice glia. Poleg tega smo izolirali mezenhimske matične celice (MMC) iz pasje maščobe, iz kontrolnih in dementnih psov, in v njih spremljali izražanje označevalcev povezanih z AD, ALS in FTD. MMC imajo dokazano protivnetno in imunomodulatorno vlogo in bi se lahko uporabile kot lahko dostopen celični tip za celične terapije kognitivne motnje psov.

Ključne besede: kognitivna motnja; pes; Alzheimerjeva bolezen; beta-amiloid; TDP-43

Canine cognitive dysfunction – what is happening in the dog brain

Canine cognitive dysfunction (CCD) is a disease in dogs that exhibit symptoms of dementia or Alzheimer's disease (AD) shown in humans. Typical symptoms of CCD present as anxiousness, disorientation, staring for long periods of time, getting lost in familiar places, barking for no reason, appetite changes, sleeping pattern changes... The disease onset can be observed in dogs older than 8 years and is present in more than 60% of dogs aged more than 13 years. Microscopical changes in the brains of human AD patients include the formation of senile plaques and neurofibrillary tangles as consequences of depositions of amyloid-beta and TAU proteins. The aim of the present study was to investigate these pathological accumulations in the brains of dogs with cognitive dysfunction. Immunohistochemically, amyloid-beta deposition, phosphorylated TAU Ser181, and phosphorylated TAU Ser262 were detected in several brain regions of CCD affected canine brain (cerebral cortices, hippocampus). Furthermore, the expression of proteins TDP-43 and FUS was observed in these brains, since their cytoplasmic aggregation and nuclear clearance is related to neurodegenerative conditions amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD). The cellular distribution of these proteins was detected by antibodies directed against proteins GFAP (astrocytes), TUBB3 (neurons), NEUN (motor neurons), and neuroinflammation was monitored by immunocytochemical staining against IBA1 protein, which is expressed by glia cells. Moreover, adipose tissue derived mesenchymal stem cells (ASCs) were isolated from control and CCD affected dogs and their expression of AD, ALS, and FTD related markers was assessed, due to the proven anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of ASCs, which could be used as a stepping stone to treat canine dementia.

Key words: canine cognitive dysfunction; dog; Alzheimer's disease; beta-amyloid; TDP-43

Pospešeni kemoradioterapevtski protokol obsevanja za zdravljenje ustnega ploščatoceličnega karcinoma pri 9 mačkah

Ana Rejec¹, Janoš Butinar¹, Ana Nemec¹, Jerome Benoit²

¹ Bolnica za živali Postojna, Postojna, Slovenija, ² Oncovet, Lille, Francija

* e-mail kontaktne osebe (ana.rejec@ahp.si)

Ploščatocelični karcinom (PCK) pri mačkah predstavlja približno 60% vseh ustnih tumorjev. PCK lahko izvira iz dlesni, ustne sluznice, jezika, žrela in grla ter tonzil. Če je bolezen odkrita dovolj zgodaj je ustrezna oblika zdravljenja PCK-ja kirurška resekcija. Pri mačkah pa na žalost PCK še vedno predstavlja velik terapevtski izziv, saj se velikokrat odkrije prepozno, ko je bolezen že napredovala do te mere, da so možnosti za kirurško zdravljenje močno zmanjšane. Zaradi zelo specifične biologije PCK-ja standardni radioterapevtski protokoli niso učinkoviti. Pospešeni protokoli obsevanja, pri katerih je celotna doza obsevanja razdeljena v več majhnih odmerkov, apliciranih v krajših časovnih intervalih, so bili razviti z namenom učinkovitejšega zaviranja hitre delitve tumorskih celic in posledično rasti tumorja. Pospešeni kemoradioterapevtski protokol smo uporabili pri 9 mačkah z ustnim PCK-jem (PCK spodnje čeljusti (2), PCK zgornje čeljusti (2), PCK tonzile (2), PCK grla (1), podjezični PCK (2)), kjer kirurška resekcija ni bila mogoča oz. je lastniki niso želeli. Z zdravljenjem s protokoloma 14 frakcij po 3.5Gy v 9 dneh oz. 10 frakcij po 4.5Gy v 10 dneh s karboplatinom kot radisenzibilizirajočo substanco, smo dosegli popolni odziv pri 8/9 mačk (89%) in delni odziv pri 1/9 mačk s sprejemljivimi akutnimi in dolgoročnimi stranskimi učinki. 4 mačke so še vedno žive 1-2 leti po končanem zdravljenju, brez znakov lokalne ponovitve rasti tumorja oz. znakov metastatske bolezni. Predstavljen kemoradioterapevtski protokol je primerna oblika zdravljenja PCK-ja pri mačkah, kadar cilji zdravljenja vključujejo maksimalno kontrolo rasti tumorja z ohranjanjem funkcije in kakovosti življenja.

Ključne besede: radioterapija; ploščatocelični karcinom; mačke

Accelerated chemoradiotherapy protocols for the treatment of oropharyngeal squamous cell carcinoma in 9 cats

Squamous cell carcinoma (SCC) accounts for about 60% of feline oropharyngeal malignancies affecting lips, tongue, gingiva, pharyngeal and laryngeal mucosa and tonsils. Feline oropharyngeal SCC remains a therapeutic challenge indicating local disease control as goal of therapy. Given the advanced stage of the disease at the time of the diagnosis in most feline patients, local surgical excision is usually not considered curative intent treatment. Conventional radiation therapy protocols alone are not able to control feline oropharyngeal SCC possibly due to its very specific tumor biology. Accelerated radiotherapy protocols have been developed to combat rapid tumor repopulation by dividing the total radiation dose into multiple small doses that are delivered at shorter intervals providing better tumor control. Accelerated radiotherapy protocols were applied to 9 feline patients with oropharyngeal SCC (2 mandibular, 2 maxillary, 2 tonsillar, 1 laryngeal and 2 sublingual) where surgery was not possible or was declined by the owner. Protocols using 14 fractions of 3.5Gy over 9-days or 10 fractions of 4.5Gy using carboplatin as radiosensitiser resulted in complete response in 8/9 (89%) and partial response in 1/9 (11%) of patients with acceptable acute and long-term side effects with 4 cats still being alive 1-2 years with no evidence of local tumor recurrence or distant site disease. Although no standardised chemoradiotherapy protocols currently

exist, this therapeutic approach can be a useful addition for the management of oropharyngeal SCC of cats when the goals of the treatment include maximising tumor control while maintaining function and quality of life.

Key words: radiotherapy; squamous cell carcinoma; cats

Vpliv načina poroda na pokazatelje stresa pri novorojenih psih in njihovo preživetje

Aleksandra Slapšak¹, Sara Raspor¹, Maja Zakošek Pipan², Barbara Lukanc¹, Tanja Knific³, Tanja Plavec^{1,4}

¹Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ²Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija,

⁴Tierklinik Hofheim, Hofheim am Taunus, Nemčija

* tanja.plavec@gmail.com

Neonatalna smrtnost pasemskih mladičev je sorazmerno visoka (15 – 25 %), z najvišjimi izgubami med ali tik po porodu. Z ustrezno oceno mladičev po porodu, merjenjem specifičnih biomarkerjev ter primernim ukrepanjem in podporo mladičem, bi lahko smrtnost pri novorojenih občutno zmanjšali. V raziskavi smo ugotavljali vpliv načina poroda (vaginalni porod, elektivni carski rez, urgentni carski rez) na pokazatelje stresa pri novorojenih psih, njihov prirast in smrtnost. S pomočjo ocene po Apgarjevi in meritvami kortizola, glukoze ter laktata smo določili vitalnost mladičev in spremljali njihov prirast. Slednji je bil najnižji pri elektivnem carskem rezu in najvišji pri vaginalnem porodu. Način poroda ni vplival na smrtnost mladičev. Mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom so bili glede na oceno po Apgarjevi najmanj vitalni, najbolj vitalni pa so bili mladiči skoteni po naravni poti, kljub najvišjim vrednostim laktata. Najvišji kortizol, a hkrati najnižjo glukozo v amniju so imeli mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom. Ugotovili smo, da lahko kortizol merimo tako v amniju kot v urinu, laktat pa tako v amniju kot v popkovni krvi. Sklepamo, da lahko z merjenjem laktata, glukoze in/ali kortizola pri mladičih po porodu in z oceno po Apgarjevi učinkovito ločimo zdrave mladiče od tistih, ki potrebujejo veterinarsko oskrbo in tako zmanjšamo poporodno smrtnost. Pri določanju datuma elektivnega carskega reza se moramo čim bolj približati datumu naravnega poroda, saj tako izboljšamo vitalnost mladičev, a hkrati preprečiti pojav urgentnega stanja, ki najpogosteje vodi v smrt ali slabo vitalnost mladiča po porodu.

Ključne besede: novorojenci; ocena po Apgarjevi; laktat; glukoza; kortizol

Impact of parturition type on stress indicators in newborn puppies and their survival

Neonatal puppy mortality is still reasonably high (15-25 %), with most losses occurring during or right after parturition. With proper puppy assessment after birth, measurement of specific biomarkers and proper care, neonatal mortality could be significantly lowered. We researched the impact of parturition type (vaginal parturition, elective and emergency cesarean section) on stress indicators in newborn puppies, their growth and mortality. We determined puppy vitality using the Apgar score, measurements of cortisol, glucose and lactate and monitored puppy growth. The latter was lowest in the elective C-section group and highest in the vaginal parturition group. The parturition type had no impact on puppy mortality. According to the Apgar score puppies born via elective C-section were less viable, whereas those born via vaginal parturition were more viable, despite having the highest lactate concentrations. Puppies born via emergency C-section had the highest cortisol and lowest glucose levels. We found that cortisol can be measured in both amniotic fluid and urine, and lactate in amniotic fluid as well as umbilical blood. We concur that lactate, glucose and/or cortisol measurements in puppies as well as Apgar scoring can help separate healthy puppies from those needing veterinary care. Thus neonatal mortality can be lowered. When selecting a date for the elective C-section we should come as close as possible to the natural date of parturition to ensure the highest puppy viability. At the same time any emergency leading to neonatal death or low puppy viability should be prevented.

Key words: neonate; Apgar score; lactate; glucose; cortisol

Pravna ureditev skrbi za zapuščene živali v nekaterih državah članicah EU: posledice za dobrobit psov in mačk

Urška Kos*, Polona Cankar, Breda Hrovatin

Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Ljubljana, Slovenija

* urska.k@gov.si

Skrb za zapuščene živali je družbena vrednota, ki jo sicer narekuje v pogodbi o delovanju EU navedba, da so živali »čuteča bitja«, vendar način skrbi za zapuščene hišne živali v EU ni enotno reguliran, temveč je urejanje področja prepuščeno vsaki državi članici posebej, da to ureja na nacionalnem nivoju.

Vzroki za zapustitev hišnih živali v družbi so različni. Med primerjanimi DČ so vzroki za zapustitev živali podobni, deleži posameznih vzrokov pa se med DČ razlikujejo.

V prispevku so opisani primeri pravnih ureditev skrbi za zapuščene živali na Švedskem, Združenem kraljestvu, v Belgiji, na Nizozemskem, na Irskem, v Nemčiji in Avstriji, na Poljskem, na Madžarskem, v Italiji, na Hrvaškem in v Sloveniji ter načini izvajanja skrbi za zapuščene živali v naštetih državah. Opisano je tudi delovanje, organiziranost in vloga nevladnih organizacij ter njihov vpliv na pravno ureditev in na izvajanje nadzora v naštetih DČ.

V prispevku smo primerjali pravno ureditev področja skrbi za zapuščene živali in poskušali opredeliti, kaj vpliva na število zapuščenih živali in na dobrobit zapuščenih živali. Poskusili smo oceniti kakšen je vpliv pravnega reda, pravne ureditve in načina izvajanja predpisov na obseg problematike zapuščenih živali. Hkrati smo želeli oceniti kakšen je vpliv drugih dejavnikov: kako na dobrobit zapuščenih živali vpliva raven odgovornega lastništva ter aktivnost delovanja nevladnega sektorja na področju zapuščenih živali.

Ključne besede: dobrobit živali; zapuščene živali; pravna ureditev; EU

Legislation comparison in some MS regarding abandoned animals: the welfare consequences for the welfare of dogs and cats

Caring for abandoned animals is a social value that is dictated by the EU Treaty on the operation of animals that are »sentient beings«, but the way of care for abandoned pet animals in the EU is not uniformly regulated. The regulation of the area is left to each Member State, to deal with at the national level.

The reasons for the abandonment of pet animals in society are many. Among the MSs compared, the causes for abandonment are similar and only the proportions of individual causes vary among MSs.

The article describes examples of legal arrangements of abandoned animals care in Sweden, the United Kingdom, Belgium, the Netherlands, Ireland, Germany and Austria, Poland, Hungary, Italy, Croatia and Slovenia. Also the practice of caring (implementation) in the listed countries is described. The role of NGOs as well as their influence on the regulation and supervision of the listed MS is also mentioned.

In the article, we compared the legal regulation of the area of the care for abandoned animals and tried to determine main causes that affects the number of abandoned animals and the welfare of abandoned animals. We tried to assess the impact of the legal order, regulation and method of implementing regulations on the extent of the problem of abandoned animals. At the same time, we wanted to assess the impact of other factors: how the level

of responsible ownership and the activity of the non-governmental sector in the field of abandoned animals affects the welfare of abandoned animals.

Key words: animal welfare; abandoned animals; stray animals; regulation; EU

Primerjava različnih nacionalnih informacijskih sistemov za spremljanje in poročanje o pojavih bolezni živali

Marko Potočnik*, Jedrt M. Wernig, Aleksandra Hari, Tina Arič, Breda Hrovatin

Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Ljubljana, Slovenija

* marko.potocnik1@gov.si

Število pojavov bolezni se je v zadnjih petnajstih letih povečalo tako zaradi porasta trgovanja z živalmi in živalskimi produkti kot zaradi klimatskih sprememb. S tem se je povečala možnost vnosa in širjenja bolezni živali, ki so pomembne z zdravstvenega oziroma ekonomskega vidika. Spremljanje in poročanje o boleznih živali je zato ključnega pomena za nadzor in za hitro odkrivanje bolezni.

Informacijski sistem EPI, ki je bil kot spletna aplikacija zasnovan leta 2007, omogoča prenos podatkov v realnem času, kar pri spremljanju zdravstvenega stanja v populaciji živali in poročanju o pojavih bolezni predstavlja veliko prednost. Prijavljanje bolezni živali v Evropi in po svetu je podprto s pomočjo različnih informacijskih sistemov. Računalniški sistem Svetovne organizacije za zdravje živali WAHIS omogoča obdelavo podatkov o boleznih živali ter ažurno obveščanje mednarodne skupnosti o pojavih bolezni v različnih državah. V Evropski uniji (EU) je sistem spremljanja in poročanja podprt z računalniško spletno aplikacijo ADNS, ki je namenjena poročanju o pojavih obvezno prijavljivih bolezni živali.

V prispevku bo prikazana primerjava med različnimi informacijskimi sistemi v Evropi. Programi predstavljajo velik napredek in doprinos v veterini na področju spremljanja bolezni živali, saj je možen pregled po rejcih ter je zagotovljena sledljivost in analiziranje podatkov tudi na terenu. Na kontaktne točke v državah članicah EU in v sosednjih državah je bil poslan vprašalnik, ki je definiral skupne in različne točke informacijskih sistemov. Skupna točka informacijskih sistemov je upravljanje izbruhov bolezni in obveščanje mednarodne skupnosti o pojavi bolezni, kot npr. Evropske komisije in OIE.

Ključne besede: informacijski sistem; zdravje živali; nadzor bolezni; EU

Comparison of different national information systems for monitoring and reporting on the occurrence of animal diseases

The number of diseases has increased over the last fifteen years, due to an increase in the trade in animals and animal products, as well as due to climate changes. This has increased the possibility of introducing and spreading animal diseases that are important from a health or economic point of view. Monitoring and reporting of animal diseases is therefore of key importance for monitoring and for the rapid detection of diseases.

The EPI information system, which was launched as a web application in 2007, enables data transmission in real time, which is a great advantage in monitoring the health status of the animal population and reporting the occurrence of diseases. Animal disease reporting in Europe and around the world is supported by various information systems. The WAHIS computerized system of the World Organization for Animal Health allows the processing of animal disease data and transfer of up-to-date information to the international community on the occurrence of diseases in different countries. In the European Union (EU), the monitoring and reporting system is supported by the ADNS computerized web application, designed to report the occurrence of compulsorily notifiable animal diseases.

The paper presents a comparison between different information systems in Europe. The programs represent a great progress and contribution in the veterinary field and in the field of animal disease monitoring, since it is possible to check the breeders' data, ensure traceability and do data analysis on the ground. A questionnaire was sent to contact points in EU Member States and neighboring countries, which defined common and different points of information systems. The common point of information systems is the management of disease outbreaks and informing the international community about the onset of a disease, to the European Commission and the OIE.

Določanje napačno deklariranih ribjih proizvodov v Sloveniji z metodo molekularnega barcodinga

Marko Cotman^{1*}, Anja Palman², Jelka Zabavnik Piano¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Dunajska cesta 22, 1000 Ljubljana

* marko.cotman@vf.uni-lj.si

Pomembnost trgovine z ribami, tehnološki razvoj proizvodnje hrane in predelava ter distribucija na svetovnem tržišču zahteva, da se zagotovi pravilnost porekla ribjih proizvodov. Možen je napačno deklariran ribji proizvod, predvsem če je v obliki, ki ga ni mogoče morfološko določiti. Leta 2015 je Evropska komisija organizirala usklajeno vzorčenje na ravni Evropske unije, da bi ocenili število napačno deklariranih belih rib na trgu. Inšpekcija Uprave za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin (UVHVVR) je zbrala 78 različnih vzorcev ribjih izdelkov z različnih trgovskih centrov v Sloveniji. Species ribjega proizvoda je bil določen z uporabo molekularnega barcodinga, ki je glavna metoda forenzične taksonomije in temelji na specifičnem zaporedju na dveh genih citokrom c oksidaze (*COI*) mtDNA in citokroma b (*Cyt b*) in se uporablja kot »črtna koda« za prepoznavanje živalskih vrst. DNA smo ekstrahirali iz homogeniziranih ribjih proizvodov. Produkt PCR smo pomnožili s specifičnimi primerji za gen *COI* in *CYT b*. Produkta PCR smo sekvencirali z uporabo BigDye Terminator mix 1.0 in analizirali na kapilarni elektroforezi ABI PRISM 310. Sekvenčna zaporedja smo primerjali s sekvencami, ki so na voljo v genomskih bazah podatkov BLAST in FISHBASE. Species rib smo uspešno določili v 75 vzorcih, pri treh vzorcih deklariranih kot brancin, pa speciesa nismo uspeli določiti. Določeni speciesi v vzorcih so se ujeli z njihovo deklaracijo na proizvodih.

Ključne besede: sledljivost živil; forenzična genetika; goljufije; molekularna genetika

Determination of fish species in commercial fish products in Slovenia using DNA barcoding

Importance of global fish trade, technological development in food production, handling, processing and distribution in a global network of operators made it necessary to ensure the methodology to determine the origin of fish in fish products. Possible species substitution of fish may occur, especially for products which are not recognisable visually and can not be distinguished morphologically. In 2015, the European Commission organised a control monitoring coordinated at European Union level to assess the prevalence of mislabelled white fish on the market with regard to its declared species. The inspectors of Administration for Food Safety, Veterinary and Plant Protection sampled 78 various fish products from commercial markets in Slovenia. Species in fish products were detected using DNA barcoding which is often used method in forensic taxonomy. The method is based on determination of specific nucleotide sequences on two mitochondrial genes: cytochrome c oxidase I (*COI*) gene and cytochrome b (*Cyt b*) gene which act as barcode to identify animal species. DNA was extracted from homogenized fish products. PCR products were amplified using specific primers for *COI* and *CYT b* genes. The nucleotide sequences of the obtained PCR products were sequenced using BigDye Terminator mix 1.0 and analysed on capillary electrophoresis ABI PRISM 310. The obtained sequences were compared with sequences available in genomic databases using BLAST and FISHBASE. We were able to determine fish species on 75 samples, for three samples we were unable to determine a species of origin, all these samples were declared as sea bass. All successfully determined fish species matched to their declaration.

Key words: food traceability; Forensic genetics; Frauds; DNA barcoding

Mikročipiranje in registracija mačk

Marko Oman^{1*}

ZOO Ljubljana, zavetišče za zapuščene živali Ljubljana, Slovenija

* marko.oman@zavetisce-ljubljana.si

Registracija psov je v Sloveniji že utečena praksa vse od leta 2003 in s številnimi pozitivnimi učinki. V letu 2013 so bile z namenom še boljših učinkov uvedene določene spremembe, ki še dodatno izboljšujejo nadzor, predvsem pa odgovorno skrbništvo do psov. Pozitivne učinke potrjujejo statistični podatki zavetišča Ljubljana, ki je največje zavetišče v državi in v povprečju oskrbi kar četrtino vseh zapuščenih živali v državi. Statistični podatki Zavetišča pa tudi kažejo, da problematiko psov v zavetiščih zamenjuje problematika mačk. Po podatkih zavetišč v obdobju 2014 do 2016, so tri četrtine od 26.000 sprejetih živali predstavljale mačke (19.000). Obstoječim lastnikom se je v tem obdobju vrnilo skoraj 40 % psov, medtem ko delež izgubljenih mačk, ki so vrnjene lastnikom znaša manj kot 1 %. Vlada republike Slovenije tako s predlaganim Zakonom o spremembah in dopolnitvah zakona o zaščiti živali načrtuje uvedbo obvezne registracije mačk znanega skrbnika z namenom zmanjševanje števila zapuščenih mačk. Registracijo mačk omogoča že obstoječa ureditev oziroma je v skladu z UREDBO (EU) ŠT. 576/2013 obvezna za vse netrgovske premike. Kljub vsemu pa obetajoča ureditev pomeni veliko spremembo za skrbnike mačk v smislu ureditve statusa mačke. Lastništvo mačke se bo namreč izkazovalo le z registracijo. Neregistrirane mačke se bo steriliziralo/kastriralo, označilo ter se vrnilo v okolje, kjer kot takšne ne bodo veljale več za zapuščene. Načrtovana sprememba za veterino pomeni veliko priložnost vredno okrog 6 MIO EVR. Prinaša pa tudi veliko odgovornost. Vredno pozornosti, ki jo potrjujejo tudi prakse v tujini.

Ključne besede: mačke; mikročipiranje; registracija; zakon

Microchipping and registration of cats

Registration of dogs has already been established in Slovenia since 2003 and with many positive effects. In 2013 some changes were introduced with the aim of better effects, which further improve control, and responsible ownership of dogs. Positive effects are confirmed by the statistics of the Ljubljana shelter, which is the largest shelter and, supplies about a quarter of all abandoned animals in the country. The statistics also show that the problem of dogs in shelters replaces the problem of abandoned cats. According to shelter data in the period from 2014 to 2016, three quarters of the 26,000 accepted animals were represented by cats. Nearly 40% of the dogs returned to the owners, while the percentage of cats returned to owners is less than 1%. The Government proposed Law amending and modifying the Animal Protection law to introduce a mandatory registration of cats of a known owner in order to reduce the number of abandoned cats. The registration of cats is enabled by the existing register, or in accordance with the EU-REGULATION is mandatory for all non-commercial movements. Law amending signifies a major change for the owners of cats. The ownership of the cat will only be demonstrated by registration. Unregistered cats will be sterilized/castrated, ear tipped and returned to the environment, where they will no longer be considered as abandoned. The planned change for veterinary medicine is a great opportunity worth about 6 Mio EVR. It also brings great responsibility. Worth the attention, also confirmed by practices abroad.

Key words: cats; microchipping; registration; law

Analiza poslovanja slovenskih veterinarskih podjetij

Tanja Knific^{1*}, Andrej Kirbiš¹, Matjaž Ocepek¹

¹ Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* tanja.knific@vf.uni-lj.si

Veterinarska medicina je vse prej kot le klinična disciplina. Čeprav je v zadnjih dveh desetletjih zanimanje za ekonomiko zdravstvenega varstva živali naraslo, se je dodatno povečalo po finančni krizi leta 2008. Da je ekonomika ključna sestavina veterinarske stroke, je najočitnejše pri veterinarjih praktikih, ki morajo zagotoviti preživetje podjetja in lastne prihodke. Analiza poslovanja lastnega podjetja in drugih podjetij v panogi omogoča lažje oblikovanje cen, plač in ciljev ter oblikovanje dolgoročne vizije podjetja. S tem namenom smo analizirali poslovanje veterinarskih podjetij in izvedli preprosto analizo trga od leta 2008 do 2017. Javno dostopne podatke smo pridobili na spletni strani Statističnega urada Republike Slovenije, komercialnem spletnem portalu Bizi.si, spletni aplikaciji Erar za prikaz porabe javnega denarja v Republiki Sloveniji in Poročil o stanju v kmetijstvu Kmetijskega inštituta Slovenije. Podrobneje smo preučili poslovanje veterinarskih podjetij v zadnjem dostopnem obračunskem obdobju. Poleg tega smo plače veterinarjev in prihodke podjetij v Sloveniji primerjali s podatki iz drugih evropskih držav. V letu 2017 je po podatkih Bizi.si pri nas delovalo 172 veterinarskih podjetij, 116 jih je poslovalo kot družba z omejeno odgovornostjo, 54 je bilo samostojnih podjetnikov in eno podjetje v obliki družbe z neomejeno odgovornostjo. Trg veterinarske dejavnosti se je v zadnjih letih počasi povečeval, vendar si je prihodke delilo vse več podjetij. V tej raziskavi smo se posvetili finančni plati poslovanja, vendar je potrebno poudariti, da se ekonomika ne ukvarja le z denarjem, ampak med drugim tudi z odločanjem na podlagi nefinančnih dejavnikov (kot so nujnost, dobrobit, osebne preference), upravljanjem kadrov, razvojem strategij.

Ključne besede: ekonomika zdravstvenega varstva živali; veterinarski sektor; poslovanje veterinarskih podjetij

Business performance analysis of Slovenian veterinary companies

Veterinary medicine is all but a solely clinical discipline. Although interest in the animal health economics has increased over the past two decades, it has amplified following the financial crisis of 2008. Economics is a key ingredient in the veterinary profession, which is most obvious to practitioners who need to ensure the survival of the company and their income. The analysis of business performance in the sector facilitates the formation of prices, wages, goals and long-term vision of the company. We analysed the operations of veterinary companies and performed a simple market analysis from 2008 to 2017. Publicly available data were obtained from the Statistical Office of the Republic of Slovenia, Bizi.si web portal, the Erar application and the Reports on the Condition in Agriculture (Agricultural Institute of Slovenia). The operations of veterinary companies in the last available accounting period were examined in detail. In addition, we compared salaries and revenues with data from other European countries. According to Bizi.si, 172 veterinary companies operated in 2017, 116 operated as limited liability company, 54 as sole traders and one as company with unlimited liability. In recent years, veterinary market in Slovenia has been slowly growing but revenue has been spread between increasing number of companies. Even though we focused on the financial part of the business, it is important to emphasize that economics does not deal only with money, but among other with decision-making based also on non-financial factors (e.g. urgency, welfare, personal preferences), human resource management and strategy development.

Key words: Economics of animal health; veterinary sector; business of veterinary companies

Živali, bolezni in veterinarska služba v 1. svetovni vojni

Vojteh Cestnik

Mirje 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

vojteh.cestnik@vf.uni-lj.si)

Prvič v vojni zgodovini je veterinarska služba vseh vojskujočih armad v 1. svetovni vojni vstopila kot razmeroma dobro organizirana zaledna ustanova, temelječa na strokovno usposobljenem kadru. Najbolje organizirana in uspešna je bila veterinarska služba Velike Britanije, slabše drugih vojsk. Načrtovalci vojne so predvideli konjenico kot osnovno udarno moč, vendar je uporaba hitrostrelnega orožja, letalstva, bojnih plinov in tankov to predvidevanje izničilo. V vojni je sodelovalo okoli 11,6 milijonov konj, od tega jih je poginilo 5,6–8 milijonov. Okoli $\frac{1}{4}$ jih je poginilo v bojnih akcijah, od tega največ v frontalnih napadih leta 1914 in v nemški ofenzivi ter zavezniški protiofenzivi 1918, $\frac{3}{4}$ pa zaradi kužnih in organskih bolezni, različnih poškodb, pomanjkanja vode in hrane ter drugih nevzdržnih življenjskih razmer. Vojske so uporabljale tudi druge kopitarje, parkljarje, pse in golobe. Živali so bile tudi maskote vojnih enot. Različne strelne rane so se ob posipanju z jodoformom in čiščenju z jodovo tinkturo, razmeroma dobro celile, poškodbe notranjih organov, sklepov in kosti so bile neozdravljive. Med notranjimi boleznimi so bila pogosta obolenja prebavil in dihal. Med kužnimi boleznimi so bile pogoste konjska influenza, smolika, v Afriki afriška konjska kuga. Zaradi uspešne diagnostike smrkavosti je bila ta bolezen razmeroma redka, podobno kot tetanus. Med parazitarimi boleznimi so bile velik problem garje, črevesni zajedavci, v Afriki pa tripanosomioza. V Sloveniji je bilo več veterinarskih ustanov avstro-ogrske vojske.

Ključne besede: 1. svetovna vojna; veterinarska služba

Animals, diseases and veterinary service in the 1st World War

For the first time in the history of war, the veterinary service in the 1st World War was relatively well organised, based on well skilled personal. The United Kingdom veterinary service was the best organized and most effective, whereas the veterinary services in other armies were worse organised and less successful. The cavalry was predicted to be the greatest strike force, but rapid firing weapons, aviation, chemical weapons and tanks have ruined this prediction. About 11.6 million horses participated in the WW 1, of which 5.6 – 8 million died; about $\frac{1}{4}$ died in battles, mostly in cavalry frontal attacks in 1914 and during the German offensive and allied counteroffensive in 1918; $\frac{3}{4}$ died due to infectious and internal diseases, various injuries, water and food shortages and unbearable living conditions. The armies used also other equids, cattle, camels, dogs and homing pigeons. Some animals were troops' mascots. Various shooting wounds were relatively successfully cured using iodine powder or tincture. The injuries of the inner organs, joints and bones were incurable. Among the internal diseases, the diseases of the digestive and respiratory organs were common. The most frequent infectious diseases were the horse flu, strangles and African horse sickness. Due to the successful diagnosis of glanders, this disease was relatively rare, similar to tetanus. Parasitic diseases were mange, intestinal worms, and trypanosomiasis in Africa. In Slovenia, there were several veterinary facilities in the Austro-Hungarian army.

Key words: 1st World War; veterinary service

Razvoj protitelesne imunosti po cepljenju belega dihurja (*Mustela putorius furo*) s cepivom proti pasji kugi, registriranim za pse

Maja Čonč*, Aleksandra Grilc-Fajfar², Tadej Malovrh², Jožko Račnik³, Marko Zadavec³

¹ Študentka veterinarstva, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³ Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* maja.conc@gmail.com

V Sloveniji za cepljenje belih dihurjev (*Mustela putorius furo*) proti pasji kugi (PK) uporabljamo polivalentna cepiva proti virusu pasje kuge (VPK), registrirana za pse. Namen raziskave je bil ugotoviti ali beli dihurji po cepljenju s cepivom registriranim za pse, razvijejo imunski odziv in ali je ta zadosten za zaščito pred morebitno naravno okužbo z VPK. V raziskavi smo testirali serume 66 belih dihurjev, pacientov Klinike za ptice, male sesalce in plazilce na Veterinarski fakulteti v Ljubljani, ki jim je bil ob obisku na kliniki odvzet vzorec krvi v namene kontrolnih preiskav. Z virus nevtralizacijskim testom (VNT) smo v serumu 62 dihurjev ugotovili prisotnost specifičnih protiteles proti VPK. Pri 21 dihurjih (34 %) je bil titer protiteles enak ali višji od 1:64, pri 6 (10 %) je bil titer 1:32 in pri 35 (56 %) je bil titer nižji od 1:32. Titer protiteles, ki naj bi pri dihurjih nudil zadostno zaščito proti okužbi, je 1:50. Rezultati naše raziskave kažejo, da dihurji tudi po cepljenju s cepivi registriranimi za pse, lahko razvijejo zadovoljiv imunski odziv. Zanimalo nas je tudi, ali je modificirana komercialno dostopna ELISA za dokaz specifičnih protiteles proti VPK uporabno orodje za dokaz protiteles v primerjavi s specifičnim VNT. Z modificirano komercialno ELISA smo preiskali 66 serumskih vzorcev dihurjev in rezultate primerjali z rezultati VNT. Dokazali smo določene razlike v koncentraciji specifičnih protiteles med testoma, ki jih v prvi vrsti pripisujemo različnemu principu delovanja testov, lahko pa so nastale tudi zaradi razmeroma majhnega števila testiranih in primerjanih vzorcev. Vse kaže, da je lahko modificirana komercialno dostopna ELISA uporabno orodje za hitro diagnostiko PK, kot tudi cenovno sprejemljivejša metoda določanja titra protiteles proti VPK.

Ključne besede: *Mustela putorius furo*; pasja kuga; protitelesna imunost; virus nevtralizacijski test; ELISA

Development of antibody-mediated immunity after vaccination of a ferret (*Mustela putorius furo*) with anti-canine distemper vaccine registered for dogs

In Slovenia, polyvalent vaccines against canine distemper (CD) registered for dogs are used for the vaccination of ferrets (*Mustela putorius furo*). The purpose of our research was to determine if ferrets vaccinated with anti-CDV vaccines registered for dogs, could develop an immune response and whether this response is sufficient to protect them against possible naturally occurring infection with canine distemper virus (CDV). For the purpose of this study we examined sera of 66 ferrets, patients of the Clinic for Birds, Small mammals and Reptiles, Veterinary Faculty in Ljubljana, which were obtained during the clinical exam at the clinic for the purpose of investigating other diseases. Virus neutralization test (VNT) was used to detect the presence of specific anti-CDV antibodies in 62 sampled sera. In 21 ferrets (34%), antibody titers were equal to or higher than 1:64, in 6 ferrets (10%) titer was 1:32, and in 35 ferrets (56%) the titer was lower than 1:32. An antibody titer that provides adequate protection against infection with CDV in ferrets is 1:50. The results of our study show that ferrets can develop a satisfactory immune response after vaccination with vaccines registered for dogs. At the same time, we were also interested in whether a modified commercially available ELISA was a useful tool to test specific anti-CDV antibodies compared to a specific VNT. Performing adapted ELISA, we examined 66 serum samples and the results were compared with the results obtained with VNT. We proved certain differences in the concentration of specific antibodies

between the testes, which are primarily attributed to the different principles of test operation, but the differences could also be due to the relatively small number of tested and compared samples. It seems that a commercially available modified ELISA could be a useful tool for rapid diagnostic of CD, as well as a more affordable method of determining the antibody titer against CDV.

Key words: *Mustela putorius furo*; canine distemper; antibody-mediated immunity; virus neutralization test; ELISA

Razlike in posebne histološke strukture kože pri različnih skupinah plazilcev

Catrin Sian Rutland¹, Alenka Dovč², Zlatko Golob³, Valentina Kubale^{2*}

¹ School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham, College Road, Sutton Bonington, Leicestershire, UK

² Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

³ Golob d.o.o., Klinika za male, divje in eksotične živali, Muta, Slovenija

e-pošta: Valentina Kubale valentina.kubale@vf.uni-lj.si

Koža plazilcev je prekrita z luskami, ki jim omogočajo življenje na kopnem. Pomemben del je vrhnja plast z zadebeljenim poroženelim delom, v katerem so med plastmi poroženelih celic še dodatne strukture. Poroženeli del povrhnjice je okrepljen s keratinom β , ki je lahko dodatno ojačan še z keratinom α . Pri krokodilih in številnih vrstah želv je zunanja površina lusk sestavljena iz keratina β , ki na delih vsebuje keratin β . Pri kuščarjih in kačah obe vrsti keratina tvorita neprekinjene plasti, pri katerih α -keratin leži pod keratinom β . Pri kuščarjih in kačah je celotna koža prekrita z luskami epidermisa, ki se prekrivajo. Pri želvah in krokodilih so luske dermalnega izvora in zato drugačne. Plazilci se levijo, zamenjajo kožo večkrat tekom življenja, kar je povezano z njihovo rastjo ter se razlikuje med različnimi vrstami plazilcev. Nekateri plazilci so razvili v koži posebno občutljiv sistem mehanoreceptorjev, ki se lahko nahaja v različnih oblikah, kot so posebna območja, čutni organi v koži in lamelarna telesca. Na barvo kože vplivajo melanociti v epidermisu in tri vrste kromatofor v dermisu: melanofore, ki vsebujejo melanin; ksantofore, ki vsebujejo rumene pigmente in iridofore. Vzorec barv na koži je lahko stalen, lahko pa se prilagodi za prikrivanje s kamuflažo ali pa kromatofori omogočijo hitro spremembo barve. V koži plazilcev najdemo tudi žleze, vendar so majhne. Kožo različnih vrst plazilcev: želve rdečevratke (*Trachemys scripta elegans*), pasjeglavega udava (*Corallus caninus*), burmanskega pitona (*Python bivittatus*), pritlikavega kajmana (*Paleosuchus palpebrosus*) in legvana (*Iguana iguana*) smo podrobneje preučili s pomočjo histoloških tehnik in primerjali med seboj.

Ključne besede: koža; histologija; plazilci; posebne značilnosti

Differences and special histological structures of skin in different reptiles' groups

Reptilian skin is covered with scales enabling reptiles to live on the land. An important part is the horny epidermis, which has a thick stratum corneum in which waxes are arranged in membrane like layers between the keratinized cells. The cornified part of the epidermis is strengthened by a stiff material, β -keratin, which can be with or without α -keratin. In crocodiles and many turtles, the outer scale surface consists of β -keratin and hinge region contains α -keratin. In lizards and snakes, both keratins form continuous layers with the α -keratin lying below the β -keratin. In lepidosaurians, such as lizards and snakes, the whole skin is covered in overlapping epidermal scales. The scales in turtles and crocodiles are of dermal origin and are termed scutes. Reptiles shed their skin through a process called ecdysis, which occurs continuously throughout their lifetime and the process differs between reptile's species. Some reptiles developed a sensitive mechanosensory system in the skin in the form of follicle pits, integumentary sense organs and lamellar bodies. The colours of reptile's skin are produced by both melanocytes in the epidermis and three types of chromatophores in the dermis: melanophores, which contain melanin; xanthophores, which contain yellow pigments and iridophores. Pattern may be fixed, for concealment by camouflage, or the chromatophores may provide for rapid colour change. Reptilian skin also possesses glands, but they are usually small. Skin from different species of reptiles: turtles (Red-eared Slider (*Trachemys scripta elegans*)), snakes (Emerald Tree Boa (*Corallus caninus*) and Burmese Python (*Python bivittatus*)), Cuvier's Dwarf Caiman

(*Paleosuchus palpebrosus*) and lizards Green Iguana (*Iguana iguana*) were examined in more details via histology techniques and compared to each other.

Key words: skin; histology; reptiles; special features

Računalniško tomografska diagnostika facialnih abscesov pri kuncih

Nina Mlakar Hrženjak^{1*}, Marko Zadavec¹, Zoran Žlabravec¹, Jožko Račnik¹

¹ Klinika za ptice, male sesalce in plazilce, Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* nina.mlakar-hrzenjak@vf.uni-lj.si

Facialni abscesi predstavljajo pogoste zaplete pridobljenih bolezni zob in obzobnih tkiv pri kuncih. Pojavljajo se kot mase različnih velikosti na ventrolateralnem delu spodnje ali lateralnem delu zgornje čeljusti. Pri nekaterih kuncih se lahko pojavi bolj ali manj izrazit enostranski eksoftalmus.

V splošni anesteziji smo z računalniško tomografijo (CT) in intravenozno aplikacijo kontrastnega sredstva poslikali dva kunca, ki sta prišla na Kliniko za ptice, male sesalce in plazilce VF. Prvi je imel očiten desnostranski eksoftalmus in keratokonjunktivitis, drugi pa recidiv mandibularnega abscesa desno.

Prvi kunec je imel tri med seboj popolnoma ločene abscese. Prvi, ovalne oblike, se je začel kranio-lateralno pod očesom in pod lično kostjo segal do ramusa mandibule. Drugi je bil nepravilne oblike. Bil je nad prvim, na kavdalnem delu se je dvignil za očesno zrklo. Tretji, ovalen absces, je bil kavdodorsalno za zrklo. Pri drugem kuncu smo odkrili dve lizi lateralne fasete telesa mandibule: prvo od rostralnega dela do prvega ličnika ter drugo kavdalno za zadnjim kočnikom. V vsakem od teh področij se je nahajal solitaren absces, ki se je širil lateralno v mehka tkiva. Na kranioventralnem delu se je med mehкими tkivi nahajal še tretji absces.

S CT posnetki in uporabo kontrastnih sredstev smo lahko natančno locirali multiple facialne abscese pri kuncih, ki so bili rentgensko slabo zaznavni. CT nam je omogočil natančnejšo prognozo, uspešno planiranje in izvedbo kirurških posegov.

Ključne besede: računalniška tomografija; kunec; facialni absces

Computed tomography in the diagnosis of facial abscesses in rabbits

Facial abscesses are common complications of acquired dental disease in rabbits. They appear as different sized masses on the ventrolateral parts of the mandible or the lateral parts of the maxilla. An obvious unilateral exoftalmus is seen in some rabbits.

A computed tomography (CT) scan with the administration of the intravenous contrast media was performed under the general anesthesia in two rabbits that were brought to the Clinic for birds, small mammals and reptiles of Veterinary faculty. Rabbit no. 1 had an obvious right-sided exoftalmus and a keratoconjunctivitis and rabbit no. 2 had a recidive of right-sided mandibular abscess.

Three completely separated abscesses were revealed in rabbit no. 1. The first, oval one was extending from cranioventral part of the eye, under the zygomatic arch to the mandibular ramus. The second, irregularly shaped abscess was located above the first one. It extended caudally behind the eye globe. The third, oval abscess was located caudodorsally behind the eye globe. Two lytic lesions of the lateral aspect of the body of the mandible were revealed in rabbit no. 2. One was located on the rostral and one on the caudal part of the body. Each one contained a solitary abscess, extending laterally into the soft tissues. The third abscess was located cranioventrally in the soft tissue.

In contrast to conventional radiography, CT scan and intravenous contrast media administration enabled us to identify the exact location of multiple facial abscesses in rabbits. More accurate prognosis, successful planning and precise surgical treatment were accomplished.

Key words: computed tomography; rabbit; facial abscess

Ocena dobrobiti na večjih farmah krav molznic v Sloveniji s protokolom Welfare Quality® Assessment Protocol in merjenjem vsebnosti kortizola v dlaki

Urška Vesel¹, Tea Pavić¹, Jožica Ježek¹, Tomaž Snoj², Jože Starič¹

¹ Veterinarska fakulteta, Klinika za reprodukcijo in velike živali, Cesta v Mestni log 47, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Veterinarska fakulteta, Inštitut za predklinične vede, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenija

*tea.pavic8@gmail.com

Dobrobit krav molznic na velikih slovenskih farmah smo ocenili s protokolom Welfare Quality Assissment Protocol, kjer so bili vrednoteni posamezni sklopi: Odsotnost žeje in lakote, Dobri bivalni pogoji, Odsotnost bolezni, poškodb in bolečine in Primerno vedenje. Poleg tega smo naredili skupinski vzorec iz dlake na repu in izmerili koncentracijo kortizola v njem. Rezultati kažejo, da je stanje dobrobiti glede na protokol na ocenjenih farmah sicer sprejemljivo, a je za izboljšave veliko prostora. Ocena dobrobiti pridobljena s protokolom in vsebnost kortizola v dlaki glede na naše meritve nista povezani, saj nismo ugotovili manjše koncentracije kortizola v dlaki pri bolj ocenjenih farmah. Uporaba koncentracije kortizola v dlaki, glede na naše rezultate, ni primeren indikator dobrobiti, vendar je potrebno še veliko nadaljnjih raziskav, ki bodo potrdile naše ugotovitve.

Ključne besede: dobro počutje; govedo; farma molznic; stres

Uvod

Dobrobiti se v zadnjem času namenja vedno več pozornosti tudi na področju farmskih živali. Potrošniki se začenjajo zavedati pomena dobrobiti in želijo kupovati izdelke, ki prihajajo iz živalim prijaznega okolja. Prav pobuda s strani potrošnikov je pripeljala do oblikovanja evropskega projekta Welfare Quality, katerega cilj je standardizacija načinov ocenjevanja dobrobiti. Del projekta je tudi protokol za oceno dobrobiti krav molznic [1]. Poleg omenjenega protokola pa obstajajo še drugi načini ocenjevanja, med drugim tudi analiza vsebnosti kortizola v dlaki, ki za razliko od analize vsebnosti kortizola v krvi, prikaže vpliv dolgotrajnega stresa [2].

Vzreja krav molznic je ena izmed pomembnejših živinorejskih dejavnosti v Sloveniji, vendar pa stanje dobrobiti v rejah molznic še v veliki meri ni znano. V raziskavi smo ocenjevali dobrobit krav na večjih farmah v Sloveniji, z uporabo Welfare Quality Assissment Protocol-a in z merjenjem vsebnosti kortizola v dlaki. Poleg vpogleda v stanje dobrobiti na izbranih večjih slovenskih farmah krav molznic smo želeli preveriti ujemanje obeh metod.

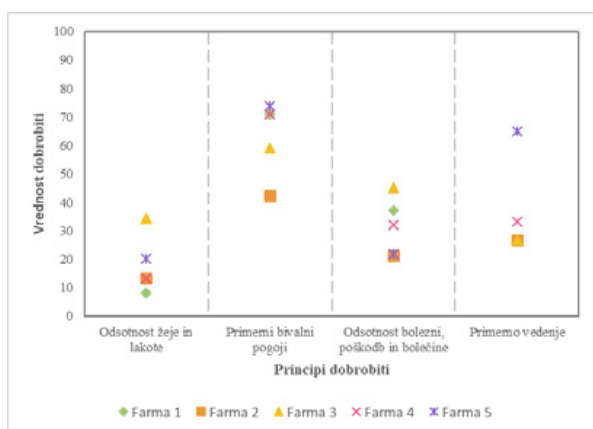
Materiali in metode

Raziskavo smo izvedli na petih večjih farmah v Sloveniji, kjer imajo od 180 do 400 krav molznic. Dobrobit krav smo ocenjevali z uporabo vprašalnikov Welfare Quality Assissment Protocol in z merjenjem vsebnosti kortizola v dlaki. Ocenjevanje s protokolom Welfare Quality Assessment Protocol je razdeljeno na štiri sklope, znotraj katerih so posamezni kriteriji. Prvi sklop obravnava **preskrbljenost s hrano in vodo**, s kriterijem odsotnost daljše lakote, pri katerem ocenjujemo kondicijo živali in kriterijem odsotnost daljše žeje, pri čemer ocenjujemo korita oziroma posode z vodo. Sklop **dobri bivalni pogoji** vključuje kriterija udobje med počivanjem, kjer ocenjujemo čas potreben za uleganje, trk z opremo med uleganjem, čistočo spodnjih delov živali, ležanje izven za-to predvidenih mest in možnost gibanja. O **zdravju** živali nam povedo kriteriji odsotnost bolezni, pri katerem opazujemo morebitne znake bolezni, preverimo pa tudi somatske celice, mortaliteto, odstotek distocije in odstotek obležanih – downer krav v enem letu, odsotnost poškodb in odsotnost bolečine pri rejskih postopkih (odstranjevanje rogov). Zadnji sklop obravnava **primerno vedenje**, ki vključuje kriterije izražanje socialnega obnašanja, kjer opazujemo agresivno vedenje, dober odnos med živalmi in ljudmi, pri čemer opazujemo razdaljo umika krav pred roko ocenjevalca,

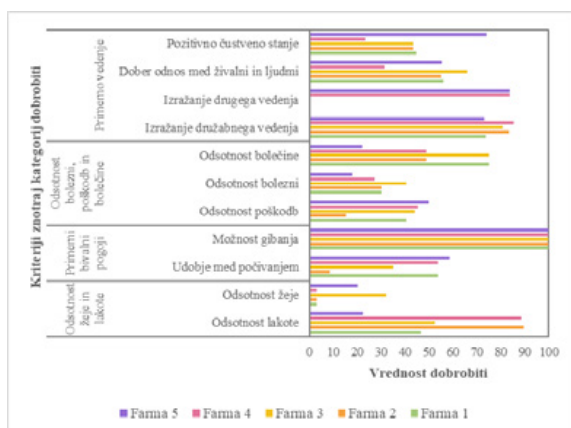
pozitivno čustveno stanje, pri katerem ocenjujemo čustva, ki so lahko pozitivna (na primer zadovoljstvo) in negativna (na primer strah) ter dostop do paše. Posamezni sklopi so ocenjeni z ocenami od 0 do 100, pri čemer 0 pomeni najslabšo dobrobit, ocena 100 pa predstavlja najboljšo dobrobit. Glede na zbrane informacije se farmi dodeli končno oceno dobrobiti, ki je lahko odlična, dobra, sprejemljiva in nesprejemljiva. Kot odlično se označi farma, ki ima oceno višjo kot 55 v vseh in več kot 80 v dveh sklopih, kot dobro se označi, če je ocena v vseh sklopih več kot 20, ter v dveh več kot 55, sprejemljiva pa je, če je v vseh sklopih več kot 10, in v več kot treh nad 20. Reje s slabšo oceno so označene kot nesprejemljive.

Dlako za analizo vsebnosti kortizola smo pridobili tako, da smo določenemu številu krav (17 – 33) na posamezni farmi na sredini repa s škarjami tik ob koži odrezali šop dlak. Pripravili smo skupni vzorec za posamezno rejo, in sicer tako, da smo vzeli enako število dlak od vsake živali, v dolžini 1 cm od kože. Dlake smo sprali z izopropanolom in ekstrahirali kortizol s 55 % metanolom. Koncentracijo kortizola v ekstraktu smo določili z uporabo komercialnega kita Cortisol Enzyme linked immunosorbent assay (Demeditec Diagnostics GmbH, Nemčija) po navodilu proizvajalca, ter jo izrazili kot ng/g dlake.

Rezultati



Graf 1: Ocena sklopov dobrobiti na posameznih farmah

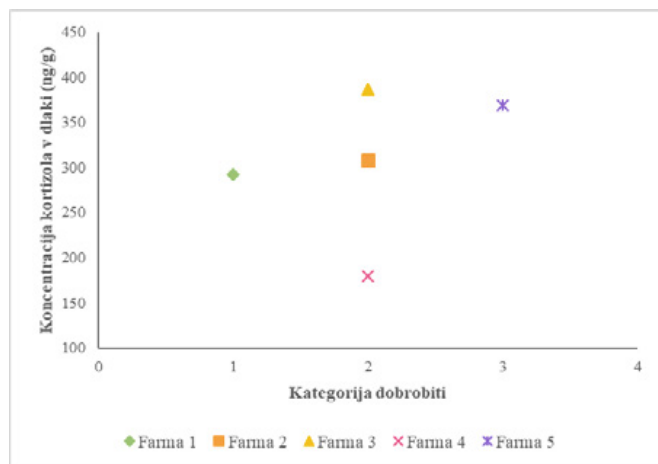


Graf 2: Ocena kriterijev znotraj sklopov dobrobiti na posameznih farmah

V grafu 1 je prikazana ocena sklopov dobrobiti na farmah, v grafu 2 pa ocena kriterijev znotraj sklopov. Najslabše ocenjen sklop je bil Odsotnost žeje in lakote, in sicer kriterij Odsotnost žeje. Na treh od petih farm se je izkazalo, da krave niso imele na voljo dovolj napajalnikov. Ocena sklopa Odsotnost boleznih, poškodb in bolečine je bila sprejemljiva, najslabše je bil ocenjen kriterij Odsotnost boleznih predvsem zaradi razmeroma velikega odstotka krav s številom somatskih celic nad $400 \times 10^3/\text{mL}$, kar nakazuje subklinični mastitis. Pri vseh farmah je odsotek teh

krav večji od 17,5, kar je glede na protokol alarmantno in bi bilo potrebno ukrepati. Poleg tega je prevelik odsotek mortalitete, ki je bil na večini farm višji od 4,5, kar je glede na protokol prav tako alarmantno. Pri vseh farmah smo ugotovili povišan odstotek krav z nosnim izcedkom, neprimerno stanje pa je bilo ugotovljeno tudi za odsotek težkih porodov in primerov obležanih krav na leto. Bolje ocenjen sklop je bil Primerno obnašanje, kjer je oceno na treh farmah znižalo dejstvo, da krav ne pasejo. V tem sklopu je bil najbolje ocenjen kriterij Izražanje socialnega vedenja, kjer smo opazovali agonistično vedenje. Najbolje je bil ocenjen sklop Primerni bivalni pogoji, kjer je izstopal kriterij Možnost gibanja, saj so imele vse ocenjene farme prosto rejo.

Izmerjene koncentracije kortizola v dlaki znašajo od 180 ng/g do 386 ng/g. Primerjava med končno oceno dobrobiti posameznih farm in vsebnostjo kortizola v dlaki krav, ki jo prikazuje graf 3, ni pokazala ujemanja med obema načinoma ocenjevanja.



Graf 3: Primerjava ocene dobrobiti pridobljene s protokolom Welfare Quality Assessment Protocol in koncentracije kortizola v dlaki. Kategorije dobrobiti: 1=nesprejemljiva, 2=sprejemljiva, 3=dobra, 4=odlična

Razprava

Naša raziskava ponazarja stanje dobrobiti krav molznic v večjih rejah v Sloveniji, vendar pa bi bilo za bolj celovito oceno stanja potrebno oceniti večje število rej. Stanje dobrobiti v večjih rejah krav molznic v Sloveniji je glede na našo oceno v večini sprejemljivo, vendar pa je za izboljšave še veliko prostora. Največji problem predstavlja preskrbljenost z vodo, saj v kar treh od petih farm krave niso imele na razpolago dovolj korit oziroma posod z vodo glede na število krav v skupini. Potrebno je omeniti, da se upošteva najslabše ocenjena skupina krav, ki mora zajemati vsaj 15 % krav na farmi. Prav zaradi slabe ocene kriterija Odsotnost žeje, je bila končna ocena dobrobiti na mnogih farmah slabša. Več farm je bilo slabše ocenjenih tudi glede kriterija Odsotnost bolezni, kjer je stanje pri vseh oziroma večini farm označeno kot alarmantno ali opozorilno pri odstotku krav s subkliničnim mastitisom, odstotku mortalitete, odstotku težkih porodov, odstotku obležanih krav na leto in odstotku krav z nosnim izcedkom, pri čemer je potrebno izpostaviti, da smo upoštevali tudi serozne in sero-mukozne izcedke, ki so bili ugotovljeni v večini primerov. Najbolje ocenjen sklop je bil Dobri gibalni pogoji, saj so imele vse analizirane farme prosto rejo. Vse farme so bile dobro ocenjene tudi pri kriteriju Izražanje socialnega obnašanja, kjer smo opazovali različne oblike agonističnega obnašanja (udarjanje z glavo ob drugo kravo, premike zaradi udarca, zasledovanje druge krave po fizičnem kontaktu, pretepanje in napad na ležečo žival).

Izkazalo se je, da je protokol v praksi izvedljiv, vendar je potrebno veliko časa in dobra izurjenost ocenjevalcev. Protokol se je izkazal za manj uporabnega predvsem pri ocenjevanju čustvenega stanja krav, kjer smo ugotavljali ali so krave vesele, zadovoljne, živahne, razpoložene, z dolgočasne itd, saj je takšna občutja kravam težko pripisovati in je tako ocena subjektivna. Poleg tega se po našem mnenju nekaterim kriterijem v protokolu pripisuje prevelik pomen, medtem, ko druge ostajajo v ozadju. To smo opazili pri oceni oskrbe z vodo, ki po našem mnenju v preveliki meri vpliva na končno oceno dobrobiti. Podobno so ugotavljali tudi v raziskavi, kjer so izurjeni uporabniki protokola Welfare Quality Assessment Protocol podali mnenje o protokolu [3].

Pri primerjavi rezultatov končnih in posamičnih ocen dobrobiti, ki smo jih pridobili s protokolom Welfare Quality Assessment Protocol in koncentracijo kortizola v dlaki, nismo ugotovili ujemanja. Naši rezultati nakazujejo, da eden od uporabljenih načinov ocenjevanja, ne pokaže dejanske dobrobiti in ga na način uporabljen v tej raziskavi ni primerno uporabljati. Čeprav mnoge raziskave kažejo povezave med kroničnim stresom in količino kortizola, so druge raziskave pokazale ravno nasprotno. Študije plazme, sline in urina dokazujejo, da lahko kronični stres pod določenimi pogoji privede do zmanjšane aktivnosti osi hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza. To lahko v veliki meri pripišemo lastnostim stresorja in individualnemu odzivu nanj. Običajno se sekrecija kortizola zviša ob pojavu stresorja, nato pa se postopoma znižuje [2]. Tako je izmerjena vrednost kortizola v dlaki odvisna tudi od časa vzorčenja glede na pojav stresorja. Koncentracija kortizola kot indikatorja dobrobiti pri kravah molznicah se je pokazala kot manj uspešna v raziskavi, kjer so primerjali koncentracijo kortizola v dlaki pri zdravih kravah molznicah in tistih, ki so kronično šepale. Korelacije med šepanjem in koncentracijo kortizola niso dokazali, in zaključili, da kortizol ni primeren indikator kroničnega šepanja [4]. Potrebne so nadaljnje raziskave glede protokola vzorčenja dlake za merjenje kortizola in tudi optimiziranje protokola za ocenjevanje dobrobiti krav molznic.

Reference

1. Welfare Quality® (2009). Welfare Quality® assessment protocol for cattle. Welfare Quality® Consortium, Lelystad, Netherlands.
2. J. S. Meyer, M. A. Novak. Minireview: Hair Cortisol: A Novel Biomarker of Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Activity. *Endocrinology* 2012; 153(9): 4120-4127.
3. S.de Graaf, B.Ampe, C.Winckler et al. Trained-user opinion about Welfare Quality measures and integrated scoring of dairy cattle welfare. *Journal of Dairy Science* 2017; 100(8): 6376-6388.
4. C. Fischer-Tenhagen, M. Ladwig-Wiegard, W. Heuwieser et al. Short communication: Is hair cortisol a potential indicator for stress caused by chronic lameness in dairy cows? *J Dairy Sci.* 2018; 101(6): 5439-5443.

Welfare Assessment of dairy cows in bigger Slovenian farms using Welfare Quality Assessment Protocol and hair cortisol concentration

Welfare was assessed on bigger Slovenian dairy farms using Welfare Quality Assessment Protocol, consisting of principles: Good feeding, Good housing, Good health and Appropriate behaviour. Cortisol concentration in a sample of pooled hair from the tail in cows from assessed farms was measured as well and results were compared. Results show, that welfare on most dairy farms is acceptable, however there is still space for improvement. According to our results the welfare score obtained with the protocol, and the concentration of hair cortisol are not correlated, since lower cortisol concentrations are not associated with farms that were given better score. Using hair cortisol concentration to assess welfare of dairy cows is not appropriate, according to our results, but more research is needed to confirm these findings.

Key words: well being; cattle; dairy farm; stress

Vpliv različnih metod rokovanja na zmanjšanje stresa pri laboratorijskih miših

Katja Skulj^{1*}, Ana Vengar¹, Tatjana Pirman¹, Simon Horvat¹

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale, Slovenija

* Katja.Skulj@bf.uni-lj.si

Pri svojem rutinskem delu smo ugotovili, da dvigovanje miši za rep povzroči nelagodje in stres. Namen naše študije je bil primerjati nove, v literaturi opisane metode rokovanja in oceniti odziv miši, kako le-te vplivajo na odziv miši na določene teste rokovanja in interakcij z roko, ki nam posredno oceni raven stresa. Metodo klasičnega načina prijema za rep smo primerjali z manj stresnima metodama: uporaba tunela in odprte dlani. Uporabili smo ne-inbridirano linijo HSD:ICR(CD-1) ter inbridirani liniji FLI (9 samic, 9 samcev) in FHI (6 samic, 6 samcev). Z mišmi so rokovali tri osebe z različno stopnjo izkušenj pri delu s poskusnimi živalmi. Z mišmi smo rokovali 9 dni, razlika je bila v metodi rokovanja - prijem za rep, tunel ali odprta dlan. Prvi, peti in deveti dan smo spremljali tudi interakcijo z roko (vohanje, dotik s tačko, plezanje na roko). Naredili smo še dva testa: manipulacija repa za pregled trebuha in prijem miši za kožo na vratu (fiksacija miši za aplikacije, pregled), ter pred in po testih smo opazovali interakcijo. S tem smo želeli preveriti ali je za miši stresen način rokovanja ali določen prijem. Rezultati kažejo, da uporaba tunela in odprte dlani za rokovanje lahko zmanjša nelagodje pri laboratorijskih miših. S takim rokovanjem pripomoremo k upoštevanju in praktični uporabi pravila 3R – refinement (izboljšanje) v vsakodnevem delu z laboratorijskimi mišmi. Ker stres dokazano vpliva na številne fiziološke parametre, predvidevamo, da bodo nove metode rokovanja zmanjšale fenotipsko variabilnost, zato se lahko pri poskusnih skupinah uporabi manj miši (»reduction« - zmanjšanje).

Ključne besede: laboratorijske miši; metode rokovanja; stres; tunel

The effect of different handling methods on the reduction of anxiety in laboratory mice

At our routine work we found out, that picking up mice by tail can cause stress and anxiety. The aim of our study was to compare new, in literature described handling methods and assess their impact on stress. We compared the classic method of picking up mice by tail with less stressful methods: using the tunnel and cupping. We used outbred HSD:ICR(CD-1) line and inbred lines FHI and FLI: 6 females and 6 males of FHI line and 9 female and 9 male of each FLI and HSD:ICR(CD-1) lines. Handling was done by three persons with different level of experience. We handled mice for 9 consecutive days; the only difference between the study groups was handling method – tail, tunnel or cupping. On the first, fifth and ninth day we assessed interactions with hand (smelling, touching, climbing). Additionally, two tests were applied: tail lift for abdominal inspection and scruff whereby interactions before and after the test were assayed. The aim was to check whether handling method or special grip was stressful for mice. Results of this study imply that two new methods - tunnel and cupping can reduce anxiety in laboratory mice. With these handling methods we implement 3R rule – refinement in everyday work with laboratory mice. As stress was shown to affect many physiological parameters, we predict that the new handling methods will also reduce phenotypic variability and hence less mice can be used in experimental groups (rule reduce).

Key words: Laboratory mice; handling method; anxiety; tunnel

Dobrobit v rejah kokoši nesnic v Sloveniji

Olga Zorman Rojs^{1*}, Matjaž Červak², Alenka Dovč¹ in Manja Zupan³

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Gerbičeva 60, Ljubljana, Slovenija, ² Emona razvojni center za prehrano d.o.o. Kavčičeva ulica 72, 1000 Ljubljana, Slovenija, ³ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale

* e-mail kontaktne osebe: Olga.zorman-Rojs@v.uni-lj.si

V preteklosti sta bila zdravstveno stanje in nesnost najpomembnejša pokazatelja dobrobiti pri konzumnih nesnicah. Danes je vsesplošno sprejeto, da je v oceno dobrega počutja potrebno vključiti tudi druge parametre. V Sloveniji vse do te raziskave nismo imeli celovitega vpogleda v dobrobit kokoši nesnic, ki bi vključeval tudi nabor indikatorjev socialnega obnašanja. Namen študije je bil oceniti dobrobit nesnic v štirih različnih sistemih reje in pripraviti sistem ocenjevanja prilagojen slovenskim razmeram.

V ocenjevanje smo vključili štiri jate. Reje smo ocenjevali na podlagi priporočil in parametrov Welfare Quality® assessment protocol for poultry (2009, WQ) z določenimi modifikacijami. Ocenjevanje smo opravili s klinično oceno celotne jate in z individualnim pregledom 100 kokoši iz vsake reje. Za oceno socialnega obnašanja smo uporabili dva specifična testa - test novega objekta (angl. Novel Object Test, NOT) in test odmika od človeka (angl. Avoidance Distance Test, ADT) kot tudi parametre čustvenih stanj opisane v WQ.

Rezultati raziskave so pokazali, da ima sistem reje vpliv na številne indikatorje dobrobiti. Poškodbe perja, prsnice in podplatnih blazinic so bile bolj izražene pri kokoših v voljerah in obogatenih kletkah kot pri kokoših v talni reji. Nasprotno pa je bila ocena izražanja socialnega obnašanja najboljša pri kokoših v voljerah. Poškodbe kože in grebena so bile redke in med sistemi rej ni bilo razlik. Z raziskavo smo ugotovili dobro korelacijo med splošno klinično oceno jate - tako v pogledu zdravja kot tudi obnašanja - in individualnim ocenjevanjem kokoši ter specifičnimi testi socialnega obnašanja.

Ključne besede: Dobrobit; perutnina; kokoši nesnice

Welfare and Health in Slovene laying hens

In the past, egg production and health have been considered as two of the most important indicators for welfare assessment in commercial layers. Nowadays, it is world-wide recognised that the well-being assessment should include also other parameters. In Slovenia, no assessment of commercial layers has been conducted focusing on welfare indicators. The aim of our study was therefore to evaluate welfare of laying hens from four different housing systems and to design scoring system suitable for Slovene conditions.

Evaluation was conducted in four flocks. It was based on Welfare Quality® assessment protocol for poultry (2009, WQ) with some modifications. The assessment was performed by clinical observation of flocks and by individual scoring of 100 randomly selected hens in each flock. Hens' behaviour was scored in two specific tests; the novel object test and the avoidance distance test, and by qualitative behaviour assessment.

The results showed that farming system had an influence on several welfare indicators. Feather condition, keel bone deformities and foot pad lesions were related with the farming system and occurred in significantly higher score in enrichment cages and aviary system, compared to the litter system. In the contrary, hens' behaviour tests showed that hens kept in aviaries were least fearful. No difference in severity of comb or skin lesions was confirmed. Our study revealed good correlation between outcomes of assessment based on individual hen scoring and those obtained by clinical assessment on the flock level.

Key words: welfare; poultry; laying hens

Poškodbe grodnice in vpliv na počutje kokoši nesnic

Manja Zupan¹

¹ University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science, Groblje 3, 1230 Domžale, Slovenia

* manja.zupan@bf.uni-lj.si

Poročila EFSA-e in UK Farm Animal Welfare komisije izpostavljajo poškodbe grodnice (tj. prsna kost) pri kokoših nesnicah kot enega od ključnih problemov dobrobiti te vrste perutnine v vseh sistemih rej, od ekološke do baterijske reje. Poškodbe grodnice se v praksi najpogosteje določa s postopkom palpacije. Kljub znatni pogostnosti poškodb so vzroki in dejavniki, ki povzročijo tovrstne poškodbe, slabo raziskani. Velik pomen se pripisuje dvema dejavnikoma, prehrani in genotipu živali. Trenutni podatki kažejo, da je poškodba za žival boleča, in da vpliva na zmanjšanje visoko motiviranih oblik obnašanja kot so uporaba gredi, nesenje jajc v gnezda in gibanje. V Sloveniji smo do sedaj v okviru CRP projekta V4-1604 ugotovili signifikantno povezavo med poškodbami grodnice ter stopnjo plašnosti in raziskovanja posamezne kokoši in da se poškodbe grodnice kažejo že v času pred nesenjem jajc. Nadalje smo tudi ugotovili, da so poškodbe grodnice prisotne tako v obogatenih kletkah kakor tudi v talni reji in sistemu voljer, kar kaže na širšo pogostnost tega problema v Sloveniji, kot se je sprva menilo. Zanimivo je tudi, da je poškodba grodnice prisotna pri štajerski kokoši, ki velja za kokoš z nekoliko skromnejšo nesnostjo in večjo robustnostjo. Rezultati nakazujejo na zelo kompleksen fenomen, ki torej ni nujno povezan z intenzivno selekcijo na povečano prirejo jajc in posledično kliče k nujnosti po ugotavljanju vzrokov in iskanju inovativnih rešitev v perutninarstvu. Ena od morebitnih rešitev je neinvazivna oblika vnosa vitamina D, ki pomembno vpliva na razvoj kosti in tvorbo jajčne lupine.

Ključne besede: perutninarstvo; grodnica; počutje; kokoš nesnica

Keel Bone Damage and its impact on welfare of laying hens

The reports of the EFSA and the UK Farm Animal Welfare Commission highlight the keel bone damage (i.e. breastbone) in laying hens as one of the key welfare problems of this poultry category in all housing systems, from ecological systems to battery cages. The damages are most often determined by the palpation. Despite the significant frequency of damage, the causes and factors are poorly researched. High importance is attributed to two factors, the diet and the genotype. Current data indicate that the damage is painful and affects the reduction of highly motivated behaviours such as perching, nest use and movement. In the framework of the CRP project V4-1604, we found a significant link between the damage and the level of fear and exploration of individual hens, and that damage is already evident before getting in lay. We also found that damages are present both in battery cages, in the deep litter and aviary systems, which points to the wider frequency of this problem in Slovenia, as it was initially felt. It is also interesting that the damage is present in the Styrian hen, which is considered to be a hen with somewhat modest laying and greater robustness. The results suggest a very complex phenomenon, which is not necessarily related to intensive egg selection and calls for the urgent need to identify causes and find innovative solutions. One of these is the non-invasive form of vitamin D intake, which significantly affects the bone development and the formation of an egg shell.

Key words: poultry; keel bone; welfare; laying hen

Vpliv sistemskega mukolitika, prostoglandina E in stresa na viskoznost cervikalne sluzi in prehodnost zamrznjeno-odmrznjenega semena skozi maternični vrat pri ovcah

Dominika Peskar, Malan Štrbenc, Tomaž Snoj, Primož Klinc

Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenija

primoz.klinc@vf.uni-lj.si

Cervikalno osemenjevanje ovc z zamrznjeno-odmrznjenim semenom dosega omejen uspeh. Namen raziskave je bil potrditi hipotezo, da lahko z aplikacijo sistemskih mukolitikov, prostaglandina E (PGE) ter ne-stresnim ravnanjem pred in med osemenjevanjem vplivamo na viskoznost cervikalne sluzi in prehodnost spermijev skozi maternični vrat.

Jagnjice (n=19) smo sinhronizirali z intravaginalnimi spužvicami (Chronogest). Razdelili smo jih v 3 skupine; kontrolna skupina (A; n=7) je v 56 urah pred osemenitvijo prejela 4 aplikacije fiziološke raztopine, skupina B (n=7) je v istih intervalih prejela bromheksin (Eres; 0.5 mg/kg) ter 3 ure pred osemenitvijo PGE (Prostin E2). Skupina C je bila tretirana enako kot B, vendar s pristopom z zmanjšanim stresom (intra-vaginalna osemenitev stoječih živali v boksu). Tik pred osemenitvijo smo živalim v skupinah A in B odvzeli vzorec cervikalne sluzi ter izmerili njeno viskoznost z Leja kamricami.

Živali smo 5 ur po osemenitvi evtanazirali in jim odstranili reproduktivni trakt. S fiziološko raztopino smo preprali maternični vrat, levi maternični rog in jajcevod. V izpirkih smo ob uporabi Maklerjeve kamrice določili število semenčic. Dva dela materničnega vratu, desni maternični rog in utero-tubularni stik smo odvzeli za histološko analizo. Pripravljene rezine smo barvali s hematoksilin-eozinom, PAS-Alcian blue za določanje kislih in nevtralnih mucinov ter HID za določitev sulfo- in sialomucinov.

Bromheksin je signifikantno zmanjšal (Student t-test, $P=0.03$) viskoznost sluzi v primerjavi s kontrolno skupino. Pearsonov korelacijski koeficient je pokazal zmerno korelacijo med viskoznostjo sluzi in prehodnostjo semenčic skozi maternični vrat. Prehodnost je bila podobna pri ovcah iz skupin A in C ter nižja pri ovcah iz skupne B. Z omenjeno histološko preiskavo nismo ugotovili izrazitega vpliva mukolitika ali stresa na sestavo cervikalne sluzi.

Effect of mucolytic drug, prostoglandin E and stress on viscosity of cervical mucus and transient of F/T spermatozoa through the cervix in ewes

Cervical artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen achieves limited success. The purpose of the study was to confirm the hypothesis that the application of systemic mucolytics, prostaglandin E (PGE), and non-stress treatment before and during insemination can affect the viscosity of the cervical mucus and the passage of sperm through the cervix.

The ewes (n = 19) were synchronized with intravaginal sponges (Chronogest). They were divided into 3 groups; the control group (A) (n = 7) received saline 4 times during 56 hours prior to insemination; group B (n = 7) received bromhexine (Eres; 0.5 mg / kg) and PGE (Prostin E2) 3 hours prior to insemination. Group C was treated in the same way as B, but with a stress-reduced approach (intra-vaginal insemination of standing animals in the stable). Just before the insemination, the samples of the cervical mucus were taken from the groups A and B and the viscosity was measured with Lea cages.

The animals were euthanized 5 hours after insemination and their reproductive tract was removed. The cervix, the left uterine horn and the oviduct were flushed with saline solution. The number of sperm cells in the flushes

was determined using the Makler chamber. Two parts of the cervix, right uterine horn and utero-tubular junction were used for histological analysis. Prepared slices were dyed with hematoxylin-eosine, PAS-Alcian blue for the determination of acidic and neutral mucin, and HID for the determination of sulpho- and sialomucin.

Bromhexine decreased (Student t-test, $P = 0.03$) viscosity of mucus compared to the control group. Pearson's correlation coefficient showed a moderate correlation between the viscosity of the mucus and the transitability of the spermatozoa through the cervix. The transitability was similar in ewes from groups A and C, and lower in ewes from the group B. Histological examination did not reveal significant influence of mucolytics and stress on the composition of the cervical mucus.

Vrednost plodnostnih parametrov krav v Sloveniji na podlagi podatkov o umetnih osemenitvah po kvartalih za leta 2010, 2016 in 2017

Dominika Štabuc-Starčevič¹, Mateja Stvarnik¹, Janko Mrkun¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana Slovenija

* Janko.Mrkun@vf.uni-lj.si

V govedoreji je padec reprodukcijskih sposobnosti z ekonomskega vidika pomemben dejavnik. V našo raziskavo stanja na področju plodnosti krav smo vključili vse podatke o umetnih osemenitvah krav in telic iz let 2010, 2016 in 2017. Ugotovili smo, da je bilo letu 2010 155.639 prvih in 123.279 ponovnih osemenitev, leta 2016 144.276 prvih in 125.519 ponovnih ter leta 2017 136.274 prvih in 119.538 ponovnih osemenitev. V analizi smo zaznali, da se število prvih in vseh osemenitev zmanjšuje. Analizirani so bili parametri: NR60 (delež od krav, ki se po 60 dneh niso vrstile v osemenjevanje), PI (plodnostni indeks), SP perioda (obdobja od prve do zadnje osemenitve). Iz analize SP periode je ugotovljeno, da je distribucija pregonitev po letih in kvartalih nestabilna in kaže statistično pomembna odstopanja. NR za krave se je v večini primerih v primerjavi med leti in po kvartalih signifikantno razlikoval, medtem ko pri telicah signifikantnih razlik nismo ugotovili. Podoben trend se kaže tudi pri izračunu PI.

Ključne besede: umetno osemenjevanje; plodnost; parametri plodnosti; krave

The evaluation of the reproductive parameters from AI data based on quarters for years 2010, 2016 and 2017 of cattle in Slovenia

The decline of reproduction capacity in cattle farming is an important economic factor. In our research of cow reproduction we included all data on artificial inseminations (AI) of cows and heifers from years 2010, 2016 and 2017. We found that in 2010 155,639 first and 123,279 re-insemination were recorded, in 2016, 144,276 first and 125,519 re-insemination and years 2017 136,274 first and 119,538 re-inseminations. The analysis showed a decrease of the number of the first and of all inseminations. The parameters that were analysed: NR60 (percentage of cows that did not return to insemination after 60 days), FI (fertility index), IFL (interval between first and last insemination). From the analysis of the IFL, it was found that the distribution of repeated breeding by years and quarters is unstable and shows statistically significant deviations. The NR for cows, in the majority of cases, was significantly different compared between years and between quarters, while in the heifers, there was no significant difference. A similar trend is also evident in the calculation of the FI.

