

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

ZBORNİK PREDAVANJA
XLII SEMINARA
ZA INOVACIJE
ZNAJJA VETERINARA



UNIVERZITET U BEOGRADU

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

**ZBORNİK PREDAVANJA XLII SEMINARA
ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA**

Beograd, 2021

**XLII SEMINAR ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA
18-19.02.2021, BEOGRAD**

Organizator:

Fakultet veterinarske medicine
Univerzitet u Beogradu

Organizacioni odbor:

Predsednik: Prof. dr Mirilović Milorad

Članovi: prof. dr Krstić Vanja, prof. dr Jovanović B. Ivan, prof. dr Milanović Svetlana,
prof. dr Petrujković Branko, dr Vejnović Branislav, Gabrić Maja

Programski odbor:

Predsednik: Prof. dr Kirovski Danijela

Članovi: prof. dr Aleksić-Kovačević Sanja, prof. dr Karabasil Neđeljko, prof. dr Šefer Dragan,
prof. dr Radojičić Sonja, prof. dr Vujanac Ivan, prof. dr Andrić Nenad



Izdavač:

Fakultet veterinarske medicine, Beograd
Centar za izdavačku delatnost i promet učila



Za izdavača:

Prof. dr Mirilović Milorad, v.d. dekan FVM

Urednik:

Prof. dr Lazarević Miodrag

Lektura i korektura:

Prof. dr Jovanović B. Ivan
Prof. dr Lazarević Miodrag

Dizajn korica:

Prof. dr Jovanović B. Ivan

Tehnički urednik:

Lazarević Gordana

Štampa:

Naučna KMD, Beograd, 2021.

Tiraž: 450 primeraka

ISBN 978-86-80446-41-7

**PATOMORFOLOŠKE PROMENE KOD AVIJARNE INFLUENCE
DOMAĆIH I DIVLJIH PTICA – TEHNIKE OBDUKCIJE PTICA;
PRAVILNO UZORKOVANJE I SLANJE MATERIJALA
ZA DIJAGNOSTIKU**

Vučičević Ivana, Đurđević Biljana, Nešić Slađan, Aleksić-Kovačević Sanja*

Usled jesenje migracije ptica ka teritoriji Evrope, postoji kontinuirani rizik od pojave novih slučajeva visoko patogene avijarne influence (HPAI), kako kod divljih, tako i kod domaćih ptica. Tokom jeseni 2020. godine dijagnostikovano je preko 300 slučajeva HPAI-A(H5) kod divljih ptica i živine u zemljama EU. Broj žarišta HPAI se drastično povećava i dok je proteklih godina glavni uzročnik epidemije bio A(H5N8) podtip virusa, sada je zastupljeno nekoliko podtipova: A(H5N8), A(H5N5) i A(H5N1). Kod infekcije HPAI virusima, tip promena koje se sreću na obdukciji, kao i njihova lokalizacija mogu se donekle razlikovati u zavisnosti od podtipa virusa i vrste ptica. Promene se javljaju u vidu nekroza, edema i hemoragija, a najčešće su locirane na plućima, srcu, jetri, slezini, bubrezima, mozgu i koži. Obdukcija ptica sumnjivih na HPAI se obavlja u prostorijama sa biosigurnosnim nivoom 2, noseći, pored standardne zaštitne opreme još i maske N95. Obdukcija se vrši prema standardnim protokolima za obdukciju ptica koji uključuju spoljašnji i unutrašnji pregled leša. Prilikom obdukcije, potrebno je uzeti uzorke tkiva promenjenih organa i ona, koja su namenjena za patohistološku analizu, fiksirati u 10% puferizovanom formalinu najmanje 48 časova. Uzorci ne smeju biti deblji od 0,5 cm, kako bi fiksativ magao da proдре kroz tkivo. Obdukovane leševe ptica treba neškodljivo ukloniti, kao materijal kategorije 1.

Ključne reči: avijarna influenza, obdukcija, ptice, uzorkovanje

UVOD

U senci pandemije izazvane korona virusom našla su se mnoga oboljenja, od kojih su neka, prethodnih godina smatrana upravo potencijalnim uzrokom pan-

