

Novi ravnatelj Hrvatskog veterinarskog instituta

Dražen Štefanović



Tijekom protekla dva mandata, od 08. ožujka 2007. do 07. ožujka 2015. dužnost ravnatelja Hrvatskog veterinarskog instituta obnašao je prof. dr. sc. Željko Cvetnić, a tamo gdje je stao prof. dr. sc. Željko Cvetnić, na dužnosti ravnatelja Hrvatskog veterinarskog instituta nastavlja izv. prof. dr. sc. Boris Habrun.

Hrvatski veterinarski institut je u prethodna dva mandata pod vodstvom prof. dr. sc. Cvetnića doživio nagli uspon i postao respektabilan i poželjan partner, kako u Hrvatskoj, tako i u inozemstvu. Oba mandata su obilježena adaptacijama laboratorija u središnjici Instituta te podružnica Instituta tijekom kojih je dobivena vizualna prepoznatljivost Hrvatskog veterinarskog instituta.



Slika 1. Novi ravnatelj HVI-a izv. prof. dr. sc. Boris Habrun

Predmetne adaptacije te nabava laboratorijske opreme financirani su, u najvećoj mjeri, iz vlastitih sredstava Hrvatskog veterinarskog instituta, a korištena su i sredstva Svjetske banke i projekata Europskih fondova. Isto tako, uspostavljen je i kvalitetan organizacijski sustav rada i upravljanja, a standardi rada izjednačeni su sa standardima koje primjenjuju referalni laboratoriji Europske unije. Dosezi i mogućnosti Hrvatskog veterinarskog instituta danas su itekako dobro poznati svima onima koji prate ili su uključeni u bilo koji segment veterinarske djelatnosti u Republici Hrvatskoj.

Izv. prof. dr. sc. Boris Habrun imenovan je ravnateljem Hrvatskog veterinarskog instituta Rješenjem Upravnog vijeća Hrvatskog veterinarskog instituta broj Z-VI-4-98/15. od 13. siječnja 2015. godine, na mandat od četiri godine, a s početkom 08. ožujka 2015. godine.

Na raspisanom natječaju za izbor i imenovanje ravnatelja Hrvatskog veterinarskog instituta izv. prof. dr. sc. Habrun je bio jedini pristupnik, a prije stupanja na dužnost ravnatelja, u izuzetno ugodnom ozračju na Savjetodavnom vijeću Hrvatskog veterinarskog instituta, obavljeno je i preuzimanje ravnateljske dužnosti.

Dražen ŠTEFANOVIĆ, dipl. iur., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

Do stupanja na dužnost ravnatelja, izv. prof. dr. sc. Habrun obnašao je dužnost zamjenika ravnatelja Hrvatskog veterinarskog instituta, predstojnika Odjela za bakteriologiju i parazitologiju, voditelja Laboratorija za opću bakteriologiju i mikologiju i voditelja kvalitete Hrvatskog veterinarskog instituta.

Novi ravnatelj Instituta je, dana 10. ožujka 2015. godine predstavio svoj plan i program rada u četverogodišnjem mandatu svim stručnjacima Hrvatskog

veterinarskog instituta, a dugotrajan pljesak nazočnih potvrdio je kako je na pravom putu. Tom prilikom djelatnici Instituta su se zahvalili prof. dr. sc. Cvetniću na njegovom predanom radu, na viziji i misiji u vođenju Hrvatskog veterinarskog instituta.

I ovom prilikom želimo još jednom reći veliko hvala prof. dr. sc. Cvetniću, a izv. prof. dr. sc. Habrunu zaželjeti puno sreće i uspjeha na dužnosti ravnatelja Hrvatskog veterinarskog instituta.

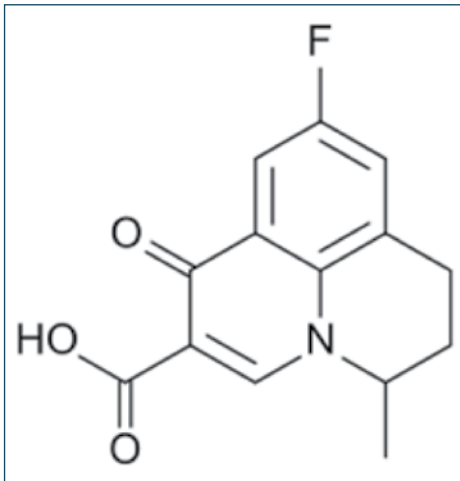
Kontrola rezidua flumekina u uzorcima mlijeka

Nina Bilandžić, Blaženka Kos, Jagoda Šušković, Marija Vrebac, Božica Solomun Kolanović i Ines Varga



Uvod

Kinoloni su sintetski antimikrobni lijekovi širokog spektra djelovanja koji se, osim u humanoj medicini, koriste i za liječenje gastrointestinalnih i respiratornih infekcija peradi i stoke (EMA, 2002., Rang i sur., 2006.). Spojeve kinolona kao što su enrofloksacin, ciprofloksacin, marbofloksacin, norfloksacin, danofloksacin, flumekin i drugi, karakterizira biciklička, odnosno triciklička struktura.



Slika 1. Strukturna formula flumekina.

Flumekin (Slika 1), je sintetski antibiotik koji pripada skupini fluorokinolonskih antibiotika prve generacije. Patentiran je 1973. godine te je prvi kinolonski spoj s atomom fluora na C-6 položaju. Zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava i zbog širokog spektra djelovanja fluorokinoloni se smatraju jednom od najdjelotvornijih skupina antibiotika u kliničkoj i veterinarskoj medicini koji djeluju na Gram-negativne bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae*, bakterije iz roda *Staphylococcus* te na sojeve *Pseudomonas aeruginosa*. Učinkoviti su protiv mikobakterija, klamidija i mikoplazmi, a slabije djeluju prema streptokokima (posebice streptokokima grupe D), enterokokima i anaerobnim bakterijama (Sárközy, 2001., Andreu i sur., 2007.).

Kao najčešća bolest muznih životinja u suvremenoj intenzivnoj proizvodnji mlijeka javlja se upala mliječne žlijezde, mastitis. Muznim kravama lijekovi se primjenjuju intramamarno, parenteralno, intravaginalno ili dodatkom stočnoj hrani, a nepravilna uporaba lijekova u kontroli mastitisa je glavni izvor pojave ostataka lijekova u mlijeku (Popelka i

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ines VARGA, mag. primj. kem., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Blaženka KOS, dipl. ing. biotehnol., redovita profesorica, dr. sc. Jagoda ŠUŠKOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., redovita profesorica, Marija VREBAC, mag. ing. biotehnol., Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

sur., 2004.). Primjena fluorokinolonskog antibiotika flumekina je raširena u tretiranju mastitisa (Sarkozy, 2001.).

Određivanje rezidua antimikrobnih lijekova, odnosno njihova kontrola u mlijeku je od velike važnosti za mljekarsku industriju, odnosno za spriječavanje njihova ulaska u prehrambeni lanac (Mitchell i sur., 1998.). Razvijeno je niz orijentacijskih metoda kojima je omogućena brza detekcija antimikrobnih lijekova u mlijeku, uključujući mikrobiološke metode te različite imunološke metode (Scortichini i sur., 2009., Kos, 2011.). Imunoenzimski testovi kao npr. ELISA (engl. enzyme-linked immunosorbent assay) i EIA (engl. enzyme immunoassay), su imunološke metode često korištene za detekciju rezidua veterinarskih lijekova u životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla zbog svoje visoke osjetljivosti, jednostavnosti i mogućnosti istovremene analize velikog broja uzoraka malog volumena (Scortichini i sur., 2009.). Za detekciju rezidua kinolona također je opisano nekoliko imunoenzimskih tehnika (Bucknall i sur., 2003., Van Collie i sur., 2004.).

U cilju zaštite zdravlja potrošača, Europska unija utvrdila je za flumekin u mlijeku najvišu dopuštenu količinu ostataka (NDK) od 50 mg/kg (EC, 2010.). Cilj ove studije bio je ispitati ostatke flumekina u uzorcima mlijeka prikupljenih po cijelom području Republike Hrvatske u 2014. godini. Za analizu flumekina korištena je orijentacijska metoda validirana prema Odluci Komisije 2002/657/EC (EC, 2002.).

Materijali i metode

Prikupljanje uzoraka

Ukupno 130 uzoraka mlijeka prikupljeno je s farmi muznih krava i malih gazdinstava diljem Hrvatske tijekom 2014. godine. Nakon prikupljanja,

uzorci su pohranjeni u polietilenske posude, označeni i smrznuti na -18 °C do analize.

Reagensi i standardi

Za određivanje flumekina korišten je ELISA kit proizvođača Euro-Proxima (Arnhem, Nizozemska). Kit se sastoji od: mikrotitarske ploče (96 jažica), pufera za razrijeđivanje (spremno za uporabu), pufer za ispiranje (20x koncentriran), otopine supstrata (spremno za uporabu), stop otopine (spremno za uporabu), enzim-konjugata (liofilizirani), antitijela (liofilizirano), otopine standarda (0, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50 i 100 ng/mL).

Metanol je nabavljen od Carlo Erba (Milano, Italija). Ultra čista voda je pripravljena koristeći sustav Direct Q 5UV (Merck Millipore, Darmstadt, Njemačka). Bazne otopine standarda pripravljene su otapanjem analita u metanolu. Radne otopine upotrebljavane za obogaćivanje slijepih uzoraka dobivene su daljnjim razrijeđivanjem, koristeći isto otapalo do koncentracije od 1 µg/mL. Bazne i radne otopine standarda su pohranjene na +2 to +8 °C.

Instrumenti

U pripremi uzorka korišteni su slijedeći instrumenti: homogenizator Ultra-Turrax® model T25IKA®, Vortex model VWR, VX-2500 (IKA® -WERKE GMBH & CO.KG, Njemačka) i centrifuga ROTANTA 460 R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Njemačka). Optička gustoća je mjerena pomoću spektrofotometra, mikročitača Tecan model Sunrise Absorbance Reader (Tecan, Austria GmbH, Salzburg, Austrija).

Priprema uzorka

Pipetirano je 0,5 mL homogeniziranog mlijeka u čistu epruvetu te dodano 4,5 mL 8% metanola u puferu za razrijeđenje uzorka i vorteksirano 30 min. Centrifugirano je 10 min na 2000 ×

g. Otpipetirano je 100 μ L vodenog dijela ispod masnog sloja u čistu epruvetu i dodano 900 μ L 8% metanola u puferu za razrjeđenje uzorka. Dobro je promiješano i pipetiran je alikvot od 50 μ L u jažice.

Postupak ELISA testa

Test je proveden prema uputama proizvođača Euro-Proxima. Apsorbancija je mjerena pri 450 nm, uporabom spektrofotometra za ELISA mikrotitarske pločice.

Validacija metode

Postupak validacije metode za određivanje flumekina u uzorcima mlijeka proveden je prema kriterijima za orijentacijske metode sukladno Odluci Komisije 2002/657/EC (EC, 2002.). U tu svrhu, određeni su osnovni parametri: sposobnost dokazivanja $CC\beta$, granica detekcije LOD, granica kvantifikacije LOQ i iskorištenje. Granica detekcije LOD i granica kvantifikacije LOQ izračunati su nakon analiziranja 20 negativnih uzoraka, odnosno tako da se srednjoj vrijednosti ponavljanih uzoraka pribroji 3 (LOD), odnosno 10 (LOQ) standardnih devijacija uzoraka. Granična koncentracija $CC\alpha$ određena je kao zbroj srednje vrijednosti koncentracije slijepih uzoraka i standardne devijacije odgovora slijepih uzoraka pomnožene s 2. Sposobnost dokazivanja $CC\beta$ ($\beta = 5\%$) je dobivena kao zbroj granične koncentracije i odgovarajuće standardne devijacije pomnožene s 1,64. Iskorištenje je određeno obogaćivanjem slijepih uzoraka mlijeka na četiri razine: 25, 50, 80 i 100 mg/kg.

Statistička analiza

Statistička analiza je provedena računalnim programom Statistica 6,1 (StatSoft Inc., Tulsa, SAD). Koncentracije flumekina su izražene kao minimalna i maksimalna koncentracija, srednja vrijednost \pm standardna devijacija (SD).

Rezultati i rasprava

Ostatci antibiotika u sirovom mlijeku mogu izazvati znatne gubitke u proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda zbog inhibicije bakterijskih starter kultura odgovornih za fermentaciju. Stoga je važno izbjeći prisutnost ostataka antibiotika u mlijeku u svrhu smanjenja problema u proizvodnji i sprječavanja izloženosti potrošača njihovom djelovanju (Molina i sur., 2003.). Kinolone karakterizira dobra oralna apsorpcija i raspodjela u tkivu organizma. Međutim, fluorokinoloni, među koje se ubraja i flumekin, kao tvari s kelatnim svojstvima, mogu imati negativan učinak na spermatogenezu i u trudnica prouzročiti pobačaj (Sepčić i sur., 2009.). Utvrđeno je također da dugotrajna izloženost niskim koncentracijama kinolona može imati negativne učinke na gustoću kostiju. Prisutnost rezidua kinolonskih antibiotika u mlijeku, osim što može dovesti do zdravstvenih problema, može prouzročiti razvoj antibiotske rezistencije kod crijevnih bakterija (Steffenak i sur., 1993., Zayas-Blanco i sur., 2004.).

U ovom radu ostatci flumekina su određivani ELISA metodom, validiranom prema kriterijima postavljenim Odlukom komisije 2002/657/EC (EC, 2002.). Rezultati validacije ELISA metode određivanja flumekina prikazani su u Tabeli 1. Najniža koncentracija koju se ovom metodom može dokazati, uz vjerojatnost pokazivanja lažno negativnog rezultata od 5% ($CC\beta$) je 42,3 mg/L flumekina. Iskorištenje metode, testirano na uzorcima mlijeka, kretalo se unutar preporučenog raspona: od 70 do 120%. Iskorištenje je testirano i na vrijednostima nižim od NDK vrijednosti što potvrđuje da se ovom metodom mogu detektirati koncentracije ispod propisane NDK vrijednosti. Testiranje ponovljivosti pokazalo je da ponavljanje analize uzorka daje neznajčajno rasipanje rezultata koje je

Tabela 1. Validacijski parametri ELISA metode za određivanje flumekina u mlijeku.

CCb (mg/L)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Obogaćenje (mg/L)	Preciznost CV (%)	Iskorištenje (%)
42,3	10,2	26,0	25	27,7	113,0
			50	31,9	112,0
			80	11,8	75,9
			100	18,2	73,9

Tabela 2. Koncentracije flumekina u mlijeku.

	Broj uzoraka	Min –Max (mg/L)	Srednja vrijednost ± SD (mg/L)
Mlijeko	130	1,38 – 32,6	12,3

opisano koeficijentom varijacije CV % koji iznosi do oko 30%. Srednje iskorištenje metode je 93,7%. Određeni parametri validacije ispunjavaju zadane kriterije za utvrđivanje flumekina u uzorcima mlijeka.

U ovome radu je tijekom 2014. godine prikupljeno ukupno 130 uzoraka mlijeka i analizirano na ostatke flumekina (Tablica 2). Koncentracije flumekina kretale su se u rasponu od 1,38 do 32,6 mg/L, a srednja koncentracija iznosila je 12,3 mg/L. Pri tome je u samo dva uzorka mlijeka koncentracija flumekina bila iznad LOQ vrijednosti od 26,0 mg/L.

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je na temelju istraživanja hepatotoksičnosti flumekina u mužjaka miševa utvrdila prihvatljiv dnevni unos (ADI, Acceptable Daily Intake) od 30 mg/kg tjelesne težine (WHO, 2004.). Ako se uzme u obzir da je srednja potrošnja mlijeka odraslih osoba u Hrvatskoj 300 mL te da prosječna osoba ima oko 60 kilograma tjelesne težine, može se provesti procjena dnevnog unosa flumekina (Antonić Degač i Kaić-Rak 2007.). Uvrštavanjem dobivene srednje vrijednosti, izračunata procjena dnevnog unosa flumekina iznosi svega 0,062 mg/kg tj. težine po danu te je značajno niža u odnosu na prihvatljivi dnevni unos od 30 mg/kg tj. težine po danu.

U prijašnjem istraživanju određivanja koncentracija različitih veterinarskih lijekova (kloramfenikol, sulfonamid, tetraciklin, gentamicin, streptomycin, dihidrostreptomycin, flumekin i enrofloksacin) u mlijeku u Hrvatskoj utvrđena je slična srednja vrijednost flumekina od 10,4 mg/L (Bilandžić i sur., 2011.). Također, u nedavnim istraživanjima provedenim u Španjolskoj kao i Turskoj nisu utvrđene povišene koncentracije kinolona u mlijeku (Zafra Gomez i sur., 2008., Nizamlioglu i Aydin, 2012.)

Međutim, studije utvrđivanja ostataka kinolonskih antibiotika u mesu su pokazale prisutnost ovih spojeva. Tako je u Turskoj u 34% uzoraka kokošje jetre utvrđeno da sadrže ostake kinolona (ciprofloksacin, enrofloksacin, marbofloksacin, danofloksacin, difloksacin, flumekin, sarafloksacin i oksolinska kiselina) (Nizamlioglu i Aydin, 2012.), a u Saudijskoj Arabiji je u 35% mišićnog tkiva i 56,7% uzoraka jetre kokoši utvrđena prisutnost rezidua norfloksacina (Al-Mustafa i Al-Ghamdi, 2000.). U Dominikanskoj Republici je 6,25 do 50% uzoraka pilećih prsa sadržavalo ostatke kinolona u koncentraciji iznad NDK vrijednosti (Silfrany i sur., 2013.), a u Iranu je u 8,88% mišićnih tkiva, 13,33% jetri i 24,44% uzoraka bubrega određena

koncentracija enrofloksacina iznad NDK vrijednosti (Salehzadeh i sur., 2007.).

U svrhu zaštite krajnjih potrošača i sprječavanja širenja antibiotske rezistencije vrlo je važna kontrola ostataka antibiotika u mlijeku. Dobivene koncentracije flumekina u ovome radu su ispod dopuštene NDK vrijednosti te pokazuju da mlijeko u Hrvatskoj sadrži niske razine ostataka flumekina te se može smatrati zdravstveno ispravno za primjenu u prehrani.

Sažetak

Kinolonski antibiotici uključuju sintetske antimikrobne lijekove širokog spektra, kao što su flumekin, enrofloksacin, ciprofloksacin, norfloksacin, marbofloksacin, danofloksacin i drugi. Ova važna skupina antibiotika naširoko se koristi u liječenju bolesti stoke, kao što su infekcije probavnog i respiratornog trakta. Postoje dokazi da dugotrajna izloženost niskim koncentracijama tih tvari može imati negativne učinke na mineralnu gustoću kostiju u djece i trudnica. Prisutnost kinolonskih ostataka u mlijeku također dovodi do javnozdravstvenih problema zbog razvoja rezistencije na lijekove kod crijevnih bakterija. U cilju zaštite zdravlja potrošača, Europska unija utvrdila je za flumekin u mlijeku najvišu dopuštenu količinu (NDK) od 50 mg/L. Za određivanje ostataka flumekina u mlijeku korištena je orijentacijska imunoenzimska metoda (ELISA) validirana prema Odluci Komisije 2002/657/EC. Dobiveni su parametri validacije koji ispunjavaju zadane kriterije za utvrđivanje flumekina u uzorcima mlijeka: LOD, granica detekcije 10,2 mg/L; LOQ, granica kvantifikacije 26,0 mg/L; CC β , sposobnost dokazivanja 42,3 mg/L; iskorištenje 93,7%. Tijekom 2014. godine ukupno 130 uzoraka mlijeka je analizirano na ostatke flumekina. Koncentracije flumekina kretale su se u rasponu od 1,38 do 32,6 mg/L sa srednjom koncentracijom od 12,3 mg/L. Samo dva uzorka mlijeka imala su vrijednosti iznad granice kvantifikacije 26,0 mg/L. Zaključno, dobiveni rezultati kontrole flumekina ukazuju da mlijeko sadrži niske razine ostataka flumekina, ispod dopuštene NDK vrijednosti i stoga je sigurno za konzumaciju.

Literatura

1. AL-MUSTAFA, Z. H. and M. S. AL-GHAMDI (2000): Use of norfloxacin in poultry production in the eastern province of Saudi Arabia and its possible impact on public health. *Int. J. Environ. Health Res.* 10, 291-299.
2. ANDREU, V., C. BLASCO and Y. PICO (2007): Analytical strategies to determine quinolone residues in food and the environment. *Trends Anal. Chem.* 26, 534-556.
3. ANTONIĆ DEGAČ, K., Z. LAIDO i A. KAIĆ-RAK (2007): Obilježja prehrane i uhranjenosti stanovništva Hrvatske (Dietary and nutritional status characteristics of Croatia's population) Hrvatski zavod za javno zdravstvo. *Hrvatski časopis za javno zdravstvo* 3, 9.
4. BILANDŽIĆ, N., B. SOLOMUN KOLANOVIĆ, I. VARENINA, G. SCORTICHINI, L. ANNUNZIATA, M. BRSTILO and N. RUDAN (2011): Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Contr.* 22, 1941-1948.
5. BUCKNALL, S., J. SILVERLIGHT, N. COLDHAM, L. THORNE, and R. JACKMAN (2003): Antibodies to the quinolones and fluorquinolones for the development of generic and specific immunoassays for detection of these residues in animal products. *Food Add. Contam.* 20, 221-228.
6. EC (2002): Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Off. J. Eur. Commun.* L221, 8-28.
7. EC (2010): Council Regulation 37/2010/EU of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off. J. Eur. Commun.* L15, 1-72.
8. EMEA (2002): Enrofloxacin, summary report (5) committee for veterinary medicinal products, EMEA. EMEA/MRL820/02 final, January 2002.
9. KOS, B. (2011): Predavanja iz modula "Ostaci antibiotika u hrani", Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, <http://www.pbf.unizg.hr/hr/zavodi/zavod_zabiokemijisko_inzenjerstvo/laboratorij_zatehnologiju_antibiotika_enzima_probiotika_i_starter_kultura/ostaci_antibiotika_u_hrani>. Pristupljeno 18. kolovoza 2014.
10. MITCHELL, J. M., M. W. GROFFITHS, S. A. MCEWEN, W. B. McNAB and A. J. YEE (1998): Antimicrobial drug residues in milk and meat: Causes, concerns, prevalence, regulations, tests and test performance. *J. Food Prot.* 61, 742-756.
11. MOLINA, M. P., R. L. ALTHAUS, A. MOLINAC and N. FERNÁNDEZ (2003): Antimicrobial agent detection in ewes' milk by the microbial inhibitor test brilliant black reduction test - BRT AiM[®]. *Int. Dairy J.* 13, 821-826.
12. NIZAMLIOĞLU, F. and H. AYDIN (2012): Quinolone antibiotic residues in raw milk and chicken liver in Konya. *Eurasian J. Vet. Sci.* 28, 154-158.
13. POPELKA, P., J. NAGY, P. POPELKA, S. MARCINČÁK, H. RÓŽANSKA, and J. SOKOL

- (2004): Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 48, 273-276.
14. RANG, H. P., M. M. DALE, J. M. RITTER, P. K. MOORE, and P. LAMB (2006): *Farmakologija*, GEBER, J.: Ur., Golden marketing - Tehnička knjiga, Vol. I hrv. izd., Churchil Livingstone.
 15. SALEHZADEH, F., A. SALEHZADEH, N. ROKNI, R. MADANI and F. GOLCHINEFAR (2007): Enrofloxacin residue in chicken tissues from Tehran slaughterhouses in Iran. *Pak. J. Nutr.* 6, 409-413.
 16. SÁRKÖZY, G. (2001): Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Vet. Med. – Czech* 46, 257–274.
 17. SCORTICHINI, G., L. ANNUNZIATA, V. D. GIROLAMO, R. BURATTI and R. GALARINI (2009): Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay screening for quinolones in egg, poultry muscle and feed samples. *Anal. Chim. Acta* 637, 273–278.
 18. SEPČIĆ, K., O. PERKOVIĆ, I. TUREL i J. SEPČIĆ (2009): Nuspojave i interakcije fluorokinolona. *Liječnički vjesnik* 131, 74-80.
 19. SILFRANY, R. O., R. E. CABA, F. SOLÍS DE LOS SANTOS, and I. J. HANNING (2013): Detection of quinolones in poultry meat obtained from retail centers in Santiago Province, the Dominican Republic. *Food Prot.* 76, 352-354.
 20. STEFFENAK, I., V. HORMAZABAL and M. YNDESTAD (1993): Residues of quinolones in fish and the effect of cooking on the residues in the fish. In: N. HAAGSMA, A. RUITER & P. B. CZEDIK-EYSENBERG (Eds.), *Euroresidue II. Proceedings of the Euroresidue II Conference* (pp. 646–649). Veldhoven: Springer Verlag.
 21. VAN COILLIE, E., J. D. BLOCK, and W. REYBROECK (2004): Development of an Indirect Competitive ELISA for Flumequine Residues in Raw Milk Using Chicken Egg Yolk Antibodies. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4975.
 22. ZAFRA-GOMEZ, A., A. GARBALLO, O. BALLESTEROS, A. NAVALON and L. E. GARCIA-AYUSO (2008): Simultaneous determination of quinolone antibacterials in bovine milk by liquid chromatography–mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.* 22, 1186-1193.
 23. ZAYAS-BLANCO, F., M. S. GARCIA-FALCON and J. SIMAL-GANDARA (2004): Determination of sulfamethazine in milk by solid phase extraction and liquid chromatographic separation with ultraviolet detection. *Food Contr.* 15, 375–378.
 24. WHO (2004): Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. Sixty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland.

Control of Flumequine Residues in Milk Samples

Nina BILANDŽIĆ, Grad. Biotechnol. Eng., PhD, Scientific Advisor, Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnol. Eng., Ines VARGA, Mag. Appl. Chem., Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Blaženka KOS, Grad. Biotechnol. Eng., PhD, Full Professor, Jagoda ŠUŠKOVIĆ, Grad. Biotechnol. Eng., PhD, Full Professor, Marija VREBAC, Mag. Biotechnol. Eng., Faculty of Food Technology and Biotechnology, Zagreb

Quinolones include synthetic broad-spectrum antimicrobials, such as flumequine, enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, marbofloxacin, danofloxacin, and others. This important group of antibiotics is widely used in the treatment of animal diseases, such as infections of the digestive and respiratory tracts. There is evidence that long-term exposure to low concentrations of these substances can have adverse effects on bone mineral density in children and pregnant women. The presence of quinolone residues in milk is also a public health issue due to the development of drug resistance in populations of intestinal bacteria. In order to protect consumer health, the European Union has established Maximum Residue Levels (MRLs) for flumequine in milk of 50 µg/L. For the determination of flumequine residues

in milk, the screening immunoenzymatic method (ELISA) validated according to Commission Decision 2002/657/EC was used. The result of the validation parameters met the criteria for determination of flumequine in milk samples: LOD (limit of detection) 10.2 µg/L; LOQ (limit of quantification) 26.0 µg/L; CC_β (detection capability) 42.3 µg/L; recovery 93.7%. During 2014, a total of 130 milk samples were analyzed for flumequine residues. Flumequine concentrations were in the range from 1.38 to 32.6 µg/L with a mean concentration of 12.3 µg/L. Only two milk samples had values above the limit of quantification of 26.0 µg/L. In conclusion, the results of flumequine control indicate that milk contains low levels of flumequine residues that are below the permitted maximum levels and therefore is safe for human consumption.

Kontrola rasplodivanja u komercijalnom uzgoju kunića



L. Turmalaj, S. Duro, Mehmedi Blerta, R. Bajramaj i I. Bakiasi

Uvod

U kunica se spolni ciklus ne javlja u redovitim vremenskim razmacima kao u ostalih domaćih životinja pri čemu dolazi do spontane ovulacije. Za kunice često kažemo da su stalno u estrusu, iako i u njihovom ciklusu razlikujemo proestrus, estrus, metestrus i diestrus. Do ovulacije dolazi 10-12 sati nakon parenja (Boussit, 1989.) u sklopu neuroendokrinog pulsatilno izlučenog luteinizirajućeg hormona (LH). LH dosiže svoju maksimalnu razinu 1,5-2 sata nakon stimulacije parenjem. Ovulacija je potaknuta i izlučivanjem oksitocina iz hipotalamusa (Samarđžija i Đuričić, 2011.) te prostaglandinima podrijetlom iz jajnika (Darf-Barbe i sur., 1973.).

Plodnost kunića pod utjecajem je velikog broja čimbenika od kojih su najznačajniji optimalna temperatura, rasvijetljenost i hranidba. Kod nepovoljnih izraženih čimbenika rasplodivanje kunića imalo bi sezonski karakter (Kamwanja i Hauser, 1983., Theau-Clement i Vrillon, 1989.).

Bitan čimbenik koji utječe na plodnost kunica je prijemčivost ženke koja se može procijeniti bojom stidnice u vrijeme parenja. Kad je boja stidnice

blijedoružičasta plodnost iznosi 35%, kad je ružičasta, plodnost iznosi 55%, a kad je crvena, iznosi 75% (Theau-Clement i Roustan 1991.).

U intenzivnom uzgoju ženke se pripuštaju već drugog dana nakon porođaja te tako razdoblje između dvaju porođaja u prosjeku traje 33 do 35 dana.

U našoj regiji najrašireniji je poluintenzivni sustav uzgoja u kojem se ženke pare 10-12 dana nakon porođaja. Odbiće mladunčadi provodi se sa 4-5 tjedana starosti. To je najkorišteniji sustav u komercijalnoj proizvodnji kunića.

Materijali i metode

Ova studija provedena je u razdoblju od 2009. do 2011. godine (siječanj - lipanj) na komercijalnoj farmi kunića u okrugu Lušnja, Albanija.

Izbor kunića: farma uzgaja kuniće novozelandske pasmine u svrhu proizvodnje mesa. Izabrane ženke klinički su pregledane i ocijenjene zdravima te nisu imale prethodnih reproduktivnih problema. Uvjeti za uzgoj su optimalni i istovrsni za sve ženke. Hranjene su obrocima kreiranima prema

Dr. sc. Luigj TURMALAJ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Sokol DURO, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Rexhep BAJRAMAJ, dr. med. vet., dr. sc. Ilirian BAKIASI, dr. med. vet., Veterinarski fakultet Poljoprivrednog Sveučilišta u Tirani, Albanija; Mehmedi BLERTA, dr. med. vet., Poljoprivredni i Veterinarski fakultet Sveučilišta u Prištini, Kosovo

reproduktivnoj fazi, a unos vode bio je *ad libitum*. Protokol se provodio na kunicama 10 dana nakon porođaja. Hormonska terapija sastojala se od tretmana eCG-om (PMSG), 40 i.j./ženki, (Folligon®, Intervet, Italija), 48 sati prije prirodnog pripusta te GnRH-om (Fertagyl®, Intervet, Italija), 0,2 mL/ženki u vrijeme kopulacije. Parenje je izvođeno s mužjacima dobrih reproduktivnih svojstava. Dijagnostika gravidnosti izvođena je manualnom palpacijom *per abdomen*, dva tjedna nakon parenja. Svrha istraživanja bila je procijeniti učinkovitost sinkronizacije spolnog ciklusa gore navedenom metodom te procijeniti plodnost.

Rezultati i rasprava

Hormonska terapija provođena je od siječnja do srpnja; tretirane su 143 kunice mjesečno. Najbolji rezultati dobiveni su tijekom ožujka i travnja kada je broj

sparenih ženki nakon sinkronizacije iznosio 98%, dok je tijekom siječnja i lipnja ista iznosila najnižih 90% ($p > 0,05$). Podatci su prikazani u tabeli 1.

Varijacije u broju i postotku sparenih ženki tijekom mjeseci povezani su s godišnjim temperaturnim varijacijama te su najslabiji sinkronizacijski rezultati ostvareni tijekom ljetnih i zimskih mjeseci.

Hormonska eCG stimulacija i sinkronizacija estrusa u kunica objašnjava se sposobnošću ovog hormona da djeluje na jajnike stmulirajući folikule jajnika. Deset dana nakon porođaja primjereno je vrijeme za eCG hormon i njegove folikularne receptore. Korištena je doza od 40 i.j./ženki koja je veća od doze koju su koristili Molina i sur. (1991.), a koja je iznosila 25 i.j. ili Parez i Chmitelin (1992.) koji su koristili 35 i.j.

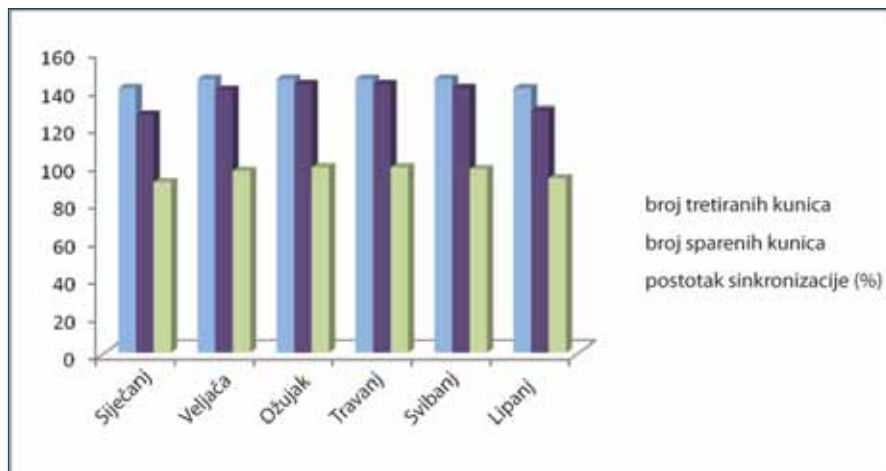
Smatramo da je upravo doza od 40 i.j. eCG-a mogla utjecati na visoki

Tabela 1. Uspješnost sinkronizacije tijekom pokusnog razdoblja

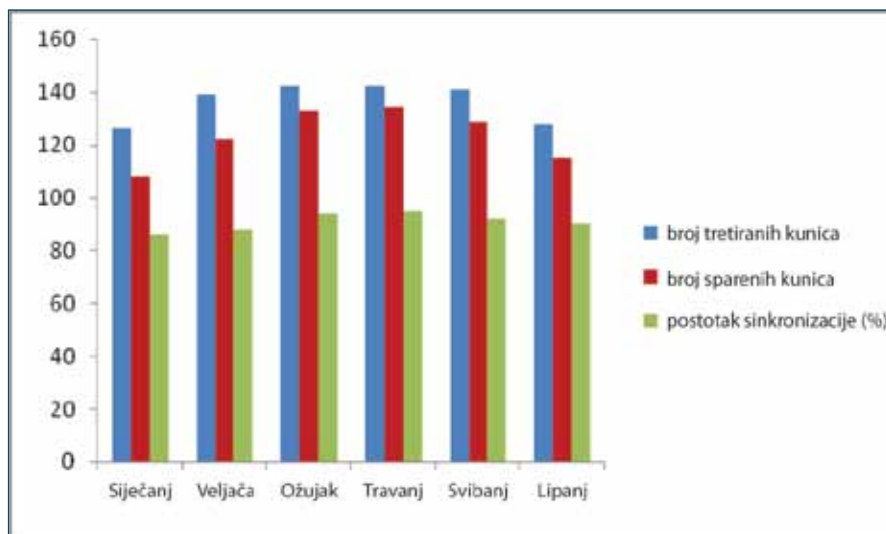
mjesec	broj tretiranih kunica	broj sparenih kunica	postotak sinkronizacije (%)
siječanj	140	126	90
veljača	145	139	96
ožujak	145	142	98
travanj	145	142	98
svibanj	145	140	97
lipanj	140	128	92

Tabela 2. Podatci o postotcima gravidnosti kunica

mjesec	sparene životinje	gravidne ženke	postotak gravidnosti (%)
siječanj	126	108	86
veljača	139	122	88
ožujak	142	133	94
travanj	142	134	95
svibanj	141	129	92
lipanj	128	115	90



Grafikon 1. Uspješnost sinkronizacije kunica po mjesecima



Grafikon 2. Podatci o postotku gravidnosti kunica

indeks sinkronizacije ostvaren u ovom istraživanju.

S druge strane, tretman GnRH-om (Fertagyl) u vrijeme parenja djelovao je na sazrijevanje folikula. Ova se metoda koristi prilikom umjetnog osjemenjivanja i prirodnog parenja povećavajući stimulirajući učinak prirodnog parenja.

GnRH djeluje na hipofizu na način da inducira otpuštanje LH i FSH (Ubilla i sur., 2000.). Od 818 osjemenjenih ženki, 741 ili 90,6% je bilo gravidno.

Tabela 2. prikazuje postotke gravidnih ženki po mjesecima. Smatramo da su hormonalni protokoli pozitivno utjecali balansirajući pojavu estrusa i ovulacije. Uspješnost oplodnje bila je veća tijekom travnja i svibnja nego tijekom siječnja i veljače ($p > 0,05$).

Okoćeno je ukupno 7,632 mladunčadi od kojih je njih 313 (4,1%) bilo mrtvorodenih. Porođaj je stimuliran aplikacijom oksitocina čime je ostvarena bolja kontrola i nadzor nad istim. Oko

60% mrtvorodne mladunčadi imalo je normalan razvoj tijekom gravidnosti.

Zaključci

Kao zaključke ovog istraživanja možemo iznijeti sljedeće:

- sinkronizacija estrusa u vidu hormonalnog protokola provedenog 10 dana nakon porođaja ima uspješnost od 95%.
- dijagnostika gravidnosti manualnom palpacijom *per abdomen* 2 tjedna nakon parenja praktična je i učinkovita metoda.
- plodnost je varirala od 6-14 mladunčadi u leglu s prosjekom od 10,3 mladunčadi / kunići.
- primijenjeni hormonalni protokol može se preporučiti za uzgoje kunića na komercijalnim farmama.