Key words: artificial insemination; fertility parameters; fertility; cow

Mikroelementi v semenski in krvni plazmi kot napovednik kakovosti bikovega semena po zamrzovanju

Maja Zakošek Pipan^{1*}, Petra Zrimšek², Breda Jakovac Strajn³, Katarina Pavšič Vrtač³, Tanja Knific⁴, Janko Mrkun¹

¹ Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² Inštitut za predklinične vede, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ³ Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ⁴ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

*maja.zakosekipan@vf.uni-lj.si

Za umetno osemenitev krav skušamo uporabiti visoko kakovostno bikovo seme. Z uporabo tradicionalnih metod, s katerimi določamo kakovost svežega semena, ne moremo predvideti, da bo seme ustrezne kakovosti tudi po zamrzovanju. Oploditvena sposobnost bikovega semena lahko po zamrzovanju močno variira, čeprav je sveže seme v osnovi ustrezalo kakovostnim standardom. Potreba po zanesljivem biomarkerju, s katerim bi lahko napovedali kakovost semena po zamrzovanju, je torej velika. Mikroelementi semenske plazme imajo pomembno vlogo pri metabolizmu semenčic, njihovem delovanju, preživetju in preprečevanju oksidativnega stresa. V raziskavi smo zato ugotavljali povezavo med mikroelementi prisotnimi tako v semenski kot tudi v krvni plazmi ter kakovostjo semenčic v svežem in zamrznjenem bikovem semenu. Pridobili smo ejakulate in krvne vzorce 30 različnih bikov. V svežem in zamrznjenem semenu smo določali gibljivost, morfologijo, integriteto repov semenčic in DNK fragmentacijo. V sveži semenski in krvni plazmi smo določali koncentracijo mikroelementov (Cu, Fe, Zn in Se). Rezultati so pokazali statistično neznačilne povezave med koncentracijo mikroelementov v semenski plazmi in kakovostjo svežega in zamrznjenega bikovega semena. Vsebnost mikroelementov Se in Zn v krvni plazmi pa je statistično značilno korelirala ($P < 0,05$) z vsemi kakovostnimi parametri tako v svežem kot tudi v zamrznjenem bikovem semenu. Mikroelementi v krvni plazmi so torej povezani s kakovostjo bikovega semena in bi lahko predstavljali pomemben biomarker, s katerim bi lahko uspešneje napovedali oploditveno sposobnost zamrznjenega bikovega semena.

Ključne besede : mikroelementi; bikovo seme; zamrzovanje

Microelements in seminal and blood plasma of bulls as predicting factors for sperm quality after freezing

Semen used for artificial insemination of cows should be of high quality, but traditional estimates of fresh semen quality are not sufficiently sensitive to discriminate between samples that differ in terms of predicting quality following cryopreservation. The bulls that have passed quality standards for semen industry have big variation in fertility rates among frozen bull semen. Since the relations of routine analyses before cryopreservation are still debatable, there is a need for new biomarkers that will help us predict sperm quality after cryopreservation. Microelements in seminal plasma are of great importance due to their roles in sperm metabolism, function, survival and preventing from oxidative stress. In the present study therefore, concentrations of microelements in fresh bull seminal and blood plasma have been determined and their relation to semen quality parameters in fresh semen and after cryopreservation were investigated. Ejaculates and blood samples from thirty different bulls were collected. Sperm motility, morphology, tail membrane integrity, and DNA fragmentation were estimated on the day of collection and after cryopreservation. The seminal and blood plasma was separated and concentrations of microelements (Cu, Fe, Zn and Se) determined. Results showed insignificant correlations between microelements in fresh seminal plasma and semen characteristics in fresh and cryopreserved semen. On the other hand, Se and Zn in fresh blood plasma correlated significantly ($P < 0.05$) with all semen characteristics observed in fresh and

cryopreserved semen. Microelements are shown to be implicated in bull sperm quality and may be important biomarkers for predicting sperm characteristics after cryopreservation.

Key words: microelements; bull semen; cryopreservation

Ugotavljanje respiratornih patogenov pri govedu: nove molekularne metode omogočajo hitro in zanesljivo diagnostiko povzročiteljev pljučnic

Ivan Toplak^{1*}, Peter Hostnik¹, Tomislav Paller²

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

² Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Nacionalni veterinarski inštitut, Ljubljana, Slovenija

*ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Nove molekularne metode so lahko pomembno diagnostično orodje za laboratorije in rejce, da si izboljšajo nadzor, terapijo in preprečijo širjenje bolezni dihal v govejih čredah. Pri 133 klinično bolnih živih govedih, z znaki obolenja respiratornega trakta, smo odvzeli vzorce nosnih brisov iz 28 različnih rej. Vzorce smo testirali z različnimi komercialnimi in internimi metodami PCR v realnem času, ki omogočajo dokaz nukleinske kisline desetih respiratornih patogenov. Bakterijo *Pasteurella multocida* smo dokazali v 58,65 % vzorcev, *Mannheimia haemolytica* v 15,04 %, *Mycoplasma bovis* in *Histophilus somni* pa v 9,77% vzorcih. Od virusnih povzročiteljev smo najvišji odstotek, 40,60 % pozitivnih vzorcev, ugotovili pri testiranju na goveji respiratorni sincicialni virus, 12,03% na goveji koronavirus, 3,01% na virus bovine parainfleunce 3, 1,50% na virus bovine virusne diareje in 0,75% na goveji herpes virus tipa 1 in goveji adenovirus. Sedaj so na voljo nove, hitre in občutljive diagnostične metode za laboratorijsko testiranje obolelega goveda z respiratornimi težavami.

Ključne besede: respiratorne bolezni goveda; diagnostika; PCR v realnem času; dokazovanje; govedo

Uvod

Respiratorna obolenja goveda so v sodobni govedoreji pogost pojav, ki lahko pri govedu različne starosti povzroči visoko obolenost in smrtnost. Pojav bolezni je pogosto povezan z vnosom novih živali v rejo, s stresom živali (transport, prenaseljenost, visoka proizvodnja, paša) in zmanjšanjem imunosti, posledično pa pri obolelih živali pogosto ne najdemo le enega patogena, ampak je klinična slika rezultat številnih patogenov in drugih dejavnikov, ki privedejo do širokega spektra kliničnih znakov, od blagega kašljanja do hudih pljučnic. Respiratorna obolenja govedi povzročajo različne bakterijske in virusne okužbe, ko se ti patogeni razmnožujejo in poškodujejo različne dele dihalnega sistema (1). Med najpomembnejše respiratorne virusne patogene spadajo goveji respiratorni sincicialni virus (BRSV), virus bovine virusne diareje (BVD), virus bovine parainfleunce 3 (BPI-3), goveji herpesvirus (BHV-1), goveji koronavirus (BCV) in bovini adenovirus (BAdV). Povzročitelji bakterijskih okužb (*Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*) naseljujejo zdrave in poškodovane sluznice respiratornega trakta in pogosto sledijo virusni okužbi, nekatere pa lahko tudi samostojno povzročijo vnetje dihal in pljučnice, ob zmanjšani odpornosti živali (2). V Sloveniji se nadaljuje trend povečevanja govejih čred, povečuje se število premikov med rejami in uvoz živih živali za paitanje iz tujine. Mešanje živali z različnim zdravstvenim statusom ima pogosto, zlasti v zimskih mesecih leta, za posledico vnetje respiratornega sistema in pojav pljučnice pri večjem številu živali v reji, največja smrtnost pa je pri mladih živalih v zimskem obdobju. V preteklosti so se v diagnostiki uporabljale klasične virološke in bakteriološke metode, ki pa jih vse bolj nadomeščajo novejša molekularna metoda.

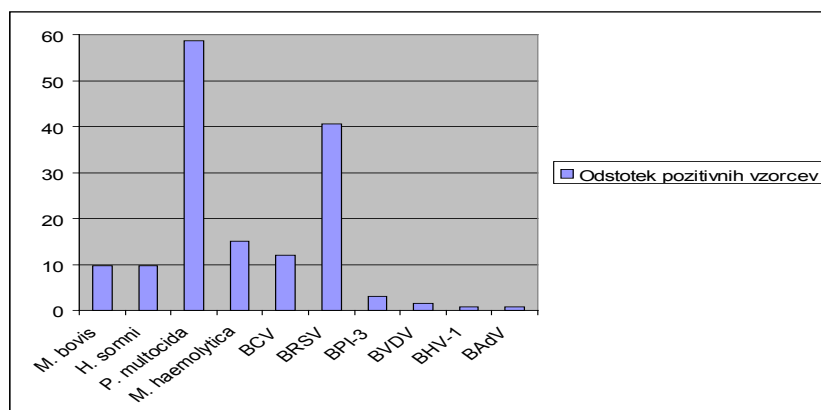
V študiji smo želeli z novejšimi molekularnimi metodami ugotoviti pogostost 10 respiratornih patogenov v vzorcih nosnih brisov, odvzetih pri klinično obolelih živih živalih iz različnih rej.

Materiali in metode

V študijo smo zajeli 28 rej (reje usmerjene samo v mlečno proizvodnjo, samo v pitanje in kombinirane reje), v katerih so se pri več živalih pojavili znaki respiratornega obolenja, s povišano telesno temperaturo, kašljanjem in nosnim izcedkom. V posamezni reji smo odvzeli vzorce od 3 do 5 obolelim živalim. Vzorčili smo skupno 133 vzorcev nosnih brisov pri klinično obolelim živalih. Za kontrolno skupino smo uporabili 10 klinično zdravih živali iz treh rej. Ohlajene vzorce brisov smo poslali v laboratorij, izolirali nukleinske kisline in izvedli dokazovanje skupno 10 respiratornih patogenov v istem vzorcu (*Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, BCoV, BRSV, PI-3, BVD, BHV-1, BAdV), po postopku, kot je bilo predhodno opisano (3).

Rezultati

S komercialnimi in internimi metodami PCR v realnem času smo vsaj enega patogena dokazali v 82,70 % vzorcev govedu s kliničnimi znaki, pogosto pa so pri obolelim živalih hkrati pristni dva ali trije patogeni. V najvišjem odstotku smo dokazali prisotnost nukleinskih kislin bakterije *Pasteurella multocida* (58,65 %), sledi BRSV z 40,60 % pozitivnih vzorcev, nato *Mannheimia haemolytica* (15,04 %), BCoV 12,3%, *Mycoplasma bovis* in *Histophilus somni* (9,77 %), PI-3 z 3,01, BVD z 1,5% ter BHV-1 in BAdV za 0,75% (Slika 1). V preiskovanih vzorcih smo z metodami PCR v realnem času pri različnih patogenih dobili od nizko do zelo močno pozitivnih vzorcev (ocena, glede na dobljene vrednost Ct). Znotraj iste reje smo v odvzetih in individualno testiranih vzorcih bolnih živali ugotovili zelo podobno prisotnost patogenov. V kontrolni skupini respiratornih patogenov nismo dokazali.



Slika 1: Rezultati dokazovanja desetih respiratornih patogenov pri govedu z metodami PCR v realnem času v 133 vzorcih nosnih brisov, zbranih od živih živali s kliničnimi znaki obolenja dihal.

Razprava

Študija prikazuje dokazovanje 10 različnih patogenov z molekularnimi metodami PCR v realnem času v vzorcih nosnih brisov, odvzetih pri živih živalih. To je prva tovrstna študija, ki smo jo izvedli pri nas in ena redkih, v katero je bilo zajeto ugotavljanje tako velikega števila različnih patogenov. Visok odstotek pozitivnih vzorcev na BRSV (40,60 %) dokazuje, da je ta virus pri nas med najbolj pogostimi povzročitelji respiratornih obolenj, pogosto pa je sočasno prisotna še bakterijska okužba s *Pasteurella multocida*. Pri ostalih povzročiteljih (BCoV, *Mycoplasma bovis* in *Histophilus somni*) pogosto ugotavljamo sočasno okužbo še z najmanj enim respiratornim patogenom. Čeprav je z virusom BVD okuženih okrog 30 % govejih rej, jih rejci klinično redko prepoznajo. V tej študiji smo zabeležili nizek odstotek (1,50 %) BVD pozitivnih živali. Ugotovitev virusnega povzročitelja je pogosto povezana z dovolj zgodnjim odvzemom vzorcev, saj se večina virusnih okužb nadlajuje z bakterijsko okužbo, prav tako nam omogoča lažjo odločitev glede cepljenja. Visoko občutljive in specifične molekularne metode so primerne tudi za pregled skupinskega vzorca (potrebno je odvzeti do 5 vzorcev brisov iz iste reje) in dokazovanje istih povzročiteljev pri poginjenih živali. Za veterinarja praktika je rejca podatek o povzročitelju respiratornega obolenja v posamezni reji lahko izrednega pomena za doseganje boljših rezultatov pri zdravljenju in načrtovanju preventivnih ukrepov.

Reference

1. Snowden GD, Van Vleck LD, Cundiff LV, Bennett GL. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: environmental, genetic and economic factors. *J Anim Sci* 2006; 84: 1999–2008.
2. Luzzago C, Bronzo V, Salvetti S, Frigerio M, Ferrari N. Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in endemic dairy cattle herds. *Vet Res Com* 2010; 34: 19–24.
3. Paller T, Hostnik P, Pogačnik M, Toplak I. The prevalence of ten pathogens detected by real-time PCR method in nasal swab samples collected from live cattle with respiratory disease. *Slov Vet Res* 2017; 54: 101-7.
4. Toplak I, Rihtarič D, Hostnik P, Mrkun J. The usefulness of two molecular methods for the detection of persistently infected cattle with bovine viral diarrhoea virus using oral swab samples *Slov Vet Res* 2015; 52: 23–30.

Determination of respiratory pathogens in cattle: new molecular methods allow rapid and reliable diagnosis of pneumonia

New molecular diagnostic methods can be an important diagnostic tool for laboratories and farmers to improve control, the therapy, and prevention of respiratory disease in cattle herds. Nasal swab samples were collected from twenty-eight herds from 133 affected live cattle that were clinically suffering from respiratory symptoms. Samples were tested by commercial and in-house real-time PCR methods, to detect nucleic acids of a total of ten different respiratory pathogens. *Pasteurella multocida* was detected in 58.65% of samples, *Mannheimia haemolytica* in 15.04%, *Mycoplasma bovis* and *Histophilus somni* were positive in 9.77% of samples. Among viral pathogens, 40.60% of tested samples were positive for bovine respiratory syncytial virus, 12.03% for bovine coronavirus, 3.01% for bovine para-influenza 3, 1.50% for bovine viral diarrhoea virus, 0.75% bovine herpes virus type 1 and bovine adenovirus. New rapid and sensitive diagnostic methods are now available for testing of diseased cattle with respiratory problems.

Key words: bovine respiratory disease; diagnostics; real-time PCR detection; cattle

Ugotavljanje povzročiteljev drisk pri teletih in vpliv zdravljenja na izločanje oocist *Cryptosporidium parvum*

Jože Starič¹, Barbara Jernejčič¹, Katarina Modrijan¹, Aleksandra Vergles Rataj², Rok Marzel³, Jožica Ježek¹

¹ Veterinarska fakulteta, Klinika za reprodukcijo in velike živali, Cesta v Mestni log 47, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Cesta v Mestni log 47, 1000 Ljubljana, Slovenija

³ VOA, Breznikova cesta 89, Ihan, 1230 Domžale, Slovenija

*joze.staric@vf.uni-lj.si

Pogosti povzročitelji drisk pri teletih so Corona in Rotavirusi, *E. coli*, vse bolj pomemben in razširjen povzročitelj pa je protozoj *Cryptosporidium parvum*. Na osmih različnih farmah po Sloveniji, smo testirali teleta stara 2 do 21 dni na prisotnost teh štirih povzročiteljev, z večjim poudarkom na odkrivanju oocist *Cryptosporidium parvum*. Glede na največje število okuženih telet s *Cryptosporidium parvum* na eni od farm, smo raziskavo nadaljevali na tej farmi. Izvedli smo preventivno zdravljenje telet s Halagonom in determinacijo oocist kriptosporidijev s klasičnim in hitrim testom. *Cryptosporidium parvum* se je v blatu pojavil pri tri dni starih teletih, tako pri tistih z drisko, kot pri tistih brez le-te. Razlike v pojavljanju drisk so bile odvisne tudi od infekcije z drugimi patogeni in od drugih dejavnikov. Po izvedbi obeh testov za dokaz kriptosporidioze smo primerjali rezultate ter ugotovili neskladja med rezultati hitrih testov in rezultati metode modificiranega ZN barvanja. Dajanje Halagona je zmanjšalo število izločenih oocist pri teletih, saj so bila na hitri test pozitivna le 4 teleta od 20 zdravljenih. V kontrolni skupini je bilo 9 od 10-ih telet pozitivnih na *Cryptosporidium parvum*. V povprečju je driska pri zdravljenih teletih trajala manj časa kot pri kontrolnih, kar kaže, da je dajanje zdravila ugodno za preventivo kriptosporidioze.

Ključne besede: kriptosporidioza; govedo; preventiva; oociste

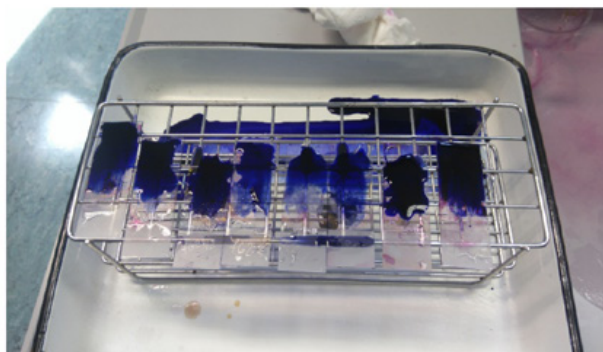
Uvod

Driske so v govedoreji, predvsem pri teletih, zelo nezaželena a žal tudi zelo pogosta nadloga. Teleta z drisko so zaradi še nestabilnega imunskega sistema bolj podvržena infekcijam z virusi, bakterijami in paraziti. Najpogostejši povzročitelji drisk pri teletih so Rotavirusi, Coronavirusi, *E. coli* in v zadnjem času vedno več tudi z enoceličnim parazitom *Cryptosporidium parvum*. *C. parvum* sodi v poddeblo *Apicomplexa*, je razširjen po celem svetu in lahko okuži vrsto različnih gostiteljev, vključno s človekom. Prvo poročilo o goveji kriptosporidiozi je bilo objavljeno leta 1971, vendar pa kot eden glavnih povzročiteljev drisk pri teletih še vedno povzroča zaskrbljenost med kmeti in veterinarji. Razlog za skrb je predvsem v njegovem kompleksnem razvojnem krogu, ki omogoča avtoinfekcijo črevesja in negativnem vplivu na imunski sistem novorojenih telet. Dokazovanje okužbe zahteva posebne postopke za identifikacijo povzročitelja v blatu. Povzroča vnetje tankega črevesja, in posledično malabsorpcijski sindrom, ki se izraža z drisko. Zdravstveno stanje in normalen razvoj novorojenih telet sta prizadeta. Oociste zajedavca so v okolju zelo odporne, zato dolgo časa vztrajajo v okolju, razen tega je za okužbo potreben zelo majhen infektivni odmerek oocist. Cepivo za kriptosporidiozo ne obstaja. Edino registrirano zdravilo oz. zdravilna učinkovina za preprečevanje in zdravljenje kriptosporidioze pri teletih je kokcidostatik halofuginon, za katerega številne raziskave ugotavljajo, da blagodejno vpliva v eksperimentalnih kot tudi v naravnih razmerah. Za obvladovanje bolezni se priporoča dobra higiena hlevov in napajanja telet, zadostna količina kolostruma v najkrajšem možnem času po rojstvu, preventivno zdravljenje in spremljanje zdravstvenega stanja telet.

V raziskavi smo se ukvarjali s pojavljanjem drisk pri teletih v povezavi z infekcijami z Rotavirusi, Coronavirusi, *E. coli* ter s poudarkom na infekciji s *C. parvum*. Testirali smo tudi učinkovitost preparata Halagon za preventivo kriptosporidioze.

Materiali in metode

V prvem delu raziskave smo se osredotočili na 8 večjih rej goveda za prirajo mleka v Sloveniji, in sicer s 160 do 400 molznicami, kjer smo pregledali 36 telet, starih od 2 do 21 dni (3 do 11 telet iz vsake farme), z namenom ugotavljanja povzročiteljev nekaterih pogostejših infekcijskih drisk pri teletih. Opravili smo klinične preglede telet in odvzeli vzorce blata za izvedbo hitrega testa FASTest® D4T bovine (Megacor, Austria) za določitev prisotnosti štirih različnih pogostih povzročiteljev drisk: *Coronavirus*, *Rotavirus*, *E. Coli* - K99 (F5) in *C. parvum*. Test smo izvedli po navodilih proizvajalca. Dodatno smo pripravili razmaze blata na predmetnih stekelcih za barvanje z modificirano Ziehl – Neelsen metodo, za ugotavljanje in štetje oocist *C. parvum*.



Slika 1, 2: Prikaz obeh uporabljenih metod determinacije *Cryptosporidium parvum*: Hitri test FASTest® D4T bovine (levo), barvanje s ZN (desno)

Na podlagi rezultatov iz prvega dela raziskave, smo se zaradi težav povezanih z driskami in prekuženostjo reje s *C. parvum* ter velikega števila telitev odločili za preventivno zdravljenje telet v tej reji. V raziskavo smo vključili 30 telet, ki so se rodila brez zapletov in bila prvi dan ustrezno oskrbljena s kolostrumom ter zdrava pri pregledu 2 dan. Teleta smo zbrali v obdobju dveh mesecev, in sicer na dva rojena testna smo pustili enega nezdravljenega kontrolnega. Testno skupino (20 telet) smo zdravili z edino registrirano učinkovino za preprečevanje in zdravljenje kriptosporidioze pri teletih, halofuginonom. Zdravljenje je potekalo od drugega do osmega dneva starosti (7 zaporednih dni, enkrat na dan). Drugi dan je bil opravljen klinični pregled in odvzem krvi teletom vključenim v raziskavo. Vzorce krvi smo odvzeli iz *v. jugularis* za biokemijske preiskave. V krvnih vzorcih smo določali celokupne serumske beljakovine in encim GGT, kot pokazatelja uspešnosti prenosa pasivne imunosti. Preiskave krvnega seruma smo izvedli na biokemijskem analizatorju Daytona (Randox, Velika Britanija) po navodilih proizvajalca. Deveti dan smo odvzeli vzorce blata za hitri test in klasično ZN metodo. Štirinajsti do 16. dan starosti pa smo opravili drugi odvzem blata. Postopki z vzorci blata so bili enaki kot pri prvem delu raziskave. Razmaze blata, pobarvane z modificirano ZN metodo smo pregledali pod mikroskopom in prešteli oociste kriptosporidijev. Pri tem smo si pomagali s posebno mrežico vstavljeno v okular mikroskopa s površino 10000µm² oz. 0,01mm² (100µm x 100µm). To mrežico smo uporabili kot 1 vidno polje in prešteli vse oociste, ki so bile znotraj mrežice. Enako smo ponovili petkrat oz. prešteli pet vidnih polj/ površin mrežice, izračunali aritmetično sredino števila prešteti oocyst na petih vidnih poljih.

Poleg tega smo med raziskavo beležili še ali je tele imelo drisko, koliko časa je trajala in njihov prsni obseg.

Rezultati

Kriptosporidioza je bila prisotna v vseh osmih rejah krav molznic. V štirih rejah niso bili seznanjeni z dejstvom, da je pri njih prisotna kriptosporidioza. Prevalenca *C. parvum* je variirala glede na starost telet in rejo. Oociste *C. parvum* so se začele pojaviti v blatu pri tri dni starih teletih, in so bile prisotne tako v blatu telet z drisko, kot pri teletih, ki driske niso imela. Razlike v pojavljanju driske pa so bile odvisne tudi od infekcije telet z drugimi povzročitelji drisk (*Rotavirus*, *Coronavirus*, *E.coli*). Po izvedbi obeh testov za dokaz kriptosporidijev smo primerjali rezultate in pojavila so se neskladja med rezultati hitrega testa in metodo modificiranega ZN barvanja. Rezultati obeh testov, v obeh delih raziskave so bili skladni v 75 odstotkih primerov, v preostalih 25-ih pa so bili rezultati hitrih testov drugačni kot rezultati pri klasični metodi določanja kriptosporidijev z modificirano ZN metodo.

Vsa teleta vključena v drugi del raziskave, razen enega so bila primerno oskrbljena s kolostrumom, saj so rezultati celokupnih serumskih beljakovin in GGT presegali minimalne vrednosti, ki kažejo na zadosten prenos kolostralne imunosti. V drugem delu raziskave, kjer smo se osredotočili na zdravljenje, smo pregledali vzorce blata, ki so bili odvzeti 9. dan, naslednji dan po končanem zdravljenju s Halagonom. Hitri testi na povzročitelje drisk so bili pri devetih teletih (30 % telet) pozitivni na Rotavirus, pri štirih teletih (13,3 % telet) na Coronavirus, pri vseh negativni na *E. coli* - K99 (F5), pri trinajstih teletih (43,3 % telet) pa so bili pozitivni na *C. parvum*. Devet telet, ki so imela pozitiven rezultat na kriptosporidiozo je bilo iz kontrolne skupine, ostali štirje pa iz testne oz. zdravljene skupine.

Drisko smo 9. dan ugotovili pri 21 teletih (70 % vseh telet), in sicer pri 9 od 10 teletih iz kontrolne skupine in 12 od 20 telet iz testne skupine. V obdobju med 14. in 16. dnevom starosti, pa je drisko imelo 22 telet (73,3 % vseh telet), 8 telet iz kontrolne skupine in 14 telet iz testne skupine. V povprečju je driska pri zdravljenih teletih trajala 2,8 dni, pri kontrolni pa 4,9 dni.

Pri pregledu razmazov blata 9. dan smo pri 6-ih od 10-ih telet iz kontrolne skupine ugotovili večje število oocist *C. parvum* v vidnem polju (v povprečju 0,33 oocist/ 0,01mm²) kot pa pri teletih iz zdravljene (testne) skupine, kjer so bili vsi rezultati razen enega negativni, kar v povprečju znaša 0,015 oocist/ 0,01mm².

Rota in coronavirus sta se v približno enaki prevalenci pojavljala tako v kontrolni kot v testni oz. zdravljeni skupini.

Razlika v prsnem obsegu telet od 2. do 35. dne je pri kontrolni skupini v povprečju znašala 6,8 cm, pri teletih zdravljene skupine pa 6,6 cm.

Razprava

Ugotavljamo, da je *C. parvum* prisoten v vseh testiranih rejah goveda v raziskavi. Zelo verjetno bi dobili podobne rezultate tudi pri testiranju večjega števila rej, ker se v Sloveniji ne izvajajo biovarnostni ukrepi za preprečevanje vnosa *C. parvum* v rejo. Tudi drugod po svetu ugotavljajo zelo visoko prevalenco okuženosti rej goveda s protozom *C. parvum*.

Glede na dobljene rezultate sklepamo, da je bilo zdravljenje s Halagonom uspešno. Kot prvo je zdravljenje izrazito zmanjšalo število izločenih oocist pri teletih, saj so bila na hitrem testu pozitivna le štiri teleta v testni skupini 20 telet, v kontrolni skupini pa je bilo pozitivnih kar 9 telet od 10-ih. Temu je ustrezalo tudi manjše število oocist na mm² razmaza. Pri teletih v zdravljeni skupini, je bil tudi manjši pojav drisk. Naši rezultati so primerljivi z rezultati nekaterih študij, ki tudi ugotavljajo učinkovitost halofuginona pri preprečevanju kriptosporidioze.

Kriptosporidioza, ki je tudi zoonoza, zahteva v prihodnosti večjo pozornost, saj zaradi svojih lastnosti, predvsem odpornosti in obstojnosti oocist v okolju ter majhnega infektivnega odmerka oocist, ki lahko povzroči bolezen, predstavlja resno grožnjo za zdravje telet in tudi ljudi.

Zahvala

Avtorji se zahvaljujemo podjetju TPR d.o.o. (Med Vet) za sodelovanje pri raziskavi.

Reference

1. Meganck V, Hoflack G, Piepers S, Opsomer G. Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. *Prev Vet Med* 2015; 118(1): 64-70.
2. Thomson S, Hamilton CA, Hope JC, Katzer F, Mabbott NA, Morrison LJ, Innes EA. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. *Vet Res* 2017; 48(1): 42.
3. Heller MC, Chigerwe M. Diagnosis and Treatment of Infectious Enteritis in Neonatal and Juvenile Ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2018; 34(1): 101-117.

Infectious causes of diarrhea in calves and the influence of treatment on the secretion of *Cryptosporidium parvum* oocysts

Common agents of diarrhea in calves are Corona and Rota viruses, *E. coli*, increasingly more important and widely spread protozoan *Cryptosporidium parvum*. On eight different Slovenian dairy farms we tested newborn calves on presence of these four pathogens, with large emphasis on detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts. Considering the largest number of calves infected with *Cryptosporidium parvum* on one farm, our research continued on that farm. Calves there were treated and later the number of oocysts of *Cryptosporidium* with classical and quick tests was determined. Oocysts appeared in feces of three days old calves, both diarrheic and in those without. Differences in occurrence of diarrhea depended upon the infection of calves with other pathogens and other factors. After the realisation of both tests, results were compared and some disagreement appeared between the results of quick tests and results of modified ZN coloring. After treatment with Halagon, number of excreted oocysts was reduced according to the quick tests there were only 4 positive among 20 treated calves, while in control group 9 out of 10 calves were positive on *Cryptosporidium parvum*. Diarrhea in treated calves lasted fewer days on average as in control group, which indicates that preventive treatment with Halagon was beneficial.

Key words: Cryptosporidiosis; cattle; diarrhea; prevention; oocysts

Dvajset let molekularno epidemioloških študij virusa bovine virusne diareje v Sloveniji

Ivan Toplak*, Danijela Rihtarič, Peter Hostnik, Jože Grom

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

*ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Na podlagi primerjav in ugotovitev genetskih razlik med virusnimi sevi iz različnih rej in geografskih regij lahko z molekularno epidemiološkimi študijami sledimo pojavljanju in ohranjanju posameznih sevov znotraj države, dokažemo prenos virusa, sledimo vnosu novih sevov v državo in spremljamo stabilnost virusnega genoma skozi daljše časovno obdobje. Filogenetska analiza nukleotidnih zaporedij 5'NCR and N^{pro} regije virusnega genoma, pri 343 pozitivnih vzorcih virusov BVD, zbranih iz 146 različnih govejih rej, je pokazala uvrstitev slovenskih sevov v sedem podtipov (1a=1, 1b=22, 1d=90, 1e=8, 1f=217, 1g=4 in 1h=1). Primerjava zaporedij 5'NCR je pokazala, da so posamezni sevi skozi 20-letno obdobje genetsko zelo stabilni, z 0 do največ 2 nukleotida razlike med sedanjimi in najstarejšimi tipiziranimi sevi. Večina novih okužb rej je posledica prenosa enega od "avtohtonih" sevov BVD, ki so že desetletja prisotni v Sloveniji, občasno pa se v naše rej vnesejo tudi novi sevi BVD, najverjetneje z nakupom pozitivnih živali. Splošnega izboljšanja zdravstvenega stanja živali ne moremo pričakovati, dokler ne bomo izvedli obveznega programa izkoreninjenja za vse goveje rej v Sloveniji, kot so to storile že nekatere sosednje države.

Ključne besede: virus bovine virusne diareje; epidemiologija; prenos; dokazovanje; govedo

Uvod

V Sloveniji smo s spremljanjem in nadzorom okužb z virusom bovine virusne diareje (BVD) v govejih čredah začeli leta 1994 (1). Serološko testiranje živali v rejah bikovskih mater, v letih od 1996 do 2003, je pokazalo, da je virus BVD razširjen v približno 30 % slovenskih plemenskih rej (2). Virus se širi najpogosteje znotraj reje in med rejami s perzistentnimi izločevalci (PI), ki so najpomembnejši vir okužbe. Z določanjem nukleotidnega zaporedja kratkih odsekov virusnega genoma (5'NCR in N^{pro}) lahko pozitivne vzorce tipiziramo in jih uvrstimo v ustrezne genetske skupine (3). Na podlagi genetske primerjave virusnih sevov iz različnih rej in regij lahko z molekularno epidemiološkimi študijami sledimo pojavljanju in ohranjanju posameznih sevov v državi, dokažemo prenos virusa, sledimo vnosu genetsko novih sevov v državo in spremljamo stabilnost virusnega genoma skozi daljše časovno obdobje. Prvi genetsko tipiziran sev virusa BVD 1d 465/97, v genski banki zaveden pod številko AY323888, je bil v Sloveniji ugotovljen v okuženi reji leta 1997 (3), v naslednjih dveh desetletjih pa smo nadaljevali z zbiranjem in tipizacijo pozitivnih vzorcev iz naše države. Molekularno epidemiološke študije predstavljajo danes že osnovni del raziskovalnih in diagnostičnih postopkov, v kolikor želimo ugotavljati in študirati prenos virusov.

Materiali in metode

Vzorci krvi bolnih in klinično zdravih govedi ter vzorce organov poginjenih živali, zbranih v obdobju od 1997 do 2018, smo testirali na dokaz prisotnosti virusa bovine virusne diareje z različnimi metodami: antigenskim testom ELISA, klasično metodo RT-PCR in metodo RT-PCR v realnem času (1, 3, 4). Pozitivnim vzorcem (n=343) smo določili nukleotidno zaporedje po Sangerju v 5'NCR in N^{pro} in jih na podlagi genetskih razlik uvrstili v ustrezne podtipe virusov BVD (3).

Rezultati

Filogenetska primerjava 343 pozitivnih vzorcev virusov BVD v dolžini od 238 do 245 nukleotidov 5'NCR, ki smo jih vzorčili iz 146 različnih govej rej, je pokazala razvrstitev slovenskih sevov BVD v sedem genetskih podtipov

(1a=1, 1b=22, 1d=90, 1e=8, 1f=217, 1g=4 in 1h=1). Znotraj iste okužene goveje reje skoraj vedno ugotavljamo le kroženje enega virusnega seva, istočasna prisotnost dveh virusih sevov BVD v reji je redkost. Regija N^{pro} je genetsko bolj variabilna, v primerjavi z regijo 5'NCR, in je primerna za natančnejše razlikovanje zelo sorodnih sevov BVD. Podtip virusa BVD 1f je bil med pozitivnimi vzorci številčno najpogostejše ugotovljen sev BVD, sledijo podtip 1d in podtip 1b. V zadnjih dvajsetih letih smo občasno zabeležili vnos genetsko novih sevov virusov BVD (1a, 1b, 1e, 1f in 1h) na ozemlje Slovenije, kar je zelo verjetno posledica nakupa BVD pozitivnih živali iz tujine. Primerjava nukleotidnih zaporedij ugotovljenih novih sevov s podatki v genski banki je pokazala najbližjo sorodnost s sevi BVD iz Avstrije, Italije, Švice, Francije in Velike Britanije. Večina novo zabeleženih okužb slovenskih rej pa je posledica prenosa/vnosa enega od "avtohtonih" sevov BVD, ki so že desetletja prisotni v Sloveniji in smo jih ugotavljali že leta 2004, ko je bila izvedena prva molekularno epidemiološka študija.

Razprava

Spremljanje virusov BVD skozi daljše časovno obdobje z molekularno epidemiološkimi pristopi daje dober vpogled v dinamiko in razširjenost posameznega seva ter jasno zazna vnos novih sevov v goveje črede. BVD je ena od najpomembnejših bolezni goved, ki v okuženih rejah dolgo časa vztraja in povzroča velike ekonomske škode, reja pa se brez ukrepanja le redko samoozdravi. Ugotovljeni slovenski sevi virusa BVD povzročajo vse opisane oblike in klinične slike bolezni, kot jih poznamo iz literature. BVD pozitivne vzorce (343 vzorcev) smo skozi dvajsetletno obdobje sproti odbirali in jih na podlagi določitve nukleotidnega zaporedja razvrščali v ustrezne podtipе. Prav tako v laboratoriju hranimo reprezentativne seve virusov BVD, izolirane na celični kulturi, ki so pomemben del nacionalne zbirke in jih lahko uporabimo za prihodnje raziskave. Iz študije je razvidno, da so v Sloveniji prisotni genetsko različni sevi BVD, ki pa se med seboj razlikujejo do največ 20 % na nukleotidnem nivoju. Na podlagi primerjave zaporedij 5'NCR ugotavljamo, da so posamezni sevi skozi 20-letno obdobje genetsko zelo stabilni, z 0 do največ 2 nukleotida razlike med sedanjimi in najstarejšimi tipiziranimi sevi. Iz izvedene analize lahko zaključimo, da občasno zabeležimo vnos novih virusnih sevov v Slovenijo in nekateri od teh sevov se kasneje prenesejo v nove reje. Pri analizi rezultatov pozitivnih rej iz določene regije ugotavljamo, da se virusni sevi najbolj intenzivno prenašajo znotraj rej iste geografske regije (Gorenjska, Štajerska, Pomurje), prav tako pa beležimo prenos virusov na daljše razdalje, med posameznimi regijami Slovenije. Čeprav je v to študijo zajetih le 146 pozitivnih rej (število pozitivnih rej je seveda veliko večje), pa so te pozitivne reje razporejene po celotnem območju Slovenije, kar nam daje dober vpogled v geografsko razširjenost posameznih sevov skozi 20-letno obdobje in omogoča identifikacijo morebitnih virov okužbe, iz katerih se virus širi v neokužene reje. Na podlagi izvedenih laboratorijskih testiranj ugotavljamo, da je v Sloveniji v povprečju 1,32 % od testiranih vzorcev pozitivnih na prisotnost virusa BVD (5). Kljub dobremu pregledu nad virusnimi sevi BVD, ki krožijo v Sloveniji, splošnega izboljšanja zdravstvenega stanja živali ne moremo pričakovati, dokler ne bomo izvedli obveznega programa izkoreninjenja BVD za vse reje v Sloveniji, kot so to storile že nekatere sosednje države. Dokaz uspešnega nadzora bolezni BVD so številne negativne reje, ki so z izločitvijo vseh PI živali iz reje bolezni sanirale in reje, ki že imajo uradno priznanje statusa. Vendarle pa so te reje, kljub izvajanju preventivnih ukrepov, pod neprestanim pritiskom okuženih živali iz pozitivnih rej in nevarnostjo ponovnega vnosa v rejo. Že ozdravljene reje se lahko ponovno okužijo od njim bližnjih okuženih rej, kar nam potrjujejo izkušnje in dokazujejo primerjani podatki izvedene molekularno epidemiološke študije. Zajeto dvajsetletno obdobje nam daje dober vpogled v dolgotrajno prisotnost istih sevov virusa BVD na območju Slovenije, prav tako pa pridobljeni podatki predstavljajo pomemben zgodovinski zapis o tej virusni bolezni v obdobju od 1997 do 2018.

Reference

1. Grom J, Barlič-Maganja. Bovine viral diarrhoea (BVD) infections - control and eradication programme in breeding herds in Slovenia. *Vet Microbiol* 1999; 2: 259–264.
2. Toplak I, Hostnik P, Barlič-Maganja D, Grom J. Spremljanje prevalence infekcij z virusom bovine virusne diareje (BVD) v rejah bikovskih mater v Sloveniji med leti 1997-2001 = Study on prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVD) infections in breeding herds in Slovenia during 1997-2001. *Vet Nov* 2002; 28: 397-404.
3. Toplak I, Sandvik T, Barlič-Maganja, Grom J, Paton DJ. Genetic typing of bovine viral diarrhoea virus: most Slovenian isolates are of genotypes 1d and 1f. *Vet Microbiol* 2004; 99: 175–185.

4. Toplak I, Rihtarič D, Hostnik P, Mrkun J. The usefulness of two molecular methods for the detection of persistently infected cattle with bovine viral diarrhoea virus using oral swab samples. *Slov Vet Res* 2015; 52: 23–30.
5. Žitnik Oitzl T, Rihtarič D, Toplak, I. Določitev prevalence perzistentnih izločevalcev virusa BVD iz rutinsko testiranih serumskih vzorcev. V: MAJDIČ, Gregor (ur.). 6. Slovenski veterinarski kongres 2016 = 6th Slovenian Veterinary Congress 2016 : Portorož, 2. -3. December 2016, *Slov Vet Res* 2016; 53: suppl. 17, 95-98.

Twenty years of molecular epidemiology studies of bovine viral diarrhoea virus in Slovenia

Based on the genetic comparison and differences of identified viral strains from different herds and geographic locations, molecular epidemiological studies can follow the occurrence and the persistence of individual strains in the country, the transmission of different strains, the introduction of new strains into the region, and monitor the stability of viral genome over a longer period of time. According to the phylogenetic comparison in 5'NCR and N^{pro} region of viral genome, of 343 BVDV positive samples, originated from 146 different herds, seven subtypes of BVD (1a=1, 1b=22, 1d=90, 1e=8, 1f=217, 1g=4 and 1h=1) were identified. On the basis of the nucleotide comparison of the 5'NCR, we find that the individual strains are genetically very stable over the 20-year period, with 0 to 2 nucleotides of difference between the present and the oldest typed strains. Most of the new infections in herds are result of the transmission of one of the »autochthonous« BVD strains that have been present in Slovenia for decades, occasionally new BVD strains are introduced into our herds, most likely with the trade of positive animals. General improvement in the animal health situation in Slovenia can be expected with implementation of a mandatory eradication program for all herds, as some neighboring countries already did.

Key words: bovine viral diarrhoea virus; epidemiology; transmission; detection; cattle

Pojav virusov visoko patogene aviarnе influenzae podtipa H5 v letu 2017 v Sloveniji

Brigita Slavec^{1*}, Aleksandra Hari², Zdravko Ipša¹, Uroš Krapež¹, Joško Račnik¹, Zoran Žlabravec¹, Tjaša Sernel¹ in Olga Zorman Rojs¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² Uprava Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Ljubljana, Slovenija

* brigita.slavec@vf.uni-lj.si

Virusi aviarnе influenzae podtipa H5 iz filogenetske gručе 2.3.4.4., ki so leta 2016 preko Rusije prišli v Evropo, so do sedaj povzročili največjo znano pandemijo v evropskem prostoru pri perutnini. Do konca avgusta 2017 je bilo potrjenih 1207 izbruhov pri domači perutnini, o katerih so poročali iz 24 evropskih držav, in 1590 izbruhov pri prostoživečih pticah v 29 evropskih državah. V Sloveniji smo do sedaj imeli dva izbruha HPAI: prvega je povzročil podtip H5N1 v letu 2006, drugega sta v letu 2017 povzročila podtipa H5N8 in H5N5. V obeh primerih je bil HPAI ugotovljen samo pri prostoživečih pticah. V letu 2006 smo virus H5N1 potrdili pri 48 pticah, v letu 2017 smo H5N8 potrdili pri 170 in H5N5 pri treh prostoživečih pticah. V obeh primerih je bila najbolj prizadeta štajerska regija, v letu 2017 pa tudi Prekmurje. Obenem gre za področji, ki sta gosto naseljeni z domačo perutnino, kar predstavlja večje tveganje za prenos bolezni z divjih ptic na perutnino. Za preprečevanje pojava bolezni v rejah je strogo upoštevanje in izvajanje biovarnostnih ukrepov najpomembnejše. V realnosti se ti ukrepi velikokrat ne izvajajo oziroma se izvajajo le delno. Zato je za sprejemanje hitrih in učinkovitih ukrepov za preprečevanje širjenja bolezni zelo pomembna hitra in učinkovita diagnostika.

Ključne besede: visoko patogena aviarna influenza; HPAI; izbruh; H5N8

Occurrence of highly pathogenic avian influenza viruses subtype H5 in Slovenia in 2017

Avian influenza viruses of H5 subtype of phylogenetic clade 2.3.4.4 spread in 2016 from Russia to EU and caused the largest pandemic in poultry in Europe so far. Till the end of August 2017 in domestic poultry 1207 outbreaks were reported from 24 European countries and 1590 outbreaks were confirmed in wild birds in 29 European countries. Beside H5N8 also H5N5 of IAV was detected. In Slovenia, two outbreaks of highly pathogenic avian influenza (HPAI) were confirmed, both in wild birds. Both outbreaks (in years 2006 and 2017) were located in north-eastern part of the country, in the region with high density of poultry that means higher risk for transmission of the disease from wild birds to poultry. In order to prevent the occurrence of disease on the farm, strict bio-safety measures are the most important, but in reality they are often carried out only partly or not at all. Therefore, fast and reliable diagnostic is crucial for detection, prevention and control of the disease.

Keywords: highly pathogenic avian influenza; HPAI; outbreak; H5N8

Comparative analysis of methods for the diagnosis of influenza in horses

Mihajlo Erdeljan¹, Ivana Davidov², Bojana Vidović³, Miodrag Radinović⁴

¹ Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia, ² Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia, ³ Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia, ⁴ Faculty of Agriculture, Novi Sad

* E-mail of corresponding author: bojana.vidovic@polj.uns.ac.rs

Influenza is a serious, acute, highly contagious, respiratory disease of equine with a characteristic clinical picture. This disease is caused by two subtypes of influenza A virus - H7N7 and H3N8 from the Orthomyxoviridae family. The horses usually pass without significant consequences but it can lead to loss of working ability and even to the death. Samples were collected from 50 horses. Blood was collected for serological investigation by haemagglutination inhibition test (HI test) and nasal swabs for RT-qPCR test. Results of HI test showed the serological evidence of the influenza virus with titers of antibodies positive for both subtypes. But all RT-qPCR test results were negative. Results correspond to results of other authors – H7N7 were also proven serologically by other authors and negative RT-qPCR result can be explained by the time of sampling as it is in other authors. We can conclude that HI test can be used in the future as a test with extended time of sampling while PCR methods can be best used in the early stages of infection.

Key words: Horses; influenza; HI test; RT-PCR

Introduction

Influenza is a serious, acute, highly contagious, respiratory disease of equine with a characteristic clinical picture. This disease is caused by two subtypes of influenza A virus (EIV - Equine Influenza Virus) - H7N7 (formerly known as type 1) and H3N8 (formerly known as type 2) from the Orthomyxoviridae family, indicating that the H7N7 virus has not been isolated in the equine for a long time. The last confirmed H7N7 subtype epidemic was in 1979, and this subtype is now considered eradicated or poorly activated in a limited number of limited geographic areas. However, H7N7 has been serologically proven in vaccinated and in non-vaccinated horses in Turkey, Brazil, Nigeria and Israel. This disease is very contagious and is transmitted most often in direct contact. The horses usually pass without significant consequences but it can lead to loss of working ability and even to the death. The breaking out of the influenza in horses was recorded worldwide, except for a small number of islands in New Zealand and Iceland. In routine laboratory diagnosis, a serological test - inhibition of haemagglutination (HI test) is most often used. Now there are commercial rapid tests, such as the Directigen FLU-A test, which, although designed for the diagnosis of human influenza, can be used to detect the impact of horses. The specimen for this test can be taken from the nose or deeper parts of the respiratory tract and requires only 15 minutes to obtain the result. Virus detection can be carried out by isolating the virus from nasal-laryngeal swab through chicken eggs or cell culture, or serologically through a haemagglutination inhibition test in paired sera. Recently, PCR methods have been recommended as a faster and more specific method compared to viral isolation. The aim of the investigation was to compare the results obtained by HI test and by RT-PCR test in detecting the infected animals by the influenza virus.

Materials and Methods

Samples were collected from 50 horses, located mostly in the northern part of Serbia – Vojvodina province. Blood samples were collected from all animals twice, with two weeks apart. The blood was taken from *v. jugularis* while adhering to the principles of asepsis and antisepsis. After that blood was left to spontaneously coagulate and then the blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes to extract blood sera. All samples were frozen until testing. Samples were tested by HI test on both subtypes H7N7 and H3N8. As a reference virus for HI test for

H7N7 subtype, influenza A/Equine/1/Prague/56 was used and for influenza H3N8 subtype influenza A/Equine/Miami/1/63 was used. The test was performed on the micro titer plates with U-shaped pools. Titer as a result of HI test is read as the highest dilution of blood serum, which gives total inhibition of agglutination. In this test, the erythrocytes of the guinea pig were used. Non-glucose erythrocytes appear as a "button" at the bottom of the well, which may take a long time. Titer of HI test is the reciprocal value of the highest dilution that demonstrates complete inhibition of agglutination. A four-fold or greater increase in titer between the paired sera indicates a recent infection.

Other set of samples taken from all horses from nasal cavity at the time of first blood collecting. Sampling was performed with nasal swabs - a plastic/cotton wool swabs from the virus transport kit manufactured by Copan®. From each animal involved in the study, nasal swabs were taken from both nostrils. All samples were frozen until testing. For the detection of the RNA genome of influenza virus in nasal swab samples, *in house* method was used based on the *TagMan* method of single-step reverse transcription reactions - real-time polymerase chain reaction (TagMan one-step reverse transcription real-time PCR (RT-qPCR)) a gene encoding the synthesis of the matrix proteins of all influenza A viruses, which allows the detection of all influenza A viruses, regardless of the type of host (Influenza A viruses of birds, horses, pigs, humans). Viral RNA was isolated using commercial ISOLATE II RNA Mini Kit (Bioline, Netherlands) according to the manufacturer's instructions. The one-step RT-qPCR reaction was performed using the commercial RNA UltraSense™ One-Step qRT-PCR System (Life Technologies Corporation) with oligonucleotide primers (forward primer for M gen: SpaMgen F: 5'-AGA TGA GTC TTC TAA CCG AGG TCG -3' and a reversible primer for M gen: SpaMgen R: 5'-TGC AAA AAC ATC TTC AAG TC T CTG-3') and the oligonucleotide probe (M gen genome: SpaMgen P: 5'-6- FAM-TCA GGC CCC CTC AAA GCC GA-TAMRA -3'), which multiply and detect part of the matrix proteins of all influenza A viruses.

Results

Results of HI test showed the serological evidence of the influenza virus. From 50 horses 18 has the four-fold or greater increase in titer of antibodies between the paired sera against the subtype H3N8 and 16 against the subtype H7N7 also 14 of this animals has the increase of the titer of antibodies against both subtypes. All RT-PCR results were negative.

Discussion

Results clearly show that the influenza virus is present in horses in Serbia. They also revealed the presence a little bit forgotten H7N7 subtype. But serological presences were reported by numerous authors across the world (Aharonson et al., 2014; Mancini et al. 2014) in Israel, Turkey, Brazil and Nigeria. RT-PCR results were negative probably due in adequate time of sampling, after the virus obliterates first 10 of 12 cm of the respiratory tract which is the length of the swab. PCR is usually considered as the method of choice but several author when analyzing the different diagnostic methods, received different results, so that Pasick et al. (2007) obtained a positive finding of antibodies to NP (nucleoprotein) of influenza A virus in goats in 10 of 12 individuals, with very high titer with the HI test, but all the swabs tested with RT-PCR were negative with the conclusion that at the time of sampling, there was no active infection. Also, other authors have similar PCR negative patients in whom a significant increase in the titer of antibodies to influenza type A was demonstrated by the HI test, but PCR was negative (Wallace et al., 2004). We can conclude that HI test can be used in the future as a test with extended time of sampling while PCR methods can be best used in the early stages of infection.

References

1. Aharonson-Raz K, Davidson I, Porat Y, et al. Seroprevalence and rate of infection of equine influenza virus (H3N8 and H7N7) and equine herpesvirus (1 and 4) in the horse population in Israel. *Journal of Equine Veterinary Science* 2014; 34: 823-832.
2. Mancini DA, Pereira AS, Mendonça RM, et al. Presence of respiratory viruses in equines in Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 2014; 56(3):191-195.

3. Olusa TA, Adegunwa AK, Aderonmu AA, Adeyefa CA. Serologic evidence of equine H7 influenza virus in polo horses in Nigeria. *Science world journal* 2010; 5: 2.
4. Pasick J, Berhane Y, Embury-Hyatt C, et al. Susceptibility of Canada Geese (*Branta canadensis*) to Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1). *Emerging Infectious Diseases*. 2007; 13: 12.
5. Wallace LA, Collins TC, Douglas JD, et al. Virological surveillance of influenza-like illness in the community using PCR and serology. *Journal of clinical virology*. 2004; 31(1): 40-45.

Prvi pojavi okužb z virusom infektivnega laringotraheitisa pri perutnini v Sloveniji

Olga Zorman Rojs^{1*}, Brigita Slavec¹, Uroš Krapež¹, Zoran Žlabravec¹, Jožko Račnik¹, Alenka Dovč¹, Marko Zadavec¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Gerbičeva 60, Ljubljana, Slovenija

* e-mail kontaktne osebe: Olga.zorman-Rojs@v.uni-lj.si

Infektivni laringotraheitis (ILT) je akutna, zelo kužna virusna bolezen piščancev in kokoši, ki je razširjena v mnogih državah sveta in povzroča velike zdravstvene težave in ekonomske izgube. V letih 2017 in 2018 je prišlo v treh rejah kokoši in eni reji piščancev brojlerjev do izbruha hudih respiratornih motenj z visokimi pogini. Izbruhi so se pojavili v različnih področjih Slovenije. V vseh primerih smo z molekularnimi metodami potrdili avian alphaherpes virus *Gallid herpes virus 1* (GaHV-1). Klinično smo pri prizadetih živalih opazili otežkočeno dihanje, sopenje in v nekaterih primerih kašljanje ter izrazit nosni izcedek in konjunktivitis. S patomorfološko preiskavo smo v vseh primerih ugotovili rumen sirast eksudat v sapniku in paranazalnih sinusih, fibrinozni aerosakulitis, pri kokoših pa tudi fibrinozni peritonitis in ooforitis. V vseh obolelih jatah smo potrdili sočasno okužbo z *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum* in virusom kužnega bronhitisa. Piščanci brojlerji so bili okuženi tudi z *Ornithobacterium rhinotracheale*, nesnice pa še z *Ascaridia galli* in *Capillaria* sp..

Gre za prve primere okužbe perutnine z virusom GaHV-1 in Sloveniji. Bolezen se je pojavila v kratkem času v različnih predelih Slovenije, zato lahko pričakujemo širjenje okužbe in velike zdravstvene težave v rejah perutnine.

Ključne besede: infektivni laringotraheitis; nesnice; piščanci

First occurrence of infectious laryngotracheitis in poultry flocks in Slovenia

Infectious laryngotracheitis (ILT) is an acute, highly contagious upper – respiratory infectious disease of chickens which cause significant economic losses in many countries around the world. In 2017 and 2018 in four outbreaks of severe respiratory disorders occurred in different parts of Slovenia; one in broiler and three in layer flocks. In all cases the avian alphaherpes virus *Gallid herpes virus 1* (GaHV-1) was confirmed by molecular method. In all flocks high mortality was reported. Affected birds showed severe signs of disease including conjunctivitis, gasping, and coughing, sneezing and nasal discharge. In layers also drop in egg production was recorded. The most common pathological lesions seen on necropsy were yellow cheese exudates in trachea and paranasal sinuses and fibrinous air-sacculitis, in layers also fibrinous peritonitis and oophoritis were observed. In all flocks' concomitant infection with *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum* and infection bronchitis virus was confirmed. In addition, broilers were infected also with *Ornithobacterium rhinotracheale* and *E. coli*, while in two laying flocks severe infestation with *Ascaridia galli* and *Capillaria* sp. was confirmed.

This is the first report of infection of chickens with GaHV-1 in Slovenia. The occurrence of ILT in different regions indicated that disease is widespread, which could lead to severe health problems in poultry production.

Key words: infectious laryngotracheitis; layers; broilers

Uporaba hmeljnih kislin za ekološko zatiranje varoj

Vlasta Jenčič¹, Metka Pislak Ocepek¹, Lucija Žvokelj¹, Jerica Vreček Šulgaj¹, Jernej Bubnič^{1,3}, Maja Ivana Smodiš Škerl³, Peter Kozmos⁴, Miha Ocvirk², Janez Prešern³, Iztok Jože Košir²

¹ Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Slovenija

² Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec, Slovenija

³ Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana, Slovenija

⁴ Čebelarska zveza Slovenije, Lukovica, Slovenija

Varoja (*Varroa destructor*) zajeda na čebelah in zalegi in če varoj ne zatiramo, čebelja družina propade. Za zatiranje so na razpolago zdravila, ki vsebujejo sintetične akaricide ter zdravila, ki vsebujejo naravne kisline in eterična olja. Prva so navadno učinkovitejša, vendar ustvarjajo rezistenco in se kopičijo v čebeljih pridelkih. Zdravila na osnovi naravnih snovi kot so mravljinčna, oksalna in mlečna kislina ter timol pa so manj učinkovita, vendar imajo manj neželenih učinkov. Zato za zatiranje varoj iščemo vedno nove naravne učinkovine in ena takih so alfa- in beta-kisline v hmelju. V raziskavi smo v laboratoriju ugotavljali toksičnost hmeljnih kislin na čebele in njihov učinek na smrtnost varoj. Teste smo opravili na varojah in čebelah posamič ter skupaj, ko smo varoje nanesli na čebele. Raztopine alfa- in beta-kislin v koncentracijah 0,5%, 1%, 2%, 5%, 10% in propylen glikol, razredčilo hmeljnih kislin smo na čebele z varojami nanašali topikalno, čebele in varoje posamič pa smo za določen čas dali na filtrirni papir prepojen z omenjenimi razredčinami hmeljnih kislin in topila. Prirejene plastične kozarce s čebelami in varojami ter petrijevke, v katerih so bile čebele ali varoje posamič, smo dali v termostat in v določenih časovnih intervalih preverjali smrtnost varoj in čebel. Opravili smo več ponovitev. Prve ugotovitve so, da je po kratkem času nižje koncentracije povzročijo višjo smrtnost varoj kot višje, pri daljšem delovanju pa ugotavljamo, da je pri vseh koncentracijah smrtnost varoj med 90 in 100%, pri višjih koncentracijah pa je visoka tudi smrtnost čebel.

Ključne besede: hmeljne kisline; čebele; *Varroa destructor*

Use of hop acids for organic varroa control

Varroa (*Varroa destructor*) parasites bees and brood and if it is not controlled the honeybee colony collapses. For the control medicines containing synthetic acaricides and medicines containing natural acids and essential oils are available. The former are usually more effective, but they create resistance and accumulate in honeybee products. Medicines based on natural substances such as formic, oxalic and lactic acid and thymol are less effective, but they have less side effects. For that reason, we are looking for new natural substances for varroa control. One of this substance are hop alpha- and beta-acids. In the study, in the laboratory the toxicity of hop acids to bees and their effect on bee mortality was examined. Tests were carried out on varroas and bees individually and together, when varroas were applied on the bees. Solutions of hop acids at the concentrations of 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10% and propylene glycol, the diluent of hop acids were applied topically to the bees, while bees and varroas were individually exposed to hop acids in the concentrations mention above. Adjusted plastic jars with bees and varroas and petri dishes with bees or varroas individually, were placed in a thermostat and at certain intervals the mortality were checked. The first findings were that after a short time the lower concentrations cause higher mortality of varroas than higher, while at the prolonged hop acids activity the mortality at all concentrations varied between 90 and 100%, however at higher concentrations, the mortality of bees was high as well.

Key words: hop acids, honeybees, *Varroa destructor*

Prvi izbruh virusne encefalopatije in retinopatije pri gojenih brancinih (*Dicentrarchus labrax*) v Sloveniji

Rosvita Sitar^{1*}, Marija Seničar², Tanja Švara³, Aleksandra Grilc Fajfar⁴, Irena Fonda⁵, Tamara Dolensšek³, Kristina Tekavec³, Sabina Šturm³, Marko Cvetko⁶, Mitja Gombač³

¹ Nacionalni veterinarski inštitut, Enota Nova Gorica, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija, ² Nacionalni veterinarski inštitut, Enota Celje, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija, ³ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija, ⁴ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija, ⁵ Fonda.si, d. o. o., Portorož, Slovenija, ⁶ Študent 6. letnika, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija

*rosvita.sitar@vf.uni-lj.si

Virusna encefalopatija in retinopatija je nevarna bolezen številnih vrst morskih rib, ki jo povzroča nevrotropni RNA virus iz družine *Nodaviridae*, rod *Betanodavirus*. Bolezen je razširjena skoraj po vsem svetu in povzroča visok pogin okuženih rib. Zanj so značilne vakuole v centralnem živčnem sistemu in retini.

Konec julija 2018 so v ribogojnici v Piranskem zalivu pri brancinih opazili nepravilno plavanje, vrtenje in postavljanje v vertikalno smer ter letargijo in neješčnost, brancini so množično poginjali. Bolezen se je najprej pojavila pri mladich, nato tudi pri konzumnih kategorijah brancinov. Obolele ribe so imele sivo-motna očesna zrkla ter multifokalne kožne razjede na glavi, posamezne so bile shujšane. S histopatološko preiskavo smo ugotovili značilne vakuole v možganih in retini.

Z molekularno metodo RT-qPCR smo potrdili prisotnost nukleinske kisline betanodavirusa v očesnem zrklu in možganih, nižje, a še vedno signifikantno visoke koncentracije virusa, pa tudi v vranici in ledvicah.

Na osnovi kliničnih znakov in opravljenih laboratorijskih preiskav lahko zaključimo, da so gojeni brancini v ribogojnici v Piranskem zalivu zboleli za virusno encefalopatijo in retinopatijo. Opisani izbruh je prvi primer te bolezni v Sloveniji.

Ključne besede: Virusna encefalopatija in retinopatija; betanodavirus; brancin; histopatologija; RT-qPCR

The first outbreak of viral encephalopathy and retinopathy in farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Slovenia

Viral encephalopathy and retinopathy is considered as a serious disease of several marine fish species, caused by an RNA virus belonging to the family *Nodaviridae*, genus *Betanodavirus*. The disease is spread almost worldwide and causes significant losses among diseased fish. It is characterised by vacuolation of the central nervous system and the retina.

At the end of July 2018, behavioural abnormalities such as altered swimming, swirling and vertical floating as well as lethargy and anorexia were observed in farmed sea bass in the Gulf of Piran, associated with significant mortality. The disease initially occurred in juvenile sea bass, later on market-sized fish also became affected. Diseased fish displayed ocular opacity and multifocal skin ulceration on the head. Emaciation of some fish was evident. Histopathology revealed characteristic vacuolation in the brain and retina.

Performing a real-time RT-PCR technique, we have identified and confirmed the presence of betanodavirus nucleic acid in ocular and brain tissues. In addition, concentrations of the causative agent of VER in spleen and kidney did result in significantly higher viral yield than expected.

Based on the clinical signs and laboratory examinations we can conclude that farmed sea bass from the Gulf of Piran were affected with viral encephalopathy and retinopathy. This is the first report of this disease in Slovenia.

Key words: Viral encephalopathy and retinopathy; betanodavirus; sea bass; histopathology; RT-qPCR

Primerjava prisotnosti nekaterih povzročiteljev bolezni pri medonosnih čebelah in čmrljih v Sloveniji

Metka Pislak Ocepek^{1*}, Ivan Toplak², Urška Zajc², Vlasta Jenčič¹, Lucija Žvokelj¹, Jerica Vreček Šulgaj¹, Danilo Bevk³

¹ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarske fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija,

² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarske fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija,

³ Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Slovenija

* (metka.pislak@vf.uni-lj.si)

Medonosne čebele in divji opraševalci imajo nepogrešljivo vlogo pri opraševanju rastlin, zato so podatki nekaterih držav o njihovem izginjanju zelo zaskrbljujoči. Poleg medonosne čebele v Sloveniji živijo številne vrste divjih opraševalcev, kot so čmrlji, čebele samotarke in drugi. Čeprav stanja njihovih populacij ne spremljamo aktivno, te zagotovo upadajo. Poleg tega pri njih ni veliko znanega o prisotnosti povzročiteljev bolezni. Boljše poznavanje njihovega zdravstvenega stanja pa je nujno za pripravo ukrepov za zaščito opraševalcev. V Sloveniji smo zato v letih 2017 in 2018 na štirih lokacijah vzorčili različne vrste čmrljev in medonosno čebelo. Vzorčenje klinično zdravih čmrljev in čebel smo opravili v naravi na cvetovih. Z metodo RT-PCR smo jih preiskali na prisotnost virusa deformiranih kril (DWV), virusa kronične paralize (CBPV), virusa akutne paralize (ABPV), virusa črnih matičnikov (BQCV) in virusa mešičkaste zalege (SBV). Z metodo PCR smo jih preiskali na prisotnost *Nosema bombi*, *Nosema ceranae*, *Nosema apis*, *Apicystis bombi*, *Crithidia bombi*, *Crithidia mellificae* in *Lotmaria passim*. Pri čmrljih in pri medonosnih čebelah smo ugotovili prisotnost virusov in ostalih naštetih patogenov ter razlike med vrstami čmrljev, lokacijami in letoma vzorčenja. Iz rezultatov preiskav je razvidna povezava med okuženostjo čmrljev in medonosnih čebel na posamezni lokaciji. Ugotovitev napeljuje na domnevo, da se patogeni prenašajo med medonosno čebelo in čmrlji. Zato je smiselno v monitoring čebeljih bolezni vključiti tudi divje opraševalce.

Ključne besede: opraševalci, prisotnost patogenov, primerjava čebele/čmrlji

Comparison of the incidence of several pathogens in honeybees and bumblebees in Slovenia

Honeybees and wild pollinators have an essential role in plants pollination therefore some countries' data on their disappearance is alarming. Besides the honeybee, there are many different species of wild pollinators (bumblebees, solitary bees...) in Slovenia. There is no monitoring of their populations but pollinators are definitely in decline. Similarly, there is a lack of knowledge about the presence of some pathogens in wild pollinators. Better knowledge of their health status is necessary to be able to introduce their conservation measures in the country. Clinically healthy bumblebees and honeybees were sampled in nature on flowers at four locations in Slovenia in the years 2017 and 2018. In the research the presence of deformed wing virus (DWV), chronic bee paralysis virus (CBPV), acute bee paralysis virus (ABPV), black queen cell virus (BQCV) and sacbrood virus (SBV) were detected using the RT-PCR method and the presence of *Nosema bombi*, *Nosema ceranae*, *Nosema apis*, *Apicystis bombi*, *Crithidia bombi*, *Crithidia mellificae* and *Lotmaria passim* were identified using the PCR method. In bumblebees and honeybees, the presence of viruses and other pathogens listed above were detected. Great differences between bumblebee species, location and time of sampling were found. The results indicate that transmission of some pathogens between honeybee and wild pollinators is possible. Therefore, it is mandatory to include wild pollinators when dealing with honeybee pathology.

Key words: pollinators; incidence of pathogens; comparison of honeybees/bumblebees

Preiskave izbruhov listerioze pri živalih s sekvenciranjem celotnih genomov

Bojan Papić*, Mateja Pate, Darja Kušar

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

* bojan.papic@vf.uni-lj.si

Listerioza se običajno pojavlja v sporadični obliki, vendar so tako pri živalih kot pri ljudeh opisani tudi primeri izbruhov. Za podrobnejšo opredelitev in potrditev izbruhov se vse bolj uveljavlja sekvenciranje celotnih genomov (angl. *whole genome sequencing*, WGS), saj ima v primerjavi z ostalimi genotipizacijskimi metodami veliko večjo moč razlikovanja. Medtem ko je metoda WGS že sestavni del preiskav izbruhov listerioze pri ljudeh, se pri živalih ne izvaja rutinsko. V slovenski zbirki izolatov bakterije *Listeria monocytogenes* smo na podlagi analize rezultatov, pridobljenih z metodo elektroforeze v pulzirajočem polju (PFGE) in metodo WGS, retrospektivno potrdili pet manjših izbruhov listerioze pri drobnici. Rezultati metod PFGE in WGS so bili skladni, vendar je metoda WGS omogočala jasnejše razlikovanje med epidemiološko povezanimi in nepovezanimi sevi. Epidemiološko povezani sevi so pripadali klonom ST184, CC1, CC18 oz. CC21; med njimi smo ugotovili od nič do sedem alelnih razlik. V primeru izbruha, povzročene s klonom ST184, smo epidemiološko povezan sev našli pri živalih z različnimi kliničnimi oblikami listerioze (meningoencefalitis, septikemija), v silaži, površinski vodi in blatu živali brez kliničnih znakov bolezni. To kaže na nevarnost fekalnega širjenja bakterije *L. monocytogenes* s strani živali brez kliničnih znakov bolezni. Klon ST184 je še posebej zanimiv, saj gre za redek klon, ki do sedaj še ni bil povezan z listeriozo pri ljudeh ali živalih. Izpostaviti velja, da so za dokončno potrditev izbruhov poleg rezultatov metode WGS ključni tudi epidemiološki podatki o izolatih.

Ključne besede: *Listeria monocytogenes*, listerioza, drobnica, izbruh, sekvenciranje celotnih genomov

Investigation of listeriosis outbreaks in animals using whole-genome sequencing

Listeriosis usually occurs in a sporadic form; however, cases of outbreaks in animals and humans have been reported. Whole-genome sequencing (WGS) is becoming a method of choice for a detailed characterization and confirmation of outbreaks, as it has a higher discriminatory power compared to other genotyping methods. While WGS is already an integral part of human listeriosis outbreak investigations, it is not routinely performed in animals. In the Slovenian collection of *Listeria monocytogenes* isolates, five minor outbreaks of listeriosis in small ruminants were confirmed retrospectively based on the results of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and WGS. PFGE and WGS results were concordant, but WGS enabled greater discrimination between epidemiologically related and unrelated strains. The epidemiologically related strains belonged to ST184, CC1, CC18 and CC21 clones and exhibited 0–7 allelic differences. In the ST184 outbreak, an epidemiologically related strain was found in animals with different clinical forms of listeriosis (meningoencephalitis, septicemia), silage, surface water and feces of asymptomatic carriers, indicating the risk of fecal transmission of *L. monocytogenes* by asymptomatic animals. ST184 clone is of particular interest as it is rare and has not yet been associated with animal or human listeriosis. It has to be emphasized that, in addition to WGS data, the accompanying epidemiological data are also essential for the final confirmation of outbreaks.

Key words: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, small ruminants, outbreak, whole-genome sequencing

Izolacija avtohtonega probiotika iz peroralne mikrobiote zdravih psov.

Matic Pavlica^{1*}, Zlatko Pavlica¹, Milan Petelin², Matjaž Ocepek³, Irena Zdovc³

¹ Klinika za male živali - Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² Katedra za ustne bolezni in parodontologijo – Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ³ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo - Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

*Matic.Pavlica@vf.uni-lj.si

Poglavitni vzrok parodontalne bolezni je zrel biofilm, ki nastane na površini zoba in ga pretežno sestavljajo po Gramu negativne, anaerobne bakterije. Bolezen prizadene podporna tkiva zoba in traja mnogo let. Prav tako pa z vdorom bakterij in vnetnih mediatorjev v krvni obtok obremenjuje tudi druge organske sisteme. Z zdravljenjem parodontalne bolezni želimo odstraniti zobne obloge, zmanjšati obzobne žepe in spremeniti sestavo biofilma. Obetaven pristop k zdravljenju parodontalne bolezni predstavlja uporaba probiotikov, s katerimi želimo naseliti očiščeno zobno površino s koreniziranimi bakterijami in na ta način preprečiti ponovno vezavo in razmnoževanje parodontalnih patogenov. Iz oralnega biofilma 13 mladih, zdravih psov, različnih pasem, ki genetsko niso dovzetne za razvoj parodontalne bolezni, smo med drugimi izolirali tudi po Gramu pozitivno bakterijo *Lactobacillus paracasei*. Številne vrste bakterij iz rodu *Lactobacillus* se pri ljudeh že uporabljajo kot učinkoviti mikroorganizmi s potencialnimi probiotičnimi lastnostmi, zato menimo, da bi bil omenjeni izolat lahko primeren za izboljšanje oralnega zdravja pri psih.

Ključne besede: parodontalna bolezen; probiotiki; pes

Insulation of indigenous probiotic from oral microbiota healthy dogs.

The main cause of periodontal disease is mature biofilm, which occurs on the surface of the tooth and is predominantly composed of Gram-negative, anaerobic bacteria. The disease affects the support structure of the tooth and lasts for many years. With the intrusion of bacteria and inflammatory mediators into the bloodstream, it also burdens other organ systems. By treating it, we try to remove dental plaque, reduce the periodontal pockets and change the composition of biofilm. A promising approach to the treatment of periodontal disease is use of probiotics in order to inhabit the cleared tooth surface with commensal bacteria and in this way prevent the reciprocal binding and reproduction of periodontal pathogens. From the oral biofilm of 13 young healthy dogs of different breeds that are not genetically susceptible to the development of periodontal disease we isolated, among others, Gram-positive bacteria *Lactobacillus paracasei*. Many species of bacteria of the genus *Lactobacillus* are already used in humans as microorganisms with potential probiotic properties, therefore we believe that the isolate could be suitable for improving oral health in dogs.

Key words: periodontal disease; probiotics; dog

Ali je ambulanta za male živali lahko vir okužb psov s proti meticilinu odporno bakterijo *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)?

Jana Avberšek, Bojan Papić, Irena Zdovc, Majda Golob, Darja Kušar*

Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Gerbičeva ulica 60, 1000 Ljubljana, Slovenija

* darja.kusar@vf.uni-lj.si

Proti meticilinu odporna bakterija *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) je vedno pogostejše izolirana iz kliničnih vzorcev psov. V okviru naše raziskave smo z namenom razjasnitve epidemioloških povezav sekvencirali celotne genome (WGS) 14 kliničnih izolatov MRSP, ki so izvirali iz psov, zdravljenih v isti ambulanti za male živali (n=13), en izolat pa je bil iz psa, ki je bil kasneje zdravljen še v drugi ambulanti. Izolati so pripadali trem različnim sekvenčnim tipom (ST), od tega večina tipu ST71, ki je tudi sicer najpogostejši v Evropi. S preiskovanjem polimorfizmov posameznih nukleotidov (SNP) smo določili epidemiološke povezave med izolati. Večina izolatov ni bila povezanih, po dva (2×2) in trije izolati pa so pripadali trem epidemiološkim skupinam – od tega 2×2 izolata pričakovano, ker sta pripadala istemu psu (dva psu, ki se je zdravil v različnih ambulantah), epidemiološke povezave med tremi izolati iz različnih psov pa smo odkrili samo na nivoju sorodnosti genoma. Rezultati kažejo, da psi predstavljajo potencialni izvor bolnišničnih okužb z bakterijami MRSP, ki jih lahko prenašajo tudi med različnimi ambulantami. Za eksogene bolnišnične okužbe je zlasti nevarna kontaminacija ambulantnega okolja z MRSP iz kontaktnih površin psov (npr. rane in otiščanci na komolcih).

Ključne besede: proti meticilinu odporna bakterija *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP), pes, sekvenciranje celotnega genoma, epidemiologija

Uvod

Bakterija *Staphylococcus pseudintermedius* je zaradi možnega izražanja večkratne odpornosti proti protimikrobnim zdravilom pomemben patogen psov. Okužba s proti meticilinu odpornimi bakterijami *S. pseudintermedius* (MRSP) je resen zdravstveni problem psov, ki zahteva sistematično odkrivanje bakterij MRSP in proučevanje njihovega prenosa med živalmi (1). Bakterije MRSP so pogosto izolirani bakterijski patogeni iz kliničnih vzorcev psov, sicer pa so pri psih lahko tudi del komenzalne mikrobiote kože in mukoznih membran (2). Pogosto so vzrok za okužbe kože (piodermija, vnetje zunanjega sluhovoda in okužbe ran), lahko pa povzročajo tudi okužbe drugih tkiv in v zadnjem času opisujejo porast MRSP tako pri asimptomatskih kot pri klinično obolelih psih (2). Za proučevanje virov okužbe in poti prenosa bakterijskih patogenov so potrebne genotipizacijske metode, med katerimi je najsodobnejša metoda, ki ima daleč največjo moč razlikovanja, metoda sekvenciranja celotnih genomov (angl. *whole-genome sequencing*, WGS). Poleg epidemioloških preiskav metoda WGS omogoča tudi natančno genetsko opredelitev bakterijskih izolatov, npr. ugotavljanje prisotnosti zapisov za toksine, dejavnike virulence in odpornosti proti protimikrobnim zdravilom.