* Dr Vučićević Ivana, docent, dr Nešić Slađan, docent, Aleksić-Kovačević Sanja, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, dr Đurđević Biljana, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

demije. Jedno od takvih oboljenja je uzrokovano visoko patogenim sojevima virusa (engl. *Highly Pathogenic Avian Influenza – HPAI*) uzročnika avijarne influence. Avijarna influenza se pojavljuje kod ptica i velikog broja domaćih i divljih životinja, a takođe je i zoonoza. Prema podacima svetske zdravstvene organizacije (SZO), avijarna influenza se ne prenosi lako sa ptica i životinja na ljude, međutim u humanoj populaciji ima visoku stopu smrtnosti od preko 50 procenata. Od januara do novembra 2020. godine, registrovana su, prema izveštaju EFSA-e, 302 slučaja HPAI, i to 281 slučaj kod divljih ptica, 18 kod živine i tri kod ptica koje se drže u zatočeništvu. Smatra se da je virus dospelo u zemlje EU i Veliku Britaniju preko divljih migratornih vrsta ptica iz oblasti zapadne Rusije i severnog Kazahstana. Genetska analiza uzročnika HPAI kod ptica ispitanih tokom jeseni 2020. godine je otkrila da se identifikovani virusi razlikuju od virusa koji su detektovani u istočnoj i centralnoj Evropi od decembra 2019. do juna 2020. godine. Pre svega, u pitanju su podtipovi A(H5N8), A(H5N5) i A(H5N1). U najvećem broju slučajeva uzročnici HPAI su detektovani kod divljih gusaka (*Branta leucopsis* i *Anser anser*), divlje patke zviždare (*Mareca penelope*) i patke gluvare (*Anas platyrhynchos*) (Adlhoch i sar., 2020). Zbog brzog razvoja situacije u pogledu pojave novih slučajeva, na području EU i Velike Britanije, masovnog mortaliteta primećenog kod divljih ptica i značajnih promena u posmatranoj epidemiologiji zaraze u poređenju sa sezonom 2019-2020, potrebno je imati u vidu mogućnost pojave slučajeva HPAI i na području naše zemlje tokom jesenjeg i zimskog perioda.

Epizootija virusa HPAI u Srbiji

U našoj zemlji je do danas registrovana pojava dva podtipa visoko patogenog virusa AI – H5N1 i H5N8. U oba slučaja, virus je izolovan i kod divljih ptica i kod živine. Prisustvo podtipa H5N1 je prvi put potvrđeno februara 2006. godine kod uginulog labuda u laboratoriji Veterinarskog specijalističkog instituta (VSI) „Kraljevo“. Od ispitanih krvnih seruma 259 divljih vrsta ptica, specifična antitela protiv A tipa virusa avijarne influence su otkrivena kod 3 vrste divljih ptica (Šekler i sar., 2009). Nakon deset godina, u laboratoriji Naučnog instituta za veterinarstvo „Novi Sad“, ispitivanjem uzoraka od uginulih labudova grbaca (*Cygnus olor*), dokazano je prisustvo podtipa H5N8. U oba slučaja, labudovi su bili jedinke visoko osetljive na HPAI, pri čemu su se kod njih mogli uočiti i nervni simptomi, za razliku od drugih vrsta divljih ptica (Božić i sar., 2019).

Većina registrovanih žarišta tokom 2016. godine, bila su na lokalitetu Kobiljsko-Petrovaradinskog rita, odnosno na obalama reke Dunav i njenim rukavcima, kao i u neposrednoj blizini drugih reka, kanala, jezera i vodenih površina na severu zemlje. Najveći broj pozitivnih slučajeva na virus H5N8 potvrđen je kod labudova grbaca (*Cygnus olor*), ali je virus dijagnostikovao i kod domaće živine u nekoliko manjih seoskih domaćinstava.

Tokom epizootije AI H5N8 u našoj zemlji, koja je trajala nepuna 4 meseca (novembar 2016 – mart 2017), prijavljeno je ukupno 24 žarišta i to na teritoriji Južnobačkog (11) i Severnobačkog okruga (1), grada Beograda (2), Srednjobanat-

skog (3), Zapadnobačkog (1), Sremskog (2), Braničevskog (3) i Borskog okruga (1) (Božić i sar., 2019).

Etiologija

Avijarna influenza je veoma kontagiozno, sistemsko oboljenje uzrokovano RNK virusom iz porodice *Orthomyxoviridae*, rod *Influenza A*. Uključujući pomenute H5N1 i H5N8, do danas je izolovano ukupno 16 podtipova HA i 9 podtipova NA kod divljih ptica vodenih staništa (Swayne i Halvorson, 2003). Postojanje različitih podtipova virusa avijarne influence sa izmenjenim svojstvima u pogledu antigen-skih osobina, patogenosti i specifičnosti prema domaćinu je posledica nestabilnosti genoma i genetičke varijabilnosti ovog virusa. Na osnovu mogućnosti da dovedu do pojave bolesti ili uginuća kod pilića (*Gallus domesticus*), influenza A virusi su dalje podeljeni na dve grupe: visoko patogeni virusi i nisko patogeni virusi (engl. *Low Pathogenic Avian Influenza – LPAI*), pri čemu je kod nisko patogenih sojeva smrtnost pilića pri eksperimentalnoj infekciji virusom uzročnikom AI manja od 75 posto (Swayne i Suarez, 2000). Visoko patogeni sojevi virusa avijarne influence mogu biti epiteliotropni, endoteliotropni, neurotropni ili pantropni, u zavisnosti od vrste ptica domaćina.