Sažetak

Uzgoj kunića se ubrzano širi i razvija u zemljama naše regije. Reproductivna sposobnost kunića je prilično visoka, zbog nekih osobitosti ove vrste u odnosu na druge vrste domaćih životinja. Kunice spolno sazrijevaju (pubertet) već u dobi od 12 tjedana, a spolno su zrele s oko 16-17 tjedana. Gravidnost traje u prosjeku 31 dan, s rasponom od 30-33 dana. Ovulacija je u kunića inducirana; do nje dolazi nakon prirodnog parenja ili može biti umjetno stimulirana prilikom umjetnog osjemenjivanja (mehanički ili hormonalnom indukcijom). Prosječan se broj okoćenih kunića u leglu kreće od 6-12. U intenzivnom uzgoju ženke se pripuštaju već drugog dana nakon porođaja te tako razdoblje između dvaju porođaja u intenzivnim i poluintenzivnim uzgojima u prosjeku traje 30 do 42 dana. U ovom radu testirali smo mogućnost rasplodivanja kunića hormonalnim protokolom na komercijalnoj farmi. Istraživanje je provedeno u intenzivnom uzgoju kunića na farmi u okrugu Lušnja, Albanija, tijekom 2009. godine (siječanj - lipanj). Tijekom navedenog razdoblja tretirano je 860 ženki. Protokol se provodio 10 dana nakon porođaja. Kunice su tretirane eCG-om (PMSG - serum ždrebnih kobila), 40 i.j./

ženka, (Folligon®, Intervet, Italija), 48 sati prije planiranog prirodnog pripusta te GnRH-om (Fertagyl®, Intervet, Italija), 0,2 mL/ženki u vrijeme parenja. Parenje je izvedeno s mužjakom dobrih i provjerenih reproduktivnih svojstava. Dijagnostika gravidnosti izvedena je manualnom palpacijom *per abdomen*, dva tjedna nakon kopulacije. Ova studija pokazala je da 818 kunića prihvatilo parenje (95% tretiranih ženki). Prilikom dijagnostike gravidnosti 741 kunića utvrđena je gravidna (90,6% od svih sparenih ženki). Ukupan broj kunića u leglu (živo i mrtvorodnih) iznosio je 7,632 ili u prosjeku 10.3 kunića/ženki, od kojih 313 mrtvorodnih (4,1%). Porođaj je stimuliran aplikacijom oksitocina (0,2 i.j.) 31. dana gravidnosti. Zaključili smo da hormonalni protokol u rasplodivanju kunića poboljšava upravljanje i povećava reproduktivne pokazatelje uzgoja.

Literatura

1. BOUSSIT, D. (1989): In: *Reproduction et insemination artificielle en cuniculture*. Editions AFC. France, p. 234.
2. DAFY-BARBE, L., P. FRANCHIMONT and J. M. FAURE (1973): Time-courses of LH and FSH release after mating in the female rabbit. *Endocrinology* 92, 1318-1321.
3. KAMWANJA, L. A. and E. R. HAUSER (1983): The influence of photoperiod on the use of puberty in the female rabbit. *J. Anim. Sci.* 56, 1370-1375.
4. MOLINA, I., M. PLA, J. S. VICENTE, A. MARTIN and A. ROMA (1991): Induction of ovulation in rabbits with pure urinary luteinizing hormone and human chorionic gonadotrophin: comparison of oocyte and embryo quality. *Human Reprod.* 6, 1449-1452.
5. UBILLA, E., P. G. REBOLLAR, D. PAZO, A. ESQUIFINO, J. M. R. ALVARIÑO (2000): Pituitary and ovarian response to transient doe-litter separation in nursing rabbits. *J. Reprod. Fertil.* 118, 361-366.
6. PAREZ, V. and F. CHMETELIN (1992): Effect of a PMSG treatment on reproduction in the rabbit. *Proc 12th International Congress Animal reproduction*. The Hague, p. 1166.
7. SAMARDŽIJA, M. i D. ĐURIČIĆ (2011): Rasplodivanje kunića, hrčaka i zamorčica. (M. Samardžija, ur.) Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
8. THEAU-CLEMENT, M. and J. L. VRILLON (1989): Le point sur L'insemination artificielle. *Cuniculture* 16, 141-149.
9. THEAU-CLEMENT, M. and A. ROUSTAN (1991): L'insemination artificielle chez la lapine. *El & Ins.* 245, 3-12.

Reproduction Control in Commercial Rabbit Breeding

Luigj TURMALAJ, DVM, PhD, Associate Professor, Sokol DURO, DVM, PhD, Associate Professor, Rexhep BAJRAMAJ, DVM, PhD, Ilirian BAKIASI, DVM, PhD, Agricultural University of Tirana, Veterinary Medicine Faculty, Albania; Mehmedi BLERTA, DVM, University of Pristine, Faculty of Agriculture and Veterinary, Priština, Kosovo

Rabbit breeding is rapidly expanding and developing in the countries of the region. The reproductive capacity of rabbits is quite high due to certain specificities of this species in comparison to other domesticated animal species. Rabbits begin sexual maturation (puberty) at an age of 12 weeks, and are sexually mature at 16 – 17 weeks. Gravidity ranges from 30 – 33 days, with a mean of 31 days. Ovulation in rabbits is induced, appearing after natural maturing or can be artificially stimulated during artificial insemination (mechanical or hormonal induction). The average litter size is from 6 – 12. In intensive breeding, females are mated on the second day after birthing, such that the period between two birthings in intensive and semi-intensive breeding is, on average, from 30 to 42 days. In this paper, we tested the possibilities of breeding rabbits with a hormone protocol at a commercial farm. The research was conducted in the intensive breeding of rabbits on a farm in the Lušnja district of Albania during 2009 (January – June). During this period,

860 females were treated. The protocol was carried out 10 days after birthing. Females were treated with eCG (PMSG – mare serum), 40 IU/female, (Folligon[®], Intervet, Italy), 48 hours prior to the planned natural mating, and GnRH (Fertagy1[®], Intervet, Italy), 0.2 mL/female during the mating period. Mating was performed with males of proven reproductive capacity. The diagnosis of gravidity was performed manually with palpation *per abdomen*, two weeks after copulation. This study showed that 818 females accepted the mating (95% of treated females). During the diagnosis of gravidity, 741 females were confirmed as gravid (90.6% of all mated females). The total number of rabbits in the litters (live and stillbirths) was 7632 or an average of 10.3 rabbits/female, of which 313 were stillborn (4.1%). Birthing was stimulated with the application of oxytocin (0.2 IU) on the 31st day of gravidity. It was concluded that the hormonal protocol in rabbit breeding improves the management and increases the reproductive indicators of breeding.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

**antibakterijski lijek za sustavne infekcije
fluorokinolon, enrofloxacin za goveda i svinje**

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

Sastav: Jedan ml otopine za injekciju Enroxil[®] Max sadržava 100 mg enrofloksacina.

Indikacije: Govedo: Liječenje infekcija dišnih organa goveda (npr. kompleks enzootske bronhopneumonije teladi/junadi) koje uzrokuju: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* i *Mycoplasma* spp., te liječenje mastitisa krava uzrokovanih bakterijama *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*. Enroxil[®] Max primjenjuje se u goveda kada kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma ukazuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Svinja: Liječenje dišnih infekcija svinja koje uzrokuju bakterije *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* i *Bordetella bronchiseptica*, kao i liječenje MMA-sindroma u krmača i ostalih infekcija čiji su uzročnici osjetljivi na enrofloksacin. Enroxil[®] Max primjenjuje se u svinja kada kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma, ukazuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Karencija: Meso i jestive iznutrice: Govedo: 14 dana. Svinja: 10 dana. Mlijeko krava: 48 sati.

Spiralna kompjutorizirana tomografija i rekonstrukcija tomograma cervikalne i torakolumbalne kralježnice psa i dijagnostika patologije



Mensur Šehić, Milan Matko i Davorin Lukman

Uvod

Revolucionarni pronalazak CT skenera ima svoje praktično značenje u humanoj i veterinarskoj radiologiji. CT je tako jedinstven da u mnogim slučajevima daje znatno bolje dijagnostičke podatke u usporedbi s konvencionalnom rendgenografijom i različitim metodama kontrastnih pretraga.

Osnovni princip kompjutorizirane tomografije je rekonstrukcija unutarnjih struktura objekta uz pomoć kompjutorske analize apsorbiranih rendgenskih zraka koje su prije toga mnogostruko projicirane. Tako se dobivaju slike poprečnih presjeka objekta na kojima se mogu razlučiti one sjene mekih tkiva koje se inače ne mogu prikazati konvencionalnom rendgenografijom.

Kod konvencionalnog CT-a pacijent se vremenski skenira po jednom sloju. Rendgenska se cijev i detektori rotiraju za 360 stupnjeva ili manje da se skenira jedan sloj, dok stol i pacijent ostaju mirni. Takvo skeniranje sloj po sloj uzima vremena i zbog toga se teži povećanju volumena skeniranja u što kraćem vremenu. Ta je zamisao dovela do razvoja

tehnike kod koje se volumen tkiva skenira stalnim pomicanjem pacijenta kroz gentri skenera, a rendgenska cijev i detektori se stalno rotiraju. Kao rezultat toga zračenje rendgenske cijevi ide oko pacijenta. Pojedini proizvođači nazivaju tu geometriju zračenja spiralnom CT (zračenje je spiralno oko pacijenta), a drugi ga nazivaju *helical CT*. U literaturi se podjednako koriste oba izraza.

Prva izvješća o praktičnoj primjeni spiralnog CT-a podnio je 1984. godine dr. Willi Kalender na jednom skupu u Chicagu. Dr. Kalender je znatno pridonio tehničkom razvoju i praktičnoj primjeni spiralnog CT skenera. Njegova glavna istraživanja odnosila su se na dijagnostičko oslikavanje, pogotovo na razvoj i uvođenje volumetrijske spiralne CT. Spiralni CT skeneri razvijaju se nakon 1989. godine kao jednoslojni spiralni ili volumni CT skeneri. Godine 1992. uvodi se dvoslojni spiralni CT skener. Tim se skenerom postižu dva sloja kod rotacije od 360 stupnjeva. Većom brzinom povećava se volumen (Kalender, 1995.).

Dr. sc. Mensur ŠEHIĆ, dr. med. vet., profesor *emmeritus*, Veterinarski fakultet, Zagreb; Milan MATKO, dr. med. vet., Veterinarska bolnica, Topolšica, Slovenija; dr. sc. Davorin LUKMAN, dr. med. vet., Specijalistička veterinarska praksa, Varaždin.

Na jednom skupu u Chicagu 1998. godine uvodi se nova generacija CT skenera. Ti se skeneri nazivaju višeslojni CT skeneri (multislice CT scanners). Oni se baziraju na uporabi tehnologije multidetektora pomoću kojih se skenira više od dva sloja kod rotacije gentrija. CT skeniranje volumena rezultira širom primjenom kod CT fluoroskopije, CT angiografije, trodimenzionalnog oslikavanja i realnog oslikavanja. Brojni su istraživači obavili testove kliničke primjene tih novih dijagnostičkih postupaka. Objavljeni su rezultati skeniranja mozga, kralježnice, spinalne moždine, vrata, toraksa, abdomena, retroperitoneuma, zdjelice i ekstremiteta.

Višestruki su CT slojevi možda najbolji pojam kojim se može opisati suvremeni razvoj spiralne kompjutorizirane tomografije. Taj se pojam uglavnom bazira na istodobnom postizanju više od jednog reza. To je rezultat višestrukog rednog sustava detektora koji se često naziva "Multidetector CT" (Multislice, MSCT).

Nastavak razvoja višeslojnih CT uređaja ide u smjeru povećanja broja redova detektorskih sustava koji u jednoj rotaciji mogu generirati više stotina slojeva ukupne širine 20-30 centimetara. Glavna primjena tog sustava su 3D kardiološke pretrage te 3D kineangiografija (Udupa i sur., 1991.). Sljedeći korak u razvoju višeslojne CT tehnologije su tzv. volumetrijski CT uređaji (Volumetric CT scanner, VCT), koji umjesto višerednih zasebnih detektorskih sustava koriste dinamični homogeni panel detektor (Flat panel detector) velike površine, najčešće 40 x 30 centimetara, uz dimenzije pojedinačnog receptora (piksela) od oko 150 mikrona. Iz toga proizlazi da su teoretske dimenzije voksela u izocentru oko 150 x 150 x 150 mikrometara, dok kod MSCT-a imamo oko 500 x 500 mikrometara po x-y osima te 500 - 1000 mikrometara po z-osi.

Kao krajnji rezultat dobivamo znatno poboljšanu prostornu rezoluciju, odnosno kvalitetnu vizualizaciju vrlo malih objekata te se u znatnoj mjeri eliminiraju artefakti parcijalnih volumena. Dobivene slike služe za 3D rekonstrukcije. Od velike važnosti je utjecaj povećanja rekonstrukcije RI, odnosno razmaka između položaja susjednih ravnina oslikavanja. Rekonstrukcija slika koje se preklapaju donosi temeljite prednosti s obzirom na 3D prostornu rezoluciju i dijagnostičku pouzdanost.

Trodimenzionalno je oslikavanje (3D) u medicini metoda kod koje se sastavljaju podatci prikupljeni od 3D objekta (pacijent, kompjutorska obrada i dvodimenzionalni prikaz (2D) na kompjutorskom ekranu). Zamjećivanje dubine stvara pojavu 3D slike.

Napredak tehnologije spiralne CT i oslikavanja magnetskom rezonancijom (MRI) omogućio je učestaliju primjenu multiplanerne (MPR) i trodimenzionalne (3D) rekonstrukcije kod prikaza anatomskih presjeka. Rezultat toga je da MPR i 3D oslikavanje ima glavnu ulogu u većini radioloških odjela u kojima se istražuju daljnje mogućnosti primjene 3D oslikavanja. Primjerice, kod analize oslikavanja mozga na Sveučilištu u Kaliforniji (San Diego) upotrebljavaju se 3D modeli kod istraživanja AIDS-a, Huntingtonove bolesti i shizofrenije. Na Sveučilištu Duke model 3D upotrebljava se kod istraživanja srčane aritmije. CT program u Burlingtonu za prikaz oblika i smještaja tumora - nazvan X nož, podatke dobivene od CT skena i MR mozga koristi za planiranje postupka radijacije (Zonneveld i Fukuta, 1994.).

U radiologiji je 3D oslikavanje našlo mjesto u radijacijskoj terapiji, kraniofacijalnom oslikavanju za planiranje kirurškog zahvata, ortopediji, neurokirurgiji, kardiovaskularnoj kirurgiji, angiografiji i MRI-ju. Oslikavanje pomoću 3D rekonstrukcije upotrijebljeno je za

vizualizaciju davnih egipatskih mumija bez da su uklonjeni omoti (Seeram, 2001.).

Suvremeno 3D oslikavanje stvara praktičnu endoskopiju, odnosno to je postupak koji omogućuje promatraču da „proleti” kroz tijelo kod pretrage mozga, traheobronhijalnog stabla, krvnih žila, sinusa i kolona. Isto je tako, oslikavanje pomoću 3D nova dimenzija kod kontrastnih pretraga krvnih žila. Tome treba dodati i da se 3D medicinska rekonstrukcija koristi na internetu (Rohrer, 2003.).

Smisao MPR i 3D oslikavanja je u uporabi ogromnih količina prikupljenih podataka od CT skeniranja pacijentovog volumena (također i od MRI-ja) da bi se osigurali kvalitativni i kvantitativni podatci u širem području kliničkih primjena. Kvantitativni se podatci upotrebljavaju da se odrede tri elementa postupka: preciznost (pouzdanost), ispravnost (stvarno otkrivanje) i uspješnost (izvedivost) postupka 3D oslikavanja.

Materijali i metode

Kompjutorizirano-tomografske pretrage kralježnice pasa obavljene su spiralnim CT uređajem “Somatom” (Siemens) kod pacijenata u Veterinarskoj bolnici Topolšica (Republika Slovenija). MPR i 3D rekonstrukcije bile su uspješne samo kod onih pacijenata kod kojih su načinjeni mnogostruki poprečni tanki slojevi kralježnice. 3D rekonstrukcije obavljene su pomoću DEMO software “MEDIMAGE”, VEPRO.

Prije kompjutorizirane tomografije (CT) kod pojedinih pacijenata obavljene su i mijelografije cervikalnog i torakolumbalnog dijela kralježnice pasa različitih pasmina i dobi. Cervikalnu mijelografiju obavili smo ubrizgavanjem kontrastnog sredstva Iohexola u atlantookcipitalni prostor, u cerebelomedularnu cisternu. Mijelografija lumbalnom punkcijom obavljena je u

slučajevima kad kontrast cisternalnom tehnikom ne dospijeva u torakolumbalno područje gdje se očekivalo patološko zbijanje.

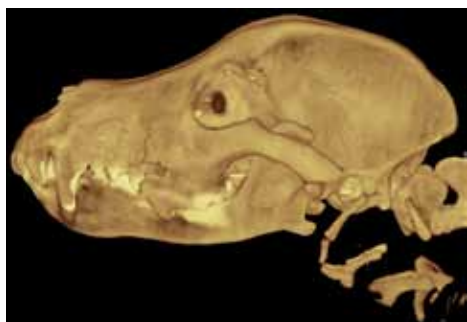
Kod CT skeniranja kralježnice pacijent je u sternalnom položaju. Oba položaja pacijenta i nagib gentrija upotrebljavaju se tako da je sken koji se projicira kroz primarno mjesto pretrage skoro okomit prema podužnoj osi spinalnog kanala. U tom pogledu pomaže 90° ili profilna projekcija topograma (tomogram). Preporučljivo je uključiti sken kod najmanje jednog kranijalnog ili kaudalnog intervertebralnog prostora prema primarnom mjestu željene pretrage. Ako je dobro lokalizirano mjesto pretrage, tada je potrebno primijeniti 1,5 mm debljine sloja. Veći dio kralježnice skenirali smo s tri milimetra debljine sloja. S mijelogramom smo načinili tamniju sliku s koštanim prozorom (razina prozora je 420, a širina 1500).

Polje pretrage veličine 35 cm odabire se za srednje velike i velike pse, a za male 25 cm. Ciljna točka je kralježnica unutar odabranog područja pretrage. Aksijalno skeniranje primjenjuje se uporabom koštanog algoritma. Odabrani 1,5 mm granični slojevi postižu se okomito prema vertebralnom kanalu kroz željeni intervertebralni prostor, od kaudalne izbočine kranijalnog kralješka prema kranijalnoj izbočini kaudalnog kralješka. Nagib gentrija upotrebljava se samo onda kad se ne može ukloniti položaj lordoze.

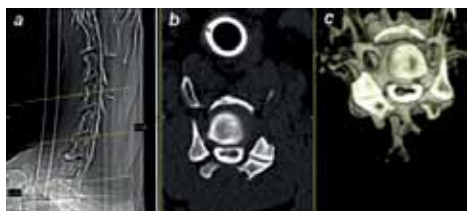
Nakon potpune rekonstrukcije aksijalne se slike pregledavaju na monitoru upravljačke ploče. Faktore pojačavanja i podešavanje prozora odabire se prema osobnoj sklonosti i suspektnoj patologiji. Multiplanerske rekonstrukcije (MPR) obavljene su na topogramima različitih segmenata cervikalne i torakolumbalne kralježnice. Većina odabranih presjeka uključuje sagitalne slike u ravninama intervertebralnih otvora i centralnog kanala, a dorzalne slike u ravnini korijena živaca (Šehić i Matko, 2012.).

Rezultati

U radiologiji se upotrebljavaju dva oblika 3D algoritma automatskog iscrtavanja: iscrtavanje površine (slika 1) i iscrtavanje volumena (VR). Kod naših rekonstrukcija upotrijebili smo oba algoritma iscrtavanja kod kojih smo dobili podatke od postavljenih slojeva u 3D prostoru.



Slika 1. 3D algoritam automatskog iscrtavanja površine u sagitalnom prikazu glave psa



Slika 2a. Na topogramu vratne kralježnice kursorom je označen prostor između trupova vratnih kralježaka C5-C6. **b.** U označenoj ravni poprečni tomogram pokazuje jaku kompresiju spinalne moždine prikazane mijelografski. **c.** Naznaka centralne deformacije spinalne moždine još bolje je istaknuta u VR rekonstrukciji kod koje je dobro vidljiva protruzija ovapnjelog diska.



Slika 3. Reformatirane slike u VR sagitalnom i VR aksijalnom prikazu segmenta vratne kralježnice. Sagitalno je kursorom prikazano mjesto kompresije spinalne moždine između trupova C5 - C6 i C6 - C7 (strelice). U VR aksijalnom prikazu strelicama je naglašena kompresija spinalne medule.



Slika 4. Multiplanarnom rekonstrukcijom poprečnog presjeka između T3 i T4 naglašeni su znaci koštanih razora poprečnih izdanaka T4 (strelica). Glava strelice pokazuje spinalni kanal bez kontrastnog sredstva u subarahnoidnom prostoru (maligni tumor kralješka i spinalne moždine).

Postoje četiri glavna elementa 3D oslikavanja: unos (input), radna stanica, izlazni podaci (output) i korisnik. Unos se odnosi na uređaj koji skuplja podatke. Unosni uređaj za preslikavanje uključuje spiralni CT skener (Siemens). Prikupljeni podatci šalju se u radnu stanicu, koja je srce sustava. Taj snažni kompjutor može obrađivati različite postupke 3D oslikavanja. Ti postupci uključuju predobradu (preprocessing), vizualizaciju, manipulaciju i analizu. Jednom kad je obrada potpuna, podatci se promatraju i snimaju na izlaznom uređaju.

Multiplanerska rekonstrukcija (MPR) obavljena je na aksijalnim prikazima različitih segmenata cervikalne (slike 2 i 3) i torakalne kralježnice (slika 4). U kompjutorskoj obradi pomoću software "MEDIMAGE", VEPRO od transaksijalnih skenova dobiveni su sagitalni i dorzalni prikazi. Od prikupljenih podataka slojeva pojedinih dijelova kralježnice stvara se 3D prostor. Podatci voksela od područnih slika pohranjuje se u kompjutor. Kod postupka 3D prikaza funkcija radne stanice uključuje četiri postupka. Na kraju simulirana slika prikazuje se na 2D zaslonu kompjutora.

Zaključak

Multiplanersko (MPR) i trodimenzionalno oslikavanje (3D) u medicini je metoda kod koje se sastavljaju podatci prikupljeni od 3D objekta (pacijent,

kompjutorska obrada i dvodimenzionalni prikaz na kompjutorskom ekranu). Zamjećivanje dubine stvara pojavu 3D slike.

Višeslojnih CT uređaji idu u smjeru povećanja broja redova detektorskih sustava, koji u jednoj rotaciji mogu generirati više stotina slojeva, ukupne širine 20-30 centimetara. Glavna primjena tog sustava su 3D kardiološke pretrage te 3D kineangiografija. Sljedeći korak u razvoju višeslojne CT tehnologije su tzv. volumetrijski CT uređaji (Volumetric CT scanner, VCT), koji umjesto višerednih zasebnih detektorskih sustava koriste dinamični homogeni panel detektor (Flat panel detector) velike površine. Kao krajnji rezultat dobivamo znatno poboljšanu prostornu rezoluciju, odnosno kvalitetnu vizualizaciju vrlo malih objekata te se u znatnoj mjeri eliminiraju artefakti parcijalnih volumena. Dobivene slike služe za 3D rekonstrukcije. Rekonstrukcija slika koje se preklapaju donosi temeljite prednosti s obzirom na 3D prostornu rezoluciju i dijagnostičku pouzdanost.

Napredak tehnologije spiralne CT i oslikavanja magnetskom rezonancijom (MRI) omogućio je učestalu primjenu MPR i 3D prikaza anatomskih presjeka. Rezultat toga je da MPR i 3D oslikavanje ima glavnu ulogu u većini radioloških odjela u kojima se istražuju daljnje mogućnosti primjene 3D oslikavanja.

Sažetak

Multiplanersko (MPR) i trodimenzionalno oslikavanje (3D) u medicini je metoda kod koje se sastavljaju podatci prikupljeni od 3D objekta (pacijent, kompjutorska obrada i dvodimenzionalni prikaz (2D) na kompjutorskom ekranu). Zamjećivanje dubine stvara pojavu 3D slike. Napredak tehnologije spiralne CT i oslikavanja magnetskom rezonancijom (MRI) omogućio je učestalu primjenu MPR i 3D prikaza anatomskih presjeka. Rezultat toga je da 3D oslikavanje ima glavnu ulogu u većini radioloških odjela u kojima se istražuju daljnje mogućnosti primjene 3D oslikavanja.

Literatura

1. KALENDER, W. (1995): Spiral CT angiography. In: GOLDMAN, L. W., FOWLKES, J. B., eds: Medical CT and ultrasound: current technology and applications, New London, Conn, AAPM.
2. ROHRER, M. (2003): Multislice-CT Technology. Schering AG, Berlin, Germany.
3. SEERAM, E. (2001): Computed tomography: physical principles, clinical applications, and quality control. Second edition. Saunders. An Imprint of Elsevier.
4. SIEMENS: SOMATOM PLUS/PLUS-S, Image Quality Guide, Erlangen.
5. ŠEHIĆ, M. i M. MATKO (2012): Kompjutorizirana tomografija i dijagnostika patologije lubanje, mozga i kralježnice psa. Zagreb.
6. UDUPA, J. K., H. M. HUNG and K. S. CHUANG (1991): Surface and volume rendering in three-dimensional imaging: a comparison. J. Digit. Imaging 4, 159-168.
7. ZONNEVELD, F. W. and K. FUKUTA (1994): A decade of clinical three-dimensional imaging: a review. Part 2: Clinical applications. Invest. Radiol. 29, 574-589.

Spiral Computed Tomography and Reconstruction Tomograms of Cervical and Thoracolumbal Canine Spine and Diagnostic Pathology

Mensur ŠEHIĆ, DVM, PhD, Professor *Emmeritus*; Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Milan MATKO, DVM, Small Animal Hospital, „Toplica“, Topolšica, Slovenia; Davorin LUKMAN, DVM, PhD, Small Animal Practice, Varaždin

Multiplaner (MPR) and three-dimensional (3D) imaging in medicine is a method in which a set of data is collected from a 3D object such as the patient, processed by a computer, and displayed on a two-dimensional (2D) computer screen to give the illusion of depth. Depth perception causes the image to appear in 3D. The advances in spiral/helical

CT and magnetic resonance imaging (MRI) technologies have resulted in an increasing use of 3D display of sectional anatomy. As a result, 3D imaging has become common place in most large-scale radiology departments, and researches continue to explore the potential of 3D applications.

NOVO

klavuxil®

50 mg, 20 tableta
aromatizirana tableta za žvakanje
za pse i mačke

250 mg, 20 tableta
aromatizirana tableta za žvakanje
za pse i mačke

500 mg, 10 tableta
aromatizirana tableta za žvakanje
za pse

meloxoral

1,5 mg/ml, 50 ml
oralna suspenzija za pse
meloksilam

1,5 mg/ml, 10 ml
oralna suspenzija za pse
meloksilam

0,5 mg/ml, 10ml
oralna suspenzija za mačke
meloksilam

meloxidolor

5 mg/ml, 20 ml
otopina za injekciju
za pse, mačke, goveda i svinje
meloksikam

prazinon

230/20 mg, 2 tablete
aromatizirane filmom obložene
tablete za mačke

sporimune

50 mg/ml, 25 ml
oralna otopina za pse
ciklosporin



PestiGon®

FIPRONIL Spot-On otopina za mačke i pse
za suzbijanje infestacija BUHAMA i KRPELJIMA



GENERA

www.genera.hr

Primjena proteze umjetnog kuka u pasa



Marko Šestan i Mario Kreszinger

Uvod

Potpuna zamjena zgloba (engl. total joint replacement, TJR) je široko prihvaćen postupak liječenja degenerativnih bolesti zglobova u ljudi i životinja. U veterinarskoj je medicini danas moguća ugradnja endoproteze umjetnog kuka, lakti, koljena i međukralježničkog diska. (Allen, 2012.). Ugradnja umjetnog kuka (engl. total hip replacement, THR) je kirurški zahvat potpune zamjene bolnog i nefunkcionalnog kuka s umjetnom (metalnom ili plastičnom) protezom u svrhu uklanjanja boli i vraćanja funkcije zgloba za aktivni način življenja (Hayashi, 2009.). Danas se za sve životinje s uznapredovalim bolestima kuka smatra rutinskim zahvatom (Houlton i sur., 2006.). Uobičajno se izvodi u pasa koji trpe teške bolove u kuku prouzročene displazijom kukova, tj. osteoartrozom. U pasa s bolnim abnormalnostima kuka izazvanim frakturom, luksacijom ili uznapredovalom nekrozom također se može razmotriti mogućnost THR (Hayashi, 2009.). Obzirom da su proteze u stalnom procesu degeneracije, preporuča se napraviti THR što je moguće kasnije u životu pacijenta, kako bi se smanjila potencijalna potreba za kasnijom zamjenom prvo ugrađene proteze (Fossum i sur., 2007.).

Endoproteze umjetnog kuka

Endoproteze umjetnog kuka se dijele na: cementne i bescementne (Gutbrod i Festl, 1995.) te hibridne endoproteze (Scmalzried i Harris, 1993.). Kod cementnih metoda cement služi kao poveznica između implantanta i kosti, a danas je najčešće upotrebljavan polimetilmetakrilat (PMMA) (Fossum i sur., 2007.). Bescementna metoda omogućuje osteointegraciju, odnosno integraciju implantanta s kosti (Olmstead, 1995.). Važna razlika između cementnih i bescementnih endoproteza jest u njihovim površinama. Cementne endoproteze imaju potpuno glatke plohe, dok bescementne moraju biti hrapave s mikro i makro porama na površini u koje kasnije urasta kost (Rorabeck i sur., 1994.). Nedostatak bescementnih metoda je veća pojavnost fraktura tijekom operacija, ali se izbjegavaju dvije potencijalne komplikacije koje su javljaju pri primjeni cementnih metoda, infekcije i aseptičko popuštanje (Fossum i sur., 2007.). Uporabom bescementnih metoda smanjuje se vrijeme trajanja operacije i uklanja rizik od toplinskog oštećenja kosti (Allen, 2012.). Odabir cementne ili bescementne metode ovisi o više

Marko ŠESTAN, dr. med. vet., dr. sc. Mario KRESZINGER, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Zagreb

čimbenika. Bescementne se metode koje se baziraju na biološkoj fiksaciji koriste kod mladih, aktivnijih pacijenata. Kod starijih pacijenata sa slabijom kvalitetom kosti preporuča se cementna metoda fiksacije, jer press-fit metoda fiksacije nije idealna (Vezzoni, 2008.). Unazad nekoliko godina, bescementne endoproteze imaju daleko širu uporabu u veterinarskoj ortopediji u odnosu na cementne endoproteze iz razloga što je uporaba cementnih endoproteza povezana s visokom stopom infekcija i učestalom pojavom aseptičkog popuštanja (Bardet, 2004.). Hibridne su endoproteze kombinacija prethodne dvije: dio endoproteze je bescementni (najčešće acetabularni dio), dok se za drugi dio koristi koštani cement (češće bedreni dio) (Scmalzried i Harris, 1993.). Budućnost ugradnje umjetnog kuka u pasa predstavlja bionic hip resurfacing (pokrovnna proteza) ili metoda uklanjanja oštećene zglobne površine gdje se mijenja samo oštećeni dio zgloba, tj. zglobne plohe te se takvim zahvatom čuva kost za možebitne buduće operacije i potencijalnu potrebu za zamjenom prvo ugrađene proteze (Fary i sur., 2011.).

Cementne metode

Cement služi kao poveznica između implantanta i kosti, a postavlja se nakon uklanjanja degenerativnim promjenama zahvaćene hrskavice acetabuluma i dijelova kosti (Fossum i sur., 2007.). Primarna zadaća koštanog cementa je povećanje dodirne površine između endoproteze i ležišta u kosti za približno 200 puta (Rorabeck i sur., 1994.). Koštani cement je najjači dva dana nakon postavljanja, ali s vremenom može popustiti, jer nema mogućnost prilagodbe, ni promjenama statike, ni promjenama opterećenja (Fossum i sur., 2007.). U postavljanju cementnih implantata potrebno je posebnu pozornost posvetiti asepsi/antisepsi i točnom pozicioniranju implantata (Allen, 2012.).

CFX™ proteza

Femoralni dio CFX™ proteze izgrađen je od legure kobalta i kroma, a acetabularna čašica od polietilena (UHMWPE) visoke molekularne težine (Liska, 2004.). Polietilenska čašica lijepi se s PMMA za, na taj način pripremljeno, uleknucé acetabuluma. Zatim se ukloni glava i dio bedrene kosti, kao i dio medularne šupljine u koju se umeće klin s protezom glave i dijela vrata bedrene kosti. Sve se učvršćuje koštanim cementom PMMA (Liska, 2004.).

U retrospektivnoj studiji provedenoj na 277 pasa s ugrađenom CFX™ endoprotezom uspjeh je utvrđen u 90,3% slučajeva. Komplikacije su obuhvaćale aseptičko popuštanje implantata te trošenje acetabularne komponente (Bardet, 2004.). U 2005. godini tvrtka Biomedtrix razvila je CFX™ Micro/Nano



Slika 1. Prikaz CFX™ proteze (Izvor: Fossum i sur., 2007.)



Slika 2. Prikaz dijelova CFX™ Micro/Nano hip endoproteze (Izvor: http://www.biomedtrix.com/news_story.php?id=1)

endoprotezu kuka kojom je omogućena ugradnja endoproteze kuka i u malih pasmina pasa, tj. odraslih mačaka težine manje od 5 kg (Allen, 2012.).

Bescementne metode

Bescementna metoda omogućuje osteointegraciju, odnosno integraciju, implantanta s kosti (Olmstead, 1995.). Bescementni se implantati mogu fiksirati mono ili bikortikalnim vijcima, press-fit metodom ili vijcima na navoj (Fossum i sur., 2007.). Bescementne endoproteze moraju biti hrapave, s mikro i makro porama na površini u koje kasnije urasta kost. Kod bescementnih je endoproteza vrlo je važna dobra primarna fiksacija endoproteze u ležištu kosti, nakon čega s vremenom slijedi urastanje kosti u mikro i makro pore, što se naziva sekundarna fiksacija endoproteze (Rorabeck i sur., 1994.).

BFX™ proteza

Biomedtrix-ov tip endoproteze pod nazivom BFX™ izrađena je od Co-Cr femoralne komponente i hemisferične titanske acetabularne čašice čija je unutarnja obloga izrađena od polietilena. Adekvatno prijanjanje omogućeno je uporabom Co-Cr kuglica (srednje vrijednosti promjera 300 μm) ili tzv. zrnate plohe na čitavoj stražnjoj strani acetabularne komponentne te na vratu femoralne komponente proteze. Zrnata ploha omogućava uraštanje kosti između Co-Cr kuglica, tj. u male sitaste međuprostore implantanta. Uraštanje kosti omogućuje dugoročnu stabilnost bez uporabe koštanog cementa (Barnhart, 2005.).

Oblik fiksacije u kojoj se komponente učvršćuju snažnim nabijanjem u poziciju s posljedičnim uraštanjem kosti u male sitaste međuprostore na protezi naziva se tzv. press-fit fiksacija. Rezultat je tijesno priljubljanje proteze uz kost što potiče koštano uraštanje (Barnhart,



Slika 3. Prikaz BFX™ proteze (Izvor: Fossum i sur., 2007.)

2005.). Klinički rezultati ugradnje BFX™ proteze bili su odlični, sa stopom uspjeha od 92-95%, a najčešće komplikacije koje su se javljale bile su frakture femura u 10% slučajeva (Liska, 2004.), ali se pritom izbjegavaju infekcije i aseptičko popuštanje endoproteze (Barnhart, 2005.). Potvrda uspješnosti ugradnje BFX™ proteze je pozitivna procjena postoperativne funkcije ekstremiteta (Lascelle i sur., 2010.).

Kyon Zürich proteza

Kyon Zürich endoproteza se sastoji od titanskih komponenti, a kombinacijom različitih veličina komponenti glave i vrata prilagođava se kako velikim, tako i malim pasminama pasa (Tepic, 2008.). Femoralni dio „Kyon Zürich“ bescementne endoproteze namješta se u femoralni medijalni korteks te se osigurava monokortikalnim zaključavajućim vijcima u endoprotezu. Na ovaj je način endoproteza priljubljena cijelom svojom dužinom na površinu kosti te cijelom svojom dužinom podnosi određenu nosivu silu, tako pružajući stabilnost ekstremitetu nakon operacije (Boudreau, 2004.).



Slika 4. Prikaz femoralne i acetabularne komponente „Kyon Zürich“ bescementne endoproteze (Izvor: <http://www.kyon.ch/catalog-ordering/zurich-cementless-thr/thr-implants>)



Slika 5. Kyon Zürich bescementna proteza u RTG prikazu (Izvor: Hayashi, K. [2009.], www.acvs.org)

Fiksacija acetabularne čašice potpuno je drugačijeg pristupa od fiksacije femoralne komponente proteze. Uglavnom se ugrađuje čašica izrađena od titana, hrapave površine i s laserski napravljenim porama za konvekciju tkivnih tekućina kako bi uraštanje bilo što uspješnije. Upravo je to svojstvo još jedno od osnovnih odlika koje Kyon Zürich endoprotezu čine jedinstvenom. Polietilen se postavlja unutar šupljine titanske čašice, ostavljajući tako 1 mm hidraulički slobodnog prostora kojeg s vremenom ispunjava kost, uraštajući u protezu. Takav se oblik fiksacije naziva „press fit“ metoda. Površina titanske čašice je dodatno presvučena plazmom titana kako bi omogućila dodatni „microlock“ proteze. Zbog svega toga koristi se samo jedan centralni vijak za dodatno učvršćivanje acetabularne komponente u samu kost što uvelike

smanjuje traumatiziranje spongioze acetabuluma (Tepic i Montavon, 2004.).

Najčešće komplikacije Kyon Zürich endoproteze su bile: kraniodorzalno iščašenje femura u 10% slučajeva te prijelom bedrene kosti i popuštanje acetabularne endoproteze u 5% slučajeva (Boudreau, 2004.). Od ukupno 1053 ugrađenih Kyon Zürich endoproteza kuka uspjeh je utvrđen u 91% slučajeva (Vezzoni, 2011.).