Namen naše raziskave je bil proučiti epidemiološke povezave med izolati MRSP, ki so bili pridobljeni v daljšem časovnem okviru iz kliničnih vzorcev psov, zdravljenih v isti ambulanti za male živali, k naboru pa smo dodali tudi izolat iz istega psa, ki je bil zdravljen še v drugi ambulanti.

Materiali in metode

Iz inštitutske zbirke izolatov MRSP, pridobljenih iz kliničnih primerov pri psih v eni izmed ambulant za male živali, smo izbrali 13 izolatov iz obdobja 2011–2018, k naboru izolatov pa smo dodali tudi en izolat iz psa, ki se je zdravil še v drugi ambulanti. Za vsak vzorec smo imeli na voljo podatke o datumu odvzema, tipu vzorca, ambulantni

in lastniku psa. Vse izolate smo določili do vrste in jih testirali na odpornost proti izbranim protimikrobnim zdravilom.

Iz vseh 14 izolatov smo izolirali genomsko DNA s komercialnim kompletom DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Nemčija) po postopku za po Gramu pozitivne bakterije s predobdelavo z lizostafinom. Sekvenciranje WGS je potekalo na platformi NextSeq500 (Illumina, ZDA) s tehnologijo sekvenciranja v povratni smeri (2×150 bp *paired-end sequencing*). Z bioinformacijskimi orodji smo iz pridobljenih odčitkov pridobili podatke o genomskih zaporedjih izolatov, ki smo jih analizirali s programom CSI Phylogeny v1.4 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/CSIPhylogeny/>) z namenom preiskovanja polimorfizmov posameznih nukleotidov (tipizacija na osnovi SNP). Na podlagi genomskih zaporedij smo vsem izolatom določili tudi sekvenčni tip (ST) s spletnim orodjem za tipizacijo na osnovi MLST glede na shemo *S. pseudintermedius* PubMLST (<https://pubmlst.org/spseudintermedius/>).

Rezultati

Štirinajst preučevanih izolatov MRSP smo z metodo MLST razvrstili v tri sekvenčne tipe (Preglednica 1). Tipizacija na osnovi SNP je pokazala, da se je večina izolatov precej razlikovala, nekatere izolate pa smo lahko uvrstili v tri epidemiološke skupine s po dvema (I, II) ali tremi (III) izolati. Epidemiološko povezani izolati so se med seboj razlikovali v največ 13 polimorfizmih posameznih nukleotidov (razlike SNP). V skupini I in II sta bila po dva izolata iz istega psa. Izolata SP29 in SP28 sta bila izolirana iz enake kužnine v razmiku pol leta, medtem ko sta bila izolata SP31 in SP33 izolirana iz brisa nosu v dveh različnih ambulantah v razmiku 20 dni. Epidemiološka povezanost je bila glede na izvor pri teh dveh skupinah pričakovana (isti pes, isto leto). V skupini III so bili izolati iz vzorcev treh psov, ki med seboj glede na epidemiološke podatke niso bili povezani.

Preglednica 1: Rezultati sekvenciranja celotnega genoma (WGS) in sorodnost izolatov MRSP

Oznaka izolata MRSP	Mesec in leto izolacije	MLST	Skupine epidemiološko povezanih izolatov (tipizacija SNP)	Opomba
SP30	april 2011	ST71		
SP27	maj 2011	ST71		
SP25	oktober 2011	ST307		
SP29	februar 2012	ST71	I	
SP26	februar 2012	ST71		
SP28	avgust 2012	ST71	I	isti pes kot SP29
SP23	oktober 2012	ST71		
SP31	oktober 2012	ST71	II	
SP24	november 2012	ST71		
SP33	november 2012	ST71	II	isti pes kot SP31, druga ambulanta
SP19	maj 2015	ST71		
SP21	oktober 2016	ST551	III	
SP22	maj 2018	ST551	III	
SP32	junij 2018	ST551	III	

Razprava

Sekvenciranje WGS kliničnih izolatov MRSP iz psov, ki so bili zdravljeni v isti ambulanti za male živali oz. iz istega psa, ki je bil zdravljen v dveh različnih ambulantah, je pokazalo, da so izolati pripadali trem različnim sekvenčnim tipom. Večina izolatov je pripadala tipu ST71, kar je v skladu z objavami o trenutni prevalenci tega

tipa v Evropi (3). Tipizacija na osnovi SNP je pokazala tri skupine epidemiološko povezanih izolatov. Število ugotovljenih razlik SNP je osnova za potrjevanje ali ugotavljanje epidemiološke povezave med izolati, vendar je postavitve meje težavna, saj je med drugim odvisna od bakterijske vrste in trajanja izbruha oz. okužbe. Glede na spremljajoče epidemiološke podatke o izolatih in podatke iz literature lahko pri tako majhnih razlikah (največ 13 razlik SNP) za vrsto *S. pseudintermedius* z veliko gotovostjo govorimo o epidemiološki povezanosti izolatov znotraj posameznih treh skupin (1).

Vsi izolati iz obdobja 2011–2015 so pripadali psom različnih lastnikov, njihovo epidemiološko nepovezanost pa so potrdili tudi rezultati tipizacije z metodo WGS. Izjema v tej skupini sta bila po dva izolata iz leta 2012, ki sta pripadala dvema psoma različnih lastnikov. Izmed teh je en par epidemiološko povezanih izolatov izviraj iz psa, ki je bil zdravljen v dveh različnih ambulantah, kar kaže, da psi lahko prenašajo bakterije MRSP med različnimi ambulantami in s tem predstavljajo potencialni izvor bolnišničnih okužb z bakterijami MRSP. Pri drugem paru izolatov bi lahko šlo za endogeno okužbo psa z bakterijami MRSP na koži ali v nosu oz. rezultati nakazujejo na izvor bakterij MRSP izven ambulante (npr. sobivanje z drugimi psi). Na osnovi podobnosti genoma pa smo določili epidemiološko povezanost med izolati (iz obdobja 2016–2018) iz različnih psov, kar potrjuje, da so ambulate za male živali lahko izvor bolnišničnih okužb psov z bakterijami MRSP. Eden izmed analiziranih izolatov je bil pridobljen iz otiščanca na komolcu, kar kaže na to, da do kontaminacije ambulantnega okolja lahko pride razmeroma enostavno in pogojuje eksogene bolnišnične okužbe.

Reference

1. Windahl U, Ågren J, Holst BS, et al. Colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in multi-dog households: A longitudinal study using whole genome sequencing. *Vet Microbiol* 2016; 189: 8–14.
2. Bannoehr J, Guardabassi L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet Dermatol* 2012; 23: e251–25.
3. Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, et al. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 1145–54.

Is the small animal clinic a possible source of infection with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) for dogs?

Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) is a commonly isolated bacterial pathogen from clinical samples of dogs. In this study, whole-genome sequencing (WGS) was performed for 14 clinical isolates MRSP to determine their epidemiological associations. They originated from dogs treated in the same small animal clinic (n=13), but one from a dog that was later also treated elsewhere. Isolates belonged to three different sequence types (ST), most of them to ST71 which is the most common in Europe. By single nucleotide polymorphism (SNP) typing, epidemiological links between isolates were determined. Most of them were not linked, but two (2×2) and three isolates clustered into three epidemiological groups. Of these, 2×2 isolates as expected since originating from the same dog (two from different clinics), but the epidemiological association between three isolates from different dogs was discovered only at the level of genome relatedness. Results show that dogs represent a potential source of nosocomial infections with MRSP that can also be transmitted among clinics. For the exogenous nosocomial infections, contamination of the clinical environment with MRSP from the contact surfaces of dogs (e.g. wounds and calluses on the elbows) should not be overlooked.

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP), dog, whole-genome sequencing, epidemiology

Nevarnost alergije na beljakovine mokaarjev pri psih

Blanka Premrov Bajuk^{1*}, Petra Zrimšek¹, Tina Kotnik², Ana Lucija Škrajnar³, Ana Škorjanc³, Breda Jakovac Strajn⁴

¹ Inštitut za predklinične vede, ² Klinika za male živali, ³ študentka, ⁴ Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, Ljubljana, Slovenija

* blanka.premrovbajuk@vf.uni-lj.si

Nenehno naraščanje svetovne populacije in zahteva po trajnostnih virih prehrane spodbujata iskanje novih sestavin za prehrano ljudi in živali. Žuželke predstavljajo dobro alternativo mesu, ribam, mleku in jajcem kot virom beljakovin. Vendar pa pri uporabi novih izdelkov, ki vsebujejo nove ali spremenjene beljakovine, vedno obstaja možnost pojava alergijskih reakcij. Namen naše raziskave je bil oceniti alergenost beljakovin mokaarjev, saj prehranska industrija beljakovine žuželk že vključuje tudi v hrano hišnih ljubljencev.

Surove in zmrznjene ličinke mokaarjev smo zmleli in razmastili. Beljakovine smo ekstrahirali ter jih razgradili s pepsinom, tripsinom in α -kimotripsinom. Beljakovinske ekstrakte in produkte razgradnje smo analizirali z NaDS-PAGE elektroforezo. V raziskavo smo vključili dve skupini psov: klinično zdrave pse in pse s kliničnimi znaki alergije. Za metodo imunskega odtisa smo beljakovine prenesli na membrano PVDF in jo inkubirali s serumi psov, ki smo jih predhodno analizirali na prisotnost protiteles IgE proti prehranskima pršicama *Tyrophagus putrescentiae* in *Acarus siro*. Vezana IgE protitelesa smo določili s kozjimi protitelesi proti pasjim IgE.

Poleg vezave protiteles IgE na beljakovine mokaarjev v velikosti med 20 in 30 kDa, ki smo jo opazili pri vseh uporabljenih pasjih serumih, se je med serumi klinično zdravih in klinično bolnih psov pojavljala statistično neznatna razlika v deležu vezave IgE na beljakovine mokaarjev v velikosti med 34 in 55 kDa ter na 14 kDa protein, dobljen po razgradnji. Rezultati naše raziskave nakazujejo, da bi bil pri klinično bolnih psih, hranjenih s beljakovinami mokaarjev, možen pojav alergijske reakcije.

Ključne besede: psi; prehranske pršice; IgE; mokaarji; alergija

Allergenicity potential of mealworm proteins in dogs

With an increasing world population and demand for sustainable sources of nutrition, new protein sources for food and feed are desired. Insects are a promising alternative to meat, fish, milk and eggs as a protein source. With products, containing new or modified proteins, a potential health risk of allergenicity increases. The aim of this study was to assess the allergenicity potential of mealworm proteins in dogs since there are pet feed products containing insect proteins already available on the market.

Raw and frozen mealworm larvae were disrupted and defatted. Proteins were extracted and digested with pepsin, trypsin and α -chymotrypsin. Protein extracts and digests were analysed with SDS-PAGE. Two groups of dogs were included into the study: clinically healthy dogs and dogs with clinical symptoms of allergy. Proteins were transferred to PVDF membrane and incubated with sera of dogs for immunoblotting. Sera were previously evaluated for presence of IgEs against food storage mites *Tyrophagus putrescentiae* and *Acarus siro*. Bound IgEs were detected with goat anti-canine IgEs.

IgE binding to mealworm proteins between 20 and 30 kDa was observed with all dog sera. The percentage of IgEs binding to proteins between 34 and 55 kDa and with a 14 kDa protein, obtained after digestion with enzymes, was different between sera of clinically ill and clinically healthy dogs, but the difference was not statistically significant.

Our results suggest that the occurrence of adverse food reaction to mealworm proteins, used as ingredient in canine diet, is possible in clinically allergic dogs.

Key words: dogs; food storage mites; IgE; mealworm; allergy

Primerjava lastnosti internalizacije GPCR receptorjev BILF, kodiranih v prašičjih in humanem herpesvirusnem genomu

Maša Rutar^{1*}, Katja Spiess², Mette M. Rosenkilde², Valentina Kubale¹

¹ Institute of preclinical sciences, Veterinary faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

² Department of Biomedical Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen 2200, Denmark

*masa.rutarf.uni-lj.si

Številni β - in γ -herpesvirusi v svojem genomu nosijo zapis za s proteinom G sklopljene receptorje (GPCR), ki so strukturno in funkcionalno sorodni gostiteljskim receptorjem in omogočajo virusu nemoteno širjenje in preživetje v gostiteljevem organizmu. Humani γ -1 herpesvirus, Epstein Barr virus, kodira GPCR BILF1, za katerega liganda še ne poznamo. Njegova konstitutivna aktivnost poteka preko proteina $G\alpha i$ in je povezana s transformacijo celic. BILF1 se pretežno nahaja v plazma membrani s katere se konstitutivno prenese v notranjost celice, hkrati pa se veže z molekulami poglobitnega histokompatibilnega kompleksa I (MHC) in sproži zmanjšanje njihovega izražanja na površini. EBV je v populaciji izjemno razširjen in povzroča različne bolezni. Pri osebah z ogroženim imunskim sistemom okužba z EBV lahko privede do postranplantacijske limfoproliferativne bolezni (PTLD). Trije prašičji homologi, prašičji limfotropni herpesvirusi (PLHV 1-3), prav tako izražajo receptor BILF in glede na podobnost s humanim virusom predstavljajo možen model za študij EBV. Naš temeljni cilj je opisati način internalizacije in znotraceličnega prenosa signala receptorjev BILF-PLHV 1-3. Površinsko izraženo receptorjev smo ugotavljali z encimskoimunsko metodo (ELISA) ter metodo konfokalne mikroskopije, s katerima smo ugotovili visoko izraženo PLHV1-BILF, ter nekoliko nižjo izraženo ostalih receptorjev (EBV-BILF, PLHV2-BILF in PLHV3-BILF). Internalizacijo smo ugotavljali s testom ELISA pri kateri smo celice pred fiksacijo izpostavili 37°C v različnih časovnih intervalih, ter s pomočjo konfokalne mikroskopije. V primeru EBV-BILF1, PLHV2-BILF in PLHV3-BILF se po 30 minutah internalizacije na 37 °C na površini nahaja le še 40-50% receptorjev, medtem ko se pri PLHV1-BILF v istem času površinska izraženo receptorjev zmanjša le za 10-20%.

Ključne besede: GPCR; herpesvirus; prašič; internalizacija

Comparison of human and porcine herpesvirus encoded GPCR BILF1 receptors internalization properties

Many β - and γ -herpesviruses are able to establish a lifelong infection in a host by encoding G protein-coupled receptors (GPCR's) with structural and functional homologies to host receptors. Human γ -1 herpesvirus the Epstein-Barr virus (EBV) encodes GPCR BILF1 for which no ligand has yet been identified but it shows high constitutive activity, activating $G\alpha i$ and is connected to transforming properties of the virus. It is mainly localized at the plasma membrane and undergoes constitutive internalization. It also decreases the surface expression of major histocompatibility complex (MHC class I). EBV is widespread and associated with post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) in immunocompromised individuals. Similarly, its porcine homologs, the porcine lymphotropic herpesviruses (PLHV 1-3) encode GPCR BILF and regarding their homology to human virus, they represent a potential model for EBV studies. Our overall aim is to contribute in describing the internalization and signaling properties of BILF receptors. To compare the cell surface expression levels of PLHV1-3 BILF to EBV-BILF1, ELISA and confocal microscopy studies were performed, where slightly higher surface expression of PLHV1-BILF compared to EBV-BILF1, PLHV2-BILF and PLHV3-BILF was observed. Internalization studies were performed with confocal microscopy and ELISA test, where cells were incubated at 37 °C for various periods of time before fixation. There we observed a similar constitutive internalization for EBV-BILF1, PLHV2-BILF and

PLHV3-BILF where approximately 40-50% of receptors were internalized after 30 minutes at 37°C as for PLHV1-BILF only 10-20% internalization of surface expressed receptors was observed.

Key words: GPCR; herpesvirus; pigs; internalization

Translacijske raziskave na prašičih

Alenka Seliškar^{1*}, Tatjana Stopar Pintarič^{2,3}, Erika Cvetko³, Admir Hadžić⁴, Marija Damjanovska², Jurij Žel¹, Gregor Serša⁵, Damijan Miklavčič⁶, Jan Žmuc⁵, Rok Dežman⁵, Marina Štukelj¹, Maja Čemažar⁵

¹ University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Ljubljana, Slovenia

² University Medical Centre Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

³ University of Ljubljana, Faculty of Medicine, Ljubljana, Slovenia

⁴ NYSORA (The New York School of Regional Anesthesia), New York, NY, USA

⁵ Institute of Oncology Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

⁶ University of Ljubljana, Faculty of Electrical Engineering, Ljubljana, Slovenia

*alenka.seliskar@vf.uni-lj.si

Prašič (*sus scrofa domesticus*) je zaradi anatomskih in fizioloških podobnosti s človekom pogost model za translacijske raziskave. V obdobju 2013 – 2018 smo na Veterinarski fakulteti Univerze v Ljubljani sodelovali pri več translacijskih raziskavah na prašičih. Z raziskovalci z Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, Kliničnega centra Ljubljana in The New York School of Regional Anesthesia smo proučevali nevrotoksičnost po perineuralni in intraneuralni (epineuralni in intrafascikularni) aplikaciji liposomalnega bupivakaina (Exparel, Pacira Pharmaceuticals, Inc., Parsippany, NY, USA) v ishiadični živec (1,2). Trenutno poteka raziskava o nevrološkem odzivu in nevrotoksičnosti različnih odmerkov subarahnoidalno apliciranega liposomalnega bupivakaina. V sodelovanju z raziskovalci z Onkološkega inštituta Ljubljana in Fakultete za elektrotehniko Univerze v Ljubljani pa proučujemo poškodbe zdravih tkiv in posledično varnost uporabe elektrokemoterapije z bleomicinom za zdravljenje tumorjev v bližini velikih jetrnih žil in žolčnih vodov ter tkivu trebušne slinavke, kjer druge vrste zdravljenja ne pridejo v poštev.

Ključne besede: prašič; liposomalni bupivakain; elektrokemoterapija; bleomicin

Reference

1. Damjanovska M, Cvetko E, Hadžić A, et al. Neurotoxicity of perineural vs intraneural-extraneural injection of liposomal bupivacaine in the porcine model of sciatic nerve block. *Anaesthesia* 2015; 70:1418-26.
2. Damjanovska M, Cvetko E, Kuroda MM, et al. Neurotoxicity of intraneural injection of bupivacaine liposome injectable suspension versus bupivacaine hydrochloride in a porcine model. *Vet Anaesth Analg* 2018; doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.09.044>.
3. Žmuc J, Edhemović I, Brecelj E, et al. Electrochemotherapy induced tissue changes in porcine liver: study protocol. In: *Proceedings of the electroporation-based technologies and treatments: international scientific workshop and postgraduate course*. Ljubljana: Založba FE 2017: 139.
4. Žmuc J, Gašljević G, Boc N, et al. Electrochemotherapy of porcine liver: assessment of systemic and local side effects. In: *Bioelectrics 2018*. Prague: Institute of Plasma Physics CAS 2018: 19.

Translational research in pigs

Pig (*sus scrofa domesticus*) is a common research model in translational research due to anatomical and physiological resemblances with humans. Research team from Veterinary Faculty, University of Ljubljana has been involved in several translational research in pigs in years 2013 – 2018. In cooperation with researchers from Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Clinical Centre Ljubljana and The New York School of Regional Anesthesia we investigated the neurotoxicity of liposomal bupivacaine (Exparel, Pacira Pharmaceuticals, Inc., Parsippany, NY, USA) after perineural and intraneural (epineural and intrafascicular) application in ischiadic nerve (1, 2). Currently we investigate the neurological outcome and neurotoxicity of escalating doses of subarahnoidally

administered liposomal bupivacaine. In cooperation with scientists from Institute of Oncology Ljubljana and Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana we investigate damage of normal tissue and consequently safety of electrochemotherapy with bleomycin for the treatment of tumours in vicinity of large blood vessels and bile ducts as well as pancreas where no other treatment is possible (3, 4).

Key words: pig; liposomal bupivacaine; electrochemotherapy; bleomycin

Kaj so projekti po kreativni poti do znanja in primer projekta s področja skrbi za dobro počutje eksotičnih živali

Peter Omejc¹, Petra Gruden¹, Zlatko Golob², Valentina Kubale^{1*}

¹ Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

² Golob d.o.o., Klinika za male, divje in eksotične živali, Muta, Slovenija

e-pošta: Valentina Kubale valentina.kubale@vf.uni-lj.si

Program Po kreativni poti do znanja je projekt, ki je namenjen študentom, ki poleg študija želijo sodelovati v »majhnih raziskovalnih projektih«. Projekte podpira Ministrstvo za šolstvo, znanost in šport in Evropski socialni sklad preko Javnega študentskega, razvojnega, invalidskega in preživninskega sklada Republike Slovenije. Študenti skupaj z mentorji iz Univerz in poslovnega okolja najdejo kreativne in inovativne rešitve za praktične izzive v podjetniškem sektorju. Mentorji iz univerzitetnega in poslovnega okolja jih vodijo skozi projekt in nudijo strokovno podporo. Projekti so se začeli leta 2012. Na Veterinarski fakulteti je zaključenih 6 uspešnih projektov, v teku pa so še trije projekti s sodelovanjem z drugimi univerzami in fakultetami ter različnim poslovnim okoljem. Študenti pridobijo praktične kompetence in izkušnje na določenem področju, ki so dragocene, ko se po končanem študiju prijavljajo na različna delovna mesta. Poleg specifičnih kompetenc pridobijo tudi kompetence iz interdisciplinarnega in timskega dela, analitičnega in kreativnega razmišljanja ter reševanja problemov, korporativne in organizacijske kompetence ter komunikacijske sposobnosti. Projekti na Veterinarski fakulteti se razlikujejo po področjih in sicer od predkliničnih raziskovalnih projektov, do priprav publikacij na različne tematike ter kliničnih študij. Vsi projekti so vedno interdisciplinarni, povezujejo študente in mentorje iz različnih okolij. Podjetja pridobijo pomoč pri reševanju problemov in pri iskanju zaposlitvenih kandidatov. Primer projekta je bil oblikovati publikacijo z dragocenimi informacijami o različnih eksotičnih vrstah v ujetništvu, ki bi bila namenjena lastnikom, trgovinam za hišne ljubljence, študentom veterine in podobnih ved ter veterinarjem na klinikah.

Ključne besede: projekt po kreativni poti do znanja; sodelovanje; kompetence študentov

What kind of projects are projects creative path to knowledge and an example of a project regarding well-being of exotic animals

Creative path to knowledge is a project that targets students who in addition to their studies, wish to participate in "small research projects". These projects are supported by Ministry of education, science and sport and the European social fund through Public Scholarship, Development, Disability and Maintenance Fund of the Republic of Slovenia. Students together with their mentors from University and business environment find creative and innovative solutions to practical challenges in the corporate sector. Mentors from both, university and business environment guide them through the project and offer expert support. Projects started in 2012. At the Veterinary faculty 6 successful projects are finished and 3 are ongoing with the cooperation with other Universities and faculties and different business environment. Students gain practical competences and experience in certain field, which are helpful for them when they are applying for different positions after they finish studies. Besides specific competences they gain also competences from interdisciplinary and team work, analytical and creative thinking and problem solving, corporate and organizational competences and communication skills. Projects at the Veterinary faculty vary from preclinical research projects, preparing publications from different topic to clinical studies. All projects are always interdisciplinary, connecting students and mentors from different backgrounds. Companies gain help with problem solving and find employment candidates. One example of project aimed to design a publication containing valuable information regarding different exotic species kept in

captivity, which would target owners, pet shops, students of veterinary medicine and similar natural sciences, as well as veterinarians at clinics.

Key words: creative path to knowledge; team work; student competences



EVROPSKA UNIJA
EVROPSKI
SOCIALNI SKLAD
NALOŽBA V VAŠO PRIHODNOST



Javni študentski, razvojni
invalidski in preživninski
sklad Republike Slovenije



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT

Kreiranje spletnih orodij za predstavitev najnovejših koristnih podatkov s področja zdravja in dobrobiti ljubiteljskih in eksotičnih živali

Alenka Babič¹, Katarina Pavlin¹, Maša Rajšp¹, Peter Omejc¹, Rok Dragan², David Bezgovšek³, Nikola Mitrović³, Matic Lulik³, Jaka Sodnik³, Vlasta Jenčič¹, Joško Račnik¹, Zlatko Golob⁴, Valentina Kubale^{1*}

¹ Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

² Akademija za likovno umetnost, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

³ Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

⁴ Golob d.o.o., Klinika za male, divje in eksotične živali, Muta, Slovenija

e-pošta: Valentina Kubale valentina.kubale@vf.uni-lj.si

V Sloveniji je vedno več ljubiteljev in rejcev ljubiteljskih in eksotičnih živali, kar lahko opazimo v porastu razstav, sejmov, tekmovanj in drugih dogodkov na tematiko eksotičnih živali, ki so vedno bolj obiskovani. Tudi kliničnih pacientov in njihovih zdravstvenih težav je vedno več in hkrati tudi nekvalitetnih in nepreverjenih dostopnih informacij, kar slabo na vpliva zdravstveno stanje in dobro počutje eksotičnih živali. K problematiki smo aktivno pristopili že v lanskem uspešnem projektu PKZ SLOEXO in pripravili obsežno atraktivno barvno publikacijo z lastnimi ilustracijami, tiskano in kot e-knjigo na strani Veterinarske fakultete. Publikacija je namenjena lastnikom eksotičnih živali, prodajalcem, kupcem, študentom veterinarske medicine, biologije in zootehnike, veterinarjem praktikom na veterinarskih postajah, klinikah in bolnicah in vsem, ki jih omenjeno področje zanima. Publikacija je požela veliko zanimanje in se izkazala kot zelo želeno. Zaradi manjše naklade in dostopa smo se odločili razpoložljivost informacij povečati in dodelati. V sklopu projekta SLOEXO smo se prepričali, da informacije na voljo o eksotičnih živalih, bodisi o njihovi biologiji, morfologiji, rokovanju in ravnanju s predpisanimi pogoji bivanja, prehrani, dobrobiti, preventivi in zdravstvenem varstvu nepopolne ali nepravilne. Seznam živali opisanih v prvem projektu želimo v obstoječem projektu dopolniti in informacije pripraviti dostopne na svetovnem svetu, kreirati spletno stran, celotno grafično podobo in nadgraditi publikacijo. Pomemben segment je tudi optimizacija spletnih strani, da se naši kvalitetni podatki znajdejo na samem vrhu iskalnih lestvic. Informacije glede posamezne živalske vrste pripravljamo še v obliki zloženek z algoritmom informacij pomembnimi za odločitev o nakupu živali.

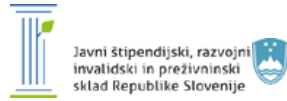
Ključne besede: eksotične živali; ljubiteljske živali; dobro počutje; projekt po kreativni poti do znanja; SLOEXO2

Creation of online tools for presenting the latest useful information on health and welfare of small pets and exotic animal species

Number of enthusiastic breeders of small pet and exotic animals and other people in Slovenia is increasing, which can be observed in the growth of exhibitions, fairs, competitions and other events on this topic, which are also more frequently visited. Clinical patients and their health problems are occurring more often and at the same time also less quality and more unverified accessible information are still available, which is affecting health care and welfare of exotic animals. We have been active during previous successful PKZ SLOEXO project and prepared large, attractive publication in colors with our own illustrations, printed and issued as an e-book on the Veterinary Faculty's website. The publication is prepared for owners of exotic animals, sellers, customers, students of veterinary medicine, biology and animal science, veterinary practitioners at veterinary stations, clinics and anyone interested in this field. The publication gained great interest and was very much looked-for, due to lower number of printed copies, we decided to increase the availability of information and to prepare it for on-line. As the part of the SLOEXO project, we were convinced that the information available on exotic animal - their biology, morphology, handling and prescribed conditions for living, nutrition, welfare, prevention and health care were incomplete or incorrect. The list of animals described in the first project is to complement and present the information in

the existing project in the existing world, create a website, the entire graphic image and the continuation of the publication. An important segment is the optimization of websites so that our quality data finds itself at the very top of the search scales. Information about diverse animals are prepared also in the form of brochures for each animal species with an algorithm of information relevant to the decision on the purchase of animals.

Key words: exotic animals; pet animals; welfare; creative path to knowledge; SLOEXO2



Zdrav kot pes in mačka: informativni priročnik za lastnike živali in študijsko gradivo za študente veterinarstva

Ana Škorjanc¹, Neža Žnidaršič¹, Ines Tekavec¹, Kaja Obidič¹, Nina Habič¹, Kaja Winkler¹, Maša Kokalj², Aljaž Baumkircher³, Tanja Plavec¹, Blaž Cugmas³, Andreja Hrček Kastelic⁴, Darja Pavlin^{1*}

¹ Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

² Naravoslovnotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

³ Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

⁴ Veterinarstvo Trstenjak – Zajc, Klinika za male živali, d.o.o. Ljubljana, Slovenija

e-pošta: Darja.Pavlin@vf.uni-lj.si

Preventivna oskrba psov in mačk je ključnega pomena za dobrobit živali. Posredno z ustrezno preventivo preprečujemo tudi prenos bolezni na človeka ter tako skrbimo za javno zdravje. Preventivo največkrat izvajajo lastniki živali, ki pa se soočajo s sistematičnim pomanjkanjem informacij in smernic. Pri tem jim lahko pomagajo veterinarji, ki imajo za tako informiranje pogosto omejen čas in sredstva, zato je prenos kvalitetnih informacij lahko pomanjkljiv. Med obiskom veterinarja obrazložitev obsežnega področja preventivne veterinarske medicine ni mogoča, dane ustne informacije se hitro pozabijo ali niso razumljene pravilno. Lastniki zato pogosto sami iščejo smernice in lahko pri tem naletijo na nestrokovne in potencialno škodljive nasvete.

V ta namen smo napisali in izdali publikacijo, ki je na voljo vsem slovenskim veterinarjem ter lastnikom psov in mačk. Veterinarji lahko namesto zamudnega podajanja vedno istih informacij lastnika napotijo v branje publikacije, sami pa čas namenijo drugim dejavnostim. V publikaciji so predstavljena naslednja področja preventivne veterinarske medicine psov in mačk: cepljenja, odpravljanje parazitov, najpogostejše zastrupitve, zdravje ustne votline, sterilizacije in kastracije, prehrana in zdrav življenjski slog, obnašanje in socializacija, odgovorno lastništvo ter nasveti za potovanje s psom ali mačko.

Publikacija je na voljo v tiskani obliki pri založniku Veterinarska zbornica, brezplačno pa tudi na spletu.

Ključne besede: priročnik; psi in mačke; preventiva; projekt po kreativni poti do znanja; študenti veterinarstva

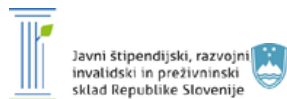
Healthy As a Dog and Cat: Informational Manual For Pet Owners and Study Material For Veterinary Medicine Students

Preventive care of dogs and cats is crucial for their welfare and preventing transmission of diseases from pets to their owners and maintaining public health. Preventive care is mostly carried out by pet owners who often face a systematic lack of correct information and guidelines. Veterinarians are extremely important in giving out information but they usually lack sufficient time and resources. That could be another reason why pet owners often get incomplete information or are misinformed. During a visit to the veterinarian it is simply impossible to give out all the explanations, the owners forget or misinterpret what they were told. This is why they frequently go online and search for information themselves, which can be unprofessional or even harmful. This manual was published for those reasons, it is available to all Slovenian veterinarians and pet owners. Directing the owners to read the manual gives veterinary practitioners valuable time.

Topics in the manual are: guidelines for vaccinations, deworming, information about common intoxications, oral cavity health, spaying and neutering, nutrition and healthy lifestyle, behavior and socialization, responsible ownership and some practical tips for travelling with pets.

The informational manual is available as a printed publication and online for free.

Key words: manual; dogs and cats; preventive care; a project through a creative way to knowledge; students of veterinary medicine



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT

Priročnik za domačo pripravo hrane psom in mačkam

Katja Zupančič¹, Špela Zgonik¹, Erika Turk¹, Eva Vrčkovnik¹, Maja Grosman¹, Kaja Jablanovec², Tina Dernovšek³, Sara Arko Strojan³, Metka Kuhar², Andreja Hrček Kastelic⁴, Breda Jakovac Strajn^{1*}

¹ Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

² Fakulteta za družbene vede, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

³ Akademija za likovno umetnost in oblikovanje, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

⁴ Veterinarstvo Trstenjak-Zajc d.o.o., Ulica padlih borcev 23, 1000 Ljubljana, Slovenija

*e-pošta: Breda.JakovacStrajn@vf.uni-lj.si

V Sloveniji narašča število psov in mačk. Te živali so povsem integrirane v naš socialni svet, prečijo mejo med naravo in kulturo, med divjim in udomačenim ter med živaljo in človekom. Lastniki jih obravnavajo kot enakovredne družinske člane, s katerimi gojijo kompleksne in edinstvene intimne odnose (ki dajejo ljudem občutek sprejetosti, razumljenosti, spoštovanja itd.). Pomemben del odgovornega lastništva živali pomeni skrb za njihovo zdravje, kamor poleg gibanja in preventivnih veterinarskih pregledov spada tudi hranjenje. Lastniki psov in mačk se v sodobnosti soočajo s poplavo informacij o pravilni prehrani psov in mačk, porajajo se vedno novi trendi, ki pogosto niso znanstveno podprti ali so celo škodljivi. Veliko marketinških izjav o prehrani je tudi zavajajočih. Zaradi neprimerne prehrane se lahko pojavijo zdravstvene težave (zaradi pomanjkanja ali presežka določenih hranil, neprimerne prehrane ali prenosa povzročiteljev bolezni). Trenutno je zelo popularno hranjenje s surovo hrano, ki je lahko zelo problematična z vidika prenosa nekaterih bolezni na živali in preko njih tudi na ljudi (toksoplazmoza, salmoneloza, kampilobakterioza idr.). Lastniki o problematiki pogosto niso dovolj ozaveščeni.

Tekom projekta smo izdelali priročnik, ki bo veterinarjem praktikom olajšal prenos znanstveno podprtih, preverjenih informacij lastnikom glede prehrane njihovih ljubljencev. Del študentk se je poglobljeno ukvarjalo s problematiko prostoživečih mačk, obiskalo lokacije, kjer se te mačke prehranjujejo in naredile fotoreportažo. Obiskali smo tudi Zavetišče za živali, ki je krovna organizacija pri skrbi za prostoživeče mačke. Seznanili smo se tudi z delovanjem društva SVSP, ki je prostovoljna organizacija pri pomoči prostoživečim mačkam. Študentki oblikovanja vizualnih komunikacij sta priročnik grafično oblikovali.

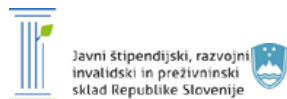
Ključne besede: psi; mačke; prehrana; projekt po kreativni poti do znanja; VetHrana

Handbook for home prepared food for dogs and cats

In Slovenia, the number of dogs and cats is growing. These animals are fully integrated into our social world, cross the border between nature and culture, between wild and domestic animals, and between animals and humans. Owners consider them as equivalent family members to cultivate complex and unique intimate relationships (which give people a sense of acceptance, understanding, respect, etc.). An important part of the responsible ownership of animals is the concern for their health, which, in addition to exercising and preventive veterinary checks, also includes feeding. The owners are facing with different informations about the proper diets, and new trends are emerging that are often not scientifically supported. Many marketing statements about nutrition are also misleading. Health problems can arise due to an inappropriate diet (due to the lack or surplus of certain nutrients, inappropriate feeding or transmission of pathogens). Currently, feeding with raw feed is very popular, which can be very problematic in terms of the transmission of certain diseases (toxoplasmosis, salmonellosis, campylobacteriosis, etc.). Owners are not sufficiently aware of the problem. During the project, we prepared a manual that would help practitioners to transfer scientifically supported information to owners regarding the diet of their pets. A part of the students studied the problem of free-living cats. We also visited the Animal Shelter,

which is an umbrella organization in the care of free-living cats and got acquainted with the work of SVSP, which is a voluntary organization helping free-living cats.

Key words: dogs; cats; nutrition; creative path to knowledge; VetHrana



Znanje za zdravje in dobro počutje psov brahicefaličnih pasem

Vladimira Erjavec¹, Iztok Fajfar², Natalija Hercog-Gerbec³, Špela Zgonik¹, Luka Šparaš¹, Rebeka Turk¹, Miha Jan Strehovec², Samo Cajnar², Kristina Rakinič⁴, Vika Novak⁴, Luka Černe⁵, Alenka Nemec Svete^{1*}

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Klinika za male živali, Ljubljana, Slovenija

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko, Multimedija, Ljubljana, Slovenija

³ Veterinarski Center Pika d.o.o., Maribor, Slovenija

⁴ Univerza v Ljubljani, Filozofska fakulteta, Oddelek za psihologijo, Ljubljana, Slovenija

⁵ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za družbene vede, Oddelek za komunikologijo, Katedra za novinarstvo, Ljubljana, Slovenija

e-pošta: *alenka.nemecsvete@vf.uni-lj.si

V Sloveniji in svetu je zadnja leta opazen izrazit porast števila psov brahicefaličnih pasem (mops, buldogi, bostonski terier, pekinezer, ipd), katerih anatomska značilnost so kratki gobci in velike oči. Te pasme postajajo v zadnjih letih vedno bolj priljubljene, saj njihove glave spominjajo na glavo dojenčka, po značaju pa so neustrašne, vesele in prijazne. Selektivno parjenje, da bi dosegli značilni videz s skrajšanim obraznim delom glave (brahicefalija), povzroča številne težave zaradi hude zožitve zgornjega dela dihalnih poti, zaradi česar ti psi lahko razvijejo brahicefalični sindrom. Kvaliteta življenja in dobrobiti teh živali je močno prizadeta. Psi z izraženim brahicefaličnim sindromom zahtevajo celostno specialistično obravnavo - klinični pregled, laboratorijsko diagnostiko ter kirurško zdravljenje, skrbniki teh psov pa ustrezno svetovanje glede zdravstvenega varstva in dobrobiti. Na zasebni kliniki, s katero bomo sodelovali v okviru projekta, ne opravljajo specialističnih kirurških posegov, s katerimi lahko bistveno izboljšamo kvaliteto življenja teh pacientov. Psi bi iz zasebne klinike napotili na univerzitetno kliniko, kjer bi celostno obravnavali takega pacienta in opravili specialistični kirurški poseg. Psi bi nato vrnili na zasebno kliniko, kjer bi potekala nadaljnja oskrba. Na ta način bi vzpostavili dolgoročno sodelovanje.

V okviru projekta bi posneli televizijsko oddajo, s katero bi vzreditelje, skrbnike psov brahicefaličnih pasem, veterinarsko osebje in širšo javnost seznanili z zdravstveno problematiko teh pasem. Opravili bomo tudi anketo o osebnostnih, socialno - vrednotnih in življenjsko stilnih značilnostih skrbnikov teh pasem. Veterinarjem na omenjeni kliniki in ostalih zasebnih klinikah bo s predvajanjem televizijske oddaje olajšan prenos informacij skrbnikom psov brahicefaličnih pasem.

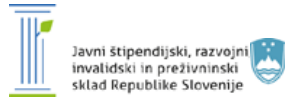
Ključne besede: brahicefalične pasme; brahicefalični sindrom; diagnostika; kirurško zdravljenje; televizijska oddaja

The knowledge for health and welfare of brachycephalic dog breeds

A marked increase in the number of brachycephalic dog breeds, such as Pugs, Bulldogs, Boston terriers, Pekingese, and others, is evident in recent years in Slovenia and worldwide. The head of brachycephalic breeds is characterised by a short face and large eyes. These breeds have become increasingly popular because they resemble human infants and very friendly, less fearful and jolly character. Selective breeding to achieve a characteristic appearance with a shortened skull (brachycephaly) causes numerous problems resulting from deformation of the upper airway tract, which may lead to the development of brachycephalic syndrome. The quality of life and the welfare of these dogs are severely affected. Dogs with brachycephalic syndrome require comprehensive evaluation, including clinical examination, laboratory diagnostics and surgical treatment; their owners need appropriate consulting regarding the health care and welfare of their dogs. The private clinic, our partner institution within the project, does not offer specialistic surgical treatment, which can substantially improve the quality of life and welfare of these patients. Dogs will be admitted to university clinic to be evaluated comprehensively, treated surgically and returned to private clinic for further care. Thus, establishing long-term collaboration.

To inform the owners and breeders of brachycephalic dogs, veterinary personnel and general public on the health problems of these breeds, a television show will be recorded. Additionally, the survey regarding the personality, social values and life-style features of the brachycephalic dog owners will be performed. Broadcasting of television show to brachycephalic dog owners will facilitate the information transfer at private clinics.

Key words: brachycephalic breeds; brachycephalic syndrome; diagnostics; surgical treatment; television show



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT

Odnos slovenskih veterinarjev do bolečine in analgezije pri psih in mačkah: analiza stanja in uvedba ocenjevalnih lestvic v klinično prakso

Katerina Tomsič¹, Matic Mrzdovnik², Eva Regoršek², Laura Vlaj², Anja Kalin², Lana Jurman³, Anja Zidar³, Lara Ravnik⁴, Cvetka Sokolov⁵, Sara Belak Bučar⁶, Anita Kermavnar⁷, Alenka Seliškar^{1*}

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² študent, Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ³ študent, Filozofska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ⁴ študent, Ekonomska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ⁵ Filozofska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ⁶ GENERA SI podjetje za zastopanje in trgovino d.o.o., Ljubljana, Slovenija, ⁷ Veterinarska zbornica Slovenije, Ljubljana, Slovenija,

*alenka.selislar@vf.uni-lj.si

Namen projekta je ugotoviti, kakšen je odnos slovenskih veterinarjev do prepoznavanja, ocenjevanja in preprečevanja bolečine pri psih in mačkah, in uvrstitev lestvic za ocenjevanje akutne in kronične bolečine med standardne operativne postopke pri Veterinarski zbornici Slovenije. V sodelovanju s podjetjem Genera SI bomo lestvice za ocenjevanje bolečine in izsledke ankete predstavili na dveh regijskih srečanjih veterinarjev praktikov. Izdali bomo tudi brošuri o prepoznavanju in preprečevanju bolečine, namenjeni lastnikom psov in mačk.

Ključne besede: analgezija; lestvice za ocenjevanje bolečine; pes; mačka

Uvod

Osnovno poslanstvo veterinarjev je prepoznavanje in preprečevanje bolečine pri živalih, saj ta izzove tako vrsto fizioloških in nevrohumoralnih reakcij kakor tudi stres in trpljenje. Prvo študijo o odnosu veterinarjev do prepoznavanja in preprečevanja bolečine pri malih živalih sta l. 1993 objavila Hansen in Hardie (1). Tej študiji so sledile številne druge po vsem svetu (2-5). Večina avtorjev je ugotovila, da veterinarji bistveno prej posežejo po analgetikih pri psih kot pri mačkah, čeprav podobno ocenjujejo stopnjo bolečine pri enakih kirurških posegih pri obeh živalskih vrstah. To naj bi bila posledica težav pri prepoznavanju bolečine, slabo poznavanje pravilne uporabe analgetikov in strah pred neželenimi učinki analgetikov pri mačkah. Nekateri avtorji razlik pri obravnavi psov in mačk niso ugotovili; razlog za to so morda geografske razlike, pa tudi drugačen odnos ocenjevalcev do mačk. Podatkov o odnosu slovenskih veterinarjev do bolečine in analgezije pri psih in mačkah ni.

Za lažje prepoznavanje in ovrednotenje stopnje bolečine pri psih in mačkah se uporabljajo večdimenzionalne lestvice za ocenjevanje bolečine. Najbolj znana je Glasgow Composite Pain Scale, ki je validirana za ocenjevanje akutne bolečine pri psih. V klinični praksi v Sloveniji se te lestvice zaenkrat ne uporabljajo, čeprav bi veterinarji z njimi lažje ovrednotili stopnjo bolečine in se odločili za ustrezno zdravljenje.

Opis projekta

V prvi fazi projekta bomo izvedli anketiranje veterinarjev z namenom

1. ugotoviti, ali prepoznajo akutno in kronično bolečino pri psih in mačkah;
2. ugotoviti, ali poznajo zdravila in tehnike za obvladovanje akutne in kronične bolečine;
3. ugotoviti odnos veterinarjev za male živali do prepoznavanja, preprečevanja in odpravljanja akutne in kronične bolečine pri psih in mačkah.

Veterinarjem bomo zastavili vrsto vprašanj, s katerimi bomo poskusili pridobiti čim več podatkov o

1. demografskih podatkih anketirancev;

2. peri- in pooperacijskih protokolih, ki jih uporabljajo za obvladovanje akutne bolečine pri različnih vrstah kirurških posegov pri psih in mačkah;
3. poznavanju zdravil in tehnik za obvladovanje akutne in kronične bolečine;
4. zadovoljstvu in željah veterinarjev po dodatnem izobraževanju s področja protibolečinskega zdravljenja.

Najprej bomo anketo preizkusili pri študentih zadnjega, 6. letnika enovitega magistrskega študija veterinarstvo, nato pa jo bomo posredovali veterinarjem. V drugi fazi projekta, ki bo potekala sočasno s prvo fazo, bomo prevedli v slovenščino tri validirane lestvice za ocenjevanje akutne bolečine (Glasgow Composite Pain Scale, Colorado State University Pain Scale, UNESP Botucato MCPS Scale) in tri validirane lestvice za ocenjevanje kronične bolečine (Canine Brief Pain Inventory, Helsinki Chronic Pain Index, Cincinnati Orthopedic Disability Index). Lestvice za ocenjevanje akutne bolečine bomo v obdobju treh mesecev preizkusili pri pacientih Klinike za male živali Veterinarske fakultete v Ljubljani.

V tretji fazi projekta bomo pripravili predstavitev izsledkov ankete in lestvic za ocenjevanje akutne in kronične bolečine, s katerimi bomo seznanili veterinarje na dveh regijskih srečanjih. Pripravili bomo predlog za umestitev lestvic za ocenjevanje bolečine med standardne operativne postopke Veterinarske zbornice Slovenije. Za lastnike psov in mačk bomo pripravili izobraževalni brošuri o prepoznavanju in preprečevanju bolečine pri omenjenih živalskih vrstah.

Pri izvedbi projekta bodo sodelovali študenti in študentke Veterinarske, Filozofske in Ekonomske fakultete Univerze v Ljubljani, pedagoške mentorice z Veterinarske in Filozofske fakultete Univerze v Ljubljani ter delovni mentorici iz podjetja Genera SI in Veterinarske zbornice Slovenije.

Zaključek

S projektom bomo dobili neprecenljive podatke o odnosu slovenskih veterinarjev do prepoznavanja, ocenjevanja in preprečevanja bolečine pri psih in mačkah, ki nam bodo služili kot osnova za usmerjeno izobraževanje o bolečini in analgeziji, tako na dodiplomskem kakor tudi na podiplomskem študiju veterinarstva. Z uvrstitvijo lestvic za ocenjevanje akutne in kronične bolečine med standardne operativne postopke pri Veterinarski zbornici Slovenije bomo veterinarjem olajšali prepoznavanje bolečine pri psih in mačkah in jim pomagali pri pravilni izbiri analgetikov. Za zaključek bomo za lastnike živali pripravili izobraževalni brošuri o prepoznavanju in preprečevanju bolečine pri psih in mačkah.

Reference

1. Hansen B, Hardie E. Prescription and use of analgesics in dogs and cats in a veterinary teaching hospital: 258 cases (1983–1989). *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 1485–94.
2. Capner CA, Lascelles BD, Waterman-Pearson AE. Current British veterinary attitudes to perioperative analgesia for dogs. *Vet Rec* 1999; 145: 95–9.
3. Hugonnard M, Leblond A, Keroack S, et al. Attitudes and concerns of French veterinarians towards pain and analgesia in dogs and cats. *Vet Anaesth Analg* 2004; 31: 154–63.
4. Lorena SERS, Luna SPL, Lascelles BDX, et al. Current attitudes regarding the use of perioperative analgesics in dogs and cats by Brazilian veterinarians. *Vet Anaesth Analg* 2014; 41: 82–9.
5. Catanzaro A, Di Salvo A, Steagall PV, et al. Preliminary study on attitudes, opinions and knowledge of Italian veterinarians with regard to abdominal visceral pain in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2016; 43: 361–70.

Attitudes of Slovenian veterinarians towards pain and analgesia in dogs and cats: analysis of situation and implementation of pain scales in clinical practice

The aim of the project is to determine the attitudes of Slovenian veterinarians towards recognition, assessment and prevention of pain in dogs and cats, and to classify acute and chronic pain scales as standard operative procedures at the Veterinary Chamber of Slovenia. In cooperation with Genera SI, we will present the pain scales and the results of the survey at two regional meetings of veterinary practitioners. Two booklets on recognition and prevention of pain designed for dog and cat owners will be published as well.

Key words: analgesia; pain scales; dog; cat



Javni štipendijski, razvojni
invalidski in preživninski
sklad Republike Slovenije



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE
ZNANOST IN ŠPORT



EVROPSKA UNIJA
EVROPSKI
SOCIALNI SKLAD
NALOŽBA V VAŠO PRIHODNOST

Delavnice v okviru razvoja podeželja – park prostoživečih živali, Vintarovci, Destrnik

Barbara Pulko¹, Julija Herman¹, Alenka Dovc^{2*}

¹ študent UL, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² UL, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* alenka.dovc@vf.uni-lj.si

Obštudijska dejavnost za dobrobit na Veterinarski fakulteti deluje od decembra 2016. Ena od pomembnih dejavnosti je tudi vpetost oziroma partnerstvo na projektu Razvoj podeželja – park prostoživečih živali, Vintarovci, Destrnik. Projekt je del operacij za uresničevanje ciljev Strategije lokalnega razvoja LAS Bogastvo podeželja ob Dravi in Slovenskih goricah (2014 do 2020). Sofinanciranje projekta poteka iz Evropskega sklada za regionalni razvoj. Projekt pomembno prispeva k večji prepoznavnosti območja, območje obogati z novo naravovarstveno turistično ponudbo, posredno prispeva k povečanju ozaveščenosti in pomenu ohranitve ogroženih vrst živali in ne nazadnje tudi k dobrobiti domačih in prostoživečih živali.

Skupaj s študenti sedaj že drugo leto oblikujemo strokovne delavnice in aktivno sodelujemo pri izgradnji parka s svojimi zamislimi in idejami. Sodelujemo tudi pri oblikovanju tematske učne poti za učence in dijake osnovnih in srednjih šol, ki so zaenkrat naše glavne ciljne skupine. Nekatero delavnice so namenjene študentom veterine. Občasno vodimo delavnice za otroke s posebnimi potrebami in upokojenke ter posebej najavljene skupine gojiteljev in rejcev domačih in prostoživečih živali. Rdeča nit ustvarjanja je dobrobit, ki je del vsebine vseh naših delavnic, ki obsegajo teoretičen del in praktično delo z različnimi živalskimi vrstami kot so žerjavi, gosi, race, labodi, različne vrste sesalcev in plazilcev. Na kongresu bodo prikazane posamezne delavnice, dosedanje delo in plan za letošnjo sezono, ki se bo začela sredi meseca aprila.

Ključne besede: prostoživeče živali; dobrobit; delavnice

Rural area development workshops – free-living animals park, Vintarovci, Destrnik

Additional student's activity on animal welfare in Veterinary faculty is active from December 2016. One of the important activities is the partnership on the project Rural Development – Wildlife Park, Vintarovci, Destrnik. The project is a part of the operations for the realization of the objectives of the LAS (Local Development Strategy) for the richness of the countryside along the Drava and Slovenske gorice (2014-2020). Co-financing of the project is conducted by the European Regional Development Fund. The project makes a significant contribution to the increased visibility of the area, enriching the area with a new nature conservation tourism offer, indirectly contributes to raising awareness and the importance of preserving the threatened animal species, and, last but not least, to the welfare of domestic animals and wildlife.

With the help of students, we design professional workshops and actively participate in the construction of a park with our visions and ideas. We also participate in the creation of a learning thematic pathway for individuals from primary and secondary schools who are currently our main target groups. Some workshops are for veterinary students only. Occasionally we run workshops for children with special needs and retired people and specially announced groups of breeders of domestic and wildlife. The red thread of creation is the animal welfare as a part of the content of all our workshops, which comprise the theoretical part and practical work with various animal species such as cranes, geese, ducks, swans, various mammals and reptiles. The congress will present individual workshops, past work and a plan for this year's season, which will start in mid-April.

Key words: free-living animals; workshops; welfare

Invazivne tujerodne vrste v Sloveniji

Žan Štokar¹, Anja Pečjak¹, Alenka Dovč^{2*}

¹ študent UL, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² UL, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* alenka.dovc@vf.uni-lj.si

Tujerodna vrsta je vrsta, podvrsta ali takson nižje kategorije, ki je vnesena na območje zunaj njenega območja naravne razširjenosti, oziroma območja, ki bi ga lahko dosegla z naravno disperzijo brez posrednega ali neposrednega človekovega vpliva. Invazivna tujerodna vrsta je vrsta, katere ustalitev in širjenje ogroža ali ima škodljive vplive na ekosisteme, habitate ali vrste, zdravje ljudi in gospodarstvo. V naravi se ustali približno vsaka deseta tujerodna vrsta, le vsaka stota postane invazivna. Vseeno, zaradi intenzivnega preseljevanja vrst število invazivnih vrst narašča. Problematiko obravnava Uredba Evropskega parlamenta in Sveta EU o preprečevanju in obvladovanju vnosa in širjenja invazivnih tujerodnih vrst – št. 1143/2014. Samo izvajanje te uredbe je določeno v Izvedbeni uredbi komisije o sprejetju seznama invazivnih tujerodnih vrst, ki zadevajo Unijo – št. 1141/2016. Evropska komisija je 2017 dodala nov seznam invazivnih vrst, ki so napisane v Izvedbeni uredbi Komisije o posodobitvi seznama invazivnih tujerodnih vrst, ki zadevajo Unijo – št. 1263/2017. V nadaljevanju bodo prikazane vrste živali in rastlin iz seznama, ki jih že ugotavljamo v Sloveniji prosto v naravi in potencialne invazivne vrste, ki jih zaenkrat srečujemo le v ujetništvu – hišni ljubljenci. Z namenom osveščanja, smo študenti Veterinarske fakultete v akvaterarij naselili nekatere invazivne tujerodne vrste živali in rastlin. Ob ogledu posameznih vrst si gledalec lahko prebere tudi osnovne značilnosti vrste in možne zaplete in posledice v primeru namernega ali nenamernega izpusta v naravo. Namen »projekta« je osveščanje strokovne javnosti in lastnikov živali glede te pereče problematike.

Ključne besede: invazivne tujerodne vrste; živali; rastline, Slovenija

Invasive alien species in Slovenia

An alien species is a species, subspecies or a taxon of a lower category that is introduced into an area outside its natural distribution, or an area that could be reached by natural dispersion without direct or indirect human influence. An invasive alien species is a species whose stabilization and spread threatens or has adverse effects on ecosystems, habitats or species, human health and the economy. Approximately every tenth alien species gets settled in nature, only every hundredth becomes invasive. However, due to intensive migration of species, the number of invasive species is increasing. The problem is addressed by the Regulation of the European Parliament and of the Council on the prevention and control of introduction and spread of invasive alien species – no. 1143/2014. The implementation of this Regulation is specified in the Implementing Regulation of the Commission on the adoption of the list of invasive alien species affecting the Union – no. 1141/2016. In 2017, the European Commission added a new list of invasive species, which was written in the Commission Implementing Regulation on updating the list of invasive alien species concerning the Union – no. 1263/2017. The following will show the species of animals and plants from the list, which we are already discovering in Slovenia free in nature and potential invasive species, which we currently only encounter in captivity – pets. In order to raise awareness, students of the Veterinary Faculty settled some invasive alien species of animals and plants in the aqua-terrarium. Apart from watching individual species, the viewer can also read the basic characteristics of the species and possible complications and consequences in case of deliberate or unintentional release into nature. The purpose of the "project" is to raise awareness among professional public and owners of animals about this serious issue.

Key words: invasive alien species; animals; plants; Slovenia

Tetrodotoksin - novo tveganje na področju morskih biotoksinov v školjkah tudi v Evropi

Renata Ciglarič¹, Andrejka Močnik¹, Jožica Dolenc¹, Zlatka Bajc^{1*}

¹ Veterinarska fakulteta, Inštitut za varno hrano krmo in okolje, Enota za varno hrano, Ljubljana, Slovenija

*zlatka.bajc@vf.uni-lj.si

Med morskimi biotoksini je tetrodotoksin (TTX) poznan kot povzročitelj številnih resnih zastrupitev s hrano na območju jugovzhodne Azije. Leta 2010 so poročali o prvi zastrupitvi v Evropi z mehkužcem ujetim v Atlantskem oceanu na jugu Evrope. In ker o prisotnosti TTX poročajo celo v klapavicah iz severne Italije, smo razvili metodo za določanje TTX v školjkah. TTX smo iz mesa klapavic ekstrahirali v 1% očetno kislino v vreli vodni kopeli. Ekstrakt smo, po oboritvi proteinov z dodatkom amonijaka, očistili na Supelclean ENVI-Carb SPE kolonah. Vsebnost TTX v ekstraktu smo določili s tekočinsko kromatografijo s tandemsko masno spektrometrijo (LC-MS/MS) z uporabo umeritvene krivulje v matrici. Metoda je linearna v območju od 100 µg/kg - 10 mg/kg. Pravilnost metode smo preverili s sodelovanjem v medlaboratorijski kontroli, ki jo je organiziral Evropski referenčni laboratorij za morske biotoksine.

Ključne besede: Tetrodotoksin; školjke; LC-MS/MS

Uvod

Biotoksini so snovi, ki so nevarne za človeka. Sintetizirajo jih živi organizmi: bakterije, glive, rastline ali morski mikroorganizmi. Za toksine morskih alg je značilno, da se kopičijo v prehranjevalni verigi, zato so najbolj okužene plenilske ribe in školjke, ki filtrirajo velike količine vode in zato nakopičijo tudi toksine. Mikroalge v morju lahko sintetizirajo veliko različnih skupin toksinov amnezijske toksine (ASP), diarejogene toksine (DSP), nevrotoksine (NSP) in paralitične toksine (PSP). Med slednje spada tetrodotoksin (TTX). TTX najdemo predvsem v ribah napihovalkah (Tetraodontidae), najden pa je bil tudi v drugih ribah, mehkužcih in celo dvoživkah. Predvidevajo, da tudi TTX sintetizirajo dinoflagelati, čeprav še niso ugotovili katere vrsta je odgovorna za sintezo toksina (1). TTX je odgovoren za najhujše zastrupitve s hrano, o katerih poročajo predvsem iz tropskih in subtropskih območij Azije ali Pacifiških otokov. Povezane so bodisi z nepravilno pripravljeno ribo napihovalko (2) ali uživanjem malih morskih polžev (*Niotha clathrate*) (3). Leta 2010 je bil predstavljen prvi primer zastrupitve v Evropi, ki se je zgodil z uživanjem mehkužca (*Charonia sauliae*) ujetega v Atlantskem oceanu na jugu Portugalske (1). Lansko leto pa so zaznali prisotnost TTX tudi v klapavicah (*Mytilus galloprovincialis*) iz severne Italije.

V Sloveniji ugotavljamo vsebnost dinoflagelatov v morski vodi od leta 1994, medtem, ko se ugotavlja nekatere morske biotoksine v školjkah od leta 1993. Zakonsko je predpisano ugotavljanje DSP, PSP ter ASP. Uredba Komisije ES 2074/2005 natančno predpisuje referenčne metode za ugotavljanje morskih biotoksinov, kjer je poleg biološkega poskusa na miših v primeru PSP toksinov opisana tudi kemijska metoda, t.i. Lawrencova metoda. Za ugotavljanje ASP in DSP toksinov pa sta referenčni metodi tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) in tekočinska kromatografija s tandemsko masno spektrometrijo (LC-MS/MS). Na Enoti za varno hrano imamo akreditirane kemijske metode za določanje ASP, PSP in DSP v školjkah in ker je TTX nevarno blizu, je bil namen naše raziskave razviti kemijsko metodo za določanje TTX v školjkah.

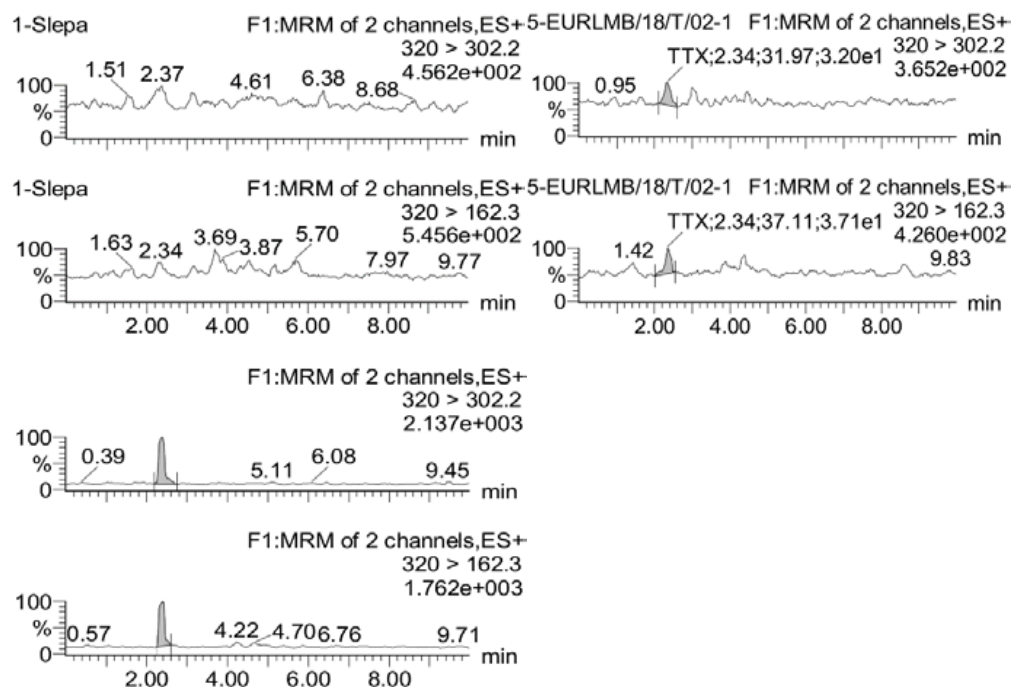
Materiali in metode

Priprava vzorcev: V 50 ml plastične centrifugirke smo natehtali 5,0 g homogeniziranih školjk. Dodali smo 5,0 ml 1% očetne kisline in dobro premešali. Epruvete smo za 5 minut postavili v vrelo vodno kopel. Po segrevanju smo epruvete ohladili in ponovno premešali in jih centrifugirali pri 4000 rpm 10 min. 1 ml ekstrakta smo prenesli v 15 ml plastično centrifugirko ter dodali 5 ml 25% amonijaka. Vsebino smo ponovno dobro premešali in centrifugirali

1 minuto pri 4000 rpm. Supernatant smo očistili s pomočjo ekstrakcije na trdni fazi z uporabo Supelclean ENVI-Carb SPE Tube (500 mg / 6 ml). Kolone smo najprej kondicionirali s 3 ml 20% acetonitrila z 1% oetne kisline in nato še s 3 ml 0,025% amonijaka. Nato smo nanесли 1 ml supernatanta ter kolono sprali s 700 μ l vode. TTX smo iz kolone eluirali z 2 ml 20% acetonitrila z 1% oetne kisline. Eluat smo ponovno centrifugirali 10 minut pri 4000 rpm ter prefiltrirali skozi 0,45 μ m filter v plastično vialo. Eluat smo razredčili v razmerju 1 + 3 z acetonitrilom. 10 μ l razredčenega ekstrakta smo injicirali v LC-MS/MS sistem (Waters Alliance 2695 in Quattro Micro API, Micromass). Ločba je potekala na analitski koloni Phenomenex, Kinetex, 2.6 μ m HILIC 100 A, 150 x 2.1 mm z izokratsko elucijo s 3 % MF A1 in 97 % MF B1 s pretokom 0,25 ml/min. Mobilna faza (MF) A1 je bila mešanica vode, mravljične kisline in amonijaka, mobilna faza B1 pa mešanica acetonitrila, vode in mravljične kisline. Pri analizi smo zasledovali ionski prehod primarnega iona 320,0 > 302.2 in ionski prehod sekundarnega iona 320,0 > 162,3. S primerjavo ionskih razmerij analita v vzorcu in ionskega razmerja v standardu smo potrdili prisotnost iskane spojine v vzorcu.

Rezultati in razprava

Referenčni laboratorij Evropske unije za morske toksine (EURL-MB) je razvil LC-MS/MS metodo za ugotavljanje TTX toksinov v školjkah, ki smo jo z nekaj spremembami uporabili za razvoj naše metode (4). Za ločbo smo uporabili tekočinsko kromatografijo hidrofilnih interakcij oz. HILIC. Namesto z zahtevno gradientno elucijo nam je zadovoljivo ločbo uspelo doseči z uporabo izokratske elucije. Metoda je linearna v koncentracijskem območju od 100 mg/kg do 10 mg/kg.



Slika 1: Levo zgoraj, meso klapavic - slepi vzorec, levo spodaj - meso klapavic z dodatkom TTX (500 mg/kg) pred ekstrakcijo in desno vzorec iz medlaboratorijske kontrole.

Po hitri validaciji metode za določanje TTX v školjkah je sledila analiza vzorcev, ki jih je pripravil referenčni laboratorij Evropske unije za morske toksine (EURL-MB) (Slika 1). V vzorcu smo ugotovili prisotnost TTX. Zaradi majhnega števila udeležencev in sipanja rezultatov žal nimamo ustrezne informacije glede pravilnosti izmerjenih koncentracij.

Z opisano metodo lahko torej uspešno zaznamo TTX v školjkah.

Reference

1. Fernández-Ortega JF, Morales-de los Santos JM, Herrera-Gutiérrez ME, et al. Seafood Intoxication by Tetrodotoxin: First Case in Europe. *The Journal of Emergency Medicine* 2010, 39(5): 612–617.
2. Cho EH, Ahn SY, Son IS, et. Al. Determination and validation of tetrodotoxin in human whole blood using hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectroscopy and its application. *Forensic Science International* 2012, 217: 76-80
3. Jena HC, Linb SJ, Tsaic YH, et. al. Tetrodotoxin poisoning evidenced by solid-phase extraction combining with liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of chromatography B* 2008, 871: 95-100
4. EURL-MB: Determination of Tetrodotoxin by HILIC-MS/MS, 2017: 1-24

Tetrodotoxin - a new risk in marine biotoxins in shellfish also in Europe

Among marine biotoxins, tetrodotoxin (TTX) is known to cause many serious food poisoning in the Southeast Asia region. The first poisoning with a shellfish from the Atlantic Ocean from the Southern Europe was reported in 2010. Since the presence of TTX was found even in mussels from northern Italy, we have developed a method for determination of TTX in bivalve mussels. TTX was extracted from mussels in 1% acetic acid in a boiling water bath. After the protein precipitation with the addition of ammonia, the extract was purified on the Supelclean ENVI-Carb SPE columns. The TTX content in the extract was determined by liquid chromatography using tandem mass spectrometry (LC-MS / MS) and the matrix matched calibration curve. The method is linear in the range of 100 µg/kg - 10 mg/kg. The correctness of the method was verified with participation in proficiency test organized by European Reference Laboratory for marine biotoxins.

Key words: Tetrodotoxin; shellfish; LC-MS/MS

Mikotoksini plesni iz rodu *Alternaria* v pšenici in tritikali

Janja Babič^{1*}, Gabrijela Kalcher – Tavčar¹, Franci Aco Celar², Matjaž Červek³, Marjana Grandič¹, Breda Jakovac Strajn¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija

³ Razvojni center Jata Emona d.o.o., Agrokombinatska 84, 1000 Ljubljana, Slovenija

*janja.babic@vf.uni-lj.si

Mikotoksini so sekundarni, toksični produkti plesni, ki so škodljivi za živali in ljudi. V organizem lahko preidejo tudi z zauživanjem krme. Škodljivi učinki na živali se kažejo kot slaba ješčnost, zmanjšanje proizvodnje, zaostajanje v rasti in slabša odpornost proti okužbam. Najpomembnejše skupine toksigenih plesni so iz rodov *Penicillium*, *Aspergillus* in *Fusarium*, na področju Južne Evrope pa je iz dobljenih podatkov razviden porast toksigenih plesni iz rodu *Alternaria*, ki izločajo toksine alternariol, alternariol metil eter, tenuazoijsko kislino in tentoksin. Evropska agencija za varno hrano (EFSA) je za to skupino mikotoksinov leta 2011 izdelala mnenje, v katerem navaja, da so presnovki omenjenih gliv škodljivi za živali in ljudi, vendar je premalo podatkov, da bi lahko postavili varne meje.

V triletni študiji smo zato s tehniko LC MS/MS analizirali 181 vzorcev pšenice in 81 vzorcev tritikale. Kontaminiranost z alternarijskimi toksini je bila ugotovljena pri 24% vzorcev pšenice in 83% vzorcev tritikale. Najpogosteje so bili vzorci žit okuženi s tenuazoijsko kislino. Ugotovili smo, da je tritikala bolj dovzetna za okužbo s plesnimi rodu *Alternaria* kot pšenica.

Ključne besede: Mikotoksini; LC-MS/MS; *Alternaria*; pšenica; tritikala

Uvod

Najpomembnejše skupine toksigenih plesni so iz rodov *Penicillium*, *Aspergillus* in *Fusarium* (1), vendar pa se v novejših študijah za področje južne Evrope (2, 3) omenja večja prisotnost toksigenih plesni iz rodu *Alternaria*, ki izloča toksine alternariol (AOH), alternariol metil eter (AME), tenuazoijsko kislino (TeA) in tentoksin (TEN). Za bolj poznane mikotoksine kot so aflatoksini, deoksinivalenol, zearalenon, fumonizini in ohratoksini obstajajo najvišje še dovoljene vsebnosti ali priporočila, medtem ko se za alternarijske mikotoksine na pobudo Evropske komisije za varnost hrane (EFSA) spodbujajo študije njihove prisotnosti v različnih oblikah krme širom po Evropi (4).

Glive rodu *Alternaria* iz debla zaprtotrošnic (Ascomycota) so splošno razširjene in jih najdemo v večini tal kot običajno komponento talne mikroflore. Nekatere vrste so obligatni saprofiti, druge fakultativni paraziti gojenih in samoniklih rastlin. Razširjene so tako v humidnih kot semi-aridnih območjih, kjer pogosto okužujejo liste, stebela, cvetove in plodove gojenih in samoniklih rastlin. Glive tega rodu so glavni kontaminanti pšenice, ječmena in sirka, čeprav jih najdemo tudi na drugih žitih in koruzi. Razen na žitih najdemo *Alternaria* vrste tudi na semenih oljnic (sončnica, oljna repica), paradižniku, jabolkah, oljkah in številnih drugih vrstah sadja in zelenjave. Glive so sposobne rasti tudi pri nizkih temperaturah, zato lahko povzročajo kvarjenje pridelkov tudi med prevozom in skladiščenjem.

Vrste *Alternaria* spp. tvorijo več kot 70 sekundarnih metabolitov, ki so toksični za rastline, vendar je le majhen delež le teh strupen tudi za ljudi in živali. *Alternaria alternata* je najbolj pogosta vrsta, ki jo najdemo na vskladiščnem sadju, zelenjavi in žitnem zrnju ter je hkrati najpomembnejša tvorka mikotoksinov. Nekateri izmed njih imajo škodljive učinke tudi na živali (5).

Namen naše študije je doprinos podatkov o alternarijskih toksinih v žitih (pšenica, tritikala), uporabljenih v Sloveniji. Študije prisotnosti toksinov rodu *Alternaria* so redke. Trenutno sta za področje južne Evrope znani le študiji teh toksinov v pšenici v srbski pokrajini Vojvodina (2) in pokrajinah v Albaniji (3).

Materiali in metode

V študiji smo analizirali 181 vzorcev pšenice in 81 vzorcev tritikale. Alternarijske toksine smo v vzorcih kvantificirali z analitsko tehniko tekočinske kromatografije sklopljene s tandemskim masnim detektorjem (LC-MS/MS) na napravi Aquinity UPLC z masnim detektorjem XEVO TQ. Ekstrakcijo smo izvedli z raztopino acetonitrila in vode, ki smo jo dodali v 10 g zmletga vzorca. Ekstrakt smo prečistili na kolonicah in z njim pripravili umeritveno krivuljo na matriksu s standardnim dodatkom iskanih analitov. Sledilo je koncentriranje do suhega in rekonstitucija vzorca v mobilni fazi. Pri analizi s tekočinsko kromatografijo smo uporabili gradientno elucijo, mobilna faza je bila mešanica mili Q vode, metanola, očetne kisline (0,5%) in amonijevega acetata (2,5 mM). Pretok mobilne faze je bil 0,3 ml/min, volumen injiciranega vzorca pa 0,1 ml. Alternarijske toksine smo na masnem detektorju zaznali s pomočjo MRM analize in njihovo koncentracijo določili z uporabo programa TargetLynx.

Rezultati

Alternarijske toksine smo dokazali tako v vzorcih pšenice kot tudi v vzorcih tritikale. V triletnem obdobju smo primerjali rezultate obeh vrst žita. Skupaj smo v opazovanem obdobju izmerili 181 vzorcev pšenice in 81 vzorcev tritikale. Pozitivnih vzorcev v pšenici je bilo 24% (44/181), v tritikali pa kar 83% (67/81). Vzorci pšenice so bili najpogosteje kontaminirani s TeA (30%; povprečna koncentracija 37 µg/kg) in AOH (43%; povprečna koncentracija 31 µg/kg), medtem ko so bili vzorci tritikale najpogosteje kontaminirani s TeA (72%; povprečna koncentracija 87 µg/kg) in TEN (55%; povprečna koncentracija 20 µg/kg). V obeh vrstah vzorcev smo določili najvišjo povprečno koncentracijo TeA leta 2016.

Razprava

Analiz o vsebnosti alternarijskih toksinov v krmi je zelo malo. Po podatkih iz literature je bil AOH ugotovljen v 31 % vzorcev v koncentraciji 6,3 do 1840 µg/kg. Največje vsebnosti so bile v sončničnih semenih. AME je bil ugotovljen v 6 % vzorcev v koncentraciji od 3 do 184 µg/kg, ALT v 73 % vzorcev v koncentraciji 6,3 in 41 µg/kg. TeA je bila ugotovljena v 15 % vzorcev (500 do 4310 µg/kg) (EFSA, 2011). O obstojnosti alternarijskih toksinov je malo podatkov. Obstajajo dokazi, da se lahko koncentracija med skladiščenjem ali obdelavo še poveča (EFSA, 2011). Požeto zrnje je potrebno po pravilu čimprej posušiti v sušilnikih do optimalne vlage za skladiščenje. Čim dalj s tem odlašamo, večja je verjetnost za nadaljnji razvoj gliv *Alternaria* spp. in s tem tvorbe alternarijskih mikotoksinov.

Podatki o občutljivosti gospodarsko pomembnih živali in domačih ljubljencev so zelo omejeni, zato še ne moremo določiti dopustnih mej. Akutno oralno toksičnost TeA so preučevali na različnih vrstah in določili LD₅₀, ki je 37,5 do 225 mg/kg t.m. Spodnja in zgornja meja izpostavljenosti je izračunana le za brojlerje in kokoši nesnice (3 µg/dan in 6 µg/dan) (EFSA, 2011).