Rezervoar Influenza A virusa su ptice vodenih staništa, pre svega pripadnici roda *Anseriformes* (patke, guske, labudovi) i *Charadriiformes* (galebovi, čigre i barske ptice) koje nose praktično sve poznate H i N antigene, obično u LPAI obliku. Kod divljih pataka se periodično menja dominantni podtip. Kod divljih pataka u Severnoj Americi i severnom delu Evrope se najčešće sreću H3, H4 i H6 podtipovi virusa (Krauss i sar., 2004), mada je povremeno detektovan i H11 (Pawari sar., 2010). Kod barskih ptica je dijagnostikovano veći broj hemaglutinin/neuraminidaza kombinacija nego kod pataka. Galebovi su najčešće zaraženi nisko-patogenim sojem virusa H13, koji se retko sreće kod drugih vrsta ptica, ali mogu biti i nosioci H16 podtipa (Olsen i sar., 2006). Dosadašnja ispitivanja su dokazala da se devet podtipova AI virusa češće javlja kod roda *Charadriiformes* nego kod pataka, uključujući podtipove H5, H7 i H9 (Krauss i sar., 2004). Izolati dobijeni od kaveznih ptica, obično sadrže H3 ili H4, međutim, takođe može doći i do infekcije sa visoko patogenim podtipovima koji sadrže H5 ili H7. Genetska ispitivanja AI virusa, izolovanih od divljih ptica, su dokazala da divlje ptice, kao rezervoari, održavaju raznovrstan genetski asortiman virusa. Iako se u početku smatralo da su AI virusi unutar populacija divljih ptica u stanju evolucionog zastoja, novije studije ukazale su na mnogo složeniju sliku sa visokim stepenom genetske raznolikosti i istovremenom cirkulacijom više linija datog podtipa, čak i unutar iste populacije domaćina (Swayne, 2008).

Karakteristika *Orthomyxovirusa* je da izazivaju lako mutiraju, usled nedostatka post-replikacionih mehanizama reparacije. To može dovesti do zamene jedne ili nekoliko aminokiselina u genomu što za posledicu ima pojavu novih podtipova virusa prosečno svake druge godine (Cheng i sar., 2012). Međutim, u proseku, na svakih 20 godina dolazi do mnogo kompleksnijih mutacija i promena u struk-

turi virusa koje dovode do pojave potpuno novih tipova virusa influence sa kojima ljudi ili životinje prethodno nikada nisu bili u kontaktu. Ovakve promene, koje se označavaju kao antigenski šift, obavezno dovode do pandemija gripa u humanoj populaciji pri čemu je bolest praćena visokim mortalitetom i ima izrazito težak tok. Antigenski šift se javlja kada se izmeni hemaglutinin u nekom virusu, što uzrokuje nastanak mozaičnog virusa. Ovo se može dogoditi kada je ćelija inficirana sa 2 različita virusa influence i kada se tokom replikacije izmene segmenti njihovih genoma. Antigenski pomak može da se pojavi i kod neuraminidaze. Ona nosi nekoliko važnih aminokiselinskih ostataka koji, ako mutiraju, mogu dovesti do rezistencije na inhibitore neuraminidaze (Cheng i sar., 2012).

Patogeneza

Virus avijarne influence dovodi do oštećenja ćelija domaćina nekrozom i apoptozom. Intenzivnom replikacijom virusa, dolazi do nakupljanja virusnog nukleoproteina u citoplazmi i jedru inficiranih ćelija što rezultira pojavom nekroze. Kod pilića inficiranih virusom avijarne influence, nekroza se najčešće pojavljuje na moždanim neuronima, tubularnim ćelijama bubrega, epitelnim acinarnim ćelijama pankreasa, miocitima i pulmonalnim epitelnim ćelijama. Inicijalno mesto replikacije nisko patogenih sojeva avijarne influence je nosna šupljina, odakle se virus širi u ostale delove respiratornog i crevnog sistema (Swayne, 2008).

Kada su u pitanju infekcije izazvane HPAI virusima, češće se uočavaju mikroskopske promene na organima, dok makroskopske promene mogu da izostanu. Najzastupljenije histološke promene su u vidu nekroza ili inflamacije, a mogu se sresti u različitim organima, kao što su koža, mozak, srce, pankreas, pluća, nadbubrežne žlezde, kao i primarni i sekundarni limfatični organi. Kod perakutnog toka bolesti, lezije uglavnom izostaju u većini organa, a ponekada se mogu uočiti multifokalne nekroze i inflamacija. Virus je prvenstveno prisutan u vaskularnim endotelnim ćelijama što dovodi do promene propustljivosti zida krvnog suda, nastanka edema, krvarenja i otkazivanja različitih organa. Virus se takođe može naći i u miocitima. U akutnoj fazi bolesti, multifokalna nekrotična polja se mogu uočiti na većini organa, uz prisustvo ćelija inflamacije, hemoragija i edema i kod galiformnih vrsta ptica dominiraju inflamacione promene.