HELICA proteza

HELICA endoproteza predstavljena je 2006. godine kao opcija THR-a koja kost ostavlja očuvanom. HELICA proteza se sastoji od 4 komponente, vijčani navoj i acetabularna čašica izrađeni su od legure titana s UHMWPE graničnom linijom, a glava proteze od legure nehrđajućeg čelika s titan-nitrid presvlakom kako bi se smanjilo trenje i posljedično oštećivanje (Hach i Delfs, 2009.). Način ugradnje Helica implantanta temelji se na tome što se endoproteza glave bedrene kosti, izrađena od legure titana učvršćuje u kost zahvaljujući vijčanom navoju, nakon resekcije glave bedrene kosti. Fiksacija titanske acetabularne čašice postiže se kombinacijom neposredne stabilnosti, koja se ostvaruje rezanjem navoja na stražnjem dijelu acetabularne čašice i osteointegracijom zbog zrnate strukture acetabularne čašice. Procedura ugradnje bescementne HELICA proteze zahtijeva minimalnu resekciju kosti pa medularni kanal i dio vrata bedrene kosti ostaju očuvani (Hach i Delfs, 2009.). Glavna prednost HELICA endoproteza je relativna jednostavnost ugradnje, smanjena invazivnost te kraće trajanje samog zahvata čime se smanjuje mogućnost nastanka postoperativnih infekcija (Anderoni i sur., 2010.). U istraživanju provedenom na 39 pasa komplikacije prilikom ugradnje HELICA endoproteza javile su se u 12,8% slučajeva, ali nisu obuhvaćale niti infekcije, niti luksacije. Najčešće



Slika 6. RTG prikaz HELICA proteze (Izvor: <http://www.tierarzt-thissen.de/en/leistungen/endoprothetik>)



Slika 7. Prikaz femoralne i acetabularne komponente bioničke hip proteze (Izvor: <http://www.securos.com/Portals/8/ProductOffering/Catalogs/SecurosOrthopedicResource/files/assets/seo/page61.html>)

komplikacije koje su se javile bile su popuštanje acetabularne komponente u 7,6% slučajeva, popuštanje femoralne komponente u 2,5% slučajeva te ozljede *n. ishiadicusa* u 1,1% slučajeva. Od tih 12,8% komplikacija njih 70% uspješno se rješava revizijom. Nakon zahvata psi su bili u mogućnosti opterećivati operirani ekstremitet već nakon jednog dana od operacije (Hach i Delfs, 2009.).

Hibridne endoproteze

Hibridne su endoproteze kombinacija cementnih i bescementnih endoproteza, tj. metoda fiksacije pri čemu je jedan dio endoproteze bez cementa (najčešće acetabularni dio), dok se za drugi dio

koristi koštani cement (češće bedreni dio) (Scmalzried i Harris, 1993.).

Bionic Hip resurfacing

U Bionic Hip resurfacing ili metodi uklanjanja oštećene zglobne površine (pokrovna proteza) mijenja se samo oštećeni dio zgloba, a to su zglobne plohe. Umjesto rezanja vrata bedrene kosti i stavljanja trupa implantanta u kanal, na glavu femura koja se najprije izbrusi postavlja se metalna kapa, koja se učvršćuje koštanim cementom. U acetabulum se postavlja metalna čašica koja se fiksira osteointegracijom zbog zrnate strukture acetabularne komponente. Takvim se zahvatom čuva kost za eventualne buduće operacije. Između femoralne i acetabularne komponente proteze se ne nalazi plastični umetak te je na taj način očuvana anatomija kuka (Mont i sur., 2006.).

Prednosti Hip resurfacinga su očuvanje kosti za buduće operacije, kraće trajanje operativnog zahvata, brži oporavak i smanjena prevalencija prijeloma i iščašenja bedrene kosti. U budućnosti tek slijede klinička istraživanja prednosti i mana ovih proteza na kukovima s navedenim patološkim stanjima, koja će svakako biti zanimljivo pratiti (Fary i sur., 2011.).

Komplikacije ugradnje endoproteze kuka

Najčešće komplikacije THR-a su luksacije, infekcije i aseptičko popuštanje implantanta (Liska, 2004.), dok se prijelomi bedrene kosti, ozljede živaca te loše pozicioniranje implantanta javljaju znatno rjeđe (Slatter, 2003.). Prema istraživanju provedenom 2000. godine na ukupnom uzorku od 400 pasa bez obzira na tip implantanta komplikacije su se javile u njih 48 (15,3%), točnije na 51 kuku (12,7%). Luksacije su se javile u 18

slučajeva (4,5%), popuštanje implantata u 9 (2,25%), a infekcije u svega 5 slučajeva (1,25%) (Liska, 2000.).

Postoperativna skrb pacijenta

Nakon operacije dajemo *per os* antimikrobnu terapiju baziranu, uglavnom, na cefalosporinskim antibioticima u trajanju od najmanje tri dana kako bismo smanjili vjerojatnost pojave postoperativnih infekcija (Brinker i sur., 2006.). U prvih mjesec dana psu je najbitnije limitirati kretanje šetnjom isključivo na povodniku. Ukoliko pas zbog bilateralnih promjena na kukovima mora na drugu operaciju, razmak između postupaka mora biti najmanje tri mjeseca (Denny i Butterworth, 2006.).

Sažetak

Ugradnja umjetnog kuka (THR) je kirurški zahvat potpune zamjene bolnog i nefunkcionalnog kuka s umjetnom protezom u svrhu uklanjanja boli i vraćanja funkcije zgloba za aktivni način življenja te se danas smatra rutinskim zahvatom za sve životinje s uznapredovalim bolestima kuka. Endoproteze se dijele na cementne, besementne te hibridne endoproteze. Budućnost ugradnje umjetnog kuka u psa predstavlja bionic hip resurfacing (pokrovnna proteza) ili metoda uklanjanja oštećene zglobne površine kad se mijenja samo oštećeni dio zgloba, tj. zglobne plohe te se takvim zahvatom čuva kost za eventualne buduće operacije i potencijalne potrebe za kasnijom zamjenom prvo ugrađene proteze. Najčešće komplikacije THR-a su luksacije, infekcije i aseptičko popuštanje implantanta, dok se prijelomi bedrene kosti, ozljede živaca te loše pozicioniranje implantanta javljaju znatno rjeđe.

Literatura

- Anon. (2013a): http://www.biomedtrix.com/news_story.php?id=1.
- Anon. (2013b): <http://www.kyon.ch/catalog-ordering/zurich-cementless-thr/thr-implant.s>
- Anon. (2013c): <http://www.tierarzt-thissen.de/en/leistungen/endoprothetik>.
- Anon. (2013d): <http://www.secuoros.com/Portals/8/ProductOffering/Catalogs/SecuorosOrthopedicResource/files/assets/seo/page61.html>.
- ALLEN, M. J. (2012): Advances in total joint replacement in small animals. *J. Small Anim. Pract.* 53, 495-506.
- ANDERONI, A. A., T. G. GUERRERO, K. HURTER and P. MONTAVON (2010): Revision of an unstable HELICA endoprosthesis with Zürich cementless total hip replacement. *Vet. Comp. Orthop. Traumat.* 23, 177-181.
- BARDET, J. F. (2004): Cemented total hip replacement: experience in France with the Porte prosthesis. *ESVOT 2004 Pre-Congress - Total Hip Replacement Seminar, ESVOT Pre-Congress-THR*, (VEZZONI, A., ed.), 9th September. Munich, Germany, P. 14.
- BARNHART, M. (2005): Canine Total Hip Replacement - Cemented vs. Cementless. *J. Small Anim. Pract.* 32, 145-150.
- BOUDREAU, R. J. (2004): Cementless Zürich Total Hip Arthroplasty: Multicentric study, *ESVOT Pre-Congress-THR*, (VEZZONI, A., ed.), 9th September. Munich, Germany. Pp. 21-25.
- BRINKER, W. O., D. L. PIERMATTEI and G. L. FLO (2006): The Hip Joint. In: *Handbook of small animal Orthopaedics and fracture repair*. Saunders, W. B. Philadelphia. Pp. 461-511.
- DENNY, H. R. and S. BUTTERWORTH (2006): The Hindlimb. In: *A Guide to Canine and Feline Orthopaedic Surgery*. (DENNY, H. R., S. BUTTERWORTH, eds.). Blackwele Science Ltd., Carlton, pp. 439-601.
- FARY, C., G. E. THOMAS, A. TAYLOR, D. BEARD, A. CARR and S. GLYN-JONES (2011): Diagnosing and investigating adverse reactions in metal on metal hip implants. *Brit. Med. J.* 343, 7441.
- FOSSUM, T. W., C. S. HEDLUND, A. L. JOHNSON, K. S. SCHULZ, B. SEIM, M. D. WILLARD, A. BAHR and G. L. CARROLL (2007): *Diseases of Joints*. In: *Small animal surgery 3rd ed.* (STRINGER, S., ed.) PA Mosby Inc. St. Louis, pp. 1143-1313.
- GUTTBROD, F. and D. FESTL (1995): *Praktische Anwendung und klinische Ergebnisse der Hüftgelenk-Totalendoprothese für Hunde Modell Aesculap*. *Kleintierpraxis* 40, 793-804.
- HACH, V. and G. DELFS (2009): Initial experience with a newly developed cementless hip prosthesis. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 2, 1-4.
- HAYASHI, K. (2009): Total Hip Replacement in Dogs. *Vet. Surg.* 34, 11-18.
- HOULTON, J. E. F., J. L. COOK, J. F. INNES and S. J. LANGLEY-HOBBS (2006): The hip. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Musculoskeletal Disorders*. (MACIAS, J. L., J. COOK, J. INNES, eds.). *Brit. Small Anim. Assos.* Pp. 309-350.
- LASCALLE, S. B. D., M. FREIRE, S. C. ROE, V. DEPUY, E. SMITH and D. J. MARCELLIN-LITTLE (2010): Evaluation of functional outcome after BFX total hip replacement using a pressure sensitive walkway. *Vet. Sur.* 39, 71-77.
- LISKA, W. D. (2000): Canine total hip replacement complication: An overview, *Proceeding, Contemporary Issues in Canine Hip Replacemant San Diego*. 30.

20. LISKA, W. D. (2004): Cemented total hip replacement: experience in the USA with the Biomedtrix prosthesis. In: *ESVOT 2004 Pre-Congress - Total Hip Replacement Seminar*, (VEZZONI, A., ed.), 9th September. München, Germany. P. 15.
21. MONT, M. A., T. M. SEYLER, D. R. MARKER, G. A. MARULANDA and R. E. DELANOIS (2006): Use of metal-on-metal total hip resurfacing for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *J. Bone Joint Surg. [America]* 88 (Suppl. 3), 90-97.
22. OLMSTEAD, M. L. (1995): The canine cemented modular total hip prosthesis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 31, 109-124.
23. RORABECK, C. H., R. B. BOURNE and A. LAUPACI (1994): A doubleblind study of 250 cases comparing cemented with cementless total hip arthroplasty: Cost-effectiveness and its impact on health-related quality of life. *Clin. Orthop.* 298, 156-164.
24. SCMALZRIED, T. P. and W. H. HARRIS (1993): Hybrid total hip replacement, 6.5-year follow-up study. *J. Bone Joint Surg.* 75, 608-615.
25. SLATTER, D. (2003): Surgical Treatment of Canine Hip Dysplasia. In: *Textbook of small animal surgery* 3rd ed. (SCHULZ, K. S., L. M. DEJARDIN, eds.). Philadelphia, pp. 2029-2059.
26. TEPIC, S. and P. M. MONTAVON (2004): Concepts of cementless Zürich prosthesis. In: *Multicentric study, ESVOT Pre-Congress-THR*, (VEZZONI, A., ed.), 9. September. München, Germany. Pp. 18-20.
27. TEPIC, S. (2008): Kyon THR: results and complications, 14th ESVOT Congress, Munich, Germany. Pp. 178-179.
28. VEZZONI, A. (2008): Juvenile THR. *Proceedings of the 14th European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology*. München, Germany, pp. 199-201.
29. VEZZONI, A. (2011): Kyon cementless total hip arthroplasty. *Proceedings of the 2011 American College of Veterinary Surgeons Veterinary Symposium*, Chicago, IL, USA, pp. 227-235.

Artificial Hip Replacement in Dogs

Marko ŠESTAN, DVM; Mario KRESZINGER, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb

Total hip replacement (THR) is the surgical replacement of a painful and dysfunctional hip with an artificial prosthesis which aims to eliminate pain and restore joint function for an active way of life. Today, it is considered a routine procedure for all animals with advanced hip disease. Canine THRs are divided into cemented, cementless and hybrid endoprostheses. The future of THR in dogs is bionic hip resurfacing: a

method of removing damaged joint surfaces in which only the damaged part of the joint or joint surface is replaced. Such a procedure preserves bone for possible future operations or the potential need to replace hip prostheses. The most common THR complications are luxation, infection and the aseptic loosening of implants, whereas fractures of the femur, poor implant positioning and nerve injuries occur significantly less frequently.

PGF Veyx® forte
i Gonavet Veyx®



**Dokazano uspješna
kontrola reprodukcije**

**Skraćivanje servis perioda
Planirano osjemenjivanje
Viša stopa steonosti**

Sinonimi za

**OVSYNCH
PRESYNCH
RESYNCH**

**I ostale sinkronizacijske metode
Milion puta dokazane u svjetskoj praksi**

Višestruko opisane u vrhunskoj svjetskoj veterinarskoj literaturi kao na primjer:

Terapijski protokol cista jajnika:

DAN 0 - Gonavet Veyx/2 mL + PGF Veyx forte/2 mL. DAN 21 - Ponoviti istu terapiju;

DAN 30 - PGF Veyx forte/2 mL. DAN 33 - UO uz 1 mL Gonavet Veyx

CILJ TERAPIJE - Izbjegavanje potrebe dijagnosticiranja i razlikovanja luteinske od folikulinske ciste jer će PGF Veyx forte izazvati luteinizaciju kod luteinske ciste, dok će GnRH (Gonavet Veyx) izazvati pucanje (ovulaciju) kod folikulinske ciste.

Terapija sukladna navodu iz literature: *Lopez - Gattus i Lopez - Bajer: Reproductive performance of dairy with ovarian cysts after different GnRH and cloprostenol treatments. Theriogenology, 15, 58(7):1337-1348*

Gonavet Veyx je jedini registrirani sintetski analog GnRH u RH kojem je glicin na poziciji 6 aminokiselinskog lanca zamijenjen fenilalaninom što mu značajno povećava afinitet za receptore.



GVA

U svim boljim veledrogerijama

Osobitosti pojedinih genotipova bakterije *Paenibacillus larvae*



Ivana Tlak Gajger, Zlatko Tomljanović i Oliver Vugrek

Uvod

Američka gnjiloća medonosne pčele (AGMP) je zarazna kontagiozna bolest poklopljenog i nepoklopljenog pčelinjeg legla prouzročena sporogenom bakterijom *Paenibacillus larvae* (White, 1906., Genersch i sur., 2006.). Zbog visoke otpornosti spora uzročnika i posebnog načina suzbijanja bolesti, jedna je od najtežih pčelinjih bolesti raširena u svijetu. Uzročnik prouzroči ugibanje svake zaražene pčelinje ličinke, a zbog tvrdokornosti i infektivnosti uzročnika, uvijek propada i cijela pčelinja zajednica (Fries i Camazine, 2001.). Bolest nanosi znatne ekonomske gubitke pčelarstvu i štetu gospodarstvu izravno gubitkom pčelinjih zajednica i/ili neizravno, manjim prinosima pčelinjih proizvoda i smanjenim oprašivanjem biljaka (Delaplane i Mayer, 2000.).

Uzročnik *P. larvae* je štapičasta, gram pozitivna bakterija koja prouzroči ugibanje i razgradnju pčelinje ličinke. Zbog nastanka nepovoljnih uvjeta za umnažanje, posebice u propalom tkivu ličinke, tvori dugoživeće spore. Spore su jedini infektivni oblik kojim se bolest širi i vrlo su otporne na djelovanje vanjskih utjecaja. Jedna propala ličinka može sadržavati do dvije i pol

milijarde novonastalih spora (Hansen i Brodsgaard, 1999.). Sačuvanu vitalnost, a time i sposobnost zaražavanja spore imaju i nakon više desetljeća, iako im se preživljavanje postepeno smanjuje (Shimanuki i Knox, 1994.). *P. larvae* može zaraziti samo ličinke medonosnih pčela iz roda *Apis*, a izražena je i dobna otpornost u odraslih pčela (Wedenig i sur., 2003.). Genersch (2007.) je utvrdila četiri ERIC genotipa za koje je dokazano da se međusobno razlikuju po morfološkim, metaboličkom i biokemijskim osobitostima te virulencijom, odnosno stupnjem patogenosti za leglo medonosne pčele. Posljedično tome, između pojedinih sojeva *P. larvae* postoji vidljiva razlika brzine širenja infekcije unutar pčelinje zajednice, brzine napredovanja bolesti, broja novoprodučenih spora u pojedinoj zaraženoj ličinki, stupnja higijenskog ponašanja pčela čistačica koje uklanjaju uginule i bolesne ličinke, te vremena propadanja same pčelinje zajednice (Fünfhaus i sur., 2008.).

Sumnju na bolest može se postaviti na osnovu kliničkog nalaza pri pregledu pčelinje zajednice, a sigurnu dijagnozu postavlja se nalazom spora uzročnika u propalim ličinkama

Dr. sc. Ivana TLAK GAJGER, dr. med. vet, docentica, Veterinarski fakultet, Zagreb; Zlatko TOMLJANOVIĆ, dr. med. vet., Poljoprivredna savjetodavna služba, Sv. Nedelja; dr. sc. Oliver VUGREK, viši znanstveni suradnik, Institut Ruđer Bošković, Zagreb

određenim laboratorijskim metodama, u za to specijaliziranim laboratorijima. Klinički znaci bolesti su nepravilno raspoređeno poklopljeno i nepoklopljeno leglo, naborani i udubljeni poklopci s rupicama nepravilno izgrizanih rubova (Spivak i Gilliam, 1998., Spivak i Reuter, 2001.). Bolesna ličinka mijenja izgled i konzistenciju, boja se mijenja u smeđu, postaje ljepljiva i rastezljiva, a starenjem procesa se suši i prilijepi za dno stanice saća. Nakon dva mjeseca masa propale ličinke je potpuno osušena pa stanica izgleda prazna.

Suzbijanje bolesti je od interesa za Republiku Hrvatsku, a suzbija se sukladno propisima u važećim normativnim aktima (Anonymus, 2004., Anonymus, 2014.). AGMP-e je bolest pobrojana na B listi prenosivih zaraznih bolesti (Anonymus, 2008.) koje su od socio – ekonomskog i opće zdravstvenog značenja sukladno međunarodnim propisima o životinjskom zdravlju Međunarodnog ureda za epizootije (Office International des Epizooties – OIE). U većini zemalja primjenjuju se radikalne mjere suzbijanja, a odnose se na uništavanje izvora zaraze spaljivanjem zaraženog pčelinjeg legla i onečišćenog pčelarskog pribora. Za liječenje pčelinjih bolesti pa tako i AGMP - e u EU pravni propisi ne dopuštaju uporabu antibiotika (EU 3/01/081). Razlozi tome su mogućnost razvoja rezistencije na uporabljene kemoterapeutike (Miyagi i sur., 2000.), moguće prikrivanje bolesti, mogućnost pojave recidiva bolesti te utvrđivanje ostataka štetnih tvari (rezidua) antibiotika ili njihovih sekundarnih metabolita u pčelinjim proizvodima, a posljedično i mogućih štetnih posljedica za zdravlje ljudi (Bogdanov, 2006.).

Otkriće bolesti i uzročnika

Povijest AGMP-e vjerojatno datira još od vremena Aristotela (384. – 322. pr. Kr.) koji je u svojoj knjizi IX Povijest

životinja prvi puta opisao bolesno stanje u pčelinjoj zajednici riječima: „vidljiva je iscrpljenost pčela i neuhranjenost legla“. Iako takav opis promjena u pčelinjoj zajednici nije dovoljan za prepoznavanje AGMP-e, sa sigurnošću se može zaključiti da su pčelinje zajednice živjele vrlo slično današnjim pčelama te da su bolesti koje nazivamo bolestima legla sigurno postojale i u njegovo vrijeme (Genersch, 2008.). U 18. st. prirodoslovac Chirach (1769.) je pobliže opisao bolest pčelinjeg legla karakteriziranu neugodnim mirisom oboljele zajednice. Otprilike dva stoljeća kasnije opisana su dva različita oblika bolesti pčelinjeg legla: „blaga i izlječiva“ bolest legla te „zloćudna i neizlječiva“ bolest legla (Dzierzon, 1882.). Cheshire i Cheyne (1885.) su smatrali da je uzročnik opisanih bolesti pčelinjeg legla *Bacillus alvei*, no američki je istraživač White (1906.) izdvojio uzročnika AGMP-e i nazvao ga *Bacillus larvae*. Time su potvrđene dvije različite bolesti legla koje uzrokuju dva različita uzročnika. Kasnije je ustanovljeno i objašnjeno da se radi o europskoj gnjiloći pčelinjeg legla (EGPL) prouzročenoj bakterijom *Melissococcus plutonius* i bakterijom *B. alvei* kao čestim sekundarnim uzročnikom (Bailey, 1983.) te težoj bolesti, američkoj gnjiloći pčelinjeg legla (AGPL) prouzročenoj bakterijom *B. larvae*. Ime američka gnjiloća nije nastalo zbog toga što bolest potječe s američkog kontinenta, već iz razloga što je uzročnika bolesti prvi puta izdvojio američki istraživač White. Izvorni naziv bolesti bio je američka gnjiloća pčelinjeg legla, a kasnije je preimenovana u američka gnjiloća medonosne pčele (Anonymus, 2008.). Uz navedene, rabe se još i nazivi „opaka gnjiloća“ ili „kuga pčelinjeg legla“.

Taksonomija uzročnika tijekom povijesti

Američki istraživač White je 1906. godine prvi puta izdvojio, opisao

i klasificirao bakteriju *B. larvae*. Klasifikaciju je proveo s obzirom na morfologiju vegetativnog oblika, sposobnost sporulacije bakterije te na osnovi kontinuiranog nalaza u oboljelim i uginulim pčelinjim ličinkama. Pedesetih godina prošlog stoljeća opisana je još jedna bolest pčelinjeg legla za koju je karakteristično pretvaranje propale ličinke u „prašinastu ljuskicu“ na dnu stanice. Bakterija izdvojena iz takvog ostatka raspadnute ličinke je bila vrlo slična bakteriji *B. larvae*. Međutim, na osnovi karakterističnih razlika kliničke slike oboljelih pčelinjih zajednica, uzročnik je klasificiran kao nova vrsta i nazvan je *Bacillus pulvifaciens*. Taj oblik bolesti pojavljivao se vrlo rijetko, a u literaturi su opisana svega dva slučaja (Katznelson, 1950., Gilliam i Dunham, 1978.). Ubrzo nakon što je *B. pulvifaciens* izdvojen kao uzročnik bolesti pčelinjih ličinkana, dovedena je u pitanje njegova patogenost, jer je rijetko prouzročio vidljive štete oboljelih pčelinjih zajednica.

Uvođenjem molekularnih metoda istraživanja bakterijske taksonomije, postalo je očito da je rod *Bacillus* filogenetski vrlo raznolik, a provedenim analizama genetskih odsječaka nukleotida je dokazano postojanje najmanje pet filogenetskih linija (Ash i sur., 1991.). Zahvaljujući fenotipskim i filogenetičkim sličnostima, Ash i suradnici (1993.) su predložili da se *B. larvae* i *B. pulvifaciens* kao zasebne bakterijske vrste svrstaju u zajednički rod *Paenibacillus* (Nakamura, 1996.). Heyndrickx i sur. (1996.) ih klasificiraju u podvrste iste vrste kao *Paenibacillus larvae larvae* i *Paenibacillus larvae pulvifaciens*. Osim razlika u patogenosti, podvrsta *P. larvae pulvifaciens* se razlikuje i po različitoj morfologiji kolonija te drugačijim biokemijskim osobitostima (Heyndrickx i sur., 1996.). Međutim, novijim istraživanjima je dokazano da ne postoje razlike patološko-anatomske

slike koju prouzroči pojedina podvrsta, jer je pokusnim infekcijama sa svim ispitivanim referentnim sojevima prouzročen nastanak istih promjena na leglu. Obzirom na navedene činjenice izvršena je konačna klasifikacija unutar vrste prema kojoj obje podvrste pripadaju istoj vrsti *P. larvae*, bez razlikovanja podvrsta (Genersch i sur., 2006.).

Izolati iz prirodno inficiranih zajednica i referentni sojevi *P. larvae* identificirani su molekularnim metodama specifičnim protokolom lančane reakcije polimerazom (LRP), (engl. Polymerase Chain Reaction, PCR) (Alippi i sur., 2004.) te genotipizacijom uporabom specifične ERIC početnice (Versalović i sur., 1994.). Tipizacijom pojedinih sojeva zaključeno je da svaka od prijašnjih podvrsti obuhvaća dva različita genotipa, odnosno ukupno četiri različita ERIC genotipa *P. larvae* (Genersch i sur., 2006.).

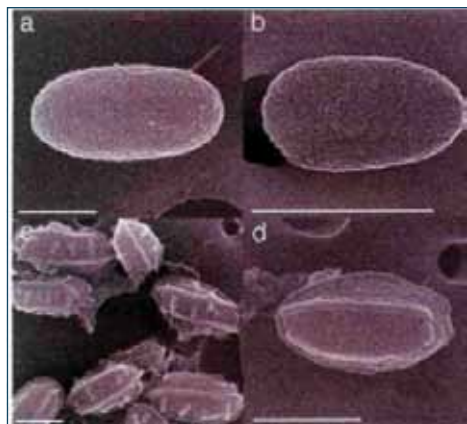
Etiologija

P. larvae je štapičasta, gram pozitivna bakterija dužine 2,5 do 5,0 μm i širine 0,5 do 0,8 μm , a pokreće se peritrihim bičevima. U uvjetima nepovoljnim za umnažanje tvori izuzetno otporne endospore veličine 1,1 do 1,9 x 0,6 do 0,7 μm (1,3 x 0,6 μm) (Hornitzky i Wilson, 1989.). *P. larvae* ima specifičnu osobinu stvaranja „divovskih bičeva“ neposredno prije početka sporulacije (Ritter, 1996.). Spore predstavljaju jedini infektivni oblik bakterije *P. larvae* i vrlo su otporne na vanjske utjecaje. Višeslojni bjelančevinasti omotač osigurava im mehaničku cjelovitost te istovremeno isključuje utjecaj velikih toksičnih molekula i dopušta prilaz malim hranidbenim molekulama do germinacijskih receptora (Dirks, 2002.). Spora se u okoliš oslobađa prijelazom iz matične bakterije iz koje nastaje. U središtu spore je kromosom obavijen dvijema membranama između kojih

je peptidoglikanski sloj. Izvana sporu zaštićuje vanjski omotač ili egzosporium. Postojanost i trajnost spora se određuje vremenom do početka klijanja, kad spora iz neaktivnog stanja ponovno prelazi u aktivni, vegetativni oblik bakterije. U omotačima spore utvrđeno je približno tridesetak različitih proteina, od kojih su za građu i izgled površine spora najodgovorniji morfogenetički proteini SpoIVA, CotE, SpoVID i SafA (Dirks, 2002.). Primjenom molekularnih metoda utvrđeno je postojanje četiri različita genotipa bakterije *P. larvae* koji odgovaraju nazivima ERIC I, ERIC II, ERIC III i ERIC IV (Genersch i sur., 2006.).

Spore bakterije *P. larvae* su ovalnog oblika. Površina spora se razlikuje ovisno o različitim genotipovima (Slika 1). Genersch i suradnici (2006.) su utvrdili da spore *P. larvae* sojeva koji pripadaju genetskoj skupini ERIC I imaju glatku i ravnu površinu, sojevi skupine ERIC II imaju vijugavu površinu („izgled površine mozga“), sojevi skupine ERIC III izbrzdani su podužnim grebenima, dok spore skupine ERIC IV uz podužne grebene imaju i manje grebene smještene ispred i između podužnih.

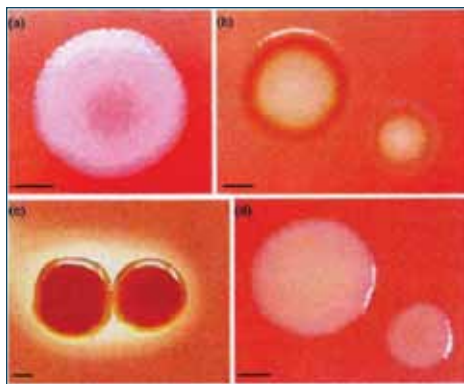
Bakterijske kolonije *P. larvae* koje pripadaju genetskim podskupinama Ab, ab, α B i α β su bijele do sive boje,



Slika 1. Spore bakterije *P. larvae*. Bar = 1 μ m (Genersch i sur., 2006.).

ponekad izgledaju prozirno i svjetlucaju (Bailey i Ball, 1991.). Nasuprot tome, bakterijski sojevi koji pripadaju genetskoj podskupini AB pokazuju poprilična odstupanja od „normalnog“ izgleda kolonija *P. larvae*. Oblika su manjih i većih krugova crveno – smeđe ili bijele boje, pri čemu se na većim kolonijama izmjenjuju koncentrični smeđi i bijeli krugovi, a vanjski rub kruga je uvijek narančasto – smeđe pigmentacije (Genersch i Otten, 2003.). Oba fenotipa bakterijskih kolonija su identificirani kao *P. larvae*, a identifikacija je potvrđena Pflugman testom, katalaza testom te specifičnom PCR reakcijom. Navedene različitosti pigmentacije bakterijskih kolonija sojeva koji pripadaju genetskoj podskupini AB je karakteristična i stalna morfološka pojava. Poznavanje morfoloških razlika između pojedinih genotipova *P. larvae* je vrlo važno, jer nepoznavanje može dovesti do lažno negativnih dijagnostičkih nalaza (Slika 2).

Metaboličke osobitosti bakterije *P. larvae* nemaju stalne vrijednosti, jer se međusobno razlikuju obzirom na pripadnost određenom izdvojenom soju bakterije, ali i među različitim kulturama istog soja (Neuendorf i sur., 2004.). Uglavnom, svi sojevi koji pripadaju genetskoj skupini Ab, α β i ab



Slika 2. Bakterijske kulture *P. larvae* stare šest dana, uzgojene na ovčjem krvnom agaru Bar = 1 μ m (Genersch i sur., 2006.).

po metaboličkoj aktivnosti su vrlo slični, ali različiti od standardnog metaboličkog profila BIOLOG, kao i metaboličke aktivnosti sojeva genetske skupine AB. Prema tome, postoji jaka povezanost između pojedinih biokemijskih tipova i pojedinih genetskih skupina *P. larvae* (Neuendorf i sur., 2004.).

Sukladno podatcima iz literature dosad je nekoliko puta utvrđena plazmidna DNK u bakteriji *P. larvae* (Benada i sur., 1988., Bodorova – Urgosikova i sur., 1992., Drobnikova i sur., 1994.). Neuendorf i sur. (2004.) utvrdili su dva nova plazmida molekularne veličine 9,4 kb i 11,0 kb (pLII 9,4 i pLII 11,0). Prisutnost svih dosad poznatih plazmida je utvrđena samo u bakterijskim sojevima koji pripadaju genetskoj skupini AB (Neuendorf i sur., 2004.), a cijepanja navedenih plazmida su izvedena restriksijskim enzimima Hind III, EcoRI i XbaI.

Epidemiološka istraživanja proučavaju pojavu, trajanje i prostorni razmještaj bolesti. Mikroorganizmi koji prozročuju bolesti najčešće su međusobno srodni, i imaju zajedničke biokemijske i genetičke osobitosti. Suptipizacija bakterija je korisna pri utvrđivanju izvora infekcije, razlučivanju virulentnih sojeva te pri monitoringu suzbijanja bolesti na nekom području. Pri prvim pokušajima uspostavljanja i razjašnjavanja epidemiološkog stanja AGMP-e rabljena je molekularna metoda cijepanja odsječaka različitih dužina (engl. restriction fragment length polymorphism, RFLP), koja rabi restriksijske endonukleaze u reakciji cijepanja odsječaka genomske DNK s ciljem otkrivanja polimorfizma, a koji uključuje promjenu slijeda DNK u jednom nukleotidu. Primjenom te metode utvrđeno je pet klonalnih tipova *B. larvae* (sada *P. larvae*) među izolatima različitog zemljopisnog podrijetla (Djordjević i sur., 1994.). Mnogi istraživači rabili su različite početnice za tipizaciju sojeva bakterije *P. larvae*.

Koristeći BOX početnice Alippi i Aguilar (1998.a) utvrdili su tri vrlo slična tipa, a potvrđeni su naknadnom primjenom REP početnica (Alippi i Aguilar, 1998.b). Analiziranjem izolata *P. larvae* sakupljenih na području Njemačke i Austrije primjenom rep – PCR-a i uporabom kombinacije početnica BOX A1R i MBO REP1 potvrđeno je postojanje najmanje četiri različita genotipa bakterije na ispitivanom području (Genersch i Otten, 2003., Lončarić i sur., 2008.a, 2008.b). Valja naglasiti da genotip ERIC II odgovara genetskoj skupini AB (utvrđen uporabom početnica BOX MBO) te da genotip ERIC I odgovara genetskoj skupini Ab ili $\alpha\beta$ (Neuendorf i sur., 2004.). Za genotipizaciju izolata *P. larvae* s područja Australije i Argentine rabljena je metoda elektroforeze DNK u promjenjivom električnom polju (engl. pulsed field gel electrophoresis, PFGE), kojom je utvrđeno 12 različitih tipova navedene bakterije (Wu i sur., 2005.). Neuendorf i sur. (2004.) su uporabom BIOLOG sustava utvrdili specifične metaboličke razlike između pojedinih genotipova. Rezultati tih istraživanja pokazuju da je genotip ERIC II (AB) metabolički aktivan, jer jedini može metabolizirati ugljikohidrate D – fruktozu i D – psikozu te jedini ne može rabiti glicerol kao izvor ugljika. ERIC II je i jedini genotip koji sadrži plazmidnu DNK (Neuendorf i sur., 2004.). Sukladno navedenim podatcima, sojeve genetske skupine AB jasno se može izdvojiti na osnovi morfologije kolonija, metaboličko–biokemijskih osobitosti te sadržaja plazmida (Tlak Gajger, 2010.) samo u toj genetskoj skupini (Forsgren i sur., 2008.). Iz bakterije *P. larvae* izdvojeno je nekoliko bakteriofaga, a osjetljivost na fage se može rabiti za tipizaciju bakterijskih sojeva. Virulentni mutirani bakteriofag PPLc u 97 do 99% slučajeva razgrađuje sve sojeve *P. larvae* (Stahly i sur., 1999.), a rezultat se očituje stvaranjem plakova zbog bakterijske lize stanica, prilikom testiranja na fagnu osjetljivost. Budući da

su sve ostale vrste iz rodova *Paenibacillus*, *Bacillus* i *Brevibacillus* rezistentne na fagnu razgradnju, test je moguće rabiti za identifikaciju *P. larvae*.

Virulencija *P. larvae* je određena osnovnim čimbenicima: vjerojatnošću inficiranja pčelinje ličinke (domaćina, nosioca) i vremenom potrebnim do uginanja zaraženog domaćina (Rauch i sur., 2009.). Vrlo visoku vjerojatnost inficiranja navedenog domaćina osigurava stvaranjem otpornih spora koje ostanu infektivne nekoliko desetljeća, proizvodnja iznimno velikog broja spora u svakoj pojedinoj zaraženoj ličinki te vrlo visoki stupanj umnažanja vegetativnih oblika *P. larvae*. Pčele čistačice u zajednici održavaju higijenu izbacivanjem promijenjenih ili uginulih ličinaka iz stanica, a ono je ograničeno na približno prvih pet dana poslije infekcije i uvijek završava izbacivanjem manje od 30% inficiranih ličinaka (Rauch i sur., 2009.).

Sojeve bakterija *P. larvae* se na osnovi suptipizacije različitim molekularnim metodama (Versalović i sur., 1994., Genersch i Otten, 2003., Genersch i sur., 2006.) može podijeliti na četiri različite genetske podskupine (AB, Ab, ab, α B) koje predstavljaju četiri različita genotipa (Tabela 1). Oni su nazivani ovisno o metodi kojom su utvrđeni ERIC I, ERIC II, ERIC III i ERIC IV, odnosno Ab, AB, ab i α B. Referentni soj DSMZ 7030 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Njemačka) odgovara dodatnoj genetskoj podskupini α B (Neuendorf i sur., 2004.).

Epidemiološka istraživanja o pojavi i prevalenciji pojedinih genotipova na nekom području su još uvijek nedostatna i vrlo rijetka. Svega je nekoliko objavljenih radova iz europskih zemalja (Genersch i sur., 2006., Peters i sur., 2006., Lončarić i sur., 2008.a) koji prikazuju učestalu pojavu ERIC I i ERIC II genotipa, dok se preostala dva genotipa vrlo rijetko javljaju u bolesnim zajednicama na spomenutom

području. U Americi najčešće je izdvajan ERIC I genotip (Antunez i sur., 2007.). Četiri dosad utvrđena genotipa *P. larvae* se međusobno razlikuju po morfologiji endospora, izgledu kolonija, metaboličkim osobitostima, rezultatima denaturirajuće diskontinuirane elektroforeze u poliakrilamidnom gelu (engl. „sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis“, SDS–PAGE), te prema rezultatima elektroforeze DNK u promjenjivom električnom polju (engl. „pulsed field gel electrophoresis“, PFGE) (Neuendorf i sur., 2004., Genersch i sur., 2006.). Nedavno su provedena istraživanja o utvrđivanju razlika između pojedinih genotipova biološkim pokusima, odnosno pokusnim infekcijama mladih ličinaka u prijemljivoj dobi, u laboratorijskim uvjetima. Dobiveni rezultati pokazali su da postoje genotipski specifične razlike u etiopatogenezi, a očituju se razlikama LT (vrijeme potrebno da patogeni uzročnik ubije 100% inficiranih ličinaka) (Genersch, 2008.).