Z rezultati smo potrdili, da so alternarijski toksini tudi v slovenskih žitih in ne samo na območjih Srbije in Albanije (2, 3). Vzorci tritikale so bili bolj kontaminirani kot vzorci pšenice. Glede na statistične podatke na spletni strani Food and Agriculture Organisation (FAOSTAT) svetovna proizvodnja tritikale z leti narašča kar pomeni, da so nadaljnje raziskave alternarijskih toksinov in njihovega vpliva na zdravje ljudi potrebne in zaželeno.

Reference

1. Žust J, Vengušt A, Pestevšek U. Kontaminacija krme z mikroorganizmi in njihovimi toksičnimi presnovki. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2004: 45 – 55.

2. Janić Hajnal E, Orčić D, Torbica A, Kos J, Mastilović J and Škrinjar M. *Alternaria* toxins in wheat from the Autonomous Province of Vojvodina, Serbia: a preliminary survey, Food Addit Contam Part A 2015; 32: 361–370.
3. Topi D, Tavčar-Kalcher G, Pavšič-Vrtac K, Babič J, Jakovac-Strajn B. *Alternaria* mycotoxins in grains from Albania: alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid and tentoxin, World J Mycotox; sprejeto v objavo
4. European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. EFSA J 2011; 9(10): 1–97.
5. Desphande SS. Fungal Toxins. In: Handbook of food toxicology. Chapter 11. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 2002: 387-456.

Presence of *Alternaria* toxins in wheat and triticale

Mycotoxins are secondary toxic metabolites with negative effect on animal and human health. The consumption of mycotoxin contaminated feed can cause animal feed refusal, decreased feed conversion and hence reduced body weight and reproductive disorders. Investigations most often focus on regular tested mycotoxins produced by *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium* genus, but recently new investigation for South Europe show enhancement of toxins produced by *Alternaria* genus, namely alternariol, alternariol methyl ether, tenuazonic acid and tentoxin. The first risk assessment on the presence of *Alternaria* toxins in food and feed at the European level published by the European Food Safety Authority in 2011 (EFSA, 2011) was based on limited occurrence and toxicity data. For Slovenia no data about the presence of *Alternaria* toxins are known. The aim of our work is to inform feed communities about occurrence of *Alternaria* toxins in feed and possibility of occurrence of *Alternaria* diseases in the future. In 3-year survey we have analysed 181 wheat and 81 triticale samples. In both cereal type samples we found *Alternaria* toxins, but incidence of positive samples was higher in triticale (83%) than in wheat (24%) samples. Triticale was found to be more susceptible for *Alternaria* infections than wheat.

Key words: Mycotoxins; LC-MS/MS; *Alternaria*; wheat; triticale

Preliminarni rezultati poskusa peroralnega prekuževanja in aklimatizacije mladice s homolognim sevom virusa prašičjega reprodukcijskega in respiratornega sindroma z uporabo bombažnih vrvi

Jan Plut^{1*}, Peter Njegovec², Marina Štukelj¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Klinika za reprodukcijo in velike živali, Oddelek za zdravstveno varstvo prašičev, Ljubljana, Slovenija, ² VOA d.o.o., Breznikova 89, Ihan, 1230 Domžale

* e-mail kontaktne osebe: Jan.Plut@vf.uni-lj.si

Prašičji reprodukcijski in respiratorni sindrom je ekonomsko najpomembnejša globalno razširjena bolezen v prašičereji. V okuženih rejah je eden izmed postopkov kontrole in nadzora PRRS, prekuževanje nadomestnih mladice z namenom aklimatizacije pred vstopom v plemensko čredo. Namen študije je bil, da v 8 tednov trajajočem poskusu v hlevih namenjenih za poskus (eksperimentalni pogoji) dosežemo prekužitev in aklimatizacijo mladice s pomočjo bombažnih vrvi prepojenih z ustno tekočino viremičnih prašičev okuženih s PRRS. Štiri tedne zapovrstjo smo okužene vrvi namestili v bokse zdravih mladice, z namenom, da jih žvečijo, pridejo v kontakt z virusom ter razvijejo specifična protitelesa proti farmskemu sevu virusa. Enkrat tedensko smo odvzeli vzorce ustne tekočine in seruma za spremljanje okužbe. V ustni tekočini smo dokazovali RNA virusa z metodo polimeraza verižne reakcije z reverzno transkriptazo, v serumu pa protitelesa proti virusu s komercialnim testom ELISA. Mladice v poskusu se na omenjen način niso okužile z virusom PRRS. Razloge za to gre iskati v premajhni količini virusi za preoralno okužbo, izgubi infektivnosti virusa med transportom ali prisotnost inhibitornih snovi v materialu, ki povzročijo inaktivacijo virusa.

Ključne besede: PRRS; aklimatizacija; ustna tekočina; mladice

Uvod

Prašičji reprodukcijski in respiratorni sindrom (PRRS) je ekonomsko najpomembnejša globalno razširjena bolezen v prašičereji. Virus povzroča velike ekonomske izgube zaradi povečanega pogina, slabše konverzije krme, respiratornih obolenj, reprodukcijskih motenj in povečanega pojava sekundarnih obolenj zaradi imunosupresivnega delovanja (Zimmerman in sod., 2012). Poznamo dva genotipa virusa in sicer genotip 1 in 2, sorodnost med genotipoma je 55–70 %. Znotraj posameznega genotipa najdemo številne podtipove virusov. Razlika med sevi znotraj genotipa 1 je 30 %, med sevi genotipa 2 pa 20 %. Prašiči so popolnoma zaščiteni samo proti sevu virusa s katerim so prišli v kontakt in razvili protitelesa, zato je homologna zaščita najboljša. Heterologna zaščita med sevi znotraj istega genotipa pa je samo delna (Xing in sod. 2017). V okuženih rejah je eden izmed postopkov kontrole in nadzora PRRS prekuževanje nadomestnih mladice z namenom aklimatizacije pred vstopom v plemensko čredo. Z okužbo mladice s homolognim virusnim sevom pred prvo brejostjo dosežemo, da živali bolezen prebolijo, izločijo virus iz organizma in ustvarijo imunost, ki le-te ščiti pred nadaljnjimi okužbami z istim sevom virusa. Mladice lahko prekužimo na več načinov oziroma po različnih poteh vnesemo virus v telo. Eden izmed njih je peroralna okužba, za to lahko uporabimo ustno tekočino viremičnih prašičev s katero se virus PRRS širi in izloča tudi do 63. dne po infekciji (Prickett, 2009). Namen študije je bil ugotoviti, ali lahko PRRS negativne mladice uspešno prekužimo z uporabo bombažnih vrvi prepojenih z ustno tekočino viremičnih prašičev v poskusnih hlevih (kontrolirani pogoji) in na ta način izvedemo aklimatizacijo.

Material in metode

Okužene vrvi

Bombažne vrvi (Oral Fluid Collection Kit, IDEXX) smo za pol ure obesili na sredino boksa v hlev s PRRS okuženimi živalmi na PRRS pozitivni farmi, tako da je prosti del vrvi segal do plečne višine prašičev, a se ni dotikal krmilnikov, napajalnikov ali drugih predmetov. Okuženi prašiči so vrvi žvečili, da so se prepojele z ustno tekočino. Po pol ure smo ustno tekočino oželi v sterilno plastično 50 ml epruveto; ta vzorec nam je služil kot kontrola, če so živali okužene z virusom PRRS. Vrvi smo shranili v čisto plastično vrečko z zadrgo in pri 4 °C prepeljali na lokacijo, kjer smo izvajali poskus. Polovico vrvi smo shranili na temperaturi -20 °C in jih pred poskusom odtalili, drugo polovico pa smo takoj po transportu, tj. približno eno uro po odvzemu, namestili v bokse PRRS negativnih mladic in jih pustili preko noči, da so živali vrv žvečile. Ta postopek smo ponovili štirikrat v razmiku 7 dni.

Prekuževanje mladic in odvzem vzorcev

Poskus je potekal v hlevih Veterinarske fakultete v Ljubljani, v dveh skupinah. Vsako skupino smo obravnavali 8 tednov z vmesnim enotedenskim odmorom za čiščenje in razkuževanje prostorov. V vsako skupino je bilo vključenih 16 PRRS negativnih mladic. Prekuževanje z vrvmi prepojenimi z virusom PRRS je potekalo štirikrat, enkrat tedensko, s pričetkom en dan po prihodu živali (dan 0). Mladicam smo v 3 bokse velikosti 6 m², v katerem je bilo 6 ali 5 mladic, namestili 2–3 okužene vrvi. Vsak teden, vključno z dnem 0 in do 56. dne, smo mladice jemali individualne vzorce seruma in skupinske vzorce ustne tekočine, z namenom dokazovanja virusa in protiteles za spremljanje okužbe in aklimatizacije. Vsakodnevno smo pri mladicih opravili klinični pregled. Pri prvi skupini smo uporabili zamrznjene vrvi, pri drugi pa sveže vrvi, direktno s PRRS pozitivne farme. Vsakokrat pred izpostavitvijo okuženim vrvem, smo 16 poskusnim individualno označenim mladiciam odvzeli individualne vzorce krvi iz *vena cava cranialis* in skupinski vzorec ustne tekočine za preverjanje stanja okužbe.

Polimeraza verižna reakcija z reverzno transkriptazo (RT-PCR)

Po predhodni ekstrakciji virusne RNA po navodilih proizvajalca (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen) smo ustno tekočino odvzeto mladici na okuženi farmi in ustno tekočino mladic v poskusu pregledali na prisotnost virusne nukleinske kisline z metodo RT-PCR. Rezultate smo prikazali z gelsko elektroforezo na 1,8 % agaroznem gelu.

Dokaz protiteles

Za dokazovanje protiteles v individualnih vzorcih seruma mladic v poskusu smo uporabili komercialni kit ELISA za indirektni dokaz protiteles proti virusu PRRS (PRRSV Ab ELISA, Qiagen) po navodilih proizvajalca. Rezultate z vrednostjo S/P > 0,4 smo določili kot pozitivne.

Rezultati

Z metodo RT-PCR in gelsko elektroforezo smo dokazali nukleinsko kislino virusa PRRS v 7 od 8 vzorcev preiskane ustne tekočine mladic s PRRS pozitivne farme, iz svežih vrvi, katere smo uporabili za prekuževanje poskusnih mladic in v vseh 12 vzorcih zamrznjenih vrvi. Nasprotno, v nobenem odvzetem vzorcu ustne tekočine mladic v poskusu v nobenem tednu po izpostavitvi nismo dokazali prisotnosti virusne RNA. V prvi skupini 16 mladic nismo dokazali prisotnosti protiteles proti virusu PRRS v serumu pri nobeni poskusni živali tekom celotnega poskusa. Pri drugi skupini smo pri ena mladici dokazali protitelesa. Klinični pregled te mladice je pokazal gnojno vnetje očesne veznice desnega očesa, brez spremenjenega splošnega stanja živali ali drugih bolezenskih znamenj. Ista mladica je na preiskavo ELISA reagirala pozitivno od 7. dne do konca trajanja poskusa tekom celotnega trajanja poskusa, nobena druga žival ni imela kliničnih znamenj PRRS.

Tabela 1: Prekuževanje mladic z uporabo vrvi prepojenih z ustno tekočino viremičnih prašičev in spremljanje uspešnosti okužbe z dokazovanjem nukleinske kisline virusa v ustni tekočini, oziroma protiteles v serumu, poskusnih živali.

dan okužbe								
	0 [#]	7 [#]	14 [#]	21 [#]	28	35	42 [*]	
preiskovan vzorec	ustna tekočina ^a	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	serum ^a	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ustna tekočina ^b	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	serum ^b	0/16	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16

[#] po jemanju vzorcev ustne tekočine in seruma smo mladiče izpostavili okuženim vrvem

^{*} poskus prekinjen zaradi negativnih rezultatov

^a skupina 16 mladic prekuženih z zamrznjenimi in odtajanimi PRRS + vrvmi (prikazane pozitivne od 16 mladic)

^b skupina 16 mladic prekuženih s svežimi PRRS + vrvmi (prikazane pozitivne od 16 mladic)

Poskus smo prekinili 2 tedna pred načrtovanim koncem, saj so laboratorijske preiskave pokazale, da do okužbe ni prišlo.

Razprava

Virus PRRS se izjemno hitro prenaša z direktnim in indirektnim kontaktom. V primernih pogojih, npr. pri temperaturah nižjih od -20°C naj bi bil virus obstojen več let (Zimmerman in sod., 2012) in tako velja za enega bolj kužnih virusov, ki se zelo lahko prenaša med rejami. Bolezen lahko kontroliramo ali pa jo izkoreninimo. Najpomembnejša faza pri kontroli bolezni je prekuževanje in aklimatizacija mladic, s katero dosežemo eliminacijo virusa iz organizma in nastanek specifičnih protiteles. V poskusu smo želeli mladiče prekužiti in aklimatizirati s peroralno izpostavitvijo vrvem prepojenih z ustno tekočino viremičnih prašičev s PRRS pozitivne farme. Glede na zgoraj omenjena dejstva smo pričakovali, da bomo z izpostavitvijo mladic vrvem prepojenih z ustno tekočino okuženih živali povzročili okužbo živali. Ustna tekočina viremičnih prašičev namreč vsebuje velike količine virusa (do 10^5 kopij virusa/ml) s katerimi se PRRS v terenskih pogojih enostavno kontaktno prenaša med prašiči in je v ustni tekočini prisoten do 63. dne po infekciji (Prickett, 2009). Prašiči bombažne vrvi žvečijo in na ta način je zagotovljen tesen kontakt ustne sluznice in kontaminiranega materiala (White in sod., 2014). Rezultati naše študije kažejo ravno nasprotno, da do okužbe prašičev z virusom ni prišlo, kljub temu da smo z molekularnimi metodami dokazali prisotnost virusa v uporabljenih vrvih. Prav tako ni prišlo do tvorbe protiteles, z izjemo ene mladic v drugi skupini, ki je bila izpostavljena svežim okuženim vrvem. Glede na nizke vrednosti S/P, odsotnosti kliničnih znamenj, razen enostranskega konjunktivitisa, ter da nobena od ostalih mladic ni zbolela in da nismo uspeli dokazati virusne RNA v nobenem preiskanem vzorcu, sumimo, da je šlo pri tej živali za nespecifično reakcijo in lažno pozitiven rezultat. Za ugotovitev razloga, zakaj je bil poskus prekuževanja mladic neuspešen, bodo potrebne nadaljnje raziskave. Možnih je več razlogov, kot je premajhna količina virusa za preoralno okužbo ($\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ je $10^{5,3}$), prisotnost zgolj virusne nukleinske kisline, ne pa živega virusa, sposobnega okužbe ali prisotnost inhibitornih snovi v materialu, na primer v bombažu, ki onemogočijo delovanje virusa (Hermann in sod., 2004; Prickett, 2009).

Reference

1. Hermann JR, Munoz-Zanzi CA, Roof MB, Burkhart K, Zimmerman JJ. Probability of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection as a function of exposure route and dose. *Vet Microbiol.* 2005; 110(12): 7–16.
2. Prickett, JR. Detection of viral pathogens of swine using oral fluid specimens (2009). Graduate Theses and Dissertations. 11013. <https://lib.dr.iastate.edu/etd/11013>.
3. Xing T, Yu X, Zhang J, Zhang H, Wang H, Zhou G, Zhang M, Liu C, Li J. Review for porcine reproductive and respiratory syndrome. *J Agr Sci Tech* 2017; 18(1): 147–150.

4. White D, Rotolo M, Olsen C, Wang C, Prickett J, Kittawornrat A, Panyasing Y, Main R, Rademacher C, Hoogland M, Zimmerman JJ. Recommendations for pen-based oral-fluid collection in growing pigs. *J Swine Health Prod*, 2014; 22(3):138–141.
5. Zimmerman JJ, Benfield DA, Dee SA, Murtaugh MP, Stadejek T, Stevenson GW, Torremorell M. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, editors. *Diseases of Swine*. 10th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2012. p. 461-486.

Preliminary results of an attempt of peroral infection and gilt acclimatization to Porcine Reproductive and respiratory syndrome virus with exposure to contaminated cotton ropes

Porcine reproductive and respiratory syndrome is economically most important global pig disease. Infection and acclimatization of replacement gilts to PRRS before introduction the reproduction herd is one of the methods for disease control and eradication from infected farms. The aim of the study was to achieve infection and gilt acclimatization in 8 weeks in experimental conditions with exposure of gilts to cotton ropes soaked in oral fluid from PRRS positive pigs. We've placed contaminated ropes in each box of gilts to chew on for 4 weeks in a row to assure contact with the farm strain of the virus and formation of specific antibodies against it. Samples of oral fluid and sera were obtained weekly from these gilts directly before that for monitoring of infection. Reverse transcriptase polymerase chain reaction for viral RNA detection was performed on obtained oral fluid samples and commercial ELISA test was used for detection of antibodies in sera. The attempt to infect or acclimate the gilts in the study was not successful neither did they form any kind of immune response against the virus. Reasons for that could be inadequate amount of live virus on the ropes, the loss of virus infectivity during transport or presence of inhibitory substances in the material that inactivate the virus.

Key Words: PRRS; acclimatization; oral fluid; gilts

Afriška prašičja kuga se še naprej širi v vzhodnem delu Evrope: pregled najpomembnejših načinov za prenos virusa

Ivan Toplak*, Jože Grom

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

*ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Afriška prašičja kuga (APK) je ena od najpomembnejših nalezljivih bolezni prašičev, ki ima velike ekonomske posledice za prašičerejo. APK je prisotna v številnih državah podsaharske Afrike in večjem številu držav vzhodne in srednje Evrope ter na Kitajskem, kjer s svojim stalnim širjenjem na nova območja že povzroča velike težave v prašičereji. APK je kompleksna bolezen, za katero ni na voljo ne cepiva ali zdravljenja, zato nadzor temelji na zgodnjem odkrivanju bolezni, hitremu odstranjevanju okuženih živali in razkuževanju. Poznavanje glavnih značilnosti te virusne okužbe prašičev, njenega širjenja in načinov prenosa je bistveno tudi za uspešen nadzor APK. V letu 2018 je bilo okuženih skupno že deset članic Evropske unije: Italija, Litva, Latvija, Estonija, Poljska, Češka, Romunija, Madžarska, Bolgarija in Belgija.

Ključne besede: afriška prašičja kuga, širjenje, načini prenosa, preprečevanje, nadzor

Uvod

Afriška prašičja kuga (APK) se je prvič pojavila v Gruziji leta 2007. Po vsej verjetnosti se je virus v državo prvič vnesel preko kontaminiranih odpadkov iz ladij, ki so prispele iz območja Afrike (1). Iz te regije se je isti virus APK, genotipa II, hitro razširil po sosednjih državah, vključno z Armenijo, Azerbajdžanom in Rusko Federacijo. Iz tega geografskega območja se je okužba širila proti severu in zahodu. Leta 2012 so prijavili prvi izbruh APK v Ukrajini in nato še v Belorusiji leta 2013 (2). Iz teh držav se je okužba z APK v letu 2014 razširila v Litvo in na Poljsko, kasneje istega leta še v Latvijo in Estonijo. Leta 2016 se je bolezen prvič pojavila v Moldaviji, leta 2017 na Češkem in v Romuniji, leta 2018 na Madžarskem, v Bolgariji, na Kitajskem in pred kratkim pri divjih prašičih v Belgiji. Bolezen se nekontrolirano širi med divjimi prašiči, ki so se v prvi vrsti okužili od domačih prašičev in okuženih prašičjih izločkov ali proizvodov iz svinjskega mesa. Posebej je zaskrbljujoče zelo hitro naraščanje števila izbruhov v letu 2018 v Romuniji in Ukrajini od koder bi se lahko bolezen razširila v države zahodnega Balkana. Virus APK ni zelo nalezljiv, vendar pa lahko okužbo prašiča povzroči že zelo nizka doza virusa, zato je pri izvajanju preventivnih ukrepov potrebno posvečati posebno pozornost vsem možnim načinom prenosa (2, 3, 4). V juniju leta 2018 smo v Sloveniji na temo APK izvedli dve strokovni izobraževanji za veterinarje in lovce (eno smo izvedli na Veterinarski fakulteti in drugo pod okriljem UVHVVR), na katerih smo orisali pomembnost te bolezni in nujnost širšega sodelovanja različnih strok pri izvajanju preventivnih ukrepov (3, 4). Prav tako potekajo številne aktivnosti z namenom, da bi dobro informirali zainteresirano javnost o pomenu izvajanja preventivnih ukrepov in poučili rejce ter lovce o nevarnosti bolezni za prašiče. Glede na to, da se je virus APK v zadnjih štirih letih vnesel v že devet držav članic EU, je nevarnost vnosa virusa APK v Slovenijo zelo velika.

Materiali in metode

Pregledali smo objavljene znanstvene članke zadnjih desetih let s področja epidemiologije APK, s posebnim poudarkom na zgodnjem odkrivanju bolezni, spremljanja širjenja virusa v nove države, najpogostejših načinov prenosa virusa APK v Evropi in možnostih za kontrolo bolezni. Iz uradnih evidenc Evropske komisije (Animal Disease Notification System - ADNS) smo povzeli prijavljeno število primerov APK pri divjih prašičih in podatke o številu izbruhov APK pri domačih prašičih med leti 2014 in 2018 v okuženih desetih članicah Evropske unije

(Tabela 1). Proučevali smo izvajane ukrepe za preprečitev širjenja bolezni v okuženih državah in pregledali preventivne ukrepe, ki jih že izvajamo ali bi jih uporabili v naših razmerah v primeru pojava bolezni.

Tabela 1. Prikaz števila izbruhov APK pri domačih prašičih in ugotovljenih pozitivnih primerov APK pri divjih prašičih po okuženih državah članicah EU (za leto 2018* so prikazani podatki le do 8. oktobra 2018).

Leto	Prašiči	Italija (Sardinija)	Litva	Latvija	Estonija	Poljska	Češka	Romunija	Madžarska	Bolgarija	Belgija
Prva ugotovitev		1978	24.1.2014	25.6.2014	2.9.2014	27.2.2014	21.6.2017	16.12.2017	20.4.2018	31.8.2018	9.9.2018
2014	domači	40	6	32	0	2	0	0	0	0	0
2014	divji	70	45	148	41	30	0	0	0	0	0
2015	domači	16	23	10	18	1	0	0	0	0	0
2015	divji	46	111	753	723	53	0	0	0	0	0
2016	domači	23	19	3	6	20	0	0	0	0	0
2016	divji	132	303	865	1052	80	0	0	0	0	0
2017	domači	17	30	8	3	81	0	2	0	0	0
2017	divji	93	1328	947	637	741	202	0	0	0	0
2018*	domači	10	50	10	0	109	0	998	0	1	0
2018*	divji	41	1260	561	198	1970	28	61	35	0	84

Rezultati in razprava

Virus APK se lahko prenaša direktno ob stiku med okuženimi in neokuženimi živimi prašiči (domačimi in divjimi) in z okuženimi klopi (območje držav podsaharske Afrike) ali indirektno z vsemi izločki okuženih živali (slino, fecesom, semenom, izcedkom iz oči in nosu), z muhami, z drugimi vrstami divjih živali, s svežim in zamrznjenim mesom, z mesnimi izdelki, s prevoznimi sredstvi, z obutvijo in v veliko primerih preko človeka. Indirektnim načinom prenosa virusa in divjim prašičem, kot pomembnim virom okužbe, smo v preteklosti posvečali premalo pozornosti (2). Virus APK se pomnožuje v mononuklearnih fagocitih domačih in divjih prašičev. Virus okuži monocite in makrofage (2), pri tem pa se nanje vežejo eritrociti, kar pri okuženem prašiču povzroči hude motnje v cirkulaciji krvi. Virus se pomnožuje tudi v endotelijskih celicah, hepatocitih, ledvičnih epitelih celicah in v nevtrofilcih. Po začetnem primarnem pomnoževanju, se APK širi prek krvi ali limfnega sistema, kjer lahko ostane dolgo časa. Večina okuženih prašičev pogine v 10 dneh po okužbi. Okužba z virusom APK ne povzroča tvorbe nevtralizacijskih protiteles. Nedavna študija Franzonija in sodelavcev je pokazala, da so virulentni izolati APK razvili mehanizme za preprečevanje aktivacije makrofagov (5). Posebej je potrebno poudariti veliko možnost prenosa virusa APK s krvjo okuženih živali, ker kri vsebuje velike količine virusa. Okužen živ ali poginjen prašič lahko kontaminira okolico preko izcejanja izločkov in krvavitev iz telesnih odprtih, zato je potrebno biti zelo pozoren pri sekciji domačih in divjih prašičev ter pri odlovu divjih prašičev, da kontaminirano mesto temeljito razkužimo. Kontaminirana kri in izločki so lahko vir okužbe lokalno, lahko pa se virus APK posledično prenese tudi na večje razdalje, z ne razkuženimi ali slabo razkuženimi transportnimi sredstvi. Muhe (*Stomoxys* spp.) lahko prenašajo virus APK z okuženo krvjo še 48 ur. Virus APK ima številne ovojnice, ki ščitijo virusno DNA pred zunanjimi vplivi in lahko ohrani kužnost dolgo časa v okuženih proizvodih: ohlajeno meso je kužno še 110 dni, zamrznjeno svinjsko meso ostane kužno do 1.000 dni. Prašičja kri je kužna 18 mesecev pri + 4 °C, v fecesu in urinu preživi virus 15 dni pri + 4 °C in 5 dni pri temperaturi 21 °C (4). Za razkuževanje je potrebno uporabljati le odobrena razkužila, ki uničujejo infektivnost virusa. Virus APK je zelo obstojen v naravnem okolju, kjer se gibljejo okuženi divji prašiči, posebno ob pogojih hladnega in vlažnega vremena. Izkušnje iz dosedanjih izbruhov v vzhodni Evropi kažejo, da se lahko ohranja okužba z APK v okolju tudi ob manjši gostoti divjih prašičev (3). Za uspešen nadzor nad širjenjem APK je pomembno zgodnje odkrivanje poginulih divjih prašičev in obolelih domačih prašičev ter hitra laboratorijska diagnostika, s katero potrdimo ali ovzremo prisotnost okužbe. Vse dovzetne živali na okuženih gospodarstvih je potrebno usmrtiti in neškodljivo uničiti. Na okuženih območjih je potrebno prepovedati premike prašičev in uničiti vse morebitno kontaminirane proizvode iz svinjskega mesa. Manjši odstotek domačih in divjih

prašičev lahko preboli okužbo z virusom APK in ti prašiči postanejo kronično okuženi. Nekateri kronično okuženi prašiči lahko prenašajo in izločajo virus več mesecev. V krvi takšnih prašičev lahko dokažemo protitelesa in virus, ali samo protitelesa. Kronično okužene živali so odporne na ponovno okužbo z visoko virulentnim homolognim sevom, kar pomeni, da so razvile določeno stopnjo zaščitne imunosti. Žal znanstveno še ni dovolj pojasnjen mehanizem, zakaj nekateri okuženi prašiči okužbo preživijo in zakaj so ti prašiči zaščiteni pred ponovno okužbo, da bi to lahko uporabili pri razvoju cepiva. Epizootiološki pomen tistih prašičev, ki okužbo z virusom APK preživijo, pri ohranjanju bolezni na endemično okuženem območju še ni povsem pojasnjen. Pokazalo se je tudi, da imamo premalo znanstveno potrjenih informacij, da bi točno razumeli, kakšno (kako pomembno) vlogo pri širjenju bolezni imajo posredni načini prenosa virusa APK in dolgotrajna prisotnost virusa APK pri divjih prašičih na nekem okuženem območju ter s tem posredna kontaminacija vseh površin in predmetov, s katerimi pridejo v stik okuženi divji prašiči. Prav tako ni jasno zakaj nekateri prašiči ostanejo rezervoarji virusa, večina okuženih prašičev pa pogine v prvih dveh tednih po okužbi. Pri tem bi lahko imela pomembno vlogo nizka doza virusa, ki je potrebna za okužbo prašiča, saj je poznano, da je odstotek eksperimentalno okuženih prašičev, ki so okužbo preživeli, pri nizkih dozah virusa nekoliko višji. Pri širjenju virusa ima lahko pomembno vlogo človek, posebej pri prenosu okužbe na večje razdalje (vozila, okuženi domači mesni izdelki, kontaminirana obutev in oprema, ilegalna trgovina). Po ugotovitvi okužbe pri divjih prašičih je potrebno čim prej uvesti vse potrebne ukrepe za nadzor bolezni, skupaj z zgodnjim odkrivanjem trupel, zbiranjem in odstranjevanjem poginjenih prašičev ter organiziranim in uradno nadzorovanim odvozom v kafilerijo ali z zakopavanjem. To bi lahko v nekaterih primerih predstavljalo v slovenskih razmerah velik problem zaradi težke dostopnosti terena in velike gostote divjih prašičev. Lovci, gozdarji, kmetje in naključni obiskovalci gozda lahko prenesejo okužbo z divjih prašičev na domače prašiče, zato je izvajanje vseh preventivnih ukrepov v rejah domačih prašičev ključno za preprečitev vnosa. Z ustreznim in pravočasnim ukrepanjem ob prvem pojavu bolezni in omejitvi širjenja na okuženem območju lahko okužbo uspešno omejimo in s tem preprečimo nadaljnjo širjenje bolezni ter večje ekonomske škode, ki nastanejo zaradi poginov prašičev in izvajanja ukrepov za zatiranje bolezni.

Reference

1. Sanchez-Vizcaino JM, Mur L, Martinez-Lopez B. African swine fever (ASF): five years around Europe. *Vet Microbiol* 2013; 26, 45-50.
2. Arias M, Jurado C, Gallardo C, Fernández-Pinero J, Sánchez-Vizcaino JM. Gaps in African swine fever: Analysis and priorities. *Transbound Emerg Dis* 2018; 65, 235-247.
3. Toplak I. Pojavljanje afriške prašičje kuge pred in po letu 2007. V: Toplak, Ivan (ur.). Afriška prašičja kuga: ali smo pripravljeni na izbruh? Zbornik predavanj, (Programi permanentnega izobraževanja, Aktualne kužne bolezni, št. 17/2018). Ljubljana: Veterinarska fakulteta. 2018: 1-58.
4. Grom J. Epizootiologija afriške prašičje kuge: prenos bolezni na domače in divje prašiče. V: Toplak, Ivan (ur.). Afriška prašičja kuga : ali smo pripravljeni na izbruh? Zbornik predavanj, (Programi permanentnega izobraževanja, Aktualne kužne bolezni, št. 17/2018). Ljubljana: Veterinarska fakulteta. 2018: 12-16.
5. Franzoni G, Graham SP, Giudici SD, Bonelli P, Pilo G, Anfossi AG, Pittau M, Nicolussi PS, Laddomada A, Oggiano A. Characterization of the interaction of African swine fever virus with monocytes and derived macrophage subsets. *Vet Microbiol* 2017; 198, 88-98.

African swine fever continues to spread in the eastern part of Europe: An overview of the most important ways of virus distribution

African swine fever (ASF) is one of the most important infectious diseases of swine and has major economic consequences. ASF is present in many sub-Saharan African countries and several countries of eastern and central Europe, including China, where its continuous spread has the swine industry on heightened alert. ASF is a complex disease for which no vaccine or treatment is available, so its control is based on early detection of disease, rapid disposal of infected animals and disinfection. Knowledge of the main characteristics of this infection, including its current distribution and routes of the transmission, is also essential for controlling of ASF disease. In 2018 a total

ten countries of European Union (Italy, Lithuania, Latvia, Estonia, Poland, Czech Republic, Romania, Hungary, Bulgaria and Belgium) have already been infected.

Key words: African swine fever, distribution, route of transmission, prevention, control

Redko ugotovljene glivične in parazitarne bolezni pri psih in govedu v Sloveniji

Tanja Švara^{1*}, Irena Zdovc², Aleksandra Vergles Rataj², Tamara Dolenšek¹, Kristina Tekavec¹, Sabina Šturm¹, Vesna Cerkenik Flajs¹, Marko Cvetko³, Mitja Gombač¹

¹ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija,

² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija,

³ Študent 6. letnika, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* tanja.svara@vf.uni-lj.si

V zadnjih dveh letih smo pri psih in govedu na Veterinarski fakulteti Univerze v Ljubljani ugotovili posamezne primere redkih bolezni, nekatere pa v Sloveniji doslej še niso bile diagnosticirane.

Pri 3-letnem psu mešancu z živčnimi znaki smo diagnosticirali sistemsko kriptokokoza. S histopatološko preiskavo smo ugotovili meningitis, nefritis, bronhopnevmonijo, nekrotični vaskulitis v miokardu in kolitis, ki so ga povzročile kvasovke, ki so po morfologiji ustrezale kvasovkam iz rodu *Cryptococcus*. Z mikološko preiskavo je bil izoliran *Cryptococcus neoformans*.

Pri 8-letni psici, pasme aljaški malamut, z živčnimi znaki in bolečinami v ledvenem področju smo diagnosticirali sistemsko prototekoza. S histopatološko preiskavo smo ugotovili glomerulonefritis, hepatitis, panoftalmitis, cistitis in uretritis, ki so ga povzročile alge, katerih morfologija je ustrezala algam iz rodu *Prototheca* sp. Z mikološko preiskavo je bila potrjena *Prototheca zophi*.

Pri dveh psih, starih 8 in 2 leti, pasem belgijski ovčar in labradorec, smo v podkožju opazili vozličaste spremembe, v katerih so bili beli nitasti paraziti, dolžine 11 cm, vrste *Dirofilaria repens*.

V biopu očesne veke krave smo s histopatološko preiskavo ugotovili močno kronično eozinofilno vnetje in parazite, ki na osnovi lokacije in histoloških značilnosti najverjetneje sodijo v rod *Thelazia* sp.

Opisani primeri so v Sloveniji izjemno redki in zgolj sporadični, a kljub temu zaslužijo pozornost, saj jih prav zaradi redkosti in sporadičnosti lahko spregledamo.

Ključne besede: patologija; kriptokokoza; prototekoza; *Dirofilaria repens*; *Thelazia* sp.

Rarely diagnosed fungal and parasitic diseases of dogs and cattle in Slovenia

In the last two years, single cases of rare diseases of dogs and cattle have been diagnosed at the Veterinary Faculty of the University of Ljubljana, and some of them have not been noted yet in Slovenia.

A case of systemic cryptococcosis was diagnosed in a 3-year-old dog with neurological signs. Using histopathology we found meningitis, nephritis, bronchopneumonia, necrotic vasculitis in the myocardium and colitis caused by yeast morphologically consistent with *Cryptococcus*. *Cryptococcus neoformans* was isolated by mycological examination.

In an 8-year-old Alaskan malamute with neurological signs and pain in the lumbal region, we diagnosed systemic protothecosis. Histopathological examination revealed glomerulonephritis, hepatitis, panophthalmitis, cystitis and urethritis caused by algae morphologically consistent with *Prototheca* sp. *Prototheca zophi* was confirmed by mycological examination.

In two dogs, an 8-year-old Belgian shepherd and 2-year-old Labrador retriever, we observed subcutaneous nodules containing white filamentous parasites, measuring 11 cm, which were determined as *Dirofilaria repens*.

Severe chronic eosinophilic inflammation and parasites were observed in an incisional biopsy of the eyelid from a cow. Considering the location and morphological characteristics, the parasites most likely belonged to the genus *Thelazia* sp.

The described cases are extremely rare and only sporadic in Slovenia, but they deserve our attention, since they can be easily overlooked due to their rarity and sporadic occurrence.

Key words: Pathology; cryptococcosis; protothecosis; *Dirofilaria repens*; *Thelazia* sp.

Primer hondrodisplazije pri abortiranem žrebetu

Jana Brankovič^{1*}, Estera Pogorevc², Vasilij Cociancich³

¹ Inštitut za predklinične vede, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³ Nacionalni veterinarski inštitut, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* jana.brankovic@vf.uni-lj.si

Hondrodisplazija je prirojena motnja v razvoju hrustanca za katero je značilna nesorazmerna pritlikavost. Pri različnih pasmah goveda poznamo več tipov te motnje, od katerih je najtežja (in največkrat letalna) oblika tip »bulldog«. Pri ostalih domačih živalih se hondrodisplazija pojavlja redkeje. Kobilica slovenske hladnokrvne pasme je v 9 mesecu brejosti zvrгла žrebe ženskega spola (teža 15 kg) z displazijo viscerokranija (močno skrajšanje zgornje čeljusti, nepopolna palatoshiza), velikim in okroglim nevrokranijem, enostranskim eksoftalmusom, obsežnim trebuhom in kratkimi okončinami. Slikanje z računalniško tomografijo (CT) je pokazalo motnje v rasti in okostenevanju obraznih kosti, leve spodnje čeljusti in vseh kosti okončin. Pri vzdolžnem prerezu stegnenice in golenice smo ugotovili kratko diafizo z neenakomerno zadebeljeno scelno kostnino v osrednjem delu diafize. Epifize so bile slabo razvite, nepravilnih oblik, stanjšane ter sestavljene iz hialinega hrustanca (mirujoči in hipertrofirani hondrociti) in hrustančnih žilnih kanalov brez znakov okostenevanja. Arhitektura epifiznega rastnega hrustanca z značilno razporeditvijo con ni bila vzpostavljena. V coni osifikacije in razgradnje ter v gobasti kostnini diafize so bili v kalcinirani hrustančni medceličnini mešanih kostnih gredic še vedno prisotne manjše skupine hipertrofiranih hondrocitov obkrožene z osteociti. Opisane motnje enhondralne osifikacije, ki omogoča rast kosti v dolžino, je povzročila močno skrajšanje dolgih kosti okončin. Na podlagi teh opažanj zaključujemo, da je imelo žrebe hondrodisplazijo tipa »bulldog«, ki je prvi opisani primer te motnje pri konju v Sloveniji.

Ključne besede: Hondrodisplazija; konj; epifizni rastni hrustanec

Chondrodysplasia of a horse (aborted foal): a case report in Slovenia

Chondrodysplasia is an inherited disorder of cartilage development, which is characterized by disproportionate dwarfism. Several forms were reported in different breeds of cattle including the »bulldog« type as the most severe one. The disorder was rarely observed among other domestic animals. Slovenian Cold-Blooded mare aborted at approximately 9 months of gestation a female foal (weight 15 kg) with dysplasia of viscerocranium (severe superior brachygnathism, cleft palate), large and round neurocranium, unilateral exophthalmos, broad abdomen and short limbs. CT scanning demonstrated ossification and growth disorders in facial bones, left mandible and appendicular skeleton. Longitudinal sections of femur and tibia revealed short diaphysis with ununiformly thickened cortical bone at mid-diaphysis. Epiphyses were poorly developed, irregularly shaped, very thin and composed of hyaline cartilage (inactive and hypertrophied chondrocytes) and blood vessels with no secondary ossification. Architecture of epiphyseal growth plate with characteristic growth zone alignment was not established. In the zone of ossification and in the trabecular bone of diaphysis, small groups of chondrocytes surrounded by osteocytes were still visible in the calcified cartilage spicules. The described disorder in endochondral ossification that enables longitudinal bone growth caused major shortening of long bones in limbs. Based on these observations, we conclude that the foal suffered from lethal »bulldog« type of chondrodysplasia. This paper is the first report of this disorder in a horse in Slovenia.

Key words: Chondrodysplasias; horse; epiphyseal growth plate

Izbruh salmoneloze pri domačih prašičih

Špela Vidrih¹, Tomislav Paller^{1*}, Vasilij Cociancich¹

¹ Nacionalni veterinarski inštitut, Enota Ljubljana, Gerbičeva ul. 60, 1000 Ljubljana

* Tomislav.Paller@vf.uni-lj.si

Salmonele so odporne, ubikvitarne bakterije, ki lahko pri prašičih povzročijo salmonelozo, ki se izrazi v klinični obliki, ali pa ostanejo le subklinični izločevalci bakterij v okolico. Od 2500 do danes znanih serovarov salmonel, povzročita pri prašičih klinično obliko salmoneloze le dva serovara, in sicer *S. choleraesuis*, ki jo najdemo le pri prašičih, ter *S. typhimurium*, ki najdemo pri različnih gostiteljih. *S. choleraesuis* povzroča predvsem septikemično obliko salmoneloze pri mladih in odraslih prašičih. Pri salmonelozi zaradi *S. typhimurium* pa se pojavlja difteroidno vnetje črevesja, ki je vezano predvsem na kategorijo pitancev. Ob enem pa sta oba serovara patogeni tudi za človeka. Salmoneloza je pomembna zoonoza, ki se prenaša s kontaminiranimi živili živalskega izvora in je zaradi potrebnih ukrepov po potrditvi bolezni, vzrok velikih ekonomskih škod v rejah živalih.

Od avgusta 2018 do septembra 2018 je bilo, v okviru zagotavljanja sistema zgodnjega odkrivanja bolezni, na območju Dolenjske in Ljubljanske regije potrjenih pet primerov salmoneloze pri domačih prašičih na štirih različnih prašičjerejskih gospodarstvih. Pri prašičih je bila opravljena raztelesba in bakteriološka preiskava vzorcev parenhimskih organov in črevesja. Pri treh od petih primerov smo opravili patohistološko preiskavo organov. V dveh primerih je bila s klasično bakteriološko preiskavo iz parenhimskih organov izolirana *Salmonella sp.*, ki je bila po metodi White-Kauffman-Le Minor serotipizirana kot *S. choleraesuis*. V dveh primerih je bila z enakimi metodami iz parenhimskih organov in črevesja izolirana in serotipizirana *S. typhimurium*, v enem primeru od petih pa sta bili iz parenhimskih organov in črevesja potrjeni *S. choleraesuis* in *S. typhimurium*.

Vsi potrjeni primeri so bili sporočeni pristojnemu območnemu uradu nadzornega organa, ki je na okuženih prašičjerejskih gospodarstvih izvedel ukrepe, skladne z veljavno zakonodajo.

Ključne besede: *Salmonella sp.*, salmoneloza, prašiči

Outbreak of Salmonellosis in domestic pigs

Salmonellae are resilient and ubiquitous bacteria. They can cause two forms of infection in pigs: clinical or subclinical, where pigs only shed the bacteria in faeces. Out of 2500 salmonella serotypes, there are just two, which can cause actual clinical manifestation of salmonellosis in pigs. The first one is *S. choleraesuis*, which mostly causes septicemia in young and adult pigs, and the second is *S. typhimurium*, which causes enterocolitis in reared pigs. At the same time both of them are pathogenic for humans. Salmonellosis is one of the most important food-borne zoonotic diseases and has a great economic impact in meat producing farms.

Five cases of salmonellosis in domestic pigs in the Dolenjska and Ljubljana region were confirmed between August 2018 and September 2018, as part of early detection system. Necropsy of five pigs was performed and samples of lungs, livers, spleens and intestines were sent for bacterial isolation and determination. Three out of five cases were also submitted for histopathological examination. In two cases *S. choleraesuis* was serotyped, in the other two cases *S. typhimurium* was serotyped and in one case both *S. choleraesuis* and *S. typhimurium* were serotyped all by using the White-Kauffman-Le Minor method.

The local veterinary administration office was informed about the outbreak and they carried out measures in accordance with current legislation.

Key words: *Salmonella sp.*, salmonellosis, pigs

Kužni metritis kopitarjev zahteva stalno pozornost

Irena Zdovc^{1*}, Majda Golob¹, Maja Zakošek Pipan², Janko Mrkun²

¹ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, UL, Ljubljana, Slovenija, ² Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, UL, Ljubljana, Slovenija

Kužni metritis kopitarjev je nalezljiva spolna bolezen, ki povzroči gnojno vnetje reprodukcijskih organov pri kobilah. Povzročitelj bolezni je bakterija *Taylorella equigenitalis*, po Gramu negativni kokobacil iz družine Alcaligenaceae in je ena izmed dveh vrst v rodu. Bolezen prizadene le kobile, kolonizacija žrebcev pa poteka asptomatsko in bakterija predstavlja le del mikrobiote na sluznici in koži zunanjih spolovil. Okužene kobile so lahko začasno neplodne, po ozdravitvi pa so lahko trajni izločevalci povzročitelja. Največje tveganje za prenos bolezni je direktni stik med okuženo kobilo oz. koloniziranim žrebcom med naravnim pripustom ali prenos povzročitelja s kontaminiranim semenom. Počasi rastočo bakterijo lahko izoliramo s predilekcijskih mest žrebcev in kobil z uporabo posebnih gojišč in v pravilnih atmosferskih pogojih, nato pa potrdimo z ustreznimi identifikacijskimi metodami. V Sloveniji bolezen nadziramo z rednimi pregledi žrebcev ob koncu plemenilne sezone, kar se je izkazalo za zelo učinkovito, saj je število pozitivnih živali razmeroma redko.

Ključne besede: Reprodukcijska, kužni metritis kopitarjev, *Taylorella equigenitalis*

Uvod

Nalezljivi metritis kobil oz. kužno vnetje maternice kopitarjev (CEM) je nalezljiva spolna bolezen, ki povzroči pri kobilah akutno vnetje maternice z obilnim sluzastognojnim izcedkom. Ta se pojavi največkrat 8-10 dni po okužbi (običajno po pripustu) in traja 13-17 dni. Povzročitelj bolezni pri konjih je bakterija *Taylorella equigenitalis*, pri oslih pa sorodna bakterija *Taylorella asinigenitalis*. CEM je bolezen, ki praviloma ne vpliva na splošno zdravstveno stanje živali, ampak povzroči spremembe samo na spolovilih samic.

Bolezen se najpogosteje prenaša s spolnim kontaktom ob pripustu neodkritih okuženih živali. Največjo nevarnost predstavlja neodkrit koloniziran plemenjak, ki v plemenilni sezoni lahko prenese povzročitelja na večje število kobil. Žrebeta se lahko okužijo od matere ob porodu. Poleg neposrednega stika je mogoč prenos tudi posredno s kontaminiranimi instrumenti in opremo. Prav tako je možen prenos pri umetnem osemenjevanju s kontaminiranim semenom. Kolonizirani žrebci ne kažejo nikakršnih kliničnih znakov. Pri kobilah pa se klinični znaki pojavijo 10 do 14 dni po pripustu z okuženim žrebcom in se lahko kaže s skrajšanjem pojava ciklusa in sluzastognojnim izcedkom. Vnetna reakcija v maternici in nožnici se pojavi že 24 ur po vnosu mikroba in se stopnjuje do 10. - 14. dneva. Poleg okuženih žrebcev so najbolj nevarne kolonizirane kobile, pri katerih ni kliničnih znakov bolezni in lahko prenašajo bolezen še dolgo časa naprej. Povzročitelj pri kobilah namreč lahko perzistira na sluznici klitorisa več let. Najpogosteje so zaznavne plodnostne motnje v obliki pregonitev, podaljšanih pojatev in skrajšanih ciklusov, v redkih primerih tudi abortirajo. Okužene kobile pa lahko tudi normalno žrebijo in med porodom prenesejo okužbo na žrebeta.

Materiali in metode

Uradno priznana metoda je gojiščna preiskava za ugotavljanje bakterije *Taylorella equigenitalis* na čokoladnem agarju. Za uspešno laboratorijsko preiskavo je izjemno pomemben pravilen odvzem vzorcev z določenih predpisanih mest na sluznicah spolovil in pravočasna dostava v laboratorij. Vzorce vzamemo s sterilnimi vatiranimi paličkami in jih najkasneje v 10 minutah prestavimo v transportno gojišče (Amies), ki vsebuje aktivno oglje za nevtralizacijo presnovnih produktov bakterij. Tako pripravljene vzorce shranimo pri 4°C in jih najkasneje v 24 urah dostavimo v laboratorij. Inkubacija poteka pri temperaturi 37°C v okolju s 5-10% CO₂. Običajno ta postopek traja 7 dni.

Dolg čas transporta vzorcev, neustrezna temperatura, dolgo hranjenje vzorca in predhodno zdravljenje živali z antibiotiki lahko neugodno vplivajo na preživetje povzročitelja, kar ima lahko za posledico lažen negativen rezultat.

Zaradi spremenljive dinamike izločanja povzročitelja je za zanesljivo diagnostiko potrebno vzeti vzorce za bakteriološko preiskavo z vseh predpisanih mest in čez 7 dni odvzem ponoviti. Ker so žrebci le kolonizirani (ne okuženi) je število bakterij na predilekcijskih mestih precej spremenljivo. Z dvakratnim odvzemom brisov s treh mest povečamo možnosti, da bomo izolirali bakterijo *T. equigenitalis*. Žival ocenimo kot pozitivno, če je bila izolirana *T. equigenitalis* vsaj iz enega mesta ob prvem in/ali drugem vzorčenju.

V diagnostiki se uveljavljajo tudi molekularne metode, ki se sicer uporabljajo predvsem v raziskovalne namene, lahko pa tudi za rutinsko diagnostiko. Uporabne so za ugotavljanje *T. equigenitalis* neposredno v vzorcih in za potrjevanje izoliranih sevov.

Rezultati

V Sloveniji je bila bolezen prvič ugotovljena leta 1981, ko je bila potrjena z izolacijo povzročitelja (Mehle in sod.). Ponovno se je v manjšem obsegu pojavila leta 1983, kasneje se je pojavljala sporadično, od leta 2000 pa je število pozitivnih primerov večje. Največje število okuženih žrebcev smo zabeležili v letih 2006 in 2007, ko smo prvič ugotovili okužbo tudi pri živalih, ki se še niso uporabljale za pripust. Podoben izbruh so zabeležili tudi v sosednji Avstriji, vendar primera nismo mogli povezati z našim, ker avstrijski laboratorij ni bil pripravljen sodelovati pri epizootiološki študiji. Temu je sledil razširjen način testiranja – v kontrolo so bili vključeni tudi mlajši žrebci, pred vključitvijo v čredo plemenjakov. Rezultati tega poostrenega nadzora so se izkazali kot zelo učinkoviti, saj se je od takrat število pozitivnih živali na področju RS zelo znižalo. V zadnjih nekaj letih je število okuženih živali sorazmerno nizko (0-5 primerov letno). V letu 2014 so bili zabeleženi 3 primeri (pozitivna žrebca in kobila). V tabeli 1 kronološko predstavljamo število opravljenih preiskav na CEM. V letu 2013 se je število preiskav pri žrebcih znižalo zaradi neodzivnosti rejcev na vsakoletno akcijo »CEM«, preostali del žrebcev je bil preiskan na to bolezen v začetku leta 2014, po pričetku pripustne sezone

Tabela 1: Število prijavljenih primerov CEM v Evropi od 2009-2017 (poročilo Anses, EURL reference laboratory for equine diseases, 2017)

Država	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Slovenia	4	1	1	0	5 (na istem gospodarstvu)	3 (na 2 gospodarstvih)	3 (na istem gospodarstvu)	2 (na istem gospodarstvu)	0
Skupaj v EU	62	51	57	42	46	≥ 70	36	≥ 55	≥ 120

Razprava

Obolevnost za CEM je zelo visoka saj se večina kobil, ki so pripuščene z okuženim žrebcom, tudi okuži. Pri večini okuženih kobil ni opaziti izrazitih specifičnih kliničnih znakov. Take kobile predstavljajo veliko nevarnost za prenos bolezni, ker se velikokrat rejci zaradi slabe plodnosti odločijo za zamenjavo žrebca. Ker pri tej bolezni ni imunskega odziva se kobile, ki so bolezen prebolele, lahko v kratkem času ponovno okužijo. Prva okužba pri kobili se kaže z najbolj izrazitimi kliničnimi znaki, medtem ko se pri nadaljnjih okužbah izrazitost kliničnih znakov zmanjšuje, kar seveda zmanjšuje tudi možnost pravočasnega odkrivanja bolezni in s tem preprečevanja prenosa. V literaturi ni opisan noben primer pogina zaradi omenjene bolezni.

Reference

1. Zdovc I, Ocepek M, Gruntar I, Pate M, Klobucar I, Krt B. Prevalence of *Taylorella equigenitalis* infection in stallions in Slovenia: bacteriology compared with PCR examination. *Equine Vet J.* 2005; 37(3): 217-21.
2. 2016-2017 Scientific Programme of the European Union Reference Laboratory for Equine Diseases, Anses, 2015.

Contagious equine metritis require permanent attention

Contagious equine metritis (CEM) is an inflammatory disease of the reproductive tract of the mare caused by *Taylorella equigenitalis*. Bacterium is gram-negative coccobacillus belongs to the Alcaligenaceae family and is one of two species in the genus *Taylorella*. It is only known to infect equide females, and colonization in males is asymptomatic with bacteria co-existing among normal mucous membrane and skin flora. Disease often results in temporary infertility, infected animals are usually completely cured, but remain permanent excipients of the causative agent. The highest risk for the transmission of *Taylorella equigenitalis* from the infected mare or contaminated stallion presents direct venereal contact during natural mating or artificial insemination by infective semen. The fastidious slow growing organism can be isolated from colonisation sites of stallions and mares, using the special media, correct atmospheric conditions and confirmed by appropriate identification methods. In Slovenia, the disease is controlled by examination of stallions at the end of the breeding season. The results of regular surveillance have proved to be very effective since the number of positive animals is relatively low.

Key words: Reproduction, contagious equine metritis, *Taylorella equigenitalis*

Infekciozni metritis kobil (CEM) – dekolonizacija žrebcev in zdravljenje kobil

Maja Zakošek Pipan^{1*}, Janko Mrkun¹, Irena Zdovc², Nataša Šterbenc¹

¹ Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

CEM je zelo nalezljiva bolezen, ki se pri kobilah odraža v obliki metritisa in povzroča prehodno neplodnost. Okuženi žrebci, ki ne kažejo kliničnih znakov so prenašalci bolezni, zaradi česar se CEM med kopitarji izredno hitro širi. Bolezen se v Sloveniji letno kontrolira pri plemenskih žrebcih pred vsako plemenilno sezono. Vsako leto se med rednim monitoringom bolezni diagnosticira posamezne pozitivne primere, večje število okuženih žrebcev pa smo potrdili v letih 2006, 2007 in ponovno leta 2018. Potrditev bolezni pri večjem številu žrebcev je sprožila obsežno regulativno preiskavo. Dodatno se je pregledalo živali, ki so bile v stiku z okuženimi žrebci, določil se je obseg in možni vir izbruha, ter končna dekolonizacija žrebcev in zdravljenje kobil, pozitivnih na bakterijo. Dekolonizacija žrebcev se je v preteklih letih že izkazala kot zelo učinkovita metoda. Zunanja splovila pozitivnih žrebcev se temeljito očisti z najmanj 2 % klorheksidinom, ob zaključku čiščenja se na zunanja spolovila nanese lokalno antibiotično mazilo Kobaktan (občutljivost se je določila na podlagi antibiograma), ki se ga uporablja za zdravljenje mastitisa. Zdravljenje se izvaja 5 zaporednih dni. Kobaktan je izredno učinkovit, saj zaradi dobrega oprijema na površini zunanjih spolovil dolgo učinkuje. Pri pozitivnih kobilah se izvaja enak program zdravljenja okužbe klitoris. Okužbo maternice se zdravi z izpiranjem in lokalno aplikacijo antibiotika Gentamicina, prav tako 5 zaporednih dni. 14 dni po končanem zdravljenju se žrebce in kobile ponovno testira (trikrat v razmaku teden dni). Večina živali je negativna po prvi, vse pa po drugi dekolonizaciji/zdravljenju. Za nadzor bolezni sta pomembni tako diagnostika kot zdravljenje.

Ključne besede: *Taylorella equigenitalis*; CEM; zdravljenje

Contagious equine metritis (CEM) – decolonization of stallions and treatment of mares

CEM is highly contagious disease of mares causing metritis and temporal infertility. Since stallions are usually asymptomatic carriers, without clinical signs of disease CEM can be spread quickly and widely. During regular screening of stallions in Slovenia before breeding season the higher number of positive stallions was noticed in the years 2006/2007 and again in 2018. This finding triggered an extensive regulatory investigation to search for additional positive animals, determine the extent of the outbreak, identify the potential source of the outbreak, and ultimately decolonize stallions and treat mares that are positive for the bacterium. Decolonization of stallions has been very effective in Slovenia in the past. The external genitalia of stallions found culture positive on a pre-breeding sample were scrubbed with not less than 2% chlorhexidine followed by topical application of Cobactan antibiotic ointment (susceptibility was determined by antibiogram) used for mastitis treatment for at least 5 consecutive days. Mastitis ointments are very effective since they are greasy and stick on the surface of external genitalia. In mares that tested positive the same protocol was used to treat the infection in clitoris. Uterus was flushed and local application of gentamycin for at least 5 consecutive days applied. Stallions and mares were then retested three times (each test one week apart) not sooner than 14 days after the last treatment. Most of them were negative after the first decolonization/treatment and all of them tested negative after the second decolonization/treatment. Screening and treatment are important to control the disease.

Key words: *Taylorella equigenitalis*; CEM; treatment

Zaključna faza izkoreninjanja stekline znotraj Evropske Unije

Peter Hostnik, Ivan Toplak, Danijela Rihtarič, Jedrt Maurer Wernig*

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

*Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Dunajska 22, Ljubljana, Slovenija

peter.hostnik@vf.uni-lj.si

Steklina je bolezen zaradi katere po svetu letno umre še vedno okrog 70.000 ljudi. Preventivno cepljenje je eden od učinkovitih ukrepov preprečevanja pojava te bolezni tako pri ljudeh kot živalih. S pojavom stekline znotraj populacije divjih živali so v poznih 70-tih letih prejšnjega stoletja pričeli to bolezen zatirati z metodo peroralnega cepljenja lisic. Ob sofinanciranju programa peroralnega cepljenja lisic iz strani Evropske Unije se je temu vseevropskemu projektu v letu 1988, najprej parcialno, od leta 1995 dalje pa na celotnem področju priključila tudi Slovenija. Izvajanje programa koordinira Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin (UVHVVR). V letu 2017 so znotraj držav Evropske unije potrdili le 9 primerov stekline, od tega dva primera steklega psa, ki sta bila v Španijo pripeljana iz Maroka. V Sloveniji smo zadnji primer stekline, povzročen z divjejem sevom virusa ugotovili leta 2013. Evropa si je zastavila cilj, da bo od leta 2020 naprej to območje brez stekline.

Ključne besede: steklina; peroralno cepljenje lisic; Evropa

Uvod

Steklina je ena od prvih opisanih zoonoz in je bila z izjemo Antarktike prisotna povsod po svetu. Povzročitelj je virus, uvrščen v družino *Rhabdoviridae*. Mednarodni komite za klasifikacijo virusov uvršča v rod *Lyssavirus* 16 različnih vrst virusov stekline. Klasičen virus stekline, ki tudi povzroča silvatično obliko stekline, je tako uvrščen v vrsto Rabies *Lyssavirus* za katero je značilno, da ima v naravi najširši spekter gostiteljev, primarni gostitelji pa so domače ali divje mesojede živali. Ostale vrste so primarno prisotne v populacijah netopirjev. Do preskoka na drugo vrsto živali ali človeka pa pride razmeroma redko (1). Od 95 do 99% primerov stekline pri ljudeh je posledica ugriza iz strani mesojedih živali. V Evropi so v preteklosti steklino najpogosteje ugotavljali v populacijah psov, vendar so jo z uvedbo splošnega cepljenja uspeli izkoreniniti. Virus se je v 40 letih prejšnjega stoletja prilagodil na populacijo lisic, tako da se je ta silvatična oblika stekline s to vrsto ponovno razširila praktično po celi Evropi. Izkazalo se je, da je peroralno cepljenje lisic edina uspešna metoda s katero je mogoče bolezen izkoreniniti znotraj populacije divjih živali. Število ugotovljenih primerov stekline po uvedbi programa znotraj držav EU je drastično upadlo, leta 1990 so potrdili 21.023 pozitivnih primerov, leta 2002 le 9.834. Za cepljenje lisic v Evropi uporabljajo različna cepiva, zdaleč največ se uporabljajo cepiva, ki vsebujejo cepni sev SAD (Street Alabama Dufferin) kot na primer sta SAD B19 in SAD Berne. V Sloveniji so prvi pilotni projekt peroralnega cepljenja lisic pričeli izvajati leta 1988, v letu 1995 pa so pričeli z večletnim programom 2x letnega polaganja vab s cepivom, ki zajema celoten teritorij države. V po prvotnem načrtu izrinjanja stekline iz zahoda proti vzhodu je tako Evropi že večina držav v katerih je steklina bila prisotna uspela to bolezen izkoreniniti. Uradno priznanje statusa države proste stekline so pridobile tudi baltske države in Slovenija. S posameznimi sporadičnimi primeri pa se temu cilju približujejo tudi druge države ob vzhodni meji EU.

Materiali in metode

Podatke o pojavnosti stekline v Evropi smo pridobili iz bazi podatkov WHO Rabies Bulletin Europe (2). V obravnavo nismo vključili netopirskih vrst vzorcev niti vzorcev pri katerih je bil ugotovljen cepni virus stekline.

Rezultati

Zahodno evropske in skandinavske države so silvatično obliko že izkoreninile, posamezni primeri stekline pa so bili potrjeni še v nekaterih vzhodnoevropskih članicah EU. V letu 2017 pa so stekline znotraj EU potrdili le še dva pozitivna primera na Poljskem, tri na Madžarskem, dva v Romuniji in en primer stekline vnesen z ilegalnim transportom psa iz okuženega območja izven EU.

Tabela 1: Prikaz pojavnosti silvatične stekline v državah EU, ki niso pred letom 2017 razglasile statusa proste stekline in državah, ki vzhodno in jugovzhodno mejijo na EU.

	2015		2016		2017	
	pos	neg	pos	neg	pos	neg
Bolgarija*	0	2474	0	1013	0	2668
Hrvaška*	0	7339	0	4898	0	1685
Litva*	2	206	0	1231	0	939
Madžarska*	0	3859	0	1942	3	4014
Poljska*	93	16598	16	14998	2	8394
Romunija*	28	722	14	869	2	911
Slovaška*	2	2132	0	14148	0	1973
Španija*	6	111	2	132	2	109
Albanija	0	2	0	1	0	0
Belorusija	230	829	251	381	ND	ND
BiH	0	832	0	491	0	40
Gruzija	102	379	53	313	40	373
Kosovo	0	220	0	ND	0	2
Makedonija	0	12	0	ND	0	ND
Moldavija	169	60	41	26	58	121
Rusija	3377	ND	1779	ND	1794	ND
Srbija	3	404	4	223	1	770
Turčija	563	824	419	852	485	978
Ukrajina	1442	ND	1353	ND	1649	ND
Skupno	6017	37003	3928	26520	4035	22977

Razprava

Cilj EU je izkoreninjenje stekline do leta 2020. Države kot so Avstrija, Belgija, Češka, Estonija, Finska, Francija, Nemčija, Italija, Luksenburg, Latvija, Švica, Nizozemska in Slovenija so na ta način že proglasile status države proste stekline, preostale, vključno z državami nekdanje Jugoslavije, pa se temu cilju tudi ob finančni pomoči EU približujejo. Poznani so primeri pojava novih žarišč stekline na območjih, kjer so stekline predhodno že izkoreninili. V Italiji se je po desetih letih statusa brez stekline bolezni leta 2008 ponovno pojavila. Potrebovali so tri leta in jo uspešno izkoreninili. Med zadnjimi je poznan primer iz Madžarske, ko se je na območju brez stekline pojavil sev, ki je genetsko najbližji sevom iz Romunije (3). Poročila o pojavnosti stekline v obmejnih državah Evropske unije kažejo, da monitoringi ne sledijo OIE priporočilu (4 lisice /100km²), bolezen je tu še vedno prisotna, ne samo med divjimi živalmi tudi med populacijo psov. Petdeset kilometrski cepni pas, ki pokriva vzhodno mejo EU in sega od Finske pa do Grčije, bo tudi v bodoče branik pred vnosom stekline po naravni migracijski poti steklih živali iz okuženega območja vzhodne Evrope v območje EU. Rezultati kažejo, da je stekline mogoče izkoreniniti v obdobju od 5 do 6 let, pod pogojem preprečevanja vnosa stekline iz okuženih območij, kar pa zahteva intenzivno meddržavno sodelovanje in koordinacijo dela. Države znotraj EU, ki so stekline izkoreninile, so za to v povprečju potrebovale 14 let (od 5 do 26). Različne experimentalne študije za cepni sev SAD kažejo rezidualno patogenost po intracerebralni aplikaciji pri glodavcih, skunkih in opicah, ne pa tudi pri lisicah (3). Široka uporaba cepiva v praksi je pokazala, da se na teritoriju izvajanja peroralnega cepljenja lisic pojavljajo posamezni primeri stekline, ki jo povzroči cepni virus. Literatura poroča o nekaj takšnih primerih, kot na primer iz področja Avstrije in Nemčije. V letu 2010 je EU finančno podprla izvajanje programa peroralnega cepljenja lisic tudi v državah nekdanje Jugoslavije in s tem zmanjšala možnost vnosa bolezni v sosednje države članice EU. Primere stekline, ki jih povzroči cepni sev SAD B19 smo potrdili tudi v Sloveniji, do sedaj enega pri kuni in tri primere pri lisicah. V Sloveniji smo zadnji primer stekline povzročene s silvatičnim sevom potrdili leta 2013. V naslednjih dveh letih nismo zabeležili novih primerov zato je Slovenija dobila pravico do razglasitve, da je prosta stekline. V letu 2018 smo v možganih mlade lisice potrdili zadnji primer prisotnosti cepnega virusa stekline, ki je pripadal sevu SAD B19. Ni dokazano, da bi žival, ki zbolí za stekline zaradi cepnega seva SAD izločala virus tudi s slino in na ta način potencialno širila okužbo na neokužene živali, zato ti posamični pojavi cepne stekline ne vlivajo na pridobljen status. UVHVVR se

je odločila se bo v bodoče za oralno vakcinacijo lisic uporabljajo cepivo s cenim sevom nove generacije sev SPBN GASGAS.

Reference

1. J. Bingham, C.M. Foggin, H. Gerber, F.W. Hill, A. Kappeler, A.A. King., *et al.* Pathogenicity of SAD rabies vaccine given orally in chacma baboons (*Papio ursinus*). *Vet Rec*, 131 (1992), pp. 55-56
2. Freuling C, Kloess D, Schröder R, Kliemt A, Müller T. 2013. The WHO Rabies Bulletin Europe: a key source of information on rabies and a pivotal tool for surveillance and epidemiology. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 31, 799–807).
3. Hornyák Á, Juhász T, Forró B, Kecskeméti S, Bányai K. Resurgence of rabies in Hungary during 2013-2014: An attempt to track the origin of identified strains. *Transbound Emerg Dis.* 2018 Feb;65(1):e14-e24. doi: 10.1111/tbed.12658. Epub 2017 May 11
4. Vos A, Neubert A, Aylan O, Schuster P, Pommerening E, Muller T, Chai Chivatsi D (1999) An update on safety studies of SAD B19 rabies virus vaccine in target and non-target species. *Epidemiol Infect* 123:165–175.

The final fase of the eradication of rabies within the European Union

Rabies is a disease which still causes almost 70 000 deaths per year. Preventive vaccination is an effective action with which the existence of the disease could be prevented in humans or animals. With the occurrence of rabies within a population of wild animals, the disease was ceased to be stopped in the late 1970's by perorally vaccinating foxes. With the European Union co-financing the program of perorally vaccinating foxes, Slovenia joined this project in 1988, only partially, and then from 1995 onwards the entire area of Slovenia. The carrying out of the program is coordinated by the Administration of the Republic of Slovenia for food safety, veterinary and plant protection (AFSVPP). In the year 2017 only 9 cases of rabies were found within the European Union, from which two cases was an infected dogs, which were brought to Spain from Marocco. The last case of rabies in Slovenia, inflicted by a wild virus, was recorded in 2013. Europe has set a goal for this to be a rabies-free area from 2020 onwards.

Key words: rabies; oral vaccination; Europe

Detekcija virusa Zahodnega Nila pri sivi vrani (*Corvus cornix*) v Sloveniji

Jožko Račnik^{1*‡}, Brigita Slavec^{1*‡}, Alenka Dovč¹, Zoran Žlabravec¹, Marko Zadavec¹, Tjaša Sernel¹, Uroš Krapež¹, Nina Mlakar Hrženjak¹, Renata Lindtner Knific¹, Olga Zorman Rojs¹

¹ Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* Odgovorna avtorja, e-mail:josko.racnik@vf.uni-lj.si; brigita.slavec@vf.uni-lj.si

‡avtorja sta enakovredno prispevala k raziskavi

V preteklosti smo pri pticah v Sloveniji zaznali prisotnost virusa Zahodnega Nila (WNV) na podlagi seroloških raziskav. Protitelesa proti WNV smo ugotovili pri pticah pevkah in prostoživečih domačih golobih (1,2,3). Cilj dela: Stalni klinični monitoring prostoživečih ptic na pojav bolezni Zahodnega Nila v Sloveniji. Klinični primer: V septembru 2018 smo na Kliniki za ptice, male sesalce in plazilce, VF klinično pregledali sivo vrano (*Corvus Cornix*). Siva vrana je bila oslabela, imela je motnje v usklajenosti gibov, ni bila zmožna leteti in se ni odzivala na zunanje dražljaje. Na podlagi kliničnih znakov, hitrega napredovanja bolezni, suma ter epidemioloških podatkov o prisotnosti WNV v sosednjih državah, smo se odločili sivo vrano neboleče usmrtiti. Pred usmrtitvijo smo ji odvzeli kri, bris kloake in orofarinksa, pri patoanatomski preiskavi pa skupni vzorec organov (pljuča, jetra, vranica, možgani). V orofaringealnem in kloakalnem brisu ter skupnem vzorcu organov smo z verižno reakcijo s polimerazo (2) dokazali nukleinsko kislino WNV. Ugotovljenih 618 nukleotidov dolgo zaporedje gena, ki kodira nestrukturni protein NS5 ima 100 % homologijo z WNV, ki so jih našli v krvi krvodajalca in pri dveh papigah vrste kea (*Nestor notabilis*) v Avstriji. Zaključki: Pri oboleli sivi vrani z znaki obolenja centralnega živčnega sistema smo dokazali okužbo WNV. Ugotovili smo, da WNV dokazan v Sloveniji spada v grupo centralno-južno evropejskih virusov pod linije 2d.

Ključne besede: virus Zahodnega Nila; WNV; siva vrana; polimerazna verižna reakcija

Reference

1. Račnik J. Epidemiological study of avian influenza and West Nile virus in birds in Slovenia, (PhD thesis). Ljubljana: University of Ljubljana; 2008.
2. Račnik J, Trilar T, Slavec B, Marhold C, Jelovšek A, Vergles Rataj A, Avšič Županc T, Zorman Rojs O. Study of some pathogens in living wild passerine birds captured during autumn migration in Slovenia. *Slov Vet Res.* 2011;48:Suppl13:146-9.
3. Račnik J, Zorman Rojs O, Trilar T, Jelovšek M, Duh D, Dovč A, Avšič Županc T. Demonstration of West Nile virus antibodies in wild birds in Slovenia. In: *Proceedings of 8th Symposium Poultry days 2009 with international participation.* Poreč, Croatia. 2009;69-71.
4. Weissenböck H, Kolodziejek J, Url A, Lussy H, Rebel-Bauder B, Nowotny N. Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2002 Jul;8(7):652-6.

West Nile Virus Detection in Free-Living Carrion Crow (*Corvus cornix*) in Slovenia

In Slovenia, the presence of West Nile virus (WNV) in birds was first reported on the basis of serological studies. Positive wild birds were found among songbirds and free-living domestic pigeons (1,2,3). Objective: To further clinically investigate and detect WNV in free-living birds in Slovenia. Clinical case: A carrion crow was presented with clinical signs involving central nervous system to the Clinic of Birds, small mammals and Reptiles, VF. The bird was weak, uncoordinated, unable to fly and had no reaction to external stimuli. Based on severity of clinical signs and epidemiological data on WNV presence in neighboring countries humane euthanasia was elected. During clinical examination blood samples, cloacal and pharyngeal swabs and at necropsy, pool of samples of lung, kidney, liver, spleen and brain was taken respectively. For the detection of WNV, a PCR that target a specific region of the gene coding NS5 protein was used (2). WNV was detected in pool of organs, cloacal and pharyngeal swabs of carrion crow. The 618 nucleotide long sequence has 100% homology with isolate obtained from blood donor and two keas (*Nestor notabilitor*) in Austria. Conclusions: In this study we report the detection of WNV in oropharyngeal, cloacal swabs and pool of organs in free-living carrion crow in Slovenia. Detected virus is genetically similar to WNVs circulating in Europe and belongs to the Central/Southern European cluster of WNV sub lineage 2d. Key words: West Nile virus, WNV, Carrion Crow, polymerase chain reaction

Ugotavljanje okužbe divjih prežvekovalcev z virusom Schmallerberg v Sloveniji

Gorazd Vengušt^{1*}, Diana Žele¹, Jernej Kmetec², Ivan Toplak³, Danijela Rihtarič³, Urška Kuhar³

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana

² MM Surgical, d.o.o., Galjevica 81, 1000 Ljubljana

³ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana

* gorazd.vengušt@vf.uni-lj.si

Virus Schmallerberg (SBV) spada v rod *Orthobunyavirus* iz družine Bunyaviridae. Prenašajo ga insekti iz rodu *Culicoides*. SBV so prvič dokazali leta 2011 v Nemčiji pri obolenem govedu z drisko, vročino in padcem mlečnosti. Okužba z virusom SBV je med leti 2011 in 2013 v Evropi povzročila izbruh bolezni, s klinično sliko deformiranih plodov ovac in goveda, medtem ko odrasle živali niso zbolele oziroma so bili klinični znaki komaj zaznavni. Namen naše raziskave je bil ugotoviti prisotnost SBV v populaciji divjih prežvekovalcev v Sloveniji. Odvzeli smo vzorce seruma in vranic 281 živali iz vrst srnjadi, jelenjadi, gamsa, kozoroga in muflona ob rednem letnem odstrelu ali patoanatomski sekciji. Za določanje serološko pozitivnih živali smo uporabili test ELISA. S testom RT-qPCR za dokaz virusa smo pregledali vranice serološko pozitivnih živali in serume serološko negativnih živali iz obdobja aktivnosti vektorjev. Z ELISA testom je bilo pozitivnih 18,5% ter sumljivih 4,6% vzorcev serumov. Vsi vzorci serumov in vranic so bili negativni na prisotnost virusa z RT-qPCR. Rezultati kažejo, da je virus krožil v populaciji prostoživečih prežvekovalcev v Sloveniji. Potrjena je bila tudi prisotnost serološko pozitivnih živali v starosti okoli enega leta, kar kaže na nedavno okužbo vendar pa je zaradi kratkotrajne prisotnosti virusa v organih in krvi le tega težko odkriti.

Ključne besede: Virus Schmallerberg, SBV, Divji prežvekovalci, ELISA, RT-qPCR

Detection of Schmallerberg virus infection in wild ruminants in Slovenia

Schmallerberg virus (SBV) is a vector-borne virus and belongs to the genus *Orthobunyavirus* within the family Bunyaviridae and affects domestic as well as wild ruminants. The virus was first identified in Germany in 2011 in dairy cattle showing diarrhea, fever and a drop in milk production. In Europe, from 2011 to 2013, SBV was responsible for a large outbreak of foetal deformities in lambs and calves with little or no disease in adult animals. The SBV is transmitted through widely distributed insect vector of the *Culicoides* genus. The aim of this study was to investigate if SBV is present in wild ruminant population in Slovenia. Serum and spleen samples from 281 animals, including roe deer, red deer, chamois, ibex and European muflon, collected in 2017-2018 during annual harvest or post-mortem examination were included in this study. Serum samples were tested with ELISA to detect the seropositive animals. Spleen samples from seropositive animals and serum samples from seronegative animals collected in the period with vector activity were tested for the presence of virus with the RT-qPCR. Altogether, 18.5% and 4.6% of serum samples tested positive and doubtful, respectively, with ELISA. All spleen and serum samples tested negative for the presence of virus with the RT-qPCR. These results clearly indicate that the virus was circulating in the wild ruminant population in Slovenia. There were also seropositive animals around 1 year old indicating a recent infection, but due to the short period of virus presence in organs and blood, the virus is difficult to detect

Key words: Schmallerberg Virus; SBV; Wild ruminants; ELISA; RT-qPCR

PRISPEVKI

Slikovne spremembe nadledvičnih žlez pri 40 psih

Maja Brložnik, Darja Pavlin, Aleksandra Domanjko Petrič

Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani

majabrloznik@gmail.com

V radiološki bazi podatkov zadnjih treh letih smo našli slikovno spremenjene nadledvične žleze pri 40 psih (30 samicah in 10 samcih). Najpogostejše smo ugotovili bilateralno adrenomegalijo ter unilateralne novotvorbe. Najpogostejša pasma je bila zahodnovišavski beli terier (9 živali). Psi so bili stari od 1 do 17 let (povprečje $10,3 \pm 3,5$ let). Oba psa z zmanjšano velikostjo nadledvičnih žlez sta bila stara eno leto. Diagnozo hiperadrenokorticisma smo postavili v 9 primerih bilateralne adrenomegalije, 2 primerih unilateralne adrenomegalije in 3 primerih tumorja nadledvične žleze. Poleg treh slednjih so bili tumorji nadledvične žleze hormonsko aktivni še v 2 primerih, kjer smo diagnosticirali feokromocitom. Zmanjšana velikost nadledvičnih žlez je bila v obeh primerih skladna s hipoadrenokorticismom.