Do uginuća dolazi usled oštećenja mozga, autonomnog nervnog sistema, miokarda i pankreasa. Patofiziološki mehanizmi kojima virus avijarne influence oštećuje organe uključuju: direktnu virusnu replikaciju u ćelijama i tkivima, indirektna oštećenja usled povećane produkcije ćelijskih medijatora zapaljenja kao što su citokini i ishemiju usled vaskularne tromboze. Smatra se da je prekomerna produkcija citokina kod HPAI infekcija odgovorna za sistemsku vaskularna oštećenja. Inflamatorni citokini uzrokuju slabljenje čvrstih veza (engl. *tight junctions*) između endotelnih ćelija dovodeći do hipervaskularne permeabilnosti. Pored toga, inflamatorni citokini kao što su IL-1 β , IL-6, i TNF- α pokreću koagulacioni sistem u toku inflamacije i infekcije.

Patomorfološke promene kod divljih ptica

Patomorfološke promene uzrokovane HPAI kod divljih ptica su opisane kod fazana i labudova, a ređe kod drugih vrsta ptica. Pojava lezija izazvanih visoko patogenim sojevima avijarne influence varira u zavisnosti od soja virusa, kao i od vrste ptica koja je zahvaćena infekcijom. Kod jedinki uginulih u akutnoj fazi infekcije, može se uočiti nakostrešenost perja, otok kreste, podbradnjaka, periorbitalne regije i nogu, kao i subkutane hemoragije. Neki podtipovi HPAI mogu dovesti do edema i hiperemije konjunktiva, očnih kapaka i traheje, kao i do nekroze i cijanoze kreste i podbradnjaka.

Pregledom leševa labudova uginulih od posledica infekcije sa H5N1 dominantne promene su uočene na pankreasu u vidu krvarenja i nekrotičnih polja nepravilnog oblika i različite veličine. Kongestija i edem pluća su bili čest nalaz, dok su subepikardijalna krvarenja otkrivena kod manjeg broja labudova. Krvarenja i nekroze mogu biti prisutni i na jetri, a slezina je obično blago uvećana. Sluznica tankog creva može biti hiperemična (Vasković i sar., 2011).

Kod pojedinih labudova, inficiranih podtipom H5N8, se može uočiti hemoragičan sadržaj iz nozdrva i nešto ređe, iz kloake. Makroskopski, kod većine obdukovanih labudova se može uočiti tačkasto, difuzno rasuto krvarenje na mezenterijalnom masnom tkivu. Na miokardu se vide tačkasta i mrljasta krvarenja, dok su pluća kongestirana i edematozna, sa izraženim krvarenjima. Na mozgu se mogu zapaziti promene u vidu hiperemije i injiciranosti krvnih sudova. Tkivo pankreasa je prožeto multifokalnim nekrozama. Sluznica tankog creva je hiperemična, mada se u nekim slučajevima mogu uočiti i hemoragije (Božić, 2018; Božić, 2019).

Makroskopske promene zabeležene obdukcijom pregledom fazana, prirodno zaraženih virusom HPAI H5N8 su različite težine. Kod većine pregledanih ptica uočavaju su promene na miokardu u vidu petehijalnih krvarenja i žučkasta tečnost u perikardu. Izražena je hiperemija jetre, a uočava se i fokalna nekroza. Pregledom pluća se uočava kongestija, komplikovana edemom i pojedinačni mikro krvarenjima. Slezina je povećana, a sluznica tankog creva hiperemična uz hemoragični sadržaj u lumenu pomešan sa velikom količinom sluzi. Takođe su primećena difuzna subserozna krvarenja na slepom crevu. Na površini pankreasa se uočavaju petehijalna krvarenja. Sluznica traheje je edematozna i hiperemična sa velikom količinom krvavog viskozno sekreta (Stoimenov i sar., 2019).

Patomorfološke promene kod živine

Kada je u pitanju živina, patomorfološke promene uzrokovane HPAI se najčešće sreću kod kokošaka i ćuraka. One mogu biti veoma različite i uglavnom su slične promenama kao kod drugih sistemskih oboljenja. U Srbiji su opisane promene kod kokošaka uginulih usled infekcije HPAI virusima, ali su u svetu zabeležene promene i kod mnogih drugih vrsta živine, kao što su prepelice, jarebice, nojevi i patke.