Analiziranjem pojedinih sojeva bakterije *P. larvae* utvrđena je jasna razlika u virulenciji. Infekcije pčelinjih ličinaka genotipovima bakterije koji su prije pripadali podvrsti *P. larvae* *pulvificiens* (ERIC III, ERIC IV) ubrzo nakon infekcije uzrokuju uginanje ličinaka. Otprilike dva dana poslije infekcije ugiba 50%, a nakon sedam dana 100% inficiranih ličinaka (Genersch i sur., 2006.). Pritom, skoro sve inficirane ličinke ugibaju prije poklapanja stanica, odnosno prije početka preobrazbe. Suprotno tome, genotipovi bakterije koji su prije pripadali podvrsti *P. larvae larvae* (ERIC I, ERIC II) počinju ugibati nakon pet dana (50%), odnosno 12 dana (100%), pri čemu oko pola inficiranih pčelinjih ličinaka ugiba nakon poklapanja stanica te se raspada u bezličnu masu koja se s vremenom na dnu stanice posuši u tvrdu ljuskicu (Genersch i sur., 2006.). Od posebne kliničke važnosti je razlika između infekcija prouzročenih genotipovima ERIC I i ERIC II bakterije *P.*

Tabela 1. Osobitosti pojedinih genotipova bakterije *P. larvae* (prilagođeno prema: Ashiralieva i Genersch, 2006., Genersch, 2007., Genersch, 2008.)

OSOBITOST	BAKTERIJE <i>Paenibacillus larvae</i>			
	ERIC I	ERIC II	ERIC III	ERIC IV
BOX A1R / MBO REP1 genotipovi	Ab	AB	ab	$\alpha\beta$
Nekadašnja podjela na podvrste <i>P. larvae</i>	<i>P. larvae larvae</i>	<i>P. larvae larvae</i>	<i>P. larvae pulvifaciens</i>	<i>P. larvae pulvifaciens</i>
Boja kolonija	Sivkasta	Narančasta		
Pigmentacija	Narančasta do crvena pigmentacija	Sivkasta		
Karakteristični znaci AGMP-e	Da	Da	Da	Da
Postotak ugibanja pčelinjih ličinkana nakon poklapanja stanica s leglom	≈ 25%	≈ 10%	≈ 5%	≈ 5%
Izdvojeni u Europi	Da	Da	Da?	Da?
LT				
5 dana	4 dana	2 dana	2 dana	
LT				
12 dana	7 dana	7 dana	7 dana	
Germinacija na hranjivim podlogama nakon zagrijavanja	Stimulirajuća	Inhibirajuća	?	?
Klinička dijagnostika	Zadovoljavajuća	Slaba	Slaba	Slaba
Standardna laboratorijska dijagnostika	Zadovoljavajuća	Slaba	Slaba	Slaba

larvae, jer oni najčešće uzrokuju bolest na području Europe. U zajednicama u kojima bolest uzrokuje genotip ERIC II bakterije *P. larvae*, sve bolesne ličinke ugibaju šest do sedam dana poslije infekcije, pri čemu 10% ličinkana ugiba nakon početka preobrazbe, a 90% bolesnih ličinkana uginu prije poklapanja stanica. U tom slučaju u prirodnim uvjetima pčele čistačice vrlo brzo otkriju ličinke promijenjenih osobina pa se karakteristični znakovi bolesti razvijuju vrlo rijetko.

Bolesne ličinke inficirane sojem genotipa ERIC I pokazuju puno sporije napredovanje bolesti. Uzročniku je potrebno oko 12 dana poslije infekcije da dođe do ugibanja svih zaraženih ličinkana, a od toga 25 do 40% ličinkana

ugiba nakon poklapanja legla. Uginule pčelinje ličinke ispod poklopaca saća pčele čistačice puno teže opažaju pa se ličinka raspada u bezobličnu masu specifičnog mirisa po stolarskom ljepilu, mijenja boju u smeđu, i razvlači u tanke niti. Vegetativni oblici uzročnika zbog nepovoljnih uvjeta u masi propale ličinke prelaze u brojne endospore koje omogućuju daljnje širenje zaraze unutar pčelinje zajednice. Interpretacija navedenih rezultata istraživanja o razlikama virulencije pojedinih genotipova *P. larvae* može se sažeti na način da se genotip ERIC I vrlo brzo širi unutar pčelinje zajednice i pri tome prouzroči njeno naglo propadanje. Nasuprot tome, genotip ERIC II se

širi puno sporije, a uzročniku treba više od jedne aktivne pašne sezone da oslabi zaraženu zajednicu, te uzrokuje njeno propadanje (Genersch, 2007., Ashiralieva i sur., 2008.). U tim istim zajednicama razviju se tipični klinički znaci za AGMP-e pa se čak u potpunosti osuši propala ličinka na dnu stanice, ako je starost procesa duža od dva mjeseca.

Navedene razlike među pojedinim genotipovima utječu na stupanj razvoja bolesti, proizvodnju i nagomilavanje spora te širenje uzročnika unutar pčelinje zajednice, kao i između pojedinih zajednica istog i/ili različitih pčelinjaka. Ukoliko više ličnika uginu nakon poklapanja stanica, stvoriti će se veći broj spora pa će se uzročnik i bolest brže širiti. Iz navedenih razloga uputno je u okviru dijagnostike provoditi genotipizaciju izoliranih sojeva *P. larvae* (Genersch, 2008.). Kućne pčele čistačice izbacuju promijenjene i uginule ličinke prije preobrazbe, odnosno poklapanja stanica s leglom te time remete stvaranje spora unutar zajednice i usporavaju širenje i razvoj bolesti. Niska proizvodnja spora u zajednici rezultira sporijim širenjem uzročnika, ali i sporijim propadanjem zaražene zajednice. Vrijeme do ugibanja inficirane ličinke i virulencija na razini ličinke je obrnuto proporcionalna s vremenom do propadanja pčelinje zajednice i virulencijom na razini zajednice (Rauch i sur., 2009.). Sojevi *P. larvae* koji brže dovode do ugibanja pojedine zaražene ličinke su manje virulentni za cijelu zajednicu.

Forsgren i sur. (2008.) su utvrdili je da između pojedinih genotipova *P. larvae* postoji razlika obzirom na stupanj klijanja spora u hranjivim podlogama, osjetljivosti spora na zagrijavanje te postojanost pri pohrani. Nasađivanje na/u hranjivu podlogu intenzivno stimulira na klijanje i rast sojeve genetske skupine ERIC IV, a pripadnike genetske skupine ERIC I stimulira

jače od sojeva genotipa ERIC III, dok nema značajne razlike u stimulaciji klijanja između skupina ERIC I i ERIC II te između skupina ERIC II i ERIC III. Klijanje spora *P. larvae* genetske skupine ERIC I stimulira zagrijavanje na 90 do 95 °C, dok sojevi iz skupine ERIC II gube germinacijsku sposobnost pri višim temperaturama. Time je smanjena vjerojatnost utvrđivanja sojeva genotipa ERIC II iz dostavljenih terenskih uzoraka za ranu dijagnostiku AGMP-e, jer se zagrijavanje rabi kao dio protokola pri nasađivanju dijagnostičkog materijala kako bi se isključio rast vegetativnih oblika sekundarnih mikroorganizama, posebice u uzorcima odraslih pčela. Iz navedenog razloga nužno je prilagoditi standardizirane laboratorijske protokole za utvrđivanje prisutnosti *P. larvae* svih genotipova, uz istodobno izbjegavanje onečišćenja i prekomjernog rasta sekundarnih mikroorganizama. Vrijeme čuvanja sojeva *P. larvae* izdvojenih iz prirodno inficiranih zajednica ima genetsko specifični učinak na klijanje spora. Sojevi koji pripadaju genetskim skupinama ERIC I, ERIC III i ERIC IV ne pokazuju smanjenje germinacijske sposobnosti ni nakon 18 mjeseci skladištenja, dok se sojevima genotipa ERIC II germinacijska sposobnost počinje smanjivati već nakon šest mjeseci čuvanja. Preživljavanje i germinacija spora su čimbenici koji snažno utječu na razlike virulencije među sojevima i genotipovima *P. larvae*. Izolati izdvojeni iz prirodno inficiranih zajednica koji pripadaju genetskoj skupini ERIC II mogu biti manje virulentni za zajednicu, jer preživljavanje spora s vremenom se smanjuje za razliku od sojeva genotipa ERIC I. Niža osjetljivost na zagrijavanje također može utjecati na brzinu širenja soja ERIC II unutar zajednice, u usporedbi s drugim sojevima istog uzročnika.

Sažetak

Američka gnjiloća medonosne pčele je bolest pčelinjeg legla prouzročena sporogenom bakterijom *Paenibacillus larvae*. Zbog visoke otpornosti spora uzročnika te posebnog načina suzbijanja bolesti jedna je od najtežih pčelinjih bolesti raširena u svijetu. *P. larvae* uzrokuje ugibanje svake zaražene pčelinje ličinke, a zbog tvrdokornosti i infektivnosti uzročnika uvijek propada cijela pčelinja zajednica. Dosad su utvrđena četiri ERIC genotipa za koje je dokazano da se međusobno razlikuju po morfološkim, metaboličkom i biokemijskim osobitostima te virulencijom, odnosno stupnjem patogenosti za leglo medonosne pčele. Posljedično tome, između pojedinih sojeva *P. larvae* postoji vidljiva razlika brzine širenja infekcije unutar pčelinje zajednice, brzine napredovanja bolesti, broja novoprodučenih spora u pojedinoj zaraženoj ličinki, stupnja higijenskog ponašanja pčela čistačica koje uklanjaju uginule i bolesne ličinke, odnosno vremena propadanja zaražene pčelinje zajednice.

Literatura

- ALIPPI, A. M., A. C. LOPEZ and O. M. AGUILAR (2004): A PCR – based method that permits specific detection of *Paenibacillus larvae* subspecies *P. larvae*, the cause of american foulbrood of honey bees, at the subspecies level. *Lett. Appl. Microbiol.* 39, 25–33.
- ALIPPI, A. M. and O. M. AGUILAR (1998a): Characterization of isolates of *Paenibacillus larvae* subspecies *P. larvae* from diverse geographical origin by the polymerase chain reaction and BOX primers. *J. Invertebr. Pathol.* 72, 21–27.
- ALIPPI, A. M. and O. M. AGUILAR (1998b): Unique DNA fingerprint patterns of *Paenibacillus larvae* subspecies *P. larvae* strains. *J. Apicul. Res.* 37, 4, 273–280.
- Anon. (2004): Pravilnik o mjerama suzbijanja i iskorjenjivanja pčelinjih bolesti (N. N. 114/04).
- Anon. (2008): OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 6 edition. Bee Diseases in list B. Section 2.9.
- Anon. (2014): Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2014. godini (N. N. 160/13).
- ANTUNEZ, K., C. PICCINI, S. CASTRO – SOWINSKI, A. S. ROSADO, L. SELDIN and P. ZUNINO (2007): Phenotypic and genotypic characterization of *Paenibacillus larvae* isolates. *Vet. Microbiol.* 124, 178–183.
- ASH, C., F. G. PROEST and M. D. COLLINS (1993): Molecular identification of r RNA group 3 bacilli using a PCR probe test. *Antonie van Leeuwenhoek* 64, 253–260.
- ASH, C., J. A. E. FARROW, S. WALLBANKS and M. D. COLLINS (1991): Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small subunit – ribosomal RNA sequences. *Lett. Appl. Microbiol.* 13, 202–206.
- ASHIRALIEVA, A., A. FÜNFAUS, R. BORRIS and E. GENERSCH (2008): Identification of entomocidal toxins in *Paenibacillus larvae*. Report of the 55th seminar in Hohen Neuendorf, 11–13 March, 2008. *Apidologie* 39, 599.
- ASHIRALIEVA, A. and E. GENERSCH (2006): Reclassification, genotypes and virulence of *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees – a review. *Apidologie* 37, 411–420.
- BAILEY, L. (1983): *Melissococcus pluton*, the cause of European foulbrood of honeybees (*Apis* spp.). *J. Appl. Bacteriol.* 55, 65–69.
- BAILEY, L. and B. V. BALL (1991): Honey bee pathology. 2nd edition. Academic Press Limited. London. UK. P. 193.
- BENADA, O., V. DROBNIKOVA, L. KALACHOVA and J. LUDVIK (1988): Plasmid DNA in *Bacillus larvae*. *J. Apicul. Res.* 27, 35–39.
- BODOROVA–URGOSIKOVA, J., O. BENADA and P. TICHY (1992): Large scale isolation and partial characterization of plasmid DNA from *B. larvae*. *Folia Microbiol.* 37, 2, 82–86.
- BOGDANOV, S. (2006): Contaminants of bee products. *Apidologie* 37, 1–8.
- CHESHIRE, F. R. and W. W. CHEYNE (1885): The pathogenic history and history under cultivation of a new *Bacillus* (*B. alvei*) the cause of disease of bee hives known as foulbrood. *J. R. Microsc. Soc.* V, 581.
- CHIRACH, G. A. (1769): *Historie des Abeilles*. Chap. 3, 56.
- DELAPLANE, K. S. and D. F. MAYER (2000): Crop pollination by bees. CABI Publishing, New York. USA. P. 352.
- DIRKS, A. (2002): Maximum shields: the assembly and function of the bacterial spore coat. *TRENDS Microbiol.* 10, 251–253.
- DJORDJEVIC, S., M. HO-SHON and M. HORNITZKY (1994): DNA restriction endonuclease profiles and typing of geographically diverse isolates of *Bacillus larvae*. *J. Apicul. Res.* 33, 95–103.
- DROBNIKOVA, V., V. RICHTER, J. HÄUSLER and I. PYTELOVA (1994): Characterization of *Bacillus larvae* and related bacilli by chromatography of cell fatty acids. *J. Apicul. Res.* 33, 69–74.
- DZIERZON, J. (1882): *Rational bee – keeping*. Houlston and sons. London.
- FORSGREN, E., J. STEVANOVIC and I. FRIES (2008): Variability in germination and in temperature and storage resistance among *Paenibacillus larvae* genotypes. *Vet. Microbiol.* 129, 342–349.
- FRIES, I. and S. CAMAZINE (2001): Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. *Apidologie* 32, 199–214.

26. FÜNFFHAUS, A., A. ASHIRALIEVA and E. GENERSCH (2008): Molecular differences between *Paenibacillus* larvae ERIC III/IV and ERIC I. Report of the 55th seminar in Hohen Neuendorf, 11–13 March, 2008. *Apidologie* 39, 601.
27. GENERSCH, E. (2007): *Paenibacillus* larvae and American Foulbrood in honeybees. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 120, 1–2, 26–33.
28. GENERSCH, E. (2008): *Paenibacillus* larvae and american foulbrood – long since known and still surprising. *J. Verbr. Lebensm.* 3, 429–434.
29. GENERSCH, E. and C. OTTEN (2003): The use of repetitive element PCR fingerprinting (rep – PCR) for genetic subtyping of German field isolates of *Paenibacillus* larvae subspecies *larvae*. *Apidologie* 34, 195–206.
30. GENERSCH, E., E. FORSGREN, J. PENTIKÄINEN, A. ASHIRALIEVA, S. RAUCH, J. KILWINSKI and I. FRIES (2006): Reclassification of *Paenibacillus* larvae subsp. *pulvificiens* and *Paenibacillus* larvae subspecies *larvae* as *Paenibacillus* larvae without subspecies differentiation. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* 56, 3, 501–511.
31. GILLIAM, M. and D. R. DUNHAM (1978): Recent isolations of *Bacillus pulvificiens* from powdery scales of honeybee, *Apis mellifera*, larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 32, 222–223.
32. HANSEN, H. and C. BRODSGAARD (1999): American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World* 80, 5–23.
33. HEYNDRICKX, M., K. VANDEMEULEBROECKE, P. SCHELDEMAN, K. KERSTERS, P. DE VOS, N. A. LOGAN, A. M. AZIZ, N. ALI and R. C. W. BERKELEY (1996): A polyphasic reassessment of the genus *Paenibacillus*, reclassification of *Bacillus lautus* (Nakamura 1984) as *Paenibacillus lautus* comb. nov. and of *Bacillus peoriae* (Montefusco et al. 1993) as *Paenibacillus peoriae* comb. nov., and emended descriptions of *P. lautus* and of *P. peoriae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 988–1003.
34. HORNITZKY, M. A. Z. and S. C. WILSON (1989): A system for the diagnosis of the major bacterial brood diseases of honey bees. *J. Apicul. Res.* 28, 191–195.
35. KATZNELSON, H. (1950): *Bacillus pulvificiens*, an organism associated with powdery scale of honeybee larvae. *J. Bacteriol.* 59, 153–155.
36. LONČARIĆ, I., I. DERAKHSHIFAR, H. KÖGELBERGER, R. MOOSBECKHOFER, J. OBERLENCHNER and M. RIEDEL (2008a): First results of genotyping of *Paenibacillus* larvae from the Austrian Federal Province of Upper Austria. Report of the 55th seminar in Hohen Neuendorf, 11–13 March, 2008. *Apidologie* 39, 600.
37. LONČARIĆ, I., I. DERAKHSHIFAR, J. T. OBERLERCHNER, H. KÖGELBERGER and R. MOOSBECKHOFER (2008b): Genetic diversity among isolates of *Paenibacillus* larvae from Austria. *J. Invertebr. Pathol.* 100, 44–46.
38. MIYAGI, T., C. Y. S. PENG, R. Y. CHUANG, E. C. MUSSEN, M. S. SPIVAK and R.H. DOI (2000): Verification of oxytetracycline – resistant american foulbrood pathogen *Paenibacillus* larvae in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* 75, 95–96.
39. NAKAMURA, L. K. (1996): *Paenibacillus apiarius* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 688–693.
40. NEUENDORF, S., K. HEDTKE, G. TANGEN and E. GENERSCH (2004): Biochemical characterization of different genotypes of *Paenibacillus* larvae subspecies *larvae*, a honey bee bacterial pathogen. *Microbiol.* 150, 2381–2390.
41. PETERS, M., J. KILWINSKI, A. BERINGHOFF, D. RECKLING and E. GENERSCH (2006): American foulbrood of the honey bee: Occurrence and distribution of different genotypes of *Paenibacillus* larvae in the administrative district of Arnsberg (North Rhine – Westphalia). *J. Vet. Med. B* 53, 100–104.
42. RAUCH, S., A. ASHIRALIEVA, K. HEDTKE and E. GENERSCH (2009): Negative correlation between individual – insect – level virulence and colony – level virulence of *Paenibacillus* larvae, the etiological agent of american foulbrood of honeybees. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 3344–3347.
43. RITTER, W. (1996): Diagnostik und Bekämpfung der Bienenkrankheiten. Stuttgart. Fischer.
44. SHIMANUKI, H. and D. A. KNOX (1994): Susceptibility of *Bacillus* larvae to Terramycin. *Am. Bee J.* 134, 125–126.
45. SPIVAK, M. and G. S. REUTER (2001): Resistance to american foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie* 32, 555–565.
46. SPIVAK, M. and M. GILLIAM (1998): Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa. Part II. Studies on hygienic behaviour since the Rothenbuhler era. *Bee World* 79, 169–186.
47. STAHLY, D. P., A. M. ALIPPI, N. BAKHIET, C. F. CAMPANA, C. C. NOVAK, R. COX (1999): PPL1c, a virulent mutant bacteriophage useful for identification of *Paenibacillus* larvae subspecies larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 74, 295–296.
48. TLAK GAJGER, I. (2010): Uspostavljanje sustava transpozona mutagenaze za bakteriju *Paenibacillus* larvae. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
49. VERSALOVIĆ, J., M. SCHNEIDER, F. J. BRUIJN and J. R. LUPSKI (1994): Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence – based polymerase chain reaction. *Methods Mol. Cell. Biol.* 5, 25–40.
50. WEDENIG, M., U. RIESSBERGER – GALLE and K. CRAILSHEIM (2003): A substance in honey bee larvae inhibits the growth of *Paenibacillus* larvae larvae. *Apidologie* 34, 43–51.
51. WHITE, G. F. (1906): The bacteria of the apiary with special reference to bee disease. USDA, Bur. Entomol., Technical Series 14, 1–50.
52. WU, X. Y., J. CHIN, A. GHALAYINI and M. HORNITZKY (2005): Pulsed – field gel electrophoresis typing and oxytetracycline sensitivity of *Paenibacillus* larvae subspecies *larvae* isolates of Australian origin and those recovered from honey imported from Argentina. *J. Apicul. Res.* 44, 87–92.

Characteristics of Different Genotypes of Bacteria *Paenibacillus larvae*

Ivana TLAK GAJGER, PhD, DVM, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Zlatko TOMLJANOVIĆ, DVM, Agriculture Advisor Service, Sveta Nedelja; Oliver VUGREK, PhD, Senior Expert Associate, Institute Ruđer Bošković, Zagreb

American foulbrood is a fatal disease of honeybee broods, caused by the spore forming bacteria *Paenibacillus larvae*. Due to high resistance of the causative agent spores and the particular means of disease eradication, it has become one of the most serious bee diseases affecting apiculture worldwide. The disease is lethal to infected honeybee larvae, and due to the stubborn infectivity of the causative agent, it is always devastating for colonies. To date, four ERIC genotypes have been determined.

They vary in terms of their morphology, metabolic and biochemical characteristics, and by the virology or pathogenicity for the honeybee brood. Consequently, there is a visual difference between the genotypes in the spread of infection into honeybee colony, speed of increasing infection, number of new spores in infected larvae, hygienic behaviour of cleaning house bees, and period for the decline of infected honeybee colonies.



Hrvatski veterinarski institut

Hrvatski veterinarski institut

10000 Zagreb, Savska cesta 143

tel.: (01) 6123 -600

www.veinst.hr



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

Laboratorij za mikrobiologiju hrane bilježi početak rada od samog osnutka Hrvatskog veterinarskog instituta 1933. godine. Laboratorij za svoju temeljnu djelatnost ima provjeru usklađenosti mikrobiološke ispravnosti hrane životinjskog podrijetla sa zakonskim propisima, te nadzor nad uzročnicima bolesti koje se prenose hranom u svrhu zaštite zdravlja ljudi.

S ciljem usklađivanja rada s međunarodnim zahtjevima, uvođenje standardiziranih metoda ispitivanja uspješno je dovršen dobivanjem akreditacije prema normi 17025 s dvadeset i dvije ISO i AOAC akreditirane ispitne metode.

Laboratorij sudjeluje u projektima s tematikom zdravstvene ispravnosti hrane, analize rizika; suradnjom s institucijama kao što su Ministarstvo poljoprivrede, Hrvatska agencija za hranu, Hrvatski zavod za norme, Hrvatska akreditacijska agencija; te provodi edukaciju subjekata u poslovanju s hranom.

Laboratorij za određivanje rezidua je zadužen za kontrolu ostataka zabranjenih tvari, veterinarskih lijekova i kontaminanata u hrani životinjskog podrijetla te hrani za životinje. U svome radu primijenjuje orijentacijske analize te potvrdne metode atomske apsorpcijske spektrometrije, tekućinske i plinske kromatografije s masenom detekcijom. U 2010. g. Laboratorij je proglašen Nacionalnim referencijalnim laboratorijem (NRL) za rezidue.

Laboratorij provodi ukupno 51 metodu te određuje: zabranjene supstance (kloramfenikol, metabolite nitrofurana, dapson); veterinarske lijekove, kokcidostatike, kontaminante (kemijske elemente: arsen, olovo, kadmij, živa, bakar, selen i cink), organoklorirane i organofosforne pesticide, piretroide i karbamate, bezno(a)piren te aflatoksin M1, boje (malahitno i leukomalahitno zelenilo) te vrstu mesa.

Sudjeluje u tri monitoringa ugovorom definirana sa Ministarstvom poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Državni program monitoringa rezidua, Monitoring graničnih prijelaza i Monitoring hrane za životinje.

Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje od 1976. godine provodi analize uključene u probleme životinja u vezi s nepravilnom hranidbom, temeljem kojih se radi procjena podobnosti predmetne hrane za životinje. Od 2008. godine analize se provode standardiziranim metodama akreditiranim prema normi 17025. Bakteriološka pretraga hrane za životinje koristi se u zaštiti životinja od patogenih bakterija koje se mogu naći u krmivima i krmnim smjesama ili se šire putem krmiva i krmnih smjesa, te od saprofitskih bakterija i plijesni koje u povećanom broju mogu naškoditi zdravlju životinja.

Pretraga na prisutnost tkiva toplokrvnih životinja za dokazivanje prisutnosti animalnih proteina podrijetlom od preživača uporabom mikroskopske pretrage, te pretrage za detekciju mesno-koštanog brašna preživača, proizvoda koji potječu od preživača, te govede DNA u krmivima i krmnim smjesama.

Hematološke i biokemijske pretrage koje se obavljaju u svrhu određivanja metaboličkog statusa životinja.

Laboratorij za analitičku kemiju

Djelatnost Laboratorija za analitičku kemiju zasniva se na provedbi širokog spektra kemijskih analiza primjenom brojnih akreditiranih standardnih i internih analitičkih metoda.

Analitika hrane za životinje provodi se određivanjem osnovnih kemijskih parametara te minerala i soli u različitim sirovinama, krmnim smjesama i ostaloj hrani za životinje. Pretrage uključuju i određivanja mikotoksina kao toksičnih sastojaka.

Analitika se namirnica životinjskog podrijetla sastoji u ispitivanju pokazatelja kakvoće kao i zdravstvene ispravnosti kroz određivanje količine različitih aditiva u gotovim proizvodima.

U Laboratoriju se provode i ispitivanja tvari s anaboličkim učinkom (stilbeni, prirodni i sintetski steroidi, beta-adrenergički agonisti i ostalo) u različitom biološkom materijalu te interpretacija utvrđenih razina analita.

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

U Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka obavlja se provjera kvalitete domaćih i uvoznih VMP-a i znanstveno-stručna procjena dokumentacije o VMP-ima u svrhu dobivanja i produljenja odobrenja i promjena za stavljanje VMP-a u promet.

Laboratorij je 2009.godine rekonstruiran, opremljen je suvremenom opremom za analize lijekova. Provjera kvalitete provodi se od 2007. akreditiranim se metodama visokodjelatne tekućinske kromatografije (HPLC), spektrofotometrijskom metodom i plinskom kromatografijom (GC).

Od 2006. godine stručnjaci Laboratorija aktivno surađuju sa znanstveno-stručnim odborima Europske agencije za lijekove (EMA), Europskim direktoratom za kvalitetu lijekova (EDQM) i Službenim laboratorijem za kontrolu medicinskih proizvoda (OMCL) i Hrvatskom agencijom za lijekove i medicinske proizvode (HALMED).

Mikotoksikoza zearalenonom u svinja - prikaz slučaja



Ž. Mihaljević, Jelka Pleadin, M. Mitak, Tina Barbir, Ana Vulić i B. Šoštarčić

Uvod

Zearalenon (ZEA) je ne steroidni estrogeni mikotoksin, prirodni metabolit plijesni *Fusarium* (najviše *F. graminearum* i *F. culmorum*), koji kontaminira žitarice te ovisno o koncentraciji može izazvati trovanja životinja i ljudi (Zinedine i sur., 2007.). Rast plijesni na žitaricama i kontaminacija žitarica sa ZEA može nastati prije žetve, još dok je biljka na polju, ili tijekom njihova skladištenja. Visoke koncentracije mikotoksina mogu biti prisutne u žitaricama i prije nego li one dođu u skladišta (silose) na farmi. Obrada žitarica, osobito ako obradom poraste temperatura i vlažnost, može pogodovati rastu plijesni. Plijesan može rasti na ostatcima žitarica u silosima, mješalicama i hranilicama na farmi. Značajno je da za rast plijesni *Fusarium* pogoduju temperaturne oscilacije između 15 i 30 °C, ali je nužna i visoka vlažnost, posebice dugotrajna rosa i magla koja se javlja kroz čitavu godinu (Milano i Lopez, 1991.). U Hrvatskoj najčešće raste na kukuruзу i pšenici, a broj pozitivnih uzoraka krmiva kreće se od 10 do 100% (Pepeljnjak i sur., 2008.). U vlažnim godinama broj kontaminiranih uzoraka kukuruza i smjesa je vrlo velik s visokim koncentracijama ZEA (Mitak i sur., 2005., Pleadin i sur., 2012.a).

Nakon ingestije 80-85% ZEA se brzo resorbira iz gastrointestinalnog sustava i već se 30 minuta nakon ingestije može dokazati u krvi vezan za globuline kao i spolni hormoni. Kemijski je ZEA lakton rezorcilne kiseline 6-(10-hidroksi-6-okso-trans-1-undecinil) i strukturom je vrlo sličan steroidnim hormonima te se veže za estrogene receptore kao agonist. Metabolizira se u organizmu na dva osnovna načina, redukcijom kataliziranom enzimom 3 α - i 3 β -hidroksisteroid dehidrogenazom (HSD) i vezanjem za glukuronskom kiselinom uz enzim uridin difosfat glukuronil transferazu (UDPGT), a iz tijela se izlučuje urinom i fecesom. Na osnovu razlika u metaboliziranju ZEA razlikuje se i osjetljivost prema kontaminiranoj hrani u domaćih životinja. Redukcijom se u jetri formiraju dva bioaktivna stereo isometrična metabolita α -zearalenon i β -zearalenon, čiji odnos se značajno razlikuje među vrstama, od kojih je α -zearalenon značajno većeg djelovanja od β -zearalenona. U svinja se ZEA predominantno reducira u α -zearalenon, a u goveda u β -zearalenon. Biokonverzija u α -zearalenon i enterohepatična recirkulacija ZEA su mehanizmi koji čine svinju vrlo osjetljivom na hranu

Dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, docentica; dr. sc. Mario MITAK, dr. med. vet., znanstveni savjetnik; Tina BARBIR, mag. ing. molekularne biotehnologije; dr. sc. Ana VULIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena suradnica; dr. sc. Branko ŠOŠTARIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb

kontaminiranu ovim mikotoksinom (Danicke i sur., 2005., Luongo i sur., 2008., Malekinejad i sur., 2006., Tsakmakidis i sur., 2008.). U ovaca, koza, goveda i konja α -zearalenon se dodatno reducira u α -zearalanol (zearanol) i β -zearalanol (taleranol) (Malekinejad i sur., 2005.).

Najznačajniji se toksični efekt ZEA pripisuje njegovoj estrogenoj aktivnosti (Shier i sur., 2001.). Estrogeni učinci se očituju kroz inhibiciju stvaranja folikulo-stimulirajućeg hormona (FSH), preko stimulacije estrogenih receptora u hipotalamusu i hipofizi uslijed čega ne dolazi do ovulacije, izaziva retenciju žutog tijela i lažnu trudnoću, a u muških životinja smanjuje se produkcija testosterona što dovodi do smanjenog libida. Danas su osim estrogenog toksičnog učinka poznata još dva osnovna toksična učinka zearalenona. Na staničnoj razini zearalenon izaziva porast u produkciji energije kroz promociju unosa masnih kiselina zajedno s porastom oksidativnog stresa te inhibicijom

produkcije steroida i esterifikacijom što ima za posljedicu smanjenu sekreciju spolnih hormona (Li i sur., 2014.).

Klinička je slika ovisna o dozi ZEA i stadiju spolnog ciklusa ili graviditeta životinje. U mladim nazimica, koje su najosjetljivije, već male doze, 1,5 do 2 mg/kg (ppm), prouzroče hiperemiju i otečenje stidnice, povećanje maternice i atrofiju jajnika, a ponekad i prolapsus rodnice (Edwards i sur., 1987.a). U krmača su potrebne veće doze (64 ppm) koji prouzroče slične kliničke znake. Nešto veće doze mogu prouzročiti anestrus u krmače, a u nazimica rani pubertet već sa 70 dana starosti. U krmača je zabilježena nimfomanija, pseudogravidnost, atrofija jajnika i degenerativne promjene na endometriju. U nazimica i krmača ZEA prouzroči degenerativne promjene i smrt jajnih stanica u Grafovom folikulu te iako dolazi do estrusa nema ovulacije. Tijekom gravidnosti ZEA (u dozi od 200 μ g/kg tj. tež.) prouzroči smanjenje preživljavanja zametka i smanjene

Tabela 1. Utjecaj ZEA na reprodukciju

Svinje	Doza zearalenona u hrani (ppm)	Klinički znaci	Referenca
Prasad, mlade nazimice	1-5	Otečenje stidnice, neke pokazuju znakove estrusa	(Edwards i sur., 1987.a)
Nazimice	5-10	Produženi interval između ciklusa	(Edwards i sur., 1987.b, Zwierzchowski i sur., 2006.)
Gravidne krmače	25	Mali broj živooprasene prasadi, pseudogravidnost	(Edwards i sur., 1987.b; Gutzwiller i sur., 2009., Kanora, 2009.)
Krmače u laktaciji	> 50	Promijenjen estrusni ciklus, atrofija jajnika	(Edwards i sur., 1987.a)
Nerasti	5-10	Smanjena pokretljivost spermija	(Tsakmakidis i sur., 2008., Gutzwiller i sur., 2009.)
Nerasti	> 20	Smanjeni libido i veličina testisa	(Gutzwiller i sur., 2009.)
Goveda	Doza zearalenona u hrani (ppm)	Klinički znaci	Referenca
Junice	5	Edem vimena, vaginitis, smanjena koncepcija	(Zinedine i sur., 2007., Kanora, 2009.)
Krave	10	Smanjena koncepcija, pobačaj	(Zinedine i sur., 2007., Kanora, 2009.)
Krave	20	Pobačaj	(Zinedine i sur., 2007., Kanora, 2009.)

porođajne težine prasadi (Danicke i sur., 2005.). Transplacentarni prijenos ZEA prouzroči različite abnormalnosti u razvoju genitalija. U nerasta visoke doze (više od uobičajenih u kontaminiranoj hrani) izazivaju smanjenje težine testisa i plodnosti te feminizaciju i smanjeni libido (Gutzwiller i sur., 2009.). U goveda visoke doze ZEA mogu prouzročiti neplodnost i hiperestrogenizam, a u ovaca i koza vrlo visoke doze (12 ppm u hrani) uzrokuju smanjenu oplodnju i postotak ovulacije (Kanora, 2009.). U ljudi je utvrđena povezanost između preuranjenog puberteta i povećane incidencije endometralnog adenokarcinoma sa ZEA koncentracijom u serumu i tkivima (Koraichi i sur., 2012., Escrivá i sur., 2015.).

Prikaz slučaja

U namjenskom objektu bilo je smješteno oko 150 tovnih svinja različitih kategorija. Životinje su razvrstane prema dobi i smještene u boksove od 20 životinja. Hranjenje se odvijalo preko valova okrenutih prema hranidbenom prolazu, a napajanje putem automatskih pojilica.

Kliničkim pregledom životinja na farmi utvrđeni su klinički znaci estrogenizma, crvenilo i otečene stidnice, nemir i nimfomanija kod svih ženskih životinja (slika 1 i slika 2). Vlasnik je



Slika 1. Nazimica sa zacrvenjenom i otečenom stidnicom.

primijetio da životinje slabije uzimaju krmnu smjesu sastavljenu na farmi u kojoj je bio kukuruz vlastite proizvodnje. Kukuruz je ubran u optimalnom roku i skladišten u drvene koševе standardne izvedbe (slika 3).

Pregledom skladištenog kukuruza u klipu primjećuje se vrlo visoka pljesnivost (plijesni bijelo sive boje) (Slika 4). Gotovo trećina svih klipova bila je zahvaćena plijesnima, a na gotovo svim klipovima vide se štura, nerazvijena zrna, ili nedostaje dio zrnja što pogoduje razvoju plijesni.

Vlasnik je dolaskom toplog vremena koje je uslijedilo nakon dugotrajnog kišnog razdoblja (tijekom ožujka 2014.) primijetio "kvarenje skladištenog kukuruza u klipu" te su za pripremu krmne smjese izdvajani klipovi zahvaćeni plijesnima i nisu korišteni u hranidbi, a nakon pojave estrogenizma u krmnu smjesu dodan je fiksator mikotoksina (TOXFİN™ DRY, Kemin) u količinama preporučenim od proizvođača.

Uzorci kukuruza u zrnju namijenjenog za izradu krmne smjese uzeti su s prikolice prilikom transporta u mješaonicu stočne hrane i pretraženi na zearalenon, aflatoksin B₁ i okratoksin A.

Laboratorijskom je pretragom utvrđeno da je uzorak kontaminiran sa ZEA u količini od 1117 µg/kg, što je i prouzročilo kliničku sliku estrogenizma,



Slika 2. Nazimice s promjenama na stidnici



Slika 3. Način skladištenja kukuruza na farmi



Slika 4. Izgled kukuruza u klipu zahvaćenih plijesnima

dok prisutnost aflatoksina B₁ i okratoksina A nije utvrđena.

Prema preporuci, prethodno korišteni kukuruz je za izradu krmne smjese odmah zamijenjen s nekontaminiranim, a izmijenjenom hranidbom simptomi estrogenizma su se povukli nakon 7-10 dana. Dio životinja je nakon sedam dana dosegnuo potrebnu tjelesnu težinu i priveden je klanju, pri kojem su izuzeti uzorci urina i mišićnog tkiva za analitičko određivanje koncentracije, odnosno količine ovog mikotoksina.

Laboratorijskom pretragom utvrđena je prosječna koncentracija ZEA u urinu od $205,83 \pm 20,57 \mu\text{g/L}$, a u mišićnom tkivu buta količina od $0,62 \pm 0,14 \mu\text{g/kg}$.

Rasprava

Otrovanje mikotoksinima, posebice ZEA, dobro je poznato i često opisivano u svinja. Prema Svjetskoj meteorološkoj organizaciji (WMO), 2014. godina najtoplija je godina od početka meteoroloških motrenja i predstavlja nastavak trenda zatopljenja, a u Hrvatskoj smo bili svjedoci vrlo vlažnoj i kišnoj godini. Metabolizam gljivica, a time i produkcija mikotoksina, pod značajnim su utjecajem vanjskih čimbenika od kojih su najznačajniji temperatura i vlažnost. Za rast gljivice vrste *Fusarium* (*F. graminearum*) pogoduju temperaturne oscilacije između 15 i 30 °C pri čemu se povećava sinteza ZEA

(Milano i Lopez, 1991.). Ovako vlažne godine i prije su prouzročile značajan porast u zabilježenim kontaminacijama mikotoksina u kukuruzu i stočnoj hrani (Pepeljnjak i sur., 2008., Pleadin i sur., 2012.b, Pleadin i sur., 2012.c, Pleadin i sur., 2013.).