Ključne besede: Adrenalni žlezi; radiologija; ultrazvočna preiskava; CT preiskava; pes

Uvod

Nadledvični žlezi sta majhni parni dvo-režnjičasti strukturi, ki ležita kranio-medialno od ledvic; leva ob aorti in desna ob kavdalni veni kavi. Najpogostejše uporabljana slikovno-diagnostična metoda pregleda nadledvičnih žlez je ultrazvočna preiskava (UZ), v zadnjem času pa vse bolj tudi računalniška tomografija (CT preiskava). Rezultati pregleda nadledvičnih žlez z metodami slikovne diagnostike lahko podpirajo postavljeno diagnozo hipoadrenokorticisma ali hiperadrenokorticisma, lahko pomagajo pri razlikovanju hipofizno odvisnega (PDH) od adrenalno odvisnega hiperadrenokorticisma (ADH), ali pa predstavljajo slučajno najdbo, ki v času preiskave nima kliničnega pomena. Slikovni pregled nadledvičnih žlez ima v diagnostiki bolezni nadledvičnih žlez tudi pomanjklivosti. Rezultati ultrazvočnega pregleda so odvisni od izkušenj slikovnega diagnostika, kakovostnega razreda ultrazvočnega aparata, velikosti in kondicije psa, napolnjenosti črevesa s plinom, nemira živali ter morebitne bolečine ob pritisku s sondo. Nadalje, v nekaterih primerih nadledvičnih obolenj so velikost, oblika, ehogenost in ehostuktura adrenalk normalni in nasprotno, nekateri zdravi psi imajo nadledvični žlezi, ki sta večji od referenčnih vrednosti, nadledvični žlezi sta lahko spremenjeni zaradi druge bolezni, ali pa so lahko spremembe v času pregleda klinično nepomembne (1–3).

Materiali in metode

V radiološki bazi podatkov klinike za male živali veterinarske fakultete smo poiskali pse s slikovno spremenjenimi nadledvičnimi žlezami. Zanimali so nas spol, pasma, starost, napotni razlog, radiološke ugotovitve ter klinična slika.

Rezultati

V zadnjih treh letih smo ugotovili slikovno spremenjene nadledvične žleze pri 40 psih. Pri 32 psih smo spremembe ugotovili z UZ pregledom, pri 6 psih s CT preiskavo, pri 2 psih pa z UZ in s CT preiskavo. Najpogostejše smo ugotovili bilateralno adrenomegalijo (v 16 primerih oz. 40%) ter unilateralne tumorje (v 12 primerih oz. 30%), od katerih so v času slikovne preiskave 4 (10%) vraščali v kavdalno veno kavo, eden pa je bil vzrok za krvavitev. Redkeje smo ugotovili unilateralno adrenomegalijo (v 7 primerih oz. 17,5%), hiperehogene nodule (v 2 primerih oz. 5%), bilateralne tumorje (v 1 primeru oz. 2,5%) ter zmanjšano velikost nadledvičnih žlez (v 2 primerih oz. 5%). Med psi s slikovno spremenjenimi nadledvičnimi žlezami je bilo 16 psov (40%) brez kliničnih znakov in/ali laboratorijskih odstopanj, ki bi kazali na bolezen nadledvične žleze. Diagnozo hiperadrenokorticisma smo postavili

v 9 primerih bilateralne adrenomegalije, v 2 primerih unilateralne adrenomegalije in v 3 primerih mase nadledvične žleze. Poleg slednjih so bili tumorji nadledvične žleze hormonsko aktivni še v 2 primerih, ko smo diagnosticirali feokromocitom. Zmanjšana velikost nadledvičnih žlez je bila v obeh primerih skladna s hipoadrenokorticismom (Addisonovo boleznijo). Psi s slikovno spremenjenimi nadledvičnimi žlezami so bili stari od 1 do 17 let (povprečje $10,3 \pm 3,5$ let), oba psa z Addisonovo boleznijo sta bila stara 1 leto. Med psi s slikovno spremenjenimi adrenalkami je bilo 30 samic (75%) in 10 samcev (25%). Najpogostejše pasme so bile zahodnovišavski beli terier ($n=8$), mešanec ($n=8$) in maltežan ($n=4$). Najpogostejši napotni razlog za slikovno diagnostiko psov s spremenjenimi nadledvičnimi žlezami so bili nespecifični znaki bolezni (apatija, oslabelost, kolaps, bruhanje, driska) ali znaki hiperadrenokorticisma (poliurija-polidipsija, povečan trebuh, požrešnost, zvišani jetrni encimi). Najpogostejša sočasna slikovno-diagnostična najdba je bila hiperehogena hepatomegalija, ki je skladna s hiperadrenokorticismom. Nekatere UZ in CT podobe nadledvičnih žlez so prikazane na slikah 1–8.

Razprava

Normalne nadledvične žleze so ultrazvočno hipoehogene in dobro omejene. Vzporedno s kapsulo je v nekaterih primerih opazen tanek hiperehogen rob, ki predstavlja stičišče med skorjo in sredico (slika 1). Nadledvična žleza ima pri psu kranialni in kavdalni pol, preko njene sredine poteka frenikoabdominalna vena (slika 2). Leva nadledvična žleza je pri psu podolgovate oblike arašida (slika 1), desna pa trikotne oblike (slika 2); ima zguban kranialni pol ter podolgovat in zato lažje opazen kavdalni pol (1). Ultrazvočna velikost normalnih nadledvičnih žlez je odvisna od telesne mase psov; debelina normalnega kavdalnega pola nadledvične žleze v sagitalni ravnini meri pri psih do 10 kg < 5,4 mm, pri psih od 10 do 30 kg < 6,8 mm in pri psih nad 30 kg < 8 mm (3). S CT preiskavo je izgled leve nadledvične žleze podolgovat, izgled desne pa bolj okrogel. Volumen normalnih nadledvičnih žlez izmerjen s CT preiskavo je manjši od 0,8 cm³. Volumen leve adrenalke je pri zdravih psih večji od volumna desne adrenalke (2). CT velikost nadledvičnih žlez ni odvisna od telesne mase psov (4). Na nativnih CT posnetkih sta nadledvični žlezi mehko tkivne atenuacije, na CT preiskavi s kontrastnim sredstvom (slika 3) pa privzemata kontrast in sta približno atenuacije jeter (2).

Celice skorje nadledvične žleze proizvajajo kortizol in druge kortikoide (aldosteron, androgene, estrogene in progesterone), medtem ko celice sredice proizvajajo kateholamine. Klinični znaki bolezni nadledvične žleze so lahko nespecifični, kar smo ugotovili tudi v naših primerih psov s spremenjenimi nadledvičnimi žlezami. Poleg nespecifičnih znakov smo pogosto ugotovili tudi tipične znake hiperadrenokorticisma. Med psi z radiološko spremenjenimi nadledvičnimi žlezami je bilo 16 (40%) psov brez kliničnih znakov in/ali laboratorijskih odstopanj, ki bi kazali na bolezen nadledvične žleze. Adrenalne tumorje, ki jih odkrijemo slučajno imenujemo incidentalomi.

Hiperadrenokorticism ali Cushingova bolezen je ena najpogostejše diagnosticiranih endokrinopatij pri psih. Hipofizno odvisni hiperadrenokorticism oz. PDH se pojavlja pri 80% psov s Cushingovo boleznijo. V večini primerov PDH ugotovimo bilateralno simetrično adrenomegalijo, možni pa so pri PDH tudi unilateralna adrenomegalija, bilateralna nesimetrična adrenomegalija, noduli in mase (sliki 4 in 5). Več kot 20% psov s PDH nima povečanih nadledvičnih žlez, medtem ko ima lahko od 9 do 20% psov brez bolezni nadledvičnih žlez povečani adrenalni (1).

Novotvorbe nadledvičnih žlez (slika 6) lahko izvirajo iz adrenalne skorje (adenom, karcinom) ali sredice (feokromocitom, ganglionevrom) in ti so lahko funkcionalni (izločajo povečane količine enega ali več hormonov) ali nefunkcionalni. Drugi nefunkcionalni tumorji adrenalne skorje so še mielolipomi in teratomi. Metastaze v nadledvičnih žlezah se pojavljajo pri 20% pasjih novotvorb (2, 4, 5). Mase nadledvičnih žlez lahko vraščajo v lokalno žilje, kot smo opazili v 4 primerih naše raziskave (sliki 7 in 8). Nadalje, adrenalne mase lahko metastazirajo, lahko pa tudi počijo in so vzrok za intraabdominalno ali retroperitonealno krvavitev (2). V naših primerih smo ugotovili eno krvavitev mase nadledvične žleze. Karcinomi in adenomi so lahko mineralizirani in lahko vsebujejo cistična področja. Iz slikovnega izgleda tumorja nadledvične žleze ne moremo sklepati o tipu novotvorbe. Poleg tega, da lahko adenokarcinomi in feokromocitomi izgledajo podobno, lahko v masi ene adrenalke najdemo oba tipa tumorja (2).

Pri psih s hipoadrenokorticismom sta nadledvični žlezi zmanjšani, z UZ ugotovimo debelino pola < 3,2–3,4 mm (1, 2).

V naši raziskavi smo med 40 psi s spremenjenimi nadledvičnimi žlezami ugotovili 30 (75%) ženskih živali, kar je v nasprotju z raziskavo, ki vključuje 69 psov s spremenjenimi nadledvičnimi žlezami, kjer ugotavljajo, da ni spolne

predilekcije (4). Tudi pasme Zahodnovišavski beli terier, ki je bila najpogostejša med psi v naši raziskavi, ni med pasmami v prej omenjeni raziskavi (4).

Ultrazvočna preiskava in računalniška tomografija trebuha sta zelo uporabni v diagnostiki sprememb nadledvičnih žlez, tako vsaka zase, kakor tudi kot dopolnjujoči se metodi slikovne diagnostike v zahtevnejših in nejasnih primerih.

Reference

1. D'Anjou MA, Penninck D. Adrenal glands. In: Penninck D, d'Anjou Marc-André, eds. *Small Animal Ultrasonography*. 2nd ed. Iowa: Wiley Blackwell, 2015: 387–401.
2. Wisner E, Zwingenberger A. Adrenal gland. In: Wisner E, Zwingenberger A. *Atlas of small animal CT and MRI*. Iowa: Wiley Blackwell, 2015: 561–71.
3. Soulsby SN, Holland M, Hudson JA, Behrend EN. Ultrasonographic evaluation of adrenal gland size compared to body weight in normal dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2015; 56: 317–26.
4. Pagani E, Tursi M, Lorenzi C, et al. Ultrasonographic features of adrenal gland lesions in dogs can aid in diagnosis. *BMC Vet Res* 2016; 12: 267–75.
5. Baum JJ, Boston SE, Case JB. Prevalence of adrenal gland masses as incidental findings during abdominal computed tomography in dogs: 270 cases (2013-2014). *J Am Vet Med Assoc* 2016; 249: 1165–9.

Imaging findings of adrenal glands in 40 dogs

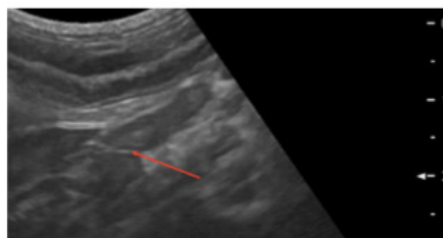
In the imaging database of the last three years imaging findings of adrenal glands were found in 40 dogs (30 females and 10 males). Bilateral adrenomegaly and unilateral neoplasia were most commonly diagnosed. Most common breed was West Highland White Terrier. Dogs were 1 to 17 years old (mean 10.3 ± 3.5 years). Both dogs with decreased size of adrenal glands were one year old. Diagnosis of hyperadrenocorticism was made in 9 cases of bilateral adrenomegaly, 2 cases of unilateral adrenomegaly and 3 cases of adrenal neoplasia. Beside the latter three, adrenal neoplasia was functional in additional 2 cases, where diagnosis of pheochromocytoma was made. Decreased size of adrenal glands was in both cases consistent with hypoadrenocorticism.

Key words: adrenal glands; radiology; ultrasonography; computed tomography; dog

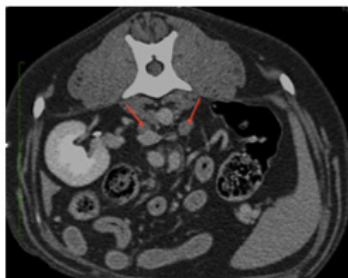
Slika 1: UZ, normalna leva adrenalna, hiperhogen rob med skorjo in sredico (puščica)



Slika 2: UZ, normalna desna adrenalna, frenikoabdominalna vena (puščica)



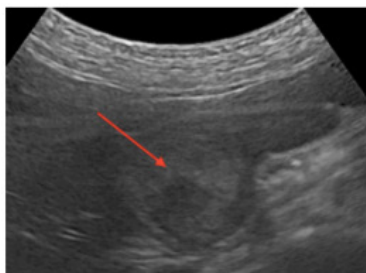
Slika 3: CT s kontrastom, normalni adrenalni (puščici)



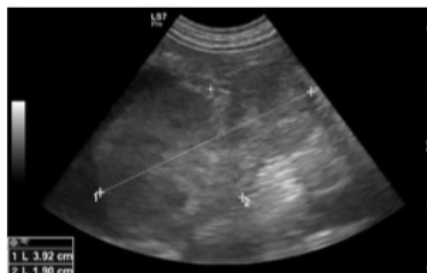
Slika 4: UZ, simetrična adrenomegalija



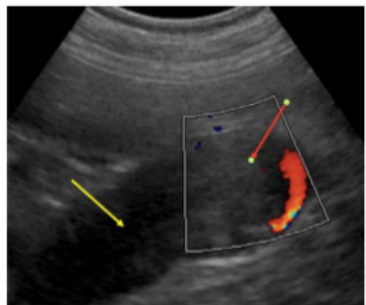
Slika 5: UZ, asimetrična adrenomegalija, povečan heterogen kranialni pol (puščica)



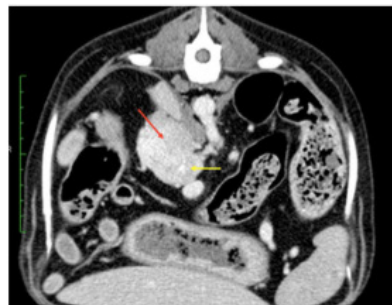
Slika 6: UZ, novotvorba desne nadledvične žleze



Slika 7: UZ, v kavdalni veni kavi (rumena puščica) je del novotvorbe (rdeča puščica)



Slika 8: CT s kontrastom, novotvorba desne adrenalke (rdeča puščica), ki vrašča v kavdalno veno kavo (rumena puščica)



Leptospiroza pri mačkah - mit ali realnost?

Nina Mlakar Hrzenjak^{1*}, Darja Pavlin², Renata Lindtner Knific¹

¹ Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Ljubljana, Slovenija, ² Klinika za male živali, Ljubljana, Slovenija

* nina.mlakar-hrzenjak@vf.uni-lj.si

Leptospiroza je ena najbolj razširjenih zoonoz na svetu, ki se pojavlja tudi pri mačkah. Zaradi pogoste subklinične oblike ali nespecifičnih kliničnih znakov bolezni pri njih pogosto ni diagnosticirana. V raziskavo smo vključili 17 lastniških mačk s serumskimi vrednostmi kreatinina 140 $\mu\text{mol/L}$ ali več. V serumih smo s testom mikroskopske aglutinacije (MAT) določili titer specifičnih protiteles proti 12 serovarom leptospir. MAT je bil pozitiven pri 41,2% mačk (7/17). Pet mačk je imelo povišane titre proti enemu, dve mački pa proti dvema serovaroma. Najpogostejše so imele mačke protitelesa proti sv. Bratislava, sv. Sejroe in sv. Autumnalis. Mediane vrednosti kreatinina pri serološko pozitivnih mačkah so bile za približno 25% višje kot pri serološko negativnih mačkah. V tej preliminarni raziskavi smo ugotovili, da bi bila lahko leptospiroza ena izmed najpogostejše pojavljajočih se kužnih bolezni pri mačkah pri nas, glede na pojavljajoče se serovare pri njih pa predvidevamo, da se okužijo z neposrednim ali posrednim kontaktom z okuženimi miši.

Ključne besede: Leptospiroza; mačka; seroprevalenca

Uvod

Leptospiroza je ena najbolj razširjenih zoonoz na svetu, katere pomen in pojavnost sta prepogosto zanemarjeni. Med patogene vrste leptospir spada več kot 250 serovarov (sv.), ki pripadajo 24 serološkim skupinam. Vsak serovar ima vsaj enega naravnega gostitelja, pri katerem bolezen klinično ni zaznavna. Na splošno velja, da so glavni rezervoar glodavci, vir infekcije pa predstavljajo tudi druge obolele domače in divje živali pri katerih lahko bolezen poteka od subklinične do klinično evidentne, potencialno življenje ogrožajoče bolezni. Prenos bolezni je neposreden (stik z okuženim urinom, spolni kontakt, transplacentarno, ugriz) ali posreden preko kontaminiranega okolja (voda, zemlja, hrana, nastil). V ugodnih pogojih lahko leptospire v okolju preživijo in ostanejo infektivne tudi več mesecev (1).

S prisotnostjo protiteles in poskusnimi infekcijami mačk je dokazano, da le-te obolijo za leptospirozo, vendar je pojavnost kliničnih znakov pri njih zelo redka (1). Z vidika zdravja ljudi, ki redno prihajajo v stik z mačkami, je potrebno poudariti, da obolele mačke izločajo v urinu leptospire tudi 8 mesecev (2).

Naš namen je bil ugotoviti seroprevalenco leptospiroze pri mačkah s povišanimi vrednostmi kreatinina, določiti serovare, ki se pojavljajo pri njih in predvideti možen vir infekcije.

Materiali in metode

V raziskavo smo vključili 17 naključno izbranih lastniških mačk, pripeljanih na Kliniko za male živali, Veterinarske fakultete, Univerze v Ljubljani, s serumskimi vrednostmi kreatinina 140 $\mu\text{mol/L}$ ali več. V serumih smo s testom mikroskopske aglutinacije (MAT) določili titer specifičnih protiteles proti 12 serovarom leptospir, ki so najbolj značilne v našem geografskem področju. Petindvajsetim μL vsakega razredčenega seruma (1:50 s fosfatnim pufrom (PBS)) smo dodali 25 μL razredčene kulture leptospir (1:1 s PBS) in inkubirali 2 uri na $37\pm 1^\circ\text{C}$. Za negativno kontrolo smo uporabili nacionalni negativni serum. Serum smo označili kot pozitiven, če je v njem aglutiniralo vsaj 50% leptospir in ga dalje redčili ter testirali s tistimi serovari leptospir, pri katerih smo ugotovili aglutinacijo ter tako določili višino titra protiteles (OIE, 2014).

Rezultati

Skupno smo serološko testirali 17 serumov mačk z vrednostmi kreatinina 140 $\mu\text{mol/L}$ ali več. MAT je bil pozitiven pri 41,2% mačk (7/17). Na en serovar je bilo pozitivnih 28,6% (2/7), na dva 42,8% (3/7) in na tri 28,6% mačk (2/7). Najvišja prevalenca je bila na sv. Bratislava (57,1%; 4/7), sledila sta sv. Sejroe in sv. Australis (42,8%; 3/7), na sv. Hardjo in sv. Autumnalis je odreagiralo 28,6% pozitivnih mačk (2/7). Mediane vrednosti kreatinina pri serološko pozitivnih mačkah so znašale 256,1 $\mu\text{mol/L}$ (min 153,7 in max 669,9 $\mu\text{mol/L}$), pri serološko negativnih pa 191,0 $\mu\text{mol/L}$ (min 153,3 in max 397,5 $\mu\text{mol/L}$).

Razprava

Seroprevalenca leptospiroze pri mačkah v našem okolju ni znana. V trenutni raziskavi smo ugotovili titre protiteles proti leptospiram pri 41,2% mačk, kar je sicer višja prevalenca kot v raziskavi Obrenovičeve in sod., 2014, kjer je znašala 26,7%. Za dobljeno razliko je lahko razlog dejstvo, da so v omenjeni raziskavi določali titre protiteles v serumih zdravih mačk, naročenih na histerektomijo ali kastracijo, pri nas pa smo protitelesa ugotavljali pri mačkah, ki so po klasifikaciji IRIS imele kronično ledvično bolezen. Dokazano namreč je, da je seroprevalenca pri mačkah z ledvičnim obolenjem statistično značilno višja kot pri zdravih mačkah (4). Serološko pozitivne mačke so imele v naši raziskavi za približno 25% višje mediane vrednosti kreatinina kot serološko negativne, vendar je ugotovljeno, da seroprevalenca naj ne bi bila odvisna od stopnje ledvične okvare (4).

Dve mački sta pozitivno odreagirali le na 1 serovar (sv. Bratislava in sv. Australis). Večina mačk je bila hkrati pozitivna na več serovarov. Pri tistih, ki so hkrati reagirale na sv. Bratislava in sv. Australis ter sv. Sejroe in sv. Hardjo, je najverjetneje prišlo do navzkrižne reakcije protiteles s podobnim antigeni, saj omenjeni serovari izvirajo iz istih seroloških skupin. Te mačke so torej reagirale na tisti serovar, pri katerem je titer dosegel višjo vrednost (1). Dejansko je torej na en serovar skupno reagiralo 5 mačk, preostali dve pa na dva (sv. Bratislava in sv. Autumnalis ter sv. Sejroe in sv. Australis). Najpogostejše so imele mačke protitelesa proti sv. Bratislava in sv. Sejroe, katerih glavne rezervoarje v naravi predstavljajo miši. Enake rezervoarje ima tudi sv. Autumnalis (1). Na podlagi dobljenih rezultatov in dejstva, da so mačke dobri lovci in del njihove prehranske verige predstavljajo tudi manjši glodavci, predvidevamo, da so se najverjetneje okužile neposredno z zaužitjem okuženih miši. Manj, a vseeno verjeten, je posredni prenos preko kontaminiranega okolja.

Na podlagi dobljenih rezultatov žal ne vemo, ali je šlo pri pozitivnih mačkah za akutno ali kronično okužbo, saj v MAT analizo nismo prejeli parnih serumov, odvzetih v razmaku vsaj 14 dni. Prav tako ne vemo, ali so se v urinu teh mačk nahajale leptospire, ki bi lahko služile kot nadaljnji vir infekcije. Navkljub neznankam pa smo s to preliminarno raziskavo dokazali, da so mačke izpostavljene leptospiram in možno je, da igrajo pomembno vlogo v epidemiji bolezni.

Reference

1. Greene CE, Sykes JE, Brown CA and Hartmann K. Leptospirosis. In: Greene CE (ed). Infectious diseases of the dog and cat. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2006, pp 402–417.
2. Weis S, Rettinger A, Bergmann M, Llewellyn JR, Pantchev N, Straubinger RK, Hartmann K. Detection of *Leptospira* DNA in urine and presence of specific antibodies in outdoor cats in Germany. *J Feline Med Surg* 2017; 19: 470-76.
3. Obrenović S, Radojčić S, Stević N, Bogunović D, Vakanjac S, Valčić M. Seroprevalence of cat leptospirosis in Belgrade (Serbia). *Acta Vet Beograd* 2014; 64: 510-18.
4. Rodriguez J, Blais MC, Lapointe C, Arsenault J, Carioto L, Harel J. Serologic and urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 284-93.

Leptospirosis in cats - a myth or a reality?

Leptospirosis is one of the most widespread zoonosis worldwide, and is also detected in cat population. The disease is usually subclinical or has non-specific clinical signs, therefore it remains underdiagnosed. Seventeen client-owned cats with blood creatinine levels above 140 $\mu\text{mol/L}$ were included in the study. Antileptospiral serum antibody titres against 12 serovars were determined by microscopic agglutination test (MAT). Specific antibodies were detected in 41,2% of cats (7/17). Five cats were positive to one serovar and two cats were positive to two serovars. The most common serovars detected were sv. Bratislava, sv. Sejroe and sv. Autumnalis. Median serum creatinin values were approximately 25% higher in seropositive cats compared to seronegative cats. These preliminary results suggest that leptospirosis might be one of the most prevalent infectious diseases in cats in our country. Based on the most common serovars detected we predict that cats get infected by direct contact or indirect contact with infected mice.

Key words: Leptospirosis, cat, seroprevalence.

Vsebnosti elementov v sledovih v obrokih za govedo

Katarina Pavšič Vrtač^{1*}, Janez Salobir², Breda Jakovac Strajn¹, Marjana Grandič¹, Igor Ujčič Vrhovnik¹, Janja Babič¹, Gabrijela Tavčar Kalcher¹

¹ Veterinarska fakulteta, Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Ljubljana, Slovenija, ² Biotehniška fakulteta, Katedra za prehrano, Ljubljana, Slovenija

* katarina.vrtac@vf.uni-lj.si

Elementi v sledovih so anorganske snovi, ki jih živali dobijo s krmo in so lahko za njih esencialni, nujni za rast in zdravje, lahko so neesencialni, v prevelikih količinah pa celo toksični. Namen raziskave je bil pridobiti podatke o vsebnostih izbranih elementov v sledovih v obrokih za govedo, na kmetijah v Mežiški dolini in v gorenjski regiji, ter oceniti prehranski vnos teh elementov pri govedu. Za preučevanje vsebnosti izbranih elementov (Al, As, Ba, Be, Cd, Cr, Co, Cu, B, Fe, Pb, Li, Mn, Hg, Mo, Ni, Se, Ag, Sr, Sn, Sb, V, Tl, Ti in Zn) v krmi za govedo smo uporabili najsodobnejšo metodo indukcijsko sklopljene plazme z masno detekcijo (ICP-MS). Za pripravo vzorcev smo uporabili razklop v zaprtem mikrovalovnem sistemu z dušikovo kislino in vodikovim peroksidom. Rezultati kažejo, da v nekaterih preiskanih obrokih primanjkuje Cu in Se, vsebnosti Zn pa so v nekaterih nizke. Dva obroka iz onesnaženega območja presegata najvišjo dovoljeno vsebnost Pb, ki je v skladu z evropsko zakonodajo 5 mg/kg v krmi z 12 % vsebnostjo vlage. Analiza variance v obrokih iz obeh regij je pokazala statistično značilne razlike za naslednje tri elemente: Ba, B in Cd. Rezultati študije obrokov kažejo, da bi morale govedo dobivati ustrezne mineralne dodatke. Zaradi različnih vsebnosti elementov v sledovih bi bilo treba sestavine obrokov za ustrezen izračun obrokov predhodno analizirati.

Ključne besede: elementi v sledovih; govedo; obrok; ICP-MS

Uvod

Elementi v sledovih so anorganske snovi, ki jih živali dobijo s krmo in so lahko za njih esencialni, nujni za rast in zdravje, lahko so neesencialni, v prevelikih količinah pa celo toksični. Pomanjkanje enega ali več elementov povzroči motnje v celični presnovi, ki se kažejo v subkliničnih spremembah funkcionalnega stanja organizma, v težjih primerih pa v klinično zaznavnih boleznih. Pri živalih se pri večini primerov pomanjkanja najprej zmanjša proizvodnost. Klinični znaki praviloma niso specifični, kažejo se kot lizavost, motnje v razvoju mladih živali, anemija, plodnostne motnje ter hujšanje. Vsi elementi pa postanejo toksični, če je njihov vnos v organizem prekomeren (1). Previsoke vsebnosti elementov v sledovih v krmnih mešanicah so predvsem posledica napak pri izdelavi krmnih mešanic in krmnih dodatkov ali se pa se to zgodi zaradi previsokih vsebnosti nekaterih mikroelementov v sestavinah krme, stranskih proizvodih industrije in odpadkih. Kadar je količina mikroelementov v krmi bistveno večja od fizioloških potreb, se lahko pojavijo zastrupitve ali motnje v izkoristku drugih elementov. Intoksikacije so najpogostejše pri tistih mikroelementih, kjer je razpon med normalno fiziološko količino in toksično količino zelo majhen (npr. Se, pri prežvekovalcih pa tudi Cu) (1).

Z analizo odvzetih vzorcev krme smo želeli zbrati podatke o vsebnostih izbranih elementov v krmi in o morebitni onesnaženosti krme s toksičnimi elementi. V raziskavi smo pridobili podatke za elemente, za katere v Sloveniji do zdaj raziskave še niso bile opravljene in za katere v znanstveni literaturi ni podatkov o vsebnostih v krmi za govedo (2). Zbrani podatki so nam omogočili izračune vnosa elementov v živali. Preverili smo tudi, ali vzorci glede vsebnosti elementov ustrezajo predpisom, kjer ti obstajajo, za preostale pa smo dobili reprezentativne podatke o vsebnostih v krmi, ki se uporablja v Sloveniji. Raziskave drugih elementov v sledovih v krmnih mešanicah, posamičnih krmilih in silaži na območju Slovenije do zdaj še niso bile opravljene, predstavljajo pa pomemben del pri poznavanju vsebnosti elementov in morebitne onesnaženosti krme s toksičnimi elementi oziroma osnovo za izračune vnosa posameznih elementov v živali.

Materiali in metode

Pozimi 2014 smo na dvanajstih kmetijah v Mežiški dolini (MD) in v gorenjski regiji (GR) vzorčili sestavine obrokov, ki jih krmijo na teh kmetijah. Glavni sestavini vzorčenih obrokov sta bili v teh dveh slovenskih regijah doma pridelani travna in koruzna silaža. Vzorčili smo tudi doma pridelano seno in žita, ter dokupljena močna krmila, koncentrate in mineralno vitaminske dodatke (MVD). Za določanje vsebnosti elementov v vzorcih smo uporabili najsodobnejšo metodo indukcijsko sklopljene plazme z masno detekcijo (ICP-MS). Za pripravo vzorcev smo uporabili razklop z dušikovo kislino in vodikovim peroksidom v zaprtem mikrovalovnem sistemu (3). Vzorce krme, odvzete na kmetijah, smo analizirali, izračunali obroke (Tabela 1) in dobljene podatke statistično obdelali (4).

Rezultati

Na podlagi rezultatov smo ocenili pomanjkanje esencialnih elementov pri govedu, ravni posameznih elementov v obrokih (5) in naredili primerjavo z evropsko zakonodajo, ki določa najvišje dovoljene vsebnosti nezaželenih elementov in najvišjih dovoljenih vsebnostih elementov, ki se v krmo dodajajo. V Tabeli 1 so podane vsebnosti posameznih elementov v vseh dvanajstih obrokih iz GR in MD. Različne barve celic prikazujejo različne ravni vsebnosti elementov v obroku. S sivo barvo so označeni elementi (Ti, Sr, Li, Sn, Be, Sb, Ag), za katere kriterijev za vsebnosti v obrokih v literaturi nismo našli.

Največje razlike v medianah vsebnosti med obema regijama so se pokazale za elemente Zn, Ba, B, Ni, Mo, Li, Pb, Cd, Se. Najbolj se v obrokih razlikujejo vsebnosti Pb ($\mu\text{g/kg SS}$) (MD: povprečje 6354; mediana 4076; območje 497–20323; GR: povprečje 1921; mediana 1231; območje 638–5722). Izstopala je razlika v vsebnosti Ba (mg/kg SS) v obrokih iz MD (povprečje 23,3; mediana 22,0; območje 16,3–37,7) in GR (povprečje 14,6; mediana 13,6; območje 8,15–23,6) in v vsebnosti Li ($\mu\text{g/kg SS}$) v obrokih iz MD (povprečje 1063; mediana 620; območje 351–3209) in iz GR (povprečje 1223; mediana 1227; območje 553–1869). V obrokih so bile najnižje vsebnosti Hg, Be, Tl, Sb in Ag, ki so za govedo najbolj toksični.

Glede na kriterije (5) in rezultate iz Tabele 1 primanjkuje Cu v sedmih obrokih (v treh iz GR in v štirih iz MD), Se pa v osmih obrokih (v treh iz GR in v petih iz MD), kar znaša pri Cu 58 % in pri Se 67 % analiziranih obrokov. Preostalih šest elementov (Co, Fe, Mn, Mo, Ni in Zn) je glede na navedene meje v obrokih dovolj.

Pri primerjavi vsebnosti elementov, ki smo jih določili v obrokih, z najvišjimi dovoljenimi vsebnostmi nezaželenih elementov (Cd, Pb, As in Hg) v obrokih za govedo, ki so v evropski zakonodaji določene z Direktivo 2002/32/EC in njenimi dopolnitvami, ter z najvišjimi dovoljenimi vsebnostmi za elemente, ki se v krmo dodajajo (Zn, Cu, Mn, Fe, Se, Co), določenimi z Uredbo (ES) št. 1831/2003 in njenimi dopolnitvami, smo ugotovili, da te vsebnosti presega pet rezultatov za štiri različne elemente. Vsebnosti Zn, Se in Co so bile presežene v enem obroku iz GR, vsebnosti Pb pa v dveh obrokih iz MD.

Razprava

V nekaterih preiskanih obrokih primanjkuje Cu in Se, vsebnosti Zn pa so nizke. Dva obroka iz onesnaženega območja presegata najvišjo dovoljeno vsebnost Pb, ki je v skladu z evropsko zakonodajo 5 mg/kg v krmi z 12 % vsebnostjo vlage. Analiza variance v obrokih iz obeh regij je pokazala statistično značilne razlike za Ba, B in Cd. Rezultati študije obrokov kažejo, da bi moralo govedo dobivati ustrezne mineralne dodatke. Zaradi različnih vsebnosti elementov v sledovih bi bilo treba sestavine obrokov za ustrezen izračun obrokov predhodno analizirati. Če so vsebnosti elementov nižje od dejanskih potreb, se kot rezultat neustreznega dodajanja pojavita pomanjkanje in zmanjšanje učinkovitosti proizvodnje. Če dodane količine presegajo potrebe, prekomerno dopolnjevanje obrokov vodi tudi do prekomernega vnosa elementov v okolje.

Reference

1. Žust J, Pestevšek U, Vengušt A, Jakovac Strajn B. Patologija prehrane goved, malih prežvekovalcev, prašičev in perutnine: izbrana poglavja iz higiene in patologije prehrane živali. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2009: 214–55.

2. Van Pamel M, Dierick N, Janssen G, Fievez V, De Smet S. Selected trace and ultratrace elements: biological role, content in feed and requirements in animal nutrition: elements for risk assessment (Technical report submitted to EFSA). EFSA Support Publ 2010; 7: e68E.
3. Pavšič Vrtač K, Jakovac Strajn, B, Salobir J, Tavčar Kalcher G. Validation of a method for determination of 25 selected elements in feed by means of inductively coupled plasma mass spectrometry after closed vessel microwave digestion. V: Slovenski kemijski dnevi 2015, Ljubljana: Slovensko kemijsko društvo 2015, 1-6.
4. Pavšič Vrtač K. Elementi v sledovih v krmi na območju Slovenije: doktorska disertacija. Ljubljana, 2017: 143.
5. Puls R. Mineral levels in animal health: diagnostic data. 2nd ed. Clearbrook: Sherpa International, 1994: 1-285.
- 6.

Tabela 1: Vsebnosti elementov v obrokih za govedo glede na potrebe^aTable 1: Contents of elements in meals for cattle according to requirements^a

	GR1	GR2	GR3	GR4	GR5	GR6	MD1	MD2	MD3	MD4	MD5	MD6
Al	645	1443	1244	471	558	1763	726	478	1663	425	237	2511
Fe	646	1137	810	392	510	1264	562	456	1493	425	261	1528
Mn	78,7	135	62,3	62,1	84,2	101	54,4	58,2	91,0	152	89,5	74,5
Zn	71,7	158	47,6	55,7	96,1	96,7	50,8	127	45,2	60,6	48,4	48,8
Ti	18,6	31,2	22,7	11,0	20,0	24,8	24,1	19,8	24,2	17,2	13,4	46,2
Ba	8,15	16,4	14,6	12,1	12,6	23,6	22,7	16,3	37,7	23,8	17,8	21,2
Sr	9,39	26,5	8,78	8,55	16,6	11,3	10,3	13,7	9,45	12,4	14,8	8,57
Cu	12,8	25,9	8,51	8,54	18,6	9,06	8,44	10,7	13,2	8,94	9,57	6,00
B	7,48	8,38	6,36	6,63	8,05	6,99	9,72	9,28	8,94	8,47	13,6	6,84
Ni	1,65	2,38	1,82	1,28	2,26	1,86	2,31	1,72	3,47	2,20	2,61	3,34
Cr	1,92	3,02	2,19	1,33	2,14	3,14	3,54	2,00	3,97	1,91	1,73	5,13
Mo	2,30	1,26	0,82	1,26	1,70	1,51	4,60	9,14	2,76	1,23	1,50	4,47
V	1,62	2,87	2,03	0,92	1,12	3,51	1,60	1,41	5,01	1,13	0,65	5,33
Li	973	1725	1481	553	736	1869	733	508	1119	461	351	3209
Pb	1139	1323	1832	638	871	5722	2402	5750	8158	992	497	20323
Co	561	2041	381	257	528	490	298	319	794	386	258	708
As	469	572	590	234	296	2219	284	306	1481	110	118	2014
Cd	175	304	199	144	110	342	309	603	352	405	273	560
Sn	92	151	142	57	98,5	316	87	65	145	68,8	48	228
Se	378	1203	165	181	368	178	80	201	182	76	78	<33
Hg	<25	36	<25	<25	34	<25	<25	<25	<7,4	<25	<7,4	<7,4
Be	42	73	67	28	42	100	39	29	97	27	18	124
Tl	65	67	59	29	27	115	32	27	64	30	14	117
Sb	38	37	19	42	29	49	36	49	124	27	12	93
Ag	11	10	9,1	5,4	5,5	16	18	8,8	27	5,1	<1,1	13
Legenda:												
nizko	normalno		povišano		visoko		toksično		ni podatka			

Opombe: ^a Vsebnosti so podane v mg/kg SS za elemente od Al do V in v µg/kg SS za elemente od Li do Ag.

The content of trace elements in rations for cattle

Trace elements are inorganic constituents of feed. They are either essential (necessary for the animal growth and health) or non-essential or even toxic. The purpose of the study was to obtain information on the content of the selected trace elements ration for cattle, sampled on farms in Meža valley and Gorenjska region, and to assess dietary intake of these elements in cattle. To study the presence of selected elements (Al, As, Ba, Be, Cd, Cr, Co, Cu, B, Fe, Pb, Li, Mn, Hg, Mo, Ni, Se, Ag, Sr, Sn, Sb, V, Tl, Ti and Zn) in feed for cattle, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used. Closed-vessel microwave digestion with nitric acid and hydrogen peroxide was used for sample preparation. The contents of trace elements Cu and Se in some meals are below the required contents and the contents of Zn in some meals are low. Two meals from the polluted region exceeded the maximum permitted content of Pb, which is 5 mg/kg of complete feed with a moisture content of 12 %. Statistically significant differences for meals from two regions were found for elements Ba, B in Cd. The data suggest that cattle should receive mineral supplementation routinely. To calculate the appropriate meals it would be necessary to analyze the ingredients of meals previously, due to the different levels of the trace elements in ingredients.

Key words: trace elements; cattle; ration; ICP-MS

Določanje aktivnosti antioksidantnih encimov kot kazalcev oksidativnega stresa v vzorcih ustne tekočine in polne krvi pri prašičih

Marina Štukelj^{1*}, Irena Golinar Oven¹, Jan Plut¹, Manja Zupan², Alenka Nemec Svete³

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Klinika za reprodukcijo in velike živali, Oddelek za zdravstveno varstvo prašičev, Ljubljana, Slovenija,

² Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Katedra za znanosti o rejah živali, Groblje, Slovenija, ³ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Klinika za male živali, Ljubljana, Slovenija

*marina.stukelj@vf.uni-lj.si

Oksidativni stres je eden izmed kazalcev počutja prašičev. Namen dela je bilo preučiti, ali je ustna tekočina primeren vzorec za merjenje aktivnosti antioksidantnih encimov superoksid dismutaze (SOD) in glutathion peroksidaze (GPX), kot kazalcev oksidativnega stresa, v ustni tekočini in polni krvi. Vzorce krvi smo odvzeli 5 tekačem in 5 plemenskim prašičem na šestih farmah. Ustno tekočino smo odvzeli skupini istih prašičev, ki smo jim odvzeli vzorce krvi. Ugotovili smo numerično nižjo aktivnost SOD v ustni tekočini pri tekačih v primerjavi s plemenskimi prašiči, medtem ko so bile aktivnosti SOD v krvi pri tekačih numerično višje v primerjavi s plemenskimi prašiči. Rezultati kažejo, da aktivnosti SOD izmerjene v ustni tekočini in krvi niso primerljive. Aktivnosti GPX v ustni tekočini nismo mogli izmeriti. Predvidevamo, da bi za določanje aktivnosti GPX v ustni tekočini potrebovali občutljivejšo metodo. V obravnavanih rejah smo ugotovili numerično višjo aktivnost GPX v krvi pri plemenskih prašičih v primerjavi s tekači. Zmanjšana aktivnost GPX in povečana aktivnost SOD, ki smo jo ugotovili pri tekačih v krvi, je najverjetneje posledica povečanega oksidativnega stresa.

Ključne besede: Prašiči; ustna tekočina; kri; superoksidna dismutaza; glutathion peroksidaza

Uvod

V okviru ciljnega raziskovalnega projekta V4-1604, ki sta ga sofinancirali Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano iz državnega proračuna, smo med drugim določali tudi aktivnosti intracelularnih antioksidantnih encimov, superoksid dismutaze (SOD) in glutathion peroksidaze (GPX). SOD in GPX predstavljata primarno antioksidativno obrambo organizma pred oksidativnim stresom in sta zato pomembna kazalca oksidativnega stresa (Valko in sod., 2006). Oksidativni stres je eden od kazalcev počutja prašičev (Brambilla in sod., 2002). Sprožijo ga številni zunanji dejavniki kot npr. stres, nepravilna prehrana, patološka stanja (npr. pojav infekcijskih bolezni in vnetij v organizmu, pojav parazitov) (Valko in sod., 2006; Biswas, 2016). Ugotovljeno je, da je povečanje posameznih kazalcev oksidativnega stresa povezano z nizko ravni dobrobiti prašičev in z različnimi obolenji (Brambilla in sod. 2002). Prašiči so kot živalska vrsta izjemno občutljivi na stres, zato se v svetu zaradi neinvazivnosti vedno bolj uveljavlja vzorčenje ustne tekočine, v kateri določajo različne patogene mikrobe, protitelesa in druge biološke ter biokemične substance. V obstoječi literaturi ni podatkov o aktivnosti antioksidantnih encimov, SOD in GPX v ustni tekočini tako zdravih kot bolnih prašičev. Namen dela je bilo preučiti, ali je ustna tekočina primeren vzorec za merjenje antioksidantnih encimov kot kazalcev oksidativnega stresa. Vzorci polne krvi so nam služili kot primerjalni vzorci, saj se aktivnosti SOD in GPX, ki sta intracelularna encima, običajno določata v hemolizatu eritrocitov (SOD) oziroma hemolizatu polne krvi (GPX).

Materiali in metode

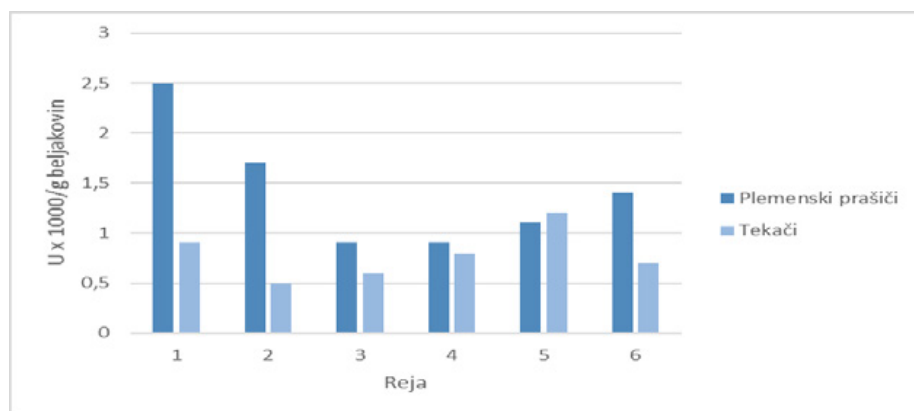
Petim tekačem in petim plemenskimi prašičem na šestih farmah smo odvzeli vzorce krvi iz vene cave cranialis, da bi določili aktivnosti SOD in GPX v hemolizatu polne krvi (epruvete z litijevim heparinom) in izvedli hematološke preiskave (epruvete s K3EDTA). Od skupin prašičev, katerim smo odvzeli vzorce krvi, smo pridobili skupinske vzorce ustne tekočine tako, da smo prašičem v boks obesili 100 % bombažno vrv. Prašiči so vrv žvečili 20 do 30

minut, nato smo iz vrvi iztisnili ustno tekočino v sterilne epruvete za shranjevanje in jih na hladnem transportirali v laboratorij.

Hematološke preiskave smo izvedli na avtomatskem hematološkem analizatorju Advia 120 (Siemens, Nemčija). Aktivnost SOD in GPX v hemolizatu polne krvi in vzorcih ustne tekočine smo določali spektrofotometrično na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX-Daytona (Randox, Velika Britanija) z uporabo Randoxovih reagenčnih kompletov (Ransod (SOD), Ransel (GPX)). Aktivnost SOD in GPX v polni krvi smo izrazili v enotah na g hemoglobina (U/g HGB), aktivnost SOD v vzorcih ustne tekočine pa v enotah na g beljakovin (U/g beljakovin). Koncentracijo beljakovin v vzorcih ustne tekočine smo določali spektrofotometrično z avtomatskim biokemijskim analizatorjem RX-Daytona, pri čemer smo uporabili reagent pirogalol rdeče (Randox, Velika Britanija).

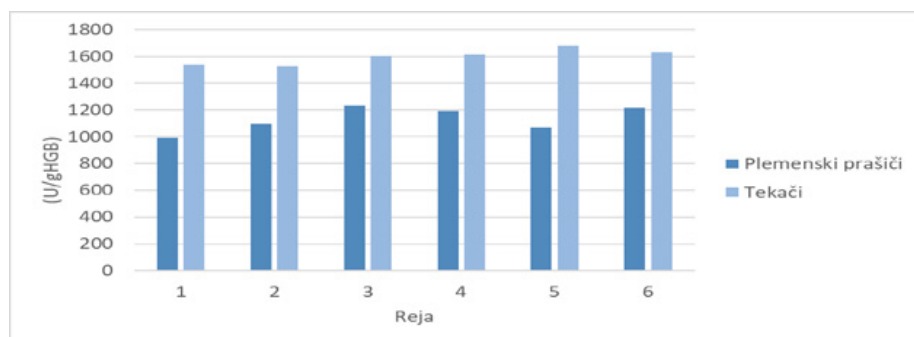
Rezultati

Iz grafa 1 je razvidno, da so bile aktivnosti SOD v ustni tekočini numerično višje pri plemenskih prašičih v primerjavi s tekači. Aktivnost SOD se je pri plemenskih prašičih, odvisno od farme, gibala od 0,9 do 2,5 Ux1000/g beljakovin; aktivnosti SOD v ustni tekočini tekačev so bile bolj enotne in so bile odvisne od farme, gibale so se od 0,5 do 1,2 Ux1000/g beljakovin.



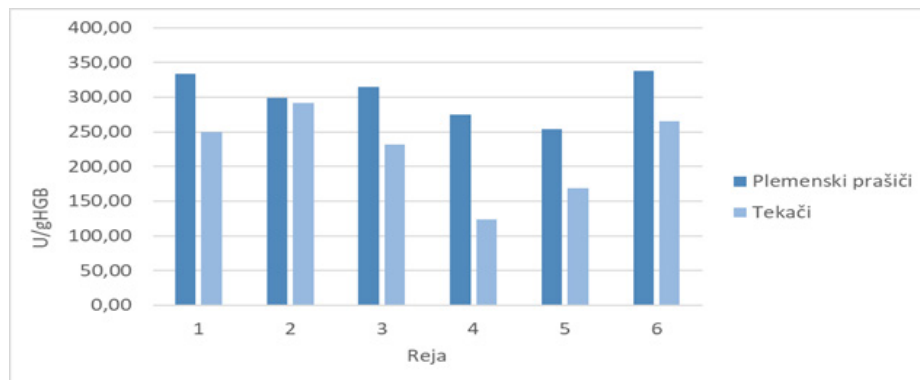
Graf 1. Aktivnost SOD v ustni tekočini pri plemenskih prašičih in tekačih.

V krvnih vzorcih smo izmerili numerično višje aktivnosti SOD pri tekačih v primerjavi s plemenskimi prašiči (graf 2) in to v vseh šestih rejah. V naši raziskavi smo izmerili precej enotne aktivnosti SOD, ki so se pri tekačih gibale od 1526,2 do 1676,3 U/g HGB, pri plemenskih prašičih pa od 992,1 do 1233,8 U/g HGB.



Graf 2. Aktivnost SOD v krvi pri plemenskih prašičih in tekačih.

Aktivnosti GPX v ustni tekočini ni bilo mogoče izmeriti s spektrofotometrično metodo, saj so bile meritve pod spodnjo mejo detekcije. Iz grafa 3 je razvidno, da so bile aktivnosti GPX v krvi numerično višje pri plemenskih prašičih kot pri tekačih na vseh obravnavanih farmah.



Graf 3. Aktivnost GPX v krvi pri plemenskih prašičih in tekačih.

Razprava

V raziskavi smo izmerili višje aktivnosti SOD v ustni tekočini plemenskih prašičev v primerjavi s tekači. Razlog je lahko visoka koncentracija beljakovin v ustni tekočini tekačev, glede na to da smo aktivnost SOD standardizirali na koncentracijo beljakovin. Aktivnosti SOD v krvi so bile ravno obratne kot aktivnosti SOD v ustni tekočini; numerično višjo aktivnost SOD v krvi smo ugotovili pri tekačih. Aktivnosti SOD, izmerjene v krvnih vzorcih tekačev in plemenskih svinj, so primerljive z rezultati naše predhodne študije (Štukelj in sod., 2013). Numerično višja aktivnost SOD v krvnih vzorcih tekačev je najverjetneje posledica večjega oksidativnega stresa zaradi povečanega nastajanja superoksidnega radikala. Slednji namreč lahko inducira sintezo SOD. Oksidativni stres pri tekačih lahko izvira iz stresnih situacij, kot so ločitev od matere, združevanje prašičev iz različnih gnezd, neprimerne mikro in makro klimatske razmere, neprimerne tehnologije reje, neprimeren odnos rejca do prašičev, padec kolostralnih protiteles in okužbe z različnimi patogenimi mikrobi (Lykkesfeldt in Svendsen, 2007). Naši rezultati kažejo, da aktivnosti SOD, izmerjene v ustni tekočini in krvi, niso primerljive. Morda je razlog v tem, da gre v ustih za lokalni odgovor, medtem ko gre v krvi za sistemski. Aktivnosti GPX v ustni tekočini nismo mogli izmeriti z uporabljenimi spektrofotometrično metodo. Morda bi aktivnosti GPX lahko izmerili z bolj občutljivo kemiluminiscenčno metodo, s katero bi prišli v področja nižjih koncentracij, vendar te metode nismo imeli na voljo. Na vseh obravnavanih farmah smo ugotovili višjo aktivnost GPX v krvi pri plemenskih prašičih v primerjavi s tekači, kar je v skladu z rezultati predhodne študije (Štukelj in sod., 2013). Nizka aktivnost GPX pri tekačih je lahko posledica povečanega oksidativnega stresa zaradi povečanega nastajanja superoksidnega radikala. Slednji sicer lahko inducira sintezo SOD, vendar hkrati deluje inhibitorno na aktivnost GPX (Blum in Fridovich, 1985), kar kažejo tudi naši rezultati. Zmanjšana aktivnost GPX in povečana aktivnost SOD v krvnih vzorcih tekačev je najverjetneje posledica povečanega oksidativnega stresa. Spričo neinvazivnega načina pridobivanja vzorcev ustne tekočine bi bilo smotno nadaljevati z raziskavami na večjem številu živali glede možnosti uporabe ustne tekočine za določanje tako antioksidantnih encimov kot tudi drugih kazalcev oksidativnega stresa, kot so na primer kazalci oksidativnih poškodb lipidov, proteinov in DNK.

Reference

1. Biswas SK. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxid Med Cell Longev* 2016; 16: 9str. (<http://dx.doi.org/10.1155/2016/5698931>)
2. Blum in Fridovich. Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 1985; 240(2): 500-8.

3. Brambilla G, Civitareale C, Ballerini A, Fiori M, Amadori M, Archetti LI, Regini M, Betti M. Response to oxidative stress as a welfare parameter in swine. *Redox Rep.* 2002; 7(3): 159-63.
4. Lykkesfeldt J in Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet J*, 2007; 173: 502-11.
5. Štukelj M, Toplak I, Nemec Svete A. Blood antioxidant enzymes (SOD, GPX), biochemical and hematological parameters in pigs naturally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Pol J of Vet Sci* 2013; 16(2): 369–76.
6. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1–40.

Determination of antioxidative enzyme activity as oxidative stress markers in pig oral fluid and in blood samples

Oxidative stress is one of the markers of pig welfare. The aim of this study was to determine if oral fluid (OF) is the appropriate sample for measuring the activity of antioxidative enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) as markers of oxidative stress in samples of oral fluid (OF) and whole blood. Blood samples were drawn from 5 weaners and 5 breeding pigs on 6 pig farms and oral fluid was collected from these same groups of pigs. The activity of SOD was numerically lower in oral fluid of weaners in comparison to OF of breeding animals; conversely the SOD activity in blood was lower in breeding pigs compared to weaners. The results show that OF and blood samples cannot be compared for SOD activity. The activity of GPX could not be measured in OF samples. We assume the more stringent method would be needed for determination of GPX activity in OF. The values for GPX activity in blood were higher in breeding animals on all 6 farms. Lowered activity of GPX and higher activity of SOD in determined the blood of weaners is most likely the consequence of greater oxidative stress due to higher production of superoxide radicals.

Key words: Pig, oral fluid, blood, superoxide dismutase, glutathione peroxidase

Ocene dobrobiti prašičev pitancev v konvencionalnih in alternativnih sistemih rej v Sloveniji

Irena Golinar Oven^{1*}, Marina Štukelj¹, Jan Plut¹, Maja Prevolnik Povše², Manja Zupan³

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Klinika za reprodukcijo in velike živali, Oddelek za zdravstveno varstvo prašičev, Ljubljana, Slovenija,

² Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Katedra za živinorejo, Hoče, Slovenija, ³ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Katedra za znanosti o rejah živali, Groblje, Slovenija

* e-mail kontaktne osebe: irena.golinaroven@vf.uni-lj.si

Oceno dobrobiti prašičev pitancev smo izvedli v okviru CRP projekta Dobrobit v povezavi z zdravstvenim varstvom perutnine in prašičev v konvencionalnih in alternativnih sistemih rej na podlagi mednarodnega protokola za oceno dobrobiti »Welfare Quality® Assessment protocol for pigs«. Ocene dobrobiti smo izvedli v 10. konvencionalnih in 10. alternativnih rejah. Za prašiče pitance je izvedba meritev nadgrajena s statističnim izračunom. Ocene meritev najprej združimo v ocene meril, le-te pa v ocene opazovanih področij, s pomočjo specifičnega matematičnega postopka – *Choquet*-ovega integrala. Pri prašičih pitancih je bila skupna uvrstitev konvencionalnih rej v kategoriji sprejemljivo, kar pomeni, da so reje zadoščale minimalnim zahtevam dobrobiti. Skupna ocena alternativnih rej pa je bila v kategoriji dobro. Na podlagi dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da dosegajo reje prašičev pitancev v Sloveniji zadovoljivo raven dobrobiti živali v konvencionalnih sistemih in višjo raven v alternativnih sistemih reje.

Ključne besede: Dobrobit; prašiči pitanci; sistemi rej

Uvod

Oceno dobrobiti prašičev pitancev smo izvedli v okviru CRP V4-1604 projekta Dobrobit v povezavi z zdravstvenim varstvom perutnine in prašičev v konvencionalnih in alternativnih sistemih rej, ki sta ga sofinancirali Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano iz državnega proračuna. Namen projekta je bil med drugim oceniti dobrobit v slovenskih rejah prašičev na podlagi mednarodnega protokola za oceno dobrobiti »Welfare Quality® Assessment protocol for pigs« (WQ®) in dobiti prvi vpogled v stanje dobrobiti v Sloveniji. Po protokolu WQ® je izvedba meritev na terenu/v reji nadgrajena s statističnim izračunom končne ocene dobrobiti živali, vendar so enačbe za preračun trenutno na voljo le za prašiče pitance, zato predstavljamo ocene samo za to kategorijo živali.

Materiali in metode

Ocene dobrobiti prašičev smo izvedli v 10. konvencionalnih in 10. alternativnih rejah. Reje so imele zaključen tip proizvodnje (od prasitve do pitanja), med tem ko sta imeli dve veliki farmi proizvodnjo od prasitve do predpitanja. Konvencionalne reje so imele od 11 do 1900 plemenskih svinj. Sedem od desetih konvencionalnih rej je bilo manjših, tri pa so bile velike farme. Alternativne reje so imele od 1 do 43 plemenskih svinj. Med alternativne reje smo šteli tiste z izpustom in tiste, kjer so prašičem pokladali voluminozno krmo ter nastiljali s slamo. Dobrobit smo ocenili pri 1245 pitancih v konvencionalnih rejah in 387 pitancih v alternativnih rejah. Ocenjevanje na podlagi WQ® vključuje številne meritve in največ izmed njih se jih oceni s pomočjo uporabe tristopenjske lestvice (0 do 2); oceno 0 dodelimo za visoko raven dobrobiti, oceno 1, kadar gre za določen kompromis glede dobrobiti živali, in oceno 2, kadar je raven dobrobiti nizka in nesprejemljiva. V določenih primerih smo uporabili tudi binarno (0/2 oz. da/ne) ali ordinalno lestvico (npr. cm ali m2).

Tabela 1: Opazovana področja (OP) in merila dobrobiti prašičev, ki predstavljajo osnovo za protokole ocenjevanja WQ* (1).

OP	Merilo	Meritev
Krmljenje	1 Odsotnost daljšega obdobja lakote 2 Odsotnost daljšega obdobja žeje	Telesna kondicija Oskrba z vodo
Način reje (bivanje)	3 Udobje pri počitku 4 Temperaturno udobje 5 Enostavnost gibanja	Burzitis, iztrebki na telesu Sopenje in gručenje Razpoložljivost prostora
Zdravstveno stanje	6 Odsotnost poškodb 7 Odsotnost bolezni 8 Odsotnost bolečine zaradi posegov v reji	Šepavost, rane na telesu, grizenje repov Smrtnost, kašljanje, kihanje, oteženo dihanje, izpad rektuma, driska, kila, kondicija kože, lokalna vnetja Kastracija, brušenje zobkov in rezanje repkov
Ustrezno obnašanje	9 Izražanje socialnega obnašanja 10 Izražanje drugih vrst obnašanja 11 Dober odnos človek-žival 12 Pozitivno čustveno/emocionalno stanje	Socialno obnašanje Raziskovalno obnašanje Strah pred človekom Ocena kakovosti obnašanja

Rezultati

Za prašiče pitance je izvedba meritev nadgrajena s statističnim izračunom, pri katerem rezultate meritev postopno združujemo v končno oceno primernosti reje. Ocene meritev najprej združimo v ocene meril, le-te pa v ocene opazovanih področij. Združevanje ocen ne dovoljuje kompenzacije med ocenami, zato se za izračun ne uporablja povprečje, temveč specifičen matematični postopek – *Choquet*-ov integral, ki to zakonitost upošteva. Ocene meril in opazovanih področij se gibljejo na skali od 0 do 100, pri čemer je višja vrednost pokazatelj boljšega stanja (Tabela 2). Ocene za vsa štiri opazovana področja v zadnjem koraku združimo v skupno oceno primernosti reje - kategorija dobrega počutja (Graf 1). Ocena ni osnovana na povprečnih ocenah. Rejo uvrstimo v ustrezno kategorijo dobrega počutja po naslednjem ključu:

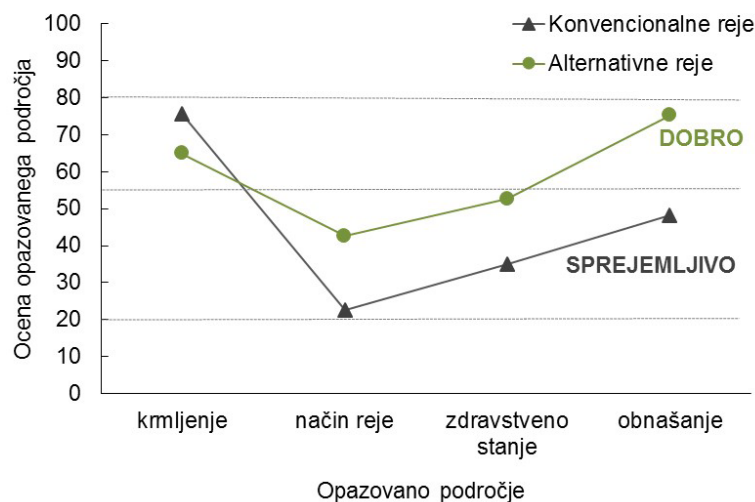
- odlična (počutje živali na najvišji ravni): ocene vseh področij > 55 in vsaj dveh > 80,
- dobra: ocene vseh področij > 20 in vsaj dveh > 55,
- sprejemljiva (počutje živali zadovoljuje minimalne zahteve): ocene vseh področij > 10 in vsaj treh > 20,
- nerazvrščena (počutje živali ni zadovoljivo): reje ne dosegajo omenjenih minimalnih standardov.

Tabela 2: Statistični izračun ocen opazovanega področja pri pitancih.

Področje opazovanja	Merilo	Konvencionalne reje		Alternativne reje	
		ocena merila	ocena področja	ocena merila	ocena področja
Krmljenje	Odsotnost lakote	88,0	75,7	100,0	64,9
	Odsotnost žeje	75,0		63,0	

Način reje	Udobje pri počitku	76,7	22,7	91,5	42,6
	Termično udobje	74,1		89,0	
	Enostavnost gibanja	4,0		25,6	
Zdravstveno stanje	Odsotnost poškodb	89,7	35,1	94,4	52,6
	Odsotnost bolezni	76,3		90,6	
	Odsotnost bolečin	15,8		35,3	
Obnašanje	Negativno socialno obnašanje	62,9	48,3	79,3	75,1
	Drugo obnašanje	80,7		89,3	
	Odnos človek-žival	39,1		64,5	
	Čustveno stanje	48,3		86,5	

* Ocene se gibljejo na skali od 0 do 100. Višja vrednost pomeni boljše stanje.



Graf 1: Celovita ocena dobrobiti (ocena primernosti reje) v konvencionalnih in alternativnih rejah pri pitancih.

Razprava

Pri prašičih pitancih je bila skupna uvrstitev konvencionalnih rej v kategoriji sprejemljivo, kar pomeni, da so reje zadoščale minimalnim zahtevam dobrobiti, za razliko skupne ocene alternativnih rej, ki je bila dobro. Alternativne reje so pri pitancih dosegale višje ocene za vsa opazovana področja, razen za področje krmljenja, pri katerem je nižja ocena posledica slabše oskrbe z vodo v alternativnih rejah. Najnižje ocene so se v splošnem nanašale na merilo enostavnost gibanja in sicer razpoložljivost prostora. Sklepamo lahko, da poskušajo kmetje predvsem v konvencionalnih rejah zaradi ekonomičnosti upoštevati z zakonodajo predpisane minimalne standarde glede razpoložljivost prostora, ki so z vidika dobrega počutja nezadovoljivi. Nizke ocene smo pri obeh načinih reje zabeležili pri merilu odsotnost bolečine, kar pa je posledica izvajanja ukrepov kirurške kastracije in krajšanja repov v vseh preučevanih rejah. Pri tem je potrebno poudariti, da so tovrstni posegi, ki so s stališča dobrega počutja nesprejemljivi, v Sloveniji del splošne prakse reje prašičev.

Reference

1. Welfare Quality® Assessment protocol for pigs. http://www.welfarequalitynetwork.net/media/1018/pig_protocol.pdf (2018-10-01)

Welfare estimates of growing-finishing pigs in conventional and alternative housing systems in Slovenia

Welfare assessment of growing-finishing pigs was carried out as part of the project of Animal welfare including health of poultry and pigs in conventional and alternative housing systems based on the international welfare assessment protocol "Welfare Quality Assessment Protocol for pigs". Ten conventional and ten alternative Slovenian pig farms were included. The measured values for the growing-finishing pigs were upgraded with statistical calculation. The estimates of the welfare measurements are first combined into the estimates of the welfare criteria, followed by aggregation into estimates of the welfare principles, using a specific mathematical procedure - the Choquet integral. Growing-finishing pigs in conventional housing systems were categorized as *acceptable* by the common welfare category classification meaning the welfare these animals is above or equal to minimal requirements. The overall assessment of alternative housing systems was a cut above meaning the welfare of alternatively housed animals is graded as *enhanced*. Based on obtained results we can conclude that growing-finishing pigs in Slovenia are provided a satisfactory level of animal welfare in conventional systems and a higher level in alternative housing systems.

Key words: Welfare; fatteners; pig housing system

Uvedba dveh metod RT-PCR v realnem času za kvantifikacijo virusa akutne paralize (ABPV) in virusa deformiranih kril čebel (DWV) v preiskovanih vzorcih

Laura Šimenc*, Ivan Toplak

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

*laura.simenc@vf.uni-lj.si

V laboratoriju smo uvedli dve novi metodi za kvantifikacijo čebeljih virusov, ki nam bosta izboljšali diagnostiko virusnih bolezni čebel. Drastičnost kliničnih znakov in posledična prizadetost čebeljih družin je v sorazmerju s številom virusnih kopij v posameznem vzorcu. Metodi RT-PCR v realnem času in uporabo plazmidov, kot standarda za kvantifikacijo, smo povzeli iz Evropskega referenčnega laboratorija za čebelje bolezni ANSES iz Francije. S posamezno metodo smo testirali 20 vzorcev čebel delavk iz 20 različnih čebeljih družin, pri katerih smo predhodno s klasično metodo RT-PCR ugotovili pozitiven rezultat na virus akutne paralize čebel (ABPV) ali virusa deformiranih kril (DWV). V 19 vzorcih smo ugotovili razmeroma nizko število kopij ABPV in sicer manj kot 8.8×10^3 kopij/5 μ l, v enem od vzorcev pa smo ugotovili zelo veliko število kopij ABPV, 1.05×10^9 kopij/5 μ l. V vzorcih, preiskanih na DWV, smo dokazali od 2 kopij/5 μ l do 1.33×10^{11} kopij/5 μ l. Podobne postopke bomo razvili še za diagnostiko preostalih štirih čebeljih virusov ter tako izboljšali interpretacijo rezultatov z navajanjem količine posameznega virusa v povezavi z različnimi kliničnimi slikami pri čebelah.

Ključne besede: čebelji virusi; kvantifikacija; real-time RT-PCR; ABPV; DWV

Uvod

Virusne okužbe čebel dobivajo vse večjo pozornost v povezavi s prezgodnjim umiranjem, izginjanjem, pogostejšim obolevanjem in številnimi naporji za ohranjanje zdravih čebeljih družin. Čebele so pomembni opraševalci rastlin in proizvajajo čebelje pridelke, ki imajo številne blagodejne učinke za človekovo zdravje. Čebelji virusi lahko povzročijo zelo hudo klinično sliko obolenja, s paralizo in odmrtnjem celotne čebelje družine v času poletja, kot je to primer pri okužbi z virusom kronične paralize čebel (CBPV) ali pa skrajšano življenjsko dobo zaradi prizadetosti posameznih čebel, ki je posledica okužbe z virusom deformiranih kril (DWV). Drugi čebelji virusi povzročajo blage, do klinično nezaznavne oblike okužbe in so zelo pogosto ugotovljeni v čebelji družini (1, 2). Pri zdravih čebelah pogosto ugotovimo virus črnih matičnikov (BQCV) in pred kratkim ugotovljeni virus Lake Sinai virus (LSV). Število ugotovljenih različnih virusov pri čebelah je največje pri čebelah delavkah in je pogosto povezano z hudo invadiranostjo čebelje družine z varojo (1, 3). Nekatere študije zadnjih let kažejo, da je klinična slika pri nekaterih čebeljih virusih lahko bolj izrazita pri čebelah z ugotovljenim višjim številom kopij virusa v primerjavi z nizkim številom kopij virusa pri zdravih čebelah. Metoda RT-PCR v realnem času nam z uporabo specifičnih oligonukleotidnih začetnikov, TaqMan sonde in uporabo razredčin standarda z znanim številom kopij, omogoča določitev natančnega števila kopij v preiskovanih vzorcih čebel. Namen študije je uvedba dveh novih laboratorijskih metod v diagnostiko čebeljih virusov, ki omogočata določitev števila kopij posameznega virusa v preiskovanem vzorcu.

Materiali in metode

Iz posameznega vzorca (10 čebel delavk) smo pripravili suspenzijo, s homogenizacijo čebel v 5 ml minimalnega gojišča (RPMI-1640, Gibco). Za izolacijo RNA smo uporabili komercialni komplet (QIAamp® viral RNA Mini, Qiagen Nemčija). Dokazovanje nukleinske kisline dveh čebeljih virusov (ABPV, DWV) smo izvedli s klasično metodo RT-PCR po predhodno opisanem protokolu (1). 20 pozitivnih vzorcev na virus ABPV in DWV smo vključili v kvantifikacijo z metodo RT-PCR v realnem času. Poleg testiranih vzorcev smo v preiskavo vključili

6 razredčitev standarda $G9=10^9$ kopij/5 μ l, ki smo ga pridobili iz Evropskega referenčnega laboratorija (ANSES, Francija). Pripravili smo 10x serijske razredčitve klona G9 od 10^{-2} do 10^{-7} za ABPV (standard pB2) in za DWV (standard pC1), in razredčitve testirali skupaj z preiskovanimi vzorci v istem izvajanju testa. Za izvedbo metode RT-PCR v realne časa smo uporabili QuantiNova Probe RT-PCR Kit (Qiagen, Nemčija), ki vsebuje interno kontrolo in oligonukleotidne začetnike ABPV1 (20 pmol/ μ l), ABPVRn (20 pmol/ μ l) in ABPVnTaq sondo (10 pmol/ μ l) (1, 4) ter oligonukleotidna začetnika DWV F (20 pmol/ μ l), DWV R (20 pmol/ μ l) in DWV Taq sondo (10 pmol/ μ l) (EURL, ANSES, Francija). Pomnoževanje smo izvajali na aparaturi Mx3005P (Stratagene, CA, USA), s temperaturnim programom pomnoževanja: 20 min na 50 °C, 2 min na 95 °C in 45 cikli 15 sek na 95 °C, 30 sek na 60 °C, 30 sek na 60 °C. Iz dobljenih vrednosti Ct in umeritvenih krivulj posameznega standarda smo določili število kopij virusa v posameznem vzorcu.

Rezultati

Z uvedenima metodama RT-PCR v realnem času smo v vseh testiranih vzorcih dobili vrednosti Ct za ABPV in DWV in tako potrdili pozitivne rezultate klasične metode RT-PCR. Pri pozitivnih vzorcih na ABPV smo dobili vrednosti Ct od 18,99 do 36,50. Pri 19 od 20 testiranih pozitivnih vzorcev na ABPV smo ugotovili višjo vrednost Ct od 30. Pri pozitivnih vzorcih na DWV smo dobili vrednosti Ct od 9,26 do 35,67, s tem da smo ugotovili večjo razpršenost vrednosti Ct. Iz umeritvene krivulje posameznega standarda smo določili število kopij virusa na 5 μ l vzorca in sicer za ABPV od 3.32 kopij do 1.05×10^9 kopij. V 19 od 20 vzorcev smo ugotovili zelo nizko število kopij, manj kot 8.8×10^3 kopij/5 μ l, medtem ko smo pri pozitivnih vzorcih na DWV ugotovili od 2 kopiji do 1.33×10^{11} kopij/5 μ l vzorca.

Razprava

Za potrebe kvantifikacije čebeljih virusov smo, s pomočjo uporabljenega standarda, uspešno določili standardno krivuljo za virusa ABPV in DWV, iz katerih smo izračunali število kopij virusa za posamezni testirani vzorec. Pri vseh vzorcih smo tudi z metodo RT-PCR v realnem času pričakovano ugotovili pozitiven rezultat, vendar smo s to metodo lahko določili tudi število kopij posameznega virusa v testiranem vzorcu. Število kopij nukleinskih kislin posameznega virusa se je v testiranih vzorcih močno razlikovalo med seboj, česar ne moremo določati s klasično metodo RT-PCR. Tako pri ABPV, kot tudi pri DWV smo določili po en vzorec, ki je zelo odstopal z ugotovljeno veliko količino virusa v vzorcu. Pri ABPV je ta znašala $1,05 \times 10^9$ kopij/5 μ l, pri DWV pa $1,33 \times 10^{11}$ kopij/5 μ l. Pri ABPV smo vzorec odvzeli od klinično zdravih čebel, vzorec DWV pa je iz čebelnjaka v katerem je odmrlo 8 čebeljih družin. Metoda lahko zazna tudi zelo majhno število kopij virusa, saj smo najnižjo število kopij določili pri 2 kopijah virusa/5 μ l. Pri večini pozitivnih vzorcev na ABPV smo ugotovili razmeroma nizke količine virusa, $8,8 \times 10^3$ in manj, kar je pričakovano, saj smo večina testiranih vzorcev odbrali v klinično zdravih čebeljih družinah. Pri pozitivnih vzorcih na DWV smo ugotovili zelo različno število kopij virusa, kar kaže na različno okužene vzorce čebel s tem virusom. Interpretacijo rezultatov bi bilo mogoče podati tudi s številom kopij na posamezno čebelo. Vsekakor bo potrebno testirati večje število vzorcev, z različnimi kliničnimi slikami, da bomo pridobili dovolj izkušenj za natančnejšo interpretacijo rezultatov. Uvedeni metodi za kvantitativno določanje števila kopij sta uporabni tudi za testiranje vzorcev varoj ali drugih vrst vzorcev. V laboratoriju želimo uvesti metode RT-PCR za kvantifikacijo skupno šestih različnih čebeljih virusov, kar bo izboljšalo naše raziskave in omogočilo tudi hitrejše testiranje rutinskih vzorcev na čebelje viruse. Prav tako bodo te uvedene metode nadgradile interpretacijo rezultatov pri okužbah s čebeljimi virusi.

Reference

1. Toplak I, Rihtarič D, Jamnikar Ciglencečki U, Hostnik P, Jenčič V, Barlič Maganja D. Detection of six honeybee viruses in clinically affected colonies of carniolan gray bee (*Apis mellifera carnica*). *Slov Vet Res* 2012; 49: 89-96.
2. Toplak I, Šimenc L, Kuhar U, Jamnikar Ciglencečki U. First detection of Lake Sinai virus in honeybees and bumblebees in Slovenia. In: *Abstracts*, 11th International Congress of Veterinary Virology, Montpellier, 2018. Vienna: European Society for Veterinary Virology. 2018, str. 15. <http://www.esvv2018.eu/Scientific-programme/>.