Ptice koje uginu u perakutnom toku bolesti uglavnom nemaju makroskopski vidljivih promena. Spoljašnjim pregledom leševa uginule živine uočavaju se promene u vidu blage cijanoze i nekroze kreste i podbradnjaka, a može se otkriti serozan do sero-hemoragičan iscedak u nosnim otvorima. Cijanoza kreste i podbradnjaka kod živine nije izražena u tolikoj meri kao kod divljih ptica. Unutrašnjim pregledom se mogu uočiti promene u vidu kongestije pluća i krvarenja na brojnim organima (pluća, srce, bubrezi, creva), kao i na masnom tkivu osrčja i mezenterijuma. Na pankreasu se mogu uočiti nekroze i krvarenja. Slezina je uglavnom povećana. Može se razviti kataralni do hemoragični enteritis uz hiperemiju zida creva. Na mozgu većine ispitanih jedinki, uočava se hiperemija i iniciranost krvnih sudova (Božić, 2018).

Kod prepelica i jarebica, zaraženih HPAI, zapažaju su nekrotične lezije u pankreasu, splenomegalija, krvarenja na brojnim organima i skeletnoj muskulaturi, kao i konsolidacija, edem i krvarenja na plućima. Kod pataka se sreću kongestija, edem i krvarenja na plućima. Javljaju se tačkasta krvarenja u masnom tkivu osrčja i žlezdanom želucu, kao i mrljasta krvarenja na pankreasu i meningama. Prisutna je i splenomegalija (El-Arabyi sar., 2018). Kod nojeva uginulih od HPAI, obdukcioni nalaz obično karakterišu hepatitis i peritonitis, petehijalna krvarenja, nekroza pankreasa, kongestija pluća, edem i krvarenja (Bertran i sar., 2014).

Patohistološke promene kod divljih ptica

Kao i patomorfološke promene, patohistološke promene se razlikuju u zavisnosti od podtipa virusa, ali i same vrste ptice. Patohistološkim pregledom tkiva, poreklom od labudova uginulih nakon infekcije sa H5N1, uočene su multifokalne nekroze i krvarenja u pankreasu i jetri. U slezini se takođe mogu dijagnostikovati nekrotična polja. Uočene su kongestija i edem pluća, a u crevima i deskvamacija površinskog epitela. U moždanom tkivu mogu biti prisutne nakupine limfocita i plazmocita (negnojni encefalitis), uz nekrozu neurona i neuronofagiju. Krvarenja se nalaze i subepikardijalno (Vasković i sar., 2011).

Pregledom organa labudova uginulih usled infekcije sa H5N8 podtipom HPAI virusa, na plućima su ustanovljene hiperemija krvnih sudova, krvarenja i kongestija. U slezini su prisutne multifokalne nekroze, krvarenja i hemosideroza. Krvarenja se mogu uočiti i u bubrežima uz nekrozu tubulocita. Subepikardijalno i u miokardu se mogu naći krvarenja, a u pankreasu područja multifokalne nekroze, sa infiltracijom mononuklearnim ćelijama. Patohistološki nalaz moždanog tkiva karakteriše neuronalna satelitoza, neuronofagija, nakupljanje limfocitnog infiltrata u velikom mozgu i degeneracija neurona. U malom mozgu se ponekad mogu uočiti masivna krvarenja i fokalne nekroze (Božić, 2018; Božić, 2019).

Obdukcijom fazana, prirodno zaraženih virusom HPAI H5N8, uočavaju se kongestija i edem pluća, fokalna nekroza moždanog tkiva, gliozna i negnojni encefalitis. Nekrotične promene su uočene u miokardu, jetri i limfatičnom tkivu creva (Stoimenov i sar., 2019).

Patohistološke promene kod živine

Patohistološkim ispitivanjem organa kokošaka ustanovljene su promene na plućima u vidu kongestije, edema, hiperemije i krvarenja. Multifokalne nekroze i krvarenja su uočeni u pankreasu, slezini i bubrezima. Krvarenja su prisutna i subepikardijalno i u miokardu. Nalaz u crevima karakterišu kataralni enteritis i mononuklearni infiltrat. U moždanom tkivu se uočavaju nekroza neurona, satelitoza, neuronofagija, limfocitni infiltrat i meningitis (Božić, 2018).

Kod prepelica se u traheji uočavaju krvarenja i infiltracija sluznice limfocitima, dok u plućima postoje edem i mononuklearni ćelijski infiltrati. U jetri su zapažene vakuolarna degeneracija i krvarenja, a u pankreasu fokalna nekroza. Nalaz tkiva bubrega karakterišu tubulonekroza, kongestija i krvarenja. Kod pataka su najznačajnije histopatološke promene u vidu negnojnog encefalitisa sa degeneracijom neurona i gliozom. Takođe je utvrđen i gubitak Purkinjevih ćelija u malom mozgu. U jetri se uočavaju fokalna nekroza i inflamatorni ćelijski infiltrat (Nooruz-zamani sar., 2018).