U opisanom slučaju estrogenizma utvrđena količina ZEA u zrnju kukuruza na farmi je bila značajno veća od prosječne količine od $153 \mu\text{g/kg}$ utvrđene u Republici Hrvatskoj tijekom 2011. godine (Pleadin i sur., 2012.d). Izmijenjenom hranidbom utvrđeno je da, sedam dana nakon povlačenja iz uporabe kontaminiranog kukuruza, klinički znaci estrogenizma u nazimica jenjavaju, dok su se u urinu još uvijek mogle detektirati značajne količine ZEA. Prijašnjim istraživanjem u urinu svinja izloženih ZEA putem prirodno kontaminiranih krmnih smjesa utvrđena je srednja vrijednost ZEA od $40,45 \pm 68,25 \text{ ng/mL}$ dok je najveća utvrđena vrijednost iznosila $241,1 \text{ ng/mL}$ (Vulic i sur., 2012.). U ovom prikazanom slučaju koncentracije ZEA bile su znatno veće nego li u navedenom istraživanju provedenom na urinu svinja s različitih područja Hrvatske.

Usljed brze biotransformacije i izlučivanja ZEA meso farmskih životinja ne predstavlja značajan izvor kontaminacije za ljude (Creppy, 2002.). Iz našeg prikaza slučaja vidljivo je da su utvrđene količine ZEA u mišićnom tkivu

buta bile čak 1000-2000 puta manje od onih utvrđenih u kukuruzu. Rezultati su također u skladu s istraživanjima koja pokazuju da visoka razina kontaminacije krmnih smjesa, rezultiraju zanemarivim količinama ovog kontaminanta u mesu farmških životinja, značajno nižim od vrijednosti prihvatljivog dnevnog unosa (*Tolerable daily intake* - TDI) za ZEA (Vulić i sur., 2012.). Međutim, znanstveno mišljenje European Food Safety Authority (EFSA) ističe značajnu opasnost za zdravlje ljudi putem konzumacije kontaminiranih žitarica koje ujedno predstavljaju vrlo zastupljenu vrstu namirnica u ljudskoj prehrani (EFSA, 2011.). Stoga je sustavna kontrola hrane i hrane za životinje na prisustvo različitih mikotoksina, uključujući ZEA, vrlo važna, odnosno neophodna u zaštiti zdravlja ljudi i životinja.

Sažetak

Kontaminacija zearalenonom, estrogenim mikotoksinom kojeg sintetiziraju plijesni iz roda *Fusarium*, učestalo se pojavljuje još prije žetve, na polju, ali i tijekom skladištenja krmiva i krmnih smjesa. Tvorbom ovog mikotoksina pritom pogoduje toplo vrijeme, uz temperaturne oscilacije između 15 i 30 °C te vrlo visoka vlažnost. Upravo takvi vremenski uvjeti, zabilježeni tijekom 2014. godine u Hrvatskoj, uzrok su značajne kontaminacije krmiva (poglavito kukuruza), a posljedično i krmnih smjesa u čijoj su proizvodnji korištena kontaminirana krmiva. Najznačajniji toksični efekt zearalenona u farmških životinja je njegova estrogena aktivnost, a klinički znaci intoksikacije najviše su uočljivi u svinja kao najosjetljivije vrste farmških životinja. U prikazanom slučaju, nakon uočenog slabijeg uzimanja krmne smjese te provedenim kliničkim pregledom na farmi svinja, utvrđeni su znaci estrogenizma, crvenilo i otečene stidnice, nemir i nimfomanija kod svih ženskih životinja. Nadalje, provedenim laboratorijskim analizama, u kukuruzu korištenom u proizvodnji krmne smjese, određene su znatno povećane količine zearalenona. Sedam dana nakon izmjene hranidbe, odnosno zamjene kontaminirane krmne smjese s nekontaminiranom, još

uvijek su određene vrlo visoke koncentracije zearalenona u urinu, dok su količine u mesu bile značajno manje, ujedno i zanemarive u odnosu na prihvatljivi dnevni unos (TDI) ovog mikotoksina za ljude. Zabilježeni slučaj upućuje na nužnu prevenciju i provedbu sustavnog nadzora mikotoksina u krmivima i krmnim smjesama te često i neizbježnu uporabu fiksatora mikotoksina ukoliko se prirodna kontaminacija dogodi.

Literatura

1. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2011): Scientific Opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *EFSA Journal* 9, 2197.
2. CREPPY, E. E. (2002): Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.* 127, 19-28.
3. DANICKE, S., E. SWIECH, L. BURACZEWSKA and K. H. UEBERSCHAR (2005): Kinetics and metabolism of zearalenone in young female pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 89, 268-276.
4. EDWARDS, S., T. C. CANTLEY and B. N. DAY (1987a): The effects of zearalenone on reproduction in swine. II. The effect on puberty attainment and postweaning rebreeding performance. *Theriogenology* 28, 51-58.
5. EDWARDS, S., T. C. CANTLEY, G. E. ROTTINGHAUS, G. D. OSWEILER and B. N. DAY (1987b): The effects of zearalenone on reproduction in swine. I. The relationship between ingested zearalenone dose and anestrus in non-pregnant, sexually mature gilts. *Theriogenology* 28, 43-49.
6. ESCRIVÁ, L., G. FONT and L. MANYES (2015): In vivo toxicity studies of fusarium mycotoxins in the last decade: A review. *Food Chem. Toxicol.* 78, 185-206.
7. GUTZWILLER, A., J. L. GAFNER and P. STOLL (2009): Effects of a diet containing fusarium toxins on the fertility of gilts and on bulbourethral gland weight in barrows. *Arch. Anim. Nutr.* 63, 16-25.
8. KANORA, A. M. D. (2009): The role of mycotoxins in pig reproduction: a review. *Vet. Med.* 54, 565-576.
9. KORAICHI, F., B. VIDEMANN, M. MAZALLON, M. BENAHMED, C. PROUILLAC and S. LECOEUR (2012): Zearalenone exposure modulates the expression of ABC transporters and nuclear receptors in pregnant rats and fetal liver. *Toxicol. Lett.* 211, 246-256.
10. LI, Y., B. ZHANG, K. HUANG, X. HE, Y. LUO, R. LIANG, H. LUO, X. L. SHEN and W. XU (2014): Mitochondrial proteomic analysis reveals the molecular mechanisms underlying reproductive toxicity of zearalenone in MLTC-1 cells. *Toxicology* 324, 55-67.
11. LUONGO, D., R. DE LUNA, R. RUSSO and L. SEVERINO (2008): Effects of four Fusarium toxins (fumonisin B(1), alpha-zearalenol, nivalenol and deoxynivalenol) on porcine whole-blood cellular proliferation. *Toxicol.* 52, 156-162.

12. MALEKINEJAD, H., R. F. MAAS-BAKKER and J. FINK-GREMMELES (2005): Bioactivation of zearalenone by porcine hepatic biotransformation. *Vet. Res.* 36, 799-810.
13. MALEKINEJAD, H., R. MAAS-BAKKER and J. FINK-GREMMELES (2006): Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. *Vet. J.* 172, 96-102.
14. MILANO, G. D. and T. A. LOPEZ (1991): Influence of temperature on zearalenone production by regional strains of *Fusarium graminearum* and *Fusarium oxysporum* in culture. *Int. J. Food Microb.* 13, 329-333.
15. MITAK, M., M. ZADRAVEC, T. GOJMERAC i Ž. CVETNIĆ (2005): Kontaminacija zearalenonom kukuruza roda 2004. *Vet. stn.* 36, 95-100.
16. PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ i M. ŠEGVIĆ-KLARIĆ (2008): Okratoksin A i Zearalenon: Kontaminacija žitarica i krmiva u Hrvatskoj (1977-2007) i utjecaj na zdravlja životinja i ljudi. *Krmiva* 50, 148-159.
17. PLEADIN, J., M. ZADRAVEC, N. PERŠI, A. VULIĆ, V. JAKI and M. MITAK (2012a): Mould and mycotoxin contamination of pig feed in northwest Croatia. *Mycotoxin Res.* 28, 157-162.
18. PLEADIN, J., M. SOKOLOVIĆ, N. PERŠI, M. ZADRAVEC, V. JAKI and A. VULIĆ (2012b): Contamination of maize with deoxynivalenol and zearalenone in Croatia. *Food Control.* 28, 94-98.
19. PLEADIN, J., N. PERŠI, M. MITAK, M. ZADRAVEC, M. SOKOLOVIĆ, A. VULIĆ, V. JAKI and M. BRSTILO (2012c): The Natural Occurrence of T-2 Toxin and Fumonisin in Maize Samples in Croatia. *Bull. Environment. Contamin. Toxicol.* 88, 863-866.
20. PLEADIN, J., A. VULIĆ and M. ZADRAVEC (2012): Survey of mycotoxin feed contamination in Croatia. *Biotechnol. Anim. Husband.* 28, 167-177.
21. PLEADIN, J., N. VAHČIĆ, N. PERŠI, D. ŠVELJ, K. MARKOV and J. FRECE (2013): *Fusarium* mycotoxins' occurrence in cereals harvested from Croatian fields. *Food Control.* 32, 49-54.
22. SHIER, W. T., A. C. SHIER, W. XIE and C. J. MIROCHA (2001): Structure-activity relationships for human estrogenic activity in zearalenone mycotoxins. *Toxicol.* 39, 1435-1438.
23. TSAKMAKIDIS, I. A., A. G. LYMBEROPOULOS, T. A. KHALIFA, C. M. BOSCO, A. SARATSI and C. ALEXOPOULOS (2008): Evaluation of zearalenone and alpha-zearalenol toxicity on boar sperm DNA integrity. *J. Appl. Toxicol.* 28, 681-688.
24. VULIĆ, A., J. PLEADIN, N. PERŠI and M. MITAK (2012): Analysis of naturally occurring zearalenone in feeding stuffs and urine of farm animals in Croatia. *J. Immunoassay & immunochem.* 33, 369-376.
25. ZINEDINE, A., J. M. SORIANO, J. C. MOLTÓ and J. MAÑES (2007): Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chem. Toxicol.* 45, 1-18.
26. ZWIERZCHOWSKI, W., K. OBREMSKI, L. ZIELONKA, E. SKORSKA-WYSZYNSKA, M. GAJECKA, E. JAKIMIUK, M. POLAK, B. JANA, L. RYBARCZYK and M. GAJECKI (2006): The impact of zearalenone on the level of the selected estrogens in blood serum of sexually immature gilts. *Pol. J. Vet. Sci.* 9, 247-252.

Mycotoxicosis with Zearalenone in Pigs – A Case Report

Željko MIHALJEVIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Mario MITAK, DVM, Scientific Advisor, Tina BARBIR, BSc, PhD, Ana VULIĆ, DVM, PhD, Scientific Associate, Branko ŠOŠTARIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Contamination of corn with zearalenone, an estrogenic mycotoxin produced by *Fusarium* spp., frequently happens in the field even prior to harvest, though contamination may begin or continue during the storage of feed commodities and mixtures. The production of mycotoxins favours warm weather, with temperatures ranging from 15 to 30 °C and high humidity. Such weather conditions were recorded during 2014 in Croatia, causing significant contamination of feed (especially corn), and consequently of compound feeds. The most obvious clinical manifestation of zearalenone is an oestrogenic effect in farm animals. Pigs are the most susceptible animal species for intoxication. This paper presents a field case of zearalenone intoxication. The first sign of disturbance was a lowering of

feed intake at an observed farm. Upon clinical examination, signs of oestrogenism were found, including redness and swelling of the vulva, restlessness and nymphomania in all female animals. Analysis of feed detected significant increased amounts of zearalenone in corn. Though the feed was changed with uncontaminated corn, high concentrations of zearalenone were still detected in urine seven days after feed replacement, while levels in muscle tissue were significantly lower, i.e. negligible in relation to the acceptable daily intake (TDI) of mycotoxins for humans. The presented case indicates the necessity of prevention and implementation of systematic monitoring of mycotoxins in feed and the possible need of a mycotoxin fixer in the occurrence of natural contamination.

Transfuzija pasa: krvne grupe, monitoring transfuzije, krvni proizvodi i transfuzijske reakcije - 2. dio



Ana Petak, Mirna Brkljačić, Ivana Kiš, M. Torti, Iva Šmit i Vesna Matijatko

Krvne grupe

Na površini stanične membrane eritrocita nalaze se antigeni (glikoproteini i glikolipidi) koji omogućuju klasifikaciju krvnih grupa. Karakteristika ovih antigena je u tome što mogu potaknuti reakciju koju prouzroče cirkulirajuća anti-eritrocitna protutijela. Ova protutijela mogu biti prisutna prirodno, a mogu biti izazvana prijašnjom transfuzijom (Lanevski and Wardrop, 2001.). Postoje mnogi sustavi kojima se opisuju krvne grupe pasa, ali DEA (engl. *dog erythrocyte*

antigen) nomenklatura je najviše zastupljena u novijoj literaturi (Gibson, 2007.). Za sve DEA krvne grupe pas može biti pozitivan ili negativan (Hale, 1995.).

Eritrocitni antigeni koji su prisutni ili odsutni na staničnoj membrani određuju krvnu grupu psa, samim time kompletna pseća krvna grupa ovisi o kombinaciji tih antigena na površini membrane. Do sada je opisano 12 krvnih grupa, no istraživanja koja su još uvijek u tijeku govore u prilog postojanju antigena koji do sada još nisu identificirani. Od 12

Tabela 1. Krvne grupe u pasa

DEA grupa	Prirodna protutijela	Transfuzijska značajnost
1.1	Ne	Akutna hemolitička reakcija
1.2	Ne	Akutna hemolitička reakcija
3	Da	Odgodena hemoliza
4	Ne	Nema
5	Da	Odgodena hemoliza
6	Ne	Nepoznato
7	Da	Odgodena hemoliza
8	Ne	Nepoznato

Ana PETAK, dr. med. vet.; dr. sc. Mirna BRKLJAČIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Ivana KIŠ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Marin TORTI, znanstveni novak-viši asistent, Iva ŠMIT, dr. med. vet., znanstvena novakinja, dr. sc. Vesna MATIJATKO, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb

opisanih, 8 se smatra internacionalnim standardima, a to su: DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5, 6, 7 i 8 (Tabela 1). Antiserumi postoje za 6 krvnih grupa: DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5 i 7 (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Antigeni

Krvna grupa DEA 1 ima najmanje 2 podtipa, DEA 1.1 i 1.2. Pas može biti negativan na oba antigena ili pozitivan na jedan od njih. Na Veterinarskom koledžu u Ontariu, zabilježena je tendencija da zlatni retriveri, labrador retriveri i rotvajleri imaju DEA 1.1 ili 1.2 krvnu grupu, dok su hrtovi i njemački ovčari većinom DEA 1.1 i 1.2 - negativni (Abrams-Ogg, 2000.).

Treći podtip, DEA 1.3 je opisan, ali nije još detaljno istražen zbog manjka tipizirajućih antiseruma (Symons i Bell, 1991.). DEA 1.3-pozitivni psi negativni su na DEA 1.1 i DEA 1.2 krvnu grupu (Abrams-Ogg, 2000.).

Značajnost krvnih grupa povezana je s njihovim antigenim potencijalom. Najreaktivnija krvna grupa je DEA 1.1, ali kako u pasa nije ustanovljeno postojanje prirodno prisutnih protutijela na DEA 1.1 krvnu grupu, kod povoda prve transfuzije međusobno nepodudarnih krvnih grupa, ne dolazi do teških transfuzijskih reakcija. Kod senzibiliziranog primatelja, proizvodnja protutijela na eritrocitni antigen javlja se najranije 4 dana po transfuziji pa je kod takvih primatelja, u slučaju ponovne potrebe za transfuzijom obvezno je provođenje „crossmatcing-a“ prije druge transfuzije (Gibson, 2007.).

Ukoliko pas negativan na krvnu grupu DEA 1.1 primi transfuziju krvi DEA 1.1- pozitivne grupe, anti-DEA 1.1 protutijela (hemolizini i aglutinini) prouzročit će odgođenu hemolitičku reakciju nakon 7 do 14 dana po transfuziji. Prilikom sljedećeg izlaganja DEA 1.1 pozitivnoj krvnoj grupi, razvit će se akutna hemolitička transfuzijska

reakcija s posljedičnom destrukcijom svih transfundiranih eritrocita tijekom prvih 12 sati. Klinički, transfuzijska reakcija očituje se umjerenom do teškom reakcijom, ali u većini slučajeva nije fatalna (Giger i sur., 1995.). Slična situacija događa se prilikom senzibilizacije primatelja na DEA 1.2 krvnu grupu, osim što je reakcija blaža s posljedičnom destrukcijom transfundiranih eritrocita tijekom 24 sata (Abrams-Ogg, 2000.).

Do neonatalne izoeritrolize dolazi prilikom parenja senzibilizirane DEA 1.1 negativne kuje s psom koji je pozitivan na DEA 1.1 krvnu grupu. Nasljeđivanje je autosomalno dominantno, stoga postoji velika vjerojatnost da će neki štenci biti pozitivni na DEA 1.1 krvnu grupu i da će razviti hemolitičku bolest (Abrams-Ogg, 2000.).

Transfuzijske nepodudarnosti povezane s krvnim grupama DEA 3, 5 i 7 variraju. Senzibilizacija na ove antigene ili prisustvo prirodno prisutnih protutijela može rezultirati odgođenom transfuzijskom reakcijom koja uključuje sekvestraciju i gubitak transfundiranih eritrocita (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.). Psi negativni na DEA 7 krvnu grupu mogu doživjeti odgođenu transfuzijsku reakciju kao posljedica transfuzije s DEA 7 pozitivnom krvi. Budući da je gotovo 50% pasa pozitivno na ovaj antigen, prisustvo ovih protutijela, iako u malom titru, može biti znatno zbog mogućnosti transfuzijske reakcije (Gibson, 2007.). Postoje prirodno prisutna protutijela na krvnu grupu DEA 3 i 5, ali s niskom prevalencijom u populaciji. Protutijela na krvne grupe DEA 3, 5 i 7 rezultiraju odgođenom hemolizom (Abrams-Ogg, 2000.). Istraživanja prirodno prisutnih protutijela na DEA 4 krvnu grupu su dala oprečne rezultate. Naime, prema Gibsonu (Gibson, 2007.) ova protutijela ne postoje, dok prema Abrams-Ogg-u (Abrams-Ogg, 2000.) postoje, samo što ne prouzroči hemolizu i stoga imaju minimalan transfuzijsko značenje.

Nedavno je opisan tzv. Dal antigen čiji je nedostatak otkriven u pasa dalmatinske pasmine (Blais i sur., 2007.). Većina pasa su Dal pozitivni, no ukoliko Dal negativni pas primi Dal pozitivnu krv doći će do razvoja hemolitičke transfuzijske reakcije. Istraživanja vezana uz ovaj antigen još su u tijeku (Gibson and Abrams-Ogg, 2012.).

Tipizacija krvi

Najbolji način sprječavanja DEA nepodudarnosti je određivanje krvnih grupa pomoću antiseruma. Nedavno je postala dostupna i tzv. „tipizirajuća karta“ kojom se može utvrditi DEA 1.1 status (RapidVet-H Canine 1.1, DMS Laboratories) (Abrams -Ogg, 2000.).

Krvna grupa davatelja

Univerzalni davatelj negativan je na DEA 1.1, 1.2, 3, 5 i 7 te pozitivan na DEA 4 krvnu grupu (Mamak i Aytakin, 2012.). Ukoliko se želi izbjeći akutna hemolitička reakcija dovoljno je da davatelj bude negativan na DEA 1.1 i 1.2 krvnu grupu (Giger, 1995.), dok je za sprječavanje umjerene do teške hemolitičke reakcije dovoljno da davatelj bude negativan na DEA 1.1 krvnu grupu (Abrams-Ogg, 2000.).

Krvna grupa primatelja

U pasa ne postoji krvna grupa koja bi bila univerzalni primatelj. Često je navedeno da se prva transfuzija može obaviti u svih pasa, bez opasnosti od razvitka akutne hemolitičke reakcije (zbog nepostojanja prirodnih protutijela na grupe DEA 1.1/1.2) te da pri provođenju iste nije potrebna tipizacija krvi primatelja. Određivanje krvne grupe primatelja nije obvezno, ali se svakako preporučuje ako okolnosti to dopuštaju, a posebno je korisno kada se očekuju višestruke transfuzije (Abrams-Ogg, 2000.). Međutim, određivanje krvne grupe prije provođenja transfuzije u

hitnim slučajevima najčešće nije moguće. Preporuča se korištenje krvi koja je DEA 1.1 negativna jer bi se na taj način izbjeglo davanje DEA 1.1 pozitivne krvi primatelju koji je možda DEA 1.1 negativan. U takvim slučajevima, od najvećeg je značenja korištenje davatelja već poznatih krvnih grupa (Gibson, 2007.).

Provođenje transfuzije

Krvni proizvodi obično se daju intravenski (Slika 1), ali moguća je i intraosealna aplikacija, posebice u štenaca (Gibson and Abrams-Ogg, 2012.).

Postupak

Krv se najčešće aplicira uz pomoć gravitacijske sile, ali moguća je i uporaba infuzomata. Postoje posebno izrađeni infuzomati za davanje krvnih proizvoda koji neće izazvati hemolizu (Stiles i Raffe, 1991.). Transfuzijski se sistemi razlikuju od infuzijskih jer imaju unutrašnji filter (170-260 μm) koji zadržava krvne ugruške i druge velike stanične čestice koje bi mogle izazvati emboliju kod primatelja (Gibson and Abrams-Ogg, 2012.).

Količina krvnog proizvoda koji će se aplicirati pojedinom pacijentu, ovisi o specifičnom proizvodu, željenom efektu i odgovoru primatelja. Opće „pravilo

palca“ glasi da 2 mL transfundirane pune krvi po kilogramu tjelesne mase primatelja p o d i ž e v r i j e d n o s t hematokrita za 1%. Većina



Slika 1.
Transfuzija pune krvi intravenski.

Formula za izračunavanje potrebne količine pune krvi za transfuziju u pasa:

$$V \text{ (mL)} = 85 \times \text{tjelesna masa (kg)} \times \frac{\text{ciljni Hct} - \text{stvarni Hct}}{\text{Hct davatelja}}$$

transfundiranih pacijenata primi volumen krvi od 10-22 mL/kg (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

U navedenoj formuli broj 85 je konstanta, odnosno korekcijski faktor, a označava prosječni volumen krvi u mililitrima po kilogramu. Oznaka Hct označava vrijednost hematokrita. Stvarni hematokrit je vrijednost hematokrita primatelja netom prije provođenja transfuzije, a ciljni hematokrit je vrijednost hematokrita koju priželjkujemo posttransfuzijski i ona bi trebala biti u rasponu od 25% do 30%.

Brzina aplikacije krvi ovisi o stupnju anemije te o kardiovaskularnom statusu primatelja. Prvih 15-20 minuta, preporučena brzina protoka je 0,25-1 mL/kg/h kako bi se znaci akutne transfuzijske reakcije uočili dok je ukupna količina primljene (nepodudarne) krvi još uvijek jako mala. Ukoliko tijekom prvih 20 minuta nema znakova transfuzijske reakcije, preporučena brzina protoka je 5-10 mL/kg/h. Transfuzija ne bi smjela trajati više od 4 sata zbog mogućnosti bakterijske proliferacije pri sobnoj temperaturi. U primatelja s povećanim rizikom od volumnog opterećenja (bolesti kardiovaskularnog sustava, smanjena renalna funkcija) brzina ne smije prelaziti 3-4 mL/kg/h (a preporučuje se i preventivno apliciranje diuretika) (Weinstein, 2010.). Ukoliko postoji vjerojatnost trajanja transfuzije u periodu dužem od 4 sata, krvni se proizvod može podijeliti tako da se dio krvi pohrani u hladnjak i upotrijebi unutar 24h od uzimanja. U stanjima akutnog gubitka velikog volumena krvi, poput hemoragijskog šoka, krv je uputno aplicirati brzinom čak do 22 mL/kg/h (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Tijekom transfuzije, primatelj ne smije primati lijekove ni hranu, a jedina tekućina koja se smije aplicirati kroz isti sistem je 0,9% fiziološka otopina (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Nadzor nad primateljem (monitoring)

Primatelja (Slika 2.) transfuzije potrebno je nadzirati tijekom samog primanja, kao i određeno vrijeme po završetku transfuzije. U okviru intenzivne skrbi transfundiranog pacijenta provodi se kontrola trijasa, boje sluznica, vremena ponovnog punjenja kapilara i općenito ponašanja pacijenta svakih 15 do 30 minuta tijekom transfuzije te 1h, 12h i 24h po provedenoj transfuziji (Harrell i Kristensen, 1995.).

Preporučeno je mjerenje hematokrita, ukupnih proteina te kontrola boje plazme (zbog mogućnosti razvitka hemolize) (Weinstein, 2010.) prije početka transfuzije te 1h, 12h i 24 h po transfuziji. Boja urina isto tako može



Slika 2. Primatelj transfuzije

biti koristan indikator hemolize (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.). Očekivano preživljavanje eritrocita individualno je i ovisi o primarnoj bolesti. Ukoliko se transfundirani eritrociti održe vitalnim nakon prvih 24 sati i ukoliko nije došlo do imunološki destruktivnog odgovora, transfuzija se smatra uspješnom.

Puna krv

Svježa puna krv

Svježa puna krv prikuplja se na već ranije opisan način, koristeći stroge aseptične uvjete. Ukoliko se ne pohranjuje u hladnjak, mora biti iskorištena unutar 4 sata od trenutka uzimanja. U takvoj krvi prisutne su i funkcionalne sve krvne komponente (eritrociti, trombociti, labilni i stabilni koagulacijski čimbenici, proteini plazme). Transfuzija svježom punom krvi indicirana je kao specifična terapija samo

u anemičnih pacijenata s istovremenim hemostatskim poremećajem (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.), no zbog funkcionalnosti svih komponenata, a u nedostatku drugih krvnih proizvoda, iskoristiva je i kod trombocitopenija, trombocitopatija, DIK-a i drugih poremećaja sustava koagulacije.

Pohranjena puna krv

Svježa puna krv (ukoliko je uzeta aseptično, zatvorenim sistemom) koja nije iskorištena unutar 4 sata od kolekcije može se pohraniti u hladnjak na temperaturu od 1-6 °C na približno 21-28 dana, ovisno o antikoagulansu u transfuzijskoj vrećici. Razlika u odnosu na svježu punu krv je u funkcionalnom smanjenju labilnih faktora grušanja i smanjenju trombocita (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Tabela 2. Krv i krvni proizvodi

PUNA KRV		KRVNI PRIPRAVCI		
<u>ERITROCITI</u>	KOMPONENTE PLAZME	KRVNE KOMPONENTE	KRVNI DERIVATI	ZAMJENE ZA KRV
- svježi - pohranjeni	- svježa - pohranjena - koncentrat bogat trombocitima	- proizvodi eritrocita - proizvodi plazme - proizvodi trombocita - krioprecipitat	- albumini - globulini - koncentrat specifičnih faktora	- koloidi - transporteri kisika - zamjene za trombocite - humani koagulacijski proteini

Tabela 3. Prednosti i nedostaci transfuzije punom krvi i transfuzije krvnim komponentama.

	Prednosti	Nedostaci
Puna krv	<ul style="list-style-type: none"> Jednostavan i brz postupak Najjeftiniji oblik transfuzije 	<ul style="list-style-type: none"> Potreba za davanjem većeg volumena krvi Veća mogućnost pojave transfuzijskih reakcija (na nepotrebne komponente) Nespecifična terapija (osim kod krvarenja)
Krvne komponente	<ul style="list-style-type: none"> Specifična terapija-nadoknada samo deficitarnih komponenti Bolje iskorištavanje krvi - krv jednog davatelja može se koristiti za čak 3 primatelja Davanje ukupnog manjeg volumena - manji rizik od volumnog preopterećenja krvotoka Manja mogućnost pojave transfuzijskih reakcija 	<ul style="list-style-type: none"> Zahtjeva posebnu opremu i administracijsko ustrojenje (banke krvi) što bitno povećava davanje (veliki materijalni troškovi)

Priprema krvnih proizvoda i njihova pohrana

Transfuzija podrazumijeva davanje pune krvi ili pak krvnih pripravaka. Puna se krv može pohraniti ili separirati na crvene krvne stanice (eritrocite) i na komponente plazme (Tabela 2). Terapija krvnim proizvodima omogućuje specifičnu terapiju i smanjuje pojavnost transfuzijskih reakcija (Tabela 3) (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Transfuzijske reakcije kategoriziraju se kao imunološke i neimunološke reakcije, a po nastanku mogu biti akutne i odgođene (Harrell i Kristensen, 1995.).

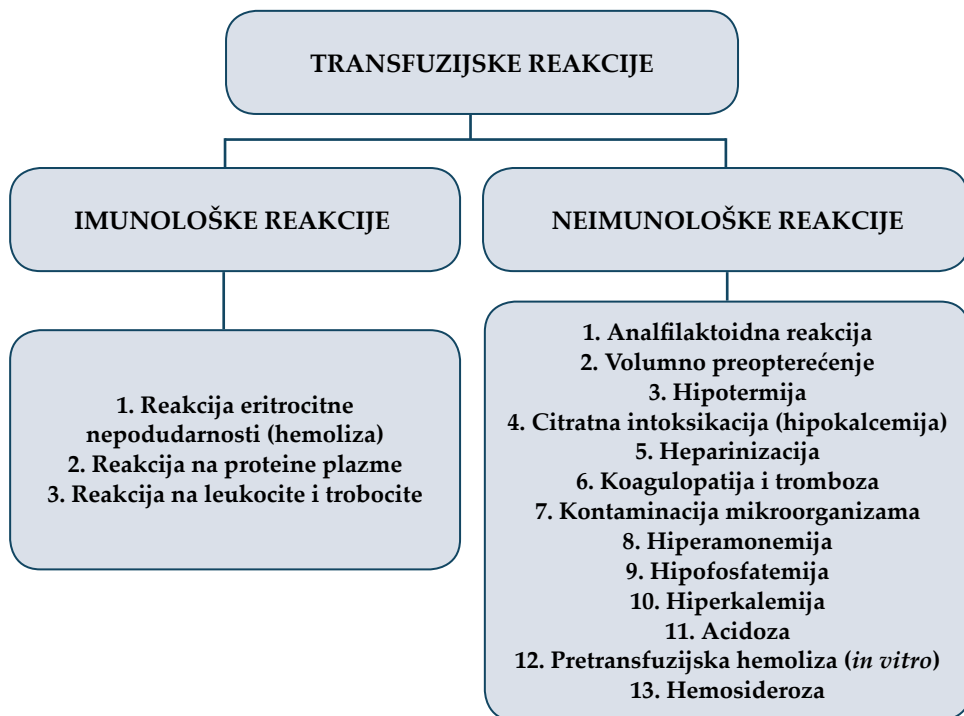
Imunološke transfuzijske reakcije

Reakcija eritrocitne nepodudarnosti (hemoliza)

Ovaj tip transfuzijske reakcije od najvećeg je značenja od svih reakcija.

Posredovan je IgG protutijelima i spada u drugi tip reakcije preosjetljivosti (Weinstein, 2010.). U pasa se javlja ukoliko senzibilizirani pas negativan na krvnu grupu DEA 1.1 primi ponovnu transfuziju od DEA 1.1 pozitivnog davatelja. Nastupit će akutna hemolitička reakcija s posljedičnom intravaskularnom hemolizom (Giger, 1995.). Klinički znaci uključuju: povišenu tjelesnu temperaturu, tahikardiju, dispneju, mišićni tremor, povraćanje, slabost, kolaps, hemoglobinemiju i hemoglobinuriju. Rjeđi simptomi uključuju: urtikariju, angioedem, DIK i akutno zatajenje bubrega (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Jačina reakcije u direktnoj je korelaciji s brojem razorenih eritrocita. Akutna hemolitička reakcija podijeljena je u dvije faze (Giger, 1995.). Prva se faza javlja unutar dvije minute od početka transfuzije i traje do 5 minuta. Ova se faza najčešće manifestira sljedećim simptomima: ekstenzijom nogu,



hipotenzijom, bradikardijom i apnejom. Druga faza tzv. „faza oporavka“, karakterizirana je tahikardijom i polipnejom koje mogu trajati i po nekoliko sati. Kod težih reakcija razvija se hipertenzija i ventrikularne aritmije koje mogu trajati oko 30 minuta. Tijekom nekoliko sati može doći do razvoja edema pluća (Abrams-Ogg, 2000.).

Kod odgođene hemolitičke reakcije ne postoje akutni klinički znaci, ali dolazi do ekstravaskularne hemolize pa posttransfuzijski hematokrit pada tijekom 2-21 dan (Weinstein, 2010.). Kod pasa učinci transfuzije traju 4 do 6 tjedana, jer poluživot transfundiranih podudarnih eritrocita iznosi otprilike 21 dan (Abrams-Ogg, 2000.). Davanje antihistaminika i kortikosteroida prije transfuzije neće spriječiti akutnu ili odgođenu hemolitičku reakciju (Abrams-Ogg, 2000.).

Reakcija na proteine plazme

Imunološke reakcije na proteine plazme (obično gama globuline) alergijske su prirode, a najčešće rezultiraju urtikarijom ili angioedemom, rjeđe anafilaksom. Mogući su i znaci pruritusa, hipersalivacije, povraćanja, proljeva i dispneje kao posljedica bronhokonstrikcije, dok povišena tjelesna temperatura nije tako uobičajena. Glavno obilježje anafilaktičke reakcije je hipotenzija koja se manifestira slabošću, slabim kvalitetama pulsa i blijedim sluznicama. Tijekom alergijske reakcije dolazi do povećane permeabilnosti krvnih žila što prouzroči gubitak albumina i tekućine u cirkulaciji. Kod teških reakcija može doći do ascitesa, pleuralne efuzije i edema pluća (Abrams-Ogg, 2000.).

Aplikacija antihistaminika i kortikosteroida preporučena je u pacijenata kod kojih je indicirana velika brzina protoka, no svejedno može doći do alergijske reakcije. Od antihistaminika,

koriste se difenhidramin ili tripelenamin u dozi 1 mg/kg intramuskularno 30 minuta prije transfuzije, a moguća je i intravenska aplikacija koja može dovesti do prolazne hipotenzije. Od kortikosteroida, preporučeno je korištenje deksametazon-natrij-fosfata u dozi od 0,5-1 mg/kg intravenski 5 do 15 minuta prije transfuzije (Abrams-Ogg, 2000.).

Reakcija na leukocite

Reakcije između protutijela primatelja i leukocita davatelja karakteriziraju se povišenom tjelesnom temperaturom, tremorom i povraćanjem. Ove reakcije većinom nisu klinički opasne, ali utječu na ozdravljenje pacijenta (Weinstein, 2010.). Prilikom pojave povišene tjelesne temperature, potrebno je isključiti hemolitičku reakciju. Brzina transfuzije ne utječe na pojavu ove reakcije (Abrams-Ogg, 2000.).

Aplikacija antihistaminika prije transfuzije neće spriječiti febrilne reakcije, ali hoće aplikacija deksametazon-natrij-fosfat 0,5-1 mg/kg intravenski 5 do 15 minuta prije transfuzije ili paracetamola 10-15 mg/kg peroralno 1 sat prije transfuzije. Apliciranje lijekova prije transfuzije preporučeno je samo u pacijenta s poviješću štetnih febrilnih reakcija. Na tržištu postoje filteri koji apsorbiraju leukocite za različite krvne proizvode (Brownlee i sur., 2000.). Osim filtera, dostupni su posebni centrifugalni sistemi koji smanjuju broj leukocita u koncentratima trombocita (Leukotrap Platelet Pooling System, Cutter). Sve metode koje se koriste za smanjenje broja leukocita rezultiraju posljedičnim gubitkom određenog broja eritrocita i trombocita (Abrams-Ogg, 2000.).

Reakcija na trombocite

Do reakcije na trombocite može doći uslijed ponavljajućih transfuzija (Slichter, 2000.). Reakcija se može izbjeći korištenjem novih davatelja

za svaku transfuziju ili preventivnim davanjem ciklosporina primatelju prije transfuzije. Posttransfuzijska se trombocitopenija javlja 1 do 2 tjedna nakon transfuzije, a može trajati do 2 mjeseca (Wardrop i sur., 1997.). Učinak protutijela na transfundirane trombocite generaliziran je, odnosno dolazi i do uništenja primateljevih trombocita. Imunosupresivna terapija s prednizonom može ubrzati oporavak (Abrams-Ogg, 2000.).

Neimunološke transfuzijske reakcije

Neimunološke reakcije posljedica su davanja prekomjernih količina krvi i krvnih proizvoda, neprimjerene brzine transfuzije ili promjena krvnih proizvoda tijekom pohrane (Abrams-Ogg, 2000.).

Anafilaktoidna reakcija

Anafilaktoidna je reakcija obično posljedica prebrzog davanja krvi i krvnih proizvoda, a podsjeća na alergijsku reakciju. Nastaje kao posljedica degranulacije mastocita koja nije posredovana IgE protutijelima, već proteinima plazme (Abrams-Ogg, 2000.).

Volumno (cirkulatorno) opterećenje

Transfuzija često uključuje davanje velikih količina krvi i krvnih proizvoda, relativno velikom brzinom. Problem volumnog opterećenja najčešće susrećemo kod životinja sa zatajenjem srca ili bubrega i kod životinja s kroničnim anemijama. Posljedični razvitak polipneje i dispneje može se zamijeniti s reakcijom nepodudarnosti eritrocita ili s anafilaktičkom reakcijom, odnosno anafilaktoidnom reakcijom. Radiografske promjene povezane s volumnim opterećenjem i anafilaktičkom, odnosno anafilaktoidnom reakcijom mogu biti vrlo slične. Anafilaktička/anafilaktoidna reakcija može rezultirati edemom pluća

ili pleuralnom efuzijom zbog povećane permeabilnosti krvnih žila (Abrams-Ogg, 2000.).