3. Jamnikar Ciglencečki U, Pislak Metka, Jenčič V, Toplak I. Seasonal variations of four honey bee viruses in pupae, hive and forager bees of carniolan gray bee (*Apis mellifera carnica*). *Slov. Vet. Res.* 2014: 131-140.
4. Jamnikar Ciglencečki, U., Toplak, I. Development of a real-time RT-PCR assay with TaqMan probe for specific detection of acute bee paralysis virus (ABPV). *J Virol Methods* 2012; 184: 63–68.

Introduction of two real-time RT-PCR methods for quantification of acute bee paralysis virus (ABPV) and deformed wing virus (DWV) in tested honeybee samples

Two new real-time PCR methods for quantification of honeybee viruses have been introduced in laboratory in order to improve the diagnostics of honeybee viruses. Severity of clinical signs and disability of honeybee colony is connected to the copy number of individual honeybee viruses in samples. Two real-time RT-PCR methods with serial dilutions of specific plasmid clone were adopted from protocols of European Union Reference laboratory for honeybee health (ANSES). Twenty honeybee samples, originated from 20 different colonies, which have been positive for acute bee paralysis virus (ABPV) or deformed wing virus (DWV) with classical RT-PCR methods have been tested. The copy number of ABPV was less than 8.8×10^3 copies/5 μ l in 19 of 20 tested samples, while in one sample high number of ABPV copies, 1.05×10^9 copies/5 μ l was detected. In positive samples for DWV from 2 copies/5 μ l to 1.33×10^{11} copies/5 μ l, were detected. Similar quantification methods will be implemented also for other four honeybee viruses to improve the interpretation of results with quoting of the copy number of individual honeybee viruses in connection with clinical signs in honeybees.

Keywords: honeybee viruses; quantification; real-time RT-PCR; ABPV; DWV

Prisotnost šestih čebeljih virusov pri kranjskih čebelah delavkah (*Apis mellifera carnica*), vzorčenih na cvetočih travnikih

Ivan Toplak^{1*}, Danilo Bevk², Laura Šimenc¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

² Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za raziskave organizmov in ekosistemov, Ljubljana, Slovenija

*ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Čebelji virusi se uvrščajo med pomembnejše patogene mikroorganizme, ki ogrožajo zdravje in dobro počutje čebel. Na 15 različnih lokacijah po Sloveniji smo vzorčili skupno 150 čebel delavk in jih testirali s specifičnimi metodami RT-PCR za ugotavljanje šestih različnih vrst čebeljih virusov. Čebele delavke so bile pozitivne na virus akutne paralize (ABPV = 53,3 %), virus črnih matičnikov (BQCV = 100 %), virus kronične čebelne paralize (CBPV = 6,6 %), virus deformiranih kril (DWV = 13,3 %), virus Lake Sinai (LSV = 86,6 %) in virus mešičkaste (SBV = 53,3 %). Ta študija je pokazala velik pomen naključnega vzorčenja klinično zdravih čebel delavk za boljše razumevanje kompleksnosti virusnih okužb in razširjenosti različnih virusov pri čebelah.

Ključne besede: medonosna čebela; naključno vzorčenje; čebelji virusi; RT-PCR; dokazovanje

Uvod

Medonosne čebele (*Apis mellifera*) spadajo med najpomembnejše opraševalce in so pomembne za zagotavljanje raznovrstnosti človekove prehrane, čebeljih pridelkov, prav tako so čebele družine pomemben biološki pokazatelj zdravega okolja. Čebelarji se v zadnjih desetletjih soočajo z povečanimi izgubami čebeljih družin, prav tako pa se zmanjšujejo populacije divjih opraševalcev. To je verjetno posledica več dejavnikov in sicer pomanjkanja hrane, pesticidov in bolezni. Virusne okužbe čebel lahko prizadenejo vitalnost čebelje družine in v določenih primerih pomembno prispevajo k prezgodnjemu umiranju čebel. V treh študijah pojavljanja petih čebeljih virusov med leti 2007 in 2015 smo dokazali prisotnost virusa akutne paralize (ABPV) v 26,4 do 40 %, virusa črnih matičnikov (BQCV) v 83,3 do 88,8 %, virusa kronične paralize (CBPV) v 12,7 do 18,3 %, virusa deformiranih kril (DWV) v 56,3 do 76,9 % in virusa mešičkaste zalege (SBV) v 2,5 do 8,3 % vzorcih pregledanih čebeljih družin (1, 2, 3). V čebeljih družinah je z virusi najmanj okužena zalega, pri pašnih čebelah pa je odstotek pozitivnih vzorcev veliko višji, kar dokazuje, da se večina čebel okužuje horizontalno (4). Pred kratkim smo pri nas prvič dokazali prisotnost virusa Lake Sinai (LSV) pri čebelah in čmrljih (5).

V Sloveniji smo izvedli že nekaj študij, ki so zajemale ugotavljanje čebeljih virusov v prizadetih čebeljih družinah, manj pa je znanega o razširjenosti čebeljih virusov pri naključnem vzorčenju v klinično zdravih čebelah delavkah. Namen izvedene študije je ugotoviti razširjenost šestih čebeljih virusov pri zdravih čebelah delavkah, ki smo jih vzorčili na travnikih na 15 različnih lokacijah po Sloveniji.

Materiali in metode

V juniju in avgustu leta 2017 in 2018 smo odvzeli skupno 150 klinično zdravih čebel na 15 lokacijah po Sloveniji (Primorska, Dolenjska, Gorenjska, Štajerska in območje Ljubljane). Na posamezni lokaciji smo v istem dnevu naključno vzorčili po 10 živih čebel delavk, ki smo jih ujeli z lovko na cvetovih na travnikih. V laboratoriju smo 10 čebel delavk iz iste lokacije združili v skupni vzorec in pripravili suspenzijo s homogenizacijo v 10 ml minimalnega gojišča (RPMI-1640, Gibco). Za izolacijo RNA iz preiskovane suspenzije posameznega vzorca smo uporabili komercialni komplet (QIAamp® viral RNA Mini, Qiagen Nemčija). Dokazovanje nukleinske kisline šestih čebeljih virusov (ABPV, BQCV, CBPV, DWV, LSV in SBV) smo izvedli z metodo RT-PCR po predhodno

opisanih protokolih (Toplak in sod., 2012, Ravoet in sod., 2015). Za določitev specifične velikosti produkta RT-PCR (452 nukleotidov za ABPV, 700 nukleotidov za BQCV, 570 nukleotidov za CBPV, 504 nukleotidov za DWV, 824 nukleotidov za SBV in 603 nukleotidov za LSV) smo uporabili metodo elektroforeze v 1,8 % agaroznem gelu. Posamezne vzorce smo interpretirali kot pozitivne oziroma negativne, glede na pričakovano velikost produkta RT-PCR.

Rezultati

Pri pregledanih čebelah delavkah smo v vzorcih na posamezni lokaciji istočasno ugotavljali od dva do štiri različne čebelje viruse. Za BQCV in LSV smo ugotovili, da sta prisotna v zelo visokem odstotku (100 % in 86,6 %) zdravih čebel delavk. ABPV in SBV smo ugotovili pri 53,3 %, DWV pri 13,3 % in CBPV pri 6,6 % pregledanih vzorcev (Tabela 1).

Tabela 1. Rezultati ugotavljanja prisotnosti šestih čebeljih virusov pri zdravih čebelah delavkah, ki smo jih vzorčili na travnikih na 15 različnih lokacijah po Sloveniji.

Oznaka lokacije	ABPV	BQCV	CBPV	DWV	LSV	SBV
Lokacija 1	poz.	poz.	neg	neg.	poz.	neg.
Lokacija 2	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	poz.
Lokacija 3	poz.	poz.	neg.	neg.	poz.	poz.
Lokacija 4	poz.	poz.	neg.	neg.	poz.	neg.
Lokacija 5	poz.	poz.	poz.	poz.	neg.	neg.
Lokacija 6	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	poz.
Lokacija 7	poz.	poz.	neg.	neg.	poz.	poz.
Lokacija 8	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	poz.
Lokacija 9	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	neg.
Lokacija 10	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	poz.
Lokacija 11	poz.	poz.	neg.	neg.	neg.	neg.
Lokacija 12	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	neg.
Lokacija 13	poz.	poz.	neg	neg.	poz.	poz.
Lokacija 14	poz.	poz.	neg.	poz.	poz.	poz.
Lokacija 15	neg.	poz.	neg.	neg.	poz.	neg.
	53,3 %	100,0%	6,6%	13,3%	86,6%	53,3 %

Razprava

Dosedanje študije ugotavljanja čebeljih virusov v Sloveniji so bile izvedene z vzorčenjem predvsem v klinično prizadetih čebeljih družinah, v znanih čebelnjakih, manj pa je znanega glede razširjenosti virusnih okužb pri naključnem vzorčenju zdravih čebel v naravi. Posebnost te študije je ta, da smo vzorce zdravih čebel zbrali na cvetočih travnikih posamezne lokacije, ker se čebele z različnimi virusi zelo verjetno tudi medsebojno okužujejo. Pri tem ugotavljamo, da so vzorčene čebele na travnikih okužene z ABPV in BQCV v podobnih odstotkih, kot smo jih ugotavljali v klinično prizadetih čebeljih družinah, iz česar lahko sklepamo, da ta dva virusa manj prizadeneta delovno sposobnost čebel. Prav tako ugotavljamo visok odstotek pozitivnih vzorcev na virus LSV, ki smo ga v Sloveniji pred kratkem prvič ugotovili, kar kaže na veliko razširjenost in verjetno majhno patogenost tega virusa. Pri DWV in CBPV je ugotovljen odstotek pozitivnih čebel veliko nižji, kot smo ugotavljali v predhodnih študijah, kar sovпада z dobro poznano večjo patogenostjo teh dveh virusov in posledično zmanjšano sposobnost pašne dejavnosti prizadetih čebel, zaradi različnih stopenj paralize in deformacije kril. Nepričakovano visok odstotek pozitivnih vzorcev na SBV pri čebelah delavkah na travnikih, ki je tudi za 10 krat višji od tistih, ki smo jih ugotavljali v čebelnjakih, je presenetljiv, čeprav je iz literature poznano, da so čebele delavke le prenašalke tega

virusa, klinično oboleva in odмира pa le čebelja zalega. Temu virusu bi bilo v prihodnje potrebno v raziskavah prav gotovo posvetiti več pozornosti. Čeprav smo v študijo zajeli le manjše število vzorcev, so rezultati, glede na prejšnje študije, zelo zanimivi in pomembni ter prispevajo k boljšemu poznavanju razširjenosti virusnih okužb pri čebelah. Rezultati te preliminarne študije kažejo na pomen naključnega vzorčenja na večjem številu lokacij in potrebo po vključitvi v testiranje še drugih vrst divjih oprasovalcev. To bi šele podalo natančnejšo sliko o dejanski razširjenosti čebeljih virusov in ovrednotilo njihov vpliv na preživetje različnih vrst oprasovalcev, tudi naše kranjske čebele.

Reference

1. Toplak I, Rihtarič D, Jamnikar Ciglencečki U, Hostnik P, Jenčič V, Barlič Maganja D. Detection of six honeybee viruses in clinically affected colonies of carniolan gray bee (*Apis mellifera carnica*). *Slov. Vet. Res.* 2012; 49: 89-96.
2. Toplak I, Zabavnik Piano J, Pislak Ocepek M. Ugotavljanje prisotnosti petih čebeljih virusov v vzorcih obolelih čebeljih družin v letu 2010. Ljubljana: Nacionalni veterinarski institut, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, November, 2010: 1-48.
3. Toplak I, Rihtarič D, Pislak Ocepek M, Jurič A, Vraničar Novak A, Planinc I, Matavž L, Jenko Rogelj M, Škof M, Skerbiš S, Lešnik V, Jenčič V, Malovrh T. Poročilo u ugotavljanju petih čebeljih virusov v čebeljih družinah v letu 2015 v Sloveniji. Ljubljana: Nacionalni veterinarski institut, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, December, 2010: 1-18.
4. Jamnikar Ciglencečki U, Pislak Metka, Jenčič V, Toplak I. Seasonal variations of four honey bee viruses in pupae, hive and forager bees of carniolan gray bee (*Apis mellifera carnica*). *Slov. Vet. Res.* 2014: 131-140.
5. Toplak I, Šimenc L, Kuhar U, Jamnikar Ciglencečki U. First detection of Lake Sinai virus in honeybees and bumblebees in Slovenia. In: *Abstracts*, 11th International Congress of Veterinary Virology, Montpellier, 2018. Vienna: European Society for Veterinary Virology. 2018, str. 15. <http://www.esvv2018.eu/Scientific-programme/>.

The presence of six honeybee viruses in Carniolan honeybees (*Apis mellifera carnica*) sampled in flowering meadows

Among honeybee pathogens, viruses are one of the major threats to the health and well-being of honeybees. 150 individual honeybee workers were collected from 15 different locations in Slovenia and tested by specific RT-PCR methods for detection of six different honeybee viruses. Honeybee workers were positive for acute bee paralysis virus (ABPV=53,3 %), black queen cell virus (BQCV=100 %), chronic bee paralysis virus (CBPV=6,6 %), deformed wing virus (DWV=13,3%), Lake Sinai virus (LSV=86,6 %) and sacbrood bee virus (SBV=53,3%). This study revealed the importance of randomly sampling of clinically healthy honeybee workers for better understanding of complex of virus infections in honeybees and the prevalence of different viruses.

Key words: honeybee; randomly sampling; honeybee viruses; RT-PCR; detection

Določitev celotnih genomov in filogenetska analiza astrovirusov pri srnah

Vita Čivnik^{1*}, Urška Kuhar², Urška Jamnikar Ciglencečki¹

¹ Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija

² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta UL, Ljubljana, Slovenija

*vita_civnik@hotmail.com

Predstavniki družine *Astroviridae* povzročajo drisko in enteritis pri številnih vrstah sesalcev in nekaterih vrstah ptic, v posameznih primerih pa astroviruse (AstV) najdemo tudi izven črevesja. Za AstV sta značilni široka genetska variabilnost ter možnost rekombinacijskih dogodkov med AstV različnih živalskih vrst, poraja pa se tudi vprašanje o zoonotskem prenosu. V izvedeni študiji smo z metodo sekvenciranja naslednje generacije Ion Torrent prvič določili celotno zaporedje dveh genomov AstV pri srnah (SLO/D5-14 in SLO/D12-14). Filogenetska analiza aminokislinskega zaporedja v regiji ORF2 in primerjava z drugimi AstV sta pokazali sorodnost SLO/D5-14 in SLO/D12-14 s sevoma pri srnah, odkritima na Danskem (CcAstV-1 in CcAstV-2). SLO/D5-14 je najbolj soroden CcAstV-1 in se od njega na aminokislinskem nivoju razlikuje za 15%, SLO/D12-14 pa je najbolj soroden sevu CcAstV-2 in se od njega na aminokislinskem nivoju razlikuje za 3,9%. Na filogenetskem drevesu sevi AstV pri srnah tvorijo gručo z govejimi sevi in se od njih na nivoju aminokislin razlikujejo od 16,7% do 28%. Temeljito poznavanje virusov pri divjadi je pomembno, saj narava rokovanja z divjačinskim mesom povečuje možnosti kontaminacije mesa s črevesno vsebino in možnimi patogenimi mikroorganizmi, ki se tam nahajajo.

Ključne besede: astrovirusi; srne; celoten genom; filogenetska analiza; NGS

Uvod

Astrovirusi (v nadaljevanju AstV) so uvrščeni v družino *Astroviridae*. So majhni virusi brez ovojnice, ki imajo pozitivno orientirano RNA. Odkrili so jih v črevesni vsebini ali iztrebkih mnogih živalskih vrst in pri ljudeh. Večinoma je njihova patologija povezana z gastroenteritisom; pri pticah pa povzročajo hepatitis in nefritis. V zadnjih letih se pojavlja vse več opisov astrovirusnih okužb centralnega živčnega sistema pri živalih in ljudeh. Družina *Astroviridae* je razdeljena na dva rodova – *Mamastrovirus* in *Avastrovirus*. V družino *Mamastrovirus* so uvrščeni genotipi sesalčjih, v družino *Avastrovirus* pa genotipi ptičjih astrovirusov (De Benedictis in sod., 2011). Trenutna ICTV (angl. International Committee on Taxonomy of Viruses) razvrstitev, glede na genetsko analizo regije, ki kodira kapsidni protein na nivoju aminokislin, deli družino *Mamastrovirus* na dve genetski skupini (angl. genogroups). Znotraj teh dveh skupin je razvrščenih 19 različnih virusnih vrst. Veliko virusnih vrst pa je še neuvrščenih in med te spadajo predvsem goveji virusni sevi in tudi sevi ugotovljeni pri srnah. Virusi iz rodu *Avastrovirus* so prav tako razdeljeni v dve genetski skupini (Donato in Vijaykrishna, 2017). Genom AstV vsebuje 5' in 3' nekodirajoči regiji (NTRs), poliadenilirani rep (poliA(a)) in tri odprte bralne okvirje (angl. open reading frames, ORFs): ORF1a, ORF1b in ORF2, v smeri od 5' do 3' konca genoma. Med ORF1a in ORF1b je premik bralnega okvirja (Mendez in Arias, 2007).

AstV pri srnah je bil prvič izoliran in okarakteriziran leta 2010 na Danskem in je hkrati tudi edini opis teh virusov pri srnah. V vzorcih blata desetih za gastroenteritisom obolelih srn so dokazovali prisotnost bakterij, parazitov in virusa bovine virusne diareje (BVD), a rezultati vseh preiskav so bili negativni. Tako so Smits in sod. (2010) prvič dokazali AstV pri srni. Opisali so le del genoma dveh virusnih sevov in ju poimenovali CcAstV-1 in CcAstV-2 (Smits in sod., 2010).

Materiali in metode

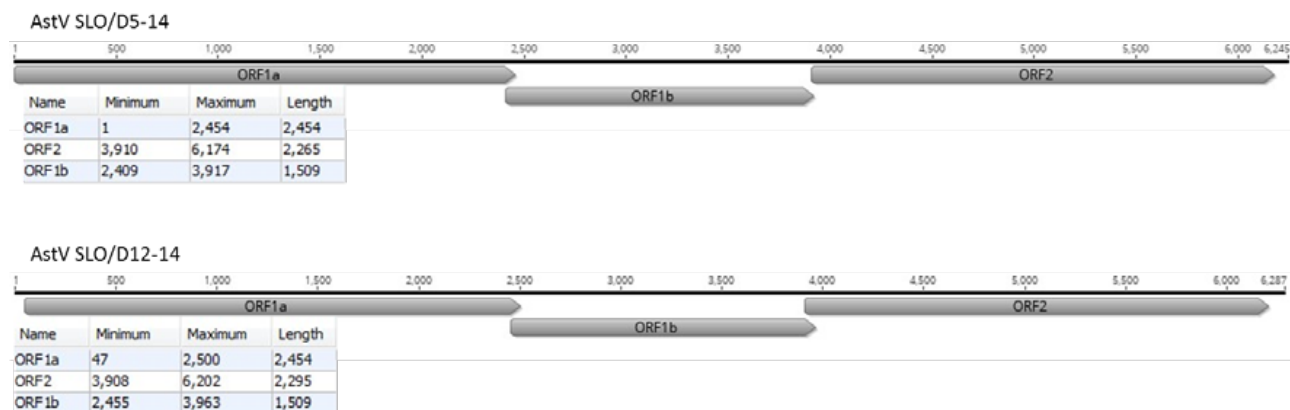
Med julijem 2014 in oktobrom 2015 je v Sloveniji potekala raziskava o spremljanju prisotnosti nekaterih enteričnih virusov pri divjadi. V raziskavi smo z metodo RT-PCR v vzorcih blata srnjadi dokazali tudi prisotnost nukleinske kisline AstV.

Za določitev celotnih genomov AstV smo uporabili metodo sekvenciranja naslednje generacije (NGS). Iz dveh vzorcev suspenzij blata (D5/14, D12/14) smo z reagentom TRIzol™ (Invitrogen, Carlsbad, ZDA) izolirali virusno RNA. Sledila je sinteza dvojnovijačne cDNA s kompletom cDNA Synthesis System (Roche, Mannheim, Nemčija) in fragmentacija cDNA s Covaris® M220 Focused-ultrasonicator™. Za pripravo NGS knjižnice smo uporabili komplet reagentov GeneRead™ DNA Library L Prep Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Koncentracijo knjižnic NGS smo opredelili s kvantitativnim PCR (GeneRead Library Quant Kit, Qiagen) in fluorimetrijo (Qubit 3.0). Tako pripravljene knjižnice smo sekvencirali s tehnologijo Ion Torrent na platformi Ion PGM (Thermo Fisher Scientific, ZDA).

Pridobljene odčitke (angl. reads) smo analizirali z *de novo* sestavljanjem odčitkov v soseske (angl. contigs) s programom SPAdes. Z algoritmom BLASTN smo nukleotidna zaporedja sosesk primerjali z zaporedji v podatkovni zbirki NCBI GenBank. Program Geneious smo uporabili za analizo AstV genomov. Za filogenetske analize pa smo uporabili program MEGA, verzija 7. Nukleotidna zaporedja AstV genomov smo najprej prevedli v aminokislinska, ki smo jih nato poravnali s programom Muscle. Za posamezne pare aminokislinskih zaporedij smo na podlagi modela *p*-distance izračunali genetske razdalje. Filogenetska drevesa smo poiskali z uporabo metode največjega verjetja (angl. Maximum Likelihood, ML). Za iskanje dreves smo uporabili evolucijski model LG(+freq F)+G. Z metodo samovzorčenja (angl. bootstrapping) s 1000 ponovitvami smo ocenili zanesljivost filogenetskih dreves.

Rezultati

Z metodo NGS smo uspešno določili zaporedje dveh genomov AstV pri srnah. Z algoritmom BLASTN smo določili dve soseski, ki predstavljata AstV genoma, in sicer AstV SLO/D5-14 in AstV SLO/D12-14. Dolga sta 6.245 nt in 6.265 nt in imata značilno organizacijo genoma astrovirusov, in sicer tri odprte bralne okvirje (angl. open reading frames, ORFs): ORF1a, ORF1b in ORF2, v smeri od 5' do 3' konca genoma ter premik bralnega okvirja med ORF1a in ORF1b (Slika 1). Opravili smo filogenetske analize aminokislinskega zaporedja ORF2. Rezultati kažejo, da slovenska seva AstV pri srnah uvrščamo v genetsko skupino, v katero spadajo predvsem goveji sevi AstV in tudi dva seva AstV pri srnah, ki so sicer glede na ICTV še neuvrščeni (Slika 2). Na podlagi filogenetske analize smo ugotovili, da sta slovenska seva AstV pri srnah najbolj sorodna sevom AstV pri srnah z Danske (CcAstV-1 in CcAstV-2). Sev SLO/D5-14 je najbolj soroden sevu CcAstV-1 in se od njega na nivoju aminokislin razlikuje za 15%, medtem ko je sev SLO/D12-14 najbolj soroden sevu CcAstV-2 in se od njega na nivoju aminokislin razlikuje za 3,9%. Zaporedji aminokislin ORF2 slovenskih AstV sevov se med seboj razlikujeta za 24%. Ugotovili smo tudi, da na filogenetskem drevesu sevi AstV pri srnah tvorijo gručo z govejimi sevi in se od njih na nivoju aminokislin razlikujejo od 16,7% do 28%.

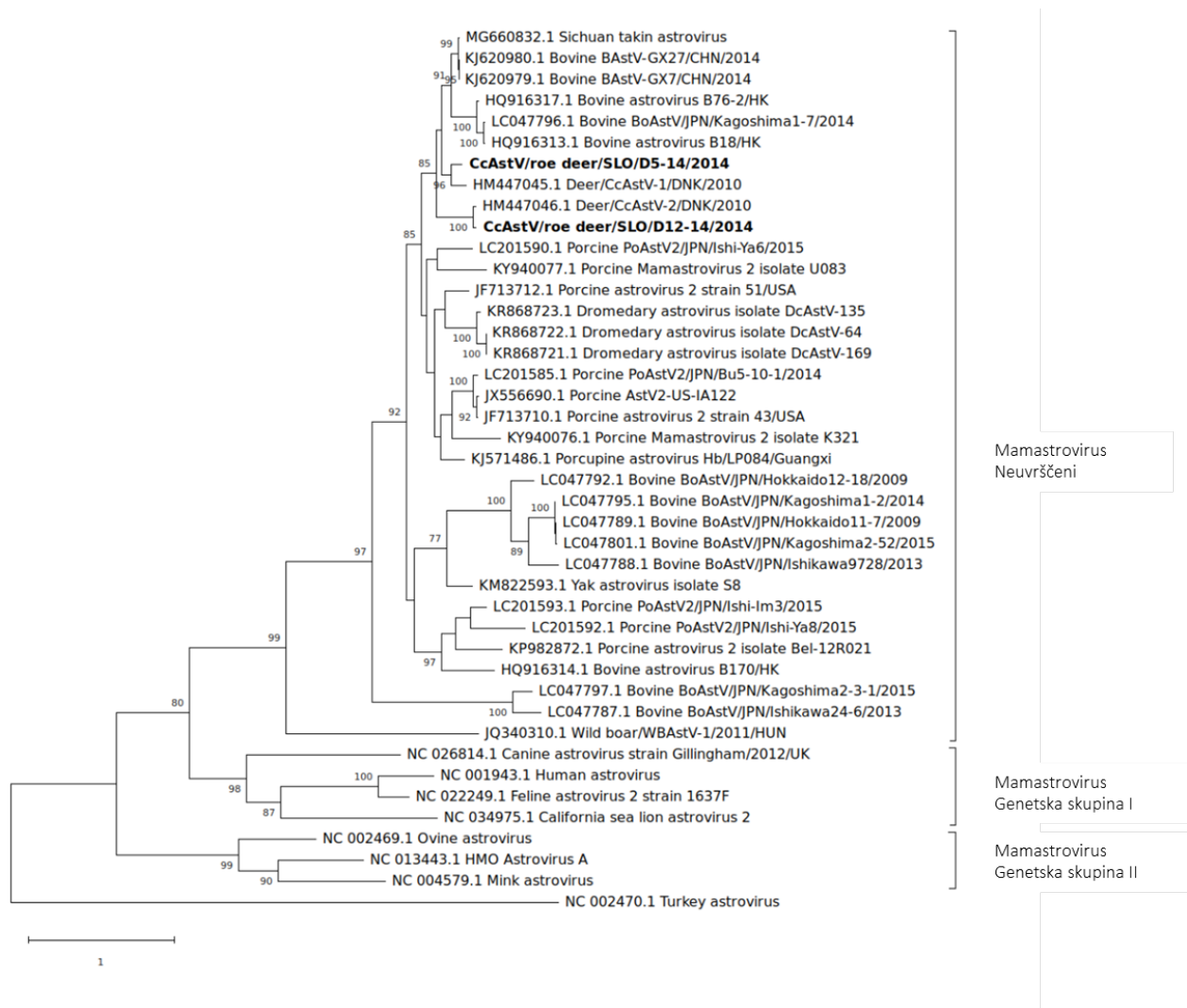


Slika 1: Organizacija genomov AstV SLO/D5-14 in SLO/D12-14

Razprava

Do sedaj so bili predmet raziskav predvsem človeški AstV in AstV domačih živali, le malo pa je znanega o tovrstnih okužbah pri divjih živalih, vključno s srnami. Za AstV sta značilni široka genetska variabilnost in možnost rekombinacijskih dogodkov. Rekombinacijski dogodki so opisani med AstV različnih živalskih vrst, tudi med divjimi in domačimi živalmi, hkrati pa se poraja pomembno vprašanje o sposobnosti rekombinacije živalskih AstV s človeškimi, kar bi lahko vodilo do obolenj pri ljudeh (De Benedictis in sod., 2011). Srnjad je razširjena po celotni Sloveniji. Najbolje se počuti v gozdovih, ki so obkroženi s travniki, pašniki ter njivami, dandanes pa se je prilagodila tudi življenju na odprtih poljih. Je najštevilčnejša divjad v Sloveniji, lovci jo lovijo zaradi mesa in kože, srnjake pa zaradi rogov, ki predstavljajo trofejo. Zaradi načina rokovanja z odstreljeno divjadjo se poveča možnost kontaminacije mesa in okolja s patogenimi mikroorganizmi iz črevesja, zato je še posebej pomembno, da te patogene poznamo ter preprečimo morebitni prenos na domače živali ali celo ljudi.

AstV seva SLO/D5-14 in SLO/D12-14 sta prva celotna genoma AstV opisana pri srnah. Ugotovili smo, da sta najbolj sorodna sevom AstV pri srnah z Danske, kateri so sicer do sedaj tudi edini opisani AstV pri tej živalski vrsti. Na podlagi filogenetske analize, ki je pokazala, da so AstV pri srnah sorodni tudi AstV pri govedu, lahko predpostavljamo, da srne predstavljajo morebiten vir okužbe za govedo.



Slika 2: Filogenetsko drevo na nivoju aminokislin v genu ORF2 po metodi ML, 1000 samovzorčenj. Dolžine vej so sorazmerne z genetskimi razdaljami po modelu LG(freqF)+G. Merilo prikazuje razmerje med številom substitucij in dolžino vej. Prikazane so statistične podpore

posameznih cepitev, ki so večje od 70. Slovenski sevi SRLV so označeni krepko. Sevi, pridobljeni iz genske banke, so označeni s kodo GenBank in imenom seva.

Reference

1. De Benedictis P, Schultz-Cherry S, Burnham A, Cattoli G. Astrovirus infections in humans and animals – Molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions. *Infect Genet Evol* 2011; 11: 1529-44.
2. Donato CM, Vijaykrishna D. The Broad Host Range and Genetic Diversity of Mammalian and Avian Astroviruses. *Viruses* 2017; 9: e102 (18 str.)
3. Mendez E, Arias CF. Astroviruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 981-1000.
4. Smits SL, Van Leeuwen M, Kuiken T, Hammer AS, Simon JH, Osterhaus AD. Identification and characterization of deer astroviruses. *J gen Virol* 2010; 91: 2719-22.

Complete genome characterization and phylogenetic analysis of astroviruses in roe deer

Members of the *Astroviridae* family cause diarrhea and enteritis in many mammalian and avian species. There are also reports of extra-intestinal findings of astroviruses (AstVs). High genetic variability and frequent recombination events among different strains are characteristic for AstVs and recently, a concern about the potential zoonotic transmission of AstVs to humans has arisen. In this study, complete genome sequences of two roe deer AstVs (SLO/D5-14 in SLO/D12-14) were determined for the first time by using the method of next generation sequencing (NGS). Phylogenetic analysis of the amino acid sequence of the ORF2 region and comparison with other AstVs have shown that SLO/D5-14 and SLO/D12-14 are closely related to the strains, discovered in Danish roe deer (CcAstV-1 in CcAstV-2). SLO/D5-14 is most closely related to CcAstV-1 with amino acid sequence difference of 15%, whereas SLO/D12-14 is most closely related to CcAstV-2 with amino acid sequence difference of 3,9%. Phylogenetic tree analysis showed clustering with bovine AstVs with 16,7% to 28% difference in amino acid sequence. A thorough understanding of virus diversity in wildlife is important, because the nature of handling game animal meat makes it prone to contamination with bodily excretions and possible pathogenic microorganisms.

Key words: astroviruses; roe deer; complete genome; phylogenetic analysis; NGS

Analysis of tracheal swab of clinically healthy chicken

Bojana Vidović*, Nikolina Novakov¹, Milenko Šekler², Gordana Nedeljković³, Branko Velebit⁴, Ivana Davidov¹

¹ Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia, ² Veterinary Specialist Institute, Department for Laboratory Diagnostic, Kraljevo, Serbia, ³ DVM, MMSc, PhD, Lipanjska 1, Zagreb, Croatia, ⁴ Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia, City

* bojana.vidovic@polj.uns.ac.rs

Infectious bronchitis is a disease affecting chicken of all ages and production types. Symptoms are often absent or mild and the infection can cause high mortality making it economically significant. Virus is transmitted and spread among chicken by air or direct contact. The aim of this study is to analyze tracheal swabs and determine the presence of IBV in healthy individuals. Swabs were randomly collected from a total of 480 chickens of different ages. Analysis of collected swabs revealed 9 positive from a total of 13 pooled samples.

Key words: Tracheal swab, virus IB, chicken

Introduction

Infectious bronchitis (IB; *Bronchitis infectiosa gallinarum*), is frequent, very contagious, and economically important disease of chickens (*Gallus gallus domesticus*). Causative agent is infectious bronchitis virus (IBV) – avian coronavirus (Jackwood and de Wit, 2013). Virus belongs to *Gammacoronavirus* genus (*Nidovirales: Coronaviridae: Coronavirinae*) (Abdel-Moneim, 2017). IB is contagious infection of respiratory, urinary, reproductive, and gastrointestinal (GI) tract of chickens, with specific occurrence in intensive poultry production and is difficult to control. The name of disease originates from most common clinical manifestation; however, IBV is able to infect epithelial cells of other organs e.g. kidney, reproductive organs and different parts of GI tract. Virus is transmitted by inhalation or direct contact with infected animals, litter, equipment or other fomites, personnel of farms or visitors. Vertical transmission of IBV has not been recorded previously, but IBV has been isolated from egg shell surface. IB is recorded in all the countries with intensive poultry production (Jackwood and de Wit, 2013).

Because the IBV is most often transmitted from infected to healthy animals by inhalation, the aim of this study was to determine by tracheal swabs' analysis the prevalence of IBV in healthy chickens.

Materials and Methods

Tracheal swabs were collected from laying hens on two separate occasions, encompassing 7 different locations (farms) and total of 13 units housing flocks of different ages. Total of 480 tracheal swabs were randomly collected from sampled flocks and sterile wooden swab kits (Samplast, Čačak, Serbia) were used, and phosphate saline buffer (PBS, pH 7.4; Sigma-Aldrich, Germany) was additionally added to each swab sample. After short vortexing, swabs were centrifuged and supernatant was collected into the new sterile tube. Pooled samples were prepared by transmitting 6 (1st sampling: 300/6= 50 pooled samples) or 10 (2nd sampling: 180/10= 18 pooled samples) samples into a single sterile tube. The prepared pooled samples were thereafter analyzed by real-time RT-PCR. Ten representative samples were amplified by Nested RT-PCR and submitted to Sanger sequencing.

Results

Tracheal swabs from 480 laying hens were collected from March 2016 till June 2017 and submitted to Virology laboratory of Veterinary Specialist Institute "Kraljevo" for analysis of IBV incidence. Analysis revealed 9 positives

out of 13 pooled samples. All positive pooled samples presented typical sigmoid amplification curves with Ct values in interval of 35-40.

Positive pool samples were further broken into individual samples, and acquired single samples showed Ct values in interval of 28-40 (Figure 1). Representative single samples, 10 in total, were selected for sequencing. Sequencing results revealed that the most common genotype found was D274, followed by 793B (also known as 4/91 or QX).

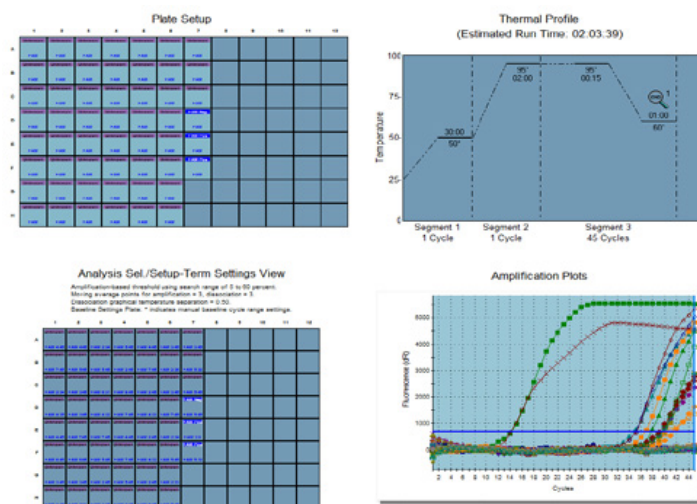


Figure 1. Scheme of amplification of RT-PCR reaction. A blue horizontal line represents a “threshold”. Sigmoid curves represent the kinetics of PCR product amplification in real time.

Discussion

Infectious bronchitis is a disease affecting chicken of all ages and production types. Symptoms are often absent or mild and the infection can cause high mortality making it economically significant. Adult poultry is the most common source of new serotypes of the virus. In young chickens, infectious bronchitis causes respiratory symptoms of the disease while in broilers decreased food conversion, reduced growth, as well as aerosacculitis, pericarditis and perihepatitis. Secondary bacterial infections can often complicate the disease. Certain strains of infectious bronchitis virus cause nephropathogenic changes with mortality up to 25% of the flock, and can cause acute nephritis and urolithiasis. This occurrence was also observed with vaccine and natural strains of the infectious bronchitis virus. As with most RNA viruses, changes in the IB virus genome lead to the generation of several viral genotypes that have altered tissue tropism and different outcomes of the infection (Jackwood et al., 2012). By analyzing the tracheal swab of clinically healthy chickens it can be concluded that there are a large number of clinically healthy individuals that are the IB reservoir.

Reference

1. Abdel-Moneim AS. Coronaviridae: Infectious bronchitis virus. In: Bayry J, eds. Emerging and re-emerging infectious diseases of livestock. Switzerland: Springer Link, 2017: 133-166.
2. Cavanagh D. Coronavirus avian Infectious bronchitis virus. Veterinary research 2007; 38: 281-297.
3. Jackwood MW, Hall D, Handel A. Molecular evolution and emergence of avian gamma corona viruses. Infection, Genetics and Evolution 2012; 12: 1305-1311.
4. Jackwood MW, de Wit S. Infectious bronchitis. In: Swayne DE, eds. Diseases of poultry. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2013: 139-160.
5. Krapez U, Slavec B, Barlic-Maganja D, Rojs OZ. Molecular analysis of infectious bronchitis viruses isolated in Slovenia between 1990 and 2005: A retrospective study. Virus genes 2010; 41: 414-416.

Mortality rate examination of Mandarin ducklings (*Aix galericulata*)

Ivana Davidov*, Vladimir Prokić¹, Nikolina Novakov¹, Bojana Vidović¹, Nada Plavša¹

¹ Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

* ivana.davidov@polj.edu.rs

During March 2017, nine pairs of Mandarin duck were placed in special breeding places where each pair was placed an artificial nest. In order to investigate mortality rate, every dead duckling was subjected to necropsy. During the first ten days of duckling lives 15 from 70 ducklings were died which is 21.43% of all born ducklings in season 2017. By opening the corpse and examining the internal organs fourteen death ducklings were with no macroscopic changes were on the organs. And only in one case was thin, impenetrable yellow fibrin on the serous surfaces of pleuroperitoneal cavity. The yolk sac was not absorbed in thirteen (68.67%) death ducklings and the pathology of yolk sac is dominant pathomorphological finding that has influenced on mortality rate during investigated period in this study.

Key words: Mandarin duckling, mortality, *Aix galericulata*

Introduction

The Mandarin duck is a species that has been well adopted in captivity to different weather conditions. This is a species that is naturally nesting in the cavities of trees high above the ground. Therefore, in conditions of artificial breeding it is necessary to provide the couples with a nest that is placed by a breeder to a height of 35 to 50 cm from the ground. Mandarin duck laid 8 to 12 eggs per nest. Period of egg incubation is 28 to 31 day. After incubations ducklings leave their nest within 24 hours. There are three main causes factor of the mortality of Mandarin duck in the period immediately after born and during the juvenile period: freezing, hunger of duckling and yolk sac pathology. The aim of this study was to find out the mortality rate of Mandarin ducklings within first ten days of their lives.

Materials and Methods

The study was carried out on nine pairs of Mandarin ducks in season 2017. During March 2017, each nine pairs were placed in special breeding places where each pair was placed an artificial nest at height of 50 cm from the ground. All nine pairs were exposed to the same climatic conditions during this period. Eggs of all nine pairs were incubated naturally, throughout the incubation period, which is 28 days for this species. After incubation, all born ducklings were provided with constant access to food and water within 24 hours. In the early days of life, ducklings were placed to cages with cardboard insulation, and the initial temperature was 36°C. With all nine pairs, a successful reproduction were recorded, which implied that at least one duckling was in the litter. In order to investigate mortality rate, every dead duckling was subjected to necropsy. A complete autopsy of each corpse was made, starting from an external examination of the corpse, to the opening and examination of all internal organs. Each corpse was identified by number and photographed at every step of the necropsy examination.

Results

After eggs incubations of nine pair of Mandarin duck, seventy ducklings were born. During the first ten days of duckling lives 15 from 70 ducklings were died which is 21.43% of all born ducklings in season 2017. Death of ducklings within first ten days of their life, were recorded in eight pairs ie in eight litter, while in one litter only mortality was lost during the first ten days. The fifteen death ducklings in this experiment died on the second

day- seven ducklings (46.67%), three ducklings (26.64%) died on the third day, two ducklings (13.33%) died on the fourth day, and one duckling (6.67%) died at first and tenth day. By opening the corpse and examining the internal organs of fourteen death ducklings no macroscopic changes were observed on the organs. Only in one case thin, impenetrable yellow fibrin was found on the serous surfaces of pleuroperitoneal cavity. The yolk sac was not absorbed in thirteen (68.67%) death ducklings. After the opening of the corpse the contents of ingluvies, muscular and glandular stomach, and guts were used to determine the presence of undigested contents in order to obtain results that would indicate whether the mortality rate occurred as a result of starvation, or the absence of beginning food consumption in the first day of life. The absence of undigested contents in digestive tract was confirmed in eleven ducklings (73.33%), while the remains of undigested contents were found in four ducklings (26.67%).

Discussion

Under artificial condition the death of Mandarin duckling in neonatal age is most often caused by the absence of the beginning food taking in the first day of life (1). In this study the absence of undigested contents in digestive tract was confirmed in eleven ducklings, while the remains of undigested contents were found in four ducklings. Second important factor that cause mortality of ducklings is pathology of yolk sac (3). Results in this study shows that yolk sac was not absorbed in thirteen (68.67%) of the total of fifteen death duckling that were included in the experiment. Pathology of yolk sac causes economic damage to the poultry industry (2). The mortality rate of the Mandarin ducklings in this experiment is 21.43%, which represents a significant economic loss in this product. Numerous lesions of examined chickens that died as a consequence of the pathology of yolk sac include unabsorbed and edematous yolk sac (1). The similar lesions were found in this study on death Mandarin ducklings as were the results in study on chickens by Ahmend et al. (2009). Looking at the period of the first ten days of life Mandarin duckling in this study, it could be conclude that the incidence of mortality is highest in the first four days. And by examining the corpse of Mandarin ducklings it can be conclude that the pathology of yolk sac is the dominant pathomorphological finding that has influenced on mortality rate during investigated period in this study.

Reference

1. Ahmed MS, Sarker A, Rahman MM. Prevalence of infectious diseases of broiler chickens in Gazipur district. *Journal of Veterinary Medicine*; 2009, 7: 326-31.
2. Fassenko GM, O Dea EE. Evaluating broiler growth and mortality in chicks with minor navel conditions at hatching. *Poult. Sci.* 2008; 87: 594-97.
3. Kenny D, Cambre RC. Indications and techniques for the surgical removal of the avian yolk sac. *J. Zoolog. Wildlife Med.* 1992; 23 (1): 55-61.

Koncentracija elementov v sledovih v krmi, krvi in mleku krav molznic na območju Zgornje Mežiške Doline

Zlatka Bajc*, Katarina Pavšič Vrtač, Gabrijela Tavčar Kalcher, Jožica Ježek, Jože Starič

Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* zlatka.bajc@vf.uni-lj.si

Ugotavljali smo vsebnost nekaterih elementov v sledovih v krmi, krvi in mleku krav molznic na kmetijah v okolici Mežice. Na šestih kmetijah smo v pomladanskem in jesenskem obdobju odvzeli vzorce krme in krvi ter mleka krav molznic. Določili smo vsebnost železa (Fe), mangana (Mn), cinka (Zn), bakra (Cu), niklja (Ni), kroma (Cr), molibdena (Mo), svinca (Pb), kobalta (Co), arzena (As), živega srebra (Hg) in kadmija (Cd). Rezultati kažejo na pogosto pomanjkanje Cu v obrokih krav molznic, v posameznih primerih pa pomanjkanje Co, Mn in Zn. V nekaterih primerih smo ugotovili povišane vsebnosti Cr, Pb, Cd in Mo, medtem ko vsebnosti Fe, Ni in As niso bile povišane v nobenem primeru. Vsebnosti elementov v obrokih ne presegajo najvišjih dovoljenih vsebnosti v veljavni evropski zakonodaji. Glede na razpoložljive normalne vrednosti elementov v sledovih v literaturi pri kravah ugotavljamo previsoke vrednosti Zn v krvi na vseh kmetijah v jesenskem času in na treh kmetijah v spomladanskem času. Na vseh kmetijah so imele krave v krvi previsoke vsebnosti Mo, razen na eni spomladi. V povprečju je bila vsebnost Mn previsoka v krvi krav na vseh kmetijah, v jesenskem in spomladanskem času. Pb je bil povišan samo na eni kmetiji v jesenskem in spomladanskem času. Mejna vrednost Pb (0,020 mg/kg mokre teže) je bila presežena v petih vzorcih mleka. Ugotovili smo statistično značilne razlike v vsebnostih elementov v mleku spomladi in jeseni, medtem ko jih v obrokih ni bilo.

Ključne besede: govedo; elementi v sledovih; industrijska onesnaženost

Uvod

Elementi v sledovih so lahko esencialni, ter nujno potrebni za normalno delovanje biokemijskih procesov tako pri živalih kot pri ljudeh. Nekateri elementi v sledovih pa so neesencialni, nimajo biološke vloge in so lahko toksični že pri nizkih koncentracijah. Vendar je vsak element lahko toksičen, če je njegov vnos v telo prekomeren. Zgornja Mežiška dolina ima več stoletno tradicijo rudarjenja in predelave Pb, rezultat tega pa je močna obremenjenost okolja s Pb, pa tudi z Zn in Cd. Elementi v sledovih, ki so v okolju, prehajajo v tam rastoče rastline. Na področjih kjer je okolje zaradi industrije onesnaženo tudi s toksičnimi elementi, lahko živali preko krme dobijo večje količine določenih elementov še zlasti, če je krma onesnažena z zemljo. Posledica previsokih vsebnosti toksičnih elementov v krmi je bioakumulacija v tkivih živali, s čimer potujejo po prehranjevalni verigi navzgor. S tem je lahko ogroženo tudi zdravje človeka, ki je na koncu prehranjevalne verige.

Materiali in metode

Na šestih kmetijah iz Mežiške doline smo v mesecu aprilu in mesecu novembru 2017 odvzeli 50 vzorcev krme, iz katerih so sestavljeni obroki za krave molznice. Vzorčili smo vse komponente, ki so jih krmili v obroku na posamezni kmetiji. Istočasno smo odvzeli tudi 124 vzorcev mleka, spomladi 57, jeseni pa 66 vzorcev mleka. Število vzorcev mleka je bilo odvisno od števila krav na kmetiji, od starosti krav in stadija laktacije. Vzorčenje krme smo opravili v skladu z Uredbo Komisije (ES) št. 152/2009 o določitvi metod vzorčenja in analiznih metod za uradni nadzor krme in njenem dopolnilu Uredbi Komisije (EU) št. 691/2013. Za vzorčenje krvi smo uporabili epruvete z K₃EDTA kot antikoagulacijskim sredstvom. Odvzete vzorce voluminozne krme smo homogenizirali, posušili in zmleli z mlinom za mletje voluminozne krme SM 100 (Retsch, Haan, Nemčija). Preostale vzorce, kjer predhodno sušenje ni bilo potrebno, smo homogenizirali in zmleli z ultracentrifugalnim mlinom ZM 100 (Retsch, Haan,

Nemčija). Za pripravo vzorcev smo uporabili razklop v zaprtem mikrovalovnem sistemu (CEM Corporation, Matthews, ZDA in Milestone, Start D, Italija) z dušikovo kislino in vodikovim peroksidom. Raztopine smo primerno razredčili in vsebnost elementov določili z ICP-MS (Varian, Mulgrave, Avstralija). Za razklop smo uporabili reagente čistosti Suprapur (Merck, Darmstadt, Nemčija). Delovne standardne raztopine smo pripravili z ustreznimi multielementnimi standardi (Merck, Darmstadt, Nemčija, in Inorganic Ventures, Lakewood, ZDA). Za določanje As, pri katerem določanje otežujejo poliatomske interference, smo za njihovo odpravo uporabili CRI-modul z vodikom (Varian 810/820-MS, 2007). Vsebnosti elementov v mleku in krvi smo podali v mg/kg svežega vzorca, v obrokih krme pa v mg/kg suhe snovi (mg/kg SS).

Rezultati in razprava

Vsebnosti elementov v sledovih v krmi, krvi in mleku so prikazane v tabelah 1, 2 in 3. Za oceno obrokov smo normalne vsebnosti posameznih elementov v obrokih povzeli po Pulsu (1). statistično značilnih razlik v vsebnosti posameznih elementov v obrokih odvzetih spomladi in jeseni nismo ugotovili. V osmih od dvanajstih obrokov smo ugotovili povišane vrednosti Cr (nad 0,5 mg/kg SS), vendar so bile vrednosti nižje od toksičnih. V treh primerih smo ugotovili povišane vsebnosti Pb nad 1 mg/kg. Vsebnosti Cd in Mo so bile povišane le enkrat. Vsebnosti Fe, Ni in As niso bile povišane v nobenem primeru.

Tabela 1: Vsebnosti elementov v sledovih (mg/kg SS) v pomladanskih in jesenskih obrokih

Element	Pomladanski obrok		Jesenski obrok		p	Normalne vsebnosti v obroku	Esencialnost
	Mediana	min-max	Mediana	min-max			
Fe	119	87,5-147	130	87,8-482	0,589	100-500	Da
Mn	43,0	20,0-101	31,7	21,6-166	0,699	40-200	Da
Zn	37,2	8,02-58,7	32,5	18,5-63,9	0,818	50-100	Da
Cu	7,65	2,24-9,30	5,56	3,73-10,6	0,589	10-25	Da
Ni	0,911	0,402-2,75	0,829	0,513-1,65	0,937	1-10	Verjetno
Cr	0,487	0,373-0,766	0,825	0,347-1,39	0,240	0,1-0,5	Da
Mo	1,27	0,548-4,69	2,19	0,965-3,22	0,310	0,5-3,5	Da
Co	0,155	0,064-0,168	0,143	0,047-0,264	0,699	0,1-1	Da
Pb	0,885	0,369-1,63	0,701	0,411-3,76	1,000	<1	Ne
As	0,051	0,045-0,062	0,079	0,045-0,612	0,093	/	Verjetno
Cd	0,131	0,038-0,192	0,138	0,074-0,725	0,310	0,01-0,5	Ne
Hg	<0,007	-	<0,007	-	-	<0,01-0,1	Ne

Tabela 2: Vsebnosti elementov v sledovih (µg/kg svežega vzorca) v vzorcih krvi odvzetih spomladi in jeseni

Element	Kri pomlad		Kri jesen		Fiziološka vrednost
	Mediana	min - max	Mediana	min - max	
Mn	9,20	5,79-15,4	24,1	9,81-92,1	0,9-6,0
Zn	2000	1250-2730	2340	1480-4450	600-1900
Cu	918	677-1284	1080	960-1250	600-1100
Ni	9,58	2,00-16,9	5,60	1,53-36,4	
Mo	108	12,0-369	211	83,1-642	2,0-35
Cr	27,1	21,3-35,0	41,5	31,6-72,5	
Co	<1,0		<1,0		
Pb	35,6	12,4-111	33,1	9,96-91,4	< 50 (250)

As	<5,0		/		
Cd	5,0		<5,0		
Hg	8,31	7,41-10,2	12,4	0,81-20,8	

Rezultati kažejo, da je med esencialnimi elementi je v obrokih pogosto pomanjkanje Cu, ter občasno tudi Co, Mn in Zn.

Rezultati se ujemajo z rezultati analiz vzorcev travne in koruzne silaže z nekaterih območij Slovenije, kjer so ugotovili, da bi moralo govedo, hranjeno s travno silažo, dobivati dodatek Cu, govedo krmljeno s koruzno silažo, pa še dodatek Zn in Co (2).

Previsoko vsebnost Pb v krvi smo izmerili le na eni kmetiji in sicer v pomladanskem in jesenskem času. Drugače pa smo povišane vsebnosti Pb ugotovili v štirih vzorcih krvi spomladi in dveh vzorcih jeseni. Glede na izmerjene vrednosti Pb leta 2002 (3), se kaže tendenca zniževanja vsebnosti svinca v krvi krav iz tega območja. Glede na razpoložljive normalne vrednosti elementov v sledovih v literaturi (4) pri kravah ugotavljamo previsoke vrednosti Zn v krvi na vseh kmetijah v jesenskem času in na treh kmetijah v pomladanskem času. Na vseh kmetijah so imele krave v krvi previsoke vsebnosti Mo, razen na eni spomladi. V povprečju je bila vsebnost Mn previsoka v krvi krav na vseh kmetijah, v jesenskem in pomladanskem času. Glede nato, da v krmi nismo opazili povišanih vsebnosti Zn, Mn in Mo in ker so normalne vrednosti v krvi krav molznic za številne elemente neznane, ter nekatere določene na osnovi metod, ki danes veljajo za manj natančne, so nadaljnje raziskave na tem področju nujne.

Tabela 3: Vsebnost elementov v sledovih ($\mu\text{g/kg}$ svežega vzorca) v vzorcih mleka odvzetih spomladi in jeseni

Element	Mleko pomlad		Mleko jesen		P
	Mediana	min - max	Mediana	min - max	
Mn	21,0	7,88–35,1	23,2	10,5–50,6	0,016**
Zn	3590	1230–5580	3360	1310–6540	0,855
Cu	31,7	8,44–166	28,2	10,6–135	0,361
Ni	16,9	9,43–29,9	21,7	15,0–76,9	<0,001***
Cr	34,8	14,8–59,80	43,9	27,3–92,1	<0,001***
Co	1,23	0,50–3,34	1,70	0,50–4,70	<0,001***
Pb	5,08	2,65–66,1	4,49	1,20–10,7	0,003**
As	<5,0	-	<5,0	-	-
Cd	<1,0	-	<1,0	-	-
Hg	<5,0	-	<5,0	-	-

Za elemente v mleku ni določenih mejnih vrednosti razen za Pb, ki znaša 0,020 mg/kg svežega vzorca (Uredba komisije št. 1881/2006). Svinec smo zaznali v vseh vzorcih mleka, vendar so bile vsebnosti v večini vzorcev zelo nizke. Mejna vrednost je bila presežena v petih vzorcih. Vsi omenjeni vzorci mleka so bili vzorčeni spomladi in na isti kmetiji. Vsebnost Pb v mleku krav je torej precej nižja kot je bila leta 1995, ko so v bazenskih vzorcih mleka iz kmetij v okolici Mežice določili vsebnost svinca od 0,0133 mg/kg do 0,0333 mg/kg (5). Glede na čas odvzema smo ugotovili statistično značilno razliko v vsebnosti Pb, Co, Cr, Ni in Mn med vzorci mleka odvzetimi spomladi in jeseni.

V nekaterih primerih smo v obrokih ugotovili povišane vsebnosti Cr, Pb, Cd in Mo, vendar vsebnosti elementov v obrokih niso presegale najvišjih dovoljenih vsebnosti v veljavni evropski zakonodaji.

Povišane vsebnosti Pb smo ugotovili v štirih vzorcih krvi spomladi in dveh jeseni le na eni od kmetij.

Mejna vrednost za Pb je bila presežena v petih vzorcih mleka odvzetih spomladi na eni kmetiji.

Reference

1. Puls R. Mineral levels in animal health: diagnostic data. 2nd ed. Clearbrook: Sherpa International. 1994
2. Pavšič Vrtač K, Jakovac Strajn B, Salobir J, Šrimpf K, Tavčar Kalcher G. Study of trace and ultratrace elements in silage intended for cattle nutrition. *Slovenian Veterinary Research*. 2016, 53(1): 49–57.
3. Zadnik T..Monitoring of lead in topsoil, forage, blood, liver and kidneys in cows in a lead-polluted area in Slovenia (1975–2002) and a case of lead poisoning (1993). *International Journal of Chemical Engineering*, article ID 940206, 2010, 9str.
4. Herdt TH, Hoff B.. The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant Livestock. *Vet Clin Food Anim*, 2011, 27: 255–83
5. Zadnik T, Jazbec I. Dvajset let ugotavljanja vsebnosti svinca v krvi molznic-indikatorja onesnaženosti okolja v Mežiški dolini. *Ljubljana, Veterinarska fakulteta*, 1995, 20–31.

The Content of Trace Elements in Feed, Blood and Milk of Dairy Cows from Upper Meža Valley

The content of some trace elements were determined in feed, blood and milk of dairy cows from farms in Meža Valley. On six farms; feed, blood and milk of dairy cows were sampled twice, in spring and autumn. In samples the content of iron (Fe), manganese (Mn), zinc (Zn), copper (Cu), nickel (Ni), chromium (Cr), molybdenum (Mo), lead (Pb), cobalt (Co), arsenic (As), mercury (Hg) and cadmium (Cd) was determined. The results show a frequent deficit of Cu in the ration of dairy cows, and in some cases deficit of Co, Mn and Zn. In some cases, we found elevated Cr, Pb, Cd and Mo content, while the contents of Fe, Ni, and As were not elevated in any case. The content of the elements in ration did not exceed the maximum permitted levels in the applicable European legislation. According to normal levels of the trace elements in blood of cows in the literature, we find out high levels of Zn in the blood on all farms in the autumn and on three farms in the spring. On all farms blood of cows had too high Mo content, except on one spring. On average, the Mn content was too high in the blood of cows on all farms, in the autumn and spring. Pb was raised only on one farm in autumn and spring. The limit value of Pb (0.020 mg/kg wet weight) was exceeded in five milk samples. We found statistically significant differences in the content of elements in milk in spring and autumn, while they were not present in meals.

Key words: Cattle; trace elements; industrial pollution

Transport vzorcev živil - vpliv temperature in časa transporta na mikrobiološko stanje vzorcev

Majda Biasizzo, Stanka Vadnjal, Urška Henigman

Veterinarska fakulteta, Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Slovenija

Transport vzorcev živil od mesta vzorčenja do laboratorija mora biti izveden tako, da se mikrobiološko stanje vzorcev v tem časovnem intervalu ne spremeni. Najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na število mikroorganizmov je temperatura, saj se mikroorganizmi pri ugodnih temperaturnih pogojih razmnožujejo. Spremljali smo število aerobnih mezofilnih bakterij v vzorcih mesnega izdelka in v vzorcih mletega mesa. Primerjali smo začetno stopnjo kontaminacije s kontaminacijo, po hranjenju vzorcev pri različni temperaturi. Ugotovili smo, da hranjenje vzorcev mletega mesa in mesnih izdelkov do 24 h pri 3 °C ne vpliva značilno na število aerobno mezofilnih mikroorganizmov. Število je ostalo nespremenjeno po hranjenju vzorcev 4 in 6 ur pri 8 °C. Po 24 urah smo povišanje števila mikrobov zaznali pri vzorcih mletega mesa, hranjenega pri 8 °C, po 2 urah pri 12 °C pa je število ostalo nespremenjeno.

Spremljali smo koncentracijo bakterij *Listeria monocytogenes* v vzorcih mleka hranjenih pri različni temperaturi. Koncentracija je po 24 urah pri 3 °C ostala nespremenjena, prav tako po 6 urah pri 8 °C, po 24 urah pa se je število *L. monocytogenes* značilno povečalo.

Za transport občutljivih vzorcev, ki je krajši od 6 ur je primerna temperatura ≤ 8 °C, za daljše Transporte pa temperatura ≤ 3 °C.

Ključne besede: živila; transport; vzorci; temperatura; mikrobiologija

Uvod

Po vzorčenju morajo biti vzorci v čim krajšem času in pri ustreznih pogojih dostavljeni v laboratorij. Še posebno je to pomembno za tako imenovane občutljive vzorce, ki zahtevajo ustrezno hladno verigo in so namenjeni kvantitativnim mikrobiološkim preiskavam. Mikroorganizmi se v določenem temperaturnem območju razmnožujejo, stopnja rasti pa je poleg lastnosti živila odvisna tudi od časa transporta. V primeru temperatur v času transporta, ki so višje, kot jih za hranjenje živila določa proizvajalec, oziroma od tistih, ki jih za transport določajo mednarodni standardi, rezultati mikrobioloških preiskav lahko ne odražajo stanja živila v času vzorčenja. Za vzorce, ki pri sobni temperaturi niso stabilni ISO 7218:2007 priporoča temperaturo transporta od 1°C do 8 °C, časovno pa transporta ne omejuje.

Materiali in metode

Spremljali smo rast aerobnih mezofilnih mikroorganizmov v vzorcih mesnega izdelka in mletega mesa. Za ugotavljanje skupnega števila mikroorganizmov smo pripravili vzorce (20 g) naravno kontaminiranega mletega mesa in vzorce mesnega izdelka, ki smo jih inokulirali z bakterijami *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 618 (*Bacillus subtilis* BGA, Merk 1.10649). Rast bakterij *L. monocytogenes* smo spremljali v vzorcih mleka (20 ml), ki smo jih inokulirali z *L. monocytogenes* RDK 059 (UL, Veterinarska fakulteta, Slovenija). Vzorce pripravljene v plastičnih vrečkah smo hranili v hladilnih boksih z aktivnim hlajenjem (Waeco, Germany) pri temperaturah 3 °C (1°C - 4 °C) in 8 °C (± 2 °C) različno dolgo (4, 6 in 24 ur), ter mleto meso tudi pri 12 °C (± 1 °C) 1 in 2 uri. Temperaturo smo z vstavljenimi termometri (MicroLite USB Temperature Logger, Fourtec, Avstija) spremljali v 10 min intervalih.

Število mikrobov smo ugotavljali pred začetkom poskusa in po hranjenju vzorcev ustrezen čas pri posamezni temperaturi. Število aerobnih mezofilnih mikroorganizmov smo ugotavljali skladno z ISO 4833-1:2013, število bakterije *L. monocytogenes* pa z ISO 11290-2:1998/Amd 1:2004. Testirali smo 10 vzorcev mesnega izdelka in

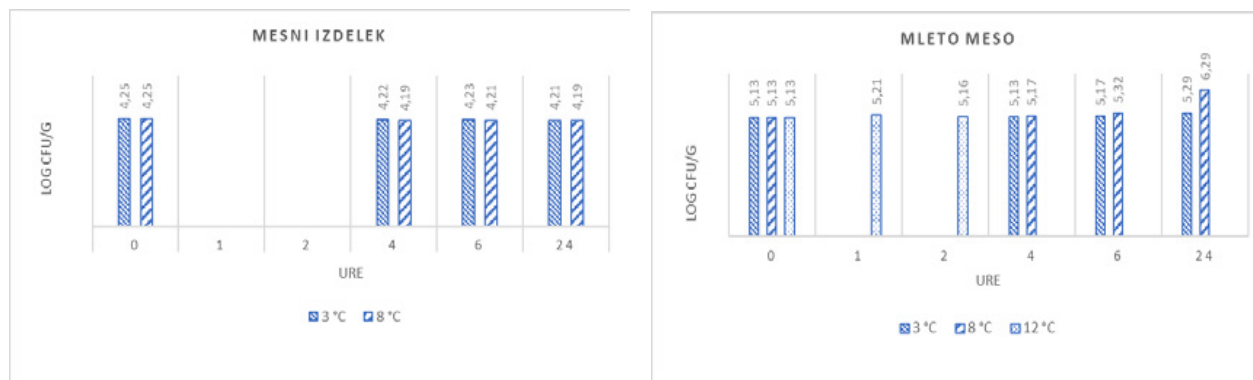
mleka ter 8 vzorcev mletega mesa pred začetkom poskusa in v enakem številu tudi pri posamezni kombinaciji temperature in časa hranjenja. Primerjali smo število mikrobov pred in po hranjenju.

Rezultati

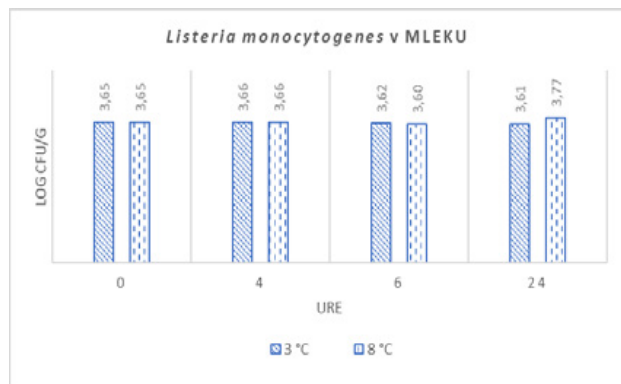
Po hranjenju vzorcev mesnega izdelka in mletega mesa do 24 ur pri temperaturi 3 °C se število aerobnih mezofilnih mikroorganizmov ni spremenilo. Ostalo je stabilno tudi po hranjenju pri 8 °C do 6 ur in pri 12 °C do 2 uri. Opazno povišanje števila smo opazili po 24 urah hranjenja vzorcev mletega mesa pri 8 °C (Slika 1 in 2).

Koncentracija bakterij *L. monocytogenes* je po shranjevanju pri 3 °C in 8 °C ostala nespremenjena, po 24 urah pri 8 °C pa se je število povprečno povečalo za 0,16 log₁₀ (Slika 3).

Slika 1 in 2: Koncentracija aerobnih mezofilnih bakterij v mesnem izdelku in mletem mesu po hranjenju pri različnih temperaturah (3 °C, 8 °C in 12 °C) do 24 ur.



Slika 3: Koncentracija bakterij *L. monocytogenes* po shranjevanju 4, 6 in 24 ur pri 3 °C in 8 °C.



Razprava

Ustrezno vzorčenje skupaj s transportom zagotavlja, da rezultati mikrobioloških preiskav predstavljajo dejanski odraz stanja vzorčenega živila. Temperatura, ki je primerna za transport je odvisna od vrste vzorca, to je predvsem od njegovih fizikalno-kemijskih lastnosti. Pri transportu sta temperatura in čas transporta poglavitna dejavnika, ki lahko vplivata na število mikroorganizmov v vzorcu. Za transport so najzahtevnejši tako imenovani občutljivi vzorci, ki zahtevajo hlajenje, saj zaradi svojih lastnosti omogočajo razmnoževanje mikroorganizmov (Zwietering et al., 1991). Glede na rezultate poskusa ugotavljamo, da je za daljši transport vzorcev, ki traja do 24 ur, primerna temperatura do 4 °C, za transporte, ki niso daljši od 6 ur pa temperatura do 8 °C. Temperatura do 12 °C je primerna le za transporte, ki niso daljši od 2 ur.

Reference

1. ISO (2013). ISO 4833-1:2013. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the enumeration of microorganisms -- Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. International Organization of Standardization (ISO), Geneva, Switzerland, 1–9.
2. ISO (2004). ISO/DIS 11290-2:1998 /Amd 1: 2004. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. -- Part 2: Enumeration method. Organization of Standardization (ISO), Geneva, Switzerland, 1–35.
3. ISO (2007). ISO 7218:2007/Amd 1: 2013. Microbiology of the food chain -- General requirements and guidance for microbiological examinations. Organization of Standardization (ISO), Geneva, Switzerland, 1–66.
4. Zwietering M. H., De Koos J. T., Hasenack B. E., et al. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. Applied and environmental microbiology 1991; 57: 1049–101.

Food samples transportation - influence of the temperature and transport duration on microbiota level

The mode of transportation of food samples from sampling site to the laboratory shall ensure that they are kept under conditions which will prevent any alteration of microbial level. Temperature is the most important factor affecting the number of microorganisms, since microorganisms grow under suitable temperature conditions. We monitored the number of aerobic mesophilic bacteria in meat product and minced meat samples. Initial contamination level was compared with contamination after storage of the samples at different temperatures. Storage of minced meat and meat products samples up to 24 h at 3 °C does not significantly affect the number of aerobic mesophilic microorganisms. The concentration was stable also after keeping the samples at 8 °C for 4 and 6 hours. After 24 hours of storage at 8 °C, higher microbial level was observed at minced meat, but it kept stable for 2 h at 12 °C.

We monitored the concentration of *Listeria monocytogenes* in milk samples at different temperatures. The concentration level did not change after 24 hours of storage at 3 °C, and after 6 h at 8 °C, while after 24 hours the *L. monocytogenes* level was significantly increased.

Transportation at ≤ 8 °C of perishable sample for no longer than 6 h and at ≤ 3 °C for longer period is appropriate.

Key words: food; transportation; samples; temperature; microbiology

Pestrost sevov *Staphylococcus aureus*, izoliranih iz živil in brisov

Urška Henigman^{1*}, Stanka Vadjal¹, Majda Biasizzo¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* Urška.Henigman@vf.uni-lj.si

V živilih živalskega izvora, predvsem mleku in mlečnih izdelkih večkrat izoliramo bakterije *Staphylococcus aureus*, ki proizvajajo enterotoksine. Razlikujemo številne tipe stafilokoknih enterotoksinov med katerimi sta najpogostejša tipa A (SEA) in E (SEE). Pri posameznem sevu lahko ugotovimo tudi več različnih tovrstnih genov. Sev proizvaja toksine, ko je njihova koncentracija dovolj visoka ($>10^5$ bakterij/g živila), zato Uredba komisije (ES) št. 2073/2005 v merilih varnosti predpisuje, da je sire pri katerih je omenjeno število preseženo, potrebno preiskati tudi na prisotnost enterotoksinov. Za ugotavljanje najpogostejših enterotoksinov (SEA, SEB, SEC, SED in SEE) se uporabljajo presejalne metode ELISA, za ostale pa so tovrstne metode še v razvoju. Zaradi odkritih številnih novih tipov enterotoksinov, smo z verižno reakcijo s polimerazo preiskali nabor genov pri sevih, ki smo jih izolirali iz živil (mleko, mlečni izdelki, meso) in brisov. Ugotavljali smo prisotnost 16 različnih genov, ki kodirajo enterotoksine in ugotovili številne kombinacije.

Ključne besede: varna hrana, *Staphylococcus aureus*, stafilokokni enterotoksini, mikrobiologija

Uvod

Bakterije *Staphylococcus aureus* in drugi koagulazno pozitivni stafilokoki pogosto povzročajo zastrupitve s hrano. Stafilokoki so lahko prisotni na koži in sluznicah zdravih ljudi in se v primeru slabe higiene lahko prenesejo na živila. Po hranjenju živil pri neustreznih temperaturnih pogojih se bakterije razmnožijo in, ko dosežejo dovolj visoko koncentracijo ($>10^5$ bakterij/g), izdelujejo enterotoksine. Ljudje zbolijo zaradi delovanja enterotoksinov, ki so termostabilni in povzročajo obolenja tudi po termični obdelavi živila. Najpogostejši znaki zastrupitve so slabost, bruhanje in driska in se pojavijo v nekaj urah po zaužitju kontaminirane hrane. Stafilokoke ugotavljamo v številnih živilih kot so surovo mleko in mlečni izdelki, meso in mesni izdelki, delikatesna živila in druga živila, ki med pripravo prihajajo v stik z ljudmi in opremo. Vzrok za kontaminacijo sirov je lahko kontaminirano mleko ali pa je kontaminacija naknadna. Trenutno je poznanih več kot 20 tipov enterotoksinov, ki jih kodirajo specifični geni (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep*, *seq*, *seu*, *sex*, *sey*). Namen preiskave je bil ugotoviti prisotnost genov, ki kodirajo posamezne enterotoksine pri izoliranih sevov *S. aureus*, ki smo jih pridobili v mikrobioloških preiskavah v obdobju od leta 2012 do 2017.

Materiali in metode

Seve *S. aureus* smo izolirali iz surovega kravjega mleka (43 vzorcev) kozjega mleka (1), sira iz kravjega mleka (3), sira iz kozjega mleka (4), mesa perutnine (1), mesnih pripravkov (3) ter brisov površin (2). Do izvedbe verižne reakcije s polimerazo (PCR) smo izolate hranili v vbojnih gojiščih. Skupno smo pri 57 sevih z metodo PCR ugotavljali prisotnost 16 različnih genov. Uporabili smo začetne nukleotide za SEA, SEC, SED, SEE (Johnson in sod., 1991), SEG, SEH, SEI (McLauchlin in sod., 2000), SEJ (AFSSA, 2007), SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP in SEQ (Bania in sod., 2006) in SEU (Nashev in sod., 2007).

Rezultati

Med 57 testiranimi sevi smo pri 45,6 % (26/57) ugotovili vsaj en gen, ki kodira enterotoksin. Najpogosteje, to je v 22,8 % sta bila prisotna hkrati *seg* in *sei* (13/57); pri 12 od teh (21,1 %) je bil ugotovljen tudi *sem*, pri štirih od teh

pa tudi *sen*, *seo* in/ali *seu*. Te kombinacije smo ugotovili le pri izolatih iz kravjega mleka, kar je prikazano v tabeli 1 (zaporedne številke od 1 do 16).

Prisotnost genov *sec* in *sel* je bila ugotovljena pri 19,3 % (11/57) vzorcev, od tega jih je imelo sedem le ta dva gena, pri dveh je bil poleg omenjenih prisoten še *sep* oz. tudi *seg*, *sei*, *sem* in/ali *seu*.

Trije izolati so imeli samo gen *seh*, dva pa le *sep* (Tabela 1). Genov *sea*, *sed*, *see*, *sej*, *sek* in *seq* nismo ugotovili pri nobenem od preiskovanih vzorcev.

Kot je razvidno v tabeli 1, smo pri vseh izolatih iz vzorcev kozjega sira in mleka ugotovili le gena *sec* in *sel*.

Vsi sevi izolirani iz vzorcev mesa (Tabela 1) so vsebovali vsaj en gen; dva le *seh*, dva pa *sec*, *sel* in *sep*. Pri enem izmed dveh vzorcev brisov smo ugotovili zapis za gen *sep*.

Tabela 1: Pregled prisotnih genov pri toksigenih izolatih koagulazno pozitivnih stafilokokov (prisoten vsaj en gen)

	SEVI	<i>sea</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>	<i>seg</i>	<i>seh</i>	<i>sei</i>	<i>sej</i>	<i>sek</i>	<i>sel</i>	<i>sem</i>	<i>sen</i>	<i>seo</i>	<i>sep</i>	<i>seo</i>	<i>seu</i>	Σ
KRAVJE MLEKO	1	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	neg	5
	2	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	neg	5
	3	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	neg	5
	4	neg	POZ	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	POZ	POZ	neg	neg	neg	5
	5	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	POZ	6
	6	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	1
	7	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	POZ	6
	8	neg	POZ	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	POZ	POZ	neg	neg	neg	neg	POZ	6
	9	neg	POZ	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	POZ	POZ	neg	neg	neg	neg	POZ	6
	10	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2
	11	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	neg	neg	neg	POZ	5
	12	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	1
	13	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	POZ	4
	14	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	POZ	6
	15	neg	POZ	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	POZ	POZ	neg	neg	neg	neg	POZ	6
	16	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	POZ	POZ	neg	neg	POZ	6
KOZJE MLEKO IN SIRI	17	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2
	18	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2
	19	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2
	20	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2
	21	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2
MESO	22	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	3
	23	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	3
	24	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	1
	25	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	1
BRIS	26	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	POZ	neg	neg	1
	Σ	0	12	0	0	13	3	13	0	0	11	12	9	8	4	0	9	

Legenda: neg – negativno; POZ – pozitivno; - skupno število

Razprava

Pri sevih *S. aureus* smo ugotovili prisotnost genov za tvorbo enterotoksinov samostojno ali v različnih kombinacijah. Glede na dobljene rezultate lahko oblikujemo tri glavne skupine genov. Prva je skupina, ki ima gene *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo* in *seu*. Hkratna prisotnost teh genov se ujema s podatki iz literature, ki navajajo, da se ti geni pri bakterijskih sevih nahajajo na istem genskem grozdu (Jarraud in sod, 2001). V naši raziskavi sta bila gena *seg* in *sei* vedno prisotna hkrati in pri veliki večini tudi *sem*, medtem ko so bili *sen*, *seo* in *seu* lahko tudi v kombinaciji z ostalimi geni (*sec*). Te variacije so bile značilne le za seve iz kravjega mleka, medtem ko je bila slika pri kozjem mleku in siru ter mesu drugačna.