Tehnike obdukcije ptica i pravilno uzorkovanje i slanje materijala za dijagnostiku

Vrste obdukcije su: potpuna, nepotpuna i kozmetička obdukcija. Kod sumnje na avijarnu influencu sprovodi se potpuna obdukcija. Osoblje koje vrši obdukciju mora biti propisno opremljeno zaštitnom opremom, kao što su mantili/skafanderi, kecelje, čizme, hirurške rukavice i maske tipa N-95 ili FFP2. Instrumenti koji se koriste za obdukciju moraju da budu isključivo namenjeni za tu svrhu i nakon svake upotrebe ih treba očistiti i sterilisati (Rose i sar., 2006). Generalno, obdukcija ptica se može obaviti u obdukcionoj sali ili u terenskim uslovima. Tokom izvođenja obdukcije u terenskim uslovima, prvenstveno se mora sprečiti raznošenje infektivnog materijala i kontaminacija životne sredine. Za tu svrhu je, pre početka izvođenja obdukcije, neophodno sprovesti aktivnosti koje će uticati na zaštitu ljudi, životinja i životne sredine. Takođe se, tokom izvođenja i po završetku obdukcije, preduzimaju posebne mere predostrožnosti pri odlaganju trupa i otpada. Kod sumnje na avijarnu influencu, neophodno je sumnjivu jedinku propisno upakovati i bezbedno transportovati u što kraćem vremenskom periodu do obdukcione sale sa biosigurnosnim nivoom 2. Prilikom dostavljanja uginule životinje za obdukciju, treba pravilno popuniti uput. U uputu se navode osnovni podaci o životinji (vrsta, rasa, pol, starost), primećenim kliničkim simptomima, broju životinja u kohabitaciji, smeštajnim uslovima, broju uginulih životinja i ostalim informacijama od značaja. Ako je došlo do uginuća većeg broja životinja, za obdukciju je neophodno dostaviti veći broj uginulih jedinki.

Obdukcija ptica se sastoji od spoljašnjeg i unutrašnjeg pregleda. Spoljašnji pregled se sastoji od identifikacije leša, procene telesne građe i stanja uhranjenosti, procene postmortalnih promena i spoljašnjeg pregleda leša u celini. Identifikacija započinje utvrđivanjem vrste, rase, pola, starosti, veličine (dužina, visina,

težina) i osobenih znakova. Osobeni znaci mogu biti urođeni i stečeni. Tokom identifikacije makroskopskim pregledom se očitavaju trake za identifikaciju, alke ili tetovir brojevi ako su jedinke obeležene (Marinković i Nešić 2013).

Procena telesne građe i stanje uhranjenosti procenjuju se, adspekcijom i palpcijom razvijenost grudne muskulature i prisustvo masnog tkiva u lumbalnom delu kičme. Za procenu telesne građe i stanja uhranjenosti treba uzeti u obzir namenu jedinke (Marinković i Nešić, 2013).

Postmortalne promene su promene koje se javljaju nakon uginuća jedinke. Njih je neophodno poznavati kako bi se mogle razlikovati od zaživotnih promena, koje mogu da prouzrokuju uginuće. Postmortalne promene na leševima su: hlađenje leša, mrtvačka ukočenost, postmortalno zgrušavanje krvi, raspadanje leša, imbibicija hemoglobinom i žučnim bojama, gnijljenje, saponifikacija, mumifikacija, adipocera, zamućenje rožnjače, gubitak pritiska očne jabučice i isušivanje leša. Na kraju spoljašnjeg pregleda leša, sledi spoljašnji pregled leša ptice u celini koji započinje detaljnim makroskopski pregledom od glave do kloake. Prvo se vrši adspekcija kože, kreste, podbradnjaka i perja na postojanje promena kao što su rane, zapaljenske promene na koži, paraziti, mitarenje, otoci, krvarenja, ubodi, modrice i drugo. Nakon pregleda kože i perja, sledi pregled prirodnih otvora (kljun, nosni otvori, oči i kloaka).