Za razlikovanje volumnog opterećenja i anafilaktičke/anafilaktoidne reakcije, korisne su kardiovaskularne promjene. Kod volumnog opterećenja broj otkucaja srca je normalan ili nešto niži (osim ako je prisutna tahikardija zbog bolesti srca ili nekog drugog poremećaja), arterijski tlak je u granicama normalnih vrijednosti, dok je centralni venski tlak visok (npr. distenzija *v. jugularis* može biti vidljiva). Ukoliko se razvio edem pluća zbog volumnog opterećenja, na radiografskim snimkama pluća vidljiva je venska distenzija i kardiomegalija. Anafilaktička/anafilaktoidna reakcija prouzroči distributivni šok koji je karakteriziran tahikardijom, arterijskom hipotenzijom (slabi puls) i slabim centralnim venskim tlakom. Na radiografskim snimkama prisutna je mikrokardija (osim ako nije prisutna kardiomegalija kao posljedica bolesti srca) dok su plućne vene normalne veličine (Abrams-Ogg, 2000.).

Policitemija i hiperproteinemija

Do policitemije može doći prilikom uzastopnih transfuzija punom svježom krvi pri liječenju hemostatskih poremećaja. Povećana viskoznost i promjena brzine protoka krvi mogu štetiti naročito životinjama koje su u sepsi ili koje imaju sklonost trombozi i ishemiji. Preporučuje se flebotomija (20 mL/kg), uz (u idealnim uvjetima) davanje plazme i trombocita zbog očuvanja hemostatske funkcije (Abrams-Ogg, 2000.).

Hipotermija

Apliciranje hladnih krvnih proizvoda može, iako vrlo rijetko, rezultirati hipotermijom. Najčešće je susrećemo kod transfuzije pedijatrijskih i jako malih pacijenata, kao i tijekom anestezije te kod transfuzije velikih količina ohlađene krvi pri aplikaciji velikom brzinom.

Hipotermija može dovesti do šoka, prouzročiti tremore i aritmije koji mogu prouzročiti kardiopulmonarni arest (Abrams-Ogg, 2000.).

Citratna intoksikacija (hipokalcemija)

Vrlo brza aplikacija većih količina krvnih proizvoda s citratnim antikoagulansom, može prouzročiti hipokalcemiju, jer citratni antikoagulans u suvišku veže kalcij. Simptomi hipokalcemije su mišićni tremor, trzanje uha, tetanički grčevi, povraćanje i aritmije (Weinstein, 2010.). Do hipokalcemije može doći uslijed davanja velikih količina transfundirane krvi, odnosno ako je nadomješteno više od 40% ukupne količine krvi primatelja. Manje količine krvi mogu isto tako izazvati hipokalcemiju, ukoliko transfuzijske vrećice od 450 mL nisu adekvatno ispunjene krvlju (pa je omjer volumena antikoagulansa i volumena krvi manji od preporučenog) ili ako postoje stanja kod kojih je smanjen metabolizam citrata u bikarbonate (poput zatajenja jetara, teške hipotenzije ili hipotermije). Tremori kod hipokalcemije mogu se zamijeniti s onima kod hipotermije, koji isto nastaju kao posljedica prebrze aplikacije krvi i krvnih proizvoda (Abrams-Ogg, 2000.).

Elektrokardiografske promjene uključuju: produljenje q-t intervala, depresija t i p vala te ventrikularne aritmije. Liječenje uključuje davanje kalcij glukonata (50-150 mg/kg i.v. 10%-tna otopina) ili kalcij klorida (5-10 mg/kg i.v. 10%-tna otopina) (Gibson i Abrams-Ogg, 2012.).

Heparinizacija

Heparinizacija se javlja kod životinja koje prime dozu heparina veću od 100 I.J./kg. Sklonost krvarenju javlja se pri dozi višoj od 300 I.J./kg. Metabolizam heparina vrlo je brz i njegov poluživot u plazmi iznosi svega 1,5 sati, tako da rijetko dolazi do krvarenja. Ukoliko dođe do predoziranja heparinom preporučuje

se korištenje protamin sulfata u dozi od 1 mg/100 I.J. heparina intravenski (Abrams-Ogg, 2000.).

Koagulopatije i tromboza

Dilucijska koagulopatija može nastati nakon vrlo brze transfuzije s velikim količinama (više od ukupnog volumena krvi) pohranjene pune krvi ili smrznute plazme, jer su deficitarne trombocitima i posjeduju malu koncentraciju koagulacijskih faktora. Najčešće se javlja u hitnih pacijenata kod kojih se već ionako narušeno kliničko stanje dodatno pogoršalo agresivnom tekućinskom terapijom. U takvim slučajevima preporučuje se transfuzija sa svježije smrznutom plazmom ili proizvodima koji su bogati trombocitima (Abrams-Ogg, 2000.). Transfuzija može povećati rizik nastanka plućne tromboembolije u pasa koji boluju od imunosno posredovane hemolitičke anemije (Klein i sur., 1989.).

Kontaminacija mikroorganizmima (sepsa povezana s transfuzijom)

Transfuzija kontaminiranih krvnih proizvoda može prouzročiti akutno povraćanje, proljev, dispneju, kolaps, kardiopulmonarni arest i hemolizu (Weinstein, 2010.). Navedeni se simptomi mogu zamijeniti s imunološkom reakcijom. Povišena tjelesna temperatura može biti prisutna, ali njezino odsustvo ne isključuje kontaminaciju krvnih proizvoda i posljedično septično stanje. Perakutni znaci, posljedica su transfundiranih endotoksina, a ne bakterijske proliferacije u primatelju, mada bakterije kasnije mogu prouzročiti znakove sistemske ili lokalizirane infekcije (Abrams-Ogg, 2000.). Makroskopski, kontaminirana krv može izgledati tamnije nego obično, smeđe boje sa ili bez krvnih ugrušaka i može sadržavati mjehuriće zraka (Kim i sur., 1992.).

Izvori mikroorganizama su davatelji (bakterijemija i kožna flora), neispravna tehnika uzimanja krvi,

krivo pohranjivanje, kontaminirani instrumenti i transfuzijski sistemi. Vjerojatnost infekcije kod istovremenih transfuzija je mala, osim kod jako velikih kontaminacija krvi. U pohranjenoj krvi proliferacija mikroorganizama je češća. Rizik nastanka sepse zbog transfuzije kontaminirane krvi vrlo je malen, dok je veći kod proizvoda koji imaju smanjenu količinu leukocita (fagocitiraju mikroorganizme) i kod proizvoda od trombocita koji se pohranjuju na sobnoj temperaturi (Abrams-Ogg, 2000.).

Najčešći mikroorganizmi koji kontaminiraju krv i krvne proizvode su oni fekalne flore, poput *Yersinia enterocolitica* i *Pseudomonas* spp., dok kod proizvoda od trombocita su to *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. i drugi gram-negativni mikroorganizmi (Abrams-Ogg, 2000.).

Hiperamonemija

S duljinom pohrane eritrocita dolazi do povećanja koncentracije amonijaka u krvi. Kod pacijenata sa zatajenjem jetara trebaju se koristiti krvni proizvodi koji su pohranjeni manje od 2 tjedna (Abrams-Ogg, 2000.).

Hipofosfatemija

Razina fosfata progresivno se smanjuje tijekom pohrane eritrocita, dok se fragilnost eritrocita povećava. Transfuzija pune krvi ili eritrocita kojima je rok pohrane pri kraju može pogoršati hipofosfatemiju. Kod životinja s hipofosfatemijom preporučena je transfuzija krvnih proizvoda koji su pohranjeni manje od 2 tjedna (Abrams-Ogg, 2000.).

Hiperkalemija

Tijekom pohrane, kalij iz eritrocita izlazi u krv što je vrlo bitno kod transfuzija koje zamjenjuju ukupni volumen krvi primatelja, jer može dovesti do hiperkalemije. Hiperkalemija

je zabilježena kod ljudi, dok kod pasa ne predstavlja veliki problem s obzirom da psi imaju manje koncentracije kalija u eritrocitima u odnosu na ljude. Pasmına Akita inu i njezini križanci predstavljaju iznimku i ne smiju se koristiti kao davatelji krvi iz razloga jer imaju povišene koncentracije kalija u krvi. Psi pasmine Šiba inu isto tako imaju povišenu koncentraciju kalija u eritrocitima, ali zbog svoje veličine nisu pogodni kao davatelji krvi (Abrams-Ogg, 2000.).

Acidoza

S pohranom krvnih proizvoda progresivno se snižava pH krvi, posebno u proizvodima eritrocita i trombocita.

Pretransfuzijska hemoliza (*in vitro*)

Do *in vitro* hemolize može doći uslijed kontaminacije mikroorganizmima, povećane fragilnosti eritrocita, grubog rukovanja, smrzavanja, pregrijavanja krvi ili miješanja s hipotoničnim otopinama (Abrams-Ogg, 2000.).

Hemosideroza

Tijekom višestrukih transfuzija može doći do oštećenja jetara zbog preopterećenja željezom (Abrams-Ogg, 2000.).

Sažetak

Transfuzija je postupak intravenskog davanja pune krvi ili krvnih pripravaka, odnosno proces njihovog prenošenja iz krvožilnog sustava jedne jedinke u krvožilni sustav druge jedinke. Krv i krvni pripravci mogu biti svježiji ili pohranjeni. Krv i krvni proizvodi koriste se tijekom liječenja različitih stanja, uključujući ona koja su povezana s anemijama (krvarenja, hemolize, smanjena eritropoeza), koagulopatijama, sepsom, diseminiranom intravaskularnom koagulacijom i nedostatkom specifičnih čimbenika grušanja krvi. Idealni davatelji su zdravi psi, starosti između 1 do 8 godina, blage naravi, velikih pasmina s lako pristupačnim

venama koji teže najmanje 25 kg i koji su redovno cijepjeni i dehelmintizirani. Volumen krvi koji se može uzeti davatelju iznosi do 20% procijenjenog ukupnog volumena krvi. Psi mogu uzastopno davati krv svaka 3 tjedna, tijekom dvije godine. Transfuzijske vrećice zapremnine 450 mL najpogodniji su zatvoreni sustavi za uporabu u pasa. Postoje mnogi sustavi kojima se opisuju krvne grupe pasa, ali DEA (engl. dog erythrocyte antigen) nomenklatura je najviše zastupljena u novijoj literaturi. Određivanje se krvnih grupa temelji na reakciji aglutinacije. Test križne reakcije (engl. crossmatching) je postupak kojim se određuje serološka podudarnost između primatelja i davatelja detekcijom protutijela na eritrocite putem aglutinacije i hemolize. Količina krvnog proizvoda koji će se aplicirati pojedinom pacijentu, ovisi o specifičnom proizvodu, očekivanom učinku i potrebama primatelja.

Literatura

1. ABRAMS-OGG, A. (2000): Practical Blood Transfusion. In: DAY, M.J., A. MACKIN and J. LITTLEWOOD: BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine, (265-303).
2. BLAIS, M. C., L. BERMAN, D. A. OAKLEY and U. GIGER (2007): Canine Dal blood type: a red cell antigen lacking in some Dalmatians. *J. Vet. Int. Med.* 21, 281-286.
3. BROWNLEE, L., K. J. WARDROP, R. K. SELTON and K. M. MEYERS (2000): Use of prestorage leukoreduction filter effectively removes leukocytes from canine whole blood while preserving red blood cell viability. *J. Vet. Int. Med.* 14, 412-417.
4. GIBSON, G., (2007): Transfusion medicine. In: KING L. And A. BOAG: BSAVA Manual of canine and feline emergency and critical care, second edition, BSAVA, Gloucester, (215-227).
5. GIBSON, G. and A. ABRAMS-OGG (2012): Canine transfusion medicine. In: DAY, M. J. and B. KHON: BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine, BSAVA, Gloucester, (289-307).
6. GIGER, U., C. J. GELENS, M. B. CALLAN and D. A. OAKLEY (1995): An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 1358-1362.
7. HALE, A. S. (1995): Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 25, 1323-1332.
8. HARRELL, K. A. and A. T. KRISTENSEN (1995): Canine transfusion reactions and their management. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 25, 1333-1364.
9. KIM, D. M., M. E. BRECHER, L. A. BLAND, T. J. ESTES, R. A. CARMEN and E. J. NELSON (1992): Visual identification of bacterially contaminated red cells., *Transfusion* 32, 221-225.
10. KLEIN, M. K., S. W. DOW and R. A. W. ROSYCHUK (1989): Pulmonary thromboembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 10 cases (1982-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 195, 246-250.
11. LANEVRSCHI, A. and K. J. WARDROP (2001): Principles of transfusion medicine in small animals. *Can. Vet. J.* 42, 447-454.
12. MAMAK, N. and İ. AYTEKIN (2012): Principles of Blood Transfusion. In: Blood Cell - An Overview of Studies in Hematology (Terry Moschandreu, Ed.), Gloucester, pp. 321-350.
13. SLICHTER, S. J. (2000): Platelet transfusions and platelet alloimmunization. Proceedings of the 18th Annual Veterinary Medical Forum, American College of Veterinary Internal Medicine, Seattle. pp. 477-478.
14. STILES, J. and N. R. RAFFE (1991): Hemolysis of canine fresh and stored blood associated with peristaltic pump infusion. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 1, 50-53.
15. SYMONS, M. and K. BELL (1991): Expansion of the canine A blood group system. *Anim. Gen.* 22, 227-235.
16. WARDROP, K. J., R. L. TUCKER and K. MUNGAL (1997): Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, and glucose solution for 35 days. *J. Vet. Int. Med.* 11, 5-8.
17. WEINSTEIN, M. (2010): Transfusion reactions. In: WEISS D. J. and K. J. WARDROP: Schalm's Veterinary Hematology, sixth edition, Wiley-Blackwell Publishing Ltd., (769-776).

Canine Blood Transfusion: Blood Groups, Blood Products, Transfusion Monitoring, Transfusion Reactions- Part 2

Ana PETAK, DVM; Mirna BRKLJAČIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Ivana KIŠ, DVM, PhD, Assistant Professor, Marin TORTI, DVM, PhD, Junior Researcher- Senior Assistant, Iva ŠMIT, DVM, Junior Researcher, Vesna MATIJATKO, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Transfusion is defined as intravenous therapy with whole blood or blood products. Blood and blood products may be fresh or stored and are used to treat a variety of conditions, including those associated with anaemia (haemorrhage, haemolysis or reduced erythropoiesis), coagulopathies, sepsis, disseminated intravascular coagulopathy and specific factor deficiencies. Ideal canine donors are healthy, well-tempered, large breed dogs weighing at least 25 kg, between the ages of 1 and 8 years. The donor should also be regularly vaccinated and dewormed. Twenty percent of the estimated blood volume may be safely donated. Canine donors may donate every 3 weeks, over a period of

2 years. Human blood collection packs of 450 mL are currently the most suitable closed collection systems for use in dogs. Many systems have been used to describe canine blood groups; however, the dog erythrocyte antigen (DEA) nomenclature is most widely used in the current literature. Canine blood groups are based on an agglutination reaction. Crossmatching determines the serological compatibility between patient and donor blood by detecting antibodies to erythrocytes using agglutination or haemolysis. The amount of blood product to be administered depends on the specific product, desired effect and patient response.

Prekomjieran rast bakterija u tankom crijevu pasa



Dijana Divjak, Iva Šmit, Martina Crnogaj i Dalibor Potočnjak

Uvod

Velik broj intervencija na psima koji dolaze kao pacijenti u ordinacije male prakse odnosi se na pacijente s gastrointestinalnim problemima. Često se radi o intermitentnom proljevu praćenom gubitkom tjelesne mase. Kliničari rijetko mogu utvrditi da se radi o proljevu izazvanom prekomjernim rastom bakterija u tankom crijevu, jer su dijagnostičke metode često komplicirane i skupe. No, kada se radi o kroničnim bolestima gastrointestinalnog trakta, nužno je što je prije moguće reagirati, jer se takve bolesti kompliciraju problemima izazvanim poremećenom apsorpcijom hranjivih tvari i tekućine i na kraju uginućem. Prekomjieran rast bakterija nastaje u uvjetima koji to omogućuju, poput raznih bolesti i poremećaja. Kada bakterije u prevelikom broju nasele sluznicu probavnog sustava njihov je utjecaj na organizam višestruk. Od neposrednog djelovanja npr. vlastitim toksinima, do posrednog djelovanja kada domaćin oboli zbog nedostatka određenih tvari koje bakterije koriste za vlastiti metabolizam. U tankom je crijevu mikroflora raznolika i kompleksna te poremećaji u sastavu i količini mikroflora mogu biti izuzetno štetni za organizam

životinje. Liječenje je dugotrajno i iziskuje dobru suradnju vlasnika s veterinarom, a rezultati nisu uvijek rano uočljivi.

Definicija prekomjernog rasta bakterija u tankom crijevu pasa, engl. Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO)

Pravo preraštanje je definirano kao povećanje apsolutnog broja bakterija u proksimalnom dijelu tankog crijeva u vremenu između dva obroka te je SIBO definiran kao „sindrom kod kojeg je povećan broj bakterija u duodenumu i jejunumu u vremenu između obroka“. Rezultat su malapsorpcija i proljev. Preraštanje se događa zbog smanjene kontrole proliferacije bakterija te se u ljudi javlja sekundarno zbog poremećaja koji su uzročno posljedično povezani s mehanizmima kontrole proliferacije (Tams, 2003., Hall i German, 2005.).

Nekad se naziv idiopatski SIBO koristio za stanje koje reagira na antibiotike u velikih pasmina pasa, osobito njemačkih ovčara, a čiji uzrok nije bio otkriven. Kod ovog je stanja bila primijećena reakcija na razne antibiotike,

Dijana DIVJAK, dr. med. vet., Veterinarska klinika "Blue Oasis", Dubai, UAE; Iva ŠMIT, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Martina CRNOGAJ, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Dalibor POTOČNJAK, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

a potvrđena je reakcija jedino na tilozin. Smatra se da je razlog zbog kojeg se u pasmina poput njemačkog ovčara i sharpei češće javlja SIBO taj što se kod tih pasmina češće javlja i smanjena količina IgA (Tams, 2003., German, 2005).

U novije vrijeme koristi se i naziv „proljevi koji se liječe antibiotikom“, engl. antibiotic-responsive diarrhea (ARD) te je u pasa SIBO smatran kliničkim znakom ili sekundarnim patogenim mehanizmom, dok je u ljudi dokazano postojanje SIBO kao samostalne bolesti. Ponekad se koristi i naziv „proljevi koji se liječe tilozinom“, engl. tylosin-responsive diarrhea (TRD) za podgrupu ARD koji specifično reagira na tilozin. U mačaka nije bila dokumentirana bolest, iako mačke vjerojatno mogu oboljeti od sekundarnog SIBO (German, 2005., Westermarck i sur., 2005., Suchodolski, 2006.).

Problem je kod ove bolesti što se teško dokazuje koliki je točan broj bakterija potreban da bi se smatralo da životinja boluje od SIBO. Napredna su istraživanja dokazala da se u pasa koji imaju proljev najčešće u duodenalnom soku nalazi oko 10^5 CFU/mL (colony-forming units) što je u fiziološkim granicama te je definiranje idiopatske bolesti kao SIBO na temelju graničnog fiziološkog broja bakterija na sluznici crijeva nedostatno. Prema nekim istraživanjima u duodenalnom soku zdravih pasa pronađen je broj bakterija veći od 10^5 CFU/mL (German, 2005., Suchodolski, 2006.). Posljedice idiopatskog i sekundarnog SIBO uključuju poremećenu apsorpciju hranjivih tvari i tekućina zbog poremećene funkcije enzima crijevnih mikroesica, promijenjene propusnosti sluznice, dekonjugacije žučnih kiselina i stimulacije sekrecije iz stanica sluznice u kolonu (Batt i McLean, 1987., German, 2013.).

Etiopatogeneza

Postoji više razloga zbog kojih dolazi do promjene broja populacije mikroflora,

kao što su: promjene u imunološkom sustavu domaćina, interakcije između bakterija, hranidba, promjene u mehanizmima koji pomažu limitirati prekomjeren rast bakterija (želučana kiselina, motilitet crijeva, gušteračini sokovi, itd.) Osim toga, prekomjeren broj bakterija u sluznici tankog crijeva mogu prouzročiti i razni anatomske čimbenici i poremećaji funkcije sluznice crijeva (Tams, 2003.).

Na temelju mehanizama koji su pokrenuli sindrom, SIBO možemo podijeliti na: primarni ili idiopatski SIBO i mnogo učestaliji, sekundarni SIBO.

Sekundarni SIBO

Uzroci sekundarnog preraštanja tankog crijeva bakterijama su:

1. Akloridija – može biti spontana kod atrofičnog gastritisa te zbog utjecaja blokatora izlučivanja kiseline.
2. Egzokrina insuficijencija gušterače – najčešći uzrok!
3. Djelomična opstrukcija crijeva – kronične intususcepcije, tumori ili strana tijela
4. Abnormalne anatomske promjene – kirurška resekcija ileocekalnog zalistka, sindrom slijepice petlje, kirurški izazvane slijepice petlje, divertikuli, strikture ili priraslice
5. Poremećaji motiliteta – funkcionalni, crijevna pseudoopstrukcija, hipotireoidizam, dijabetička autonomna neuropatija, skleroderma
6. Bolesti sluznice – latentni primarni patogeni, upalna bolest crijeva (nije sigurno je li uzrok ili posljedica), kronična giardioza
7. Osjetljivost na hranu (Simpson i sur., 1990., Camilo i sur., 1996., Hall i German, 2005., Suchodolski, 2006.).

Konačno, sekundarni SIBO nastaje kao posljedica bolesti kod kojih se stvara pretjerano plodna podloga za razvoj bakterija u lumenu crijeva, bolesti kod kojih dolazi do klirensa bakterija i kod morfoloških i funkcionalnih oštećenja sluznice (Tams, 2003.).

Idiopatski SIBO

Postoje mnoge hipoteze o razlozima nastanka idiopatskog SIBO, no u posljednje vrijeme težište je na interakciji bakterija domaćina. Najčešće se javlja u velikih pasmina pasa, osobito njemačkog ovčara i shar-pei-a. Smatra se da su navedene pasmine osobito podložne SIBO zbog svoje prirodene deficijencije IgA, što dovodi do smanjene obrambene funkcije crijevne sluznice i poremećenog sluzničkog i sistemskog humoralnog imunološkog odgovora. Kod pokusnih miševa koji su bolovali od upale crijeva, SIBO se razvio sekundarno kao odgovor na oštećenja sluznice, neprirodan imunosni odgovor sluznice, kvalitativne promjene u bakterijskom sastavu crijeva ili kao kombinacija tih mehanizama. U pasa koji boluju od ARD nalazi se povećan broj LP CD4+ T stanica i povećano izlaganje određenih citokina, što je znak poremećene regulacije imunološkog sustava i moguću gubitak tolerancije prema postojećim bakterijama na sluznici. Ova hipoteza je utemeljena činjenicom da antibiotici dovode do uklanjanja kliničkih znakova i umanjeno izlaganja citokina, dok do pada broja bakterija ne dolazi. Zna se da mnogi antibiotici imaju utjecaj na imunološki sustav (tilozin, metronidazol i oksitetraciklin) (Hall i German, 2005., Rutgers, 2010.).

Nekoliko je mehanizama kojima dolazi do bolesti, pojavljivanja kliničkih znakova kod sindroma SIBO. Mnoge bakterije su sposobne dekonjugirati žučnu kiselinu, što kod većih opsega dovodi do malapsorpcije masti. Neke bakterije (*Clostridium hiranonis* i *C. scindens*) imaju 7 α/β -dehidroksilirajuću aktivnost te mijenjaju žučnu kiselinu iz primarne u sekundarnu, a ona je povezana s pojačanim toksičnim oštećenjem epitelnih stanica. Mnogi bakterijski metaboliti i toksini mogu oštetiti sluznicu, enterocite i proteinske

nosače na membranama prouzročiti malapsorpciju. Do malnutricije dolazi i zbog natjecanja bakterija s domaćinom za hranjive tvari iz hrane. Pojačani metabolizam masti može dovesti do stvaranja toksičnih masnih kiselina kratkih lanaca, koje mogu biti uzrok upalnih stanja (Suchodolski, 2006.).

Proljev koji se liječi tilozinom, engl. tylosin responsive diarrhea (TRD), je stanje opisano u pasa u Finskoj. Klinički simptomi su vrlo slični onima kod idiopatskog ARD, odnosno idiopatski SIBO. Problem je što uzroci simptoma nisu dokazani, broj je bakterija bio u fiziološkim granicama, nije bilo karakterističnog nedostatka kobalamina (vitamin B₁₂), a nije utvrđena promijenjena koncentracija nekonjugiranih žučnih kiselina u serumu. Nakon što su psi liječeni tilozinom dolazilo je do potpunog povlačenja simptoma, a kada se tilozin prerano prestao davati, simptomi bi se ponovno pojavili (Westermarck i sur., 2005., German, 2013.).

Klinička slika

Idiopatski se SIBO najčešće javlja u mlađih pasa, a pod kliničke znakove ubrajamo kroničan intermitentan proljev čiji izvor može biti tanko i/ili debelo crijevo. Najčešći je proljev znakovit za tanko crijevo koji je vodenast ili mekan i izrazito neugodnog mirisa (Tams, 2003.). Psi obično ne mijenjaju ponašanje, osim što im je promijenjen apetit koji može biti slabiji ili pojačan. U skladu s nabrojanim kliničkim znacima, često se javlja gubitak tjelesne mase i slabiji rast te se javlja kruljenje (engl. Borborygmus) i flatulacije. Ponekad se javlja blaga do jaka steatoreja zbog kronične malapsorpcije masti (Suchodolski, 2006.). Kliničkim pregledom možemo ustanoviti slabiju tjelesnu kondiciju i lošu kvalitetu dlake, a abdominalnom palpacijom ponekad možemo utvrditi uzrok sekundarnog SIBO, poput dilatiranog crijeva kod

ileusa (Rutgers, 2010.). Ponekad se javlja povraćanje i kolitis, a zabilježeni su i slučajevi slabijeg rasta, iako proljev nije bio prisutan. Pojačani se apetit, može manifestirati kao polifagija ili kao promijenjen apetit, a javlja se i koprofagija (Hall i German, 2005.).

Kod sekundarnog SIBO klinički znaci ovise o primarnom uzroku (Hall i German, 2005.). Na primjer, ako je primaran uzrok tumor u crijevima dolazi do kronične parcijalne obstrukcije crijeva što se između ostalog manifestira i povraćanjem (Suchodolski, 2006.). Kada se radi o parcijalnoj obstrukciji znaci su rekurentan proljev, gubitak tjelesne mase i dobar odgovor na terapiju antibioticima. Intermitentni klinički znaci u slučaju kronične parcijalne obstrukcije su rezultat rekurentnog proljeva koji privremeno dovodi do smanjenja broja bakterija u crijevima (proljevom se izbacuju) te se klinički znaci povlače (German, 2013.).

Dijagnostički protokol

Idiopatski SIBO možemo dijagnosticirati nakon što ustvrdimo sljedeće:

- Temeljeno na preliminarnim dijagnostičkim testovima i histopatološkoj pretrazi, ne postoji drugi uzrok nastalih kliničkih simptoma
- Postoji pozitivan odgovor na terapiju antibioticima
- Kako terapija antibioticima napreduje klinički se stanje poboljšava, no kada antibiotike prerano prestanemo davati ponovno se pojave klinički simptomi bolesti.

Bolesti koje moramo isključiti kako bismo nastavili pretragu na idiopatski SIBO su one koje uzrokuju crijevni paraziti i patogeni mikroorganizmi, sistemske bolesti, limfom, netolerancija na hranu, djelomična crijevna opstrukcija i egzokrina insuficijencija gušterače, engl. exocrine pancreatic insufficiency (EPI), a te bolesti mogu

prouzročiti sekundarni SIBO koji se najčešće javlja kod EPI. To znači da prije svega radimo hematološku pretragu, serumski biokemijski profil, pretragu urina, fekalnu parazitološku pretragu i fekalnu bakterijsku kulturu. Ako sumnjamo da se radi npr. o egzokrinnoj insuficijenciji gušterače radimo test serumska imunoreaktivnost tripsina, engl. trypsin like immunoreactivity (TLI), čija je koncentracija kod EPI <2,5 µg/L. Kada sumnjamo na parcijalnu crijevnu opstrukciju, najbolje je napraviti rengenšku ili ultrazvučnu pretragu probavnog trakta (Rutgers, 2010., German, 2013.).

Teško je definitivno ustvrditi dijagnozu SIBO u privatnim ordinacijama, iako postoje mnogi testovi, direktni i indirektni. Idealno, kako bi se utvrdilo postoji li SIBO, radimo kvantitativnu kulturu duodenalne tekućine, što je teško izvedivo i skupo. Uzorak uzimamo laparotomijom ili sterilnim endoskopom. Ova metoda spada u direktne te je zlatni standard u dijagnostici SIBO, no nije dokaz bolesti, jer CFU može biti povećan i u zdravih pasa (German, 2005.).

U indirektno dijagnostičke testove spadaju serumske biokemijske analize i test izdahnutog zraka na hidrogen, preuzet iz humane medicine (German, 2005.).

U dijagnostici se isto tako služimo i eventualnim pozitivnim odgovorom na terapiju antibioticima (amoksicilin, metronidazol, tetraciklin i tilozin) tijekom dva do četiri tjedna. Najdostupniji „screening test“ koji možemo napraviti je određivanje koncentracije serumskih vitamina B₁₂ i B₉, iako rezultati ne daju pravu sliku, jer mnogi bolesni psi imaju fiziološke rezultate. Promijene koje očekujemo kod ovog testa su: porast koncentracije folne kiseline (vitamin B₉) i smanjena koncentracija kobalamina (vitamin B₁₂) u serumu. U pacijenata koji imaju SIBO, ali ne i egzokrinu pankreasnu insuficijenciju, porast koncentracije folne kiseline je pronađen u 50% slučajeva, a kobalamina u 25%. Folna se kiselina

resorbira samo u proksimalnom dijelu tankog crijeva, a kobalamin samo u distalnom pa promijene u količini tih vitamina pokazuju i na moguća oštećenja tih dijelova tankog crijeva (Tams, 2003.).

Najnoviji test je test na serumsku nekonjugiranu žučnu kiselinu, engl. serum unconjugated cholic acid (SUCA). Temelji se na saznanju da mnoge bakterije čiji broj raste u SIBO imaju sposobnost dekonjugiranja žučnih kiselina koje kroz sluznicu tankog crijeva ulaze u krv za razliku od konjugiranih žučnih kiselina. U pasa, SUCA iznad 2 nm/L ukazuje na bakterijsko preraštanje ili na poremećenu mikrofloru tankog crijeva. Što se tiče uzimanja uzorka, bitno je da psi poste 12 sati prije uzorkovanja. Uzorak se treba poslati u laboratorij i pohraniti na ledu. Preporuča se napraviti sva tri testa: na vitamine B₉ i B₁₂ i SUCA. Ako radimo crijevnu biopsiju, sumnja na SIBO bila bi blaga atrofija crijevnih resica i lagano povećanje broja upalnih stanica (Tams, 2003.).

Liječenje

Kada liječimo antibioticima, nakon kratkotrajnog liječenja dolazi do repopulacije mikroflorom koju smo suzbili te je najčešće potrebno dugotrajno liječenje. Antibiotici koje koristimo trebaju biti širokog spektra, protiv aerobnih i anaerobnih bakterija. Najčešće tako koristimo tilozin, metronidazol ili oksitetraciklin i to u sljedećim dozama:

TILOZIN: 25 mg/kg *per os* svakih 12 h kroz 6 tjedana

OKSITETRACIKLIN: 20 mg/kg *per os* svakih 8-12 h kroz 6 tjedana

METRONIDAZOL: 10-20 mg/kg *per os* svakih 8-12 h kroz 6 tjedana.

Obično treba proći nekoliko dana ili tjedana da bi došlo do vidljivih rezultata, no ako kroz više od dva tjedna nije došlo do vidljivih pomaka, antibiotik je potrebno promijeniti. Terapija ne bi trebala trajati manje od 6 tjedana (Suchodolski, 2006.).

Tilozin

Tilozin je često lijek izbora kada se sumnja na poremećenu mikrofloru. Djeluje tako da inhibira bakterijsku sintezu proteina, a prije svega djeluje protiv gram-pozitivnih bakterija poput *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. i *Clostridium* spp. te protiv nekih *Mycoplasma* spp. i *Chlamydia* spp. Djeluje i protiv nekih gram-negativnih bakterija kao *Campylobacter* spp., *Helicobacter pylori*, *Hemophilus* spp., *Pasteurella* spp., ali ne i protiv bakterija *Escherichia coli* i *Salmonella* spp. Životinje ga dobro podnose i siguran je za dugotrajno liječenje (Westermarck i sur., 2005., Suchodolski, 2006.).

Oksitetraciklin

Oksitetraciklin je isto tako lijek izbora zbog svog zanimljivog metabolizma. Taj antibiotik se koncentrira u žuči te postiže visoku koncentraciju u tankom crijevu. Zbog nuspojava ga ne smijemo davati vrlo mladim i gravidnim životinjama te se ne smije davati s hranom, jer kalcij inhibira njegovo djelovanje. Mehanizam djelovanja još nije poznat, no zna se da nakon tretmana oksitetraciklinom ne pada drastično broj bakterija u tankom crijevu, ali se simptomi SIBO povlače. To se objašnjava njegovim prebiotičkim ili prema drugoj hipotezi, imunomodulirajućim utjecajem. Iako se oksitetraciklinom najčešće liječi SIBO, neki autori navode da ga se ne bi trebalo koristiti zbog izazivanja rezistencije posredovane plazmidima (Marks, 2003., Suchodolski, 2006., German, 2013.).

Metronidazol

Metronidazol djeluje uglavnom protiv anaerobnih bakterija, a njegova je posebnost u tome što ima imunomodulirajuću funkciju i tako dodatno pozitivno utječe na liječenje. Problem je u tome što su

u nekim istraživanjima dokazana njegova mutagena svojstva te ga nije preporučljivo davati kroz duže vrijeme, osim ako terapija tilozinom ne daje pozitivne rezultate (Mudry i sur., 1994., Suchodolski, 2006.).

Uz antibiotike, potrebno je proširiti terapiju zamjenama za kobalamin, jer životinje koje boluju od SIBO najčešće imaju deficit tog vitamina. Doza je za pse do 15 kg 500 µg SC, a za pse iznad 15 kg 500-1200 µg. Doze dajemo jednom tjedno 6 tjedana, nakon toga sljedećih 6 tjedana svaki drugi tjedan jedna doza i za kraj još jedna doza, mjesec dana nakon posljednje dane doze.

Potrebno je za životinje koje boluju od SIBO pripremati i posebne obroke, lako probavljivu hranu s manjim udjelom masti i dodatkom probiotika i prebiotika poput fruktooligosaharida. Takvu je hranidbu potrebno nastaviti i nakon prestanka davanja antibiotika i nakon što se povuku klinički znaci bolesti.

Kada se radi o sekundarnom SIBO, potrebno je ukloniti primaran uzrok bolesti te se simptomi bakterijskog preraštanja nakon toga spontano povlače (Suchodolski, 2006.).

Prognoza sekundarnog SIBO, naravno ovisi o tome što ga je prouzročilo, dok za idiopatski SIBO nalazimo raznolike prognoze. Kod mnogih slučajeva, nakon terapije se ponovo vraćaju simptomi te je potrebna ponovna terapija, ponekad i do kraja života pacijenta. Kod nekih slučajeva kada životinja uđe u odraslu dob dolazi do spontanog oporavka (German, 2005.).

Sažetak

Tanko crijevo je u fiziološkim uvjetima zaštićeno od prekomjernog rasta bakterija uz pomoć raznih mehanizama i funkcija poput: motiliteta, izlučivanja enzima, imunološke funkcije i hormonske regulacije te uz pomoć želučane kiseline i zalistka koji sprječava prodor bakterija iz debelog crijeva. Kada se

ti mehanizmi poremete, u tankom crijevu naraste broj bakterija, zbog čega zatim nastane poremećaj apsorpcije i posljedično dolazi do proljeva i nedostatka nekih hranjivih tvari u organizmu domaćina. Psi koji boluju od prekomjernog preraštanja tankog crijeva bakterijama lošeg su gojnog stanja, imaju kroničan smrdljiv proljev ili meki feces i nakuplja im se plin u probavnom traktu. Tijekom dijagnostike, potrebno je ustvrditi postoji li primarna bolest koja prouzroči sekundarno prekomjeran rast bakterija u tankom crijevu te ustvrditi postoji li uopće prekomjeran broj bakterija. Liječenje je obično dugotrajno i uključuje antibiotike, posebnu hranidbu i dodatke hranidbi.

Literatura

1. BATT, R. M. and L. McLEAN (1987): Comparison of the biochemical changes in the jejunal mucosa of dogs with aerobic and anaerobic bacterial overgrowth. *Gastroenterology* 93, 986-993.
2. CAMILO, E., J. ZIMMERMAN and J. B. MASON (1996): Folate synthesized by bacteria in the human upper small intestine is assimilated by the host. *Gastroenterology* 110, 991-998.
3. GERMAN, A. J. (2005): Diseases of the small intestine In: *BSAVA Manual of canine and feline gastroenterology* (E. J. HALL, J. W. SIMPSON, D. A. WILLIAMS), sec. ed., British small animal veterinary association, Gloucester, pp. 176-196.
4. GERMAN, A. (2013): Bacterial overgrowth (Intestinal dysbiosis) In: *Canine & feline gastroenterology* (R. J. WASHBAU, M. J. DAY), Saunders, Missouri, pp. 695-697.
5. HALL, E. J. and A. J. GERMAN (2005): Diseases of the small intestine In: *Textbook of veterinary internal medicine diseases of the dog and the cat* (S. J. ETTINGER, E. C. FELDMAN), seventh edit., volume 2, Saunders, Philadelphia, pp. 1526-1560.
6. MARKS, S. L. (2003): Editorial: Small intestinal bacterial overgrowth in dogs – less common than you think? *J. Vet. Intern. Med.* 17, 5-7.
7. MUDRY, M. D., M. CARBALLO and V. LABAL (1994): Mutagenic bioassay of certain pharmacological drugs: III. metronidazole (MTZ). *Mutat. Res.* 305, 127-132.
8. RUTGERS, C. (2010): Small intestinal bacterial overgrowth In: *Canine and feline gastroenterology* (P. LECOINDRE, F. GASCHEN, E. MONNET, eds.), Les éditions du point vétérinaire, Ruel-Malmaison Cedex, pp. 280-282.
9. SIMPSON, K. W., R. M. BATT and D. JONES (1990): Effects of exocrine pancreatic insufficiency and replacement therapy on the bacterial flora of the duodenum in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 51, 203-206.
10. SUCHODOLSKI, J. S. (2006): Alterations in the small intestinal microflora (Small intestinal bacterial overgrowth) In: *Small animal gastroenterology* (J.