Drugo skupino predstavlja kombinacija genov *sec* in *sel*, ki sta bila prisotna vedno hkrati. Zanimivo je, da so imeli vsi izolati iz kozjega mleka in sira vedno to kombinacijo.

Tretjo skupino predstavljajo sevi s prisotnim samo enim genom; *seh* ali *sep*. Slednji je bil pri sevih iz kravjega mleka in brisa samostojen. Vsi štirje sevi iz mesa in mesnih pripravkov so imeli vsaj enega od genov; dva vzorca *seh*, dva pa hkrati *sec*, *sel* in *sep*.

Po podatkih iz literature največ zastrupitev povzroča toksin SEA (Le Loir in sod., 2003). Gena *sea*, ki kodira njegov nastanek v naših izolatih nismo ugotovili, prav tako tudi ne genov *sed* in *see*. Rutinsko s presejalnimi metodami ELISA ugotavljamo toksine SEA, SEB, SEC, SED in SEE. Med geni, ki kodirajo te toksine je bil med testiranimi sevi ugotovljen le gen *sec* (gen za *seb* v študiji ni bil zajet). Opisanih je več genskih različic gena *sec* (Johler in sod., 2016), ki jih bomo ugotavljali z nadaljnjim sekvenciranjem. Prav gotovo je sekvenciranje nove generacije prvo izborno orodje za vpogled v celotni bakterijski genom, s katerim dobimo širok spekter informacij o prisotnosti genov in genskih različicah. V preiskavi smo testirali le omejeno število izolatov pridobljenih iz posameznih skupin živil. Da bi ugotovili pogostost posameznih genov pri sevih izoliranih živil in povezanost posameznih genov glede na določeno skupino živil, bi morali študijo razširiti s testiranjem dodatnih izolatov.

Reference

1. Bania J, Dabrowska A, Bystron J, Korzekwa K, Chrzanowska J, Molenda J. Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food. Int J Food Microbiol. 2006; 108, pp. 36-41.
2. Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougél C, Etienne J, Vandenesch F, Bonneville M, Lina G. 2001. egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. J Immunol 2001; 166:669-677 (Correction, 166:4260).
3. Johler S, Sihto HM, Macori G, Stephan R. Sequence Variability in Staphylococcal Enterotoxin Genes *seb*, *sec*, and *sed*. Toxins 2016; 8, 169.
4. Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR. Detection of genes for entero- toxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1991; 29:426-430.
5. Le Loir Y, Baron F, Gautier, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res. 2003; 31: 63-76.

Diversity of *Staphylococcus aureus* strains, isolated from foods and swabs

Staphylococcus aureus is often isolated from foodstuffs of animal origin, especially from milk and milk products. Different types of enterotoxins are known, with the most frequently found SEA and SEE. Several enterotoxin genes can be detected also in a single strain. A sufficient number ($> 10^5$ bacteria/g of food) is required to produce a toxin. The Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 provides that, in the case of cheeses, when the number of bacteria exceeds this limit, it is also necessary to investigate the presence of enterotoxins. For the most common ones (SEA, SEB, SEC, SED and SEE) ELISA screening methods are available, while for the others the methods are still in development. Due to the emergence of the new enterotoxins, genes from the strains, isolated from foods

(milk, milk products, meat) and swabs were examined by PCR. 16 genes for enterotoxins were investigated and large number of the combination were detected.

Key words: safe food, *Staphylococcus aureus*, staphylococcal enterotoxins, food microbiology

Ugotavljanje najprimernejšega dela telesa za merjenje telesne temperature prašičev s termovizijsko kamero

Marina Štukelj¹*, Igor Pušnik²,

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Klinika za reprodukcijo in velike živali, Oddelek za zdravstveno varstvo prašičev, Ljubljana, Slovenija, ²

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko, Laboratorij za metrologijo in kakovost, Ljubljana, Slovenija

* e-mail kontaktne osebe marina.stukelj@vf.uni-lj.si

Merjenje rektalne temperature je za prašiča stresno dejanje, vendar je nujno, ker so referenčne vrednosti telesne temperature določene na podlagi rektalne temperature. Namen naloge je bil ugotoviti mesto na telesu prašiča, kjer bi z merjenjem s termovizijsko kamero dobili temperaturo, primerljivo z rektalno temperaturo. S termovizijskim merjenjem bi lahko dobili podatek o telesni temperaturi na način, ki je povsem brez stresa za prašiča. V študijo smo vključili 15 plemenskih svinj v različni fazi reprodukcijskega cikla. Meritve smo izvajali zaporedoma deset dni. Vsem svinjam smo s kalibriranim kontaktnim alkoholnim termometrom izmerili rektalno temperaturo, ki nam je služila kot referenčna vrednost. S kalibrirano termovizijsko kamero smo pri vsaki svinji izmerili temperaturo na štirih merilnih mestih: v sluhovodu, na zunanjem delu uhlja, okoli oči in na perianalnem delu. Ugotovili smo, da je temperatura, izmerjena s termovizijsko kamero v sluhovodu, pri vseh meritvah vseh svinj ne glede na fazo brejosti najbolj primerljiva z rektalno temperaturo. Vendar so opazna odstopanja od rektalne temperature in sicer gre v povprečju za 0,5 °C nižje vrednosti. Pri merjenju na drugih delih telesa so bila odstopanja od rektalne temperature bistveno večja s prav tako nižjimi vrednostmi.

Ključne besede: prašič; rektalna temperatura; termovizijska kamera; anatomsko mesto merjenja

Uvod

Zaradi osveščenosti ljudi ima dobrobit v intenzivni proizvodnji prašičev vedno večji pomen. Dobrobit je pojem, ki se uporablja v povezavi z odnosom med človekom in živaljo, zaščito živali pred mučenjem in varovanjem zdravja živali. V rejah prašičev z visoko ravniyo dobrobiti je zdravstveno stanje dobro, manjša je uporaba antibiotikov in meso prašičev, tako vzrejenih, je kvalitetnejše (Harley in sod., 2012).

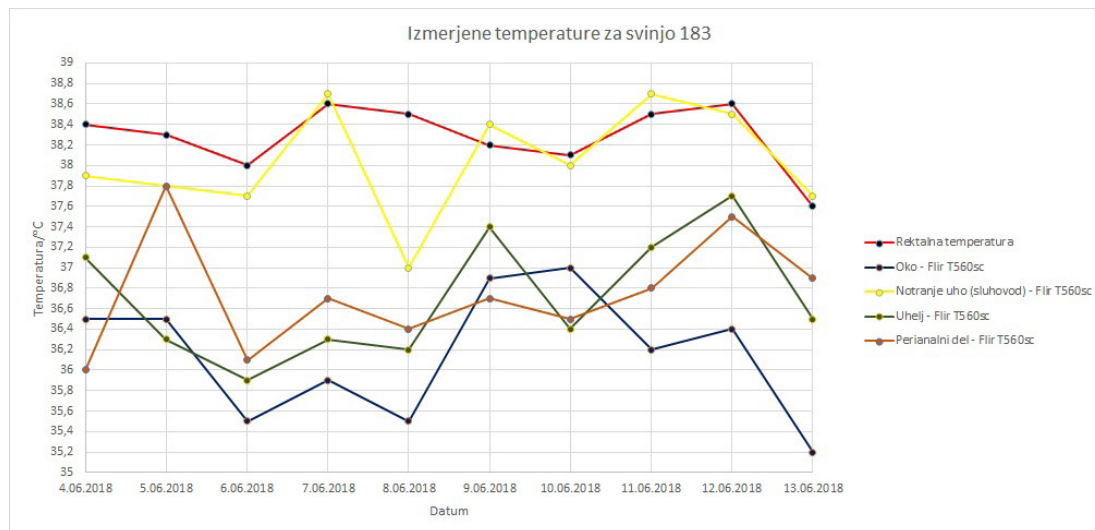
Prašiči so zelo občutljivi na različne stresne situacije, kot so premikanje, mešanje prašičev iz različnih boksov, neustrezni klimatski pogoji in na sploh kakršnakoli manipulacija. Prašičem običajno merimo telesno temperaturo rektalno. Merjenje rektalne temperature je za prašiča stresno dejanje, vendar so referenčne vrednosti telesne temperature določene na podlagi rektalne temperature (Schmidt in sod., 2013). Namen naloge je bil ugotoviti mesto na telesu prašiča, kjer bi z merjenjem s termovizijsko kamero dobili temperaturo, primerljivo z rektalno temperaturo, oziroma ugotovili, v kakšni (ko)relaciji so temperature na različnih mestih z rektalno temperaturo. S termovizijskim merjenjem bi lahko dobili podatek o telesni temperaturi na način, ki je povsem brez stresa za prašiča.

Materiali in metode

V študijo smo vključili pet plemenskih svinj v prasilišču, 5 plemenskih svinj v pripustišču in 5 plemenskih svinj v čakališču. Meritve smo izvajali zaporedoma deset dni. Vsem svinjam smo izmerili rektalno temperaturo s kalibriranim kontaktnim alkoholnim termometrom, ki nam je služila kot referenčna vrednost. S kalibrirano termovizijsko kamero smo pri vsaki svinji izmerili temperaturo na štirih merilnih mestih: v sluhovodu, na zunanjem delu uhlja, okoli oči in na perianalnem delu.

Rezultati

Ugotovili smo, da je temperatura, izmerjena s termovizijsko kamero v sluhovodu, pri vseh meritvah vseh svinj ne glede na fazo brejosti najbolj primerljiva z rektalno temperaturo.



Graf 1. Primerjava izmerjenih temperatur pri plemenski svinji.

Vendar so opazna odstopanja od rektalne temperature (graf 1) in sicer gre v povprečju za 0,5 °C nižje vrednosti. Pri merjenju na drugih delih telesa so bila odstopanja od rektalne temperature še bistveno večja. Pri merjenju temperature na zunanjem delu uhlja je bila temperatura v povprečju nižja za 2,0 °C, pri merjenju v okolici oči je bila temperatura v povprečju nižja za 2,5 °C in na perianalnem delu je bila temperatura v povprečju nižja za 1,5 °C.

Razprava

Na podlagi telesnih temperatur 15 svinj v različnih fazah brejosti, izmerjenih s termovizijsko kamero na štirih različnih delih telesa ter s kontaktnim termometrom v rektumu, smo ugotovili, da je temperatura, izmerjena v sluhovodu, najbolj primerljiva z izmerjeno temperaturo v rektumu, ki nam je veljala kot referenčna temperatura. Odstopanja v izmerjenih temperaturah so znašala v povprečju za -0,5 °C. Izmerjene temperature na drugih predelih telesa pa so bolj odstopale od referenčne vrednosti, in sicer v povprečju za -1,5 °C do -2,5 °C. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Schmidt in sod. (2013), ki so dognali zelo podobna odstopanja v primerjavi z rektalno temperaturo, in sicer za uhljem 1,7 °C nižjo temperaturo in v okolici oči za 2,9 °C nižjo temperaturo.

Do odstopanj pri izmerjenih temperaturah s termovizijsko kamero v primerjavi z rektalno temperaturo je prišlo zaradi prenosa toplote s prašiča na ostale predmete, predvsem na tla hleva. Če žival leži na tleh, toplota s prašiča prehaja na podlago (beton) in tako pride do nižje temperature na merilnem mestu. Toplota lahko prehaja tudi s površine kože na opremo boksev. Temu smo se izognili tako, da smo svinjo opazovali dlje časa v stoječem položaju in ji šele nato izmerili temperaturo. Pojavil se je tudi problem poraščenosti kože. Ker vsi prašiči niso enakomerno poraščeni, se je temperatura spreminjala na posameznem merilnem mestu glede na poraščenost kože. Na mestih, kjer je prašič zelo poraščen, je prikazana temperatura nižja. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Schmidt in sod. (2013). Merjenje telesne temperature prašičev s termovizijsko kamero se je izkazalo kot komplicirano in zamudno, saj prašiči niso bili pri miru, ko naj bi s termovizijsko kamero izmerili telesno temperaturo na izbranih mestih. Lažje je bilo merjenje v prasilišču in pripustišču, kjer so svinje vhljane individualno, v skupinskem boksu v čakališču pa je bil čas merjenja precej daljši. Ta problem smo rešili deloma tako, da sta meritve izvajali dve osebi (merilec in pomočnik).

Po merilnem procesu in analizi lahko trdimo, da izmerjene temperature s termovizijsko kamero, ne glede na mesto meritve, niso primerljive z referenčno rektalno temperaturo, da je merjenje s termovizijsko kamero precej zamudnejše

in težavnejše v primerjavi z merjenjem temperature z rektalnim kontaktnim termometrom. Pri ugotavljanju sistemsko povišane telesne temperature zaradi nekaterih bolezni ne moremo uporabiti termovizijske kamere, saj temperature niso povsem primerljive z rektalno temperaturo. Na podlagi podatkov v literaturi se termovizijska kamera lahko uporabi za merjenje lokalnih sprememb temperature, npr. pri pojavih vnetja na okončinah prašičev (Soerensen in sod., 2015). Zaradi neinvazivnosti metode merjenja telesne temperature s termovizijsko kamero bi bilo smiselno še nadaljnje raziskovanje tega področja, saj morajo biti diagnostični postopki zasnovani tako, da povzročajo prašičem čim manj stresa in da je raven dobrobiti visoka.

Reference

1. Harley S, More S, Boyle L, et al. Good animal welfare makes economic sense: potential of pig abattoir meat inspection as a welfare surveillance tool. *Irish vet Journal* 2012;65(11): 1-12.
2. Schmidt M, Lahrmann KH, Ammon C, et al.. Assessment of body temperature in sows by two infrared thermography methods at various body surface locations. *Journal of Swine Health and Production* 2013; 21 (4): 203-9.
3. Soerensen DD, Pedersen LJ. Infrared skin temperature measurements for monitoring health in pigs: a review. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2015; 57:5

Determination of the most appropriate anatomical region for measuring of body temperature of pigs with a thermal imager

Reference values for body temperature of pigs are determined based on rectal temperature measurements although the rectal temperature measurement is stressful for the animal. The aim of the study was to allocate an anatomical site of the pig's body where temperatures measured with a thermal imager could be compared to rectal temperatures. Temperature measurement with a thermal imager is completely stress-free for pigs. Fifteen sows in various stages of the reproduction cycle were included in the study. Measurements of each sow were repeated for 10 consecutive days. Reference values were obtained in a rectum with a calibrated contact alcohol thermometer. A calibrated thermal imager was used at 4 anatomical regions on each sow: external auditory meatus, outer ear, around the eyes and in perianal region. Conclusion was made that the thermal imager temperature is most similar to rectal temperature in external auditory meatus independent of the reproduction phase of the sow. However mean temperature value in the ear canal was up to 0.5 °C lower than in the rectum. Deviations were much bigger on other anatomical regions of the body and the values were also lower.

Key words: pig; rectal temperature; thermal imager; anatomical region of measurement

POVZETKI

Tumorozna kalcinoza (*calcinosis circumscripta*) vratne hrbtenice: primer bernskega planšarskega psa s tumorozno kalcinozo v področju atlasa in okretača

Milan Matko

Toplica-Center za zdravljenje živali, Topolšica 15, 3326 Topolšica, Slovenia

matko.toplica@siol.net

Tumorozna kalcinoza hrbtenice je idiopatsko obolenje mladih psov predvsem velikih pasem. Pri obolelih se lahko progresivno razvijata tetrapareza ali parapareza odvisno, od lokacije procesa. Patogeneza: Običajno je solitarna kalcificirana masa, histološko se razlikuje od solitarnih osteohondromov. Formira se periartikularno predvsem na vezeh, pogosto dorzalno v atlanto-aksialnem delu. Če se mineralizacija širi paravertebralno, lahko pride do kompresije hrbtenjače, bolečine in nevrološkega deficita (kompresijska mielopatija).

Primer

Bernski planšarski pes, samec, star 6 mesecev, težak 27kg, je bil napoten z opisom, da ima nekoordinirano hojo, težko vstaja in ima krče ter bolečino v vratu. Po anamnezi so se začele težave pred 1 ali 2 mesecema. Najprej je psa zanašalo v zadnjem delu in je bil nestabilen. Dan pred obiskom naše ordinacije sta se pojavila krč in huda bolečina v vratu. Prej je občasno pri določenem gibu močno zacvilil.

Psu smo naredili klinični, ortopedski in nevrološki pregled ter slikovno diagnostiko, rtg in CT nativno in kontrastno (mielografija). Pri nevrološkem pregledu smo ugotovili zmerno generalno proprioceptivno ataksijo in dismetrijo vseh štirih nog ter bolečino v vratu, z rentgensko in računalniško tomografsko preiskavo pa dorzalno med atlasom in okretačem amorfnu mineralizacijo. Pri hematoloških in biokemijskih preiskavah krvi ni bilo odstopanj od referenčnih vrednosti.

Psa smo zdravili kirurško. Uporabili smo dorzalni pristop nad atlasom in okretačem. Pes je ležal na kirurški mizi v sternalnem položaju, s podloženim vratom in ventralno fleksijo glave. Rez je potekal po sredini vratu preko kože subkutane in epaxialne mišičnine, kavdalno do trnatega podaljška okretača in kranialno do kavdalnega roba zgornjega atlasovega loka. Najprej smo odmaknili kalcinozno maso nad vretencema in nato z laminektomijo 1/3 atlasa in hemidorzalno laminektomijo 1/2 okretača sprostili maso, ki je bila ekstraduralno v hrbteničnem kanalu ter jo v celoti odstranili. Pooperativno je naslednji dan pes hodil, vidni so bili dismetrija, še vedno povečani spinalni refleksi na prednjih in zadnjih nogah, subjektivno manjša bolečina pri palpaciji vratu ter normalna defekacija in uriniranje. Po treh dneh smo psa oddali v domačo oskrbo. Kontrolo smo naredili po 3 tednih. Pes je bolje hodil, opazna je bila še proprioceptivna ataksija in dismetrija. Po enem letu smo z lastnikom stopili v stik po telefonu. Po njegovem opisu je pes začel normalno hoditi 2 meseca po operaciji.

Izrezano maso smo poslali na patohistološko preiskavo, kjer je bila potrjena *calcinosis circumscripta*.

Popolna rehabilitacija psa je po odstranitvi mase nad atlasom in okretačem v opisanem primeru trajala približno 2 meseca. V literaturi je opisanih le nekaj primerov diagnosticiranja in kirurškega zdravljenja tega bolj redkega obolenja pri psih.

Ključne besede: atlanto-aksialna tumorozna kalcinoza; bernski planšarski pes; kirurško zdravljenje

Cervical Spine Tumoral Calcinosis (*Calcinosis Circumscripta*): A Case Report of a Bernese Mountain Dog with Atlantoaxial Spine Calcinosis

Tumoral calcinosis of the spine is an idiopathic condition affecting young dogs, mostly found in large breeds. The affected dogs can progressively develop tetraparesis or paraparesis, depending on the location of the disease. Pathogenesis: usually a solitary calcified mass, which is histologically different from solitary osteochondromas. It forms periarticularly, mostly on ligaments, and is often found dorsally in the atlantoaxial segment. If mineralisation spreads paravertebrally, this may lead to spinal compression, pain and neurological deficit (compressive myelopathy).

Case report

A Bernese Mountain Dog, male, 6 months old, weight 27 kg, was referred with an uncoordinated gait, difficulties when standing up, cramps and neck pain. According to medical history, the problems began 1 to 2 months earlier. Initially, the dog's posterior was affected, and the animal was unstable. A day before coming to our clinic, the dog experienced cramps and severe neck pain. Previously, it occasionally whined loudly when making a specific move.

The dog underwent clinical, orthopaedic and neurological examinations and imaging diagnostics, X-ray as well as native and contrast CT (myelography). The neurological examination revealed moderate general proprioceptive ataxia and dysmetria of all four legs as well as neck pain. X-ray and CT scans revealed dorsal atlantoaxial amorphous mineralisation. Haematology and biochemistry values were within the reference range.

Surgical treatment

We used a dorsal spinal approach. The dog lay on the surgical table in sternal position, with padding under the neck and ventral head flexion. The incision was made in the mid-neck region through the skin of subcutaneous and epaxial muscles, caudally to the axial spinous process and cranially to the caudal border of the atlas arch. First, the calcified mass above the vertebrae was moved to side. With laminectomy of 1/3 of the atlas and hemidorsal laminectomy of 1/2 of the axis, the mass found extradurally in the spinal canal was released and completely removed. The dog could walk the day after the surgery, with visible dysmetria and still increased spinal reflexes on the fore and rear legs; neck pain on palpation was subjectively reduced, defecation and urination were normal. After three days, the dog was discharged into domestic care. A check-up was performed after 3 weeks. The dog's gait had improved, though proprioceptive ataxia and dysmetria were still noticeable. After one year we contacted the dog's owner by telephone. According to his description, the dog had started to walk normally 2 months after the surgery.

The resected mass was sent for pathological examination, and calcinosis circumscripta was confirmed.

Complete rehabilitation of the dog after removal of the mass above the atlas and axis took approximately 2 months in this case. Literature reports only a few cases of diagnosis and surgical treatment of this rather rare disease in dogs.

Key words: atlantoaxial Calcinosis Circumscripta; Bernese Mountain Dog; surgical treatment

Hranilna vrednost nekaterih komercialno pripravljenih presnih obrokov za pse

Tatjana Pirman^{1*}, Irena Zdovc², Majda Golob², Marjana Grandič², Breda Jakovac Strajn²

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Katedra za prehrano, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenija,

² Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Gerbičeva 60, SI-1000 Ljubljana, Slovenija

* tatjana.pirman@bf.uni-lj.si

Dandanes je vse bolj popularna presna krma (surova hrana) za pse in vedno več lastnikov se odloča za tak način priprave obrokov za domače ljubljence. Lastniki lahko takšne obroke pripravljajo sami, na voljo pa imajo tudi različne blagovne znamke presnih obrokov, ki vsebujejo različne vrste mesa, zelenjave in drugih dodatkov. Namen našega dela je bila primerjava hranilne vrednosti različnih vzorcih komercialnih presnih obrokov za pse. Analizirali smo 7 različnih komercialnih znamk in sicer smo od vsake znamke analizirali 4 vzorce, ki smo jih kupili v različnih časovnih intervalih. Na ta način smo v analizo zajeli 4 različne serije istega proizvajalca. V vzorcih smo naredili Wendsko analizo (suha snov, surovi pepel, surove beljakovine, surove maščobe in izračunali ogljikove hidrate), določili posamezne minerale (Ca, P, Mg, K, Zn, Mn, Fe, Cu, Se), izmerili vsebnost bruto energije in računsko določili vsebnost metabolne energije. Rezultate analiz smo primerjali med seboj, s podatki, navedenimi na deklaraciji in z normativi za zdrave odrasle pse. Ugotovili smo, da je razlika v vsebnosti suhe snovi med posameznimi serijami istega proizvajalca tudi do 10 %. Posamezne mešanice so vsebovale v povprečju med 287 in 683 g surovih beljakovin v kg SS, surovih maščob pa v povprečju med 245 in 339 g/kg SS. Vsebnosti posameznih mineralnih elementov so se med serijami istega proizvajalca zelo razlikovale, največje razlike pa so bile med obroki različnih proizvajalcev. Od makroelementov je bila največja variabilnost v vsebnosti Ca, med mikroelementi pa je imela ena mešanica v primerjavi z ostalimi precej več Fe.

Ključne besede: presni obroki; kemijska sestava; hranilna vrednost; psi

Nutrition value of some commercial prepared raw dog food

Nowadays, the raw food for dogs is becoming very popular, and more and more dog owners decide to use it as a meal for their pets. The owners can prepare such feed by themselves, but there is also a variety of commercial brands, composed with different types of meat, vegetables and other ingredients. In order to compare the nutritional values, the analysis of seven different commercial prepared raw dog foods was done. The four different batches of the same producer were taken into analysis. The Weende proximate analysis (dry matter, crude ash, crude protein, crude fat and the calculation of the carbohydrates), some elements (Ca, P, Mg, K, Zn, Mn, Fe, Cu, Se) and gross energy level were determined and the level of metabolic energy was calculated. The results were compared among samples, with the information on the package and with the nutrient requirements for healthy adult dogs. It was found out that the differences in dry matter content between different batches of the same producer were up to 10%. The crude protein content was in average between 287 and 683 g per kg dry matter, crude fat was in average between 245 and 339 g/kg DM. The content of individual elements varied very much among the batches of the same producer, and even more between samples of various producers. The largest variability was in the content of Ca and micronutrients. One sample of the raw dog food had considerably higher content of Fe than other samples.

Key words: raw food; chemical composition; nutrition value; dogs

Sekvester roženice

Tadej Zemljč^{1*}

¹ Veterinarske storitve sp, Ljubljana, Slovenija

* zemljita@yahoo.com

Sekvester roženice (nekroza roženice) je obolenje tipično za mačke. Perzijska in himalajska pasma sta predisponirani k nastanku sekvestra. Pojav sekvestra je lahko posledica dalj časa trajajoče ulceracije roženice ali keratitisa. Za sekvester je značilno bolj ali manj očitno omejeno, rjavo do črno obarvano področje roženice, ki lahko sega vse do descemetove opne. Površina okolne roženice je pogosto ulcerirana, in v kroničnih primerih vaskularizirana. Osrednja histološka značilnost sekvestra je nekroza strome roženice. Terapija je kirurška odstranitev prizadetega dela roženice. Po keratektomiji je v primeru globjega defekta potrebno kritje (npr. roženično-veznično transpozicija ali veznični reženj). Možna je rekurenca, še zlasti v primeru nadaljevanja iritacije (npr. entropij) ali ponovitve keratitisa (reaktivacija mačjega herpes virusa).

Ključne besede: roženični sekvester; mačka

Corneal sequestrum

Corneal sequestrum (corneal necrosis) is a disease typical for cats. There is known predisposition for occurrence of corneal sequestrum in Persian and Himalayan breeds. Longer lasting corneal ulceration or keratitis can lead to formation of sequestrum. It is manifested as more or less discrete area of brown to black discolouration of corneal stroma, that can affect layers up to the Descemetes membrane. The surface of surrounding cornea is often ulcerated, and in chronic cases vascularised.

Characteristic histologic feature of sequestrum is necrosis of corneal stroma. Therapy of corneal sequestrum is surgical removal of affected cornea. Deeper defect after keratectomy should be covered (eg. with corneo-conjunctival reposition on conjunctival flap). Recurrence of sequestrum formation is possible, especially if corneal irritation is continued (eg. entropion) or in case of recurrent keratitis (recrudescant FHV-1 infection).

Key words: corneal sequestrum; cat

Priprava kirurškega polja

Teja Rosa^{1#}, Sara Raspor^{1#}, Vladimira Erjavec^{2*}

¹ Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija,

² Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

obe avtorici sta enakovredno prispevali in si delita prvo avtorstvo

* vladimira.erjavec@vf.uni-lj.si

Eden izmed glavnih ciljev asepse med operacijo je zmanjšati kontaminacijo kirurškega polja, z namenom čim manjšega obolevanja, smrtnosti ter posledično krajšega hospitaliziranja in nižjih stroškov pooperativne nege živali. Najpogostejši izvor kontaminacije kirurškega polja je endogena mikroflora pacienta. Izrednega pomena je, da med operacijo zmanjšamo izpostavljenost mikroorganizmom, ki jih najdemo tako v lastni mikroflori pacienta kot tudi v kontaktni.

Kirurški blok delimo na kontaminirani, mešani in čisti del. Priprava kirurškega polja se začne v predoperacijskem prostoru, konča pa se v kirurški dvorani. Osnovni koraki priprave kirurškega polja so: odstranitev dlak, umivanje in osušitev kože, dezinfekcija kože, premestitev pacienta v kirurško dvorano, namestitev pacienta v ustrezen položaj, ponovna dezinfekcija in aseptično prekrivanje kirurškega polja s kompresami, s katerimi vzdržujemo sterilno okolje kirurškega polja. Ves čas operacije vzdržujemo sterilno okolje. Kirurško osebje mora skrbeti, da se asepse med posegom ne krši, ter ustrezno odreagirati, če aseptično tehniko prekine. Kompresse, pripomočki in ves inštrumentarij, ki sega preko roba mize, se štejejo kot nesterilni, saj niso v vidnem polju kirurga, zato slednji ne more jamčiti za njihovo sterilnost.

Zagotavljanje asepse med kirurškim posegom predstavlja enega od dejavnikov za uspešno zmanjševanje kirurških infekcij po posegu.

Ključne besede: kirurško polje; priprava; asepsa; kirurška infekcija

Surgical field preparation

One of the primary aims of asepsis during surgery is reduction of surgical field contamination, with the goal of reducing disease and mortality, which leads to shorter hospitalization times and lower costs of postoperative care. The most common source of surgical field contamination is the patient's endogenous microflora. During surgery, it is imperative that we reduce exposure to microorganisms that can be found in both, the patient's own microflora and the contact microflora.

Surgical block is divided into contaminated, mixed and clean parts. Surgical field preparation begins in the preoperative room and ends in the operating theater. The main steps of surgical field preparation are: hair removal, washing and drying the skin, skin disinfection, transferring the patient to the operating theater, placing the patient in the correct position, another round of disinfection and aseptic covering up of the surgical field with compressions, with which we maintain a sterile environment. During surgery we keep maintaining a sterile environment. Operating room staff must make sure not to violate asepsis and to take proper steps if the asepsis technique is interrupted. Compressions, tools and all the instruments that reach over the edge of the table, are considered non-sterile, because they are not in the surgeon's field of vision and therefore they cannot vouch for their sterility.

Ensuring asepsis during surgery is one of the factors for the successful reduction of surgical infections after the procedure.

Key words: surgical field; preparation; surgery; asepsis

Adenoleiomom maternice pri sterilizirani psici

Živa Černe^{1*}, Tamara Dolenšek², Mitja Gombač², Tanja Švara²

¹ Veterinarska ambulanta Max, Škofljica, Slovenija,

² Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* ziva.cerne@gmail.com

Leiomiomi so benigne novotvorbe gladkih mišičnih celic, ki predstavljajo 85–90 % vseh novotvorb maternice pri psicah. Praviloma se pri steriliziranih psicah ne pojavljajo. Leiomiom z žlezno komponentno (adenoleiomom) je v literaturi doslej opisan le nekajkrat.

Šestletno psico mešanko težko 37 kg, ki je bila sterilizirana pri enem letu, so pripeljali v ambulantno zaradi apatičnosti, neješčnosti in napihnjenega trebuha ter dva meseca trajajočega krvavega izcedka iz vagine. Kljub sterilizaciji je pogosto izražala znake gonitve. Preiskava krvi je pokazala blago anemijo, hipoalbuminemijo in levkocitozo. Z ultrazvokom smo v trebuhu opazili tvorbo mešane ehogenosti, ki je zasedala večino mezo- in hipogastrija. Med laparotomijo smo ugotovili, da tvorba izrašča iz levega materničnega roga. Maternica je bila zadebeljena in razširjena. Kljub predhodni ovariektomiji smo našli obe jajčnikovi burzi; leva je bila cistično spremenjena, desna brez posebnosti, tkiva jajčnika pa nismo opazili. Odstranili smo maternico s tvorbo in burzi. Po posegu je psica okrevala brez posebnosti. S histopatološko preiskavo tvorbe smo ugotovili, da gre za benigno novotvorbo, zgrajeno iz celic gladkomišičnega izvora, med katerimi so bile multifokalno tubularne strukture, podobne materničnim žlezam, in postavili diagnozo adenoleiomom. V burzi levega jajčnika so bile številne ciste, tkiva jajčnika tudi histološko nismo opazili.

Na osnovi klinične slike in patoloških sprememb menimo, da je v opisanem primeru nastala redka benigna novotvorba maternice, ki bi lahko bila posledica tega, da je pri ovariektomiji v trebušni votlini ostal del tkiva jajčnika. Iz ostankov jajčnika se namreč lahko razvijejo hormonsko aktivne ciste, ki prispevajo k nastanku novotvorb maternice.

Ključne besede: psica; maternica; adenoleiomom; histopatologija

Uterine adenoleiomyoma in an ovariectomized bitch

Leiomyomas are benign tumours of smooth muscle origin that account for 85–90% of canine uterine neoplasms. They are not commonly found in ovariectomized bitches. Leiomyoma with a glandular component (adenoleiomyoma) is rarely described in the literature.

A 6-year-old female mixed breed dog, spayed at 1 year of age, was presented for lethargy, anorexia, swollen abdomen and sanguineous vaginal discharge of 2 months duration. Despite neutering she frequently presented clinical signs of heat. Blood analysis showed mild anaemia, hypoalbuminemia and leukocytosis. Abdominal ultrasound was performed and a mass of mixed echogenicity occupied most of the meso- and hypogastrium. Laparotomy confirmed that the mass originated from the left uterine horn. The uterus was thickened and distended. Both ovarian bursae were present; the left one was cystic, the right one looked normal and we did not observe any ovarian tissue. We removed the uterus with the mass and both ovarian bursae. The patient recovered after surgery without complications. Histopathological examination defined the mass as a benign neoplasia of smooth muscle origin with intermingled multifocal tubular structures similar to uterine glands. Therefore, we diagnosed it as an adenoleiomyoma. Numerous cysts were present in the left ovarian bursa, but no ovarian tissue was found.

Considering the clinical signs and pathological changes we assume that the developed benign uterine neoplasia could be the consequence of a remaining part of ovarian tissue after ovariectomy. Hormonally active cysts can develop from retained ovarian cells that contribute to the formation of uterine neoplasia.

Key words: canine; uterus; adenoleiomyoma; histopathology

Sepsa pri sesnem psičku, ki jo je povzročila večkratno odporna bakterija *Escherichia coli* (ESBL)

Majda Golob¹*, Nina Krašna², Mitja Gombac³, Marko Cvetko⁴, Irena Zdovc¹

¹ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, UL, Ljubljana, Slovenija,

² Veterinarska bolnica Vipava, Vipava, Slovenija,

³ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, UL, Ljubljana, Slovenija,

⁴ Študent 6. letnika Veterinarske fakultete UL, Ljubljana, Slovenija

* e-mail: majda.golob@vf.uni-lj.si

V prispevku opisujemo sepsa pri dva dni starem rotvajlerju, ki jo je povzročila večkrat odporna bakterija *Escherichia coli* z razširjenim spektrom delovanja betalaktamaz (ESBL). Psiček se je najverjetneje okužil z materinim mlekom.

Dvoletna rotvajlerka, prvesnica, je na težkem porodnem skotila tri mrtve in tri žive mladiče. Od slednjih je imel eden razcepljeno trdo nebo in je poginil naslednji dan, dva pa sta bila klinično zdrava, a sta nenadoma poginila drugi dan po porodu.

Pri raztelesbi dvodnevne mladiča smo ugotovili pljučnico, gastroenteritis ter ikterus vidnih sluznic in podkožja. S histopatološko preiskavo organov smo diagnosticirali še hepatitis in epikarditis ter parenhimsko degeneracijo jeter in ledvic.

Psici smo odvzeli vzorec mleka za bakteriološko preiskavo in pri splošni bakteriološki preiskavi v čisti kulturi izolirali hemolitično bakterijo *E. coli*, ki je bila odporna proti številnim skupinam protimikrobnih zdravil, tudi proti betalaktamskim antibiotikom, kinolonom, gentamicinu in tetraciklinom. Hemolitično *E. coli* tipa ESBL smo z usmerjeno preiskavo na specialnih gojiščih izolirali tudi iz jeter, vranice, ledvic, pljuč, črevesja in možganov mladiča. Vsi izolati so izkazovali enak rezistotip.

Po naših podatkih je to prvi zabeležen primer pogina zaradi sepse pri pasjem mladičku v Sloveniji, ki se je z *E. coli* tipa ESBL najverjetneje okužil z materinim mlekom. Osnovni namen prispevka je opozoriti na dejstvo, da se tudi slovenski veterinarji v zadnjem času vse pogostejše srečujejo z okužbami psov, ki jih povzročajo večkratno odporne bakterije. Vzrok tovrstnih okužb je lahko hranjenje živali s surovo hrano, predvsem s piščančjim mesom, ki je zelo pogosto kontaminirano z ESBL *E. coli*.

Ključne besede: *Escherichia coli*, ESBL, sepsa, pasji mladiček

Neonatal sepsis caused by an extended spectrum beta-lactamase (ESBL) *Escherichia coli* in puppy

The aim of the present study was to report a case of a neonatal sepsis in a two-day-old Rottweiler puppy, caused by the multidrug resistant extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*. The puppy was most likely infected through the breast milk.

A two-year-old Rottweiler female, first breeding, delivered three dead and three alive puppies. From the latter, one had a split hard palate and died the next day, and two were clinically healthy but suddenly died the second day after delivery.

During the post-mortem examination of a two-day-old puppy, pneumonia, gastroenteritis and icterus of visible mucosa and subcutaneous tissues were detected. Histopathology of the organs also showed hepatitis, epicarditis and parenchymal liver and kidney degeneration.

Milk from the canine mother was collected for bacteriological examination. Haemolytic *E. coli* was isolated in pure culture, which was resistant to many groups of antimicrobials, including the beta-lactam antibiotics, quinolones, gentamicin and tetracyclines. Hemolytic ESBL *E. coli* was also isolated on the selective media from liver, spleen, kidneys, lungs, intestines and cerebral cortex. All isolates showed the same resistance pattern.

According to our data, in Slovenia this is the first recorded case of canine neonatal death from the sepsis of a puppy most probably due to the infection with ESBL *E. coli* through the mother's milk. The main goal of the paper is to show that also veterinarians from Slovenia are more and more often confronted with dog infections caused by the multidrug resistant bacteria. Feeding raw meat to dogs, especially with chicken meat which is very often contaminated with ESBL *E. coli*, can be the cause of such infections.

Key words: *Escherichia coli*, ESBL, sepsis, puppies

Ali imajo novorojeni psi že ob rojstvu svojo lastno mikrobioto?

Leonida Kajdič¹, Anja Kalin¹, Maja Zakošek Pipan², Tanja Plavec^{3,4}, Irena Zdovc^{1*}

¹ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³ Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ⁴ Tierklinik Hofheim, Hofheim am Taunus, Nemčija

*leonida.kajdic@gmail.com

Novejše raziskave pri ljudeh so pokazale, da se novorojenci rodijo z lastno mikrobioto. Tako posteljica kot tudi črevesje novorojenega otroka nista sterilni, ampak vsebujeta posamezne bakterije. Mikrobiota posteljice pri otrocih je zelo podobna mikrobioti ustne votline pri materi. Pri psih še ni raziskano ali se mladiči skotijo z bakterijsko mikrobioto ali brez nje. Ker imajo psi manj prepustno posteljico kot ljudje, bi to lahko vplivalo tudi na prisotnost bakterij v njej in posledično v mekoniju mladičev.

Preučevali smo 15 pasjih porodnic in 62 mladičev, ki smo jih razdelili v skupini glede na način poroda - naravni porod in carski rez. Pri materah smo v obdobju druge polovice brejosti in tik pred porodom sterilno odvzeli vaginalni bris in bris ustne votline, ob porodu in 4 ure po njem pa tudi kolostrum. Pri novorojenih mladičih smo sterilno odvzeli bris posteljice in vzorec mekonija. Vzorce smo takoj nasadili na gojišča (agar s 5% ovčje krvi). Porasle kolonije smo po osamitvi identificirali na podlagi masne spektrofotometrije s pomočjo tehnologije MALDI-TOF.

Iz večine vzorcev placent in mekonijev smo, kljub sterilnemu odvzemu, izolirali posamezne bakterije. Podobno kot pri ljudeh je bila večina izolatov iz mekonija in placent pasjih mladičev, prisotna tudi v ustni votlini njihovih mater.

Na podlagi tega lahko sklepamo, da bakterije potujejo hematogeno ter se že prenatalno naselijo v posteljici in črevesju plodov. Posledično imajo pasji mladiči ob rojstvu svojo lastno mikrobioto.

Ključne besede: neonatologija; porod; novorojeni psi; mikrobiota

Do newborn puppies have their own microbiota at birth?

Recent research in human medicine has shown that new-borns are born with their own microbiota. Their gut and placenta are not sterile but contain some bacteria. Microbiota of human placenta is almost the same as microbiota of mother's oral cavity. It is still not known if puppies are born with their own bacterial microbiota or not. Compared to humans, dogs' placenta is less permeable, which can affect the presence of bacteria in placenta and consequently in meconium of puppies.

We studied 15 bitches and 62 puppies, divided into 2 groups based on the type of parturition: natural birth and Caesarean section. At the second half of the pregnancy and just before parturition sterile samples from vagina and oral cavity of the bitch were taken. Colostrum samples were taken at birth and after 4 hours. Furthermore, sterile samples of placenta and meconium were also taken at birth. Samples were immediately inoculated on medium (agar with 5 % sheep blood). Isolated bacterial colonies were identified based on mass spectrophotometry using MALDI-TOF technology.

Obtained data shows that majority of placental and meconi samples contained some bacterial isolates despite sterile sampling. Similar to humans, most of the puppy isolates were also present in oral cavity of the bitch.

Based on these findings, we can conclude that bacteria pass placenta hematogenously and are prenatally colonizing puppies' placenta and gut. Therefore, puppies are born with their own microbiota.

Key words: neonatology; birth; puppies; microbiota

Dva primera mukokele žolčnika pri psih

Metka Šimundič¹, Vice Zaninovič¹, Emir Mujagić¹, Petra Šinkovec¹, Kristina Tekavec², Tamara Dolenšek², Mitja Gombač², Tanja Švara^{2*}

¹ PRVA-K, klinika za male živali, Ljubljana, Slovenija,

² Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

*tanja.svara@vf.uni-lj.si

Mukokela žolčnika je patološka sprememba, pri kateri je povečano izločanje in kopičenje mukoidnega sekreta v žolčniku, ki se posledično prekomerno razširi, stena lahko nekrotizira in poči. Pojavlja se predvsem pri starejših psih manjše in srednje rasti. Etiologija mukokel žolčnika je neznana, opisujejo pa, da so lahko povezane z zmanjšano motiliteto žolčnika, stazo žolča ter spremenjeno sestavo in viskoznostjo žolča. V prispevku opisujemo primera mukokel žolčnika pri psih.

Prvi primer smo diagnosticirali pri 5-letni sterilizirani šetlandski ovčarki, ki je bila zdravljena s tiroksinom zaradi hipotiroze. Ob rutinskem krvnem pregledu smo ugotovili povišane vrednosti jetrnih encimov, zato smo naredili še ultrazvočno preiskavo trebuha, med katero smo ugotovili razširjen žolčnik, napolnjen z nepomičnim, gostim žolčnim muljem. Žolčnik smo kirurško odstranili.

Drugi primer smo ugotovili pri 13-letni sterilizirani Jack Russel terierki, ki je bila k nam napotena zaradi akutnega abdomna. Psička je imela levkocitozo, povišane jetrne encime in blago povišano temperaturo (39,5 °C). Z ultrazvočno preiskavo trebuha smo zaznali malo proste tekočine ob žolčniku, ki bi lahko bila posledica rupture žolčnika, razširjen žolčnik, napolnjen z nepomičnim žolčnim muljem in z zadebeljeno steno, ter zmerno povečano levo nadledvično žlezo. Med laparatomijo smo odstranili počen žolčnik. Psička je bila še tri tedne po posegu zdravljena z antibiotiki. Glede na povečano levo nadledvično žlezo in mukokelo žolčnika smo lastnikom svetovali nadaljnjo endokrinološko diagnostiko zaradi suma hiperadrenokorticisma, saj se mukokela žolčnika pogosteje pojavlja pri psih z endokrinimi obolenji.

S histopatološko preiskavo obeh odstranjenih žolčnikov smo potrdili diagnozo mukokel žolčnika.

Ključne besede: mukokela žolčnika; pes; ultrazvočna diagnostika; holecistektomija; histopatološka preiskava

Two cases of gallbladder mucoceles in dogs

Gallbladder mucocele is a pathological condition with hypersecretion and accumulation of mucoid material in the gallbladder that consequently leads to overdistention of the gallbladder, necrosis of its wall and rupture. Gallbladder mucoceles occur mainly in middle-aged to older dogs of middle-sized and small breeds. The aetiology of the gallbladder mucocele is unknown, but it may be associated with decreased gallbladder motility, bile retention and altered composition and viscosity of bile. Herein we describe two cases of gallbladder mucoceles in dogs.

The first case was diagnosed in a 5-year-old female spayed Shetland Sheepdog that was treated with thyroxine due to hypothyroidism. Routine blood tests showed elevated liver enzymes, therefore, we performed abdominal ultrasonography, during which we found a distended gallbladder with immobile bile sludge in its lumen. Cholecystectomy was performed.

The second case was diagnosed in a 13-year-old female spayed Jack Russel Terrier, which was referred to the clinic because of acute abdominal pain. The dog had leucocytosis, elevated liver enzymes and mildly elevated temperature (39.5 °C). During abdominal ultrasonography we noted a small amount of free fluid around the gallbladder, which could result from gallbladder rupture, a distended gallbladder, filled with immobile biliary sludge and a thickened wall, and a moderately enlarged left adrenal gland. During laparotomy we removed the

ruptured gallbladder. After the procedure, the dog was treated with antibiotics for three weeks. Since the left adrenal gland was enlarged and the literature describes that dogs affected with gallbladder mucocele have a high incidence of concurrent endocrinopathy, we suggested further tests for endocrine disorders as we suspected hyperadrenocorticism. Histopathological examination of both excised gallbladders confirmed the diagnosis of gallbladder mucocele.

Key words: Gallbladder mucocele; dog; abdominal ultrasonography; cholecystectomy; histopathological examination

Neonatalna sepsa po načrtovanem carskem rezu pri psih: prenos bakterije *Staphylococcus pseudintermedius* z materinim mlekom na mladičke

Maja Zakošek Pipan^{1*}, Tanja Švara², Irena Zdovc³, Bojan Papič³, Jana Avberšek³, Darja Kušar³, Janko Mrkun¹

¹ Klinika za reprodukcijo in velike živali,

² Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele,

³ Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Slovenija

* maja.zakosekipipan@vf.uni-lj.si

Bakterija *Staphylococcus pseudintermedius* je oportunistični patogen pri odraslih psih. Iz pasjega mleka je že bila izolirana, vendar še nikoli opisana kot povzročiteljica neonatalne sepse.

V opisanem primeru je imela zdrava 4,5-letna psica, pasme Bostonski terier, načrtovan carski rez. Skotila je pet normalnih psičkov in enega mrtvega. Dan kasneje so se pri dveh psičkih pojavile pustule po nogah in okoli gobca. Po nadaljnjih dveh dneh pa se je v blatu vseh psičkov pojavila kri, največji psiček je kasneje nenadoma poginil in bil poslan v raztelesbo.

Med raztelesbo smo ugotovili kataralni gastroenteritis s povečanjem mezenterialnih bezgavk, temno rdeča in blago čvrstoelastična pljuča, blago dilatacijo desnega srčnega prekata ter polnokrvnost jeter, vranice, pankreasa in možganskih ovojnic. Prsna votlina je vsebovala malo belorumenega, rahlo motnega eksudata. Poleg tega smo s histopatološko preiskavo ugotovili še akutno intersticijsko pljučnico ter multifokalne nekroze miokarda z mineralizacijami.

Iz vseh notranjih organov in eksudata iz prsne votline poginulega psička ter mleka psice smo v čisti kulturi izolirali *S. pseudintermedius*. S sekvenciranjem celotnih genomov (WGS) smo vsem izolatom določili sekvenčni tip 241, razlikovali pa so se v 2–5 polimorfizmih posameznih nukleotidov. To potrjuje njihovo epidemiološko povezanost, kar pomeni pripadnost istemu izbruhu.

Prvič je opisan primer neonatalne sepse pri psičkih, povzročene s *S. pseudintermedius* iz pasjega mleka. Naši rezultati, potrjeni s sekvenciranjem WGS, nakazujejo, da je pasje mleko lahko rezervoar patogenih bakterij pri sicer zdravih psicah in da lahko tudi *S. pseudintermedius* iz mleka povzroča smrtno nevarno sepsa pri novorojenih psičkih.

Ključne besede: *Staphylococcus pseudintermedius*, psički, pasje mleko, sekvenciranje celotnih genomov

Neonatal sepsis after elective caesarean section in dogs: transmission of *Staphylococcus pseudintermedius* to puppies through canine milk

Staphylococcus pseudintermedius is known as an opportunistic pathogen in adult dogs. *S. pseudintermedius* has been previously isolated from canine milk but has never been described as the causative agent of neonatal sepsis.

In presented case a 4.5-year-old healthy Boston terrier bitch had an elective caesarean section, delivering five normal puppies and one dead runt. One day later, two puppies developed pustules on their legs and around the muzzle. After two more days, blood was noticed in the stool of all puppies and the biggest puppy suddenly died.

Necropsy of the puppy revealed a catarrhal gastroenteritis with lymphadenopathy of mesenteric lymph nodes, dark red and slightly firm lung, mild dilatation of the right heart chamber and congestion of the liver, spleen, pancreas

and meninges. The thoracic cavity contained white-yellow slightly opaque exudate. Histopathology revealed an acute interstitial pneumonia and multifocal myocardial necrosis with mineralization.

From all internal organs and exudate from thoracic cavity of the dead puppy and bitch's milk *S. pseudintermedius* in pure culture was isolated. Whole-genome sequencing (WGS) showed that all isolates belonged to the sequence type 241 and differed in 2–5 single nucleotide polymorphisms, which confirmed the epidemiological link between the outbreak-associated isolates.

This is the first report of a neonatal sepsis caused by transmission of *S. pseudintermedius* from bitch's milk. Our findings, supported with WGS, suggest that the canine milk can serve as a reservoir of pathogenic bacteria in otherwise healthy bitches and that *S. pseudintermedius* from the milk can cause fatal sepsis in the newborn puppies.

Key words: *Staphylococcus pseudintermedius*; puppies; canine milk; whole-genome sequencing

Klinično-patološke značilnosti kožnih mastocitomov psov, pomembne za napoved poteka bolezni

Žiga Žagar^{1*}, Darja Pavlin², Tanja Švara³

¹ Tierklinik Hofheim, Hofheim am Taunus, Nemčija, ² Veterinarska fakulteta, Klinika za male živali, Ljubljana, Slovenija, ³ Veterinarska fakulteta, Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Ljubljana, Slovenija

* ziga.zagar92@gmail.com

Namen raziskave je bil proučiti uporabnost dvostopenjskega ocenjevanja stopnje malignosti mastocitomov (MCT) po Kiupelu (2011) v primerjavi s tristopenjskim ocenjevanjem po Patnaiku (1984) za napoved poteka bolezni ter proučiti uporabnost vzorca KIT-barvanja in izražanja PD-1 in PD-L1 kot napovednega dejavnika za potek bolezni pri psih s kožnimi MCT. Raziskavo smo opravili na arhivskih parafinskih vzorcih 59 kožnih MCT, odvzetih 57 psom. Histološko stopnjo malignosti tumorjev smo določili po Patnaiku: 18 (30,5 %) jih je bilo gradusa I, 27 (45,8 %) gradusa II and 14 (23,7 %) gradusa III, in po Kiupelu: 44 (74,6 %) je bilo MCT nizke in 15 (25,4 %) MCT visoke stopnje malignosti. Vzorec KIT-barvanja I je izražalo 36 (61 %) MCT, medtem ko jih je 11 (25,4 %) izražalo KIT vzorca II oz. III. Antigen PD-1 je izražalo 31 (54,2 %) MCT, PD-L1 pa 15/42 (35,7 %) preiskanih MCT. Čas preživetja je bil statistično značilno krajši pri psih z MCT gradusa III v primerjavi z gradusoma I in II, pri psih z MCT visoke stopnje malignosti v primerjavi z nizko, pri psih z MCT z vzorcem KIT-barvanja III v primerjavi s KIT I in pri psih, katerih MCT niso izražali PD-1 v primerjavi s tistimi, kjer je bilo izražanje PD-1 prisotno. Dokaz, da kožni MCT psov izražajo PD-1 in PD-L1, pomeni možnost novega pristopa k zdravljenju z že obstoječimi, v humani medicini uporabljenimi biološkimi zdravili.

Ključne besede: kožni mastocitom; pes; prognoza; histopatologija; imunohistokemija

Clinico-pathological characteristics of canine cutaneous mast cell tumours, important for prognosis

The goals of this study were to evaluate the prognostic utility of histologic grade (2-tier histologic grading system as proposed by Kiupel et al. (2011) vs. 3-tier grading system by Patnaik et al. (1984)), KIT staining patterns and expression of antigen PD-1 and its ligand PD-L1 in canine cutaneous mast cell tumours (MCTs). The study was performed on 59 cutaneous MCTs from 57 dogs. Histologic grade was determined based on grading systems by Patnaik: 18 (30.5 %) were assessed as grade I, 27 (45.8 %) as grade II and 14 (23.7%) as grade III MCTs, and Kiupel: 44 (74.6 %) were low grade MCTs and 15 (25.4 %) were high grade MCTs. KIT-I staining pattern was expressed in 36 (61 %), while KIT-II and KIT-III were found in 11 (18.6 %) MCTs. Expression of PD-1 was present in 31 (54.2 %) MCTs and PD-L1 in two distinctive levels in 15/42 (35.7 %) examined MCTs. There was statistically significant shorter survival in dogs with grade III MCTs in comparison with grade I and II, dogs with high grade MCTs in comparison with low grade MCTs, dogs with KIT-III staining pattern compared with KIT-I and in dogs in which tumours did not express PD-1 compared to those where this expression was present. Evidence that canine cutaneous MCTs express PD-1 and PD-L1 represent a possible new approach to treatment of canine MCTs with currently available biological drugs.

Key words: Cutaneous mast cell tumour; dog; prognosis; histopathology; immunohistochemistry

Nov način vitrifikacije pasjega semena

Maja Zakošek Pipan^{1*}, Margaret L. Casal², Nataša Šterbenc¹, Janko Mrkun¹, Petra Zrimšek³, Irma Virant Klun⁴

¹ Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine, Clinical Sciences & Advanced Medicine, Filadelfija, Združene države Amerike, ³ Inštitut za predklinične vede, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ⁴ Ginekološka klinika UKC Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

* maja.zakosekipan@vf.uni-lj.si

Eden največjih izzivov zamrzovanja semena je preprečiti oziroma zmanjšati poškodbe semenčic, ki nastanejo med postopkom zamrzovanja. Med postopkom zamrzovanja seme počasi ohlajamo, za kar potrebujemo posebej pripravljene razredčevalce, zaradi česar je proces zahteven in zamuden. Za preprečitev poškodb na semenčicah med klasičnim zamrzovanjem v razredčevalce dodamo t.i. krioprotektante (CPA). Pri uspešnem zamrzovanju je potrebno doseči ustrezno ravnovesje med dolžino postopka zamrzovanja in toksičnimi koncentracijami CPA. Z raziskavami so dokazali, da je potrebno pospešiti hitrost ohlajanja semena, v kolikor želimo zmanjšati količino dodanega krioprotektanta. Za ta namen se uporablja vitrifikacija, ki predstavlja alternativo klasičnemu postopku zamrzovanja semena. Namen naše raziskave je bil izboljšati obstoječe metode vitrifikacije pasjega semena, pri čemer smo razredčevalcu, ki ni vseboval proteinov živalskega izvora dodali saharozo (0,2 M; 0,25 M; 0,3 M). Vzorce semena smo nato tretirali z ali brez sojinega lecitina (1g) kot alternativnega proteina. Vse vzorce semena v različnih razredčevalcih smo nato v kapljicah potopili v tekoči dušik. Po ogretju/devitrifikaciji (vsaj 48 ur po vitrifikaciji) smo semenu dodali kontrolni medij, ki je vseboval 1 % govejega serumskega albumina in seme v različnih razredčevalcih ocenili kakovost semena. Ugotovili smo, da je seme, razredčeno v razredčevalcu, ki je vseboval 0,25 M saharozo in sojin lecitin najbolje ohranilo pomembne fiziološke parametre kot so preživetje, gibljivost, progresivna gibljivost, integriteta plazemske membrane repa in integriteta DNK semenčic. Izbrana kombinacija se je izkazala kot primerna za uspešno vitrifikacijo pasjega semena, nakazuje pa se tudi možnost uporabe za shranjevanje semena neplodnih in onkoloških pacientov v reproduktivni medicini.

Ključne besede: vitrifikacija; konzerviranje semena; psi

New approach to vitrification of canine semen

The major challenge in freezing semen is avoiding or decreasing damage of intact spermatozoa caused by the freezing process. Most freezing methods involve slow cooling, which is time consuming and requires specialized media. To avoid damage to the spermatozoa during the slow freezing process, cryoprotective agents (CPAs) must be added. However, the balance between toxic concentrations of CPAs and the length of the freezing process need to be achieved. Studies have shown that in order to decrease the concentrations of CPAs, rates of cooling need to be increased, which can be achieved by vitrification. Our research was aimed at improving current vitrification methods for canine semen using sucrose (0.2 M; 0.25 M; 0.3 M) added to a basic canine semen extender that did not contain animal proteins. Samples were processed with or without soya lecithin (1g) as an alternate protein. All of samples were then vitrified in the liquid nitrogen and warmed/devitrified at least 48 hours later in the control medium containing 1 % bovine serum albumin. Semen samples in different extenders were compared according to various parameters. Results revealed that soya bean lecithin with 0.25 M sucrose can effectively preserve important physiological parameters of spermatozoa such as viability, motility, progressive motility, sperm tail membrane integrity and DNA integrity during vitrification process. We can conclude that this combination is optimal for successful canine semen vitrification procedure, and, along this, it may be also used in reproductive medicine to preserve the semen of infertile and oncological patients.

Key words: vitrification; semen preservation; canine

Pojavnost posameznih povzročiteljev mastitisa v kliničnih vzorcih

Lena Hodošek^{1*}, Saša Rupnik¹

¹ Veterinarska fakulteta, NVI E Kranj, Kranj, Slovenija

* lena.hodoscek@vf.uni-lj.si

Povzročitelje mastitisa pri govedu glede na vir okužbe delimo na nalezljive in okoljske mikroorganizme. Med nalezljive povzročitelje mastitisa spadajo streptokoki (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae*), *Staphylococcus aureus* in koagulazno negativni stafilokoki ter *Corynebacterium bovis*. Okoljski povzročitelji so streptokoki (*S. dysgalactiae*, *S. uberis*), bacilarni povzročitelji (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Trueperella pyogenes*), alge, kvasovke in plesni.

V laboratoriju NVI-Enota Kranj smo od februarja 2016 do oktobra 2018 spremljali pogostnost pomembnejših povzročiteljev mastitisa. V tem obdobju smo analizirali vzorce mleka iz 980 posameznih četrti. Vzorce mleka so vzorčili veterinarji (56%) ali pa sami lastniki živali (44%). Težavo pri diagnostiki povzročitelja mastitisa so povzročali nesterilno odvzeti vzorci (21%). Iz tega razloga je bilo neustreznih 29% vseh vzorcev odvzetih s strani lastnika in 15% vzorcev odvzetih s strani veterinarja.

Ugotovili smo, da so med najpogostejšimi povzročitelji mastitisa *Staphylococcus aureus* in koagulazno negativni stafilokoki (21%), sledijo streptokoki (18%) ter *Corynebacterium spp.* in bacilarni povzročitelji (5%). Pri približno tretjini vzorcev na krvnem agarju tudi po 72 urah ni bilo rasti.

Streptokokni povzročitelji so bili najbolj občutljivi za amoksisilin s klavulansko in cefalosporine IV generacije. *Staphylococcus aureus* in koagulazno negativni stafilokoki so bili najbolj občutljivi za kloksacilin in cefalosporin IV generacije.

Ključne besede: mastitis; povzročitelji; antibiotična občutljivost

Major mastitis agents in clinical samples

According to the source of infection, microbiological cause of mastitis infection are divided into contagious and environmental microorganisms. Contagious microorganisms are streptococcus (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae*), *Staphylococcus aureus*, Coagulase-Negative Staphylococci and *Corynebacterium bovis*. Environmental microorganisms are streptococcus (*S. dysgalactiae*, *S. uberis*), *Bacillus sp.* (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Trueperella pyogenes*), algae, yeast and molds.

From February 2016 to October 2018, the NVI-Unit Kranj laboratory monitored the frequency of major mastitis agents. During this period, we analyzed milk samples from 980 individual milk quarters. Samples of milk were taken by veterinarians (56%) or by the owners themselves (44%). Due to contamination we could not identify the cause of mastitis in 21% samples. 29% and 15% of all samples taken by the owner or by the veterinarian were contaminated.

We found that *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci (21%) are among the most common mastitis-causing pathogens, followed by streptococci (18%) and *Corynebacterium spp.* and *Bacillus sp.* (5%). No growth was observed on blood agar in approximately one third of all samples even after 72 hours.

Streptococcus sp. were most sensitive to amoxicillin/clavulanic acid and fourth generation cephalosporins. *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci were most sensitive to cloxacillin and fourth generation cephalosporins.

Key words: Mastitis; microbiological cause; antibiotic sensitivity

Evaluation of a protocol of Paromomycin oral administration regarding the control of neonatal cryptosporidiosis in calves

Brigitte Duquesne, Lieven Claerhout

Huvepharma®, Antwerp, Belgium

brigitte.duquesne@huvepharma.com

Cryptosporidium, a zoonotic pathogen, may occur in 30-50% of diarrheic calves on a worldwide basis. According to a recent study by Jože Starič et al (Veterinary faculty, University of Ljubljana) showing the presence of *C. parvum* in neonatal calves, Cryptosporidiosis is maybe underestimated in Slovenia

The aim of the trial conducted in a cattle operation in France during February-March 2016 was to evaluate the efficacy of Paromomycin oral administration (Parofo[®]).

The identified farm had a history of neonatal scours caused by *Cryptosporidium spp.* with important losses. The attending veterinarian confirmed the diagnosis through faecal analysis by rapid tests in farm based on immunochromatography (Huve-Check[®]).

24 neonatal calves were included in the study, randomly and alternatively assigned to group A (treated) or B (untreated). They received a dose of powder (Paromomycin sulfate (Parofo[®]) in A or Placebo in B) at 50mg/kg once a day for 5 days, starting at 5th day after birth.

All animals enrolled in the experiment were monitored for a period of 28 days and the observations recorded: weight, faecal score, health score, oocysts excretion.

The treatment allowed to reduce the duration of diarrhea: significant reduction of the mean number of days (3 in group A / 1.18 in B) and the diarrhea severity (sum of index scores, mean :1.9 in group A / 4.36 in B). A better weight gain was also observed : 2kgs more in the treated group (*ANCOVA*, estimated marginal means).

Naše izkušnje z levostransko zgornjo laparorumenotomijo po ljubljanski metodi in pregledna študija travmatskih retikulo-peritonitisov na Kliniki za prežvekovalce v Ljubljani

Tomaž Zadnik¹, Simon Rakuljič-Zelov²

¹ Klinika za prežvekovalce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Cesta v Mestni log 47, 1000 Ljubljana, Slovenija;

E-mail: Tomaz.Zadnik@gmail.com

² Veterina Novo mesto d.o.o. Veterinarska ambulanta Žuženberk, Grajski trg 41, 8360 Žuženberk, Slovenija;

E-mail Simon.Rakuljic-Zelov@gov.si

Članek obravnava 8.957 živali, ki so bile od 1961 do 2012 leta sprejete in tretirane po metodi eksplorativne leve laparorumenotomije ter zaradi travmatskega retikulo-peritonitisa operirane po Ljubljanski metodi. S preiskovalno metodo smo ugotovili 4.189 (46,8 %) primerov travmatskega retikulo-peritonitisa, 324 (3,8 %) dislokacij siriščnika, 12 (0,13 %) torzij cekuma in 4.417 (49,3 %) bolezni, ki niso bile neposredno povezane s prebavnim sistemom. Na osnovi rezultatov pregledne študije in opravljene epidemiološke analize sklepamo, da v Sloveniji obstaja velik dejavnik tveganja za pojav travmatskega retikulo-peritonitisa. Opravljena epidemiološka študija je ugotovila, da je bila kapica pri 22,7 % redno zaklanih živalih patomorfološko prizadeta zaradi v njej ležečih ostrih tujkov. Metoda dela je hitra, enostavna in zanesljiva. Leva laparorumenotomija ni samo diagnostična, je tudi odlična kirurška metoda ter uvod v zdravljenje različnih abdominalnih obolenj. Na osnovi dolgoletnih izkušenj jo priporočamo. V prispevku opisujemo tudi postopek operacije travmatskega retikulo-peritonitisa po Ljubljanski metodi. Oba postopka vsebujeta vse klinične elemente, ki slonijo na dokazih za opravljanje dobre bujatrične prakse.

Ključne besede: Govedo; Reticulo-peritonitis traumatica; tujek; Leva zgornja laparorumenotomija; Ljubljanska metoda

Our experience with upper left flank laparorumenotomy by Ljubljana method and a review of traumatic reticuloperitonitis in cattle treated at the Clinic for ruminants in Ljubljana

The article encompasses data obtained from 8,957 cattle, which during the period from 1961 to 2012, were admitted, examined and treated at the Clinic for Ruminants in Ljubljana, according to exploratory upper left flank laparorumenotomy called the Ljubljana method. Identified were 4,189 (46.8 %) cases of traumatic reticuloperitonitis and with it related diseases, 324 (3.8 %) displacement of the abomasum, 12 (0.13 %) cecal torsions and 4,417 (49.3 %) cases of diseases not directly associated with digestive system. In cattle in Slovenia there exists a great risk for development of traumatic indigestion. Epidemiological study revealed that 22.7 % of regularly slaughtered animals showed pathomorphological changes of the reticulum. Alterations were caused by sharp foreign bodies. Our method of the exploratory laparorumenotomy method is quick, simple and reliable. Because laparorumenotomy is not only a reliable diagnostic aid, but also a valuable surgical method of treatment of all abdominal diseases in cattle, we highly recommend it. Presented are advantages of the Ljubljana method procedure. The procedure has all elements for evidence based good buiatric practice.

Key words: Cattle; Reticulo-peritonitis traumatica; Foreign bodies; Upper left flank laparorumenotomy; Ljubljana method

Serološka diagnostika leptospiroznih okužb pri belem dihurju

Teja Rosa¹, Jožko Račnik^{2*}, Nina Mlakar Hrzenjak², Maja Čonč³, Marko Zadavec², Zoran Žlabravec² in Renata Lindtner Knific²

¹ Študentka Veterinarske fakultete, Gerbičeva 60 Ljubljana

² Inštitut za zdravstveno varstvo perutnine, ptic, malih sesalcev in plazilcev, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60 Ljubljana,

³ Zverinice – društvo ljubiteljev belih dihurjev, Cesta na Brdo 85 Ljubljana

* josko.racnik@vf.uni-lj.si

Leptospiroza je zoonoza in jo povzroča bakterija iz rodu *Leptospira* spp. Okužba z leptospiro je bila opisana pri sorodnih vrstah belega dihurja iz družine kun (*Mustelidae*), o okužbi pri belem dihurju pa je zelo malo podatkov. Želeli smo preveriti, kakšna je prevalenca protiteles proti leptospiri pri dihurjih ter kateri dejavniki predstavljajo tveganje za okužbo.

V študijo smo vključili 121 belih dihurjev, ki smo jih sprejeli na Kliniki za ptice, male sesalce in plazilce, VF. Za serološko diagnostiko leptospiroznih okužb smo uporabili test mikroskopske aglutinacije. Za testiranje smo uporabili žive kulture dvanajstih serovarov, ki se najpogosteje pojavljajo pri živalih v Sloveniji. Test je bil pozitiven, kadar je bilo zlepljenih ali liziranih več kot 50 % leptospir. Pozitivne vzorce smo naprej titrirali ter določili višino titra protiteles. Epidemiološke podatke smo zbirali s pomočjo ankete, ki so jo izpolnili lastniki.

Izmed 121 pregledanih dihurjev jih je 23 (19,0 %) reagiralo pozitivno in sicer na serovare Pomona (n=2), Icterohaemorrhagiae (n=10), Canicola (n=5), Australis (n=6), Sejore (n=1), Bataviae (n=4), Saxkoebing (n=3), Hardjo (n=1) in Bratislava (n=1). Večina pregledanih dihurjev je bila pozitivna na eden serovar (17/23), na dva serovara so bili pozitivni štirje dihurji in na štiri serovare dva dihurja.

Z raziskavo smo ugotovili, da beli dihurji v Sloveniji prihajajo v stik z leptospirami. Okuženi so z različnimi serovari med katerimi je najpogostejši Icterohaemorrhagiae. Na podlagi epidemioloških podatkov nismo mogli dognati, kateri dejavniki predstavljajo večje tveganje za okužbo.

Ključne besede: leptospiroza; leptospira; beli dihur; zoonoza.

Serological diagnosis of leptospirosis infections in domestic ferrets

Leptospirosis is zoonosis caused by a bacterium from the *Leptospira* spp. genus. The infection has been described in species related to ferrets from family *Mustelidae*, however, very little is known about this infection in domestic ferrets. The aim of the study was to determine the incidence of antibodies against *Leptospira* in ferrets and to investigate the risk factors for infection.

The study includes 121 ferrets admitted to the Clinic for Birds, Small Mammals and Reptiles. The microscopic agglutination test was used for the serological diagnosis. Living cultures of twelve serovars most commonly found in animals in Slovenia were used for testing. The positive reaction was evaluated as at least 50% agglutination or lysis and the titration of positive samples was performed. The epidemiologic data was provided by the owners.

Out of 121 examined ferrets, 23 (19,0 %) had antibodies against *Leptospira*. Positive serovars were Pomona (n=2), Icterohaemorrhagiae (n=10), Canicola (n=5), Australis (n=6), Sejore (n=1), Bataviae (n=4), Saxkoebing (n=3), Hardjo (n=1) and Bratislava (n=1). Most of the ferrets were positive to one (17/23), some were positive for two (4/23) and 2 out of 23 ferrets were positive for four serovars. The results show that ferrets in Slovenia are in contact with *Leptospira*. They can be infected with different leptospiral serovars, however antibodies against *L.*

icterohaemorrhagie were most commonly detected. The source of infection remains unknown since epidemiologic data provided no additional information.

Key words: leptospirosis; *Leptospira*; domestic ferret; zoonosis.

Pregled bolezni afriških beloprskih ježev (*Atalerix albiventris*) v Sloveniji (2008-2018)

Marko Zadavec^{1*}, Tanja Švara², Nina Mlakar Hrženjak¹, Tamara Dolenšek²,
Zoran Žlabravec¹, Joško Račnik¹

¹ Klinika za ptice, male sesalce in plazilce, Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija; ² Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* marko.zadavec@vf.uni-lj.si

Afriški beloprski jež (*Atalerix albiventris*) je bližnji sorodnik nam bolj poznanega rjavoprsega (*Erinaceus europaeus*) in evropskega beloprsega ježa (*Erinaceus concolor*). Gre za nočno solitarno žival, prilagodljivega žužkojeda, ki izvira iz Centralne in Vzhodne Afrike. V zadnjem desetletju je vedno bolj priljubljena ljubiteljska žival tudi v Sloveniji.

Pregledali smo kartoteke 106 afriških beloprskih ježev, katere smo sprejeli in klinično pregledali na Kliniki za ptice, male sesalce in plazilce VF med leti 2008 in 2018. Skupno smo opravili 140 kliničnih pregledov. Pri 101 živali smo ugotovili različne bolezenske znake, medtem so ko bile preostale (n=39) klinično zdrave.

Bolezenske spremembe smo najpogostejše ugotovili v prebavnem traktu (n=39), koži (n=25) in urogenitalnem traktu (n=17). Redkeje smo ugotovili bolezni centralnega živčnega sistema (n=8), respiratornega trakta (n=6), oči (n=4) in druga sistemska obolenja (n=9). Pri dveh splošno oslabilih in neješčih ježih nismo uspeli ugotoviti vzroka obolenja. V prebavnem traktu so bila najpogostejša obolenja zob in obzobnih tkiv, na koži pa sta prevladovali dermatofitoza in pršičavost. Pri afriških beloprskih ježih smo novotvorbe pogosto dokazali. Ugotovili smo jih v 24 primerih, najpogostejše na rodilih (n=11).

Ključne besede: afriški beloprski jež; bolezni; Slovenija

Prevalence of diseases in African pygmy hedgehog (*Atalerix albiventris*) in Slovenia (2008-2018)

African pygmy hedgehog (*Atalerix albiventris*) is closely related to two Slovenian native species; the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) and Southern white-breasted hedgehog (*Erinaceus concolor*). African pygmy hedgehog is insectivorous, predominantly solitary and adaptable creature, native to central and East Africa. In last decade, it is becoming more and more popular pet animal in Slovenia.

On Clinic for birds, small mammals and reptiles VF, 140 clinical examinations were carried out in 106 African pygmy hedgehogs between years 2008 and 2018. Thirty-nine animals were clinically healthy on clinical examination and in 101 cases different disease processes were noticed.

Most commonly affected systems were alimentary tract (n=39), integumentary system (n=25) and urogenital system (n=17). Less frequently, diseases of CNS (n=8), respiratory tract (n=6), eyes (n=4) and other systemic diseases (n=9) were diagnosed. In two debilitated and anorexic hedgehogs, the cause could not be determined. Alimentary tract most often encountered diseases were teeth and periodontal diseases. On the other hand, dermatomycosis and acariasis were most common diseases of integumentary system. Based on our results the African pygmy hedgehog appears particularly prone to neoplasia (n=24). Most commonly, in 11 cases, neoplasms of female reproductive tract were diagnosed.

Key words: African pygmy hedgehog; diseases, Slovenia

Obštudijska dejavnost za dobrobit na Veterinarski fakulteti

Alenka Dovč^{1*}, Barbara Pulko², Mateja Stvarnik¹

¹ UL, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija, ² študentka UL, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

* alenka.dovc@vf.uni-lj.si

Dobrobit je samostojna, interdisciplinarna znanstvena veda, ki v svojem raziskovalnem delu uporablja tehnike in znanja s področij etologije, fiziologije, imunologije, prehrane, reprodukcije, veterinarstva. Evropska komisija dobrobit spodbuja že več kot 40 let in postopno izboljšuje razmere tako pri rejnih kot tudi pri družnih, športnih, terapevtskih, poskusnih živalih, živalih v oborah, prostoživečih živali in živalih živalskih vrtovih. Direktiva Sveta 98/58/ES je povzela koncept petih svoboščin. Lizbonska pogodba živali prepoznava kot bitja, ki čutijo ugodje in bolečino. Slovenija je kot država članica Evropske unije povzela mednarodno pravo in ga vnesla v nacionalni pravni red. Na Veterinarski fakulteti je dobrobit vključena v študijski program že vrsto let. Dodatne težnje k poznavanju in razvijanju tega področja so privedle do uvedbe 30 urnega predmeta »Dobrobit, etika in zakonodaja« v študijskem letu 2016/17. Decembra 2016 se je oblikovala Obštudijska dejavnost za dobrobit. Študenti so pod mentorstvom uspešno izpeljali različne projekte oz. raziskovalne naloge tako doma, kot tudi v tujini. Rezultati so bili predstavljeni na različnih domačih in tujih kongresih in v strokovnih revijah. Predstavljena bo Obštudijska dejavnost za dobrobit, njeno dosedanje delo s ključnimi povzetki in rezultati posameznih aktivnosti, njen namen in cilji za naprej.