Unutrašnji pregled započinje postavljanjem inicijalnog reza na koži u predelu grudne kosti. Koža se delimično uklanja sa tela pa sledi pregled potkožnog tkiva (mišićno i masno tkivo) i *n. ischiadicus*-a. Posle toga, sledi pregled i otvaranje pleuroperitonealne duplje. U pleuroperitonealnoj duplji se analiziraju položaj organa, postojanje stranog sadržaja, izgled seroza, vazdušne kese i *plexus brachialis*. Nakon otvaranja i pregleda telesnih duplji pristupa se pojedinačnom vađenju organa. Na kraju se vrši otvaranje glave i pregled mozga. Pregled organa podrazumeva procenu oblika, veličine, boje, konzistencije i građe na preseku. Kod luminoznih organa se procenjuju očuvanost lumena, izgled sluznice i prisustvo sadržaja na sluznici (Marinković i Nešić, 2013.) U slučaju da se uoče patološke promene na organima i tkivima, opisuje se oblik, veličina, boja, konzistencija i izgled na preseku promene. Na osnovu kompletne obdukcije se sastavlja obdukcioni protokol, u kome se navode sve konstatovane patološke promene na lešu, na osnovu kojih može da se donese zaključak o uzroku smrti. Da bi se utvrdio tačan uzrok smrti, pored obdukcije, u većini slučajeva, pa i kod sumnje na avijarnu influencu, neophodno je da se urade dodatne analize kao što su patohistološka, mikrobiološka i molekularna ispitivanja. Za sva dodatna ispitivanja tokom izvođenja obdukcije je neophodno uzeti adekvatan materijal. Tkivo za patohistološka ispitivanja se uzima tako što se prilikom zasecanja organa obuhvata deo zdravog i promenjenog tkiva. Da bi se pravilno fiksiralo tkivo i sprečio razvoj postmortalnih promena, idealne dimenzije uzorkovanog tkiva su 1x1x0,5 cm. Za fiksaciju tkiva se koristi 10% neutralni formalin i fiksacija traje najmanje 48 časova. Bočice u kojima se fiksira tkivo neophodno je obeležiti radi kasnije identifikacije. Najčešće promenjeni organi su pluća, srce, jetra, slezina, bubrezi, mozak i koža. Tokom obdukcije, tkivo za mikrobiološka i molekularna ispitivanja se ne fiksira u formalinu,

već se dostavlja sa propratnim aktom u što kraćem vremenskom roku u nativnom ili zamrznutom stanju u laboratoriju.

Zahvalnica

Istraživanje je realizovano prema projektu tehnološkog razvoja TR31011 finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Rad je podržan sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ugovor broj 451-03-68/2020-14/200143).

LITERATURA

1. Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux E et al, 2020, Avian influenza overview – update on 19 November 2020, EU/EEA and the UK. *Scientific Report*.
2. Bertran K, Dolz R, Majo N, 2014, Pathobiology of avian influenza virus infection in minor gallinaceous species: a review, *Avian Pathol.*, 43, 9-25.
3. Božić (Đurđević) B, Vučićević I, Polaček V, Vasković N, Petrović T, Pajić M, Aleksić-Kovačević S, 2019, Comparative pathological findings in mute swans (*Cygnus olor*) naturally infected with highly pathogenic Avian influenza viruses H5N1 and H5N8 in Serbia, *Veterinaria Italiana*, 55, 95-101.
4. Božić B, 2018, Uopredna analiza morfoloških promena i distribucije virusnog antigena u organima labudova i kokošaka prirodno inficiranih virusom avijarne influence podtipa H5N8", Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet Veterinarske medicine, Beograd.
5. Cheng VCC, To KKW, Tse H, Hung IFN, Yuen KY, 2012, Two Years after Pandemic Influenza A/2009/H1N1: What Have We Learned? *Clin Microbiol Rev* 25, 223.
6. Krauss S, Walker D, Paul-Pryor S, Niles L, Chenghong L, Hinshaw VS et al., 2004, Influenza A viruses in migrating wild aquatic birds in North America, *Vector-borne Zoon Dis*, 4, 177–89.
7. Marinković D, Nešić V, 2013, Tehnika obdukcije životinja sa osnovama tanatologije, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 96-120.
8. Nooruzzaman M, Haque ME, Haque CE, Islam MR, 2019, Pathology of clade 2.3.2.1 avian influenza virus (H5N1) infection in quails and ducks in Bangladesh *Avian Pathol*, 48, 73–9.
9. Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus A, Fouchier R, 2006, Global patterns of influenza A virus in wild birds, *Science*, 312, 384–8.
10. Pawar S, Chakrabarti A, Cherian S, Pande S, Nanaware M, Raut S et al., 2010, An avian influenza A(H11N1) virus from a wild aquatic bird revealing a unique Eurasian-American genetic reassortment, *Virus Genes*, 41, 14–22.
11. Rose K, Newman S, Uhart M, Lubroth J, 2006, Wild bird highly pathogenic avian influenza surveillance, *Manual Food and agriculture organization of United nations*, Rome.
12. Šekler M, Ruzica A, Krnjajić D, Palić T, Milić N, Jovanovic T et al., 2009, Examination of presence of specific antibodies against avian influenza virus in some species of wild birds, *Acta Vet Brno*, 59, 381–403.
13. Stoimenov GM, Goujgoulova GV, Nikolov B, Hristov K, Teneva A, 2019, Pathological changes in natural infection of pheasants with highly pathogenic avian influenza A (H5N8) in Bulgaria, *J Vet Res*, 63, 4.
14. Swayne DE, 2008, Avian Influenza, *Blackwell Publishing Ltd*, Oxford, UK.
15. Swayne DE, Halvorson DA, 2003, Influenza. In: Diseases of poultry, 11th ed. Y. Saif M, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE, eds. Blackwell Science, Ames, IA, 135-60.