- M. STEINER, ed.), Schlutersche, Hannover, pp. 202-207.
11. TAMS, T. R. (2003): Chronic diseases of the small intestine In: Handbook of small animal gastroenterology (T. R. TAMS, ed.), sec. ed., Saunders, Philadelphia, pp. 211-236.
 12. WESTERMARCK, E., T.SKRZYPCZAK and J. HARMOINEN (2005): Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs. J. Vet. Intern. Med. 19, 177-186.

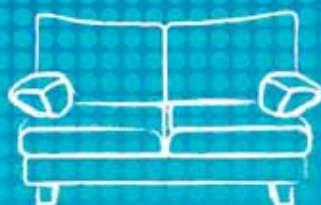
Small Intestinal Bacteria Overgrowth (SIBO)

Dijana DIVJAK, DVM, "Blue Oasis" Veterinary Clinic, Dubai, UAE; Iva ŠMIT, DVM, Assistant, Martina CRNOGAJ, DVM, PhD, Senior Assistant, Dalibor POTOČNJAK, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The small intestine is normally protected from excess bacteria by a number of mechanisms and functions, such as motility, excretion, immune functions, hormone regulation, gastric acid and a valve that prevents bacteria encroaching from the more highly bacteria populated large intestine. When these mechanisms fail, the bacterial population in the small intestine grows to

abnormal amounts. Affected dogs usually are in poor physical condition and have chronic diarrhoea and loose stools, along with flatulence. When diagnosing, it is necessary to determine if there is secondary small intestinal bacterial overgrowth and if there is a primary disease causing the overgrowth. Treatment is usually long-lasting and includes antibiotics, a special course of feeding and dietary additives.

NOVO



FYPRYST[®] combo

fipronil, S-metopren

Učinkovit na



Zaštita na pravi način!

Sastav Pipeta (0,67 ml) sadrži 67 mg fipronila i 60,3 mg S-metoprena. Pipeta (1,34 ml) sadrži 134 mg fipronila i 120,6 mg S-metoprena. Pipeta (2,68 ml) sadrži 268 mg fipronila i 241,2 mg S-metoprena. Pipeta (4,02 ml) sadrži 402 mg fipronila i 361,8 mg S-metoprena. Pipeta (10,5 ml) sadrži 50 mg fipronila i 60 mg S-metoprena. **Indikacije** Liječenje buhašavosti (*Ctenocephalides spp.*) u pasa, mačaka i tvorova. Lijek sprječava razvoj jajelaca (izvaidno djelovanje) ličinki i kukuljica (revicidni djelovanje). Liječenje krpeljivosti (kods ricinus, *Dermanosor variabilis*, *Dermanosor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus*) u pasa i mačaka. Eliminacija krpelja (kods ricinus) sa tvorova. Liječenje ušljivosti u pasa (*Trifodectes canis*). Liječenje ušljivosti u mačaka (*Felicola subrostratus*). Lijek se može koristiti u sklopu liječenja ašerijskog dermatitisa uzrokovanog buhama prethodno dijagnostičanog od veterinara. **Ciljne životinjske vrste** Psi, mačke, tvorovi. **Kontraindikacije** Preparat ne smijete uporabiti na mladunčadi mlađoj od 8 tjedana i/ili lakih od 1 kg, jer u uporabi u toj dobi nema podataka. Lijek ne smijete uporabiti na tvorovima mlađim od 6 mjeseci. Ne koristite ga na bolesnim životinjama (npr. sustavne bolesti, virusica) i životinjama tijekom oporavka. Ne koristite na kunićima jer može doći do nuspojava čak i sa smrtnim ishodom. Ne preporuča se uporaba proizvoda na nećilnim životinjama vrtlaru zbog nedostatka ispitivanja.

Samo u izručnu jarnost

Pažljivo pročitate priloženu uputu prije uporabe lijeka.

KRKA-FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/1, 10000 Zagreb
 telefon (01) 63 12 100, telefaks (01) 61 26 739
 E-mail: info@krkafarm.hr, www.krka-farma.hr

www.krka-farma.hr

KRKA

Naša inovativnost i znanje
 za djelotvorne i neškodljive
 proizvode vrhunske kakvoće.

Neki srednjovjekovni statuti o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla (III.b dio)



P. Džaja, K. Severin, D. Agičić, Ana Džaja i Ž. Grabarević

Hvarski statut (1331.) je propisivao da ako je netko nekome dužan za sir pa isplatu nije izvršio u roku, osuđen je na 5 malih solida za svaki kolut sira.

Naređeno je da ubiranja (daća) se moraju dati na dražbi svake godine tijekom 8 dana pri kraju mjeseca listopada, a zakupni odnos morao je početi od prvog dana mjeseca studenog i morao je trajati godinu dana. I oni koji imaju pravo ubiranja daća morali su platiti zakupninu do sv. Duma u mjesecu svibnju. Morali su dobiti od svake osobe koja prodaje meso za svakog vola i kravu 3 mala solida, svakog prasca ili prasicu 2 mala solida, a za svaku malu životinju 12 malih solida. Ako je tko prodavao meso uginule životinje, neka zbog njena uginuća plati polovicu spomenutih iznosa. Svatko tko je prodavao ribu morao je platiti zakupninu deseti dio vrijednosti sve ribe koju je prodavao, ili ju je prodao.

Nitko nije smio i nije mogao prodavati meso drugdje već u redovitoj komunalnoj mesnici, osim u selima i na Visu pod prijetnjom kazne. Jedino se meso uginulih životinja nije moralo nakon uginuća prodavati u mesnici, već se to meso moglo prodavati i na drugom mjestu izvan klaonice bez ikakve kazne. Meso jedne životinje nije se smjelo prevarno prodavati

za meso druge životinje, niti mjeriti nikakvom mjerom osim komunalnom vagom, niti po cijeni koju nije odredio knez. Nije se mogla iznositi koža dok se zakupniku nije isplatilo ono što mu je pripadalo.

Nijedan ribar, bez obzira kojeg je društvenog položaja nije smio prodavati ribu drugdje već samo u komunalnoj ribarnici, osim na Visu i u selima. Nije se smjela prodavati riba prije negoli se iznese i donese sva riba koja se željela prodati u ribarnicu. Svaki ribar je prema starom običaju bio dužan jednu veću i bolju ribu od one koju je imao. Ribar koji je prodavao ribu nije smio na glavi držati šešir ili nešto drugo dok nije prodao ribu. Ako je netko prodavao ribu za nekog ribara, onaj tko je prodavao ribu za drugoga plaćao je 20 solida (Rismondo, 1991.).

Mljetski statut (1345.) je propisivao da je svatko tko je prodavao sir ili meso morao držati kantarić od 11 libra manje 2 unče i libru od 13 unča dobre mjere. Nitko nije smio prodavati sir izvan otoka pod prijetnjom kazne.

Naređeno je da se meso moralo prodavati na libru (vagu) od 18 unča, prvo goveđe meso po 6 novčića libra, kozje meso po 5 novčića, bravlje i ovčje meso po 5 novčića, meso jarca škopca (kaštradi) po 6 novčića.

Dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Krešimir SEVERIN, dr. med. vet., docent, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Zagreb; Damir AGIČIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Slavonski Brod; Ana DŽAJA, mag. ing. oecoling., M SAN Eko

Nitko nije mogao prodavati meso i sir osim vagom od 13 unča. Najprije kaštradinu po 10 folara, meso jarca škopca po 8 folara, kozje meso, govedinu i ovčetinu po 7 floara za libru i sir po 3 groša za pezar. Svatko tko je klaao meso za prodaju dužan je bio dati mljetskoj općini daću od 2 groša za svaku krupnu životinju. Tko je odveo izvan otoka životinje sitnog zuba za klanje, morao je za svaku životinju platiti općini 10 novčića. Izuzimali su se od plaćanja oni koji su klali za svadbu ili za milostinju, ili oni koji su klali bilo krupnu ili sitnu životinju zbog bolesti. Tko je god zaklao kozlića ili janje za prodaju morao je prodati od mesa zaklane životinje župniku i kancelaru ovog otoka prije negoli ostalima, pod prijetnjom kazne. Cijena stoke s otoka nije mogla biti viša negoli u gradu prema odgovarajućim sezonama, a meso stoke koja se uvozila s obale na otok, morala se prodavati četvrtinu groša više iznad cijene koja je utvrđena u gradu (Petrinović, 2002.).

U Šibenskom statutu (1378.) propisano je da se nadglednici mjera brinu da se meso prodaje općinskom teškom librom i način podnošenja tužbe. Nadalje, navodi se da se nadglednici mjera trebaju brinuti da se svako meso u mesnici prodaje na uteg ili vagu i tešku funtu šibenske općine. Isti nadglednici bili su dužni revno se brinuti da se meso ni na kakav drugi način ne prodaje, nego samo općinskim vagama, a ako bi našli nekog prijestupnika, morali su ga odmah prijaviti gospodinu knezu i Kuriji te dati zapisati u općinske zapisnike mesare i druge prijestupnike tako da onaj koji je obavljao zabranjenu trgovinu plati za svaki prijestup šibenskoj općini 40 solda malih denara. Od toga se polovica davala tužitelju, ako je na temelju njegove prijave utvrđena istina, a druga je polovica pripadala šibenskoj općini. Nadalje je propisano da mesari u mesnici moraju držati strogo određene utege. Tako su se nadglednici mjera morali revno pobrinuti da svaki mesar ima i drži u mesnici svoje vage i utege kojima će vagati meso, a u slučaju

protivnih radnji plaćali su šibenskoj općini u ime globe 20 solda malih denara svaki i za svaki put. Takvu prijavu može učiniti svatko tko može makar samo jednim svjedokom dokazati takvog prijestupnika. Isto tako je propisana kazna za one koji su iznosili meso izvan mesnice. Navedeno je da se ni jedan mesar ili prodavač mesa ne smije usuditi niti drznuti nositi meso izvan mesnice, kući ili na drugo mjesto i ako se ne bi meso moglo prodati isti dan, nego mora ostati u mesnici, i to pod prijetnjom kazne od 40 solda za svakoga koji protivno uradi. Izuzev ako iza toga dana slijedi dan kad se ne jede meso, jer tada se meso može navečer nositi izvan mesnice radi pohrane, ali s tim da se poslije ne prodaje nigdje drugdje nego u mesnici. I svatko može tužiti prijestupnike s jednim svjedokom i dokazati kako je naprijed rečeno. Propisano je da mesari ne smiju derati kožu sa životinja izvan mesnice te je dalje navedeno da ni jedan mesar ili bilo tko drugi koji hoće prodavati meso ne smije derati kožu s velikih ili malih životinja, izuzev javno u mesnici, i to pod prijetnjom kazne od 40 solda malih denara za svakoga i za svaki put kada učini protivno, a polovica kazne išla je tužitelju. Mesar i prodavatelj mesa mogu ipak za jelo svog kućanstva odnijeti meso koje im je potrebno i dovoljno, i ne više. Dalje se govori o kažnjavanju onih koji u mesnici drže prodano meso. Detaljnije se navodi da ni jedan mesar ili prodavatelj mesa ne smije u mesnici držati prodano meso, budući da oni običavaju kupcima mesa govoriti da je meso prodano, i to pod prijetnjom kazne od 40 solda malih denara. Svaki mesar i svaki prodavatelj mesa mora i treba od mesa koje se nalazi u mesnici dati i prodati svakom koji bude tražio jednu libru i više prema volji tužitelja, i to pod prijetnjom kazne od 40 solda malih denara za svakog prijestupnika i za svaki slučaj. Polovica kazne pripadala je zakonitom tužitelju ako je na osnovi njegove tužbe utvrđena istina. Isto tako propisana je cijena svih vrsta mesa. Tako je za cijenu i prodaju mesa određeno

da se meso u mesnici prodaje uz dolje napisanu cijenu: meso škopca, to jest uškopljenog ovna, velika libra šibenske općine po šest denara, kravlje volovsko i teleće meso libra po stranom običaju četiri denara. Također, meso ovce, koze, uškopljenog ovna i neuškopljenog ovna libra po četiri denara, a meso neuškopljenog jarca libra po tri denara. Meso jarića libra po osam denara. Meso janjaca po sedam denara. Iznutrice su se prodavale ovako: glava svake male životinje po osam denara, te želudac svih životinja, cijeli rep s jetrama po osam denara, želudac bilo koje životinje po osam denara svaki zajedno s dijelom loja prema starom običaju. Unutrašnji drob s cijelim jetrama za osam denara. Ipak iznutrice koza i janjaca kao i njihove glave te glave goveda, krava, teluća i njihove iznutrice, zatim iznutrice prasaca i prasica mogu se prodavati bez propisa i onako kako kupci mogu najbolje pogoditi. Nadalje propisana je cijena svježeg i soljenog mesa prasca i prasica. Svinjsko meso prodavalo se uz ovu cijenu: meso neoguljenog muškog prasca libra osam denara, oguljenog prasca libra sedam denara, i to svježe meso ili mlado, meso pak oguljenih svinja po pet malih denara. Isto tako svinjsko meso slabo i najmanje 15 dana sušeno na dimu od muškog praseta prodaje se po 12 denara, a od ženske svinje osušeno, kako je rečeno općinska libra po deset denara. Određeno je da se u nekim slučajevima cijena mesa može povisiti. Tako se navodi da od blagdana Rođenja Gospodnjega sve do prvoga dana korizme i od Uskrša cijeli mjesec svibanj mogu gospodin knez i njegova Kurija zajedno s Vijećem petnaestorice mudrih povisiti prodajnu cijenu mesa onako kako se njima i većini njih bude činilo pravednim. U ostalom vremenu cijena se može povisiti ili mijenjati pa se toga valja pridržavati pod prijetnjom kazne od 40 malih denara za svaki slučaj kada se protivno uradi. Polovica kazne išla je tužitelju ako se tužba dokazala točnom, a svatko je mogao tužiti. Dalje se navodi da se polovica slanog mesa

treba prodavati u mesnici. Navedeno je da nitko od građana, ni mesar ni stranci ne smiju volovsko ili kravlje meso soliti bez prisutnosti nadglednika mjera ili jednoga od njih, pod prijetnjom kazne od pet libara malih denara za svakoga i za svaki slučaj. Sami nadglednici mjera imaju i moraju dati u mesnici na prodaju polovice od toga mesa svježe te dopustiti da se polovica stavi u sol, ali ne više, i na to su nadglednici mjera obvezni pod prijetnjom kazne od 40 solda za svakoga i svaki put, a tužiti može svatko. Propisano je da se životinjama ne smije derati koža prije zornice. Nadalje, navodi se da se ni jedan mesar niti koja druga osoba ne smije usuditi derati kožu s velikih ili malih životinja prije jutarnje zvonjave crkve sv. Jakova pod prijetnjom kazne od 40 solda malih denara za svakoga i za svaki put, i da uvijek kada počnu derati kožu tamo treba biti nadglednik mjera ili više njih. Bez prisutnosti nadglednika mjera ne smiju početi derati kožu pod prijetnjom navedene kazne. Nadglednici mjera obvezni su pravodobno ujutro biti u mesnici nadgledati kako mesari deru kožu te ih optužiti ako u bilo čemu urade protivno, i to pod prijetnjom kazne od 20 solda malih denara za svakoga i za svaki put. U slučaju da nadglednici mjera ili najmanje jedan od njih zanemare doći u mesnicu do drugoga jutarnjeg zvona, mesari mogu derati kožu uz svjedoke, ali su dužni istoga dana tužiti nadglednike mjera koji nisu bili u mesnici za vrijeme jutarnjeg zvona, i to pod prijetnjom kazne od 20 solda malih denara. Isto tako propisano je da se male životinje ne smiju soliti. Navodi se da se ni jedna osoba ne smije usuditi soliti bilo kakve male životinje, pod prijetnjom kazne od 40 soldina malih denara za svakoga, svaki put i za svaku životinju, izuzev za vlastite potrebe. Polovica kazne išla je zakonitom tužitelju ako je na temelju njegove tužbe utvrđena istina. Dalje je propisano da se crknute životinje ne smiju prodavati. Propisano je nadalje da se ni jedan mesar ili koja druga osoba ne smije usuditi ni drznuti u me-

snici prodati crkotine životinja, pod prijetnjom kazne od 40 solda malih denara od kojih polovica ide zakonitom tužitelju i koji neka je drži u tajnosti. Propisano je kažnjavanje prodaje ribe na nedopuštenom mjestu. Navodi se da nitko ne smije prodati ribu drugdje na gatu, ispod palače i u mesnici, pod prijetnjom kazne od 40 solda malih denara i da nitko ne smije istovariti ribu niti pristati, izuzev u općinski gat, pod prijetnjom navedene kazne. Ista je kazna bila ako se riba nosi kući. Iznošenje slane ribe nije podlijevalo toj kazni. Nadalje je propisano da svaki plemić koji prodaje meso u mesnici treba prodati prema propisima. Navedeno je da ako neki šibenski plemić uzme u zakup općinsku mesnicu ili drži klupu za prodaju mesa u toj mesnici, treba i mora prodati meso prema propisima Šibenika. Ako bi, pak, meso prodavao protiv propisa Šibenika, nije mogao dobiti službu suca niti kakvu drugu službu u gradu Šibeniku dvije godine od dana kad je optužen i kad mu je primjereno dokazana krivnja. Osim toga, ne može u roku od dvije godine pred šibenskom vladom niti osobno niti preko drugoga voditi parnicu. Svatko može tužiti, a onaj koji tuži i dokaže barem jednim svjedokom dobra glasa od šibenske općine treba dobiti dvije libre malih denara. Navodi se da mesari moraju prodati bubreg i masnoću s mesom. Tako je svaki mesar bio dužan prodati bubreg i masnoću s mesom pod prijetnjom kazne od dvije libre svaki put kada je protivno urađeno i svatko može tužiti. Propisano je da se kazni svatko tko prodaje meso iznad propisane cijene. U ovom je poglavlju navedeno ako koji mesar ili ubirač potrošarine gradom Šibenikom bude takve nepromišljenosti i drskosti da prodaje meso iznad dopuštene cijene ili učini koju drugu prijavu u toj mesnici s obzirom na meso, na temelju samog čina treba se osuditi na pet libara malih denara koje imaju dati općini za prvi put. Ako se drugi put uhvati u varanju, općini treba platiti 10 libara malih denara, a ako bude i treći

put, treba platiti 25 libara malih denara. Ako se uhvati i četvrti put, neka se zauvijek liši mesnice i neka nikad ne bude ubirač potrošarine i mesar. Isto tako propisano je da mesari prodaju meso utegom od 18 unča. Nadalje, navedeno je da svaki dućandžija, prodavač i ljekarnik ili bilo tko koji drži utege radi prodaje kakve robe, ubuduće ima prodati robu u svojem dućanu utegom od 12 šibenskih unči, a mesari utegom od 18 unča pod prijetnjom kazne od 25 libara malih denara za svakog i za svaki put. Zakupnik mesnice mogao je izabrati dva ribara. Nadalje, navedeno je da zakupnik mesnice i ribarnice za sebe treba izabrati dva ribara koje žele, i to na račun određene zakupnine te ribarnice, i nakon što je zakupnik učinio taj izbor. Mala braća i dominikanci imaju između ostalih ribara izabrati druga dva ribara. Ždrijebom se odlučuje koji će među tim ribarima biti u kojem samostanu. Propisano je da ribari ne prodaju ribu prije negoli gospodin knez zadovolji. Govori se o drskosti ribara koji su tako sramotni da nemaju nikakav obzir prema svojem gospodinu knezu te uskraćuju njemu i njegovu glasniku prodati ribu za onu cijenu za koju drugima prodaju, dok se u drugim gradovima i mjestima rektorima daju u svemu pogodnosti pred drugim osobama. Da bi se zauzdala neprijaznost i drskost tih ribara donesena je odluka da se ni jedan ribar ni prodavatelj ribe ne smije usuditi ni drznuti u one dane kada se meso ne prodaje ili ne jede prodati bilo kakve ribe, velike ili male, prije nego pratitelj ili trabant gospodina kneza, ili koji drugi njegov glasnik, dođe u ribarnicu i preuzme ribu koja je potrebna gospodinu knezu, i to pod prijetnjom kazne od 40 solda za svakoga i za svaki put, od kojih polovica ide općini, a druga polovica zakonitom tužitelju. Ako se glasnik gospodina kneza ne bi mogao sporazumjeti s obzirom na cijenu, tada općinski justicijari prema slobodnoj volji trebaju odlučiti o toj cijeni. Isto tako propisano je da se sir mora kupovati po zardarskoj teškoj libri. Navedeno je da se sir, i na malo i na veliko, mora kupovati i pro-

davati na teškoj libri grada Zadra pod prijetnjom kazne od 25 libara malih denara. Od kazne polovica je išla općini, a druga zakonitom tužitelju (Grubišić, 1982., Džaja i sur., 2013.c).

Krčki statut (1388.) je propisivao cijenu riba koje su se prodavale: kamenice libriće (0,5 kg) 2, bez repa i glave po 1 soldin, golub- libriće 3 po 1 soldinu 1, liganj- libriće 2 bagatina 16, olig-50 za soldin 1, sipe i hobotnice libriće 2 za soldin 1, girice i menule librića i pol za soldin 1. Svaka riba s kosti koja ima manja od libriće po 1 soldin librića, svaka ribe s kosti koja ima preko libriće po soldin 1 i beč. Ribari su morali prodavati ribu kako je propisano, jer je slijedila kazna od 50 libri i 1 mjesec zabrane povlačenja mreža. Jedna libra kozjeg i govedeg mesa stajala je 5 vrniza, ovčje 6, a neuškopljenog i uškopljenog ovna 10. Svaka kozja, ovnovska i ovčja glava i drob stoji 1 solid (Margetić i Strčić, 1988.).

Senjski statut (1388.) je propisivao da je svaki senjski plemić bio slobodan i izuzet od plaćanja bilo kakvog podavanja na životinje koje je prevezio, osim starog uobičajenog podavanja klaonica i mesnica, to jest 4,5 malih soldina za svako govedo, za svaku malu životinju 14 denara, a za svakog janjca ili kozlića 1 soldin. Ovo davanje svaki plemić plaćao je službenicima gospode u mesnici. Mesar nije smio nositi kože iz mesnice bez dozvole službenika mesnice pod kaznom od 24 libre. Mesar koji je držao u mesnici lažnu mjeru plaćao je 24 libre, a za lažni uteg 6 libara. Suci na vlasti svaki su tjedan u četvrtak trebali imati 2 libre mesa od mesara, ili 4 u novcu godišnje. Isto tako, mesari su morali svakome tko je tražio, prodati meso koje je držao na klupi dok ga je trajalo, pod prijetnjom kazne za suprotno. Za uvezene žive prasce plaćao je u mesnici i plemić i građanin 3 soldina za podavanje, a za usoljene prasce ništa. Plemić je mogao dati u mesnicu zaklati svoje životinje i s manama bez ikakva podavanja. Suci su uz plaću od mesnice, odnosno takse na mesnicu imali po 6 libara u mesu (Margetić, 2007.b).

Statut grada Trogira (1322.) je propisivao da su oni koji su prodavali meso morali prodavati libru volunjskog mesa ili kravljeg mesa po 2 mala denara, a ne skuplje, libru mesa određenog prasca po 4 denara, a neoderanog po 5, libru mesa oderane krmače po 3, a neoderane po 4 denara, libru mesa uškopljenog ovna po 4 denara, libru usoljenog mesa krmače po 5 denara, četvrt ovce, koze, ovna, jarca, škopca po 28 denara, glavu sitnih životinja po 6 denara, utrobu s krvlju i noge po 6 denara. Nijedan prodavatelj nije smio uskratiti prodaju vaganjem bilo u većoj ili manjoj količini i nije smio odbiti rezati na četvrtine mesa drugih životinja ili tri dijela, samo jedan dio četvrti već prema tome što su siromašnije osobe željele kupiti. Tko je drugačije postupio plaćao je globu. Komuna je bila dužna dati daske na kojima se prodavalo meso.

Nijedan građanin ili stranac nije smio kupovati na mostu vage ili njegovoj blizini kojeg škopca ili neku drugu životinju da bi je izvezao iz grada pod prijetnjom kazne. Meso se moglo prodavati samo u mesnici, a tko se ponašao suprotno činio je prekršaj. Jedino je svatko mogao prodavati suho ili usoljeno meso drugdje, a ne u mesnici s tim da je to radio s dopuštenjem onoga tko je uzeo u zakup nplatu. Nitko nije smio kupovati jarebice, zečeve, kuniće, kokoši, piliće, jaja, radi preprodaje.

Svi građani i stranci koji su kupovali neku životinju od onih čije se meso jede, bili su dužni tu životinju prodavati ili dati da se prodaje namalo u mesnici trogirске komune. Ako te životinje od stijena Pantona do joha, ili od spomenutih stijena Pantana prema jugu do drugog dijela ili strane otoka Čiova koliko pogled seže preko mora, i od spomenutih joha prema vratima sv. Ciprijana na otok Čiovo plaćali su kaznu 5 libara za svaku životinju i svaki put.

Ribari i građani koji su stanovali u Trogiru morali su ubuduće komuni platiti šesti dio od donesene ribe, a stranci su morali plaćati osmi dio. Ribari koji

su prodavali ribu drugdje bili su dužni platiti šesti dio ribe ili novca pošto ribom pristignu u Trogir. Zakupnik je svoj dio dobivao u novcu, ako su ribari prodali svu ribu. Kad zakupnik svoj dio dobije u ribi dužan je taj dio prodati pod uvjetom da se prodaju isti dan kad pristignu u trogirsku luku. Nikakvu ribu nije smio soliti niti dati da se soli niti je pohraniti i odnijeti kući ili na neko drugo mjesto. Onog dana kada je riba donesena u luku dužni su i morali su je prije nego počnu prodavati, iskrcati na mjesto gdje se riba smjela prodavati. Prodavatelji ribe nisu smjeli imati ništa na glavi i morali su stati. Zbog nestašice mesa u Trogiru se naređivalo se da se meso moglo prodavati samo vaganjem i u mesnicama i to ono koje je bilo 6 parvula, prodavalo se po 8, a ono meso koje se prodavalo po 9 parvula prodavalo se za 1 solid i tako razmjerno i ostale vrste (Rismondo, 1988.).

Poljički statut (1440.) je propisivao da tko god je prodavao meso u mesnici gdje god hoće u kotaru poljičkom, ako nije postojao koji drugi ugovor, kao što je „razjam“ ili drugi koji dogovor, već ga je prodavao na vagu, morao ga je prodavati na propisan način, a ne skuplje. Meso uškopljenog ovna prodavalo se funta po soldin, meso od mladog uškopljenog kozletka moglo se prodavati po 10 novčića, mlada junad do 2 godine mogla se prodavati po 10 novčića. Meso mladog uškopljenog ovna prodavalo se funta po soldin. Meso šilježice do godine dana moglo se prodavati po cijeni za ovna. Jarice do godine dana mogle su se prodavati po cijeni za mlado uškopljeno kozle, a nijedno drugo meso nije se smjelo prodavati skuplje od 8 novčića. Onaj tko je meso prodavao skuplje kažnjavao se s 5 libara uz oduzimanja mesa kojeg je prodavao. Polovica oduzetog mesa davala se je prijavitelju, druga polovica službenicima koji su ga zaplijenili, polovica kazne davana je općini, a druga polovica sucima i službenicima koji su ubirali kaznu. Ako se radilo o kmetiću, onda je davano pola njegovu gospodaru, a ostalo općini, su-

cima i službenicima. Za svinjsko meso je isto vrijedilo. Oni koji su prodavali meso 3 dana o Božiću i 3 dana o pokladama mogli su ga prodavati odoka, bez vagnja, ali inače ne. Na trgu se nije smjelo prodavati nezdravo meso ili crkotine ili na drugi način sumnjivo, pod prijetnjom spomenute kazne od 5 libara.

Volujsko i kozje meso nije se smjelo prodavati skuplje nego orljak. Mesari nisu smjeli izrezati bubrege, a tko je skuplje prodavao spomenuto meso ili otkinuo bubrege, na njega je mogao svatko koji se pri tome našao, podići ruke da razgrabi meso. Jareće meso moralo se prodavati po 5 beči, a ne drugačije. Tri dana po Božiću i pokladama pošto se može (Pera, 1988.).

Statut paške općine (1433.) je propisivao da nijedna osoba nije smjela prodavati ribu na drugome mjestu osim u paškoj ribarnici, pod prijetnjom globe od 40 denara i gubitka ribe. Nitko nije mogao istovariti ribu, odnosno pristati, osim u općinskom molu, pod prijetnjom iste kazne. Isto tako nije se smjelo početi s prodajom dok se nije istovarila sva riba, te se nije smio usuditi dijeliti ribu nigdje drugdje osim u ribarnici ili na paškom molu. Nije se smjelo izvoziti namirnice s Paga bez obzira na koji se one način našle na otoku Pagu bez posebnog dopuštenja gospodina kneza. Tko je to prekršio plaćao je globu od 20 denara uz gubitak robe.

Kada je u Pagu bila potreba za nekim namirnicama radi održavanja ljudskih života, onaj tko je stao u neko pristanište otoka Paga s rečenim namirnicama, bio je prisiljen i morao se prisiliti da dođe u Pag da ih tu istovari i prodaje što je bolje mogao po svome nahodjenju. Propisano je da tko god je dovezao kakve namirnice na paški mol ili pristanište Kremenac radi prodaje, tj. vino, pšenicu, raž i druge namirnice za ljudsku uporabu nije ih mogao nikome prodati u cijelom, odnosno na veliko, ako se prije toga 3 dana nije javno prodavala na malo. Prekrši li tko ovo i tu robu ili nešto od njih na taj način, odnosno na veliko kupi, obvezan ih je kroz 3 dana prodavati na malo, po onoj cijeni za

koju je robu kupio. Bude li prodavao po višoj cijeni kažnjavao se uz gubitak robe. Ako mu nakon tri dana nešto ostane, bio je slobodan prodavati po vlastitom nahođenju. Bilo koji Pažanin mogao je slobodno i bez ičijeg protivljenja dognati i dati dognati životinje u bilo kojem broju i bilo kojeg stanja na otok Pag u klaonicu i mešnicu te ih prodavati u klaonici pojedincima kako mu se sviđalo. Tko god je lovio skuše u Caskoj nije ih smio ni smicalicom izvesti ili odnijeti s područja Paga, niti ih gdje drugdje prodati osim u Pagu, a nitko ih nije smio ni kupiti u velikoj količini radi izvoza (Čepulo, 2011.).

Zakon grada Kastva (1400.), prijevod Statuta s njemačkog jezika (1569.) gdje se meso škopca prodaje po 5 beči, a kozletina i jaretina po 3 te da su rečeni bekari obvezni dati najprije meso gospodinu kapetanu i ordinirajućem sucu i starijem kancelaru. Bekar ili mesar koji bi dali krivu mjeru plaćali su kaznu (Margetić, 2007.c).

Statut grada Bala (1477.) -/Riječki rukopis / je propisivao da je svaka osoba koja priprema otrovnu hranu koju je davala preko nekog drugog drugome da je pojede ili popije pa se ta osoba otruje hranom i umre ili postane luda, tada se ta osoba koja je pripravljala takvu hranu vješala za vrat da na taj način umre, a žena je spaljivana. Ako je neko pripravljao hranu da bi je nekome dao, ali je nije dao te je to dokazano svjedocima, onda se toj osobi stavljao žig uz bičevanje po cijeloj tvrđavi i kaštelu Bala.

Nijedna osoba, bilo kakvog položaja, nije se smjela usuditi uništiti košnicu pod kaznom od 10 dukata do 10 košnica, a preko 10 odrezana mu je desna ruka uz plaćanje štete.

Nijedna osoba nije smjela prodavati ovčje meso kao meso kastrata, niti kozje meso kao ovčje meso niti prodavati zamijenjeno bilo koje meso pod kaznom od 40 malih soldina.

Onaj tko je prodavao sir ili skutu izvan mjesta trebao je platiti na ime mitnine općini ili cariniku 4 mala soldina po libri sira ili skute. Za svaku libru vune koja se

iznosila plaćao je 2 mala soldina po libri vune. Za med, vosak, pripremljene kože 1 soldin za libru. Meso se prodavalo po sljedećim cijenama: svinjsko meso 1 soldin za libru, meso mladih kastrata po 16 soldina za libru, meso janjadi i kozladi do konca mjeseca svibnja 14 malih soldina za libru, a od tog vremena dalje po 1 soldin za libru, teleće meso do svetkovine sv. Mihovila u rujnu 14 soldina za libru, a dalje po 1 soldin za libru.

Svako meso koje se prodavalo na vagi u Balama trebalo je mitničaru platiti za svaku libru težine 1 mali soldin. Ovo se nije odnosilo na meso posoljenih prašćića koje dolazi iz stranih mjesta za koje se nije plaćala nikakva carina (Margetić, 2007.b).

Mošćenički statut (1483.) je propisivao da su se mesari koji su prodavali nezdravo meso kažnjavali sa 6 libara, a onaj koji je davao krivu vagu za mjerenje mesa kažnjavao se s 8 libara. Mesarima je naređeno da je gospodina kapetana, njegova upravitelja, gospodina župnika, časno svećenstvo, župane i starije trebalo poštivati i prema časti priznavati da mogu kupiti meso.

Zagrebački tekst Mošćeničkog zakona (1637.) regulirao je prema Riječkom rukopisu obveze općinara prema feudalnom gospodarstvu, a koje su bile u desetini sitne stoke i pčela. Zagrebački rukopis navodi puno više obveza uz desetinu sitne stoke i pčela, da je trebalo predati kožu ubijenog vuka ili medvjeda. Prema Riječkom urbaru iz 1400. g. utvrđene su individualne i općinske obveze u koje su spadale 1 marka (umjesto 1 svinje, 1 libre voska, 1 mjerice papra), 1 govedo ili 0,5 marke i 3 jareta ili ovce. Zagrebački tekst pisan je za potrebe Isusovačkog kolegija u Rijeci, a riječki tekst za potrebe Mošćeničke općine (Margetić, 2006.).

Trsatski zakon (1640.) je propisivao da su bekari morali prodavati meso na jednom mjestu blizu crkvene kuće (Margetić, 2007.c).

Ugovor Petra Zrinskog s Bakranima (1642.) je propisivao da ako je netko prodavao kože vučje, lisičje ili bilo koje druge vrste koje su pripadale Zrinskim, plaćao

je kaznu od 25 dukata. Kože je trebalo nji-ma uručiti prema staroj cijeni, a četvrtinu mesa trebalo je dopremiti u grad. Ribari su davali desetinu od usoljenih riba (Margetić, 2007.a).

Ugovor Petra Zrinskog s Grobničanima (1642.) je propisivao da su žene koje su trebale presti gospoštijску vunu to radile za plaću. Mesari su morali davati glavu životinje koju su klali. Goveđe meso trebali su uvijek sačuvati za „nas, ako smo prisutni“, po utvrđenoj cijeni. U Rječini nitko nije smio ribariti pod prijetnjom kazne. Kože risova, medvjeda, kuna, vukova, jelena i lisica, kao i drugih divljih životinja, koje su im pripadale nisu se smjele drugamo prodati pod kaznom od 25 dukata, one su im se morale predati uz uobičajenu cijenu, a četvrti dio mesa se predavao (Margetić, 2007.a).

Hreljinski urbar (1700.) je propisivao da od ulova ribe gospoštiji je pripadala deseta libra od svega, a nakon toga se dijeli po polovici, jedna je pripadala ribarima, a druga polovica naprijed navedenim suvlasnicima. Sudionici su bili dužni razmjerno snositi sve troškove, a ribari štiti i popravljati mreže na vlastiti trošak. Ribari su nadalje bili obvezni prodati svoj dio gospoštiji. Hreljinski podložnici dužni su u vrijeme diobe sira na dan sv. Roka dati za nadzor sa strane kaštela jedan cijeli sir, ali nešto manji od uobičajenog, i to od svakog stada koje su imali te godine. Za košnju i sabiranje sijena gospoštija je bila dužna dati opskrbu svakom kaštelu 312 pogača kruha, 156 bokala vina te 52 libre mekog sira. Svi hreljinski podložnici dužni su nositi med u bakarsko pristanište za račun gospoštije, a oni su ga plaćali libru s 5 solda. Lov divljači pripadao je gospoštiji koja je za kamenjarku plaćala 12 solda, jarebicu 8 solda, zeca 12 solda. Kad se ubila divlja svinja, isti je bio dužan donijeti gospoštiji glavu i komad za pečenje, od medvjeda je pripadala gospoštiji glava, šape i komad za pečenje te koža koja se plaćala prema vrijednosti. Ako je ubijena lisica i kuna, obvezni su bili donijeti kože gospoštiji koja su plaćali za svaku dobru lisičju i kuninu kožu 3 libre, a za svaku dobru vuč-

ju kožu 6 libri. Jezici volova ili krava koje su klali i prodavali u mesnici ili drugdje pripadali su gospoštiji, a njih je trebao dobiti kaštelan (Margetić, 2007.a).