Ključne besede: študenti; aktivnosti; dobrobit

Additional student's activity on animal welfare in Veterinary faculty

Welfare is an independent, interdisciplinary scientific discipline using techniques and knowledge in the fields of ethology, physiology, immunology, nutrition, reproduction, veterinary medicine. The European Commission has been promoting welfare for more than 40 years and is gradually improving conditions for farm animals, pets, sports and therapeutic animals, experimental and wild animals, animals in zoos. Council Directive 98/58 / EC summarized the concept of five freedoms. The Lisbon Treaty recognizes animals as creatures who feel pleasure and pain. Slovenia as a member of the European Union summarized international law and introduced it into the national legal order. At the Veterinary Faculty, welfare has been included in the study program for many years. Additional tendencies to improve and develop knowledge about this area have led to the introduction of a 30-hour course "Welfare, Ethics and Legislation" in the study year 2016/17. In December 2016, the Additional student's activity on animal welfare was created. Under the mentorship, students successfully carried out various projects or research tasks in Slovenia as well as abroad. The results were presented at various congresses and in professional magazines. The Additional student's activity on animal welfare, its previous work with key summaries and the results of individual activities, its purpose and goals for the future will be presented.

Key words: Students, activities, welfare

Hmeljeve beta kisline kot potencialni zaviralci zajedalca čebelje družine, *Varroa destructor* – komplementarni pristop

Maja Ivana Smodiš Škerl^{1*}, Jernej Bubnič^{1,2}, Vlasta Jenčič², Peter Kozmus³, Ajda Moškrič¹, Miha Ocvirk⁴, Metka Pislak Ocepek², Janez Prešeren¹, Iztok Košir⁴

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana, Slovenija, ² Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³ Čebelarstva zveza Slovenije, Lukovica, Slovenija, ⁴ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo, Žalec, Slovenija

* maja.smodis.skerl@kis.si

Parazitska pršica vrste *Varroa destructor* predstavlja resno grožnjo najpomembnejšemu svetovnemu opravevalcu, medonosni čebeli. Hmeljeve beta kisline (HBA) imajo akaricidni učinek pri rastlinskih pršicah, učinek pa naj bi imele tudi na varojo. Preskušali smo toksičnost HBA na varojo in čebele v laboratorijskih pogojih (0.05 – 10 % HBA, *per os* in/ali topikalno); preskušali smo tudi učinek HBA na čistilno vedenje (16 % HBA) in na odpad varoj v čebeljih družinah (18 in 20 % HBA). Čistilne plesse smo zabeležili z video kamero v opazovalnih panjih pred, med in po vstavitvi celuloznih nosilcev, prepojenih s 16% HBA. V laboratorijskih poskusih v kletkah se je HBA izkazala za toksično za čebele, ne glede na način aplikacije in koncentracijo. Smrtnost varoje se je povečala po vstavitvi HBA in je bila višji pri daljših izpostavitvah (90 – 100 %). Število čistilnih plesov se je po vstavitvi HBA skoraj podvojilo in padlo naslednji dan. Rezultati uporabe HBA v družinah so pokazale nizko učinkovitost (< 25%), ki je verjetno posledica uničenja celuloznih nosilcev s strani čebel. Študija je korak k nadaljnim raziskavam o toksičnosti, primernih koncentracijah in aplikacijah HBA kot sonaravnega sredstva za zatiranje varoje.

Ključne besede: *Apis mellifera carnica*; hmeljeve beta kisline; *Varroa destructor*; toksičnost; čistilno vedenje

Hop Beta Acids as a potential suppressor of bee colony parasite, *Varroa destructor* - a complementary approach

Varroa destructor (Varroa) poses serious threat to the health of honey bee colonies worldwide. Hops beta acids (HBA) were suggested to have a potential in suppression of Varroa. We tested HBA toxicity on Varroa and honey bees in laboratory conditions (0.05 – 10 % HBA, *per os* and/or topically), the effects on grooming behaviour (16 % HBA), on colony and mite fall in experimental apiary (18 and 20 % HBA). The allogrooming dances were video-documented in the observation hives before, in-between, and after the insertion of cellulose carrier containing 16% HBA. HBA proved toxic in experiments with caged bees regardless the mode of application and the concentration of HBA tested. The death rate of Varroa mites increased when HBA was added and was higher after longer periods of exposure (90 – 100 %). The number of allogrooming dances after insertion of cellulose carrier with HBA almost doubled on the first day and dropped sharply the next day. The results of HBA treatment in colonies showed low efficiency (< 25 %) due to the cellulose carrier which was eaten by the bees. In the collection hop plant we are carrying out the selection of 25 different genotypes as potentially appropriate source of HBA. This study is a stepping stone for further research on toxicity, suitable concentrations and applications of HBA as natural alternatives of suppression of Varroa in the future.

Key words: *Apis mellifera carnica*, Hop beta acids, *Varroa destructor*, Toxicity, Grooming behaviour

Spremljanje napadenosti izbranih čebeljih družin z varojami (*Varroa destructor*) v pomurski in podravski regiji v letih 2017 in 2018

Vida Lešnik^{1*}, Mateja Ratiznojnik², Vlasta Jenčič³

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Nacionalni veterinarski inštitut, enota Maribor - Ptuj, Slovenija, ² Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Nacionalni veterinarski inštitut, enota Murska Sobota, Slovenija, ³ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Ljubljana, Slovenija

*vida.lesnik@vf.uni-lj.si

Varoja (*Varroa destructor*) predstavlja enega izmed glavnih zdravstvenih problemov v čebelarstvu. Pršice varoje zajedajo na čebelah in v zalegi ter s tem povzročajo izgube čebeljih družin in posledično ekonomsko škodo. Čebelja družina lahko propade v kateremkoli letnem času, v Sloveniji pa najpogosteje septembra in oktobra. Varoj v čebelji družini ni mogoče povsem uničiti, zato mora čebelar vse leto spremljati napadenost družin in varoje zatirati, preden bi se tako razmnožile, da bi bila ogrožena razvoj in zdravje čebelje družine.

V letu 2017 in 2018 smo spremljali 16 naključno izbranih čebelnjakov, 8 v pomurski in 8 v podravski regiji. V vsakem čebelnjaku smo izbrali po 3 čebelje družine in jih vsako leto spomladi, poleti in jeseni klinično pregledali. V klinični pregled je bilo zajeto ugotavljanje stopnje napadenosti čebeljih družin z varojami, oskrba s hrano in splošno zdravstveno stanje. Stopnjo napadenosti z varojami smo ugotavljali s tremi različnimi metodami in sicer z metodo štetja naravnega odpada, pregledom trotovskih ličink in ugotavljanjem napadenosti čebel s sladkornim testom. Oskrbo s hrano in zdravstveno stanje smo ocenili na podlagi vnaprej pripravljenih kriterijev.

Pri obravnavanih čebeljih družinah smo ugotavljali različne stopnje napadenosti z varojami. Na osnovi ugotovljene napadenosti smo čebelarjem svetovali čas in način zatiranja varoj v čebeljih družinah. Na ta način smo čebelarje naučili, kako se spremlja napadenost čebeljih družin z varojami, kdaj je optimalni čas za njihovo zatiranje ter način, kako je treba pravilno uporabljati zdravila in pripomočke za zdravljenje.

Ključne besede: *Varroa destructor*; čebelja družina; stopnja napadenosti

Varroa (*Varroa destructor*) infestation level monitoring of the selected honeybee colonies in Mura and Drava regions in the years 2017 and 2018

Varroa (*Varroa destructor*) represents one of the main health problem in beekeeping. Varroa mites live on adult bees and brood and cause honeybee colony losses and consequently great economic damage. Colony collapse can happen at any time of the year, however in Slovenia this phenomenon seems most likely in September and October. Complete varroa eradication in bee colony is not possible so beekeepers must monitor the infestation level on a regular basis and control varroa before it multiplies to an extent that honeybee colony weakens and dies.

In 2017 and 2018 a total of 16 randomly selected apiaries were studied; 8 in Mura and 8 in Drava region. In each apiary three colonies were selected and clinically examined three times in the year: in spring, summer and autumn. Clinical examination included the varroa infestation levels identification, food supply and general health status assessments. Varroa infestation level was determined using three methods: natural varroa drop, drone brood uncapping and bee infestation using sugar shake test. Food supply and general health condition were assessed with regard the previously set criteria.

In our study of the selected honey bee colonies various varroa infestation levels were detected. With regard the varroa infestation level beekeepers were advised the appropriate treatment time and medicines selection. During

our activities beekeepers also learned the methods of varroa infestation level monitoring and how to use medicines and devices correctly.

Key words: *Varroa destructor*; honey bee colony; infestation level

Primer zatiranja varoj z zdravilom Formivar 85% in hlapilnikom Liebig

Alenka Jurić^{1*}, Vlasta Jenčič²

¹ UL Veterinarska fakulteta, Nacionalni veterinarski inštitut, Enota Celje, Slovenija

² UL Veterinarska fakulteta Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Ljubljana, Slovenija

* e-mail: alenka.juric@vf.uni.lj.si

V juliju in v septembru 2018 smo zdravili proti varozi 3 čebelje družine v AŽ panjih in 8 čebeljih družin v LR panjih s Formivar 85% (85% mravljična kislina) in hlapilnikom Liebig. Hlapilniki so bili nameščeni z vrha plodišča na distančne ploščice. Pri prvem zdravljenju so čebelje družine prejele v povprečju 100 ml zdravila (AŽ) in 120 ml zdravila (LR). Pri drugem zdravljenju smo odmerek povečali, pri prvih na 200 ml in pri drugih v povprečju na 230 ml zdravila. Ugotovili smo precejšnjo razliko v količini izhlapele kisline med nekaterimi družinami, bistvenih razlik v izhlapevanju med AŽ in LR panji pa nismo ugotovili. Zdravilo je v celoti izhlapelo v 5 dneh po prvi aplikaciji in v 16 dneh po drugi aplikaciji. Med prvim zdravljenjem je v vseh družinah LR večina (56,2 do 71,2%) varoj odmrlo v prvem tednu zdravljenja, v drugem tednu je bilo odmrte manjše (od 24,7 do 41,4%), medtem ko je v tretjem tednu odmrlo zelo malo varoj (od 0,6 do 7,7%). Pri večini (8) zdravljenih družin je bilo odmrte varoj večje po drugi aplikaciji zdravila. Pri čebeljih družinah v AŽ panjih z daljšo odsotnostjo zalege je bil odpad varoj bistveno manjši z odmrtnostjo varoj v LR panjih, pri prvih je odmrlo od 65 do 137 varoj in pri drugih od 255 do 5.202 varoji. Neželenih učinkov kot posledico zdravljenja na čebele in čebeljo zalego nismo ugotovili. Opisana zahtevna metoda zdravljenja čebel je varna in učinkovita, če se izvaja previdno in natančno in v kombinaciji z apitehničnimi ukrepi.

Ključne besede: čebele; *Varroa destructor*; zdravljenje; Formivar 85%; Liebig - hlapilnik

An example of varroa treatment using Formivar 85% and Liebig - dispenser

In July and September 2018 varroa treatment was carried out in 3 honeybee colonies in AŽ hives and 8 colonies in LR hives using Formivar 85% (85% of formic acid) and Liebig - dispenser which was placed upside down on the top of the brood frames. At the first treatment colonies in AŽ hives received 100 ml and colonies in LR hives 120 ml of the Formivar 85%. Between the colonies there were considerable differences in the quantity of the evaporated acid while no differences in acid evaporation between both hive systems were found. Formic acid completely evaporated within 5 days after the first and within 16 days after the second application. At the first treatment, in all LR colonies, most varroas (56.2% - 71.2%) died in the first week, in the second week the death rate was lower (24.7 - 41.4%), while in the third week few varroas died (0.6 - 7.7%). In the most (8) treated colonies, the varroa death rate was higher after the second drug administration. In the colonies in AŽ hives longer without brood varroa fall was lower (65 to 137 mites) compared to varroa fall in the LR hives (255 to 5,202 mites). No harmful side effects on bees and brood because of varroa treatment were found so it was concluded that Formivar 85% using Liebig - dispenser is safe and effective if the instructions are followed and treatment is combined with biotechnical measures.

Key words: honeybees; *Varroa destructor*; treatment; Formivar 85%; Liebig-dispenser

Mikobakterije pri ribah

Vlasta Jencič¹, Mateja Pate¹, Manca Žolnir-Dovč², Darja Kušar¹, Matjaž Ocepek¹

¹ Veterinarska fakulteta Univerza v Ljubljani, Slovenija

² Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Slovenija

vlasta.jencic@vf.uni-lj.si

Okužbo z mikobakterijami so prvič ugotovili leta 1897 pri krapu, do zdaj pa so vse vrste rib. Bolezen ima kronični potek, okužene ribe pa so več let videti zdrave preden razvijejo klinične znake in poginejo. Mikobakterioze so pogoste pri akvarijskih ribah, ki v primerjavi z ribami v intenzivni vzreji živijo dlje. Še posebej pogosti sta okužbi z vrstama *Mycobacterium marinum* in *M. fortuitum*, ki imata zoonotični značaj. Ljudje se okužijo ob stiku z okuženimi ribami ali kontaminiranim okoljem. Ker je temperaturni optimum za razmnoževanje omenjenih vrst mikobakterij 30 do 32 °C, so okužbe pri ljudeh največkrat omejene na kožo ekstremitet. V Sloveniji je bila vrsta *M. marinum* v obdobju med 2000 in 2017 izolirana pri 12 bolnikih. Večina bolnikov je imela doma akvarij.

Da bi ugotovili stanje glede okužb akvarijskih rib v Sloveniji, smo v obdobjih 2001-2004 in 2009-2011 preiskali 35 oziroma 107 rib iz različnih trgovin z akvarističnim programom. V prvi raziskavi smo mikobakterije izolirali pri 82,9 % rib, od tega je bil visok delež mikobakterij z zoonotičnim značajem, saj smo vrsto *M. fortuitum* ugotovili pri 24,1 %, vrsto *M. marinum* pa pri 20,7 % rib. V drugi raziskavi je bilo na mikobakterije pozitivnih 79,4 % rib, med izolati pa sta ponovno prevladovali vrsti *M. fortuitum* in *M. marinum*. V tej raziskavi smo tudi prvič v Sloveniji potrdili prisotnost *M. ulcerans*, ki se običajno pojavlja v tropskih krajih. Ugotovili smo tudi še ne identificirane mikobakterije; eno smo opisali kot novo vrsto in poimenovali *M. angelicum*, druga pa še čaka na opis vrste.

Ključne besede: ribe; mikobakterije; zoonoza

Mycobacteria in fish

Mycobacterium infection was detected for the first time in 1897 in a carp. All fish species are susceptible to the infection with mycobacteria. The disease is characterized by a chronic course; the infected fish usually appear healthy for years before the onset of clinical signs which lead to death. Mycobacterial infections are common in aquarium fish, which live longer than farmed fish. Especially common are infections with *Mycobacterium marinum* and *M. fortuitum*, which are zoonotic agents. Humans acquire the infection through contact with the infected fish or contaminated environment. Since the temperature optimum for the multiplication of the mentioned mycobacterial species is 30 to 32 °C, human infections are mostly limited to the skin of the extremities. In Slovenia, *M. marinum* was isolated from 12 patients in the period from 2000 to 2017. Most of the patients had aquarium. To determine the situation regarding the mycobacterial infections of aquarium fish in Slovenia, 35 and 107 fish from various pet shops were investigated in the periods 2001-2004 and 2009-2011, respectively. In the first study, mycobacteria were isolated from 82.9 % of fish; a high proportion of zoonotic mycobacteria was identified (*M. fortuitum* in 24.1 % and *M. marinum* in 20.7 % of fish). In the second study, 79.4 % of fish were positive for mycobacteria, with *M. fortuitum* and *M. marinum* being predominant species. In this study, the presence of *M. ulcerans*, a species usually occurring in tropical places, was demonstrated for the first time in Slovenia. In addition, mycobacteria not yet identified were isolated; one of them was described as a new species and named *M. angelicum*, while another one is still to be described.

Key words: fish; mycobacteria; zoonosis

Preskušanje gojišč v skladu z ISO 11133:2014

Lena Hodošček^{1*}, Jasna Mićunović², Nataša Noč¹

¹ Veterinarska fakulteta, NVI E Kranj, Kranj, Slovenija, ² Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija,

* lena.hodoscek@vf.uni-lj.si

Za kakovostno izvedbo mikrobiološke preiskave je ključna uporaba ustreznega, pravilno pripravljenega in preverjenega gojišča. V ta namen skladno z ISO 11133:2014 preverjamo sterilnost, selektivnost, specifičnost in produktivnost gojišč.

Selektivnost pomeni stopnjo zaviranja netarčnih mikroorganizmov. Specifičnost pomeni, da ima gojišče zaviralne in razločevalne sposobnosti. Tipični mikroorganizem raste v tipični obliki in barvi kolonij.

Selektivnost in specifičnost trdih gojišč preverjamo tako, da z 1 µl ezo na gojišče cepimo enega ali več ustreznih mikroorganizmov tako, da dobimo posamične kolonije ali pa v obliki ravne linije. Plošče inkubiramo v skladu s postopkom, kateremu je gojišče namenjeno. Specifičnost tekočih gojišč preverjamo tako, da specifično kulturo z 1 µl ezo cepimo v gojišče. Inkubiramo v skladu s postopkom: ocenjujemo motnost gojišča. Selektivnost tekočih gojišč preverjamo tako, da gojišče cepimo z nižjim številom tarčnih mikroorganizmov in višjim številom netarčnih mikroorganizmov. Po inkubaciji gojišče cepimo na trdo gojišče. Inkubiramo in ocenimo selektivnost gojišča.

Produktivnost gojišča (P) preverjamo pri trdih gojiščih namenjenih števni metodam. Pri tem primerjamo število kolonij pridobljenih na preverjanem in neselektivnem gojišču. Selektivna gojišča so primerna za uporabo, ko je $P > 0,5$. Neselektivna gojišča pa, ko je $P > 0,7$.

Ključne besede: ISO 11133:2014; kakovost; gojišča

Performance testing of culture media according to ISO 11133:2014

For reliable microbiological procedure, it is essential to use medium that is 'fit for purpose', properly prepared and proven quality. In accordance with ISO 11133:2014 laboratory has to check sterility, selectivity, specificity and productivity of the medium.

Selectivity means the degree of inhibition of non-target microorganism. Specificity means, that the media has inhibitory characteristics and ability to distinguish between target and not-target microorganisms according to visual characteristics (colour and the shape of the colony).

For selectivity and specificity of solid culture media laboratory streaks each test microorganism using a 1 µl loop in a way to obtain discrete colonies or as a single straight line. We incubate plates under conditions defined in the procedure. Specificity of the liquid culture media is checked by inoculation of the test microorganism into the medium using a 1 µl loop. We incubate plates under conditions defined in the procedure and then we evaluate the turbidity of the medium. For selectivity of the liquid medium, we inoculate low number of target and a high number of non-target microorganism into the medium. After incubation, one loopful of medium is removed and streak on the plate of the specific medium for the target microorganism. After incubation, the selectivity of the liquid medium is evaluated.

Productivity of the medium (P) is checked for solid culture media intended for quantitative methods. The number of colonies on the culture medium under test is compared to the number of colonies on non-selective culture medium. Selective medium meets quality criteria if $P > 0.5$. For non-selective culture medium P has to be > 0.7 .

Key words: ISO 11133:2014; quality control; culture media

Izolacija *Paenibacillus larvae* v čebelji zalegi – rezultati v 2 dneh ali v 1 tednu?

Alenka Žugelj^{1*}, Majda Golob², Marjeta Jarc¹, Vida Lešnik¹ in Irena Zdovc²

¹ Nacionalni veterinarski inštitut Enota Maribor – Ptuj, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Maribor, Slovenija, ² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

*alenska.zugelj@vf.uni-lj.si

Hudo gnilobo čebelje zalege, ki jo povzroča sporogena bakterija *Paenibacillus larvae* (*P. larvae*), običajno potrjujemo z bakteriološko preiskavo in izolacijo povzročitelja. Najpogostejši vzorci so brisi spremenjene čebelje zalege, ki jih nasadimo na trdna gojišča.

P. larvae največkrat raste v obliki sivih gladkih ali sivih hrapavih kolonij, lahko pa tudi v obliki oranžnih ali celo rdečih kolonij, v odvisnosti od genotipa povzročitelja bolezni. Rast na gojiščih pregledujemo 2., 5. in 7. dan po nasajanju. Pri prognozi, kdaj bodo kolonije zrastle nam je v veliko pomoč po Gramu pobarvan bris spremenjene čebelje zalege, ki ga lahko pregledamo pod mikroskopom že takoj, ko začnemo s preiskavo. Naše izkušnje kažejo, da prisotnost številnih vegetativnih oblik bacilov ob manjšem številu spor napoveduje hitro rast *P. larvae* na krvnem agarju že po 24-urni inkubaciji. Komaj vidne mlade kolonije lahko nato identificiramo s sistemom MALDI-TOF in tako pridemo do zanesljive diagnoze že v prvih dveh dneh po nasajanju. Ko pa v brisu ugotovimo same spore, rast povzročitelja na gojišču lahko pričakujemo šele 4.-5. dan po nasajanju.

Ugotavljamo, da z enostavno tehniko barvanja vzorca zalege po Gramu preliminarно napovemo rezultate preiskave, hkrati pa tudi čas, v katerem bomo lahko dokončno determinirali bakterijo in s tem potrdili okužbo.

Ključne besede: *Paenibacillus larvae*, diagnostika, barvanje po Gramu

Isolation of *Paenibacillus larvae* from honey bee brood – Results in 2 days or in 1 week?

Paenibacillus larvae is a spore-forming bacterium, known as a causative agent of American foulbrood. The most common confirmation of *P. larvae* is done by bacteriological examination of changed honey bee brood. Swabs of destroyed honey bee brood are commonly used samples for isolation.

Colonies of *P. larvae* are usually grey, smooth or rough, and can also be orange or even red colour, depending on *P. larvae* genotype. Growth on solid media is examined 2nd, 5th and 7th day of incubation. When the colonies appear in solid media, Gram stained smear of infected honey bee brood is very helpful in determining the prognosis. Microscopic examination of Gram stained honey bee brood smear can be performed even before bacteriological isolation of causative agent. Based on our experience, presence of numerous vegetative bacilli forms and low spores count can be used to predict the fast growth of *P. larvae* on blood agar just after 24hour incubation. Very small, barely visible, young colonies can then be identified by mass spectrometry (MALDI TOF) and can provide reliable diagnosis in first two days after plating. If there are only spores in the stained smear, the growth of *P. larvae* can be expected just 4 – 5 days after plating.

Using simple technique of staining honey bee brood smears, the results of bacteriological examination can be predicted, as well as time needed to finally determine bacteria and confirm the infection of American foulbrood.

Keywords: *Paenibacillus larvae*; diagnostics; Gram staining

Ugotavljanje invazij z notranjimi zajedavci v rejah pašne govedi na področju NVI OE Maribor - Ptuj

Alenka Žugelj^{1*}, Dominika Štabuc Starčević¹, Marjeta Jarc¹, Aleksandra Vergles Rataj²

¹ Nacionalni veterinarski inštitut Enota Maribor – Ptuj, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Maribor, Slovenija, ² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

*alenka.zugelj@vf.uni-lj.si

Eden od načinov zagotavljanja dobrobiti živali pri pašnem govedu je pregled črede na prisotnost notranjih zajedavcev oziroma skrb rejcev za dehelmintizacijo pred začetkom paše. V okviru izvajanja Uredbe o ukrepu Dobrobit živali iz Programa razvoja podeželja RS v obdobju 2014 – 2020 smo na NVI Enoti Maribor – Ptuj v letih 2016 - 2018 pregledali 321 vzorcev iztrebkov iz 243 rej govedi na mariborskem in ptujskem območju ter na Koroškem.

Pri koprološki preiskavi smo z metodo sedimentacije v iztrebku govedi ugotavljali prisotnost jajčec sesačev. Z metodo flotacije smo z uporabo nasičene raztopine NaCl ugotavljali prisotnost lažjih jajčec glist in oocist kokcidijev.

V 148 rejah (61 %) smo odkrili prisotnost vsaj enega od notranjih zajedavcev. Od tega je bilo 55 rej (37 %) invadiranih z dvema vrstama parazitov in 12 rej (8 %) z več kot dvema vrstama. Največ (71 %) ugotovljenih parazitov je bilo sesačev iz rodu *Paramphistomum* spp., in glist iz reda Strongylida (68 %). Sledijo okužbe s protozoji iz rodu *Eimeria* spp. (10 %) in glistami iz rodu *Nematodirus* spp. (3,4 %). Ugotovili smo tudi okužbe z malim metljajem (*Dicrocoelium dendriticum*) (2,7 %), velikim metljajem (*Fasciola hepatica*) (2,7 %), glistami *Neoascaris vitulorum* (2 %) in v 1 primeru invazijo z glistami vrste *Strongyloides papillosus* (0,7 %). Predstavljeni rezultati kažejo, da je prisotnost notranjih zajedavcev pri pašnem govedu na širšem območju Maribora, Ptuja in Koroške pogosta.

Ključne besede: notranji zajedavci, pašno govedo, dobrobit

Detecting infections with internal parasites in farms of grazing cattle in NVI unit Maribor – Ptuj area

Internal parasite examination of the herd can be used to ensure welfare of the grazing cattle in addition to farmers care of dehelmintisation before grazing season. Within the implementation of regulation of animal welfare laid in Rural Development Programme of the Republic of Slovenia 2014-2020 at NVI Unit Maribor-Ptuj we have examined 321 samples of feces from 243 cattle farms from Maribor area, Ptuj area and Koroška.

In coprological examination of cattle feces we used sedimentation method to detect presence of trematoda eggs. For detection of lighter nematoda eggs and coccidia oocysts we used saturated solution of NaCl in floatation method.

We have detected presence of at least one parasite on 148 farms (61% of all examined farms). 37% of these farms were infected with two parasitic species, while 12% of these farms were infected with more than two parasitic species. Most of detected parasites were from genus *Paramphistomum* spp. (71%) and from phylum nematoda suborder Strongylida (68%), followed by protozoic infection with *Eimeria* spp. (10%) and nematoda genus *Nematodirus* spp. (3,4%). We have also detected infections with *Dicrocoelium dendriticum* (2,7%), *Fasciola hepatica* (2,7%), nematoda genus *Neoascaris vitulorum* (2%) and in one case with nematoda species *Strongyloides papillosus* (0,7%). Presented results show that there is high presence of parasites in grazing cattle in wide areas of Maribor, Ptuj and Koroška.

Keywords: internal parasites; grazing cattle; welfare

Sekvenciranje naslednje generacije: primeri uporabnosti v veterinarski medicini

Ivan Toplak^{1*}, Darja Kušar¹, Bojan Papić¹, Jana Avberšek¹, Jože Grom¹, Peter Hostnik¹, Aleksandra Grilc Fajfar¹, Laura Šimenc¹, Mateja Pate¹, Danijela Rihtarič¹, Urška Zajc¹, Irena Zdovc¹, Tina Pirš¹, Petra Raspor Lainšček², Andrej Kirbiš², Urška Jamnikar Ciglencečki², Olga Zorman Rojs³, Brigita Slavec³, Uroš Krapež³, Maja Rupnik⁴, Sandra Janežič⁴, Minka Kovač⁵, Anton Kovač⁵, Nataša Toplak⁵, Simon Koren⁵, Tamaš Petrović⁶, Matjaž Ocepek¹, Urška Kuhar¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija

² Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Ljubljana, Slovenija

³ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Ljubljana, Slovenija

⁴ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Maribor, Slovenija

⁵ Omega d.o.o., Ljubljana, Slovenija

⁶ Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, Srbija

*ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Sekvenciranje naslednje generacije (NGS) temelji na vzporednem določanju zaporedja velikega števila kratkih sekvenc, ki jih kasneje sestavimo na podlagi prekrivajočih odčitkov. V okviru projekta »Ugotavljanje in karakterizacija povzročiteljev kužnih bolezni z metodo naslednje generacije sekvenciranja« uporabljamo več strategij: identifikacija posameznih patogenov ali njihovih mešanih populacij v odbranih vzorcih in metagenomski pristop. Za nekatere bolezni virusne etiologije smo že določili zaporedja celotnih genomov virusov prašičje epidemične diareje, goveje virusne diareje, stekline, klasične prašičje kuge, vozličastega dermatitisa, prašičjega reprodukcijskega in respiratornega sindroma, sapelovirusa, enterovirusov, respiratornega sincicialnega virusa, virusa ptičje gripe in čebelje viruse) iz izolatov ali neposredno iz kliničnih vzorcev. Pri bakterijah smo določali determinante virulence in odpornosti v živalskih vzorcih in proučevali možno vlogo živalskih ali okoljskih izolatov pri okužbah ljudi. Določili smo celotne genome proti metiliclinu odpornim sevom *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) in študirali prenos *Clostridium difficile*. Za testiranje in ugotavljanje uporabnosti te nove tehnologije zbiramo vzorce od obolelih živali s kliničnim znaki črevesnih in respiratornih bolezni ali vzorce obolelih živali z neznano etiologijo. Predstavili bomo najpomembnejše rezultate izvajanja projekta J4-8224.

Ključne besede: sekvenciranje naslednje generacije; celotni genom; virus, bakterija; terenski sevi

Next generation sequencing: examples of usability in veterinary medicine

Next-generation sequencing (NGS) is based on parallel sequencing of large number of short sequences that are later assembled on the basis of overlapping reads. Within the project "Identification and characterization of pathogens of infectious diseases with the method of next generation sequencing" several strategies are using: the identification of individual pathogens or their mixed populations in the selected samples and the metagenomic approach. For some diseases of viral etiology, the complete viral genome sequences of the economically important viruses such as porcine epidemic diarrhea, bovine viral diarrhea, rabies, classical swine fever, lumpy skin disease, porcine reproductive and respiratory disease, sapeloviruses, enteroviruses, bovine respiratory syncytial virus, avian influenza and bee viruses have already been determined from isolates or directly from samples with clinical manifestation of the disease. For bacteria, virulence and resistance determinants in animal samples and in addition the possible role of animal or environmental isolates in human infections are investigated. The bacterial whole genome sequences of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) and *Clostridium difficile* transmissions are determined and studied. Samples from animals with clinical manifestation of intestinal

and respiratory diseases or unknown etiology are collected for testing and determining of the usefulness of this new technology. The main results of running project J4-8224 will be presented.

Keywords: next generation sequencing; complete genome; virus; bacteria; field strains

Srčni biomarker troponin I (cTnI) in seštevek hrbteničnih vretenc (VHS) v diagnostiki srčnih obolenj pri belih dihurjih (*Mustela putorius furo*)

Eva Regoršek¹ ‡, Laura Vlaj¹ ‡, Jožko Račnik², Nina Mlakar Hrzenjak², Marko Zadavec² in Aleksandra Domanjko Petrič^{3*}

¹ študentka Veterinarske fakultete, Gerbičeva 60, Ljubljana,

² Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, Ljubljana

³ Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, Ljubljana

* aleksandra.domanjko@vf.uni-lj.si

‡ enako prispevali k raziskavi

Obolenja srca so pri belih dihurjih relativno pogosta. Za postavitev ustrezne diagnoze, je potrebno opraviti več različnih slikovnih diagnostičnih preiskav. V humani medicini se določanje srčno specifičnega biomarkerja troponina I (cTnI) rutinsko uporablja pri diagnostiki srčnih infarktov ter drugih srčnih obolenj. Velikost srčne silhuete je prav tako pokazatelj bolezni srca. Srčno silhueto ocenimo na rentgenogramu v dveh projekcijah in jo natančneje opredelimo s seštevkom hrbteničnih vretenc (VHS). V sklopu raziskovalne naloge smo skušali ugotoviti s kakšno zanesljivostjo sta VHS in koncentracija cTnI pokazatelja obolenj srca pri belih dihurjih. V splošni anesteziji z izofluranom smo 26 belim dihurjem odvzeli kri za hematološke, biokemijske preiskave ter za določanje koncentracije cTnI, rentgensko slikali prsni koš ter naredili ehokardiogram in elektrokardiogram. Obolenja srca smo potrdili pri 15 belih dihurjih. Ugotovili smo pridobljena obolenja zaklopk, hipertrofijo prekatov, dilatativno kardiomiopatijo, supraventrikularno tahikardijo in atrioventrikularni blok. Preostalih 11 belih dihurjev obolenj srca ni imelo. Pri 12 od 15 preiskovanih dihurjev z boleznijo srca je bila koncentracija cTnI povišana, vsi dihurji brez bolezni srca pa so imeli cTnI pod mejno vrednostjo 0,055 ng/ml. Značilne povezave med koncentracijama cTnI med dihurji z obolenji in brez obolenj srca sicer nismo potrdili ($p=0,074$). Potrdili pa smo povezavo med obolenji srca in zvišanimi vrednostmi VHS v stranski projekciji ($p=0,039$). Zaradi nespecifičnih znakov ali povsem asimptomatskega poteka bolezni srca pri belih dihurjih je postavitev ustrezne diagnoze težavna in zahteva specialistično znanje veterinarske kardiologije. Merjenje cTnI in VHS nam tako omogočata dodatne podatke v ugotavljanju bolezni srca pri belih dihurjih.

Ključne besede: Bolezni srca; srčni troponin I; seštevek hrbteničnih vretenc; dihurji

Cardiac biomarker troponin I (cTnI) and vertebral heart score (VHS) in diagnostic of heart disease of ferrets (*Mustela putorius furo*)

Heart disease in ferrets is relatively common. To establish a definitive diagnosis, several diagnostic examinations are required. In human medicine, determination of cardiac-specific biomarker troponin I (cTnI) is routinely used in the diagnosis of coronary artery disease and other cardiac disorders. The size of cardiac silhouette on radiographs, determined by vertebral heart score (VHS), can be an indicator of heart disease. The goal of our study was to determine the reliability of VHS and cTnI as markers of heart disease in ferrets. Blood samples for haematological, biochemical tests and cTnI analyses were taken, chest x-rays, echocardiographic and electrocardiographic examinations were performed, all under general anaesthesia, on 26 ferrets. Heart disease, such as acquired valvular disease, ventricular hypertrophy, dilated cardiomyopathy, supraventricular tachycardia and atrioventricular block, was confirmed in 15 ferrets. Eleven ferrets were diagnosed healthy based on above mentioned examinations. Twelve of 15 ferrets with heart disease had elevated cTnI above the normal value defined as 0,055 ng/ml, however correlation was not significant ($p=0,074$). All ferrets without heart disease had cTnI below the value of 0,055

ng/ml. A significant association between heart disease and elevated VHS in the lateral projection values was found ($p=0,039$). The establishment of definitive diagnosis is difficult because of a non-specific or asymptomatic course of heart disease in ferrets and requires the availability of demanding and specialized expertise in veterinary cardiology. This study suggests that cTnI concentration and VHS in the lateral projection might serve as additional test for cardiac disease in ferrets.

Key words: Heart diseases; cardiac troponin I; vertebral heart score; ferrets

Molekularno ovrednotenje hepatokarcinogeneze z uporabo transgenih mišjih modelov in alternativnega pristopa

Kaja Blagotinšek Cokan^{1*}, Martina Perše², Jera Jeruc³, Gregor Lorbek⁴, Cene Skubic⁵, Peter Juvan⁶, Damjana Rozman⁷

¹ Centre for Functional Genomics and Bio-Chips, Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

² Medical Experimental Centre, Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

³ Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Razumevanje kompleksnih procesov kot je hepatokarcinogeneza terja sistematičen raziskovalni pristop. Eden vse pogostejših vzrokov za nastanek jetrnih tumorjev – hepatocelularnega karcinoma (HCC) so nealkoholne maščobne bolezni jeter (NAFLD). Med širokim naborom etioloških dejavnikov, ki privedejo do razvoja tumorjev zaradi NAFLD, ostaja precejšnja neznanka pomen presnove holesterola.

Pokazali smo, da ima encim CYP51 (lanosterol 14 α -demetilaza), ki je vključen v biosintezo holesterola, vlogo pri nastanku metabolnega HCC pri miših. Miši z izbitim genom *Cyp51* v hepatocitih ($H^{Cyp51-/-}$) v poznem delu sinteze holesterola razvijejo značilnosti NAFLD: poškodbe jetrnega tkiva z vnetnim odgovorom, razrast fibroznega veziva, obširno reakcijo ovalnih celic, povišane vrednosti plazemskih parametrov jetrnih encimov in posledično pojav tumorjev. Analiza transkriptoma je pokazalo aktivacijo glavnih molekularnih poti, kot so kancerogeneza ter interakcije ekstracelularnega matriksa in možnosti njihove regulacije. Z uporabo bioinformatičnih pristopov in integracijske analize lahko razložimo od spola odvisno jetrno patologijo, ki je slabša pri samicah od starosti 12 mesecev dalje. Primerjava analize naših podatkov mišjega modela z v literaturi dostopnimi podatki o ekspresijskih profilih HCC pri ljudeh osvetljuje primernost mišjega modela $H^{Cyp51-/-}$ za nadaljnje študije hepatokarcinogeneze.

Za celično specifično usmerjene študije hepatokarcinogeneze smo uporabili drugi mišji model $H^{Cyp51doxy/doxy-}$, s časovo nadzorovanim izrezom gena *Cyp51*, s katerim lažje in uspešneje izoliramo primarne jetrne celice z *in-vivo* kolagenazno tehniko. Upoštevajoč 3R načelo smo oblikovali nesmrtno celično linijo hepatocitov s tehnologijo CRISPR/Cas9, ki nam bo omogočila globlje razumevanje molekularnih mehanizmov kompleksne jetrne patologije.

Ključne besede: Hepatokarcinogeneza; sinteza holesterola; lanosterol 14 α -demetilaza; živalski in celični modeli; sistemska medicina

Molecular characterization of hepatocarcinogenesis using transgenic mice models and alternative approach

Understanding of complex biological processes such as hepatocarcinogenesis demands a systemic research approach. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the causes for the liver or tumor hepatocellular carcinoma (HCC). A wide range of etiological factors can cause the NAFLD-related HCC, however, the effect of cholesterol metabolism is still not fully understood.

Our data show that the CYP51 (lanosterol 14 α -demethylase), involved in cholesterol biosynthesis, has a role in metabolic HCC in mice. Mice with hepatocyte specific knockout of the *Cyp51* gene ($H^{Cyp51-/-}$) in the late part of cholesterol biosynthesis developed NAFLD features: liver damages with sustained inflammation, fibrosis with elevated plasma parameters and spread oval cell response which results in tumor development. Gene expression profiling showed activation of major molecular pathways, like pathways in cancer and extracellular matrix interaction and possibilities of their regulations. Based on bioinformatics and integrative analysis, we were able to explain the sex dependent liver pathology, which is more exacerbated in the females from 12 months and on.

Comparison of the analysis of data from our mouse model with the available literature data on HCC expression profiles in humans highlights the suitability of the H^{Cyp51^{-/-}} model for further studies of hepatocarcinogenesis.

For cells specific oriented studies of hepatocarcinogenesis, we used another specific time-dependent *Cyp51* (H^{Cyp51^{doxy}-/^{doxy}-}) knockout mice model for sufficient and easier hepatocyte isolation with *in-vivo* collagenase perfusion technique. Considering 3R, the immortalized hepatocyte cell line was designed with CRISPR/Cas9 technology, to deepen the understanding of cell specific molecular mechanisms of the complex liver pathologies.

Key words: Hepatocarcinogenesis, cholesterol biosynthesis, lanosterol 14 α -demetilase, animal and cell models, system medicine

Biomehanika stegnenic pubertetnih podgan izpostavljenih PCB

Jana Branković^{1*}, Gregor Fazarinc¹, Maja Antanasova², Peter Jevnikar², Janja Jan³, David Antolinc⁴ in Milka Vrecl¹

¹ Inštitut za predklinične vede, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Katedra za stomatološko protetiko, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³ Katedra za zobne bolezni in normalno morfolgijo zobnega organa, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ⁴ Katedra za preizkušanje materialov in konstrukcij, Fakulteta za gradbeništvo in geodezijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* jana.brankovic@vf.uni-lj.si

Izpostavljenost polikloriranim bifenilom (PCB), obstojnim lipofilnim onesnaževalcem okolja, ima različne škodljive učinke na zdravje živali in človeka, vključno z mineralizacijo, rastjo in biomehanskimi lastnostmi kosti. V naši raziskavi smo proučili vpliv laktacijske izpostavitve dioksinu nepodobnemu PCB-155 in dioksinu podobnemu PCB-169 individualno in v kombinaciji na biomehaniko stegnenic podgan v puberteti. Po skotitvi smo matere seva Wistar razporedili v štiri skupine (PCB-169, PCB-155, PCB-155+169 in kontrola) in jim intraperitonealno aplicirali PCB. Z uporabo tritočkovnega upogibnega preizkusa na univerzalnem upogibnem stroju (4301, Instron Corp., MA, ZDA) smo testirali biomehaniko stegnenic 42-dnevnih mladičev in z odnosom med silo in pomikom ugotavljali razlike v trdnosti stegnenic. Višja natezna trdnost v skupini PCB-169, ki je bila dosežena v skoraj linearno elastičnem območju deformacije kosti, je pokazala povečano krhkost kosti, višji modul elastičnosti pa bolj togo kortikalno kostnino. Trend povečane absorpcije energije in zmanjšane togosti kosti (parametra kosti kot organa) pripisujemo manjšemu prečnemu prerezu kosti v skupini PCB-169. V skupini PCB-155+169 smo ugotovili povečano absorpcijo energije kosti zaradi ohranitve nosilnosti po nastanku prve večje poškodbe kostnine in s tem bolj duktilnega (upogljivega) obnašanja kosti. To kaže na mikroskopske razpoke v diafizi kosti pred lomljenjem, kar potrjujejo tudi analize μ CT. PCB-155 ni vplival na biomehanske parametre stegnenic. Naši rezultati nakazujejo, da je spremembe v biomehaniki stegnenic pubertetnih podgan povzročil predvsem PCB-169, medtem ko odsotnost teh sprememb v kombinirani skupini kaže na medsebojno antagonistično aktivnost obeh kongenerjev PCB.

Ključne besede: poliklorirani bifenili; kost; biomehanika; pubertetne podgane

Femur biomechanics in pubertal rats exposed to PCBs

Exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs), persistent lipophilic environmental pollutants, has a variety of adverse effects on wildlife and human health, including bone mineralization, growth and mechanical characteristics. Our study evaluated the effects of lactational exposure to non-dioxin-like PCB-155 and dioxin-like PCB-169, individually and in combination, on pubertal rat femur biomechanics. After offspring delivery, Wistar rat mothers were divided into four groups (PCB-169, PCB-155, PCB-155+169 and control) and administered respective PCBs intraperitoneally. Bone biomechanics was determined on 42-day-old offspring femurs using three-point bending test on a universal testing machine (4301, Instron Corp., MA, USA). Differences in the biomechanical performance among tested femurs were assessed through load-displacement relationship. Higher flexural strength, reached almost in the linear elastic range of deformation in bones exposed to PCB-169, suggested increased bone brittleness. Additionally, resistance to elastic deformation (increased Young's modulus) displayed stiffer cortical bone tissue, while trends of increased energy absorption and decreased stiffness (bone parameters at organ level) was a consequence of smaller bones cross sections. The high energy absorption in the PCB-155+169 group was associated with the incidence of load-displacement curves exhibiting multiple peaks and prolonged displacement. This behaviour indicates the coexistence of several micro cracks that propagated through the cortex that were also detected by μ CT scanning. PCB-155 did not affect femur biomechanical properties. Our results demonstrated

that alterations in pubertal rat's femur biomechanics were primarily induced by PCB-169, while the lack of PCB-169-induced effects in the combined group suggested antagonistic activity between PCB-155 and PCB-169.

Key words: Polychlorinated biphenyls, bone, biomechanics, pubertal rats

Prvi pojavi okužb z virusom infektivnega laringotraheitisa pri perutnini v Sloveniji

Olga Zorman Rojs^{1*}, Brigita Slavec¹, Uroš Krapež¹, Zoran Žlabravec¹, Jožko Račnik¹, Alenka Dovč¹, Marko Zadavec¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Gerbičeva 60, Ljubljana, Slovenija

* e-mail kontaktne osebe: Olga.zorman-Rojs@v.uni-lj.si

Infektivni laringotraheitis (ILT) je akutna, zelo kužna virusna bolezen piščancev in kokoši, ki je razširjena v mnogih državah sveta in povzroča velike zdravstvene težave in ekonomske izgube. V letih 2017 in 2018 je prišlo v treh rejah kokoši in eni reji piščancev brojlerjev do izbruha hudih respiratornih motenj z visokimi pogini. Izbruhi so se pojavili v različnih področjih Slovenije. V vseh primerih smo z molekularnimi metodami potrdili avian alphaherpes virus *Gallid herpes virus 1* (GaHV-1). Klinično smo pri prizadetih živalih opazili otežkočeno dihanje, sopenje in v nekaterih primerih kašljanje ter izrazit nosni izcedek in konjunktivitis. S patomorfološko preiskavo smo v vseh primerih ugotovili rumen sirast eksudat v sapniku in paranazalnih sinusih, fibrinozni aerosakulitis, pri kokoših pa tudi fibrinozni peritonitis in ooforitis. V vseh obolelih jatah smo potrdili sočasno okužbo z *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum* in virusom kužnega bronhitisa. Piščanci brojlerji so bili okuženi tudi z *Ornithobacterium rhinotracheale*, nesnice pa še z *Ascaridia galli* in *Capillaria* sp..

Gre za prve primere okužbe perutnine z virusom GaHV-1 in Sloveniji. Bolezen se je pojavila v kratkem času v različnih predelih Slovenije, zato lahko pričakujemo širjenje okužbe in velike zdravstvene težave v rejah perutnine.

Ključne besede: infektivni laringotraheitis; nesnice; piščanci

First occurrence of infectious laryngotracheitis in poultry flocks in Slovenia

Infectious laryngotracheitis (ILT) is an acute, highly contagious upper – respiratory infectious disease of chickens which cause significant economic losses in many countries around the world. In 2017 and 2018 in four outbreaks of severe respiratory disorders occurred in different parts of Slovenia; one in broiler and three in layer flocks. In all cases the avian alphaherpes virus *Gallid herpes virus 1* (GaHV-1) was confirmed by molecular method. In all flocks high mortality was reported. Affected birds showed severe signs of disease including conjunctivitis, gasping, and coughing, sneezing and nasal discharge. In layers also drop in egg production was recorded. The most common pathological lesions seen on necropsy were yellow cheese exudates in trachea and paranasal sinuses and fibrinous air-sacculitis, in layers also fibrinous peritonitis and oophoritis were observed. In all flocks' concomitant infection with *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum* and infection bronchitis virus was confirmed. In addition, broilers were infected also with *Ornithobacterium rhinotracheale* and *E. coli*, while in two laying flocks severe infestation with *Ascaridia galli* and *Capillaria* sp. was confirmed.

This is the first report of infection of chickens with GaHV-1 in Slovenia. The occurrence of ILT in different regions indicated that disease is widespread, which could lead to severe health problems in poultry production.

Key words: Infectious laryngotracheitis, layers, broilers

Identifikacija živalske vrste mesa v živilih z uporabo PCR: rezultati petletnega testiranja v Sloveniji

Jelka Zabavnik Piano^{1*}, Marko Cotman¹

¹ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za predklinične vede, Ljubljana, Slovenija

* e-mail kontaktne osebe: jelka.zabavnikpiano@vf.uni-lj.si

V živilih živalskega izvora občasno zasledimo prisotnost mesa živalske vrste, ki ni označena na deklaraciji. Pri tem lahko gre za namerno zamenjavo mesa boljše kakovosti z mesom slabše kakovosti, za prisotnost mesa, ki ni namenjeno za prehrano, ali pa za naključne ostanke mesa različnih živalskih vrst v tehnološkem procesu nabave in proizvodne verige. Proizvajalci hrane, trgovine, uradni organi in potrošniki želijo poznati vrsto živali v hrani, da bi tako nadzorovali in izboljšali proizvodnjo hrane, imeli nadzor nad dobavitelji, preprečili potvorbe, zaradi posebnih zdravstvenih potreb ali pa zaradi verskega prepričanja. Specifične razlike v nekaterih regijah mitohondrijske DNK so idealne tarče za določanje živalske vrste. V našem laboratoriju za določitev živalske vrste mesa uporabljamo metodo verižne reakcije s polimerazo (PCR), kjer z oligonukleotidnimi začetniki, ki so specifični za posamezne živalske vrste, pomnožujemo fragmente mitohondrijske DNA konj, prašičev, goveda in perutnine. V letu 2013 smo prejeli 218 vzorcev živil za določitev živalske vrste izvora mesa, večinoma smo ugotavljali prisotnost konjskega (78 %) in svinjskega mesa (22 %); od teh smo v 3 % vzorcev ugotovili nedeklarirano meso. V letu 2014 se je število testiranj za identifikacijo vrst povečalo na 266, v 4 % vzorcev smo ugotovili, da meso ni navedeno na deklaraciji. Od takrat se število vzorcev zmanjšuje, v letu 2017 je doseglo le 134 testov. Naročniki večinoma želijo imeti preiskavo na konjsko meso, čeprav najpogosteje ugotavljamo prisotnost nedeklariranega svinjskega mesa. Leta 2015 smo v 12 vzorcih od 26 testiranih (46 %), ugotovili prisotnost svinjskega mesa, kljub temu, da svinjina ni bila označena na deklaracijskem listu.

Ključne besede: identifikacija živalske vrste; živila; PCR; mitohondrijska DNA

Meat species identification in food using PCR: Results of five year testing in Slovenia

In food of animal origin the presence of meat of an animal species, which is not marked on the declaration can be occasionally observed. This may be due the deliberate replacement of meat of better quality with low-quality meat, for the presence of meat not intended for consumption, or for random meat residues of different animal species in the technological process of the production chain. Food producers, trading companies, official bodies and consumers want to know the animal species in food in order to control and improve food production, prevent adulteration, for special health needs, or religious beliefs. Species specific differences in some regions of mitochondrial DNA are ideal targets for determining the animal species. In our laboratory we use polymerase chain reaction (PCR) method and species specific primers to determine horse, pig, bovine and chicken meat in food. In 2013, 218 food samples were received for determining the species of meat origin, mostly for the presence of horse (78%) and pork (22%); of these, undeclared meat was found in 3% of the samples. In 2014, the number of species identification tests increased to 266, in 4% of the samples we found that the determined species was not listed on the declaration. Since then, the number of samples has been decreasing, in 2017 it has reached only 134 tests. Customers mostly want to have a horse meat test, although most often we find the presence of undeclared pork. In 2015, in 12 samples of 26 tested (46%), we detected the presence of pork, despite the fact that the pork was not marked on the declaration sheet.

Key words: species identification; food; PCR; mitochondrial DNA

Anthelmintic efficacy of a new fenbendazole nanosuspension for pigs

Lieven Claerhout¹, Wouter Depondt²

¹ ²Huvepharma®, Antwerp, Belgium

Worm infections in pigs have an enormous impact on the technical results. *Ascaris suum* is the most important endoparasite worldwide, demonstrating a massive excretion of eggs. This environmental infection pressure can only be significantly lowered by consecutive anthelmintic treatments, based on the prepatent period of 6 weeks. The efficacy of a unique fenbendazole nanosuspension (Pigfen® 200 mg/ml oral suspension) against adult and larval stages of *Ascaris suum* was investigated.

Weaned pigs (n=100), shown to be negative for worms before challenge, were artificially infected for 3 consecutive days with approximately 150 eggs per day at the start of the study. Counts of L4 larvae, L5 larvae and adult worms were performed on an equal amount of treated and control pigs. Pigs of the treatment groups were dewormed on day 7-8, 14-15 or 44-45 respectively. Pigfen® 200 mg/ml oral suspension was administered at 2.5 mg/ kg bodyweight/ day for 2 consecutive days in drinking water. Six days after the end of the treatment, necropsies were performed to count the adult and larval stages in the small intestines or lungs. The percentage reduction, based upon geometric means, was determined.

Counts of adult worms, L4 and L5 larval stages showed a reduction of 100 %, 99.3 % and 100 % respectively in the treated groups.

This study confirmed the excellent efficacy of Pigfen® 200 mg/ ml nanosuspension at a target daily dose of 2.5 mg fenbendazole/ kg bodyweight for 2 consecutive days against adult and development stages of *Ascaris suum*.

Cefalotorakopagus kot vzrok distocije pri mački

Tamara Dolensek^{1*}, Urša Andromako², Nina Milevoj³, Mitja Gombač¹, Tanja Švara¹

¹ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Veterinarstvo Trstenjak – Zajc, klinika za male živali, d.o.o., Ljubljana, Slovenija, ³ Klinika za male živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* tamara.dolensek@vf.uni-lj.si

Cefalotorakopagus (lat. *cephalothoracopagus*) je simetričen dvojen vezan spaček, pri katerem sta dvojčka zraščena v področju glave in prsnega koša, obraza gledata v nasprotni smeri, lahko pa ima spaček le en obraz in povečano lobanjo. Primeri tovrstnih spačkov so opisani tako pri ljudeh kot tudi pri podganah, prašičih, ovcah, kozah in mačkah. Natančen vzrok za nastanek tovrstnih spačkov še ni znan, vendar predvidevajo, da je posledica napake med oblikovanjem sredinske linije med blastogenezo in različnih mehanizmov nenormalne embriogeneze.

Domača kratkodlaka mačka je skotila enega živega mladiča, nato pa so se popadki in porod ustavili. Ker so lastniki posumili, da mačka ni skotila vseh mladičev, je bila sprejeta v veterinarsko oskrbo. Po opravljeni rentgenski preiskavi, ki je v maternici pokazala nenavaden skelet mladiča, smo opravili carski rez, odstranili spačka ter naredili ovariohisterektomijo.

Z zunanjim pregledom spačka, ki je tehtal 165 g, in računalniško tomografijo (angl. *computed tomography*, CT) skeleta smo ugotovili, da ga sestavljata dva mladiča moškega spola, ki sta delno zraščena v področju glave, popolnoma pa v področju ventralne strani vratu in prsnega koša. Spaček je imel eno glavo z dvema zaprtima očesoma, dvema uhljema, razcepljenim trdim nebom, zgornjo ustnico in nosom ter dvema spodnjima čeljustma in jezikoma. Distalno od žličke sta bila trupa mladičev ločena, vsak mladič je imel štiri okončine, rep in popkovnico, ki je bila povezana s skupno posteljico.

Na osnovi zunanjega pregleda in CT smo spačka diagnosticirali kot cefalotorakopagus, izredno redko obliko spačka, ki je povzročil distocijo.

Ključne besede: cefalotorakopagus, mačka, distocija

Cephalothoracopagus causing dystocia in a cat

Cephalothoracopagus is a form of symmetrically conjoined twins, which is characterized by fusion of the heads and thoraxes, while the faces are either facing the opposite directions or there is a single face and an enlarged skull. Such conjoined twins have been described in humans, but also in rats, pigs, sheep, goats and cats. The exact cause has not been determined yet, but it is believed that it may be due to defects of blastogenesis during the midline formation and different mechanisms of abnormal embryogenesis.

A domestic shorthair cat gave birth to one live kitten, after which contractions and labour ceased. Since the owners suspected that the cat had not delivered all of the kittens, she was admitted for examination. After radiology revealed an unusual skeleton of a kitten in the uterus, we performed a caesarean section, removed the malformed kitten and did an ovariohysterectomy.

External examination of the malformed kitten, weighing 165 g, and CT of its skeleton revealed that it was composed of two male kittens with a partly fused head and completely fused ventral side of the neck and thorax. It had one head with two closed eyes, two ears, a cleft palate, upper lip and nose, two lower jaws and tongues. The bodies of both animals were separated distal to the xiphoid process of the sternum. Each kitten had four limbs, a tail and an umbilical cord which was connected to a shared placenta.

Based on external examination and CT we diagnosed the specimen as a cephalothoracopagus, a very rare form of conjoined twins, which caused dystocia.

Key words: Cephalothoracopagus, cat, dystocia

Spontani zunajskeletni osteosarkom pri kunčici (*Oryctolagus cuniculus*)

Tine Fluher¹, Maruša Ostanek¹, Jožko Račnik², Marko Zadavec², Tamara Dolenšek³, Mitja Gombač³,
Tanja Švara^{3*}

¹ študent Veterinarske fakultete, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ³ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

* tanja.svara@vf.uni-lj.si

Zunajskeletni osteosarkom je zelo maligna novotvorba mezenhimskega porekla, ki tvori osteoid. Primarno ne izrašča iz kosti, temveč nastane v podkožnem tkivu, mlečni žlezi, prebavnem traktu, vranici, urinarnem traktu, jetrih, koži, mišicah, očesu ali ščitnici. Zunajskeletni osteosarkom se pogosto ponovi na mestu odstranitve in metastazira.

8-letni kunčici (*Oryctolagus cuniculus*) smo kirurško odstranili podkožni osteosarkom v področju prsnice. Dva meseca kasneje smo jo zaradi slabega zdravstvenega stanja evtanazirali. Pri raztelesbi smo v podkožju desnega tarzalnega področja opazili ovalno spremembo trde konsistence in več podobnih sprememb v peči, jetrih, pljučih, na poprsnici in porebrnici. S histopatološko preiskavo smo spremembe diagnosticirali kot metastaze zunajskeletnega osteosarkoma.

Zunajskeletni osteosarkom je redka novotvorba pri kuncih. Po nam dostopnih podatkih je bil v literaturi do sedaj opisan le en primer zunajskeletnega osteosarkoma pri kuncu.

Ključne besede: kunec; zunajskeletni osteosarkom; histopatologija; raztelesba

Spontaneous Extraskkeletal Osteosarcoma in a Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)

Extraskkeletal osteosarcoma is a highly malignant osteoid producing mesenchymal tumour without primary bone involvement. Extraskkeletal osteosarcomas originate in the subcutaneous tissue, mammary gland, gastrointestinal tract, spleen, urinary tract, liver, skin, muscle, eye or thyroid gland. It has a high rate of recurrence and distant metastases.

An eight-year-old female rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) underwent surgical removal of a subcutaneous mass above the sternum that was later diagnosed as extraskkeletal osteosarcoma. Two months after surgical resection, the rabbit was readmitted and euthanized due to poor health condition. At necropsy an oval, hard subcutaneous mass was observed in the right tarsal region, and several similar masses were also found in the omentum, liver, lungs, and sternal and costal pleura. With histopathological examination these lesions were diagnosed as metastases of the extraskkeletal osteosarcoma.

Extraskkeletal osteosarcoma is a rare neoplasm in rabbits. To our knowledge, only one case of extraskkeletal osteosarcoma in a rabbit has been described in the literature.

Key words: Rabbit; extraskkeletal osteosarcoma; histopathology; necropsy

Ugotavljanje in genetska karakterizacija herpesvirusov pri prostoživečih sovah v Sloveniji

Zoran Žlabravec¹, Brigita Slavec¹, Al Vrezec^{2,3}, Uroš Krapež¹, Marko Zadavec¹, Olga Zorman Rojs¹, Jožko Račnik^{1*}

¹ Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija, ² Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Slovenija, ³ Prirodoslovni muzej Slovenije, Ljubljana, Slovenija

*Odgovorni avtor, e-mail:josko.racnik@vf.uni-lj.si

Herpesvirusi (HV) so velika družina virusov, ki povzročajo bolezni pri sesalcih kakor tudi pri domačih in prostoživečih pticah (1). Pri sovah povzroča virus nekrotične spremembe z intranuklearnimi inkluzijami v jetrih, vranici, kostnem mozgu, žrelu in gastrointestinalnem traktu (2). V predhodni študiji smo dokazali prisotnost HV v organih poginjenih prostoživečih sov in ugotovili, da so bile okužene tudi z drugimi vrstami HV, kot so bili doslej opisani (3). Z novo raziskavo smo se odločili povečati število pregledanih ptic in ugotoviti pojavnost HV pri živih prostoživečih sovah. Spomladi 2017 smo v gnezdilnicah na območju Krima ulovili in odvzeli orofaringealne in kloakalne brise 108 sovam različnih vrst. Vzorce smo odvzeli lesnim sovam (*Strix aluco*) (št.= 58), kozačam (*Strix uralensis*) (št.= 39) in koconogim čukom (*Aegolius funereus*) (št.= 11). Z vgnezditevno verižno reakcijo s polimerazo smo dokazovali gen za HV DNA polimerazo (4). Nukleinsko kislino HV smo ugotovili pri treh kozačah (2.78 %). HV pri ostalih dveh vrstah sov nismo dokazali. Nukleotidna zaporedja, ki smo jih uspeli pridobiti iz orofaringealnih brisov kozač so si med seboj 100 % identična in si s skupino na novo ugotovljenih HV iz naše predhodne študije delijo 93 – 100 % homologijo. V primerjavi z bazo podatkov Gen Bank smo ugotovili najbližjo sorodnost (89 % identičnost nukleotidov) s sevom Strigid herpesvirus 1 A16-117 iz ZDA, ki je bil ugotovljen pri sovi z bolezenskimi spremembami na očeh. S študijo smo dokazali HV v orofaringealnem brisu živih prostoživečih sov. Potrdili smo, da v populaciji sov v Sloveniji kroži skupina genetsko podobnih HV, ki se razlikujejo od HV trenutno objavljenih v genski banki.

Ključne besede: herpesvirus; sove; polimerazna verižna reakcija; filogeneza

Reference

1. Jones PM. Selected infectious diseases of birds of prey. J Exot Pet Med 2006; 15: 5–17.
2. Kaleta E, Docherty D. Avian herpesviruses. In: Thomas N, Hunter D, Atkinson C, eds. Infectious disease of wild birds. Blackwell Publishers, Ames, IA. 2007: 63–86.
3. Žlabravec Z, Krapež U, Slavec V, et al. Detection and phylogenetic analysis of herpesviruses detected in wild owls in Slovenia. Avian Diseases (In press).
4. VanDevanter DR, Warrenner P, Bennett L, et al. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. J Clin Microbiol 1996; 34: 1666–1671.

Detection and Genetic Characterization of Herpesviruses Detected in Owls in Slovenia

Herpesviruses (HV's) are wide family of viruses that cause disease in mammals and in domestic and wild birds (1). Necrotic lesions of the liver, spleen, bone marrow and gastrointestinal tract with intranuclear inclusion bodies are characteristic of HV infection in owls (2). Recently we reported the detection of HV in the organs of free-living dead owls. Tested owls were infected with other HV, as previously described (3). The aim of this research was to further increase the number of examined owls and to study HV in live free-living owls. In the spring of 2017 oropharyngeal and cloacal swabs from 108 owls from the breeding sites near Krim were collected. Owls belonged to three different species: the tawny owl (*Strix aluco*, 58 individuals), Ural owl (*Strix uralensis*, 39 individuals) and Boreal owl (*Aegolius funereus*, 11 individuals). For the detection of HVs, a nested PCR that target a region of the HV DNA polymerase gene was used (4). HV was detected in three (2.78 %) Ural owls. Other two owl species were negative for HV. The nucleotide sequences obtained from oropharyngeal swabs were 100 % identical with each other and shared 93 – 100 % homology with a group of newly identified HVs from previously mentioned study. The genetically most closely related strain (89 % nt identity) in GenBank was Strigid herpesvirus 1 A16-117 reported in USA in an owl with eye lesions. In this study we report the detection of HV's in oropharyngeal swabs in live free-living owls. HVs circulating in the population of owls in Slovenia are a genetically similar, however they are different from HVs published in GenBank before.

Key words: herpesvirus; owls; polymerase chain reaction; phylogenetic

Primer aktinomikoze v čelnem področju pri srnjaku (*Capreolus capreolus*)

Gorazd Vengušt^{1*}, Kristina Tekavec¹, Tanja Švara¹, Tina Pirš², Diana Žele¹

¹ Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija,

² Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

*gorazd.vengust@vf.uni-lj.si

Aktinomikoza je redka kužna, bakterijska bolezen, ki lahko prizadene domače in divje prežvekovalce, konje, male mesojede, opice, zajce, ptice in ljudi. Bolezen povzroča Gram-pozitivna, Ziehl-Neelsen negativna filamentozna bakterija iz rodu *Actinomyces*. Za aktinomikozo je značilen razvoj piogranulomatoznega vnetja. Okužba je večinoma oportunistična, patološke spremembe pa se razvijejo predvsem v ustni votlini, v področju zob in dlesni. Posledično abscesi povečini nastajajo v področju obraza in vratu, lahko pa tudi v področju prsnega koša, trebuha, medenice ali centralnega živčnega sistema. Do sistemske oblike bolezni pride ob stiku povzročitelja s krvnim obtokom ali z aspiracijo v pljučno tkivo. Oblika aktinomikoze, pri kateri so spremembe v možganskem delu lobanje, je redka in še ni bila opisana pri divjih prežvekovalcih v Sloveniji. Predstavljamo primer, ki smo ga obravnavali v letu 2018, kjer je bila okužba s povzročiteljem iz vrste *Actinomyces* vzrok za obsežne spremembe v koži, podkožju in lobanjskih kosteh čelnega področja pri srnjaku. Opravljene so bile patoanatomska, histopatološka in bakteriološka preiskava.

Ključne besede: srnjak; *Capreolus capreolus*; aktinomikoza; piogranulomatozno vnetje; čelno področje

A case of actinomycosis of the frontal region in a roe deer (*Capreolus capreolus*)

Actinomycosis is a rare infectious bacterial disease, which affects domestic and wild ruminants, horses, small carnivores, monkeys, rabbits, birds and humans. The disease is caused by gram-positive, acid-fast negative filamentous bacteria of the *Actinomyces* genus. Typical for the actinomycosis is development of the pyogranulomatous inflammation. The infection is mainly opportunistic. Pathological lesions develop particularly in the oral cavity, in area of the teeth and gingiva. Consequently, abscesses are most often located on the face and neck, but they can also occur on the thorax, abdomen, pelvis, and in central nervous system. Systemic disease can develop after the contact of pathogen with the bloodstream or after its aspiration into pulmonary tissue. Actinomycosis affecting the neurocranial part of the skull is rare and has not been reported in wild ungulates in Slovenia. We describe a case, observed in 2018, where *Actinomyces* species caused severe pathological lesions in skin, subcutis and bone of the frontal region in a roe deer. Necropsy, histopathological, and bacteriological examinations were performed.

Key words: roe deer; *Capreolus capreolus*; actinomycosis; pyogranulomatous inflammation; frontal region

Primer malignega kožnega melanoma glave pri srnjaku z multiplimi metastazami

Darko Veternik¹, Darko Šturm²

¹ Darko Veternik, DVM, Zavod za gozdove Slovenije, LPN Kozorog Kamnik, Pot na poljane 1, 1240 Kamnik, Slovenija,

E-mail: darko.veternik@zgs.gov.si

² Darko Šturm, Zavod za gozdove Slovenije, LPN Kozorog Kamnik, Pot na poljane 1, 1240 Kamnik, Slovenija,

E-mail: daresturm@gmail.com

Poročamo o srnjaku, ki je bil 1. 9. 2017 v Podlonku, LD Železniki, sanitarno odstreljen, zaradi nenavadnega vedenja. Hodil je v polkrogu, glavo pa je imel ves čas obrnjeno na levo stran. Gospodar iz sosednje kmetije je ovedal, da je dva dni preden je bil ustreljen, opazil, kako se je zaletaval v drevesa in krivo hodil. Pred odstrelom je negibno stal in se tresel. Na glavi je imel dvojno rožo, ki je bila vlažna in skoraj črna ter na vsaki strani majhen rožiček. Srnjak je bil 9 let star, tehtal je samo 14 kg. Po odstrelu smo ga iztrebili v hladilnici. Opazili smo, da ima po vseh notranjih organih (jetra, pljuča, ledvice) črne pike oziroma lise različnih velikosti. Primer smo fotografirali. Nobeden od prisotnih, tudi preglednik ni vedel, kaj bi to lahko bilo. Zato smo o primeru obvestili mag. Veternik Darka, DVM. Na osnovi morfoloških sprememb in fotografij ter pregleda literature smo postavili diagnozo maligni kožni melanom. Gre za prvo poročilo o malignem kožnem melanomu pri srnjaku. Glede na klimatske razmere še zlasti na globalno segrevanje in ozonsko luknjo, lahko v bodoče pri divjadi, ki je izpostavljena direktnemu sevanju pričakujemo še takšne primere.

Ključne besede: Srnjak, maligni kožni melanom, multiple metastaze

A case of malignant skin melanoma of head in a roebuck with multiple metastases

A roebuck was shot down for sanitary reasons on September 1, 2017 in Podlonku, Železniki. It was observed that he moved in half circles, his head was all the time turned to the left, he bumped in trees and before he was shot he stood motionless and shivered. On his head he had a double crown, which was moist and almost black. On each side there was a little horn. He was 9 years old and weighed 14 kg. On his liver, spleen and lung black spots and lumps of various dimensions were revealed. No one had any idea what could that be, the case was photographed and mag. Veternik Darko, DVM was informed. Based on morphological changes, photographs and search of literature the diagnosis of malignant skin melanoma was made. In the literature this is the first report of malignant skin melanoma in deer. Because of climatic changes, global warming and harmful ozone hole we can expect in future more such cases in deer, exposed to direct radiation.

Keywords: Roebuck, malignant skin multiple metastases

POSTAVITE VARNOST NA PRVO MESTO

Selehold®
selamektin
kožni nanos za pse in mačke

NOVO

- 🔴 Bioekvivalenten je originatorjevemu izdelku. (1)
- 🔴 Učinkuje proti različnim zunanjim in notranjim zajedavcem.
- 🔴 Nanos zdravila živali ne povzroča stresa.
- 🔴 Primeren je za vzrejne, breje in doječe živali ter mladiče od 6. tedna starosti. (2)
- 🔴 Primeren je za pasme psov, občutljive za ivermektin.
- 🔴 Interakcije selamektina z rutinsko uporabljenimi zdravili v veterinarski medicini niso opisane. (2)

ČREVESNE GLISTE

SRČNE GLISTE

UŠI

BOLHE

UŠESNE GARJE

KOŽNE GARJE

Sestava 1 merilna kapalka vsebuje 15 mg, 30 mg, 45 mg, 60 mg, 120 mg ali 240 mg selamektina. **Ciljne živalske vrste** Psi in mačke. **Indikacije** Psi in mačke Zdravljenje in preprečevanje infestacij z bolhami vrste *Ctenocephalides spp.* Zdravilo 1 mesec po enkratnem odmerku deluje adulticidno, larvicidno in oviducno. Oviducno deluje 3 tedne po nanosu. Mesečno zdravljenje brejih in doječih živali zmanjša populacijo bolh in pomaga preprečiti infestacijo legla do 7. tedna starosti. Zdravilo lahko uporabljate kot pomoč pri zdravljenju alergijskega dermatitisa, ki ga povzročajo bolhe, saj zaradi oviducnega in larvicidnega delovanja lahko pomaga pri kontroli infestacije okolja z bolhami na območjih, ki so dostopna živalim. Preprečevanje obolenja, ki ga povzroča srčna glista *Dirofilaria immitis*, z nanosom enkrat na mesec. Zdravljenje infestacije z ušesnimi garjami (*Otodectes cynotis*). Psi Zdravljenje infestacije z ušmi (*Trichodectes canis*), infestacije z ušesnimi garjami (povzročeni s *Sarcoptes scabiei*) in infestacije z odraslimi oblikami valjastih črvov (*Toxocara canis*). Mačke Zdravljenje infestacije z ušmi (*Felicola subrostratus*), infestacije z odraslimi oblikami valjastih črvov (*Toxocara cati*) in infestacije z odraslimi oblikami črevesnih kavljastih črvov (*Ancylostoma tubaeforme*). **Kontraindikacije** Ne uporabite pri živalih, mlajših od 6 tednov. Ne uporabite pri obolenih, močno oslabljenih ali podhranjenih mačkah (glede na velikost in starost). Ne uporabite pri preobčutljivosti za učinkovino ali katerokoli pomožno snov. **Posebna opozorila za vsako ciljno živalsko vrsto** Ne nanašajte na mokro dlako živali. Izogibati se je treba pogostemu plavanju ali umivanju živali s šamponom, ker učinkovitosti zdravila v teh primerih niso preverjali. Za zdravljenje ušesnih garj zdravila ne nanašajte neposredno v ušesni kanal. Pomembno je, da odmerek nanese točno po navodilih; tako količino, ki bi jo žival lahko polizala, kar najbolj zmanjšate. Selamektin lahko varno dajete živalim pri infestacijah z odraslimi oblikami srčne gliste, vendar v skladu z dobro veterinarsko prakso priporočamo, da vse živali, stare 6 mesecev in več, ki živijo v državah, kjer obstaja prenašalec, pred začetkom zdravljenja s selamektinom testirate na prisotnost odraslih oblik srčne gliste. V okviru strategije preprečevanja okužb s srčno glisto priporočamo periodično testiranje psov na prisotnost odrasle srčne gliste, tudi če zdravilo uporabljate vsak mesec. Zdravilo ne učinkuje na odrasle oblike *D. immitis*. Če se proti notranjim zajedavcem pogosto uporablja zdravilo iste skupine, lahko zajedavci postanejo odporni proti vsaj skupini. **Neželeni**

učinki Pri mačkah se redko pojavi prehodno izpadanje dlake na mestu nanosa. Zelo redko se pojavi prehodno draženje kože. Izguba dlake in vzdražena koža običajno mineta sami od sebe, nekatere živali pa potrebujejo simptomatsko zdravljenje. V redkih primerih nanos zdravila za uporabo v veterinarski medicini pri mačkah in psih povzroči začasno zlepljanje dlake na mestu nanosa ali občasen pojav manjših količin belega prahu. Pojav je običajen in izgine v 24 urah po nanosu ter ne vpliva na varnost niti na učinkovitost zdravila. Zelo redko, tako kot pri drugih makrocikličnih laktinonih, so tudi po uporabi tega zdravila pri psih in mačkah opazili reverzibilne nevrološke znake, vključno z epileptičnimi napadi. Redko se lahko pri mačkah, če po nanosu zdravila ližejo mesto nanosa, za krajši čas pojavi čezmerno slinjenje. **Uporaba v obdobju brejosti ali laktacije** Lahko se uporablja pri vzrejnih, brejih in doječih psih. **Odmerjanje in pot uporabe** Izdelek nanašajte v enkratnem odmerku, ki zagotavlja najmanj 6 mg selamektina na kg telesne mase. **Način uporabe** 1. Vzemite kapalko iz ovojnine. Držite jo navpično, zavrtite pokrovček in ga povlecite s kapalko. 2. Pokrovček obrnite narobe in ga povežite na vrat kapalko. Potisnite ga navzdol in ob tem zasušite, da se kapalka predre, nato ga snemite. 3. Razmaknite dlako na vratu živali med lopaticama tako, da se vidi koža. Konico kapalko položite na kožo in kapalko večkrat stisnite, da na enem mestu iztisnete vso vsebino neposredno na golo kožo. Pazite, da izdelek ne bi prišel v stik s prsti. **Karenca** Ni smiselno. **Vrsta ovojnine in vsebina** Selehold 15 mg kožni nanos, raztopina za pse od 2,6 do 2,5 kg, pakiran v merilne kaplake po 0,25 ml. Selehold 30 mg kožni nanos, raztopina za pse od 2,6 do 5 kg, pakiran v merilne kaplake po 0,3 ml. Selehold 45 mg kožni nanos, raztopina za mačke od 2,6 do 7,5 kg, pakiran v merilne kaplake po 0,75 ml. Selehold 60 mg kožni nanos, raztopina za pse od 5,1 do 10 kg, pakiran v merilne kaplake po 0,5 ml. Selehold 120 mg kožni nanos, raztopina za pse od 10,1 do 20 kg, pakiran v merilne kaplake po 1 ml. Selehold 240 mg kožni nanos, raztopina za pse od 20,1 do 40 kg, pakiran v merilne kaplake po 2 ml. **Datum priprave besedila** December 2018.

Samo za uporabo v veterinarski medicini.

Samo za strokovno javnost. Pred uporabo preberite celoten povzetek glavnih značilnosti zdravila. Objavljen je na www.krka.si.

Krka, d. d., Novo mesto, Šmarješka cesta 6, 8501 Novo mesto, Slovenija, www.krka.si.



*Naša inovativnost in znanje
za učinkovite in varne
izdelke vrhunske kakovosti.*