16. Swayne DE, Suarez DL, 2000, Highly pathogenic avian influenza, *Rev Sci Tech*, 19, 463–82.
17. Vasković N, Šekler M, Vidanović D, Polaček V, Kukoļj V, Matović K, Jovanović M, 2011, Pathomorphological lesions and distribution of viral antigen in birds infected with the pathogenic strain of H5N1 avian influenza virus, *Acta Vet Beograd*, 61, 591–8.

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN DOMESTIC AND WILD BIRDS WITH AVIAN INFLUENZA - BIRD NECROPSY TECHNIQUES; PROPER SAMPLING AND SENDING OF DIAGNOSTIC MATERIAL

Vučičević Ivana, Đurđević Biljana, Nešić Slađan, Aleksić-Kovačević Sanja

Based on the ongoing autumn migration of wild waterbirds to Europe, there is a continued risk of Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) outbreaks in wild birds and poultry. During the fall of 2020, over 300 cases of HPAI-A(H5) were diagnosed in wild waterbirds and poultry in EU countries. The number of HPAI reported outbreaks in EU countries is rapidly increasing during last few years and, in contrast to 2019-2020 when the epidemic was mostly caused by HPAI-A(H5N8), several HPAI virus subtypes have been identified: A(H5N8), A(H5N5) and A(H5N1). In birds with HPAI infection, the changes are in the form of necrosis, oedema and haemorrhage, most often on the lungs, heart, liver, spleen, kidneys, brain and skin. Necropsies of birds suspected on HPAI are performing in a type II biosafety cabinet, wearing standard protective equipment and N95 masks. The necropsy of birds is performing according to standard protocols, including external and internal examination of the corpse. Samples of any changed tissue should be taken and stored in 10% neutral buffered formalin for at least 48h. Samples must not be thicker than 0.5 cm so the fixative penetrates the entire sample. Bird carcasses should be safely removed as category 1 material.

Key words: avian influenza, birds, necropsy, sampling

Organizaciju XLII simpozijuma za inovacije znanja veterinara, finansijski su podržale sledeće organizacije i preduzeća:

Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede – Uprava za veterinu

Veterinarska komora Srbije

Naučni institut za veterinarstvo Srbije

Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad

Institut za higijenu i tehnologiju mesa

Veterinarski institut dr Vaso Butozan

Veterinarski specijalistički institut Kraljevo

Veterinarski specijalistički institut Šabac

Veterinarski specijalistički institut Požarevac

Veterinarski specijalistički institut Sombor

Veterinarski specijalistički institut Jagodina

Veterinarski specijalistički institut Niš

Veterinarski specijalistički institut Zaječar

Veterinarski specijalistički institut Subotica

Veterinarski specijalistički institut Pančevo

Veterinarski specijalistički institut Zrenjanin

Veterinarski zavod Subotica – Labiana

Veterinarska stanica Zoolek

Veterinarska stanica Mladenovac

Veterinarska stanica Bujanovac

Beoveterina

Kinološki savez Srbije

Superlab

Promedia

Elixir feed aditives

Sano – savremena ishrana životinja

Biochem Balkan

Primavet

Korvet team

Fish Corp. 2000 feed

Royal Vet

Vetanova

Krka farm

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије, Београд
636.09(082)

СЕМИНАР за иновације знања ветеринара (42 ; 2021 ; Београд)
Zbornik predavanja XLII Seminara za inovacije znanja veterinara,
Beograd, 2021 / [urednik Lazarević Miodrag]. - Beograd : Fakultet
veterinarske medicine, Centar za izdavačku delatnost i promet učila, 2021
(Beograd : Naučna KMD). - [8], 195 str. : ilustr. ; 24 cm

Na vrhu nasl. str.: Univerzitet u Beogradu. - Tiraž 450. - Str. [3]:
Predgovor / Milorad Mirilović, Danijela Kirovski. - Bibliografija uz svaki
rad. - Summeries. - Registar.

ISBN 978-86-80446-41-7

а) Ветерина - Зборници

COBISS.SR-ID 31706889

ISBN 978-86-80446-41-7



МИНИСТАРСТВО ПОЉОПРИВРЕДЕ,
ШУМАРСТВА И ВОДОПРИВРЕДЕ
РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ



VSI JAGODINA



VSI ZREČANIN