Bribirski urbar (1700.) je propisivao da u slučaju posjeta zemaljskog gospodara, njegovi komisari i viši službenici kada dođu u rečeni kaštel, narod je bio obvezan dati pomoć za kuhinju mesom kastrata, peradi, jaja i divljači, a oni koji su vješti s puškom trebali su se pobrinuti za divljač. Kada su bribirski podložnici ubili koju kamenjarku ili jarebicu dužni su ih bili donijeti gospoštiji koja im je za svaku kamenjarku davala 12 solda, a za jarebicu 8. Podložnicima je bio zabranjen lov zečeva, ali ako se to dogodilo morali su zeca donijeti gospoštiji koja je za njega davala 12 soldi. U slučaju da je podložnik ubio divlju svinju, obvezan je bio donijeti gospoštiji glavu i od toga dobar komad mesa za pečenje. Ako je ubio medvjeda morao je gospoštiji donijeti šape, odnosno noge, a od mesa dobar komad za pečenje kao i kožu. Kožu im je trebalo platiti prema vrijednosti. U slučaju da su ubili lisicu, kunu, kunu bjelicu bili su dužni donijeti gospoštiji kože, a ako su dobre plaćane su po 3 lire, a za svaku vučju kožu koja je dobra plaćalo se 6 lira. Svi bribirski podanici bili su dužni nositi med u bakarsko pristanište koji je plaćan za libru 5 solda. Lov tune u mjestu koje je pripadalo gospoštiji, jedna trećina ulova išla je ribarima, a ostala dva dijela gospoštiji. U drugoj luci polovica ulova pripadala je gospoštiji, tj. tri djela od polovice Kukuljancima, a polovica je pripadala ribarima. Ribari koji su ribarili na određenim mjestima gospoštiji su davali desetinu ulova, a na drugim mjestima dvadesetinu. Podložnici ribari dužni su dati gospoštiji u utorak, petak i subotu kao i one dane koji prethode blagdanima tijekom cijele godine kao i sve dane četrdesetice, odgovarajući dar riba. U slučaju posjeta više vlasti svaki je ribar bio dužan loviti i dati ribu kamo službenik naredi (Margetić, 2007.a).

** Autori su koristili terminologiju povjesnih razdoblja koja su u radu izučavali.*

Sažetak

U istraživanim srednjovjekovnim statutima navode se pravila postupanja mesom, ribom, sirom, kožom i medom. Ovi statuti posebnu važnost daju prodaji proizvoda životinjskog podrijetla određujući cijenu mesa (ovisno o vrstama, dobi, ugojenosti životinja, datumu prodaje), sira, pojedinih životinja (Korčulanski statut, Lastovski statut, Statut grada Splita, Rapski statut, Hvarski statut, Mljetski statut, Krčki statut, Senjski statut, Statut grada Trogira, Poljički statut, Zakon grada Kastva, Statut grada Bala, Mošćenički zakon.). Neki statuti navode da se meso moglo prodavati samo u mesnicama uz obvezno vaganje, a u suprotnom su bile predviđene kazne (Korčulanski statut, Statut grada Splita, Hvarski statut, Senjski statut, Statut paške općine, Poljički zakon, Statut grada Bala, Mošćenički statut, Trsatski zakon) te se navodi da prodavatelji pri prodaji ribe nisu smjeli ništa imati na glavi te su morali biti u stajaćem položaju (Rapski statut, Hvarski statut, Statut grada Trogira). Statut grada Splita propisivao je da nitko nije smio prodavati u mesnicama crkotine pod prijetnjom kazne, a u Rapskom statutu je naređeno da u slučaju da su životinje bile bolesne zbog neke bolesti ili slabosti na njuški ili na neki drugi štetni način, nisu mogle i nisu se smjele te bolesne životinje preuzeti, ili odmaknuti s mjesta gdje su se nalazile, niti su se smjele nositi niti voditi ni na koji način osim u klaonicu. Nitko nije smio u ribarnicu nositi za prodaju smrdljive ribe bez dopuštenja Kurije pod prijetnjom kazne i gubitka riba. Hvarski statut je propisivao da netko tko je prodavao meso uginule životinje, zbog njena uginuća plaćao je polovicu spomenutih iznosa. Jedino meso uginulih životinja ne mora se nakon uginuća prodavati u mesnici, već se to meso moglo prodavati i na drugom mjestu izvan klaonice bez ikakve kazne. Krčki statut je dopuštao plemiću da može u mesnici zaklati svoje životinje i s manama bez ikakva podavanja, a Poljički zakon nije dopuštao na trgu prodavati nezdravo meso ili crkotine ili na drugi način sumnjivo, pod prijetnjom spomenute kazne od 5 libara. Od ulovljene ribe plaćala se, ovisno o kojem se statutu radi, porez (daća) od šestine, osmine, desetine do dvadesetine od ulovljene ribe uz strogo reguliranje mjesta prodaje ribe. U Splitu gabela je poseban porez na živežne namirnice u Balama mitnina, a u nekim statutima spominje se daća (davanja).

Literatura

- BATOVIĆ, Š., J. KOLANOVIĆ i S. OBAD (1997): Ogranak MH, Zadar i Hrvatski državni arhiv.
- CVITANIĆ, A. (1968): Srednjovjekovni statut bračke komune. Supetar.
- CVITANIĆ, A. (1994): Lastovski statut. Književni krug Split.
- ČEPULO, D. (2011): Statut paške općine. Matica Hrvatska Pag.
- DŽAJA, P., K. SEVERIN, Ž. GRABAREVIĆ, D. AGIČIĆ, I. VRANJEŠ. i E. ŠATROVIĆ (2014): Statut grada Dubrovnika iz 1272.g. o životinjama i životinjskim proizvodima i veterinarska služba u starom Dubrovniku. Hrvatski vet. vjesnik 22, 42-46.
- DŽAJA, P., K. SEVERIN, D. AGIČIĆ, J. MIHALJ, J. STOJANOVIĆ, A. LOKIN i Ž. GRABAREVIĆ (2013a): Korčulanski statut o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 21, 43-47.
- DŽAJA, P., K. SEVERIN, D. AGIČIĆ, J. MIHALJ, M. KAJGANIĆ i Ž. GRABAREVIĆ (2013b): Statut Bračke komune o životinjama i životinjskim proizvodima. Hrvatski vet. vjesnik 21, 59-64.
- DŽAJA, P., K. SEVERIN, D. AGIČIĆ i Ž. GRABAREVIĆ (2013c): Zadarski statut sa svim reformacijama, odnosno novim uredbama donesenim do godine 1563. o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 21, 41-44.
- DŽAJA, P., K. SEVERIN i Ž. GRABAREVIĆ (2013d): Splitski statut (1312.) o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 21, 60-63.
- GRUBIŠIĆ, S. (1982): Knjiga Statuta Zakona i reformacija grada Šibenika. Tisak Nikola Moretti, 1608.
- MARGETIĆ, L. (2006): Srednjovjekovni zakoni i opći akti na kvarneru-Knjiga prva: Mošćenički zakoni i statuti. Zavod za kaznene znanosti Mošćenice Pravnog fakulteta u Rijeci, Adamić, Rijeka.
- MARGETIĆ, L. (2007a): Srednjovjekovni zakoni i opći akti na kvarneru. Knjiga treća: Grobnik, Bakar, Hreljin, Grižane, Bribir, Vinodol. Zavod za kaznene znanosti Mošćenice Pravnog fakulteta u Rijeci, Adamić, Rijeka.
- MARGETIĆ, L. (2007b): Statut grada Bale. Adamić, Rijeka.
- MARGETIĆ, L. (2007): Srednjovjekovni zakoni i opći akti na kvarneru. Knjiga treća: Veprinac. Kastav i Trsat. Adamić, Rijeka 2007.
- MARGETIĆ, L. i P. STRČIĆ (1988): Krčki (Vrbanski statut) iz 1388.
- PERA, M. (1988): Poljički statut. Književni krug Split.
- PETRINOVIĆ, I. (2002): Mljetski statut. Književni krug, Zavičajni klub „Mljet“ Split-Dubrovnik.
- PRIJATELJ, K. (1995): Korčulanski statut. Književni krug Split.
- RISMONDO, V. (1987): Statut grada Splita. Književni krug Split.
- RISMONDO, V. (1988): Statut grada Trogira. Književni krug Split.
- RISMONDO, V. (1991): Hvarski statut. Književni krug Split.
- ŠOLJIC, A., Z. ŠUNDICA i I. VESELIĆ (2002): Statut grada Dubrovnika. Dubrovnik.

Some Medieval Statutes about Animals and Animal Products (part IIIb)

Petar DŽAJA, DVM, PhD, Full Professor, Krešimir SEVERIN, DVM, PhD, Assistant Professor, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor; Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Damir AGIČIĆ, DVM, Veterinary Office Slavonski Brod; Ana DŽAJA, BSc, Master of Engineering Ecoengineering, M SAN Eko

The investigated medieval statutes listed the rules of procedure concerning meat, fish, cheese, leather and honey. These statutes give particular importance to the sale of products of animal origin, determining the price of meat, cheese and individual animals. Some statutes report that meat could be sold only at butcher shops with compulsory weighing, otherwise a punishment was levied (Statute of Korčula, Statute of the City of Split, Statute of Hvar, Statute of Senj, Statute of Pag Municipality, Poljica Law, Statute of Bale, Statute of Mošćenica, Statute of Trsat), while other statutes stated that sellers could not wear anything on their head and had to be in a standing position when selling fish (Statute of Rab, Statute of Hvar, Statute of Trogir). The Statute of Split provided that carcasses could not be sold in butcher shops on threat of penalty. The Statute of Rab ordered that if animals were sick due to disease or infirmity, they were not permitted to be taken away or moved from their current location. Taking smelly fish for sale to the fish market was not

permitted without the consent of the Curia under threat of penalty and loss of fish. The Statute of Hvar provided that if one was to sell the meat of dead animals, he had to pay half of these amounts. Poljice law did not allow the sale of unhealthy meat or carcasses on the market. The Krk Statute permitted noblemen to slaughter their animals with flaws in butcher shops without any charge, while the Poljička law did not permit the sale of unhealthy meat or suspicious meat or carcasses on town squares, with the threat of a penalty of 5 libre. For fisheries, depending on which statute was in effect, a tax of one-sixth, one-eighth, one-tenth or one-twentieth of the catch was paid, with strict regulations regarding the place of sale of fish. In Split, the special tax on foodstuffs was called *gabela*, in Bale *mitnina* and some statutes mentioned the term *daća* (giving). Depending on the Statutes, the tax was paid in the amount of a sixth, eighth, tenth to twentieth part of the caught fish.

Drugi godišnji sastanak veterinarskih ekonomista i epidemiologa udruženih u NEAT projekt



Marina Pavlak

Drugi godišnji sastanak veterinarskih ekonomista i epidemiologa koji sudjeluju u projektu NEAT održan je u Wageningenu, u Nizozemskoj 14. i 15. listopada 2014. godine.

NEAT (Networking to enhance the use of economics in animal health education, research and policy-making in Europe and beyond) je projekt koji povezuje stručnjake iz područja veterinarske ekonomike i epidemiologije s ciljem **poboljšavanja edukacije veterinaru iz područja ekonomike zdravlja životinja**. Projekt je zamišljen kao jedna akademska mreža koja za cilj ima povezati, ujediniti i poboljšati znanja i vještine iz ekonomike zdravlja životinja u obrazovanju doktora veterinarske medicine na sveučilištima diljem Europe i šire. S tim ciljem definirane su strateške i operativne smjernice: 1. Uspostaviti suradnju između ustanova i organizirati mrežu svih veterinarskih sveučilišta i fakulteta s ciljem izmjene informacija vezanih za kurikulume iz područja ekonomike zdravlja životinja; 2. Identificirati nastavu i obuke na diplomskim i poslijediplomskim studijima na veterinarskim fakultetima kao i trajnu profesionalnu edukaciju veterinaru iz područja ekonomike zdravlja životinja; 3. Razviti nastavne planove i programe, sadržaje predmeta za diplomske, poslijediplomske studije veterinarske medicine kao i trajne edukacije veterinaru te dati preporuke

i smjernice pri uvođenju kurikuluma iz područja veterinarske ekonomike i epidemiologije na veterinarskim sveučilištima i fakultetima gdje to ne postoji i poboljšati i unaprijediti već postojeće kurikulume na fakultetima na kojima se provodi edukacija studenata i veterinaru iz ekonomike zdravlja životinja.

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu jedan je od manjeg broja fakulteta koji u svom kurikulumu diplomskog kao i poslijediplomskih studija ima nekoliko predmeta iz područja veterinarske ekonomike i epidemiologije kao i ekonomike zdravlja životinja, a koje izvode nastavnici Zavoda za veterinarsku ekonomiku i epidemiologiju. Upravo zbog toga, a što s ponosom možemo istaknuti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i Zavoda za veterinarsku ekonomiku i epidemiologiju sa svojim djelatnicima sudjeluje kao dio uprave (menadžmenta) projekta i kao core partner, tj. voditelj radnih paketa projekta (workpackages) zajedno s eminentnim veterinarskim institucijama kao što su Royal Veterinary College (nositelj projekta i glavni koordinator), Wageningen University (WU), The Netherlands, Utrecht University The Netherlands, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Institute of Epidemiology, Germany, Agrifood Research Finland (MTT), Finland, Institut National Polytechnique - Ecole Nationale

Dr. sc. Marina PAVLAK, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb



Slika 1. Sudionici sastanka ispred zgrade tzv. Foruma Sveučilišta u Wageningenu gdje se sastanak održavao



Slika 2. Aktivnosti tijekom sastanka organizirane su u obliku radionica s manjim brojem sudionika

Vétérinaire de Toulouse (INP-ENVT), France, University of Bologna (UNIBO), Dept of Agricultural Economics and Engineering /Unit/Group, Italy, Norwegian School of Veterinary Science (NVH), Centre for Epidemiology & Biostatistics, Norway Norwegian School of Veterinary Science (NVH), Centre for Epidemiology & Biostatistics, Norway. Projekt ukupno ima 60 partnera kojima su i definirane zadaće koje uz potporu voditelja radnih skupina (workpackage leaders) ostvaruju svoje zadatke.

Projekt je započeo 2012. godine i traje tri godine. Od početka projekta pa do odlaska u mirovinu, voditelj našeg projektnog tima, bio je prof. dr. sc. Marko Tadić. Nakon odlaska profesora Marka Tadića u mirovinu, voditelj tima je doc. dr. sc. Denis Cvitković. Na

godišnjem sastanku u Wageningenu koji se je održao 14. i 15. listopada 2014. godine prisustvovali su doc. dr. sc. Denis Cvitković i prof. dr. sc. Marina Pavlak.

Oko 90 sudionika iz cijele Europe i diljem svijeta sastali su se zajedno u cilju provođenja glavne zadaće projekta, a to je procijeniti kako organizirati i ugraditi ekonomiku zdravlja životinja u studije veterinarske medicine, odnosno kako poboljšati već postojeće programe. Na skupu se raspravljalo o ulozi veterinaru u procjeni zdravlja i proizvodnje stada. Raspravljalo se i pokušalo definirati koje vještine iz područja ekonomike bi veterinar trebao upoznati i svladati kako bi mogao u potpunosti odgovoriti na potrebe i izazove današnjeg proizvođača. Raspravljalo se o poboljšavanju edukacije i različitim potrebama za edukacijom veterinaru iz područja ekonomike zdravlja životinja i veterinarske ekonomike.

Sastanak je organiziran u obliku paralelno održavanih radionica s manjim brojem sudionika i kao plenarne sjednice. Na radionicama su gosti studenti diplomskih i poslijediplomskih studija veterinarske medicine testirali izrađeni materijal. I ostali su sudionici, u ulozi različitih aktera u stočarskoj proizvodnji i s različitih gledišta na potrebe veterinarske ekonomike (veterinari u maloj praksi, veterinari u velikoj praksi, stočari) testirali pripremljene edukativne



Slika 3. Jedna od plenarnih sekcija održanih na sastanku

materijale i definirali potrebe. Cilj je radionica bio odgovoriti na pitanje: Zašto trebamo nastavu iz ekonomike u veterinarskim nastavnim planovima i programima?

Prikupljene su povratne informacije iz svake testirane skupine i o njima se raspravljalo. Rezultati, kako je domaćin sastanka prof. dr. sc. Henk Hogeveen izjavio, bit će „vjerojatno najtemeljitiji testirani nastavni materijal ikada“. Dobiveni su vrlo zanimljivi osvrti studenata i odgovori na postavljeno pitanje: Zašto trebamo nastavu iz ekonomike u veterinarskim nastavnim planovima i programima? Jedno od razmišljanja studenata je bilo da potreba za ekonomskim znanjem izlazi iz komunikacije veterinarima sa sudionicima u stočarskoj proizvodnji, koji bi trebao imati spoznaje o osnovnim ekonomskim metodama kako bi zajedno s proizvođačima i ekonomistima mogao zajednički raditi na unaprjeđenju

zdravlja životinja. Nadalje, zanimljivo je i razmišljanje da ekonomsko znanje može pomoći veterinarima u raspodjeli resursa i može se koristiti kao koristan alat za odlučivanje o raspodjela tih resursa, kako u veterinarskim klinikama, veterinarskim stanicama i ambulancama, tako i na regionalnoj razini.

Sastanak je završio s dvije pozvane prezentacije koje su se odnosile na način izvođenja nastave iz ekonomike zdravlja životinja na nekim veterinarskim fakultetima i prezentiran je kurikulum veterinarske medicine na Sveučilištu u Utrechtu u Nizozemskoj kao jednom od vodećih veterinarskih fakulteta u Europi. Posebni naglasak je stavljen upravo na predmete vezane za veterinarsku ekonomiku, ekonomiku zdravlja životinja i epidemiologiju.

Sve u svemu, drugi je godišnji sastanak bio vrlo produktivan. Zaključak sastanka je bio da će se raditi i dalje na evaluaciji obrazovnog materijala, poboljšavanju komunikacije i širenje iskustva i edukativnog materijala među svim sudionicima projekta, ali i šire. Rezultati cjelokupnog projekta zajedno s preporukama bit će poslani i svim relevantnim institucijama kao i zainteresiranim subjektima u Europi i šire.

Svi dodatni detalji o projektu i njegovim postignućima i rezultatima na području ekonomike zdravlja životinja mogu se vidjeti i pročitati izravno na stranicama projekta: <http://www.neat-network.eu/>.



Slika 4. Voditelj projekta doc. dr. sc. Denis Cvitković u zajedničkom druženju s nekim od sudionika sastanka. (Lijevo: Tim E. Carpenter, desno: Maurizio Aragrande)

Double-Ovsynch protokol (Složeni GnRH protokol)



TJEDAN	Ponedjeljak	Utorak	Srijeda	Četvrtak	Petak	Subota	Nedjelja
1.					Gonavet Veyx		
2.					PGF Veyx forte		
3.	Gonavet Veyx						
4.	PGF Veyx forte		Gonavet Veyx	U.O. (TAI*) 16 - 24 h			

Ovsynch

TJEDAN	Ponedjeljak	Utorak	Srijeda	Četvrtak	Petak	Subota	Nedjelja
1.	Gonavet Veyx						
2.	PGF Veyx forte		Gonavet Veyx	U.O. (TAI*) 16 - 24 h			

+ TAI - Time Artificial Insemination, fiksno vrijeme osjemenjivanja



Veterinarska stanica d.d. Varaždin - obilježavanje dana osnivanja Veterinarske stanice Varaždin



Marijan Sabolić

Lijepom svečanošću Veterinarska stanica Varaždin svake godine obilježava dan svojeg osnivanja. Prilika je to da se ukratko rezimira protekla godina, a

potom nastavi ugodno druženje koje zna potrajati do ranih jutarnjih sati. Tako je bilo i 1996. godine.



Na slici, s lijeva na desno: mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet., Srećko MAJNARIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Zorana SEDLANIĆ, dr. med. vet. i Ninoslav PAVLIĆ, dr. med. vet.

mr. sc. Zorana SEDLANIĆ, dr. med. vet. i mr. sc. Marijan SABOLIĆ dr. med. vet.

Mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Varaždin

In memoriam – prof. dr. sc. Ivo Karadjole



Početak 2015. godine, 8. siječnja, zauvijek nas je napustio prof. dr. sc. Ivo Karadjole. Posljednje mjeseci njegova života obilježila je teška bolest s kojom se nosio hrabro, samozatajno dijeleći teške trenutke sa svojom obitelji. Na groblju Mirogoj, osim sinova, unuka i šire obitelji, od prof. Karadjole oprostio se veliki broj prijatelja, kolega i suradnika.

Prof. dr. sc. Ivo Karadjole je tijekom 42 godine neprekinutog rada dao veliki doprinos nastavnoj, znanstvenoj i stručnoj djelatnosti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Generacije studenata pamte ga kao ozbiljnog, odmjerenog i zahtjevnog profesora „Stočarstva“. U nastavnom procesu držao je visoko ljestvicu kvalitete prije svega za svoja predavanja, seminare i vježbe, a onda i za znanje studenata na ispitima. Kao znanstvenik i stručnjak,

prof. Karadjole se potvrdio aktivnim i plodonosnim radom u području uzgoja, selekcije i proizvodnje životinja, osobito preživača.

Životni put prof. dr. sc. Ive Karadjole vezan je uz Zagreb, u kojem je rođen 16. studenog 1943. godine. Nakon osnovne škole i gimnazije, 1962. upisao je Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem je diplomirao 1967. Prvo radno mjesto na istom Fakultetu dobio je u Zavodu za histologiju, embriologiju i anatomiju, najprije kao honorarni asistent, a kasnije kao stipendist Fonda za znanstveni rad. U tom vremenu apsolvirao je postdiplomski studij iz histologije i embriologije. Od 1. lipnja 1969. radi kao asistent u Zavodu za stočarstvo Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u kojem ostvaruje uspješnu sveučilišnu karijeru izborom u docenta 1979. i redovitog profesora 1986. godine. U zvanju redovitog profesora u trajnom zvanju, u koje je izabran 1998. god, prof. dr. sc. Ivo Karadjole radi sve do umirovljenja 2009. godine.

Od samih početaka svoga rada u Zavodu za stočarstvo, prof. Karadjole je savjesno i predano sudjelovao u nastavi. Značajno je doprinio osuvremenjivanju sadržaja iz uzgoja, selekcije i iskorištavanja životinja koji su predavani u okviru predmeta s različitim nazivima: Opće i specijalno stočarstvo, Primjenjena biologija u uzgoju životinja, Tehnologija proizvodnje i uzgoja životinja, Pasminska svojstva životinja te Uzgoj i proizvodnja životinja. Izniman je doprinos prof. Karadjole bio i u osmišljavanju te provedbi predmeta Osnove statistike u veterinarskoj medicini, koji se kao obavezni sadržaj

studija veterinarske medicine izvodi od ak. god. 2005./2006. Osim predmeta dodiplomske nastave, dugi niz godina prof. Karadjole sudjelovao je i u nastavi poslijediplomskih predmeta koji su bili sastavnice studijskih programa iz Uzgoja, higijene i patologije peradi; Fiziologije i patologije reprodukcije goveda s umjetnim osjemenjivanjem; Osiguranje od štete i zdravstvena zaštita životinja, Teriogenologije domaćih životinja te doktorskog studija Veterinarske znanosti.

Osim kao nastavnik, prof. dr. sc. Ivo Karadjole, potvrdio se i kao uspješan znanstvenik. Ranu usmjerenost na područje uzgoja, organizacije i tehnologije proizvodnje domaćih životinja (biotehnologije) pokazao je apsolviranjem drugog postdiplomskog studija iz „Uzgoja, higijene i patologije peradi“ te 1974. obranom znanstvenog magistarskog rada pod nazivom „Kretanje aktivnosti fermenta alikalne fosfataze i aldolaze, te koncentracije ukupnih bjelančevina u plazmi kokoši u različitoj dobi i fazi proizvodnje jaja“. Vrijeme je to u kojem se u Zavodu za stočarstvo intenziviraju istraživanja polimorfizma bjelančevina i njegovog značenja u selekciji domaćih životinja. Osobito važan doprinos tom području istraživanja dao je prof. Karadjole nakon povratka s višemjesečnog studijskog boravka na Kraljevskom Veterinarskom i Agronomskom Univerzitetu u Kopenhagenu. Tamo je tijekom 1971. i 1972. godine sudjelovao u radu Instituta za fiziologiju, endokrinologiju i krvne grupe, u kojem pod vodstvom prof. dr. J. A. Moustgarda ovladao modernim metodama za analizu polimorfizma bjelančevina. Stečena znanja i iskustva po povratku na Veterinarski fakultet u Zagrebu uspješno je primjenio u više vlastitih istraživanja te doktorskoj disertaciji „Procjena tovnosti i kvalitete simentalke pasmine junadi na

osnovi konformacije tijela i biokemijskih svojstava u krvi“, obranjenom 1978. godine. Slijedi niz godina u kojima prof. Karadjole samostalno i u suradnji s drugim autorima provodi istraživanja polimorfizma i načina nasljeđivanja enzima, zatim njihovu aktivnost u pojedinim fazama proizvodnje kao i povezanost s proizvodnim sposobnostima. Istovremeno, pokazuje sve veći interes za razvoj ovčarske i kozarske proizvodnje u okviru čega istražuje mogućnosti intenziviranja proizvodnje ovčjeg mesa i mlijeka te povećanja proizvodnje kozjeg mlijeka. Kontinuirano radi u području govedarstva, ponajprije u proizvodnji govedeg mesa, procjenjivanju uzgojne vrijednosti simentalčkih bikova za tovnost i kvalitetu mesa te u istraživanjima o mogućnostima unaprjeđenja organizacije i tehnologije tova junadi. Navedeno objedinjava vođenjem više znanstvenoistraživačkih projekata koji obuhvaćaju teme unaprjeđenja hrvatskog simentalca (Genetske osnovice za povećanje proizvodnje govedeg mesa 1991.-1995., Fenotipske i genetske odlike simentalčkog goveda u Hrvatskoj 1996.-2002., Fenotipski i genetski trendovi kvalitete mesa simentalčkog goveda 2002.-2006. i Udio tkiva, kemijski i masnokiselinski sastav mesa simentalke pasmine goveda 2007.-2009.).

Opsežnu nastavnu i znanstvenu djelatnost prof. Karadjole prati i njegov stručni angažman u različitim područjima vezanim uz visoko obrazovanje u veterinarstvu i unaprjeđenje stočarstva. Posebno se ističe njegov rad na oblikovanju više nastavnih programa na studiju veterinarske medicine, zatim izuzetan doprinos u pripremi i uredništvu Samoanalize Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu povodom 1. postupka vizitacije koji je 2002. godine provela Europske udruga ustanova

za veterinarsku izobrazbu (EAEVE) te autorstvo Programa gojidbenog stvaranja goveda u Hrvatskoj (1991.) i Programa gojidbenog stvaranja koza u Republici Hrvatskoj (1996.). Sve navedeno popraćeno je i intenzivnom publicističkom djelatnošću s više od 180 znanstvenih i stručnih radova, mentorstvom diplomskih i doktorskih radova te aktivnim radom u znanstvenim i strukovnim udruženjima među kojima se ističe Međunarodno udruženje za istraživanje krvnih grupa životinja (International Society for Animal Blood Group Research, Göttingen).

Prof. dr. sc. Ivo Karadjole izuzetno je poticao rad i napredak svojeg matičnog zavoda, Zavoda za stočarstvo. Pokazao je to svojim angažmanom kod više građevinskih rekonstrukcija, uređenja i nabave opreme, no još više njegovanjem međuljudskih odnosa, suradnjom i odgojem mlađih suradnika. Osobito u ovom posljednjem, prof. dr. sc. Ivo

Karadjole pokazao je osobnost i dar u kojima su objedinjene kvalitete učitelja s autoritetom velikog znanja, britkog, ali argumentiranog kritičara i čovjeka koji nesebično dijeli znanje mlađima. Svemu tome svjedočili smo mi, profesorovi nasljednici u Zavodu za stočarstvo, koje je svakodnevno učio poštenom odnosu prema radu, važnosti temeljitih priprema i preciznosti u svemu što radimo. Usvajali smo sve to nesvjesno kroz razgovore, savjete, pisane opaske uz retke naših rukopisa ili jednostavno promatrajući što i kako radi prof. Karadjole.

Sjećajući se danas mnogih zajedničkih trenutaka, šaljem posljednji pozdrav prof. dr. sc. Ivi Karadjoli, uz zahvalu i obvezu: dragi naš profesore, hvala Vam za sve, često Vas se sjetimo, nastaviti ćemo voljeti „naš“ Zavod te raditi i dalje na način na koji ste nas učili.

Velimir SUŠIĆ

In memoriam – prof. dr. sc. Marijan Catinelli



Dana 17. veljače 2015. napustio nas je u 77. godini života naš dragi profesor Marijan Catinelli - Bimbo. Nažalost nije ostalo puno pisanih tragova u dosjeu našeg dragog profesora, ali nabranje činjenica i brojki ionako nije nešto što bi naš dragi profesor posebno cijenio. Ovaj vedri, veseli čovjek rođen je 05. studenog 1938. godine u Zamršju pored Karlovca od oca Alfonza i majke Mire, rođene Turk. Uz njega bila su još dva brata, stariji i mlađi s kojima se odlično slagao tijekom cijelog života. Mladi Bimbo ratne godine proveo je s obitelji u Karlovcu gdje je upisao i završio osnovnu školu. U Karlovcu je upisao i gimnaziju, ali obitelj se seli u Zagreb pa je srednješkolsko obrazovanje nastavio u Zagrebu upisavši IV. mušku gimnaziju gdje je maturirao 1957. godine. Iste godine upisao je Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu na kojem je diplomirao 1965. godine. Tijekom

obrazovanja bio je paralelno član omladinske i studentske organizacije, ali ono što je osim veterine obilježilo njegov život bila je ljubav prema sportu. Bio je član mnogobrojnih sportskih organizacija u kojima je sudjelovao kao aktivni sportaš od 1950. godine. Kasnije, tijekom rada na Veterinarskom fakultetu obnašao je trenerske dužnosti u raznim košarkaškim klubovima od košarkaškog kluba „Akadenskog sportskog društva Mladost – Zagreb, sve do proslavljene zagrebačke „Lokomotive“ s kojom je kao trener osvojio kup tadašnje SFRJ kao prvi klub iz SR Hrvatske. Mnoge generacije sportaša i studenata zagrebačkog Veterinarskog fakulteta prošle su njegov osebujan način edukacije i treninga. Vjerujem da bi se studenti i sportaši složili u jednom – Bimbo je uvijek bio vedar, veseo, nasmijan, spreman na šalu, ali uvijek osobnim primjerom pokazati mladom čovjeku kako se u životu treba potruditi bilo da želiš postati vrhunski sportaš ili veterinar. Njegov životni moto bio je: „Uz pošten rad, šalu i trud sve se može postići.“ Iako ga život nije mazio tijekom godina uvijek je hodao uzdignute glave, spreman se našaliti, ali i pomoći starijim i mlađim kolegama u svakodnevnom životu. Na Veterinarskom fakultetu zaposlio se 1966. godine kao mladi asistent. Od početka je pokazivao sklonost prema reprodukciji i porodništvu čemu je posvetio cijelu svoju nastavničku i znanstvenu karijeru na Veterinarskom fakultetu. Doktorsku disertaciju pod naslovom „Prikazivanje kromosoma u domaćih životinja s posebnim osvrtom na goveda i primjena kariograma u dijagnostici

freemartinizma“ obranio je 30. rujna 1975. godine. Tijekom osamdesetih imao je kraći prekid radnog odnosa na Fakultetu tijekom kojeg je obnašao dužnost Referenta za reprodukciju u zdravstvu u Republičkoj zajednici za zdravstvenu zaštitu stoke, a na Fakultet se vraća 1987. godine kada biva izabran u zvanje docenta, a potom i u zvanje izvanrednog profesora 1992. godine. Iako je napisao mnoštvo stručnih i znanstvenih radova profesor Catinelli možda nije bio vrhunski teoretičar i znanstvenik, ali ono što je važnije za veterinarsku struku, bio je iznimno darovit i svestran praktičar sposoban prenijeti svoje znanje na mlade studente. Kad sam započeo svoj radni vijek početkom devedesetih godina na Veterinarskom fakultetu kao mladi asistent na Klinici za porodništvo i reprodukciju i Ambulantnoj klinici ostao sam oduševljen njegovom jednostavnošću i sposobnošću da se prilagodi svakoj situaciji. Nije bilo dvorišta u koje bismo sa studentima došli u kojima se nije osjećao kao kod kuće. Jednostavan u komunikaciji sa vlasnicima životinja, ali na razini sa studentima, znao je uvijek naći savršenu ravnotežu. Uvijek nježan ali odlučan sa životinjama bio je vrhunski dijagnostičar, stručnjak za sterilitet i reprodukciju i vrhunski ginekološki kirurg koji se nije ustručavao svojim velikim iskustvom i znanjem uskočiti u pomoć mlađim neiskusnim kolegama u područjima izvan reprodukcije i porodništva. Studenti su ga obožavali, jer je svojim osebnim stilom i jednostavnim izražavanjem uvijek znao prenijeti i komplicirana znanja i vještine. U bilo koje doba dana i noći uvijek je bio spreman na posao i druženje cijeli svoj radni vijek. Osobno, ostat ću mu vječno zahvalan, jer većinu veterinarskih vještina

koje danas znam naučio sam upravo tijekom nekoliko godina koje smo zajedno proveli svakodnevno na terenu u sklopu nastave Ambulantne klinike, a pred sam odlazak u mirovinu omogućio mi je da pod njegovim mentorstvom izradim i obranim doktorsku disertaciju. Isto tako bio je dobar suprug i otac svojim kćerima i sinu, a kasnije i nježan i požrtvovan djed svojim unucima. Po odlasku u mirovinu na prjelasku milenija, nije se prepustio mirnom umirovljeničkom životu već se odselio u svoje voljeno Zagorje gdje je na Kapelskom vrhu kraj Dubravice počeo živjeti u drvenoj kleti i posvetio se uzgoju ovaca i janjadi. Umirovljeničke godine kao da nisu ostavljale traga na njemu. Bio je u formi boljoj nego neki 20 godina mlađi. Lakoćom se brinuo o velikom stadu ovaca, obrađivao zemlju, pripremao drva za zimu istovremeno pomažući susjedima bilo veterinarskim ili dobrosusjedskim uslugama. Nažalost, zadnjih nekoliko godina života dijabetes od kojeg je bolovao dugi niz godina, ali ga je svojom voljom i disciplinom držao uvijek negdje u sjeni, uzeo je svoj danak te je naš Bimbo praktično ostao slijep zbog oštećenja vidnih živaca te je polako morao napustiti bavljenje ovčarstvom. Ali niti teški uvjeti i slabovidnost nisu ga prisilili da se vrati u grad već je ostao sa voljenim sinom Matejem na „svome bregu“ do zadnjega kada ga je teška bolest na koncu odvojila od njegove obitelji i svih nas koji smo ga voljeli i poštovali tijekom njegovog života kako zbog njegovih postignuća u struci i sportu, ali najviše zbog njegove jednostavnosti, topline, ljudskosti i poštenja. Dragi Bimbo uvijek ćeš ostati u našem sjećanju i srcima.

Goran BAČIĆ

- 1) Časopis „Veterinarska stanica“ objavljivat će u prvom redu članke o djelatnosti veterinarskih stanica imajući pri tome na umu njihovu javnu funkciju propisanu zakonima, pravilnicima, uredbama i drugim propisima. Pritom će se objavljevati članci o ustrojstvu veterinarskih stanica i o njihovoj preobrazbi u skladu s razvojem društvenih odnosa na selu.
- 2) „Veterinarska stanica“ nastojat će pružati stručnjacima nove spoznaje iz znanosti i napose prakse u zemljama s razvijenim stočarstvom.
- 3) U našem časopisu tiskat će se znanstvene i stručne rasprave prije svega za stručnjake koji rade u veterinarskim stanicama i ambulancama.
- 4) Bit će u njemu i društvenih vijesti, obavijesti, najava i osvrta na znanstvene i stručne skupove i sl.
- 5) Objavljivat ćemo referate od posebna interesa za neposrednu praksu, zatim prikaze knjiga i drugih publikacija.
- 6) Tekstovi originalnih i stručnih rasprava te onih iz povijesti veterinarstva i prikazi obljetnica mogu imati pet do deset kartica (pisanih u MS Wordu, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvatit će se i veći broj kartica. Mišljenja, prijedlozi i sučeljavanja dvije do pet kartica. Literarni zapisi četiri do deset kartica.
- 7) Tekstove je potrebno pisati u MS Wordu, font 12, srednji prored (1,5) ili na pisaćem stroju, srednje veliki prored. Svaki novi stavak mora početi s uvučenim retkom.
- 8) Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:
 - a) ako je jedan autor: Nicolet (1975.).
 - b) ako su dva autora: Adamović i Jurak (1938.).
 - c) ako su tri ili više autora: Lojkić i sur. (1978.); (Vince i sur., 2009.).
- 9) Sve što se obrađuje mora imati oblik primjeren obradi materije u znanosti i struci. Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj prilog ili ga može odbiti.
- 10) Svaka rasprava mora imati kratak sažetak.
- 11) Ističemo napose da svi grafikoni moraju biti izrađeni u Microsoft okruženju na računalu, a fotografije (obične i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.
- 12) Rukopisi se ne vraćaju.
- 13) Oglašavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu „Veterinarska stanica“ mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.).
U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.
- 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
 1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959):

- African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).
3. **disertacija:** KRŠNIK, B. (1972): Utjecaj buke na ponašanje svinja u industrijskoj proizvodnji, napose s obzirom na lako oksidirajuće tvari kao biokemijskom parametru. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 4. **zbornik referata:** SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
 5. **zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezskog. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).
 6. **časopis:** LANCASTER, M. B. (1973): The occurrence of *Streptocara* sp. in Ducks in Britain. Vet. Rec. 92, 261 - 262.
 7. **časopis u kojem svaki broj počinje sa stranicom 1:** PAVUNA, H. i R. ŠIĆ (1983): Utjecaj genetskih čimbenika na plodnost govoda. Vet. stn., 14 (4) 1-7.
 8. **neka druga rasprava:** BOLLWAHN, W. und B. KRUDEWIG (1972): Die symptomatische Behandlung der Gratschstellung neugeborener Ferkel. Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 229-231.
- (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI, H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H. KÖNIG und J. NICOLET: Vorkommen und Bedeutung von Schweinekrankheiten: Analyse eines Sektionsguts (1971 - 1973) Schweiz. Arch. Tierheilk. 118, 105 - 125, 1976).
9. **sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe Vet. J. 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

Jednu kopiju rukopisa zajedno s računalnim zapisom u Microsoft Word programu na CD mediju molimo poslati na adresu glavnog urednika:

Prof. dr. sc. Marko Samardžija, Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10000 Zagreb.

Radovi se mogu poslati i samo elektroničkom poštom na e-mail: smarko@vef.hr bez tiskanog primjerka.

Svaki autor treba navesti:

Akademski stupanj, naziv i adresu organizacije u kojoj radi, zvanje i funkciju u organizaciji u kojoj radi.

Radi lakšeg kontakta molimo autore da navedu broj telefona, telefaksa i elektroničku adresu (e-mail).

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu.