

Ishođenje mišljenja o usklađenosti Integriranog preddiplomskog i diplomskog sveučilišnog studijskog programa veterinarske medicine s Direktivom 2005/36/EZ Europskoga parlamenta i Vijeća o priznavanju stručnih kvalifikacija



Ksenija Vlahović i Tomislav Dobranić

Danom pristupanja Republike Hrvatske Europskoj uniji, 01. srpnja 2013. godine, počele su se primjenjivati odredbe Zakona o reguliranim profesijama i priznavanju inozemnih stručnih kvalifikacija (NN, br. 124/09, NN, br. 45/11, NN, br. 74/14). Ovim se Zakonom regulira pitanje priznavanja stručnih kvalifikacija za obavljanje reguliranih profesija u Republici Hrvatskoj te se navode minimalni uvjeti osposobljavanja za pristup i obavljanje profesije doktora veterinarske medicine (čl. 44). Odredbe ovoga Zakona u pravni poredak Republike Hrvatske prenose Direktivu 2005/36/EZ Europskoga parlamenta i Vijeća o priznavanju stručnih kvalifikacija od 7. rujna 2005. godine (u daljnjem tekstu: Direktiva). Ministarstvo rada i mirovinskoga sustava, sukladno članku 65. navedenog Zakona, obnaša ulogu nacionalnog koordinatora u poslovima provedbe obveza koje proizlaze iz Zakona. Također, na temelju Zaključka Koordinacije za vanjsku i europsku

politiku Vlade Republike Hrvatske od 24. lipnja 2013. godine, Ministarstvo rada i mirovinskoga sustava preuzelo je ulogu koordinatora za implementaciju obveza koje proizlaze iz Direktive.

Kao članica Europske unije Republika Hrvatska je uskladila svoje zakonodavstvo u području obrazovanja za regulirane profesije sa zakonodavstvom Europske unije te se obvezala uskladiti studijske programe za koje je propisano automatsko priznavanje stručnih kvalifikacija s minimalnim uvjetima osposobljavanja koji su propisani Direktivom.

U cilju dovršetka postupka usklađivanja studijskih programa Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu s Direktivom nužno je na temelju članka 19., stavka 2. Pravilnika o sadržaju dopusnice te uvjetima za izdavanje dopusnice za obavljanje djelatnosti visokog obrazovanja, izvođenje studijskog programa i reakreditacije visokog učilišta (NN, br.

Dr. sc. Ksenija VLAHOVIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Tomislav DOBRANIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

24/10) ishoditi pozitivno mišljenje o usklađenosti svakog studijskog programa s Direktivom i Zakonom o reguliranim profesijama i priznavanju inozemnih stručnih kvalifikacija (NN, br. 124/09, br. 45/11, br. 74/14). Člankom 19. Pravilnika propisano je da se izvođenje studijskih programa za koje nije zatražena procjena usklađenosti s Direktivom prije njihova usvajanja neće financirati sredstvima iz državnog proračuna.

Budući da formalno mišljenje o usklađenosti studijskog programa s Direktivom nije bilo izdano visokim učilištima u Republici Hrvatskoj te tako ni Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, Ministarstvo, znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske je u godini 2014. uputilo dopis visokim učilištima s uputom o potrebi i načinu ishođenja navedenog mišljenja. Trenutno se Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu nalazi u procesu traženja navedenog pozitivnog mišljenja o usklađenosti studijskog programa s Direktivom od strane Ministarstva, znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske. Zahtjev i uz njega pripadajuću dokumentaciju Fakultet je dostavio Voditeljici Odjela za razvoj sustava visokog obrazovanja.

Sukladno članku 78., stavku 3. Zakona o znanstvenoj djelatnosti i visokom obrazovanju (NN, br. 123/03, 198/03, 105/04, 174/04, 46/07 i 63/11), studijskim programom treba u svrhu ishođenja mišljenja o usklađenosti Integriranog preddiplomskog i diplomskog sveučilišnog studijskog programa veterinarske medicine s Direktivom, obuhvatiti sljedeće:

1. stručni ili akademski naziv ili stupanj koji se stječe završetkom studija,
2. akademske uvjete upisa na studij na početku studija, uvjete upisa studenta u sljedeći semestar ili trimestar, odnosno sljedeću

godinu studija te preduvjete upisa pojedinog predmeta ili grupe predmeta,

3. predviđene ishode učenja koji se stječu ispunjavanjem pojedinačnih studijskih obveza, modula studija i ukupnog studijskog programa, kao i predviđen broj sati za svaku studijsku obvezu koji osigurava stjecanje predviđenih ishoda učenja,
4. za svaku studijsku obvezu dodijeljen je odgovarajući broj ECTS bodova temeljen na prosječno ukupno utrošenom radu koji student mora uložiti kako bi stekao predviđene ishode učenja u sklopu te obveze,
5. oblike provođenja nastave i načina provjere stečenih ishoda učenja za svaku studijsku obvezu,
6. popis drugih studijskih programa iz kojih se mogu steći ECTS bodovi,
7. način završetka studija,
8. odredbe o tome mogu li i pod kojim uvjetima studenti koji su prekinuli studij ili su izgubili pravo studiranja nastaviti studij.

Program sveučilišnog integriranog preddiplomskog i diplomskog studija veterinarske medicine postupno je usklađen s odredbama članaka Zakona o reguliranim profesijama i priznavanju inozemnih stručnih kvalifikacija (NN, br. 124/09, NN, br. 45/11, NN, br. 74/14) te s odredbama Direktive, s njezinim izmjenama i dopunama. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu izvodi studij veterinarske medicine po jedinstvenom integriranom studijskom programu u trajanju od šest godina. Tijekom studija stječe se minimalno 360 ECTS bodova, a završetkom studija stječe se zvanje doktora veterinarske medicine. Pri koncipiranju programa poštivane su preporuke međunarodnih akademskih i veterinarskih strukovnih udruga o

sadržaju znanja, vještina, tj. kompetencija koje student veterinarske medicine mora steći tijekom trajanja studijskog programa. Jezgra kurikuluma, sastavljena je od strane kompetentnih nastavnika, a objavljena je u katalogu znanja, vještina s ishodima učenja. Studijski program je po svojoj strukturi tradicionalan s elementima integrirane, većinom jednosemestralne nastave te po metodama podučavanja usporediv s većinom uglednih inozemnih visokih učilišta. U nastavu je uključeno više problemski orijentirane nastave i e-učenja s povećanim udjelom izbornih predmeta. Uvedene su i najsuvremenije metode evaluacije znanja. Sadašnji studijski program omogućuje mobilnost studenata unutar hrvatskog i europskog prostora visokog obrazovanja.

Podsjećamo, da se studij Veterinarske medicine od uvođenja Bolonjskog procesa u Hrvatskoj 2005. godine, provodi kao integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij. Prije usklađivanja studij veterine je imao nastavnu satnicu od 5640 sati tijekom 5 godina studija. Fakultet je uskladio obrazovanje s minimalnim uvjetima koje propisuje Direktiva za studij veterinarske medicine i trajanje šest godina, odnosno 4935, 4932 i 4932 sati, ovisno o novo uvedena tri studijska usmjerenja Kućni ljubimci, Farmske životinje i konji i Veterinarsko javno zdravlje, a koji sadržava i satnicu izvan fakultetske praktične nastave.

Također ističemo da pozitivno mišljenje o usklađenosti studijskog programa s Direktivom ne zamjenjuje postupke reakreditacije studijskog programa koji su propisani odredbama Zakona o osiguravanju kvalitete u znanosti i visokom obrazovanju (NN, br. 45/09). Štoviše, nakon ishoda pozitivnog mišljenja o usklađenosti studijskog programa s Direktivom visoko učilište odgovorno je za pokretanje odgovarajućega postupka propisanog Zakona o osiguravanju kvalitete u znanosti

i visokom obrazovanju i Pravilnika o sadržaju dopusnice te uvjetima za izdavanje dopusnice za obavljanje djelatnosti visokog obrazovanja, izvođenje studijskog programa i reakreditaciju visokog učilišta.

Agencija za znanost i visoko obrazovanje, provodi reakreditaciju visokih učilišta. Sva javna i privatna visoka učilišta (sveučilišta i njihove sastavnice, veleučilišta i visoke škole) podliježu postupku reakreditacije u petogodišnjim ciklusima. Prvi ciklus reakreditacije započeo je ak. god. 2010./11. i trebao bi biti dovršen ak. god. 2015./16. Do isteka 2013. godine reakreditirana su visoka učilišta koja izvode programe iz polja ekonomije, tehničkog i biotehničkog područja te većina privatnih visokih učilišta, a u tijeku je reakreditacija visokih učilišta u biomedicinskom području. U tom smislu, uprava Veterinarskog fakulteta priprema se za reakreditaciju koja će uslijediti početkom 2015. godine. Reakreditacija se provodi prema godišnjem planu, a može se provesti i na zahtjev ministra ili na prijedlog visokog učilišta. Reakreditacija se provodi u skladu s dokumentom Postupak reakreditacije visokih učilišta.

Postupak reakreditacije visokih učilišta obuhvaća sljedeće faze:

1. izrada samoanalize visokog učilišta u skladu s dokumentom Upute za izradu samoanalize visokih učilišta u sastavu sveučilišta odnosno dokumentom Upute za izradu samoanalize veleučilišta i visokih škola,
2. posjet stručnog povjerenstva visokom učilištu,
3. izrada završnog izvješća stručnog povjerenstva i donošenje Akreditacijske preporuke,
4. naknadno praćenje.

U postupku reakreditacije provjerava se ispunjenost nužnih uvjeta propisanih Pravilnikom o sadržaju dopusnice

DIREKTIVA 2005/36/EZ EUROPSKOGA PARLAMENTA I VIJEĆA

od 7. rujna 2005.

o priznavanju stručnih kvalifikacija

V.4. VETERINAR

5.4.1. Program studija za veterinare

Program studija koji rezultira dokazom o formalnim kvalifikacijama u veterinarskoj medicini uključuje najmanje sljedeće predmete. Jedan ili više od ovih predmeta mogu se poučavati kao dio drugih disciplina ili u svezi s njima

A. Osnovni predmeti	B. Specifični predmeti	B. Specifični predmeti
Fizika	a) Osnovne znanosti:	- Prehrana životinja
Kemija	- Anatomija (uključujući histologiju i embriologiju)	- Agronomija
Biologija životinja	- Fiziologija	- Ruralna ekonomija
Biologija biljaka	- Biokemija	- Uzgoj životinja
Biomatematika	- Genetika	- Veterinarska higijena
	- Farmakologija	- Etologija i zaštita životinja
	- Farmacija	- Mikrobiologija
	- Toksikologija	- Imunologija
	b) Kliničke znanosti:	- Epidemiologija
	- Opstetricija	- Profesionalna etika životinjama, peradi i drugim životinjskim vrstama
	- Patologija	- Preventivna medicina
	- Parazitologija	- Radiologija
	- Klinička medicina i kirurgija (uključujući anesteziologiju)	- Reprodukcijska i poremećaji reprodukcije
	- Klinička predavanja o različitim domaćim životinjama	- Veterinarsko javno zdravstvo
	- Veterinarsko zakonodavstvo i forenzična medicina	d) Higijena hrane:
	- Terapeutika	- Inspeksijski nadzor i kontrola životinjske hrane ili hrane životinjskog podrijetla
	- Propedeutika	- Higijena i tehnologija hrane
	c) Proizvodnja životinja:	- Praksa (uključujući praksu na mjestima gdje se obavljaju klanje i prerada prehrambenih proizvoda)
	- Proizvodnja životinja	

te uvjetima za izdavanje dopusnice za obavljanje djelatnosti visokog obrazovanja, izvođenje studijskih programa i reakreditaciju visokih učilišta. Također, u skladu s dokumentom Kriteriji za ocjenu kvalitete visokih učilišta u sastavu sveučilišta odnosno dokumentom Kriteriji za ocjenu kvalitete veleučilišta i visokih škola, donosi se i ocjena kvalitete s preporukama za unaprjeđenje kvalitete rada visokog učilišta.

Ishodi reakreditacije mogu biti:

1. izdavanje potvrde o ispunjavanju uvjeta za obavljanje djelatnosti ili dijela djelatnosti (produljenje dopusnice).
2. uskrata dopusnice za obavljanje djelatnosti ili dijela djelatnosti.
3. izdavanje pisma očekivanja s rokom uklanjanja nedostataka do tri godine.

Dana 26. lipnja 2014. godine je na snagu stupio Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o reguliranim profesijama i priznavanju inozemnih stručnih kvalifikacija koji je objavljen u NN, br. 74 od 18. lipnja 2014. godine. Od navedenog datuma Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu nadležno je tijelo za izdavanje potvrda o formalnoj osposobljenosti veterinarara sukladno odredbama točke 5.4.1. Priloga V. Direktive o priznavanju stručnih kvalifikacija. Do sada je potvrde izdavalo Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske.

Iz Direktive izdvajamo i podsjećamo na odredbe točke 5.4.1. Poglavlja V koje su Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu poslužile kao polazna osnova za usklađivanje Integriranog

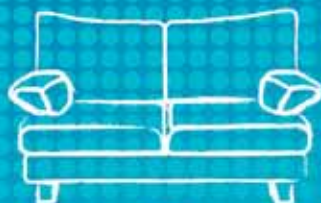
preddiplomskog i diplomskog sveučilišnog studijskog programa veterinarske medicine s Direktivom.

Podsjećamo i na odredbu iz točke 5.4.1. Poglavlja V prema kojoj se izobrazba može odvijati u obliku prakse, uz uvjet da se takva praksa obavlja u punom radnom vremenu i pod izravnim nadzorom nadležnog tijela te da ne traje duže od šest mjeseci u sklopu cjelokupnog razdoblja fakultetskog obrazovanja koje traje 5 godina. Raspodjela teoretske i praktične nastave različitih skupina predmeta mora se uravnotežiti i koordinirati na takav način da se znanje i iskustvo stječu na način koji omogućava veterinarima da obavljaju sve svoje dužnosti.

Također, na kraju ističemo da je tijekom siječnja 2014. stupila na snagu Direktiva 2013/55/EU Europskog parlamenta i Vijeća od 20. studenoga 2013. o izmjeni Direktive 2005/36/EZ o priznavanju stručnih kvalifikacija i Uredbe (EU) br. 1024/2012 o administrativnoj suradnji putem Informacijskog sustava unutarnjeg tržišta („Uredba IMI“). Sve države članice Europske unije imaju dvije godine za transponiranje obveza koje proizlaze iz izmijenjene Direktive u svoj nacionalni sustav, što uključuje donošenje te izmjenu određenih zakonskih i pod zakonskih akata.

Očekujemo da će se moderniziranim sustavom priznavanja inozemnih stručnih kvalifikacija postići brži i efikasniji postupak priznavanja, kao i olakšan pristup europskom tržištu rada za sve državljane Europske unije. Cilj je omogućiti neometano pružanje usluga na cijelom teritoriju Europske unije.

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 buhačavosti (*Ctenocephalides spp.*) u pasa, mačaka i tvorova. Lijek sprječava razvoj jajelaca (izvudno djelovanje) ličinki i kukuljica (servicidni djelovanje). Liječenje krpeljivosti (kodis ricinus, Demacantor variabilis, Demacantor reticulatus, *Rhipicephalus sanguineus*) u pasa i mačaka. Eliminacija krpelja (kodis ricinus) sa tvorova. Liječenje ušljivosti u pasa (*Trifodectes canis*). Liječenje ušljivosti u mačaka (*Felicola subrostratus*). Lijek se može koristiti u sklopu liječenja aenjijskog 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 narušavanja čak i sa smrtnim ishodom. Ne preporuča se uporaba proizvoda na nećilnim životinjama vjstama zbog nedostatka ispitivanja.

Samo uži i stručni javnost.

Pažljivo pročitate priloženu uputu prije uporabe lijeka.

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

www.krka-farma.hr

KRKA

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

Mikrobiološka kategorizacija krmiva i krmnih smjesa VDLUFA metodom



Manuela Zdravec, Mario Mitak, Vesna Jaki Tkalec i Darko Majnarić

Uvod

Kvalitetna krmna smjesa da bi udovoljila visokim potrebama uzgojnih životinja mora biti dobro nutritivno i energetski izbalansirana te mikrobiološki ispravna. Mikrobiologija hrane za životinje podrazumijeva mikroorganizme u hrani koji se dodaju zbog postizanja bolje iskoristivosti hrane i produktivnosti životinja, ili se dodaju da bi umanjili štetnost mikroorganizama koji bi mogli prouzročiti bolesti (probiotici) (Sokolović i sur., 2006.). Međutim, hrana za životinje može sadržavati i mikroorganizme koji mogu i u malom broju ozbiljno narušiti zdravlje životinja u (npr. patogene bakterije rodova *Salmonellae*, *Chlostrididae*, *Listeriae*) te mikroorganizme koji se normalno nalaze u hrani za životinje (saprofitski mikroorganizmi) koji mogu, ako su prisutni u većem broju, prouzročiti promjenu boje, okusa i mirisa hrane kao posljedicu mikrobiološke aktivnosti koja se očituje gubitkom suhe tvari kroz iskorištavanje ugljikohidrata kao izvora energije za mikroorganizme, razgradnju lipida i proteina te time umanjuju nutritivnu vrijednost hrane (Mašić i sur., 2002., Magan i Aldred, 2007.). Producirajući hlapljive metabolite mikroorganizmi mijenjaju miris i okus hrane što kao posljedicu ima smanjen unos hrane, probavne poremećaje te smanjenje proizvodnosti životinja i narušavanje životinjskog imuniteta i zdravlja (Marković i sur., 2005). Krmiva koja nisu kontaminirana sporama mikotoksigenih plijesni, ali koja su bila procesu rasta, transporta ili skladištenja kontaminirana mikotoksigenim plijesnima, mogu

sadržavati mikotoksine, koji isto tako mogu narušiti zdravlje životinja (Osho i sur., 2007., Pleadin i sur., 2012.). Stvarna se mikrobiološka kvaliteta krmiva i krmnih smjesa ne može ustvrditi osjetilima mirisa, vida i okusa, već je za procjenu mikrobiološke kvalitete potrebno izvršiti mikrobiološku pretragu. Uvidjevši da mikrobiološka kvaliteta ima znatan utjecaj na hranidbenu vrijednost krmiva i krmnih smjesa sedamdesetih godina 20. stoljeća počeo se sprovoditi monitoring krmnih smjesa na sadržaj mikroorganizama u krmivima i krmnim smjesama na području Njemačke, Austrije i Švicarske u organizaciji VDLUFA grupacije, da bi 1981. godine bila opisana ujednačena metoda za određivanje mikrobiološke klasifikacije krmiva i krmnih smjesa.

VDLUFA (Verbands Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs und Forschungsanstalten) je udruženje njemačkih agronomskih, analitičkih i istraživačkih instituta koja se bave različitim vrstama istraživanja u području agronomije te razvojem, prilagođavanjem i validacijom analitičkih metoda. Odjel za mikrobiologiju hrane za životinje pri VDLUFA-i svoja istraživanja usmjerio je k sistematskom pristupu određivanja mikrobiološke kvalitete baziranom na sadržaju plijesni, kvasaca i bakterija. Rezultati monitoringa ukazali su da je hrana za životinje izložena kontaminaciji saprofitskim mikroorganizmima na cijelom putu od polja do valova te da stupanj kontaminacije i zastupljenost različitih vrsta

Dr. sc. Manuela ZADRAVEC, dr. med. vet., postdoktorand, dr. sc. Mario MITAK, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Vesna JAKI TKALEC, dr. med. vet., postdoktorand, dr. sc. Darko MAJNARIĆ, znanstveni suradnik, Veterinarski zavod Križevci

mikroorganizama ovisi o vremenu nakon berbe. Znatna kontaminacija je ona primarna, na polju te se stoga za krmiva preporuča da se njima ne hrani najmanje tri mjeseca od kad je ubrano na polju kako bi se smanjio inicijalni broj saprofitskih mikroorganizama koji bi mogli prouzročiti probleme u hranidbi životinja (Gafner, 2012.). S obzirom na veći broj država koje su sudjelovale u monitoringu, istraživanje je dobilo internacionalnu karakteristiku, u početku pod okriljem Internationale Arbeitsgemeinschaft für Futtermitteluntersuchung (IAG), a kasnije kao European Feed Microbiology Organisation (EFMO), organizaciji koja provodi program razmjene informacije, metoda i noviteta u mikrobiologiji hrane za životinje te organizira međulaboratorijska testiranja mikrobiološke kategorizacije hrane za životinje.

Materijali i metode

Metoda za mikrobiološku kategorizaciju krmiva i krmnih smjesa opisana je u VD LUFA knjizi metoda III. Metoda je opisana u četiri standardne operativne procedure (SOP). 1. Metoda 28.1.1. SOP za brojanje mikroorganizama koristeći krute hranjive podloge, opisuju koje se hranjive podloge koriste u metodi i njihova receptura. Hranjive podloge koje se koriste jednake su hranjivim podlogama koje se koriste i u ISO normama. Razlika je što se za brojenje bakterija uzorak naciepljuje na Tryptose agar s trifeniltetrazolium kloridom (TTC). Pod uvjetima inkubacije (30 °C/3 dana) bakterije reduciraju, ovisno o aktivnosti metabolizma, TTC u crveni formazan. Na taj način inače bezbojne kolonije postaju kolonije u žutoj, narančastoj (saprofiti), crvenoj ili ružičastoj boji (najčešće indikatori zagađenja) (Slika 1). Broj plijesni u gramu određuje se na hranjivim agarima i DRBC (Slika 2) i DG 18 (Slika 3). Za razliku od ISO standarda u ovoj metodi nasađuju se oba hranjiva agara bez obzira na aktivnost vode (aw), a u obzir se uzimaju vrijednosti s hranjivog agara na kojem je poraslo više kolonija kvasaca i plijesni. 2. Metoda 28.1.2. SOP za brojanje bakterija, kvasaca i plijesni. Brojenje se izvodi isto kako je opisano u ISO 21527-1:2008 i ISO 21527-2:2008 te u ISO 4833:2003. 3. Metoda 28.1.3. SOP za identifikaciju bakterija, kvasaca i

plijesni i 4. Metoda 28.1.4. SOP za procjenu mikrobiološke kvalitete.

Prema VDLUFA metodi mikroorganizmi su podijeljeni u grupe, ovisno u kojoj mjeri mogu narušiti zdravlje životinja. Tako se u 1. i 4. grupi nalaze mikroorganizmi specifični za kontaminaciju na poljima i čiji broj opada skladištenjem. U 2. i 5. grupi se nalaze mikroorganizmi koji se



Slika 1. Bakterije na Tryptose agaru



Slika 2. Plijesni na DRBC agaru



Slika 3. Plijesni na DG 18 agaru

Tabela 1. Raspored mikroorganizama po grupama

	Indikatori	Grupa	Rod
Aerobne mezofilne bakterije	Saprofitske bakterije (primarna flora)	1	Žuto pigmentirane bakterije (<i>Erwinia</i> sp.)
			<i>Pseudomonas</i> /Enterobakterije
			Ostale saprofitske bakterije (corineformne)
	Indikatori zagađenja	2	<i>Bacillus</i> spp.
			<i>Staphylococcus</i> / <i>Micrococcus</i>
		3	Sporoaktinomicete
Plijesni	Saprofitske plijesni (plijesni polja)	4	<i>Dermatiaceae</i> (Crne plijesni)
			<i>Verticillium</i> spp.
			<i>Acremonium</i> spp.
			<i>Fusarium</i> spp.
	Indikatori zagađenja (plijeni skladišta)	5	<i>Aerobasidium</i> spp.
			<i>Aspergillus</i> spp.
			<i>Penicillium</i> spp.
		6	<i>Scopulariopsis</i> spp.
			<i>Wallemia</i> spp.
			Mucorales (<i>Mucor</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.)
Kvasci	Uglavnom zagađenje	7	Kvasci (<i>Candida</i> , <i>Rhodotorula</i>)

razmnožavaju skladištenjem, dok su u 3 i 7. skupini mikroorganizmi koji svojim prisustvom i u manjem broju narušavaju zdravlje životinja. U zasebnu grupu svrstane su plijesni roda *Mucorales* koje produciraju micelij u većoj količini od ostalih rodova plijesni te tako onemogućavaju ili usporavaju rast drugim plijesnima, što se u procjeni mikrobiološke kvalitete uzima u obzir (Gafner, 2012.) (Tabela 1).

Financijskom potporom Republike Njemačke VDLUFA provela je veliko istraživanje od 1994. do 1996. s ciljem utvrđivanja orijentacijskih vrijednosti za utvrđivanje mikrobiološke kvalitete krmiva i krmnih smjesa (Gafner, 2012.), a čije se vrijednosti neprestano ažuriraju, ovisno o novim spoznajama. Orijetacijske vrijednosti (OV) izražene su u cfu/g na temelju kojih se krmiva i krmne smjese razvrstavaju u kategorije od 1 do 4. OV postavljene su kao gornji limit sadržaja mikroorganizama za poželjnu kvalitetu za svaki indikacijski mikroorganizam za glavne sastojke krmnih smjesa (žitarice, nusproizvode industrije ulja, sijeno, slama), najčešće krmne smjese (peletirane

i nepeletirane), ovisno o kategoriji životinje (životinje u rastu ili odrasle životinje). Ako bilo koja grupa indikatorskih mikroorganizama prelazi OV, krmna smjesa ili krmivo prelazi u lošiji razred kvalitete. U tabeli 2 je prikazan princip po kojem ispitivana krmna smjesa ili krmivo prelazi u lošiju kategoriju, a u tabeli 3 prikazane orijentacijske vrijednosti za pojedine grupe mikroorganizama za kategorizaciju krmnih smjesa za svinje.

Rasprava

Prednost VDLUFA metode leži u tome da ona na objektivnan način kategorizira mikrobiološku kvalitetu hrane za životinje uzimajući u obzir o kojem se krmivu radi te o tome za koju je kategoriju životinja namijenjena. Isto tako, u koju će kategoriju ući krmna smjesa ovisi i o tome je li krmna smjesa podvrgnuta termičkoj obradi pri peletiranju te o vrstama mikroorganizama koji se nalaze u smjesi. Stoga nije svejedno ima li u smjesi saprofitskih mikroorganizama ili indikatora zagađenja, jer je za indikatore zagađenja orijentacijska

Tabela 2. Opća interpretacija rezultata prema sadržaju mikroorganizama u odnosu na orijentacijske vrijednosti

Određen sadržaj mikroorganizma/OV	Razred kvalitete	Procjena
≤1x	I	Poželjna kvaliteta
> 1x do ≤5x	II	Smanjena kvaliteta
>5x do ≤10	III	Loša kvaliteta
> 10x	IV	Ne preporuča se za hranidbu životinja

Tabela 3. Orijetacijske vrijednosti za pojedine grupe mikroorganizama za kategorizaciju krmnih smjesa za svinje

Mikroorganizmi	Mezofilne aerobne bakterije (x10 ⁶ cfu/g)			Plijesni (x10 ³ cfu/g)			Kvasci (x10 ³ cfu/g)
	„Žute bakterije“, <i>Pseudomonas/Enterobacteriaceae</i> , korineformne bakterije	<i>Bacillus, Staphylococcus, Micrococcus</i>	<i>Streptomyces</i>	„Crne plijesni“, <i>Acremonium, Verticillium, Fusarium, Aureobasidium</i>	<i>Aspergillus, Penicillium, Scopulariopsis, Wallemia</i>	<i>Mucorales</i>	Sve vrste
Grupa mikroorganizma	Saprofiti	Indikatori zagađenja		Saprofiti	Indikatori zagađenja		Saprofiti i indikatori zagađenja
	1	2	3	4	5	6	7
Odojci	5	0,5	0,1	30	20	5	50
Tovljenici	6	1	0,1	50	50	5	80
Odojci (peleti)	0,5	0,1	0,05	5	5	1	5
Tovljenici (peleti)	1	0,5	0,05	5	10	1	5

vrijednost (osobito kvasce i plijesni *Mucorales*) 5 puta manja nego za saprofitske mikroorganizme. U čl. 71 Pravilnika o kakvoći stočne hrane NN 26/98, koji je još uvijek na snazi, pri interpretaciji rezultata orijentacijske vrijednosti za kvasce i plijesni jednake su bez obzira na rod mikroorganizama, osim što postoje orijentacijske vrijednosti za „mlade“ i „odrasle“ kategorije životinje. Pravilnik o kakvoći stočne hrane iz 1998. još uvijek je na snazi jer europsko zakonodavstvo nema određene orijentacijske vrijednosti za mikrobiološku kvalitetu hrane za životinje, već svakoj članici daje da sama odredi

kriterije za mikrobiološku kvalitetu hrane za životinje (Zakon o hrani, EC 582/2004). Jedine smjernice koje propisuje europsko zakonodavstvo u vezi mikrobiološke kvalitete hrane za životinje je Direktiva 25/96 koje kaže da: „Države članice moraju propisati da krmiva mogu prometovati u Zajednici samo ako su nepokvarene, izvornog porijekla i pogodne za prodaju. Države članice će propisati da se takva krmiva ne mogu predstavljati nikakvu opasnost za zdravlje životinja i ljudi, a ne može se staviti u promet na način koji bi mogli dovesti u zabludu“. I ostale direktive EC 183/2005 i EC 2073/2005 koje

se tiču mikrobiološke ispravnosti hrane za životinje te stavljanje iste u promet ne sadrže numeričke orijentacijske vrijednosti. Proučavajući dostupne zakonske regulative drugih država članica EU, ni jedna država članice nema regulirano zakonom orijentacijske vrijednosti za mikrobiološku kvalitetu hrane za životinje na ovako detaljan način. Orijetacijske vrijednosti propisane su na način kao i u Republici Hrvatskoj (Švedska) ili uopće nisu propisane. VDLUFA metoda koristi se u zemljama članicama njemačkog govornog područja i Republici Sloveniji u svakodnevnom radu jer postoji veliki interes od proizvođača hrane za životinje i uzgajivača životinja za poznavanjem mikrobiološke kvalitete kao garancije dobrog proizvoda (Gafner, 2012.). U Švicarskoj je metoda prepoznata kao dobra nadopuna nutritivnoj kvaliteti hrane za životinje koja se provodi u sustavu monitoringa hrane za životinje, pri čemu se velika pažnja posvećuje slami kao stelji i krmivu zbog česte povećane kontaminacije sporama plijesni (Wichert i sur., 2008., ALP 2010.). Prednost ove metode je što se za njeno provođenje koriste dobro znane klasične mikrobiološke tehnike. Možda jedan manji nedostatak je potrebno znanje identifikacije mikroorganizama poraslih na hranjivim podlogama te njihovo pravilno raspoređivanje u pripadajuće grupe. Međutim, za pomoć pri identifikaciji osim opisa pojedinih grupa mikroorganizama u SOP-ovima VDLUFA metoda postoje i preporučeni atlas za identifikaciju mikroorganizama. Osim toga, EFMO (Europska organizacija za mikrobiologiju hrane za životinje, www.efmo.org) organizira svake dvije godine sastanke i radionice članova koji primjenjuju ovu metodu na kojima se izmjenjuju iskustva i nova saznanja, a svake se godine organizira i međulaboratorijsko testiranje. Međulaboratorijska istraživanja polučila su velik broj rezultata te se metoda trenutno nalazi u fazi validacije. Ovom metodom u zadnjih 4 godine u Laboratoriju za mikrobiologiju hrane za životinje pri Hrvatskom veterinarskom institutu analizirano je i kategorizirano preko 100 uzoraka krmiva i krmnih smjesa (Zadravec i sur., 2010., Zadravec i sur., 2011., Zadravec i sur., 2014.).

Rezultati koji su dobiveni ukazuju da na hrvatskom tržištu prevladavaju krmiva i krmne smjese 1. i 2. razreda kvalitete u 70%. Međutim, zabrinjava podatak da je 20% krmiva i krmnih smjesa uvršteno u 3. razred kvalitete, a čak 10% ispitivanih uzoraka klasificirano je kao razred 4., kao neupotrebljiva za hranidbu životinja.

Zaključak

S obzirom da je u Republici Hrvatskoj na snazi još uvijek Pravilnik o kakvoći stočne hrane iz 1998. godine koji regulira higijensku ispravnost krmiva i krmnih smjesa, a ni u Europskoj uniji kriteriji za mikrobiološku kvalitetu nisu jasno određeni, VDLUFA metoda mogla bi u budućnosti biti dobra smjernica u osuvremenjivanju higijenskih standarada krmiva i krmnih smjesa u Republici Hrvatskoj. Osim toga, podatak o kategoriji mikrobiološke kvalitete na deklaraciji hrane za životinje povećao bi konkurentnost proizvođača hrane za životinje na tržištu, ne samo u Republici Hrvatskoj nego i u zemljama Europe.

Sažetak

Karakteristika VDLUFA metode je da se pri mikrobiološkoj ispravnosti krmiva i krmnih smjesa ne uzima u obzir samo ukupan broj mikroorganizama (cfu/g) već i njihova potencijalna patogenost. Prema stupnju potencijalne patogenosti bakterije, kvasnice i plijesni razvrstani su u sedam skupina. Na osnovu broja mikroorganizama u pojedinim skupinama krmiva i krmnih smjesa, krmiva i krmna smjese razvrstavaju se u četiri kategorije mikrobiološke kvalitete. S obzirom da je u Republici Hrvatskoj na snazi još uvijek Pravilnik o kakvoći stočne hrane iz 1998. godine koji regulira higijensku ispravnost krmiva i krmnih smjesa, a ni u Europskoj Uniji ne postoje propisane numeričke orijentacijske vrijednosti za mikrobiološku prihvatljivost hrane za životinje, VDLUFA metoda mogla bi u budućnosti biti dobra smjernica u osuvremenjivanju mikrobioloških standarda krmiva i krmnih smjesa u Republici Hrvatskoj, a podatak o kategoriji mikrobiološke kvalitete na deklaraciji hrane za životinje povećalo bi konkurentnost proizvođača hrane za životinje na tržištu.

Literatura

- AGROSCOPE LIEBEFELD – POSEIX (ALP) (2010): Support on feed quality for everyday practice. Project status 2010.
- EC (1996): Council Directive 25/95 of 29 April 1996 on the circulation of feed materials. Official Journal of the European Union 1996/L0025.
- EC (2004): Regulation EC 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs.
- EC (2005): Regulation 183/2005 of the European Parliament and of the Council of 12 January 2005 laying down requirements for feed hygiene. Official Journal of the European Union L 35/22.
- EC (2005): Commission Regulation 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union L 338/1.
- GAFNER, J. L. (2012): Mikrobiologische Qualität von Futtermitteln. *Agrarforschung Schweiz* 3, 252-257.
- ISO 4833 (2003): Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of microorganisms -- Colony-count technique at 30 degrees C
- ISO 21527-1 (2008): Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95.
- ISO 21527-2 (2008): Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -- Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95.
- MAGAN, N. and D. ALDRED (2007): Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 131-139.
- MARKOVIĆ, R. V., N. D. JOVANOVIĆ, D. S. ŠEFER and Z. J. SINOVEC (2005): Mould and mycotoxin contamination of pig and poultry feed. *Proc. Nat. Sci., Matica Srpska Novi Sad*, 109, 89-95.
- MAŠIĆ, Z., D. JAKIĆ-DIMIĆ, V. STANČEV i Z. SINOVEC (2002): Pregled kvaliteta smeša za ishranu svinja. *Vet. oglasnik* 56, 41-52.
- NARODNE NOVINE (1998): Pravilnik o kakvoći stočne hrane. *Narodne novine* 26, 1998.
- OSHO, I. B., T. A. M. AWONIYI and A. I. ADEBAYO (2007): Mycological investigation of compounded poultry feeds used in poultry farms in southwest Nigeria. *Afr. J. Biotech.* 15, 1833-1836.
- PLEADIN, J., M. ZADRAVEC, N. PERŠI, A. VULIĆ and M. MITAK (2012): Mould and mycotoxin contamination of pig feed in northwest Croatia. *Mycotoxin Res.* 28, 157-162.
- SOKOLOVIĆ, M., F. KRSTULOVIĆ i B. ŠIMPRAGA (2006): Mikrobiološka ispravnost hrane za perad. *Krmiva* 48, 357-362.
- VDLUFA (2007a): Standard operating procedure for the enumeration of micro-organisms using solid culture media. In *VDLUFA Method Book III, Supl. 7* (ch 28.1.1.). Darmstadt: VDLUFA.
- VDLUFA (2007b): Standard operation procedure to enumerate bacteria, yeasts, moulds, and Dematiaceae. In *VDLUFA Method Book III, Supl. 7* (ch 28.1.2.). Darmstadt: VDLUFA.
- VDLUFA (2007c): Standard operating procedure for identifying bacteria, yeasts, moulds, and Dematiaceae as product-typical or spoilage indicating microorganisms. In *VDLUFA Method Book III, Supl. 7* (ch 28.1.3.). Darmstadt: VDLUFA.
- VDLUFA (2007d): Standard operating procedure for microbiological quality assessment. In *VDLUFA Method Book III, Supl. 7* (ch 28.1.4.). Darmstadt: VDLUFA.
- WICHERT, B., S. NATER, M. M. WITTENBRINK, P. WOLF, K. MEYER and M. WANNER (2008): Judgement of hygienic quality of roughage in horse stables in Switzerland. *J. Anim. Physiol. An. N.* 92, 432-437.
- ZADRAVEC, M., V. JAKI, M. MITAK i D. MAJNARIĆ (2010): Higijenska kategorizacija smjesa za muzne krave prema VDLUFA-metodi. 39. hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik sažetaka. Opatija, Hrvatska. Str.86.
- ZADRAVEC, M., V. JAKI, M. MITAK i D. MAJNARIĆ (2011): Higijenska kategorizacija smjesa za perad prema VDLUFA-metodi. IX. simpozij Peradarski dani 2011 s međunarodnim sudjelovanjem. Zbornik. Šibenik, Hrvatska. Str. 171-173.
- ZADRAVEC, M., V. JAKI TKALEC, M. MITAK i D. MAJNARIĆ (2014): VDLUFA metoda-metoda za higijensku kategorizaciju krmiva i krmnih smjesa. Zbornik sažetaka 21. međunarodnog savjetovanja Krmiva 2014 (Lucić, Slavko ur.). Zagreb: Krmiva d.o.o., 2014. str. 13.

Microbiological Categorisation of Feed and Feeding Stuffs by VDLUFA Method

Manuela ZADRAVEC, DVM, PhD, Postdoc., Mario MITAK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Vesna JAKI TKALEC, DVM, PhD, Postdoc., Darko MAJNARIĆ, DVM, PhD, Scientific Associate, Križevci Veterinary Institute

A characteristic of the VDLUFA method is that the microbiological safety of feed and feeding stuffs takes into account not only the total number of microorganisms (cfu/g), but also their potential pathogenicity. According to the degree of potential pathogenicity of a bacteria, yeasts and moulds were classified into seven groups. Based on the number of microorganisms in certain groups, feed and feeding stuffs are classified into four categories of microbiological quality. In the Republic of Croatia, the Ordinance on the quality of animal feed, in force since 1998, governs the

microbiological properties of feed and feeding stuffs. Even in the European Union there are no prescribed numerical reference values for the microbiological acceptability of feed and feeding stuffs, therefore the VDLUFA method could be a good guideline for the future modernization of microbiological standards of feed and feeding stuffs in the Republic of Croatia. Information on microbiological quality on the label of a feed product would increase the competitiveness of feed manufacturers in the market place.

Utjecaj pasmine na vrijeme ovulacije u krava



Robert Zobel, Mirela Pavić, Igor Šket i Damjan Gračner

Uvod

Jedan od uvjeta za postizanje zadovoljavajuće plodnosti je pravodobno osjemenjivanje, a loš reproduksijski uspjeh djelomično je i posljedica osjemenjivanja u krivo vrijeme. Pretpostavlja se kako je godišnji gubitak mliječne industrije u SAD-u samo zbog pogrešaka u otkrivanju estrusa veći od 300 milijuna dolara (Senger, 1994.) te je stoga učinkovita detekcija i točno vrijeme osjemenjivanja od velikog značenja za poboljšanje reproduksijske učinkovitosti stada.

Ovulaciju inicira porast luteinizirajućeg hormona (LH) koji rezultira rupturom folikula i otpuštanjem jajne stanice (Foote, 1979.). Nakon ovulacije slijedi kratko razdoblje u kojem jajna stanica može biti oplodena. Optimalno vrijeme za oplodnju jajne stanice je između 6 i 12 sati nakon ovulacije, dok je vrijeme preživljavanja spermija u reproduksijskom traktu 24 do 30 sati (Brackett i sur., 1980.). Trajanje estrusa u mliječnim krava kreće se od 2,5 do 28 sati, prosječno 18 sati, dok se ovulacija javlja 28 do 32 sati od početka estrusa (Trimberger, 1948., Roelofs i sur., 2006.). Isti su autori zaključili da osjemenjivanje 12 do 24 sata prije ovulacije rezultira najvećim brojem kvalitetnih zametaka 7.

dana, odnosno da je optimalno vrijeme osjemenjivanja 8 do 17 sati nakon prvih znakova tjeranja.

Odgođenom ovulacijom opisuje se stanje kada ovulacija ne nastupi dulje od 36 sati (Nalbandov i Casida, 1942.), no ipak nastupi unutar 6 dana po pojavi prvih znakova tjeranja (Van Rensburg i de Vos, 1962., Zobel i sur., 2008., Zobel i sur., 2012.). U slučaju da do ovulacije ne dođe ni šestog dana po početku tjeranja, postavlja se dijagnoza anovulatornog estrusa, a kojoj su znatno sklonije krave nego junice te krave križanih pasmina i pasmine holštajn u odnosu na krave simentalke pasmine (Zobel i sur., 2008., Zobel i sur., 2012.).

Cilj je predmetnog istraživanja bio odrediti vrijeme nastupa ovulacije u mliječnih krava te pokušati ustvrditi optimalno vrijeme osjemenjivanja s obzirom na pasminsku pripadnost.

Materijali i metode

Životinje

Istraživanje je provedeno tijekom četiri godine (2007.-2012.) na području središnje Hrvatske na uzorku od 433 krave, od čega 221 krave simentalke pasmine, 146 krava Holštajn pasmine i

Dr. sc. Robert ZOBEL, dr. med. vet., Old-church Veterinary Hospital, Bellyshannon, Irska; Mirela PAVIĆ, dr. med. vet., Poljoprivredni fakultet Osijek; Igor ŠKET, dr. med., Opća bolnica Dr. Ivo Pedišić, Sisak; dr. sc. Damjan GRAČNER, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Zagreb

66 križanaca (Holštajn/simentalac). U istraživanje je bilo uključeno 6 farmi krava s istim načinom držanja i hranidbe. U cilju isključenja utjecaja starosti i broja porođaja na rezultate, u istraživanje su bile uključene samo krave nakon trećeg i četvrtog teljenja (5 do 7 godina). Pored toga, kriteriji za isključenje iz pokusa bili su prisutnost kroničnog mastitisa (pojava mastitisa dva i više puta tijekom postojeće i/ili prethodne laktacije), povećani broj somatskih stanica (>200.000/mL) tijekom dvaili višemjeseći u trenutnoj ili prethodnoj laktaciji, laminitis, izrazito nepravilan stav stražnjih nogu i/ili šepanje, otežani prethodni porođaj (uključujući i carski rez) te patološka stanja spolnih organa (uključujući priraslice i urovaginu). Prije prvog pregleda životinjama je određena kondicija (BCS) prema Edmonson i sur. (1989.) i u pokus su uključene životinje s kondicijom između 2,75 i 4 kako bi se uklonio utjecaj mršavosti ili pretilosti na rezultate.

Krave su držane na vezu te puštane na pašu nakon jutarnje mužnje tijekom toplog dijela godine (ožujak do studeni). Tijekom hladnijeg dijela godine (studeni do ožujak) životinje su držane na vezu te puštane u ograđeni i natkriveni prostor nekoliko sati tijekom dana. Mužnja je vršena na ležištu pomoću prijenosnih jedinica dva puta dnevno (jutro-večer). Životinje su hranjene sijenom po volji. Obrok je činio i koncentrat sastavljen od kukuruzne prekrupe, soje, ječma i zobi s mineralima i vitaminima te kukuruznom silažom i sjenazom.

Opis pokusa

U pokus su uključene životinje u kojih je do tjeranja došlo spontano 45 do 120 dana nakon porođaja. Početak tjeranja otkrivali su vlasnici i o tome odmah obavještavali veterinara. Dijagnoza tjeranja potvrđena je 10 do 12 sati kasnije, nakon ginekološke pretrage uz nalaz estrusne sluzi u rodnici i/ili grljku

maternice, nalaz otvorenog cervikalnog kanala (vagoskopski) te nalaz maternice tvrdoelastične konzistencije i dominantnog folikula promjera većeg od 20 mm na jajniku (rektalna i ultrazvučna pretraga). Životinje su pregledavane u razmaku od 10 do 12 sati (ujutro i navečer) do rektalne potvrde ovulacije (nestanak dominantnog folikula), a umjetno su osjemenjivane dnevno (svaka 24 sata). Krave su pregledavane do šestog dana po pojavi znakova tjeranja, a u slučaju da ovulacija nije nastupila, postavljena je dijagnoza anovulatornog tjeranja, krave su isključene iz pokusa i liječene sukladno nalazu. Podatci o vremenu ovulacije bilježeni su za svaku kravu.

Statistička analiza podataka

Razdioba podataka provjerena je Kolmogorov-Smirnof testom. Metoda multivariable logistic regression korištena je za usporedbu vremena nastupa ovulacije s pasminskom pripadnošću. Vrijeme nastupa ovulacije potom je pretvoreno u binarnu vrijednost: "ovulacija do 36 sati" i „ovulacija nakon 36 sati" kako bi se usporedila pasminska pripadnost s pojavnošću zakašnjele ovulacije (ovulacija kasnija od 36 sati po pojavi znakova tjeranja). Rezultati su smatrani statistički značajnim ukoliko je $p < 0,05$.

Rezultati

Rezultati su prikazani u tabeli 1. unutar 36 sati po početku tjeranja, a ovulacija je potvrđena u najvećeg postotka krava simentalske pasmine (94%), znatno manjeg postotka krava pasmine holštajn (80%) i najmanjeg postotka križanaca (68%) ($p < 0,05$). Shodno tome, zakašnjela ovulacija zabilježena je najčešće u križanaca (31%), rjeđe u holštajn pasmine (19%) i najrjeđe (6%) u krava simentalske pasmine ($p < 0,05$).

U devet (13,6%) krava križane pasmine i 9,95% (14) krava pasmine

Tabela 1. Utjecaj pasmine na vrijeme ovulacije. Broj je životinja izražen postotkom i apsolutnim brojem u zagradi. Tamno područje označava zakašnjelu ovulaciju.

Sati	Σ (n=433)	Pasmina		
	% (n)	S (n=221)	HF (n=146)	Kr (n=66)
<12	8,75 (38)	8,14 ^a (18)	8,21 ^a (12)	12,12 ^b (8)
12-24	12,70 (55)	12,67 ^a (28)	23,75 ^a (38)	13,63 ^a (9)
25-36	54,73 (237)	73,30 ^a (162)	45,89 ^b (67)	42,42 ^c (28)
Σ	85,45 (370)	94,12 ^a (208)	80,14 ^b (117)	68,18 ^c (45)
37-48	1,84 (8)	1,36 ^a (3)	2,05 ^a (3)	3,03 ^b (2)
49-60	2,08 (9)	0,9 ^a (2)	2,74 ^b (4)	4,54 ^c (3)
61-72	2,31 (10)	1,36 ^a (3)	2,05 ^b (3)	6,06 ^c (4)
73-84	2,31 (10)	0,9 ^a (2)	3,42 ^b (5)	4,54 ^c (3)
85-96	2,31 (10)	0,45 ^a (1)	4,1 ^b (6)	4,54 ^b (3)
97-108	1,62 (7)	0,45 ^a (1)	2,74 ^b (4)	3,03 ^c (2)
109-120	2,08 (9)	0,45 ^a (1)	2,74 ^b (4)	6,06 ^c (4)
Σ	14,55 (63)	5,88 ^a (13)	19,86 ^b (29)	31,82 ^c (21)

Legenda: Sati = vrijeme od pojave prvih znakova tjeranja do potvrde ovulacije; HF = Holštajn pasmina; Kr = križana pasmina (simentalac x Holštajn); S = simentalaska pasmina

^{a,b,c}Vrijednosti unutar istog retka označene različitim slovom u eksponentu značajno se razlikuju ($p < 0,05$)

Holštajn, ovulacija je potvrđena četvrtog do šestog dana (96 do 100 sati) po pojavi prvih znakova tjeranja, u odnosu na 1,36% (3) krave simentalaske pasmine ($p < 0,05$).

Rasprava

U predmetnom je istraživanju zakašnjela ovulacija potvrđena u 14,55% pregledanih krava i u skladu je s rezultatima prethodnih istraživanja Van Rensburg i de Vos (1962.), Roelofs i sur. (2006.) te Zobel i sur. (2013.) koji su

ustvrdili zakašnjelu ovulaciju u 11% do 23% pregledanih krava. U predmetnom je istraživanju najviša pojavnost zakašnjele ovulacije utvrđena u krava križane pasmine, 1,5 puta rjeđe u krava pasmine Holštajn te čak 5,4 puta rjeđa u krava simentalaske pasmine ($p < 0,05$). Pri tome je u 24% križanaca, 13% krava pasmine Holštajn i 2,26% krava simentalaske pasmine ovulacija nastupila kasnije od 72 sata po pojavi prvih znakova tjeranja.

Na terenu uobičajeni pristup umjetnom osjemenjivanju krava je metodom "a.m. - p.m." (krave koje su se

počele tjerati ujutro osjemenjuju se pred večer, i obratno). Ovakav će pristup u slučaju zakašnjele ovulacije rezultirati velikim postotkom pregona i smanjenom plodnošću zbog velikog vremenskog razmaka između osjemenjivanja i ovulacije, posljedicom starenja i ugibanja spermija (Van Rensburg i De Vos, 1962.).

Rezultati predmetnog istraživanja u skladu su s prethodnim rezultatima Zobel i sur. (2013.) provedenim tijekom 5 godina na području Hrvatske, a koji upućuju na porast učestalosti stanja smanjene plodnosti, prije svega odgođene ovulacije i endometritisa. Prikazani rezultati sugeriraju da je odgođena ovulacija vrlo učestalo stanje, a ne sporadična pojava te nameću ozbiljan pristup rješavanju ovog stanja. Temeljem rezultata smatramo kako je sve životinje u kojih se tjeranje javlja redovito (i bez patoloških promjena na spolnim organima) potrebno pregledati i narednog dana u cilju potvrde nastupa ovulacije. Očito je kako je "vrijeme jednokratnog osjemenjivanja" prošlost te je životinje sa smanjenom plodnošću potrebno osjemenjivati dnevno tijekom više dana, sve do rektalne potvrde ovulacije. Kako je prikazano, do ovulacije može doći tek petog do šestog dana od pojave prvih znakova tjeranja te je takve krave potrebno dnevno osjemenjivati i četiri do pet puta.

Visoka se učestalost odgođene (zakašnjele) ovulacije u krava pasmine Holštajn može tumačiti višom mliječnošću u odnosu na krave simentalne pasmine, ali i mogućom nižom nasljednom plodnošću u krava pasmine Holštajn (López-Gatius i sur., 2005.). Pored toga, moguće je kako je učestalija pojavnost ovog stanja u krava pasmine Holštajn posljedica neprilagođenosti uvezenih grla na naše uvjete držanja, hranidbe i mikroklima. Rezultati predmetnog istraživanja u skladu su s rezultatima Zobel i sur. (2008., 2013.), s češćom neplodnošću i stanjima smanjene plodnosti u krava pasmine

Holštajn u odnosu na krave simentalne i montafonske pasmine. S druge strane, gotovo dvostruko veća pojavnost ovog stanja u križanaca u odnosu na krave Holštajn pasmine (unatoč istoj ili nižoj proizvodnji mlijeka) govori i u prilog lošim stranama nerezonskog i neplanskog križanja krava različitih pasmina. Do sada je sugerirano kako križanci (simentalac/Holštajn) proizvode 15% do 25% više mlijeka (Zobel i sur., 2011.), no zato su 2 do 3,6 puta skloniji pojavi stanja neplodnosti i smanjene plodnosti u odnosu na krave simentalne pasmine, a što za posljedicu ima ranije izlučenje i kraći životni vijek (Zobel i sur., 2011., 2013.).

Sažetak

Cilj istraživanja provedenog tijekom 4 godine na uzorku od 433 krave (221 simentalne pasmine, 146 Holštajn pasmine i 66 križanaca) bio je ustvrditi pojavnost odgođene ovulacije i optimalno vrijeme osjemenjivanja s obzirom na pasminsku pripadnost. Utvrđena je pasminska sklonost pojavi zakašnjele ovulacije te je najviša incidencija potvrđena u križanaca (31,82%), a što govori protiv nerezonskog križanja pasmina, rjeđa u krava Holštajn pasmine (19,86%), a najrjeđa u krava simentalne pasmine (5,88%) ($p < 0,05$). Najniža pojavnost zakašnjele ovulacije u krava simentalne pasmine govori u prilog dobrom reprodukcijom zdravlju ove pasmine. S obzirom na činjenicu da spermiji u spolnim organima krave preživljavaju 24 do 36 sati, očito je kako je krave s dijagnozom odgođene ovulacije potrebno osjemenjivati dnevno tijekom više dana sve do rektalne potvrde ovulacije.

Literatura

- BRACKETT, B. G., Y. K. OH, J. F. EVANS and W. J. DONAWICK (1980): Fertilization and early development of cow ova. *Biol. Reprod.* 23, 189-196.
- EDMONSON, A. J., I. J. LEAN, L. D. WEAVER, T. FARVER and G. WEBSTER (1989): A body condition scoring chart for Holstein Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 72, 68-78.
- FOOTE, R. H. (1979): Time of artificial insemination and fertility in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 62, 355-342.
- LÓPEZ-GATIUS, F., M. LÓPEZ-BEHAR, M.

- FENECH and R. H. F. HUNTER (2005): Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology* 63, 1298-1307.
5. NALBANDOV, A. and L. E. CASIDA (1942): Ovulation and its relation to estrus in cows. *J. Anim. Sci.* 1, 189-198.
 6. ROELOFS, J. B. N. M. SOEDE and B. KEMP (2006): Insemination strategy based on ovulation prediction in dairy cattle. *Vlaams Dierg. Tijdsch.* 75, 2-8.
 7. SENGER, P. L. (1994): The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *J. Dairy Sci.* 77, 2745-2753.
 8. TRIMBERGER, G. W. (1948): Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Univ. Nebraska Ag. Exp. Sta. Res. Bull.* 153, 3-9.
 9. VAN RENSBURG, S. W. J. and W. H. De VOS (1962): Ovulatory failure in bovines. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 29, 55-78.
 10. ZOBEL, R., D. GEREŠ, R. TURK, D. GRAČNER and D. ŽUBČIĆ (2008): Onset of ovulation analysis in dairy cows. *Proc. XVI Cong. Mediterranean Fed. Health Prod. Ruminants, Zadar, Croatia.* Pp. 267-274.
 11. ZOBEL, R., I. PIPAL i V. BUIĆ (2011): Utjecaj pasmine, načina držanja i spola teleta na proizvodnju, duljinu trajanja gravidnosti i vrijeme poroda u goveda. *Vet. stn.* 42, 519-526.
 12. ZOBEL, R., I. PIPAL and V. BUIĆ (2012): Anovulatory estrus in dairy cows: treatment options with influence of breed, parity, heredity and season on its' incidence. *Vet. arhiv* 82, 239-249.
 13. ZOBEL, R., S. TKALČIĆ and J. COLLE (2013): Fertility issues in Simmental cows in Central Croatia: a 5-year study. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 37, 454-461.

Influence of Breed on the Ovulation Time for Dairy Cows

Robert ZOBEL, DVM, PhD, Old-church Veterinary Hospital, Bellyshannon, Ireland; Mirela PAVIĆ, DVM, Agriculture Faculty, Osijek; Igor ŠKET, DM, General Hospital "Dr. Ivo Perišić", Sisak; Damjan GRAČNER, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The aims of this four-year study were to examine breed influence on delayed ovulation incidence and to establish the optimal artificial insemination time. A total of 433 cows (221 Simmental, 146 Holstein-Friesian and 66 Cross breeds) were included in the study. The highest incidence of delayed ovulation for Cross breeds (31.82%), as compared to Holstein-Friesian (19.86%) and Simmental

breed (5.88%) ($p < 0.05$), could be result of the inherent lower fertility of Holstein-Friesian cows and higher milk yield for this breed. Concerning the fact that sperm are able to survive for 24 to 36 hours within the cow's reproductive organs, it would seem logical to suggest that such cows should be inseminated daily until rectal confirmation of ovulation is achieved.

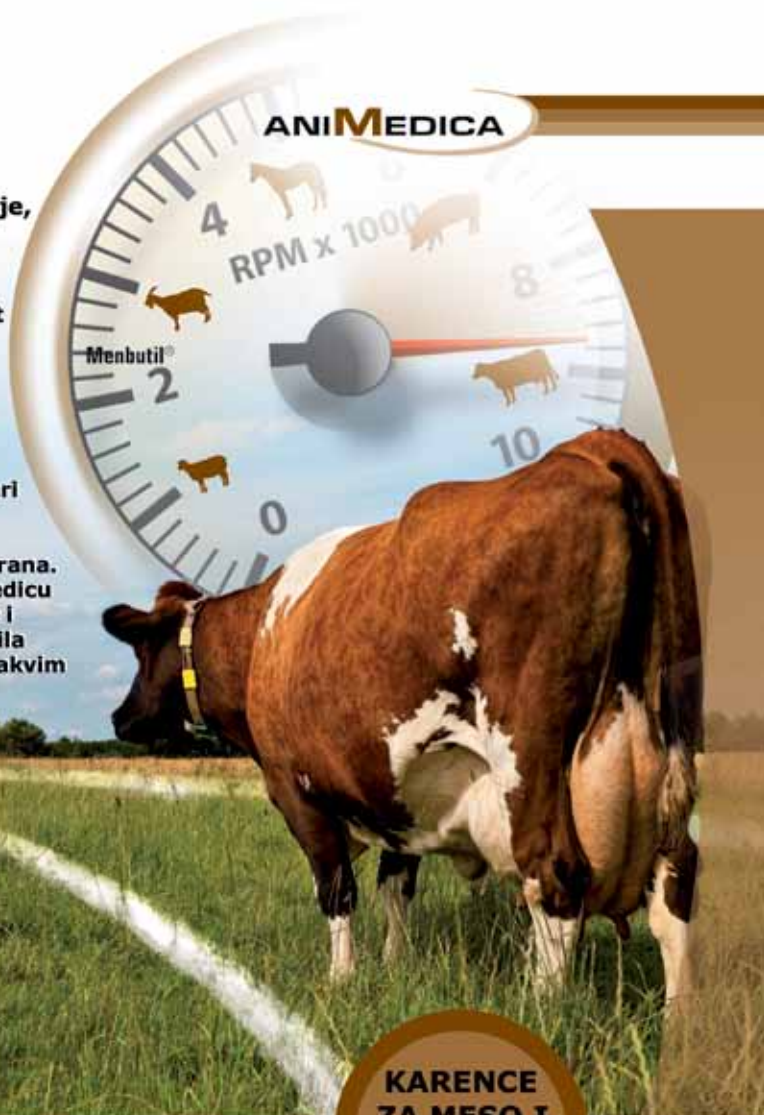
Menbutil®

Menbuton 100 mg/ml

Otopina za injekciju za goveda, konje, svinje, ovce i koze

Menbutil® -djelatna tvar, menbuton, stimulira jetreno-probavnu aktivnost kod probavnih smetnji i nedostatne funkcije jetre.

Menbuton potiče izlučivanje žuči i probavnih enzima tripsina i pepsina od strane gušterače i probavnog trakta. Pojačano izlučivanje žuči potiče bolje izbacivanje otpadnih tvari probave i optimizira metabolizam masti. Hrana, stoga, može biti bolje probavljena i učinkovitije metabolizirana. Mnoge bolesti kod životinja za posljedicu imaju smanjenje iskoristivosti hrane i probavne smetnje. Primjena Menbutila omogućava optimizaciju probave u takvim situacijama.



**KARENCE
ZA MESO I
MLIJEKO
NEMA**

Menbutil, 100 mg/mL, otopina za injekciju, za goveda, svinje, konje, ovce i koze.

Sastav: 1 mL otopine sadrži - djelatna tvar: Menbuton 100,0 mg; pomoćne tvari: Klorokrezol 2,0 mg, Natrijev metabisulfid (E223) 2,0 mg. Bistra blijedo-žuta otopina.
Indikacije: Kod goveda, svinja, konja, ovaca i koza poticanje jetreno-probavne aktivnosti u slučajevima probavnih poremećaja i nedostatne funkcije jetre. **Kontraindikacije:** Ne primjenjivati u slučaju preosjetljivosti na djelatnu tvar ili na bilo koju od pomoćnih tvari. Ne primjenjivati u slučaju srčanih bolesti i u kasnijim stadijima graviditeta. Ne primjenjivati životinjama koje pate od ileusa ili su im neprohodni žučni putovi. **Nuspojave:** Nakon intravenske primjene može se pojaviti slinjenje, suženje, drhtanje, spontano mokrenje i defekacija. Nakon intramuskularne primjene mogu se pojaviti reakcije na mjestu primjene (oteklina, krvarenje, nekroza). **Karencija:** Meso i jestive iznutrice: 0 dana; Mlijeko: 0 dana. SAMO ZA PRIMJENU NA ŽIVOTINJAMA. IZDAJE SE SAMO NA VETERINARSKI RECEPT.

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

CVA

Centralna veterinarska agencija d.o.o.
Zagreb: Utinjska 40; R. Hrvatska
tel: 01/2304-334; -335; 6571-061
mob: 091/4655-112; -113; 114
fax: 01/6604-031
www.cva.hr

Primjena različitih molekularnih metoda u tipizaciji vrsta roda *Brucella* (I. dio)

Ž. Cvetnić, Sanja Duvnjak, Maja Zdelar-Tuk, Irena Reil, B. Habrun, M. Benić, R. Beck, G. Kompes, Maja Stepanić i S. Špičić



Uvod

Za razumijevanje nomenklature, taksonomije, opće strukture i molekularne raznolikosti roda *Brucella* (B.), preduvjet je poznavanje njezinog nastanka i povijesti. Rod *Brucella* pripada razredu Alpha-Proteobacteria, redu Rhizobiales, porodici Brucellaceae. Rod su prvi opisali Meyer i Shaw 1920. godine u kojem je opisana tipična vrsta *Brucella melitensis* koja je inficirala ljude i koze, dok je druga po redu *B. abortus* inficirala goveda i u njih izazivala pobačaje. U istraživanju na 21 soju *B. melitensis* i 32 soja *B. abortus* došli su do sljedećeg zaključka: "Organizam koji uzrokuje undulirajuću groznicu i maltešku groznicu u koza ne može se morfološki ni biokemijski razlikovati od organizma odgovornog za zarazni pobačaj u domaćih životinja". Tada nisu bile dostupne molekularne metode i razlikovanje određene vrste temeljilo se na primljivosti i pojavi bolesti u određenom životinjskom domaćinu i na osnovnim fenotipskim karakteristikama. Danas razlikovanje temeljimo na detaljnijim morfološkim

i biokemijskim karakteristikama poput rasta na različitim hranjivim podlogama i rast u prisutnosti boja i drugim fenotipskim karakteristikama. Vrste *B. melitensis* i *B. abortus* zadržale su svoje nazive i status kao zasebne vrste, iz praktičnih razloga i njihovog izdvajanja iz različitih domaćina i zemljopisnih područja (Scholz i Vergnaud, 2013.).

Kasnije su opisane vrste *B. suis* (1914.), izdvojena iz svinje, *B. ovis* (1953.), iz ovaca, *B. neotomae* (1957.), a iz pustinjskog štakora i *B. canis* (1968.) iz pasa. Navedene vrste brucela dodane su rodu kao nove vrste. Kao i prve dvije izdvojene i vrste (*B. melitensis* i *B. abortus*) i one su klasificirane i identificirane na temelju morfoloških, biokemijskih karakteristika i primljivosti određenog domaćina. Identifikacija različitih vrsta i biovarova *Brucella* otežana je još i danas, jer laboratoriji koji tijekom tipizacije sojeva roda *Brucella* mogu dobiti različite rezultate primjenjujući testove za određivanje fenotipskih karakteristika. Identifikacija i tipizacija sojeva još se

Dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni redoviti profesor, dr. sc. Sanja DUVNJAK, dipl. ing., znanstvena novakinja, dr. sc. Maja ZDELAR-TUK, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, Irena REIL, dr. med. vet., stručna suradnica, dr. sc. Boris HABRUN, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni izvanredni profesor, dr. sc. Miroslav BENIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni docent, dr. sc. Relja BECK, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Gordana KOMPES, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Maja STEPANIĆ, dr. med. vet., stručna suradnica, dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb

više može zakomplicirati izdvajanjem sojeva *Brucella* koji pokazuju atipične biokemijske karakteristike, a koje se ne mogu pripisati već postojećim opisanim vrstama (Scholz i Vergnaud, 2013.). Postoje i sojevi izdvojeni iz svinja i konja u Hrvatskoj u kojih je biokemijskim testovima potvrđeno da se radi o *B. suis* biovaru 3, a nakon višekratnih ponavljanja različitim molekularnim metodama dokazano je da pripadaju *B. suis* biovaru 1 (Cvetnić i sur., 2005., Cvetnić i sur., 2009.).

Povijest molekularnih tehnika u identifikaciji roda *Brucella*

Godine 1968. prva istraživanja na molekularnoj razini, metoda DNK - agara i metoda filtra, primijenjena su na članove roda *Brucella* (Hoyer i McCullough, 1968.). Ta su istraživanja potvrdila da *B. abortus*, *B. melitensis* i *B. suis* pripadaju istom rodu. Iste godine potvrđeno je da soj izdvojen iz psa pasmine bigl u Americi pripada istom rodu, a kasnije je nazvan *B. canis* (Carmichael i Bruner, 1968.).

Godine 1985. primjenom DNK-DNK hibridizacije potvrđena je bliska genetska povezanost različitih vrsta. Verger i sur. (1985.), potvrdili su ispitane vrste i biovarovi iz roda *Brucella* imali genetsku homolognost veću od 80% i došli su do zaključka da se unutar roda *Brucella* treba priznati samo jednu vrstu, *B. melitensis*, De Ley i sur. (1987.), došli su do istog zaključka.

Pojavom metode lančane reakcije polimerazom (engl. polymerase chain reaction, PCR) i mogućnosti sekvencioniranja genoma, bliska genetska povezanost između različitih vrsta roda *Brucella* postala je još očitija. Do sada postoje podatci o deset genoma koji predstavljaju samo pet vrsta *Brucella* sp.: *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. ovis* i *B. canis*. Genomi su jako slični i prema strukturi i prema sastavu gena.

Dva kružna kromosoma čine približno 3,29 Mb: kromosom I, s približno 2,11 Mb i kromosom II, s približno 1,18 Mb. Sastav GC baza približno je jednak na oba kromosoma, oko 57% (Halling i sur., 2005.).

Poznato je da *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis* i *B. canis* imaju identične 16S ribosomske rRNK genske slijedove (Gee i sur., 2004.). Godine 2002. objavljen je prvi DNK slijed cijelog genoma *Brucella* (*B. melitensis* 16M) (DelVecchio i sur., 2002.). Nakon toga slijedio je genomski niz soja *B. suis* 1330 (Paulsen i sur., 2002.). Usporedna analiza potpunog genoma potvrdila je blisku genetsku povezanost tih genoma, gdje je prosječna jednakost nukleotida bila iznad 99%. Isto tako je potvrđeno da *Brucella*, a osobito soj *B. suis* 1330 dijeli veliku sličnost s nekim biljnim patogenima i mikrobima koji žive u simbiozi s biljkama, poput *Agrobacterium* i *Rhizobium*, što može ukazivati na zajedničkog pretka vezanog uz tlo (Paulsen i sur., 2002.).

Unatoč dokazima i rezultatima usporedne genomske analize, pododbor za taksonomiju roda *Brucella* jednoglasno se suglasio o povratku na taksonomiju roda *Brucella* od prije 1986., i ponovno odobrio šest bakterijskih vrsta *Brucella* s priznatim biovarovima (Osterman i Moriyon, 2006.). Obrazloženje razloga za tu odluku temelji se na tome da su sojevi izdvojeni iz različitih domaćina gotovo uvijek grupirani u različite skupine koje pokazuju povezanost s određenim domaćinom, što dokazuje da se radi o različitim ekotipovima (Cohan, 2002.). Tako gledajući, mogu se klasificirati kao različite vrste unatoč sekvencijskoj sličnosti (Corbel i sur., 1975.).

Nove vrste roda *Brucella* u genetičkoj eri

Nakon otkrića *B. canis* 1968. godine, rodu *Brucella* nisu dodavane nove vrste

do 2007. godine. To zbog visokog stupnja genetske homologije među različitim vrstama roda *Brucella* i ograničenja fenotipskih metoda koje se koriste u identifikaciji. Rijetki kandidati koji bi mogli predstavljati novu vrstu unutar roda nije bilo moguće razlikovati od atipičnih fenotipskih varijanti unutar poznate vrste.

Ewalt i sur. (1994.), opisali su atipični novi soj roda *Brucella* izdvojen iz dobrog dupina (*Tursiops truncatus*). Nakon izdvajanja niza novih sojeva iz morskih sisavaca, predloženo je da one čine novu vrstu koja je nazvana *B. maris* (Jahans i sur., 1997.). Sojevi izdvojeni iz morskih sisavaca prema specifičnim fenotipskim i molekulskim karakteristikama podijeljeni su u dvije nove vrste roda *Brucella* (Cloekaert i sur., 2001., Jacques i sur., 2007.). Nazvane su *B. ceti* i *B. pinnipedialis*, a prirodni domaćini su im kitovi i tuljani (Foster i sur., 2007.). Novija molekularna istraživanja pokazuju da se *B. ceti* i *B. pinnipedialis* mogu dalje podijeliti u posebne podskupine, ali bez indikacije u smislu ekotipa da bi se bilo koja od tih podskupina mogla nazvati posebnom vrstom (Bourg i sur., 2007., Dawson i sur., 2008., Maquart i sur., 2009., Zygmunt i sur., 2010.).

Godine 2008. opisana je nova vrsta izdvojena iz poljske voluharice (*Microtus arvalis*) koja je nazvana *B. microti* (Hubalek i sur., 2010., Scholz i sur., 2008.a). Nakon toga 2010. godine slijedio je opis vrste izdvojene iz endogene infekcije prsnog implantata 71-godišnje žene te je izdvojeni soj nazvan *B. inopinata*. Za opis i karakteristiku vrste upotrijebljen je niz fenotipskih i molekulskih analiza (De i sur., 2008., Scholz i sur., 2010.). *B. microti* i *B. inopinata* fenotipski se razlikuju od klasičnih vrsta roda *Brucella* i zato se često pogrešno identificiraju ako se primjenjuju samo fenotipske metode analize. *B. microti* i *B. inopinata* karakterizira brzi rast i velika metabolička aktivnost.

Stoga biokemijski sustavi biokemijskih pretraga poput API i VITEK pogrešno identificiraju obje vrste kao *Ochrobactrum*, koji je genetski vrlo blizak rodu *Brucella* (Scholz i sur., 2008.b, Scholz i sur., 2010.).

Genski slijed 16S rRNK *B. microti* identičan je odgovarajućim slijedovima svih drugih vrsta roda, osim *B. inopinata*. Sojeve *B. inopinata* karakteriziraju drugačiji genski slijedovi 16S rRNK, s razlikom od pet, odnosno sedam nukleotida (Scholz i sur., 2010.). *B. inopinata* pokazuje značajno nižu razinu sekvencijske sličnosti u raznim genima u usporedbi s drugim vrstama roda *Brucella*. Isto tako *B. inopinata* je najdivergentnija vrsta unutar roda. Iako predstavlja najrazličitiju vrstu, dijeli DNK-DNK homolognost od 80% s *B. melitensis* te bi i dalje pripadala istoj vrsti primjenom opće prihvaćenih granica za podjelu (delineaciju) bakterijskih vrsta. Uz dodatak te tri nove vrste rod *Brucella* trenutno se sastoji od deset vrsta: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti* i *B. inopinata*.

Moguće nove vrste roda *Brucella* i sličnih organizama

Primjenom suvremenih molekularnih metoda olakšava se prepoznavanje mogućih novih bakterijskih vrsta roda *Brucella*. Primjena tih metoda pokazala je postojanje ranije nepoznatih organizama sličnih vrstama roda *Brucella* i mogućih novih vrsta izdvojenih iz ljudi i raznih životinjskih izvora, uključujući i nove domaćine.

Tiller i sur. (2010.a) identificirali su neobičan *Brucella* soj (oznaka BO2) iz biopsata pluća 52 godišnjeg muškarca iz Australije s kroničnom upalom pluća. Fenotipskim (biokemijskim) testovima i molekularnim analizama novi je izolat po svojim karakteristikama bio vrlo sličan *B. inopinata*. Tiller i sur. (2010.b)

molekularnim su tehnikama analizirali sedam izolata iz tri vrste glodavaca podrijetlom iz australske pokrajine Sjeverni Queensland. Navedeni izolati su ranije identificirani kao *B. suis* biovar 3. Izvedena je ponovna analiza radi utvrđivanja njihove točne klasifikacije. Molekularnim tehnikama je dokazano da se radi o sedam istovjetnih sojeva i da se razlikuju od svih poznatih vrsta roda *Brucella*, ali su potpuno identični s ranije opisanim izolatom izdvojenim iz čovjeka oznake BO2 i vrlo je sličan s *B. inopinata*.

Schlabritz-Loutsevitch i sur. (2009.) prvi su izdvojili brucele iz dva mrtvorodena ploda nehumanih primata. Istraživanja su pokazala da se ta dva izolata razlikuju od svih do sada poznatih vrsta roda *Brucella*. Novi atipični izolati izdvojeni su iz mandibularnih limfnih čvorova crvenih lisica u Austriji. Izdvojeni izolati sporije rastu, pokazuju vrlo nisku metaboličku aktivnost i prema biokemijskim karakteristikama ne pripadaju niti jednoj poznatoj vrsti *Brucella* (Hofer i sur., 2012.). Molekularnom tipizacijom temeljenom na sekvencioniranju više lokusa (MLST) i analizom sekvenci više lokusa (MLSA) utvrđen je njihov poseban položaj unutar roda *Brucella* (Scholz i Vergnaud, 2013.). Eisenberg i sur. (2012.) isto tako su izdvojili potencijalnu novu vrstu brucela iz afričkih bikovskih žaba. Sekvencioniranjem genoma potvrđeno je da pripadaju rodu *Brucella*.

Ovi podaci pokazuju mogućnosti punog ekološkog spektra roda *Brucella*. Isto je tako vidljiv i znatan raspon različitih novih životinjskih vrsta koje mogu biti domaćini novih, još neopisanih vrsta *Brucella* ili sličnih organizama. U ovom trenutku patogeni potencijal novih potencijalnih vrsta *Brucella* za ljude je nepoznat kao i njihov ciklus prijenosa i održavanja u prirodi (Scholz i Vergnaud, 2013.). U razdoblju od 2003. do 2009. u Hrvatskoj su izdvojeni unikatni sojevi *B.*

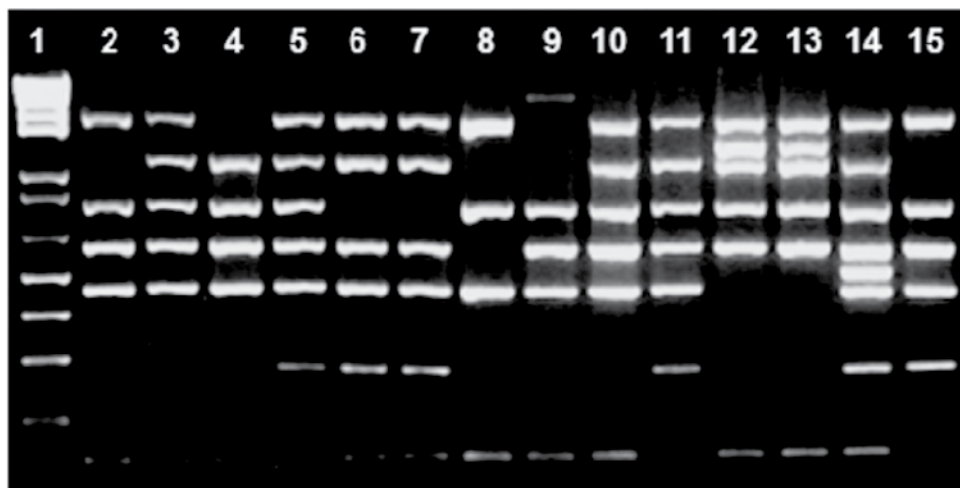
suis iz konja, svinja i divljih svinja koji su prema svojim biokemijskim osobinama bili identificirani kao biovar 3, prema građi IS711, pomoću metode AMOS PCR i kasnije Suis ladder metodom kao biovar 1, a obzirom na izrazito niski zoonotski potencijal najbližnji su bili biovaru 2. Danas, nakon što više nije utvrđen ni jedan slučaj bolesti s ovim tipom uzročnika, najbliže smo mišljenju da se radi o lokalnoj varijaciji u razvoju vrste *B. suis* (*B. suis* CroType).

Primjena molekularnih metoda u tipizaciji i identifikaciji *Brucella* sp.

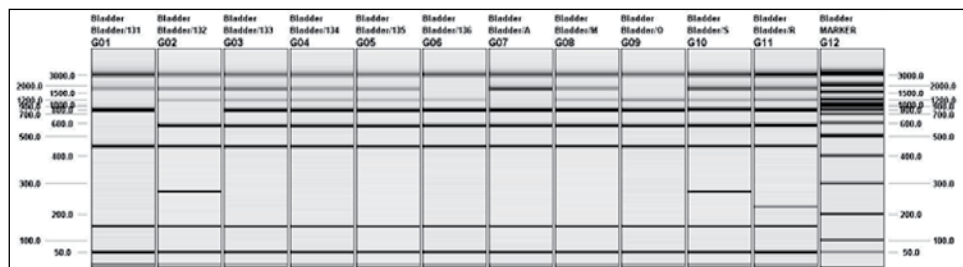
Metode zasnovane na lančanoj reakciji polimerazom

Klasične serološke metode nisu uvijek dovoljno osjetljive i specifične, a bakteriološka pretraga je duga, zahtjevna i opasna te subjektivna. Zato se za određivanje i tipizaciju *Brucella* sp. danas sve češće primjenjuju molekularne metode. Lančana reakcija polimerazom (engl. polymerase chain reaction, PCR) je metoda koja samostalno ili u kombinaciji s klasičnim bakteriološkim tehnikama pruža siguran dokaz *Brucella* sp. u uzorcima tkiva ili bakterijskoj kulturi. Dostupnost podataka o potpunim slijedovima genoma stvorila je prostor za dubinske molekularne analize i razvoj novih metoda. Time je omogućena identifikacija i diferencijacija roda *Brucella* na razini vrste i biovara te usporedba sojeva u svrhu pronalaska izvora infekcije i odgovaranja na epizootička i epidemiološka pitanja.

Gotovo je cijelo stoljeće jedini način određivanja *Brucella* sp. bila mikrobiološka pretraga. Klasična mikrobiološka pretraga obuhvaća mikroskopsku, kulturnu i biokemijsku pretragu (Alton i sur., 1988.). Sojevi su određivani na osnovi morfologije kolonija (sitne, konveksne, prozirne i hrapave),



Slika 2. Bruce-ladder v 2.0 višestruki PCR: razlikovanje svih poznatih vrsta roda *Brucella* te cjepnih sojeva. Stupac 1, marker 1 kb (Invitrogen Ltd.); stupac 2, *B. abortus*; stupac 3, *B. melitensis*; stupac 4, *B. ovis*; stupac 5, *B. suis*; stupac 6, *B. canis* izolat s *B. canis* profilom originalne Bruce-ladder metode; stupac 7, *B. canis* izolat s *B. suis* profilom originalne Bruce-ladder metode; stupac 8, *B. abortus* S19; stupac 9, *B. abortus* RB51; stupac 10, *B. melitensis* Rev.1; stupac 11, *B. neotomae*; stupac 12, *B. pinnipedialis*; stupac 13, *B. ceti*; stupac 14, *B. microti*; stupac 15, *B. inopinata* [Lopez-Goni i sur., 2011.).



Slika 3. Rezultati uzoraka broj 95-136 dobivenih pretragom Bruce-ladder. (Iznad stupaca nalaze se oznaka pretrage, broj uzorka te oznaka kapilare, u predznajnih 5 stupaca nalazese kontrolni uzorci- *B. suis* 1330, *B. melitensis* 16M, *B. abortus* 544, *B. ovis* RE0, *B. melitensis* Rev. 1, a u zadnjem biljeg 50 – 3000 bp, čije se vrijednosti nalaze s lijeve i desne strane stupaca. U svakom stupcu prisutne su gornja - 3000 bp i donja vrpca - 50 bp biljega za poravnanje te vrpca uzorka)

rastu uz prisutnost ugljikovog dioksida (CO₂), rastu na podlogama s dodatkom tionina i bazičnog fuksina, proizvodnji H₂S, aglutinacije s monospecifičnim protuserumima, hidrolizi uree i tipiziranju fagima (Corbel i sur., 1983., Alton i sur., 1988.).

Prve su se metode molekularne dijagnostike, tj. PCR zasnivale na dokazivanju gena 16S rRNK, što se pokazao neprikladno radi križnih reakcija s članovima roda *Ochrobactrum*, što je

često dovodilo do zabluda u dijagnostici (Herman i Deridder, 1992., Velasco i sur., 1998., Serpe i sur., 1999.).

Bricker i Halling (1994.), razvili su jedan od prvih PCR testova kojim se mogla razlikovati većina vrsta unutar roda *Brucella* tzv. Abortus-Melitensis-Ovis-Suis (AMOS) PCR. Testom se ne može razlikovati svih deset vrsta (*B. canis*, *B. neotomae*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*, *B. inopinata* i *B. microti*), a osobito ne sve biovarove (npr. samo *B. suis* biovar

1). U testu se koristi početnica, ciljano usmjerena na insercijski slijed IS711 specifičan za rod *Brucella*, a pojavljuje se u više kopija što test čini osjetljivim (Halling i sur., 1993., Ouahrani i sur., 1993.). Mnogi su istraživači pokušali razviti nove testove koji djeluju na istom principu kao i AMOS PCR. Testovi su dali zadovoljavajuće rezultate, ali imaju bitne nedostatke, osobito što se tiče identifikacije svih biovarova *B. suis* i *B. abortus*. (Cloekaert i sur., 2003., Al Dahouk i sur., 2007., Maquart i sur., 2008., Hinic i sur., 2009., Zygmunt i sur., 2010.).

Garcia-Yoldi i sur. (2006.) razvijaju višestruku PCR metodu s osam parova početnica u jednoj reakciji tzv. "Bruce-ladder" i ta se metoda pokazala najbolja, budući da razlikuje svih najčešćih šest kopnenih i morske vrste *Brucella*, ali i cjepne sojeve, a kasnije je razvijena i metoda multipleks "Bruce-lader" (Lopez-Goni i sur., 2008.). (Lopez-Goni i sur., 2011.), također razvijaju višestruki PCR „Suis-lader“ koja može razlikovati sve biovarove *B. suis*. (Slika 1 i 2). Mayer-Scholl i sur. (2010.) unaprijeđuju metodu, tako da su njome obuhvaćene i nove vrste poput *B. microti* i *B. inopinata*.

Sažetak

Cijelo stoljeće jedini način određivanja *Brucella* sp. bila je mikrobiološka pretraga. Bakteriološka pretraga je duga, zahtjevna i opasna te ponekad subjektivna. Danas se za određivanje i tipizaciju *Brucella* sp. sve češće primjenjuju molekularne metode. Lančana reakcija polimerazom (engl. polymerase chain reaction, PCR) je metoda koja samostalno ili u kombinaciji s klasičnim bakteriološkim tehnikama pruža siguran dokaz *Brucella* sp. u materijalu ili izolatu. Metode tipiziranja, poput analize više genskih slijedova (engl. multilocus sequence analysis, MLSA), detaljno karakteriziraju strukturu *Brucella* sp., potvrđuju njihovu klasičnu podjelu na genetski različite jedinice te predstavljaju početak ideje o otkrivanju polimorfizama na razini jednog nukleotida (engl. single nucleotide

polymorphism, SNP). Nakon toga razvijeno je mnoštvo testova koji se zasnivaju na SNP - ovima te omogućavaju brzu dijagnostiku na razini vrste, cjepnih sojeva te čak i nekih biovarova, koji čine različite genetske skupine. Lokusi s različitim brojem tandemskih ponavljanja (engl. variable number tandem repeats, VNTRs) prisutni su i u bakterijskim genomima, gdje su vrlo različiti. Posljednjih godina upravo se analiza broja tandemskih ponavljanja na više lokusa (engl. multiple locus variable number of tandem repeat analysis, MLVA) ističe kao jedna dovoljno razlikovna tehnika koja zadovoljava većinu zahtjeva (jednostavnost, mogućnost tipiziranja, ponovljivost, obnovljivost, stabilnost te epidemiološku iskoristivost). Metoda se do sada pokazala kao vrlo djelotvorna, praktična i više funkcionalna. Dostupna je velikom broju istraživača i rezultati se jednostavno uspoređuju na internacionalnoj razini.

Literatura

1. AL DAHOUK, S., K. NÖCKLER, H. C. SCHOLZ, M. PFEFFER, H. NEUBAUER and H. TOMASO (2007): Evaluation of genus-specific and species-specific real-time PCR assays for the identification of *Brucella* spp. Clin. Chem. Lab. Med. 45, 1464-1470.
2. ALTON, G. G., L. M. JONES, R. D. ANGUS and J. M. VERGER (1988): Techniques for the brucellosis laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
3. BOURG, G., D. O'CALLAGHAN and M. L. BORSCIROLI (2007): The genomic structure of *Brucella* strains isolated from marine mammals gives clues to evolutionary history within the genus. Vet. Microbiol. 125, 375-380.
4. BRICKER, B. J. and S. M. HALING (1994): Differentiation of *Brucella abortus* bv 1, *Brucella abortus* bv 2, and *Brucella abortus* bv 3, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv 1 by PCR. J. Clin. Microbiol. 32, 2660-2666.
5. CARMICHAEL, L. E. and D. W. BRUNER (1968): Characteristics of a newly-recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. Cornell Vet. 48, 579-592.
6. CLOECKAERT, A. J., M. GRAYON, O. GREPINET and K. S. BOUMEDINE (2003): Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals by infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. Microbes Infect. 5, 593-602.
7. CLOECKAERT, A. J., M. VERGER, M. GRAYON, J. Y. PAQUET, B. GARIN-BASTUJI, G. FOSTER

- and J. GODFROID (2001): Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microbes Infect.* 5, 593-602.
8. COHAN, F. M. (2002): What are bacterial species? *Annu. Rev. Microbiol.* 56, 457-487.
 9. CORBEL, M. J. and W. J. BRINLEYMORGAN (1975): Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25, 83-89.
 10. CORBEL, M. J., K. P. W. GILL and E. L. THOMAS (1983): Methods for the identification of *Brucella*. Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, pp. 1-63.
 11. CVETNIC, Z., S. SPICIC, S. CURIC, B. JUKIC, M. LOJKIC, D. ALBERT, M. THIEBAUD and B. GARIN-BASTUJI (2005): Isolation of *Brucella suis* biovar 3 from horses in Croatia. *Vet. Rec.* 156, 584-585.
 12. CVETNIC, Z., S. SPICIC, J. TONCIC, D. MAJNARIC, M. BENIĆ, D. ALBERT, M. THIEBAUD and B. GARIN-BASTUJI (2009): *Brucella suis* infection in domestic pigs and wild boar in Croatia. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 28, 1057-1067.
 13. DAWSON, C. E., E. J. STUBBERFIELD, L. L. PERRETT, A. C. KING, A. M. WHATMORE, J. B. BASHIRUDDIN, J. A. STACK and A. P. MACMILLAN (2008): Phenotypic and molecular characterisation of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.* 8, 224.
 14. DE, B. K., L. STAUFFER, M. S. KOYLASS, S. E. SHARP, J. E. GEE, L. O. HELSEL, A. G. STEIGERWALT, R. VEGA, T. A. CLARK, M. I. DANESHVAR, P. P. WILKINS and A. M. WHATMORE (2008): Novel *Brucella* strain (BO1) associated with a prosthetic breast implantin infection. *J. Clin. Microbiol.* 46, 43-49.
 15. DE LEY, J., W. MANNHEIM, P. SEGERS, A. LIEVENS, M. DENIJN, M. VANHOUCK and M. GILLIS (1987): Ribosomal ribonucleic acid cistron similarities and taxonomic neighborhood of *Brucella* and CDC group Vd. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37, 35-42.
 16. DELVECCHIO, V. G., V. KAPATRAL, R. J. REDKAR, G. PATRA, C. MUJER, T. LOS, N. IVANOVA, I. ANDERSON, A. BHATTACHARYYA, A. LYKIDIS, G. REZNIK, L. JABLONSKI, N. LARSEN, M. D'SOUZA, A. BERNAL, M. MAZUR, E. GOLTSMAN, E. SELKOV, P. H. ELZER, S. HAGIUS, D. O'CALLAGHAN, J. J. LETESSON, R. HASELKORN, N. KYRPIDES and R. OVERBEEK (2002): The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 443-448.
 17. EINSENBURG, T., H. P. HAMANN, U. KAIM, K. SCHLEZ, H. SEEGER, N. SCHAUERTE, F. MELZER, H. TOMASO, H. C. SCHOLZ, M. S. KOYLASS, A. M. WHATMORE and M. ZSCHOCK (2012): Isolation of potentially novel *Brucella* spp. from frog. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 3753-3755.
 18. EWALT, D. R., J. B. PAYEUR, B. M. MARTIN, D. R. CUMMINS and W. G. MILLER (1994): Characteristic of *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 448-452.
 19. FOSTER, G., B. S. OSTERMAN, J. GODFROID, I. JACQUES and A. CLOECKAERT (2007): *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 2688-2693.
 20. GARCIA-YOLDI, D., C. M. MARIN, M. J. DE MIGUEL, P. M. MUNOZ, J. L. VIZMANOS and I. LOPEZ - GONI (2006): Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev 1. *Clin. Chem.* 52, 779-781.
 21. GEE, J. E., B. K. DE, P. N. LEVETT, A. M. WHITNEY, R. T. NOVAK and T. POPOVIC (2004): Use of 16S rRNA gene sequencing for rapid confirmatory identification of *Brucella* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 42, 3649-3654.
 22. HALLING, S. M., F. M. TATUM and B. J. BRICKER (1993): Sequence and characterization of an insertion-sequence, IS711, from *Brucella ovis*. *Gene* 133, 123-127.
 23. HALLING, S. M., B. D. PETERSON-BURCH, B. J. BRICKER, R. L. ZUERNER, Z. QING, L. L. LI, V. KAPUR, D. P. ALT and S. C. OLSEN (2005): Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J. Bacteriol.* 187, 2715-2726.
 24. HERMAN, L. and H. DERIDDER (1992): Identification of *Brucella* spp. by using the polymerase chain-reaction. *Appl. Environ. Microb.* 58, 2099-2101.
 25. HINIC, V., I. BRODARD, A. THOMANN, Ž. CVETNIC, P. V. MAKAYA, J. FREY and C. ABRIL (2009): Novel identification and differentiation of *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, and *B. neotomae* suitable for both conventional and real-time PCR systems. *J. Microbiol. Meth.* 75, 375-378.
 26. HOFER, E., S. REVILLA-FERNANDEZ, S. AL DAHOUK, J. M. RIEHM, K. NOCKLER, M. S. ZYGMUNT, A. CLOECKAERT, H. TOMASO and H. C. SCHOLZ (2012): A potential novel *Brucella* species isolated from mandibular lymph nodes of red foxe sin Austria. *Vet. Microbiol.* 155, 93-99.
 27. HOYER, B. H. and N. B. MCCULLOUGH (1968): Homologies of deoxyribonucleic acids from *Brucella ovis*, canine abortion organisms, and other *Brucella* species. *J. Bacteriol.* 96, 1783-1790.
 28. HUBALEK, Z., H. C. SCHOLZ, I. SEDLACEK, F. MELZER, Y. O. SANOGO and J. NESVADBOVA (2007): Brucellosis of the common vole (*Microtus arvalis*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 7, 679-687.
 29. JACQUES, I., M. GRAYON and J. M. VERGER (2007): Oxidative metabolic profiles of *Brucella*

- strains isolated from marine mammals: contribution to their species classification. *FEMS Microbiol. Lett.* 270, 245-382.
30. JAHANS, K. L., G. FORSTER and E. S. BROUGHTON (1997): The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Vet. Microbiol.* 57, 373-382.
 31. LÓPEZ-GOÑI, I., D. GARCÍA-YOLDI, C. M. MARIN, M. J. DEMIGUEL, P. M. MUNOZ, J. M. BLASCO, I. JACQUES, M. GRAYON, A. CLOECKAERT, A. C. FERREIRA, R. CARDOSO, M. DESA, K. WALRAVENS, D. ALBERT and B. GARIN-BASTUJI (2008): Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains. *J. Clin. Microbiol.* 46, 3484-3487.
 32. LÓPEZ-GOÑI, I., D. GARCÍA-YOLDI, C. M. MARÍN, M. J. DE MIGUEL, E. BARQUERO-CALVO, C. GUZMÁN-VERRI, D. ALBERT and B. GARIN-BASTUJI (2011): New *Brucella*-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* i *Brucella canis*. *Vet. Microbiol.* 154, 152-155.
 33. MAQUART, M., Y. FARDINI, M. S. ZYGMUNT and A. CLOECKAERT (2008): Identification of novel DNA fragments and partial sequence of a genomic island specific of *Brucella pinnipedialis*. *Vet. Microbiol.* 132, 181-189.
 34. MAQUART, M., P. LE FLECHE, G. FOSTER, M. TRYLAND, F. RAMISSE, B. DJONNE, S. AL DAHOUK, I. JACQUES, H. NEUBAUER, K. WALRAVENS, J. GODFROID, A. CLOECKAERT and G. VERGNAUD (2009): MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. *BMC Microbiol.* 9, 145-155.
 35. MAYER-SCHOLL, A., A. DRAEGER, C. GOLLNER, H. C. SCHOLZ and K. NÖCKLER (2010): Advancement of a multiplex PCR for the differentiation of all currently described *Brucella* species. *J. Microbiol. Meth.* 80, 112-114.
 36. OSTERMAN, B. S. and I. MORIYON (2006): International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Report of the meeting, Pamplona, Spain. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56, 1173-1175.
 37. OUAHRANI, S., S. MICHAUX, J. S. WIDADA, G. BOURG, R. TOURNEBIZE, M. RAMUZ and J. P. LIAUTARD (1993): Identification and sequence-analysis of IS6501, an insertion-sequence in *Brucella* spp.: relationship between genomic structure and the number of IS6501 copies. *J. Gen. Microbiol.* 139, 3265 - 3273.
 38. PAULSEN, I. T., R. SESHADRI, K. E. NELSON, J. A. EISEN, J. F. HEIDELBERG, T. D. READ, R. J. DODSON, L. UYAMAY, L. M. BRINKAC, M. J. BEANAN, S. C. DAUGHERTY, R. T. DEBOY, A. S. DURKIN, J. F. KOLONAY, R. MADUPU, W. C. NELSON, B. AYODEJI, M. KRAUL, J. SHETTY, J. MALEK, S. E. VAN AKEN, S. RIEDMULLER, H. TETTELIN, S. R. GILL, O. WHITE, S. L. SALZBERG, D. L. HOOVER, L. E. LINDLER, S. M. HALLING, S. M. BOYLE and C. M. FRASER (2002): The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 13148-13153.
 39. SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N. E., A. M. WHATMOREW, C. R. QUANCE, M. S. KOYLASS, L. B. CUMMINS, E. J. DICK, C. L. SNIDER, D. CAPPELLI, J. L. EBERSOLE, P. W. NATHANIELSZ and G. B. HUBBARD (2009): A novel *Brucella* isolate in association with two cases of stillbirth in non-human primates - first report. *J. Med. Primatol.* 38, 70-73.
 40. SCHOLZ, H. C., Z. HUBALEK, I. SEDLAČEK, G. VERGNAUT, H. TOMASO, S. AL DAHOUK, F. MELZER, P. KÄMPFER, H. NEUBAUER, A. CLOECKAERT, M. MAQUART, M. S. ZYGMUNT, A. M. WHATMORE, E. FALSEN, P. BAHN, C. GÖLLNER, M. PFEFFER, B. HUBER, H. J. BUSSE and K. NÖCKLER (2008a): *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58, 375-382.
 41. SCHOLZ, H. C., S. AL DAHOUK, H. TOMASO, H. NEUBAUER, A. WITTE, M. SCHLOTTER, P. KÄMPFER, E. FALSEN, M. PFEFFER and M. ENGEL (2008b): Genetic diversity and phylogenetic relationships of bacteria belonging to the Ochrobactrum- *Brucella* group by recA and 16S rRNA gene-based comparative sequence analysis. *Syst. Appl. Microbiol.* 31, 1-16.
 42. SCHOLZ, H. C., K. NÖCKLER, C. GÖLLNER, P. BAHN, G. VERGNAUD, H. TOMASO, S. AL DAHOUK, P. KÄMPFER, A. CLOECKAERT, M. MAQUART, M. S. ZYGMUNT, A. M. WHATMORE, M. PFEFFER, B. HUBER, H. J. BUSSE and B. K. DE (2010): *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implantation infection. *Int. J. Syst. Evol. Micro.* 60, 801-808.
 43. SCHOLZ, H. C. and G. VERGNAUD (2013): Molecular characterisation of *Brucella* species. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 32, 149-162.
 44. SERPE, L., P. GALLO, N. FIDANZA, A. SCARAMUZZO and D. FENIZIA (1999): Single-step method for rapid detection of *Brucella* spp. in soft cheese by gene-specific polymerase chain reaction. *J. Dairy. Res.* 66, 313-317.
 45. TILLER, R. V., J. E. GEE, M. A. FRACE, T. K. TAYLOR, J. C. SETUBAL, A. R. HOFFMASTER and B. K. DE (2010b): Characterization of novel *Brucella* strains originating from wild native rodent species in North Queensland, Australia. *Appl. Environ. Microb.* 76, 5837-5845.
 46. TILLER, R. V., J. E. GEE, D. R. LONGSWAY, S. GRIBBLE, S. C. BELL, A. V. JENNISON, J. BATES, C. COULTER, R. HOFFMASTER and B. K. DE (2010a): Identification of human unusual *Brucella* strain (BO2) from a lung biopsy in a 52 year old

- patient with chronic destructive pneumonia. BMC Microbiol. 10, 23.
47. VELASCO, J., C. ROMERO, I. LOPEZ-GONI, J. LEIVA, R. DIAZ and I. MORIYON (1998): Evaluation of the relatedness of *Brucella* spp. and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp. nov., a new species with a closer relationship to *Brucella* spp. Int. J. Syst. Bacteriol. 48, 759-768.
48. VERGER, J. M., F. GRIMONT, P. A. GRIMONT and M. GRAYON (1985): *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. Int. J. Syst. Bacteriol. 35, 292-295.
49. ZYGMUNT, M. S., M. MAQUART, N. BERNARDET, B. DOUBLET and A. CLOECKAERT (2010): Novel IS711-specific chromosomal locations useful for identification and classification of marine mammal *Brucella* strains. J. Clin. Microbiol. 48, 3765-3769.

The Use of Different Molecular Methods for Typing of Species *Brucella* Genus (Part 1)

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Full Professor, Sanja DUVNJAK, BSc, PhD, Junior Researcher, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Irena REIL, DVM, Expert Associate, Boris HABRUN, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Miroslav BENIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Relja BECK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Gordan KOMPES, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Maja STEPANČIĆ, DVM, PhD, Expert Associate, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

During a century microbiological examination served as an only method in brucellosis diagnostics even though it was time consuming, demanding, hazardous and in some way subjective method. Nowadays molecular techniques have become leading in either detection and/or typing *brucellae*. Polymerase chain reaction (PCR) is a method which enables accurate detection and typing of *brucellae* in diagnostic material or from isolated culture, independently or in combination with classical microbiological methods. Typing methods such as multilocus sequence analysis (MLSA) enabled description of bacterial structure confirming their classical taxonomy and represent a clue for an idea about single nucleotide polymorphism (SNP). Hence

numerous tests have been developed based on SNP. These tests enable fast diagnosis and identification of different *Brucellae* species, vaccinal strains even specific biovars which belong to different genetic groups. Loci with different number of tandem repeats (variable number tandem repeats VNTR) exist in bacterial genome. During the last few years multiple locus variable number of tandem repeats analysis (MLVA) has become promising differential technique fulfilling most of demands because it is simple, stabile, accurate, enables typing possibility and its results are usable in epidemiology. This method is accessible for many researchers and their results are comparable at international level.

Enrotron 100 mg/ml

Otopina za injekciju za
goveda i svinje

ANIMEDICA

Što je Enrotron ?

- Enrotron je injekcijski proizvod čija je aktivna tvar enrofloksacin, veterinarima dobro poznat fluorokinolon, koji se uspješno koristi u veterinarskoj praksi širom svijeta.

Enrotron 100 mg/ml, otopina za injekciju za goveda i svinje. Sastav: 1 ml sadržava 100 mg djelatne tvari Enrofloksacina i 30 mg pomoćne tvari 1-Butanola. **Indikacije:** Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (pr. pastereloza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloze) i sekundarne bakterijske infekcije koje uslijede nakon virusnih infekcija (npr. virusna upala pluća), gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora. Liječenje lokalnih znakova (upala, kvaliteta i količina mlijeka) pridruženih perakutnom/ akutnom mastitisu mliječnih krava u laktaciji uzrokovanih s E.coli, gdje povijest stada i raniji nalazi antibiograma upućuju da je enrofloksacin lijek izbora. **Svinja** - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereloza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloze) i multifaktorske bolesti kao što su atrofični rinitis i enzootska pneumonija, gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora. **Kontraindikacije:** Ne primjenjivati profilaktički. Ne primjenjivati životinjama za koje se zna da su preosjetljive na fluorokinolone ili njihovu pomoćnu tvar pripravka. Ne primjenjivati ako je poznato da se javlja rezistencija/križna rezistencija na fluorokinolone. **Nuspojave:** Na mjestu aplikacije može se javiti lokalna reakcija tkiva. Potrebno je držati se uobičajenog sterilnog postupka. **Primjena tijekom graviditeta, laktacije ili mesenja:** Može se primjenjivati tijekom graviditeta i laktacije. **Karencija:** Govedo (subkutna aplikacija): Meso i jestive iznutrice: 10 dana. Mlijeko: 84 sata (7 mužnji). Govedo: (intravenska aplikacija): Meso i jestive iznutrice: 4 dana. Mlijeko: 72 sata (6 mužnji); Svinje: (intramuskularna aplikacija): Meso i jestive iznutrice: 10 dana.

Enrotron

Injekcijska otopina enrofloksacina
100 mg/ml

- Višestruke indikacije
- Kratka karenca za meso i mlijeko
- Različite mogućnosti aplikacije (s/c, i/m, i/v)
- Ekonomičnost

Enrotron 100 mg/ml

Goveda, s/c: meso i iznutrice
10dana mlijeko - 84 sata
Goveda, i/v: meso i iznutrice
4 dana mlijeko - 72 sata
Svinje, i/m: meso i iznutrice
10 dana

U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA

GVA

Centralna veterinarska agencija d.o.o.
Zagreb: Utinjska 40; R. Hrvatska
tel: 01/2304-334; -335; 6571-661
mob: 091/4958-112; -113; -114
fax: 01/6604-031
www.cva.hr

Ponašanje laboratorijskih životinja-miševi i štakori



Gordana Gregurić Gračner, Damjan Gračner i Željko Pavičić

Uvod

Dobro poznavanje pojedinih vrsta laboratorijskih životinja odnosi se, između ostalog, i na poznavanje njihova vrsno specifičnog ponašanja pri čemu vrsno specifično ponašanje, isto tako, obuhvaća i sasvim određeno ponašanje modificirano osobitim načinom života u zatočeništvu. Ono omogućava pravodobno prepoznavanje svakog odstupanja od uobičajenog ponašanja životinja, primjerice, promjenu u reaktivnosti, pojavu neuobičajenih aktivnosti, izražavanje određenih oblika ponašanja prema neodgovarajućem materijalu i slično.

Neke se životinje mogu koristiti u pokusima isključivo ako su u tu svrhu uzgojene. Pravilnik o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN 55/2013) nabraja ih u Prilogu I. (Anonymus, 2013.). Među njima su i miš (*Mus musculus*) i štakor (*Rattus norvegicus*). Generacijama su uzgajani u laboratorijima i u pokusima se koriste više od stotinu godina. Na njih se odnosi 85% od ukupnog broja životinja koje se koriste u istraživanjima (Würbel i sur., 2014.). Proučavanje ponašanja divljih i istovrsnih domesticiranih životinja rezultirala su spoznajom da je „najvažniji učinak domestikacije smanjenje odgovora i osjetljivosti na promjene u okolišu“ (Price, 1999.) što se očituje i u laboratorijskih životinja. Unatoč tomu, uz manje promjene u kvantitativnosti

ponašanja, sačuvali su kvalitativne obrasce ponašanja svojih divljih predaka.

U ovom ćemo radu prikazati osobitosti njihova ponašanja svrstane u devet osnovnih oblika, ponekad bez mogućnosti strogog razgraničenja: reaktivnost, odmor i san, kretanje, održavanje higijene tijela, ponašanje pri hranjenju, kao i teritorijalno, istraživačko, društveno i reproduktivno ponašanje.

MIŠ (*Mus musculus*)

Iznimna prilagodljivost uvjetima okoliša, kratak reproduksijski ciklus, mala tjelesna masa, niski troškovi održavanja i postojanje brojnih baza znanstvenih podataka čine miša gotovo savršenim modelom za korištenje u laboratorijskim uvjetima. Uz nesrodene sojeve, danas se u biomedicinskim istraživanjima koristi više od 1000 genetski definiranih visokosrođenih sojeva (Baumans, 1999.). Njihovo ponašanje, još uvijek u okvirima vrsno specifičnog ponašanja ovisit će, međutim, o soju, kao i o okolišu u kojem se nalaze.

Često ih se koristi u istraživanjima ponašanja, najčešće u testovima učenja i pamćenja te u istraživanjima bolesti poremećaja osobnosti (Tadić, 2012.).

Reaktivnost

Bijeg je osnovna reakcija organizma u trenutku kad se naslućuje opasnost i

Dr. sc. Gordana GREGURIĆ GRAČNER, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Damjan GRAČNER, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Željko PAVIČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Zagreb

često osigurava preživljavanje (Dawkins, 1990.). U trenutku kad ga drugi miš napadne, napadnuti obično neće pokazati podređenost već će nastojati pobjeći (Tadić, 2012.). Kako to u laboratorijskim uvjetima nije moguće, miš se naglo prestane kretati i postavi se u obrambeni okomiti položaj (*defensive upright posture*, DUP). Pritom mu je trbuh okrenut prema napadaču, a glava od njega. Uške su mu uzdignute, oči širom otvorene, a glavu polako pomiče prema naprijed. Drugi miš istodobno zauzima napadački bočni položaj (*offensive sideways posture*, OSP), pokušava napadnutog običi i ugristi za donji dio leđa. Napadnuti miš, međutim, neprestance prema napadaču okreće trbuh i kad mu to okolnosti omoguće naglo će se okrenuti i, unatoč svemu, nastojati pobjeći (Tadić, 2012.). Nemogućnost bijega zbog kojeg se ipak mora fizički sukobiti s napadačem ili iskazati podređenost, mišu uzrokuje stres i njegova je dobrobit narušena (Augustsson, 2004.).

Miš u stresu manje je fizički aktivan, produženo miruje i spava, smanjuje mu se tjelesna masa, ima piloerekciju i pogrbljen je. Takve miševe nužno je izdvojiti iz skupine. Isto tako, stres potiče izlučivanje tamnocrvenog do smeđkastog sekreta iz Harderianovih žlijezda smještenih duboko u orbiti oka koji će obojiti dlaku oko očiju (kromodakrioreja) (Vučinić i sur., 2010.).

U istraživanju ponašanja slobodnoživućih i laboratorijskih miševa ustanovljeno je da su laboratorijski miševi snošljiviji prema istovrsnim jedinkama u početku istraživanja i ne pokazuju znatniji interes za novounešene. Isto se tako manje opiru opetovanim postupcima u kojima ih se koristi. Tijekom baratanja s njima manje se glasaju, međutim, grizu istim intenzitetom i učestalošću kao i slobodnoživući (Augustsson, 2004.).

Odmor i san

Iako su miševi noćne životinje, izvjesne radnje poduzimaju i tijekom dana (Randall, 1999.). Laboratorijski

miševi mogu biti aktivni nekoliko sati u kontinuitetu, ali samo do 50% vremena tijekom 24-ero satnog razdoblja (Baumgardner i sur., 1980.). Uobičajeni zvuci u obitavalištima miševa noću su skvičanje, zvukovi pravljenja gnijezda i grickanje (Randall, 1999.).

Kretanje

Radius kretanja slobodnoživućeg miša ovisi o temperaturi okoliša, dostupnoj hrani i skrovištima. Za kretanje im je iznimno bitan osjet dodira (Randall, 1999.). Prilikom kretanja nastoje održavati fizički kontakt s okomitim površinama (Würbel i sur., 2014.). Kao osjetilo dodira koriste i dugačke, osjetljive brkove kraj nosa, kao i određene dlačice, što im omogućava kretanje kroz mrak i uza zidove. Imaju i odličan osjećaj za ravnotežu zahvaljujući tzv. kinetičkom osjetilu koje je u biti podsvjesno bilježenje serije pokreta nužnih za kretanje od jedne do druge točke. Iznimni su skakači. Neki među njima naskočit će i na površinu do 30 cm višu od površine na kojoj stoje, a bez posljedica mogu skočiti s visine od 2,5 m. Trče po gotovo svakoj okomitoj površini, drvenom ili ciglenom zidu, metalnim nosačima, slavinama, pocinčanom metalu, isprepletenim mrežama, kablovima, kao i vodoravno po električnim kablovima i užadi. Provlače se kroz otvore promjera manjeg od 6 mm. Izvrсни su plivači, iako općenito nerado ulaze u vodu i ne rone (Randall, 1999.).

U laboratorijskim uvjetima, primjerice, miševi soja BALB/c više se kreću od miševa soja NMRI koji više miruju i pritom se čiste. Miševi u klasičnim kavezima skloni su kretanju kruženjem od ugla do ugla kaveza (Dobeic, 2009.).

Održavanje higijene tijela

Miševi uglavnom održavaju higijenu tijela u razdoblju prijelaza iz neaktivnog u aktivno razdoblje i to od glave prema repu (Baumgardner i sur., 1980.). Samo povremeno se čiste tijekom aktivnog razdoblja, a intenzivnije nakon hranjenja

(Baumgardner i sur., 1980., Crawley, 2000.). Održavanje higijene tijela druge jedinke pomaže u uspostavljanju društvenih odnosa (Crawley, 2000.).

Miš dnevno defecira oko 70 relativno tvrdih kuglica fecesa. Obično za sobom ostavlja male hrpice koje se zovu „mokračni stupići“ ili mini stalagmiti. Sastoje se od kombinacije masti, urina i prljavštine, a najviše ih ima na mjestima hranjenja i na ulazu u gnijezdo (Randall, 1999., Tadić, 2012.).

Ponašanje pri hranjenju

Miševi su svežderi, no, ukoliko mogu birati, u hrani će im prevladavati sjemenke, orašasti plodovi, voće i korijenje. Posežu i za insektima i, ponekad, za mesom. Dnevna masa u organizam unesene hrane iznosi oko 20% njihove tjelesne mase, a ta se masa udvostručuje u mišica u laktaciji. Imaju dva glavna razdoblja hranjenja, i to u sumrak i neposredno pred zoru (Randall, 1999.). Ne odbijaju novu vrstu hrane, ali pokazuju izvjestan oprez prilikom njene konzumacije (Meehan, 1984.). Hranidbene navike stječu od majke i drugih miševa tijekom održavanja higijene tijela (Meehan, 1984.). Kao i drugi glodavci i miševi su koprofagi što im omogućuje opskrbu vitaminima B skupine, vitaminom K i održavanje normalne mikroflore probavnog sustava kontinuiranom oralnom reinokulacijom (Vučinić i sur., 2010.).

Tekućinom se snabdjevaju iz vlažne hrane, međutim, ukoliko je dostupna, piju i vodu (Randall, 1999.). Laboratorijski miševi se hrane suhom peletiranom hranom stoga im je nužno osigurati vodu u količini od 6 do 7 mL dnevno (Vučinić i sur., 2010.).

Teritorijalno ponašanje/ teritorijalnost

Slobodnoživući miš je životinja jednog područja i rijetko se udaljuje više od 9 metara od gnijezda. Ukoliko mu je hrana blizu, ograničava područje svoga kretanja na svega nekoliko stopa (1 stopa

iznosi 0,3048 m). Mužjaci imaju nešto veći radijus kretanja od ženke. Dnevno će obići cijeli svoj teritorij istražujući svaku promjenu. Uglavnom se kreću istim rutama (Randall, 1999.).

Teritorijalno ponašanje miševa razlikuje se prema okolišu u kojem žive. U divljini i mužjaci i ženke mogu zaposjedati slabo omeđene preklapajuće teritorije. U ljudskim naseljima teritorij drže samo mužjaci iako im ženka i mladunci mogu u tome pomagati (Crowcroft, 1966.).

Dominantni mužjaci „svoje“ područje obilježavaju mokraćom, ne samo duž granica, već i po cijelom području, istaknutim predmetima te mjestima gdje se gnijezde i hrane. Pritom toleriraju mirisne znakove svojih mladunaca i ženki, ali ne i mužjaka s drugih teritorija (Würbel i sur., 2014.).

Laboratorijski miševi isto tako mogu stvoriti svoj teritorij, ali tek ako im je na raspolaganju veći prostor, primjerice od 2x2 m. Iz jednom osnovanog teritorija mužjak tjera sve druge mužjake. Dominantni mužjaci nikada ne prelaze na teritorij susjeda. U miševa je evolucija teritorijalnosti vezana isključivo na polaganje prava na parenje i ostvarivanja prava na ženke (Tadić, 2012.).

Istraživačko ponašanje

U novom je okruženju ponašanje miševa motivirano nastojanjem da približe



Slika 1. Držanje laboratorijskih miševa u skupini



Slika 2. Oštećena dlaka na leđima i gornjem dijelu vrata podređenog miša (desno)



Slika 3. Miš u položaju rastezanja tijela prema naprijed (*stretched attend posture, SAP*)

upoznaju i istraže okoliš, posebice s obzirom na izvore hrane, a s druge strane nastojanjem da otkriju moguću prisutnost grabežljivaca. Također, na istom području mogu obitavati i drugi pripadnici iste vrste što bi u konačnici moglo rezultirati borbama i ozljedama. U nastojanju da, u smislu gore navedenog, istraže okoliš, koriste izrazito razvijeno osjetilo njuha, okusa, dodira i sluha (Augustsson, 2004.). Međutim, imaju relativno slab vid i ne razlikuju boje (Randall, 1999.).

Prilikom procjene rizika u novom okruženju, miš spušta glavu prema istraživanom objektu, rasteže tijelo prema naprijed (*stretched attend posture, SAP*) (Slika 3.), pravocrtno uzmiče i pretražuje. Ukoliko utvrdi da postoji opasnost tada „razvija strategiju“ obrane (bijeg, agresivna obrana ili nepomičnost), a ukoliko je procijenio da opasnosti nema ponovno se počinje ponašati uobičajeno (Augustsson, 2004.).

Društveno ponašanje

Slobodnoživući miševi uglavnom žive u „obiteljima“ koju čine dominantni mužjak, nekoliko subdominantnih te podređeni mužjaci, potom nekoliko odraslih ženki i njihovi mladunci. Sveukupno ih u takvoj skupini ima oko 50 (Tadić, 2012.).

U cilju međusobnog prepoznavanja te procjene dominacije, kao i seksualnog statusa mužjaci se prilikom susreta

koriste mirisima plantarnih, prepucijskih i slinskih žlijezda (Crawley, 2000.).

U većini laboratorija miševe se nakon odbića smješta u skupine odvojene po spolu (u kojima brzo uspostavljaju stabilnu hijerarhiju) jer inače izbijaju borbe što je za miša vrlo stresno, a moguće su i ozljede (Baumans, 1999.) (Slika 1.). Ukoliko ne uspije pobjeći, podređeni miš u jačoj i ustrajnijoj borbi može biti i usmrćen. Dominantni miševi često čupaju dlaku podređenima i to u području njuške i ta se pojava naziva „brijanje“ (Vučinić i sur., 2010.). Isto tako, dominantni mužjak počesto grize dlaku podređenom što može dovesti do potpunog gubitka dlake na cijelim leđima i gornjem dijelu vrata (Slika 2.). Podređeni se miš tako daje „njegovati“ i taj čin predstavlja oblik nenormalnog, pretjeranog društvenog ponašanja (Dobeic, 2009.).

Iznimno su društvene životinje pa individualni smještaj u njih uzrokuje stres i tzv. „izolacijski sindrom“ (Brain, 1975.). Primjerice, BALB/c miševe najbolje je smjestiti u skupini po troje. Ako ih je dvoje povećava se mogućnost agresije, a ako ih je više od troje smanjuje se mogućnost uspostave stabilne hijerarhijske strukture (Baumans, 1999., Van Loo i sur., 2001.).

Stabilnost skupine kroz uspostavljeni društveni položaj može biti narušena prilikom čišćenja kaveza i premještanja životinja u nove ili čiste kaveze (Vučinić i sur., 2010.). Nekim je miševima, stoga, najbolje ne čistiti kavez 4 do 6 dana, ili

u čisti prenijeti dio uprljane stelje. U oba slučaja treba više pažnje posvetiti prozračivanju kaveza (Dobeic, 2009.).

U mišica držanih u skupini relativno rijetko dolazi do agresije. Ona je znatno češća u skupini miševa (Vučinić i sur., 2010.). Mužjaci rijetko napadaju ženke. Agresija u mišica uglavnom je usmjerena prema mužjacima i to u trenutku kada brane mlade u gnijezdu. Posebice su agresivne ženke u laktaciji koje grizu protivnika gdje god stignu (Tadić, 2012.).

Različiti sojevi izkazuju različitu sklonost agresiji. Primjerice, mužjaci soja BALB/c, C57BL/10 i DBA/2, TO, kao i švicarski miševi skloniji su agresiji i borbi u kojoj učestalo ujedaju za glavu, vrat, ramena, bokove, perineum i rep nego sojevi CBA/Ca, C3H/He koji su mirnije naravi (Nevison i sur., 1999., Dobeic, 2009.).

Društveni sukob unutar skupine miševa, međutim, može biti potaknut i unošenjem u kavez predmeta namijenjenih obogaćivanju okoliša, osobito ako ih se ne može monopolizirati (Würbel i sur., 2014.).

Mužjak s nekoliko ženki može tvoriti harmoničnu skupinu i u njoj je strogo utvrđena hijerarhijska struktura. Pritom, kao medijatori komunikacije služe feromoni koje miševi izlučuju urinom (Vučinić i sur., 2010.). U mokraći se u velikoj koncentraciji nalaze i glavni mokraćni proteini (*major urinary proteins*, MUP) koji na određeno mjesto na sebi vežu signalne molekule male molekulske mase i polako ih otpuštaju u okoliš. U mokraći se nalaze i proteini, produkti gena glavnog sustava tkivne podudarnosti (*major histocompatibility complex*, MHC) koji miševima koji ih ponjuše daju informaciju o stupnju srodnosti s onim koji ih je ostavio. Komunikacija proteinima MUP+MHC omogućuje miševima da saznaju reproduktivni status pošiljatelja signala, njegov društveni status u koloniji, reproduktivno stanje glavnog mužjaka, stupanj srodnosti s drugim jedinkama i zdravstveno stanje pošiljatelja (Tadić, 2012.).

Međusobno komuniciraju ultrazvučnim glasanjem (Vučinić i sur., 2010.).

U laboratorijskim uvjetima lišavanje društvenih podražaja, kao i osiromašenje okoliš (bez opreme koja bi omogućila izražavanje prirodnih ponašajnih odgovora na vanjske podražaje) može dovesti do poremećaja u inhibicijskoj kontroli ponašanja te pojave hiperaktivnosti, stereotipija, kompulzivnog ponašanja i nefleksibilnosti kognitivnih funkcija višeg reda (Würbel, 2001., Würbel i sur., 2014.).

Reproduktivno ponašanje

U mišica na pojavu estrusa i njegovo trajanje utječe duljina svjetlosnog dana, ali i nazočnost drugih jedinki (Vučinić i sur., 2010.). Primjerice, u mišica u prenaseljenim kavezima dolazi do supresije estrusnog ciklusa (Lee-Boot efekt), no ukoliko se te anestrčne ženke izlože mirisu urina mužjaka, u roku 72 sata doći će do pojave estrusa (Whitten efekt) (Vučinić i sur., 2010.).

Pojava estrusa, parenje i ovulacija uglavnom se odvijaju noću. Jedan mužjak oploduje 2 do 6 ženki. Gnijezde se u tamnom, zaklonjenom mjestu. Gnijezdo se sastoji od vlaknastih, usitnjenih materijala kao što su papir, tkanina, juta, izolacijski materijali i pamuk. U konačnici, gnijezdo izgleda kao rahlo klupko vune promjera oko 10 cm (Randall, 1999.). U slobodnoživućih miševa i mužjaci i ženke imaju sklonost gradnji gnijezda nevezano uz reproduktivni status (Augustsson, 2004.).

Pojava kanibalizma prema mladuncima, koja također ovisi i o soju, može se gotovo u potpunosti izbjeći osiguravanjem tišine, prigušenog svjetla i dovoljne količine materijala za gniježđenje (Baumans, 1999.).

Isto tako, prije baratanja mladuncima, mišicu treba odvojiti u poseban kavez kako bi se spriječila njena agresivna reakcija pri obrani mladunaca. Potom se ruke dobro protrljaju uprljanom prostirkom na kojoj su feromoni odvojene majke, a tek potom se mladunci vrlo nježno uzimaju u ruku i



Slika 4. Propinjanje štakora na stražnje ekstremitete

postavljaju na dlan druge ruke. Prilikom vraćanja mladunaca u kavez također ih treba protrljati prostirkom u kojoj su feromoni mišice radi maskiranja mirisa osobe koja je s mladuncima baratala (Vučinić i sur., 2010.).

U dobi od dva tjedna obrastaju dlakom, otvaraju im se oči i uši, a u dobi od tri tjedna mladunci se polako pokušavaju udaljavati od gnijezda te počinju uzimati krutu hranu (Randall, 1999.).

ŠTAKOR (*Rattus norvegicus*)

Kao i u miševa, i u laboratorijskih štakora uzgojeni su brojni nesrođeni i visokosrođeni sojevi. Koriste se u biološkim istraživanjima u okviru temeljnih prirodnih znanosti, u istraživanju, razvoju i utvrđivanju kvalitete proizvoda i uređaja koji se koriste u humanoj i veterinarskoj medicini i stomatologiji te toksikološkim i veterinarskoj medicini i stomatologiji te istraživanjima toksičnosti, procjeni štetnosti određenih kemikalija korištenih u domaćinstvu, industriji, poljoprivredi i drugim sigurnosnim procjenama. Smatra se da su fiziološki procesi u štakoru sličniji onima u ljudima nego fiziološki procesi u mišu (Würbel i sur., 2014.).

Reaktivnost

Laboratorijski štakori su mirniji i manje grizu nego slobodnoživući (Würbel i sur., 2014.) iako su uglavnom, unatoč generacijama uzgojenim u laboratoriju, sačuvali obrasce ponašanja divljih štakora (Kaliste i Mering, 2007.). Laboratorijski su uglavnom krotki s velikom sposobnošću „mirnog“ podnošenja i neugodnih zahvata, primjerice, injekcija (Weihe, 1987.). Reaktivnost mladunaca uvelike ovisi o načinu baratanja sa ženkom tijekom njena graviditeta. Neprikladno baratanje koje gravidnoj ženki uzrokuje stres u mladunaca će rezultirati povećanom tjeskobom, većom osjetljivošću na lijekove te izraženijom emotivnošću, kao i stanjem sličnim depresiji (Maccari i sur., 2003.). Isto tako, na ponašanje i fiziološke reakcije u mladunaca znatno utječu majka i drugi mladunci u leglu, a izdvajanje iz legla vrlo im je stresno i potiče ih na ultrazvučno glasanje (Kaliste i Mering, 2007.). Razdoblje nakon partusa je ključno za život štakora i znatno utječe na fenotip odrasle jedinke, posebice s obzirom na njenu osjetljivost na čimbenike stresa. Stoga, tijekom tog najranijeg razvoja mladunce ne bi trebalo uznemiravati, odvajati ih od majke i drugih mladunaca u leglu ili im na bilo koji način prouzročiti veći stres. Međutim, češće baratanje njima tijekom postupaka čišćenja kaveza predstavlja pozitivan stimulans. Nakon odbića štakore bi i dalje trebalo držati u skupinama, barem do završetka razdoblja igranja (Kaliste i Mering, 2007.).

Na akutnu bol, na koju su iznimno osjetljivi, kao i na stres, reagiraju glasnim skvičanjem i obrambenim ponašanjem. Ližu i grickaju bolni dio tijela i zauzimaju pogrbljen stav, razdoblje sna im se produljuje te im se zbog stresa pojavljuje kromodakrioreja (Vučinić i sur., 2010.).

U kavezu, bez mogućnosti bijega od napadača, štakor obično čučne ili se pak baci na leđa i tako nekoliko sekundi ili minuta čeka dok napadač ne odustane (Tadić, 2012.).

Odmor i san

Štakori su uglavnom aktivni noću i tada jedu, napajaju se i pare (Vučinić i sur., 2010.). Preciznije, aktivniji su neposredno nakon sumraka i prije zore te u toplijim razdobljima godine (Calhoun, 1963., Würbel i sur., 2014.).

U laboratoriju je izražen njihov cirkadijalni ritam i odgovara im 12 sati mraka i 12 sati svjetla (Kaliste i Mering, 2007.). U kavezu im je bitno osigurati skrovito mjesto jer imaju veliku potrebu za sigurnošću (od grabežljivca) i ona uvelike definira njihovo ponašanje (Kaliste i Mering, 2007.).

Kretanje

Štakori se nastoje kretati tik uza okomite površine (Würbel i sur., 2014.) pri čemu ih neprestance dodiruju dugim brcima i određenim dlakama na tijelu (Randall, 1999.).

Mogu plivati, ali i skupiti nozdrve i roniti (Vučinić i sur., 2010.).

Vole se propinjati na stražnje ekstremitete i stajati uspravno, stoga, ako ovaj oblik ponašanja izostane može se posumnjati na bolest (Vučinić i sur., 2010.) (Slika 4.).

Imaju odličan osjećaj za ravnotežu, a uvijek se pri padu dočekuju na noge. Mogu pasti s gotovo 15 metara i preživjeti, skočiti okomito do metra i gotovo 120 cm naprijed te se penjati unutar cijevi promjera 4 do 10 cm. Mogu se kretati po brodskež užiadi, a među zgradama po električnim ili telefonskim žicama. Štakor može plivati gotovo 800 m, kao i protivno snažnoj struji te se provući kroz otvor visine svega 1,3 cm (Randall, 1999.).

Održavanje higijene tijela

Higijensko ponašanje i održavanje higijene vlastitog tijela razvijeno je kao i miševa (Vučinić i sur., 2010.). Iako je uglavnom povezano s odmaranjem, može ukazivati i na neki poremećaj ili frustraciju. Čiste se od glave prema repu, u nekom skrovitom mjestu. Stres i oprez skraćuju vrijeme provedeno u toj aktivnosti (Würbel i sur., 2014.).

Za sobom dnevno ostavljaju oko pedesetak fecesa dugačkih oko centimetar, a najviše ih bude na mjestima gdje se odmaraju ili hrane (Randall, 1999.).

Ponašanje pri hranjenju

U dobi od tri tjedna počinju polako uzimati krutu hranu (Randall, 1999.). Oportunistički su svežderi, a za područje obitavanja izabiru područja s dostupnom tekućom vodom, pristupom hrani, tlom za kopanje jazbine i pokrovom (Würbel i sur., 2014.). Sakupljači su hrane, a pronađenu hranu odnose u jazbinu i tamo je konzumiraju (Würbel i sur., 2014.). Imaju sklonost ka slatkoj, visokoproteinskoj i kaloričnoj hrani, umjerenu prema kiseloj, a gorku izbjegavaju (Burn, 2008.). U laboratorijima se hrane peletiranom hranom *ad libitum* i potrebno im je osigurati oko 10 mL vode na 100 g tjelesne mase (Vučinić i sur., 2010.). Izbjegavaju uzimanje nove, nepoznate hrane (Würbel i sur., 2014.). Koprofagi su (Vučinić i sur., 2010.). O hrani uče putem društvenih odnosa (Burn, 2008.).

Teritorijalno ponašanje/ teritorijalnost

Barnett (1963.) je definirao teritorij štakora kao područje na kojem jedan odrasli mužjak dominira manjom skupinom ženki i mladunaca braneći pritom od uljeza to područje, a posebice područje posebice oko mjesta hranjenja i gnijezdenja. Dominantni mužjak obilazi svoj teritorij i obilježava ga mokraćom. Izvan teritorija nalaze se tzv. neutralne zone koje uglavnom izbjegavaju. Općenito, područje na kojem obitava kolonija sastoji od brojnih teritorija i neutralnih zona. Uglavnom, dok dominantni mužjak brani svoj teritorij od uljeza, štakorice, koje inače nisu agresivne, u laktaciji žestoko brane svoje gnijezdo i od mužjaka i od ženki (Miczek i Boer, 2005., Kaliste i Mering, 2007.). Agresivnost im opada kako odmiče laktacija (Kaliste i Mering, 2007.).

Istraživačko ponašanje

Osjetilo vida im je slabo razvijeno i slijepi su na boje (Randall, 1999., Vučinić i sur., 2010.). Vide do udaljenosti od 9 do 13 metara. (Randall, 1999.). Međutim, imaju izvrsno osjetilo njuha i dodira koje im omogućuje primanje bitnih informacija o njihovom društvenom i fizičkom okolišu (Kaliste i Mering, 2007.). Neofobični su, tj. strah ih je novih i nepoznatih okolnosti (Vučinić i sur., 2010.).

U dobi od tri tjedna počinju istraživati područje gniježđenja i pritom koriste njih kako bi locirali hranu, slijedili tragove, razabrali neprijatelja i prepoznali nove objekte na putu kojim se kreću (Randall, 1999.).

Društveno ponašanje

Štakori su vrlo društveni (Würbel i sur., 2014.), a postoje i znatne razlike u razvoju mozga individualno držanih i držanih u skupini. Razlike među njima isto se tako očituju i u morfološkim i fiziološkim svojstvima (povećanje broj otkucaja srca, krvnog tlaka, tjelesne temperature), sposobnosti učenja i pamćenja, rješavanju problema, rekonvalescenciji, pojavi želučanih ulceracija, i općenito povećanoj razini kortikosteroida (Dobeic, 2009.).

Kolonije divljih štakora su obično velike i obuhvaćaju oko 200 i više jedinki, stabilne su i s niskim stopama migracije (Würbel i sur., 2014.). Kolonija obitava na dobro definiranim područjima obilježenim mokraćom ili sekretima žlijezda (Randall, 1999.). Otvorena agresija prema članovima kolonije je rijetka, stariji štakori dominiraju mlađima, a bore se mlađi mužjaci uspostavljajući svoje mjesto u hijerarhiji te s uljezima (Würbel i sur., 2014.). Napadač ujeda sa strane, za stražnji dio protivnika, natjerava ga i ruši (Blanchard i sur., 2001.).

U manjim kolonijama teritorijalnu skupinu obično čini jedan dominantni štakor i do 6 ženki s mladuncima. Podređenima je ograničen pristup hrani i drugim dobrima, imaju više ozljeda i višu stopu smrtnosti nego dominantne jedinke.

Međutim, kako je u gušćim kolonijama mužjaku teže održavati dominaciju i drugi mužjaci dolaze u priliku kohabitirati s tim ženka (Davis, 1953.).

Laboratorijski štakori se drže u manjim istospolnim skupinama bez strogo utvrđene hijerarhije, a pojava agresije je rijetka (Grant i Chance, 1958., Hurst i sur., 1999.). Ukoliko se zajedno drže mužjaci i ženke tada mužjaci stvore jasnu hijerarhijsku strukturu s negativnim posljedicama za podređene mužjake. Obilježja društvenog stresa unutar skupine su agonističko ponašanje, ozljede i gubitak tjelesne mase, kao i promjene u ponašanju kao što su smanjena aktivnost i agresivnost, povećana tjeskoba i izrazitije obrambeno ponašanje (Kaliste i Mering, 2007.). Agresija u skupini može biti prouzročena i zajedničkim smještajem mužjaka ranije korištenih u priplodu (Vučinić i sur., 2010.).

Zahvaljujući izvrsnom osjetilu njuha štakori prema mirisu njih samih ili njihove mokraće raspoznaju jedni druge po spolu, reprodukcijom statusu, genetskom srodstvu, dominaciji i zdravstvenom statusu (Hurst, 1999., Würbel i sur., 2014.). Komuniciraju i glasovno zvucima čujnim ljudima ili ultrazvučno na frekvencijama od 22 do 80 Hz, kao i vizualno, osobitim tjelesnim položajima (Koolhaas, 1999., Würbel i sur., 2014.).

U dobi od 30 do 40 dana počinje razvoj društvene igre (Kaliste i Mering, 2007.).

U zatočeništvu i odrasle jedinke iskazuju oblik ponašanja sličan igri što neupućenom promatraču može sličiti na izražavanje agresije. Međutim, „ugrizi“ su usmjereni na vrat, ne uzrokuju ozljede, a dlaka pritom nije nakostriješena. Jedan od štakora na kraju bude „prikovan“ za tlo dok ga drugi čisti grickajući mu i grebući dlaku (Würbel i sur., 2014.). Društvena igra prije svega odražava pretkopulatorno ponašanje odraslih, ali penjanje na drugu jedinku koja pritom zauzima lordotičnu poziciju izostat će sve do dobi od 6 do 8 tjedana (Würbel i sur., 2014.). Mužjaci

se igraju više nego ženke u kojih je, pak, izrazitije međusobno održavanje higijene tijela (Kaliste i Mering, 2007.). Izolacija jedinke tijekom „razdoblja igre“ negativno će se odraziti na razvoj društvenog i spolnog ponašanja te pojavu agresivnosti (Vanderschuren i sur., 1997.).

Reproduktivno ponašanje

Laboratorijski štakori imaju više mladunaca nego njihovi divlji preci (Würbel i sur., 2014.). Ženke u estrusu privlače pozornost mužjaka mirisima, skakanjem, zalijetanjem i micanjem ušima te ispuštanjem ultrazvučnih glasova, dok se mužjaci isto tako glasaju i natjeravaju ženku. Mužjak se potom penje na ženku i nakon ejakulacije ostaje miran oko tri minute ispuštajući pritom ultrazvučne glasove (Würbel i sur., 2014.).

Prije partusa ženke je potrebno odvojiti u zasebni kavez gdje će izgraditi gnijezdo (Vučinić i sur., 2010.).

Za razliku od zdravih i dominantnih štakorica, podređene i eventualno bolesne, u prva tri dana nakon partusa mogu usmrtniti i/ili pojesti svoje mladunce osobito ako su izvori hrane nedostatni i ako je preživljavanje mladunaca ugroženo (Würbel i sur., 2014.).

U leglu se obično nalazi 6 do 8 bezdlakih mladunaca, zatvorenih očiju i ušiju, ovisnih o majčinoj toplini (Randall, 1999., Alberts, 2005.). Dlaka im izrasta u dobi od oko 5 dana, a za 10 dana počinju hodati (Alberts, 2005.). Oči i uši im se otvaraju u dobi od dva tjedna (Randall, 1999.).

Umjesto zaključka

Unatoč izvjesnim sličnostima, ponašanje miševa i štakora, prilično se razlikuje, posebno tijekom društvenih interakcija. Poznavanje njihova ponašanja i uvažavanje postojećih razlika nužno je kako bi se tim životinjama osigurao prikladan smještaj i držanje koje ne ugrožava njihovo zdravlje, a samim time i dobrobit. Zdravlje i dobrobit laboratorijskih životinja su čimbenici koji se ističu kao imperativi u etičkom

korištenju laboratorijskih životinja, znatno utječu na kakvoću izvođenja znanstvenog pokusa i na dobivanje vjerodostojnih rezultata.

Sažetak

Dobro poznavanje pojedinih vrsta laboratorijskih životinja odnosi se, između ostalog, i na poznavanje njihova vrsno specifičnog ponašanja. O njemu, između ostalog, ovisi i izbor načina smještaja i držanja kao čimbenika koji znatno utječu na zdravlje, a time i dobrobit životinja korištenih u pokusu. U ovom su radu prikazane osobitosti ponašanja laboratorijskih miševa (*Mus musculus*) i štakora (*Rattus norvegicus*). Unatoč izvjesnim sličnostima, ta se ponašanja prilično razlikuju, posebice tijekom društvenih interakcija. Svrstali smo ih u devet osnovnih oblika: reaktivnost, odmor i san, kretanje, održavanje higijene tijela, ponašanje pri hranjenju, teritorijalno, istraživačko, društveno i reproduktivno ponašanje.

Literatura

- ALBERTS, J. A. (2005): Infancy. In: *The Behavior of the Laboratory rat: a Handbook with tests*. Oxford University Press, Oxford, UK. (266-277).
- Anon. (2013): Pravilnik o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe. Narodne novine, br. 55/2013.
- AUGUSTSSON, H. (2004): *Ethoexperimental Studies of Behaviour in Wild and Laboratory Mice Risk Assessment, Emotional Reactivity and Animal Welfare*. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- BARNETT, S. A. (1963): *The rat. A study in behavior*. Chicago: Aldine.
- BAUMANS, V. (1999): *The laboratory mouse*. In: *UFAW Handbook on the care and Management of Laboratory Animals*, Vol 1, 7th edition (Ed. POOLE, T.), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. (282-312).
- BAUMGARDNER, D., WARD, S. and D. DEWSBURY (1980): Diurnal patterning of eight activities in 14 species of muroid rodent. *Anim. Learn. Behav.* 8, 322-330.
- BLANCHARD, R. J., L. DULLOOG, C. MARKHAM, O. NISHIMURA, J. NIKULINA COMPTON, A. JUN, C. HAN and D. C. BLANCHARD (2001): Sexual and aggressive interactions in a visible burrow system with provisioned burrows. *Physiol. Behav.* 72, 245-254.
- BRAIN, P. F. (1975): What does individual housing mean to a mouse. *Life Sci.* 16, 187-200.
- BURN, C. C. (2008): What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 112, 1-32.
- CALHOUN, J. B. (1963): *The Ecology and Sociology of the Norway Rat*. Vol. 1008, US Department of health Education and Welfare Public Health Service, Bethesda, Maryland.
- CRAWLEY, J. (2000): What is wrong with my

- mouse? Behavioural Phenotyping of Transgenic and Knockout Mice. Wiley-Liss and Sons, Inc., Chichester, UK.
12. CROWCROFT, P. (1966): Mice All Over. Foulis, London.
 13. DAVIS, D. E. (1953): The characteristic of rat populations. Q. Rev. Biol. 28, 373.
 14. DAWKINS, M. S. (1990): From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. Behavioral and Brain Sciences. 13, 1-9. doi:10.1017/S0140525X00077104.
 15. DOBEIC, M. (2009): Poskusi na živalih. Univerza v Ljubljani. Veterinarska fakulteta. Ljubljana. 89-95.
 16. GRANT E. C. and M. R. A. CHANCE (1958): Rank order in caged rats. Anim. Behav. 6, 183-194.
 17. HURST, J. L., C. J. BARNARD, U. TOLLADAY, C. M. NEVISION and C. D. WEST (1999): Housing and welfare in laboratory rats: effects of cage stocking density and behavioural predictors of welfare. Anim. Behav. 58, 563-586.
 18. KALISTE, E. and S. MERING (2007): The welfare of laboratory rats. In: The welfare of laboratory animals (Ed. KALISTE, E.), ©Singer.
 19. KOOLHAAS, J. M. (1999): The laboratory rat. In: The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals, 7th edition (ed. Poole, T.), Blackwell science Ltd, Oxford, UK. (313-330).
 20. MACCARI, S., M. DARNAUDERY, S. MORLEY-FLETCHER, A. R. ZUENA. C. CINQUE and O. VAN REETH (2003): Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. Neurosci. Biobehav. R. 27, 119-127.
 21. MEEHAN, A. (1984): Rats and Mice: Their Biology and control. Brown, Knight and Truscott Ltd., Tonbridge, UK.
 22. MICZEK, K. A. and S. F. BOER (2005): Aggressive, Defensive, and Submissive Behavior. In: The behavior of the laboratory rat. A handbook with tests. (Eds. WHISHAW, I. Q., B. KOLB). Oxford University Press, Inc. (344).
 23. NEVISION, C. M., J. L. HURST and C. J. BARNARD (1999): Strain-specific effects of cage enrichment in male laboratory mice (*Mus musculus*). Anim. Welfare. 8, 361-379.
 24. PRICE, E. O. (1999): Behavioural development in animals undergoing domestication. Appl. Anim. Behav. Sci. 65, 245-271.
 25. RANDALL, C. (1999): Vertebrate Pest Management-a Guide for Commercial Applicators (Extension Bulletin E 2050). Michigan State University, East Lansing, Michigan.
 26. TADIĆ, Ž. (2012): Ponašanje životinja. U: Program osposobljavanja osoba koje rade s pokusnim životinjama i životinjama za proizvodnju bioloških pripravaka. Osposobljavanje osoba koje provode pokuse na životinjama te odgovorne osobe kao i voditela nastambi za životinje i njihovih zamjenika (urednice: BLAŽEVIĆ, S., J. ERHARDT), Zagreb. (60-65).
 27. VAN LOO, P. L. P., J. A. MOL, J. M. KOOLHAAS, L. F. M. VAN ZUTPHEN and V. BAUMANS (2001): Modulation of aggression in male mice: influence of group size and cage size. Physiol. Behav. 72, 675-683.
 28. VANDERSCHUREN, L. J. M. J., R. J. M. NIESINK and J. M. VAN REE (1997): The neurobiology of social play behaviour in rats. Neurosci. Biobehav. R. 31, 309-326.
 29. VUČINIĆ, M., S. TRAILOVIĆ and J. NEDELJKOVIĆ-TRAILOVIĆ (2010): Laboratorijske životinje. U: Eksperimentalne životinje i eksperimentalni modeli (urednici: VUČINIĆ, M., Z. TODOROVIĆ). Univerzitet u Beogradu (Fakultet veterinarske medicine, Medicinski fakultet, Farmaceutski fakultet), Beograd. 133-158.
 30. WEIHE, W. H. (1987): The laboratory rat. In: The UFAW Handbook on the Care and Management of laboratory Animals (Ed. POOLE, T.), Longman Scientific & Technical, London, UK. (309-330).
 31. WÜRBEL, H. (2001): Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behaviour. Trends. Neurosci. 24, 207-211.
 32. WÜRBEL, H., C. BURN and N. LATHAM (2014): Ponašanje laboratorijskih miševa i štakora. U: Ponašanje domaćih životinja-prema 2. engleskom izdanju. Uvodni tekst (urednici hrvatskog izdanja PAVIČIĆ, Ž., K. MATKOVIĆ). Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb. (217-233).

The Behaviour of Laboratory Animals: Mice and Rats

Gordana GREGURIĆ GRAČNER, DVM, PhD, Assistant Professor, Damjan GRAČNER, DVM, PhD, Associate Professor, Željko PAVIČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Good knowledge of certain species of laboratory animals implies, *inter alia*, due knowledge of their species specific behaviour, which, among other things, determines the choice of accommodation and housing as factors that greatly influence the health and welfare of animals used in experiments. This paper describes the behavioural characteristics

of laboratory mice (*Mus musculus*) and rats (*Rattus norvegicus*). Despite some similarities, their behaviour is quite different, especially during social interactions. These behaviours were divided into nine basic forms: reactivity, rest and sleep, movement, body hygiene, feeding behaviour, territorial, research, social and reproductive behaviour.

Dobrobit riba



Damir Radanović, Kristina Matković i Ivana Tlak Gajger

Uvod

Dobrobit životinja je stanje u kojem jedinka reagira na utjecaj brojnih čimbenika iz okoliša (Broom, 1998.). Budući da dobrobit ima vrlo složen koncept, teško je izvesti pravu definiciju (Appleby, 1999.). Zbog navedenog u literaturi se može naći brojne i vrlo različite definicije, a svaka od njih razmatra neki od vidova onoga što riječ zapravo označava.

Da bi se životinja u svom životnom okruženju osjećala dobro ne smije percipirati negativna iskustva kao što su bol ili strah. Također, treba joj omogućiti pristupanje pozitivnim iskustvima, kao i učestalo djelovanje pozitivnih okolišnih čimbenika. To je, primjerice, druženje, u slučaju životinjskih vrsta koje su se tijekom evolucije organizirale te u prirodi žive u zajednicama.

Definicije zasnovane na prirodnom načinu života proizlaze iz činjenice da svaka vrsta životinja ima urođene osobitosti ili prirodna biološka svojstva koja se moraju izražavati tijekom izvođenja određenih obrazaca ponašanja. Ovdje dobrobit zahtijeva da se životinji omogući da može voditi prirodni način života i izraziti svoje *prirodno ponašanje*. Navedeni pristup temelji se na vrijednostima koje se potencijalno mogu izmjeriti (npr. što životinje čine u divljini, a što u zatočeništvu), ali se zasniva i na pretpostavci da životinje pate ukoliko ne mogu izraziti fiziološke načine

ponašanja koja pokazuju živeći slobodno. U drugim slučajevima, životinje mogu biti visoko motivirane za izvođenje određenih obrazaca ponašanja, neovisno o posljedicama istih te mogu patiti ako su lišene mogućnosti da izraze određeni vid ponašanja. Slobodno živući atlantski lososi migriraju na velike udaljenosti zbog potrage za hranom. Ako ih se opskrbi s većim zalihama hrane, nema razloga vjerovati da je dobrobit lososa ugrožena sprječavanjem migracije. No, s druge strane, ako oni posjeduju instinktivni nagon za kretanjem na nova udaljena područja, bez obzira na dostupne zalihe hrane, zatočeništvo može prouzročiti patnju.

Cilj ovog preglednog rada je prikazati novije spoznaje te odgovoriti na brojna pitanja koja se odnose na dobrobit riba: Što je dobrobit riba? Zašto je važna? Čime je i kojim ljudskim postupcima ugrožena? Na koje načine se praktično može procijeniti dobrobit riba?

Pokazatelji dobrobiti

S obzirom na poteškoće u izricanju sveobuhvatne te općenito prihvatljive definicije o dobrobiti životinja, istraživanja su usredotočena na utvrđivanje uvjeta koji moraju biti ispunjeni, a da bi se dobrobit određene vrste smatrala prihvatljivom. Jedan od najutjecajnijih okvira nužnih uvjeta temelji se na

Damir RADANOVIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Kristina MATKOVIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Ivana TLAK GAJGER, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet, Zagreb

takozvanih *pet sloboda*: dostupnosti hrane i vode, odgovarajućem smještaju i načinu držanja, sprječavanju i/ili liječenju bolesti i ponašanju te mentalnoj slobodi (Mellor i Stafford, 2001.).

Procjena *pete slobode* za dobrobit riba je vrlo složena, jer je teško objasniti mentalno stanje patnje, odnosno svjesno vrlo neugodno iskustvo (Dawkins, 1998.). Primjerice, biljka može uvenuti, ali pošto nema živčani sustav za generiranje mentalnog iskustva, moguće je da se patnja pritome neće pojaviti. U ovom kontekstu, detaljnijim istraživanjima mora se utvrditi jesu li ribe u stanju doživjeti fizičku bol (Rose, 2002.).

Pretpostavlja se da što je duži životni vijek određene vrste riba i što je njezino opće ponašanje sofisticiranije, to je i veća njena potreba za odvijanjem složenih mentalnih procesa. Toj skupini pripadaju i one vrste koje stvaraju svjesno iskustvo boli. Važno je istaknuti da među

ribama postoje vrste koje su među najduže živućim kralježnjacima i da su obrasci ponašanja u riba vrlo raznoliki i složeni. Na primjer, znamo da neke vrste formiraju mentalne mape u svom okruženju i koriste ih u vrlo složenim podvizima navigacije prilikom plivanja (Rodriguez i sur., 1994.). Također, mnoge ribe žive u skupinama i mogu prepoznati vlastite životne partnere (Swaney i sur., 2001.). Pojedine vrste riba se mogu sjećati proživljenih negativnih iskustava. Na primjer, neke ribe izbjegavaju mjesta gdje su doživjele napad grabežljivaca i dalje to čine kontinuirano tijekom nekoliko mjeseci (Czanyi i Doka, 1993.). Šaran može *naučiti* načine kako izbjeci mamac čak do tri godine nakon što je bio bezuspješno zakačen na udicu. Uglavnom, dok životinje mogu pokazivati ovakve vrste asocijativnog učenja bez da su nužno svjesne (Rose, 2002.), ipak negativna iskustva, kao što su

Utjecaj štetnih okolišnih čimbenika kao što su: kemikalije, toplina, pritisak i sl.



Osjetni neuroni za otkrivanje štetnih podražaja (nociceptori) reagiraju na određene podražaje. Postoje dvije zajedničke vrste nociceptora: mijelinizirana, mala, sporo provodljiva A-delta vlakna i manja, sporije provodljiva C vlakna. Nociceptori se aktiviraju nakon zaprimanja podražaja za bol.

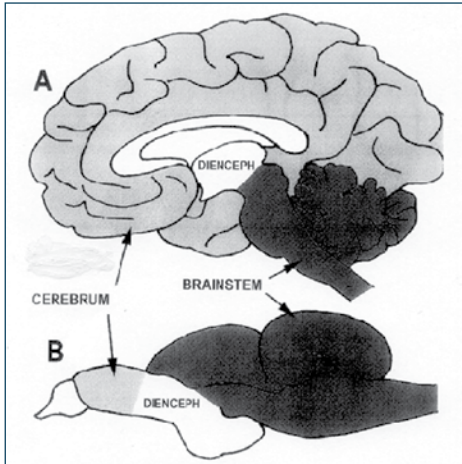


Podražaj prolazi kroz mala živčana vlakna u leđnoj moždini do talamusa (dio diencephalona), a zatim i do moždane kore. Navedeni sustavi odgovorni su za senzorsko otkrivanje štetnih podražaja, a drugi je odgovoran za svjesne, emocionalne reakcije na takve zaprimljene podražaje.



Fiziološke reakcije na štetne podražaje uključuju zaštitne odgovore (upala i kardiovaskularne promjene) i refleks izbjegavanja odgovora. Složenije reakcije višeg reda uključuju promjene u obavljanju fizioloških procesa (npr. izlučivanje prirodnih opioida) i promjene u načinima ponašanja (npr. izbjegavanje mjesta gdje su bili doživljeni štetni podražaji za bol).

Shema 1. Glavne komponente mehanizma percepcije boli kod sisavaca (FSBI, 2002.).



Slika 1. Usporedba građe mozga čovjeka (A) i mozga pastrve (B); moždana kora je prikazana sivom, a moždano debl tamno sivom bojom (Rose, 2002.).

izloženost grabežljivcima i/ili posljedična oštećenja tkiva mogu biti jako neugodna za ribe. Bitno je spoznati osjećaju li ribe tjelesne ozljede poput boli. Treba naglasiti činjenicu da otkrivanje i reagiranje na štetne neugodne podražaje nije nužno isto što i osjećaj boli (Broom, 1998.). Što je dosad poznato o tim sustavima u riba?

Što se tiče prisutnosti receptora koji detektiraju neugodni štetni poticaj, paklare koje imaju primitivni živčani sustav imaju živce u koži koji fiziološki odgovaraju podražajima mehaničkog pritiska, ali zasad ne postoje dokazi da ta vrsta riba stvarno pokazuje ikakve anatomske reakcije ili reakcije u promjenama ponašanja koje prati nocicepcija. Međutim, u dužičaste pastrve, pregledom trigeminalnog živca (za koji je poznato da prenosi povratne informacije o podražajima za bol iz glave i usta u viših kralježnjaka) su identificirane dvije vrste nociceptora: A-delta i C vlakna (Sneddon, 2002.).

U odnosu na mehanizam koji generira svjesno iskustvo boli kod ljudi, mozak ribe je daleko manji u odnosu na njenu veličinu tijela (oko 300 puta manji) i jednostavnije građe uspoređujući ga s

mozgom čovjeka. Konkretno, ribe nemaju neokorteks, dio mozga odgovoran za subjektivno iskustvo boli u ljudi (Rose, 2002.). Međutim, poznato je da je kod raznih vrsta životinja za istu reakciju odgovoran i drugi dio mozga. Na primjer, vizualne podražaje u sisavaca obrađuje dio moždane kore, a u ptica ih obrađuje *tectum opticum* srednjeg mozga u kojeg ulaze optička vlakna. Moguće je da su i neki drugi dijelovi mozga osim neokorteksa razvili kapacitet za generiranje negativnih emocionalnih stanja i patnje u kralježnjaka koji nisu sisavci, uključujući ribe.

Potrebno je provesti istraživanja o načinima ponašanja riba kada ih se stimulira štetnim tvarima kako bi se utvrdilo jesu li nociceptori povezani s *nervus trigeminusom* riba i mogu li proizvesti bol kao posljedičnu reakciju. Takav odgovor se čini vjerojatnim, s obzirom da se za ribe iz porodice *Opisthognathidae* zna da proizvode neke od prirodnih opioida koji su uključeni u nocicepciju u sisavaca (enkefalini i endorfini) te da je reakcija zlatnih ribica na prisustvo analgetika slična onoj u štakora (Zaccone i sur., 1994.). U sisavaca opioidi djeluju na razinama neurona smještenih ispod neokorteksa (Rose, 2002.), ali to ne isključuje i njihov mogući učinak suzbijanja boli.

Ovi podatci ukazuju da ribe imaju osjetila i senzorski sustav za obradu štetnih podražaja, i vjerovatno, središnji živčani sustav može iskusiti barem neka od nepovoljnih stanja koje povezuju s boli u sisavaca. Stoga se može zaključiti da ribe imaju sposobnost percipiranja bolnih podražaja.

Odgovor riba na stres

Svim životinjama treba stabilno *unutarnje stanje* kako bi rasle, preživjele i razmnožavale se. Održavanje ovog stabilnog stanja nazivamo homeostaza. Kao odgovor na podražaje koji djeluju izvana, životinja održava homeostazu

kroz promijenjeno ponašanje i promjene u obavljanju fizioloških procesa (odgovori na stres). Reakcija na stres može se stoga smatrati kao dio prilagodbene strategije za borbu s percipiranom prijetnjom homeostazi (Sutanto i de Kloet, 1994.). Fiziologija stresa riba izravno je usporediva s onom viših kralježnjaka, ali se puno manje zna o emocionalnom sadržaju stresora u ribama, a što je važno poznavati prilikom utvrđivanja veze između fiziološkog stresa i patnje.

Primarni odgovori na stres

Neposredne neuroendokrine promjene koje nastaju kada se ribe podvrgavaju djelovanju stresora nazvane su primarne reakcije na stres. One tijekom prepoznavanja stresora u riba potiču brzo neurostimulativno oslobađanje adrenalina i noradrenalina iz tkiva koje je ekvivalentno srži nadbubrežne žlijezde u sisavaca. Istovremeno se aktivira osovina hipotalamus-hipofiza-unutarbubrežno tkivo izlučivanjem kortikotropin-oslobađajućeg hormona iz hipotalamusa i naknadno otpuštanje kortizola iz unutarbubrežnog tkiva, koje predstavlja ekvivalent kori nadbubrežne žlijezde u sisavaca (Okawara i sur., 1992.).

Oporavak od kratkoročnog, akutnog stresa, traje do nekoliko sati, a povišena razina kortizola se uobičajeno može utvrditi tijekom kontinuiranog, kroničnog stresa (Pottinger i Moran, 1993.). Pod određenim okolnostima, riba će se naviknuti na ponavljano djelovanje istog stresora i prestati pokazivati odgovor na stres, unatoč tome što je na početku reagirala s povišenjem razine kortizola.

Sekundarni odgovori na stres

Kao izravna posljedica povišenja razine katekolamina i kortizola, dolazi do širokog raspona sekundarnih promjena. Te promjene uključuju: promjenu izlučivanja drugih hormona hipofize i hormona štitnjače; promjenu prometa moždanih neurotransmitera poput dopamina i serotonina; poboljšanje respi-

ratornog kapaciteta preko povećanog broja otkucaja srca i udarnog volumena te povećanje protoka krvi u škragama; i mobiliziranje energije za razgradnju ugljikohidrata i lipida te oksidaciju rezervi mišićnog proteina.

Promjene ponašanja kao odgovor na stres

Promjene ponašanja su za životinje prva obrambena linija protiv negativnih utjecaja štetnih čimbenika iz okoliša, a često ih pokreću isti podražaji koji su pokrenuli primarni odgovor na stres. Specifični odgovor u ponašanju ovisi o vrsti stresora. Na primjer, nakon napada druge ribe iste vrste, riba može pobjeći i sakriti se ili može zauzeti pokoran položaj, često s promijenjenom bojom tijela (O'Connor i sur., 2000.). Kada su napadnute od strane grabežljivaca, ribe mogu odgovoriti skupljanjem u jata, zamrzavanjem, skrivanjem u skloništa (Brown i Warburton, 1999.) i promijenom boje. Također, kod riba može biti potisnuta potreba za uzimanjem hrane nakon ponovnog susreta s grabežljivcem, i/ili ribe mogu izbjegavati područja u kojima su doživjele napad. Uzroci prilagodljivog ponašanja mogu se promatrati kroz odgovore na tkivna oštećenja, primjerice, ribe koje su se zakvačile na udicu ustima, na ponovljeni sličan podražaj reagiraju brzim strelovitim pokretima, pljuvanjem i trešnjom glave (Verheijen i Buwalda, 1988.).

Tercijarni odgovori na stres

Primarni i sekundarni odgovori na stres su kratkoročni odgovori na akutne i kratkotrajne podražaje. Ukoliko je odgovor na stres produžen ili ponavljani i ako riba nema načina da bi izbjegla taj stres ili izazov, pokazuje se niz tercijarnih učinaka, uključujući i promjene u radu imunološkog sustava i otpornost na bolesti, promjene u rastu i reproduktivnom stanju (Schreck, 2000.).

Životinje su zaštićene protiv djelovanja uzročnika bolesti urođenim i stečenim zaštitnim mehanizmima, odnosno anatomskom građom i

uobičajeno prisutnom mikroflorom (Ringo i Gatesoupe, 1998.). Hrskavičnjače imaju ne-specifičan imunološki sustav koji ne ovisi o prethodnoj reakciji na bolest i specifičan imunološki sustav s memorijskim komponentama koji se može prilagoditi djelovanju različitih mikroorganizama (Press, 1998.). U usporedbi s višim kralježnjacima ribe se više oslanjaju na odgovore nespecifičnog imunološkog sustava, dok je specifični sustav slabije razvijen.

Glavne komponente tih sustava su:

- Kemijske tvari u tjelesnim tekućinama koje su u stanju uništiti ili inaktivirati patogene mikroorganizme.
- Cirkulacijske i tkivne stanice koje mogu obuhvatiti ili uništiti patogene mikroorganizme (fagociti).
- Cirkulacijske stanice odgovorne za proizvodnju protutijela (limfociti) i fagocitne stanice koje imaju dodatnu ulogu u predstavljanju antigena specifičnom imunološkom sustavu.

Kao i kod sisavaca, najpoznatija veza između stresa i imunološkog statusa u ribe proizlazi iz djelovanja kortizola. Stanice koje sudjeluju u imunološkom odgovoru sadrže receptore za kortizol (Maule i Schreck, 1990.), a povećane koncentracije otpuštenog kortizola mogu potisnuti mnoge vidove rada imunološkog sustava. Međutim, odnos između stresa i imunološkog sustava ide u dva smjera, budući da imunosni sustav može utjecati na stresni odgovor (Balm, 1997.). Na primjer, citokini (kemikalije koje izlučuju stanice krvi - leukociti, uključujući makrofage) mogu prijeći krvno-moždanu barijeru i utječu na izlučivanje hormona stresa i posrednika. Osim toga, za neke je stanice imunološkog sustava poznato da proizvode medijatore stresa, kao što su adenokortikotropni hormon (Brown, 1994.). Jedna od posljedica izazvana stresom potaknutim promjenama imunološkog sustava je da kronična

izloženost negativnim okolišnim čimbenicima čini ribe osjetljivijima na bolesti. U pastrvskih vrsta riba utvrđeno je da nakon aplikacije kortizola povećana smrtnost prouzročena gljivičnim i bakterijskim uzročnicima bolesti.

Promjene u rastu i razmnožavanju

Rast većine riba je neodređen, promjenjiv i varira u kratkim vremenskim razdobljima kao odgovor na stupanj energetskog unosa i njegovog iskorištavanja. Mnogi opisani učinci stresa mogu prouzročiti smanjen unos energije i povećati iskorištavanje energije pa će stres vjerojatno smanjiti stopu rasta posredno preko negativnog učinka na energetsku ravnotežu. Osim toga, izlučivanje hormona rasta riba smanjeno je tijekom razdoblja stresa (Farbridge i Leatherland, 1992.). Slabi rast zabilježen je u slobodno živućim populacijama riba kao rezultat negativnog djelovanja stresora iz okoliša, poput promijenjenog pH, smanjene razine otopljenog kisika i izmijenjene slanosti vode.

Procjena dobrobiti riba

Odgovori na stresne podražaje predstavljaju prirodne reakcije životinje na promijenjene uvjete, a često se koriste kao i pokazatelj poremećenog stanja dobrobiti pa su i istraživanja fiziološkog stresa bitna u istraživanju dobrobiti riba. Međutim, važno je znati da fiziološki stres nije sinonim za patnju (Dawkins, 1998.). Niska razina kortizola može značiti da riba nije pod stresom, ali i da je kapacitet njihovog unutarbubrežnog tkiva za proizvodnju kortizola iscrpljen. Tercijarni odgovori na stres, poput neplodnosti i drugih poremećaja razmnožavanja, mogu biti prilagodbeni reakcija na okoliš. Iako pojam stresa ne može u potpunosti objasniti složenost dobrobiti životinja, praćenje odgovora na stresne podražaje može dati djelomičan odgovor.

Povezanost između zdravlja i dobrobiti je složena. Ako jedna jedinka

ribe pokazuje znake bolesti, čini se razumnim zaključiti da je u lošem stanju dobrobiti. S druge strane, dobrobit zdrave ribe može biti ugrožena i na druge načine. Na primjer, ako se ribe iz jata drže u zarobljeništvu. Uzroci bolesti riba su uvijek složeni i rizik za nastanak bolesti će se doista povećati ako se uvjeti u kojima ribe žive pogoršavaju, bilo u divljini ili u zatočeništvu. Stoga će pojava bolesti u riba obično biti povezana s lošim stanjem dobrobiti i može biti znak da postoji utjecaj određenih negativnih okolišnih čimbenika ili nepovoljni životni uvjeti kojima su ribe izložene. Međutim, jako je pojednostavljeno pretpostaviti da je bolest uvijek rezultat samo loših životnih uvjeta. Također, niti pojava bolesti, neminovno, ne podrazumijeva da je problem zbog isključivo ljudske greške. Zarazne bolesti se pojavljuju, i mogu prouzročiti znatne gubitke, i u populacijama slobodno živuće ribe. Postoje dobro dokumentirani primjeri ozbiljnih epidemija u slobodno živućim populacijama riba (Lillie i sur., 1996.). U kontroliranim uvjetima u zatočeništvu bolest se ponekad može spriječiti, na primjer, kad se riba cijepi.

Ponašanje i dobrobit

Promjena ponašanja je rani i lako uočljiv odgovor na nepovoljne životne uvjete, daje određene odgovore na prirodne stresore te se može koristiti kao pokazatelj narušene dobrobiti. Postoje mnogi primjeri testiranja utjecaja različitih okolišnih uvjeta u riba (na primjer, utjecaj različitih temperatura ili jata riba različitih veličina). Rezultati takvih istraživanja nisu bili uobičajeno izravno povezani s dobrobiti riba, ali mogu se tumačiti u tom kontekstu. Na primjer, ribe raznih vrsta su izbjegavale potencijalno smrtonosne koncentracije neke štetne tvari kao što je bakar, međutim, ignorirale su druge jednako štetne tvari poput selena (Giattina i Garton, 1983.), što znači da ribe nisu u mogućnosti detektirati ih te stoga

ne mogu odabrati ono što je dobro za njih. Prikupljanje podataka o fiziologiji, biokemiji i ponašanju riba je dugotrajan i tehnički složen posao. To također uključuje nužnost poznavanja rukovanja s anaesticima ili usmrćivanjem riba s ciljem prikupljanja krvi ili drugih tkiva. Postoje neinvazivne metode, kao što su primjerice, mjerenje razine kortizola u vodi u kojoj su ribe obitavale (Scott i sur., 2001.), ali većina takvih metoda podrazumijeva neprecizna mjerenja. Takav intenzivan rad potreban je u znanstvenim istraživanjima, ali je nepraktičan za svakodnevnu uporabu, u prodavaonicama kućnih ljubimaca ili uzgajalištima riba. Ono što je potrebno za istraživanja navedenog tipa je skup jednostavnih, nenametljivih znakova ili signala opasnosti koji se mogu koristiti lako i bez potrebe pristupu laboratorijskim uređajima.

Kako djelovanje čovjeka utječe na dobrobit riba?

Nužno je spomenuti da čovjek može imati utjecaj na aktivnosti riba kroz svoj osobni izbor. To su: držanje ukrasnih riba (pojedinaac može odabrati da drži ukrasne ribe i u tom slučaju ih treba nabaviti kod dobavljača koji ozbiljno shvaćaju važnost dobrobiti), ribolov (čovjek može odlučiti da ide u ribolov te tom prilikom koristi tehnike koje smanjuju mogućnost patnje) i akvakultura (može odlučiti da ne jede uzgojenu ribu ili kupuje ribu samo iz izvora koji jamče visok standard dobrobiti). Pri ovom posljednjem izboru, treba napomenuti da je dobrobit riba uhvaćenih tijekom gospodarskog ribolova (još uvijek područje najvećeg međudjelovanja čovjeka i ribe) razlog za ozbiljnu zabrinutost. Riba se prilikom izvlačenja ulova oštećuju hvatanjem, dok su metode usmrćivanja (pogotovo asfiksija) vrlo stresne. Osim toga, uvijek neke vrste riba budu usputni ulov i pritom često ozlijeđene ili uginu.

Ukratko, poznavajući kako riba reagira na nepovoljne životne uvjete, može se razmotriti pitanje o tome što čini

dobrobit riba, kroz pet sloboda dobrobiti, ali u obliku koji je prilagođen za ribe. Pojednostavljeni ovise o vrsti ribe, a također i dobi, spolu i reproduktivnom stanju.

Kao i kod drugih skupina kralježnjaka prirodna hrana slobodno živuće ribe znatno se razlikuje između pojedinih vrsta. Na primjer, ako u hrani nedostaje važnih mikronutrijenata može se ugroziti dobrobit mnogih vrsta, kroz visoku smrtnost, morfološke nepravilnosti, suprimiran imunološki sustav, poremećeno ponašanje, oslabljene osjetilne funkcije i usporeni rast (De Silva i Anderson, 1995.). Činjenica da su ribe ektotermne važna je kako bi se pogodili hladnijim razdobljima kroz smanjivanje količina ponuđene hrane te prestanak hranjenja. Riba ne trebaju održavati stalnu tjelesnu temperaturu pa su razdoblja bez hrane manje štetna nego kod endotermnih životinja. To ne znači da je svejedno ako su ribe gladne, one imaju mehanizme koji ih motiviraju da se hrane kad im je probavni sustav prazan, a njihove prehrambene rezerve niske. Stoga ograničeno hranjenje u nekim razdobljima može imati i druge posljedice, kao što su povećanje razine agresije. Slobodno živuća riba pokazuje znatne promjene u apetitu, a koje određuju učinak uskraćivanja hrane na dobrobit. U zimi mladi losos može postati prirodno anoreksičan. Ove ribe će se hraniti kad im rezerve energije padnu na kritičnu razinu, ali do tog trenutka, mali obroci ne ugrožavaju njihovu dobrobit. S druge strane, spolno zreli lososi pokazuju spontani vrhunac povećanog apetita u proljeće, jer su potrebne velike rezerve

Uskraćivanje vode i hrane, pothranjenost

Riba treba:

- imati primjeren pristup, nutritivno kompletnoj hrani, uzimajući u obzir činjenicu da ribe mijenjaju vrstu hrane u prirodnim uvjetima, da temperatura tijela ovisi o temperaturama vode i da se u mnogim slučajevima pokazuju znatne razlike u sezonskim zahtjevima.
- hranu pripremljenu na primjeren način ovisno o prirodnom načinu hranjenja i ponašanja vrste (npr. pelete odgovarajućeg oblika i veličine).

hrane za migraciju i mrijest. U tom slučaju uskraćivanje hrane u pripremnom razdoblju može ugroziti dobrobit (Kadri i sur., 1996.).

Ribe su u izravnom kontaktu s okolinom preko velike površine kože i škrga. Također zbog nužnosti defekacije u medij u kojem žive, kvaliteta vode (u smislu otopljenog kisika, amonijaka i pH) i prisustvo onečišćivača (organski i anorganski onečišćivači) su vjerojatno najkritičniji i najbolje definirani vidovi okolišnih čimbenika koji djeluju na dobrobit riba. Optimalni uvjeti uvelike variraju između vrsta, primjerice, šaranske vrste riba su vrlo tolerantne na niske koncentracije otopljenog kisika, dok pastrvske vrste riba, nisu. Protok vode u staništu riba je također od velike važnosti, jer neke vrste preferiraju mirnu vodu, dok druge toleriraju, zahtijevaju ili preferiraju relativno intenzivan protok.

Bolesti i povrjede

Bolesti treba spriječavati, točno i brzo dijagnosticirati te liječiti kad je to moguće. Učestalo pojavljivanje bolesti često ukazuje na značajan utjecaj negativnih okolišnih čimbenika, tako da se za dijagnosticiranje i kontroliranje bolesti mora uvijek uzeti u obzir cijeli sustav, a ne samu ribu.

Mnoge vrste oblikuju jata u prirodnim uvjetima, a to je važno pri procjenjivanju dobrobiti, ako takve vrste uspjevaju pri visokim gustoćama nasadivanja u kontroliranim uvjetima uzgoja. Kao što je objašnjeno ranije, ne znamo jesu li ribe motivirane migrirati na točno određenoj

Kritični okolišni čimbenici za dobrobit riba su:

- kvaliteta, protok i temperatura vode (ovisno o vrsti riba).
- odgovarajuće sezonske i dnevne promjene intenziteta svjetlosti.
- pružanje zaklona i odgovarajućih skloništa.



Slika 2. Dužičasta pastrva.



Slika 3. Mlad dužičaste pastrve.

Ponašanje

- riba bi trebala imati dovoljno prostora kako bi joj se omogućila sloboda kretanja, ali riječ *dovoljno* specifična je za pojedinu vrstu.
- za vrste riba koje žive u jatima, društvo jedinki iste vrste je važno za dobrobit, ali za teritorijalne vrste riba, to nije slučaj.
- stupanj složenosti okoliša može biti vrlo važan, ovisno o vrsti.

ruti ili plivati na velikim udaljenostima, što mogu činiti i u kavezu za uzgoj. Ako im je motiv određena ruta, njihove potrebe za izražavanjem ponašanja ne mogu biti ispunjene u kavezima.

Većina znakova koji bi trebali identificirati strah i uznemirenost u drugih kralježnjaka jednostavno nisu dostupni kod riba - na primjer, ne postoje izravne paralele lica ili zvučne signalizacije. Potrebno je bolje razumijevanje kognitivnih procesa u riba prije nego što se može napraviti konačnu poveznicu između dobrobiti i patnje.

Nepoznata područja

Najvažnije nepoznato područje je nedostatak razumijevanja o mentalnim sposobnostima riba, hoće li i kako će mjerljive vrijednosti (poput tjelesnog oštećenja i fizioloških odgovora, te odgovora određenim obrascem ponašanja na izazov) generirati subjektivna stanja dobrobiti ili patnje. Potreba boljeg razumijevanja ponašanja riba pri djelovanju štetnih podražaja i neuralnih mehanizama (od osjetilnih organa do mozga) te odvijanje viših funkcija koji proizvode te odgovore. Važno je otkriti postoje li aktivnosti za koje

Mentalna i fizička patnja

Uvjeti koje proizvode neprihvatljive razine tjeskobe, straha, dosade, bolesti, boli, žeđi i gladi treba svesti na minimum u riba, kao i u drugih kralježnjaka.

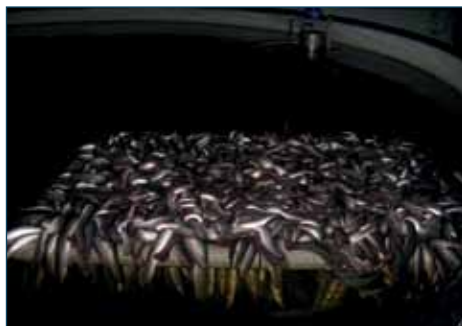


Slika 4. Hranjenje dužičaste pastrve.

su ribe motivirane. Potrebno je poznavati bolesti riba te razumjeti povezanost između stresa, imunosnog sustava i bolesnih stanja. U praktičnom smislu, potrebno je uspostaviti sustav pokazatelja dobrobiti (npr. uočiti morfološke promjene i/ili poremećaje u ponašanju) prilagođen svakodnevnoj uporabi u uvjetima u kojima je nemoguće dugotrajano proučavanje ponašanja riba. Poznate su osnove utjecaja ribolova i uzgoja riba na dobrobit, ali nedostaje podataka o dobrobiti ukrasnih riba, osobito u procesu od ulova do prodaje. Također, slabo su istraženi uvjeti u akvariju i ukrasnom ribnjaku – koji su učinci zatočenosti u malom, izloženom prostoru te učinci društvene izoliranosti ili čestog međudjelovanja s prirodnim neprijateljima?

Zaključak

Ribe reagiraju na podražaje, kao i na negativne utjecaje okolišnih čimbenika. Odgovori na određene podražaje očituju se promjenama u ponašanju ili poremećajima fizioloških procesa, a iste se može koristiti za istraživanja dobrobiti riba. Bitno je razmotriti i kako različite aktivnosti čovjeka zadiru u dobrobit riba. Ovaj pregledni rad o dobrobiti riba naglašava potrebu za proširivanjem znanja i boljim razumijevanjem dobrobiti riba. Cilj poboljšanja dobrobiti riba može se postići stalnim obrazovanjem i popularizacijom znanosti, pri čemu je nužno naglašavati da su ribe vrlo



Slika 5. Jegulje u kontroliranim uvjetima uzgoja.

sophisticirane životinje u svim pogledima. Povećana brižnost ljudi koji rade s ribom i/ili je iskorištavaju te razumijevanje biologije riba, može znatno utjecati na kvalitetnu dobrobit riba.

Sažetak

Ovaj pregledni rad razmatra kako se dobrobit definira i procjenjuje te kako različite ljudske aktivnosti utječu na dobrobit riba. Dobrobit životinja teško je precizno definirati kao pojam. Različite definicije se usredotočuju na stanje životinja, na subjektivni doživljaj tog uvjeta i/ili omogućava li to stanje prirodni način života. Sadržaj ovog rada opisuje više vidova dobrobiti riba. Veliko neriješeno i kontroverzno pitanje dobrobiti jest mogu li životinje doživjeti i patiti kao i ljudi, kada su izloženi štetnim čimbenicima, kao što su fizičke ozljede ili zarobljeničtvo. Dio ljudskog mozga (neokorteksa) generira subjektivni doživljaj patnje. Kod riba nedostaju ove strukture, tako da riba očito ne može trpjeti na isti način. Međutim, drugi dijelovi mozga riba su razvijeniji i odgovorni za složenije ponašanje. Stoga nedostatak neokorteksa ne znači da riba ne može doživjeti neku vrstu patnje. Nedavno provedena istraživanja ukazuju na sposobnost osjećanja bolnih podražaja kod riba. Poznate su neke aktivnosti ljudi koje bi mogle imati negativan utjecaj na dobrobit riba, uključujući i antropogene promjene u okruženju, gospodarski ribolov, rekreacijsko sportski ribolov, akvakultura, držanje ukrasnih riba i znanstvena istraživanja. Slobodno živuća riba živi pod utjecajem različitih nepovoljnih uvjeta, od napada grabežljivca ili druge ribe iste vrste, neuspješnog pronalaženja hrane ili izloženosti

lošim okolišnim uvjetima. Ribe odgovaraju na takve izazove putem fiziološkog odgovora na stres izlučivanjem *stresnih hormona* adrenalina i kortizola u krvi, što izaziva kratkoročne (sekundarne) metaboličke promjene koje pomažu da se ribe bolje nose s izazovom. Dugoročni (tercijarni) učinci kroničnog stresa uključuju promjene u ponašanju i funkcioniranju imunološkog sustava, rastu i razmnožavanju. Promjene ponašanja su važan dio odgovora na stres, jer omogućavaju da životinje izbjegniju i prevladaju utjecaje stresora. Ne postoji jednostavna veza između fizioloških reakcija na stres i dobiti. Možda je malo vjerojatno da kratkoročni prilagodljivi odgovori na izazov prouzroče patnju, ali tercijarni odgovori na produljen, kronični stres, su indikatori loše dobiti. Više pokazatelja (na temelju fiziološkog stresa, općeg zdravlja i ponašanja) može se koristiti za procjenu dobiti riba, i u znanstvenom i praktičnom kontekstu. Niti jedna metoda nije savršena, ali najbolja strategija je da ih se koristi što je više moguće. Znanstveno proučavanje na području dobiti riba je u ranoj fazi u odnosu druge kralježnjake. Potrebno je dodatno istražiti: ponašanje riba kao odgovor na štetne podražaje i neuralne mehanizme koji potiču promjene u ponašanju; mentalne sposobnosti riba i načine mjerenja pokazatelja, poput tjelesnog oštećenja, koji stvaraju subjektivna stanja dobiti ili patnje; bolesti riba i njihov utjecaj na dobit; dobit ukrašenih ribica i onih koji se drže u akvariju; posljedice čovjekovih aktivnosti na dobit riba; te točne mehanizme kojima nastaju štetni učinci ljudske djelatnosti.

Literatura

- APPLEBY, M. C. (1999): Tower of Babel: Variation in ethical approaches, concepts of welfare and attitudes to genetic manipulation. *Anim. Welf.* 8, 381-390.
- BALM, P. H. M. (1997): Immune-endocrine interactions. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture* (IWAMA, G. K., A. D. PICKERING, C. B. SCHRECK, J. P. SUMPTER, eds.). *Soc. Exp. Biol.* 73-94.
- BROOM, D. M. (1998): Welfare stress, and the evolution of feelings. *Adv. Stud. Behav.* 27, 371-403.
- BROWN, C. and K. WARBURTON (1999): Social mechanisms enhance escape responses in shoals of rainbowfish (*Melanotaenia duboulayi*). *Environ. Biol. Fish.* 56, 455-459.
- BROWN, R. E. (1994): *An Introduction to Neuroendocrinology*. Cambridge, Cambridge University Press.
- CZANYI, V. and A. DOKA (1993): Learning interactions between prey and predator fish. *Mar. Behav. Physiol.* 23, 63-78.
- DAWKINS, M. S. (1998): Evolution and animal welfare. *Quarterly Rev. Biol.* 73, 305-328.
- DE SILVA, S. S. and T. A. ANDERSON (1995): *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman and Hall, London.
- FARBRIDGE, K. J. and J. F. LEATHERLAND (1992): Plasma growth hormone levels in fed and fasted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) are decreased following handling stress. *Fish Physiol. Biochem.* 10, 67-73.
- FSBI (2002): *Fish welfare. Briefing paper 2*. Fisheries Society of the British Isles, Granta information systems, Cambridge, 1-25.
- GIATTINA, J. D. and R. R. GARON (1983): A review of the preference-avoidance responses of fishes to aquatic contaminants. *Residue Rev.* 87, 43-90.
- KADRI, S., D. F. MITCHELL, N. B. METCALFE, F. A. HUNTINGFORD and J. E. THORPE (1996): Differential patterns of feeding and resource accumulation in maturing and immature Atlantic salmon. *Aquaculture* 142, 1245-1257.
- LILLIE, J. H., D. HART, R. J. RICHARDS, L. CERENIUS and K. SÖDERHÄLL (1997): Pan-Asian spread of single fungal clone results in large scale fish-kills. *Vet. Rec.* 140, 653-654.
- MAULE, A. G. and C. B. SCHRECK (1990): Glucocorticoid receptors in the leucocytes and gill of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 77, 448-455.
- MELLOR, D. J. and K. J. STAFFORD (2001): Integrating practical, regulatory and ethical strategies for enhancing farm animal welfare. *Aust. Vet. J.* 79, 762-768.
- O'CONNOR, K. I., A. C. TAYLOR and N. B. METCALFE (2000): The stability of standard metabolic rate during a period of food deprivation in juvenile Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* 57, 41-51.
- OKAWARA, Y., D. KO, S. D. MORELY, D. RICHTER and K. P. LEDERIS (1992): In situ hybridisation of corticotropin-releasing factor encoding messenger RNA in the hypothalamus of the white sucker (*Catostomus commersoni*). *Cell Tiss. Res.* 267, 545-549.
- POTTINGER, T. G. and T. A. MORAN (1993): Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Fish Biol.* 43, 121-130.
- PRESS, C. M. C. L. (1998): Immunology of fishes. In: *Handbook of vertebrate immunology* (PASTORET, P. P., P. GRIEBEL, H. BAZIN, A. GOVAERTS, eds.), Academic Press Ltd., London, UK, pp. 3-61.
- RINGØ, E. and F. J. GATESOUBE (1998): Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture* 160, 177-203.
- RODRIGUEZ, F., E. DURAN, J. P. VARGAS, B. TORRES and C. SALAS (1994): Performance of goldfish trained in allocentric and egocentric maze procedures suggests the presence of a cognitive mapping system in fishes. *Anim. Learn. Behav.* 22, 409-420.
- ROSE, J. D. (2002): The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Rev. Fish. Sci.* 10, 1-38.
- SCHRECK, C. B. (2000): Accumulation and long-

- term effects of stress in fish. *The Biology of animal stress*. CABI Publishing, pp. 147-158.
24. SCOTT, A. P., M. PINILLOS and T. ELLIS (2001): Why measure steroids in fish plasma when you can measure them in water? In: *Perspectives in Comparative Endocrinology: Unity and Diversity*, pp. 1291-1295.
 25. SNEDDON, L. U. (2002): Anatomical and electrophysiological analysis of the trigeminal nerve in a teleost fish, *Oncorhynchus mykiss*. *Neurosci. Lett.* 319, 167-171.
 26. SUTANTO, W. and E. R. DE KLOET (1994): The use of various animals in the study of stress and stress-related phenomena. *Lab. Anim.* 28, 293-306.
 27. SWANEY, W., J. KENDAL, H. CAPON, C. BROWN and K. N. LALAND (2001): Familiarity facilitates social learning of foraging behaviour in the guppy. *Anim. Behav.* 62, 591-598.
 28. VERHEIJEN, F. J. and R. J. A. BUWALDA (1988): Do pain and fear make a hooked carp in play suffer? CIP – GEVEVENS. Utrecht.
 29. ZACCONE, G., S. FASULO and L. AINIS (1994): Distribution patterns of the paraneuronal endocrine cells in the skin, gills and the airways of fishes determined by immunohistochemical and histological methods. *Histochem. J.* 26, 609-629.

Fish Welfare

Damir RADANOVIĆ, DVM; Kristina MATKOVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Ivana TLAK GAJGER, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

This review examines how welfare is defined and assessed, and examines how different human activities affect the welfare of fish. Animal welfare is difficult to define precisely as a concept. Different definitions focus on the condition of the animal, the subjective experience of conditions and/or whether these conditions allow natural life. This paper describes several aspects of fish welfare. The main unresolved and controversial issue of welfare is whether animals can live and suffer like humans when exposed to harmful factors, such as physical injury or captivity. Part of the human brain (neocortex) generates the subjective experience of suffering. In fishes this structure is lacking and therefore fish apparently cannot tolerate suffering in the same way as humans. However, other parts of the fish brain are well developed and are used to produce complex behaviours. Thus, the lack of a neocortex does not mean that fish cannot experience any type of suffering. Recent studies indicate that fish have the ability to feel the pain stimulus. Some human activities that could have a negative impact on the welfare of fish are known, including anthropogenic changes in the environment, commercial fishing, recreational fishing, aquaculture, ornamental fish and scientific experiments. Free-living fish live under the influence of various adverse conditions, from predator attacks or other fish of the same species, the failure to find food or exposure to poor conditions. Fish respond to these challenges through the physiological response to stress with the release of the stress hormone

cortisol and adrenaline into the blood, which causes short-term (secondary) metabolic changes that help the fish to better cope with the challenge. Long-term (tertiary) effects of chronic stress include changes in behaviour and functioning of the immune system, growth and reproduction. Changes in behaviour are an important part of the stress response, as they allow animals to avoid and overcome the stressors. There is no simple relationship between physiological responses to stress and welfare. It is perhaps unlikely that short-term adaptive responses to the challenge of causing suffering, though tertiary responses to prolonged, chronic stress, are indicators of poor welfare. A number of indicators (based on physiological stress, general health and behaviour) can be used to assess the welfare of fish, in both scientific and practical contexts. No method is perfect, but the best strategy is to apply these methods to the greatest possible extent. The scientific study of fish welfare is at an early stage in relation to other vertebrates. Some areas requiring further research include is: fish behaviour in response to noxious stimuli and neural mechanisms that encourage changes in behaviour; mental abilities of fish and how to measure events such as physical damage, conditions that create subjective welfare or suffering; fish diseases and their impact on welfare; the welfare of ornamental fish and those kept in aquariums; the consequences of human activities for the benefit of other species, and the exact mechanisms that produce harmful effects of human activity.



Harmonija druženja

Dehinel® Plus &

*1 tableta
sadržava:*

febantel 150 mg
pirantel embonat 144 mg
prazikvantel 50 mg

flavour
tablete

Dehinel® Plus XL

tablete

1 tableta sadržava:

febantel 525 mg
pirantel embonat 504 mg
prazikvantel 175 mg

Antiparazitik za pse (nematocid, cestocid)

- Za pse male i srednje veličine
- Preporučena doza – 1 tableta na 10 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.
- Za velike i vrlo velike pse
- Preporučena doza – 1 tableta na 35 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.

Prije korištenja pripravka pročitajte cijelu verificiranu uputu za uporabu o glavnim karakteristikama proizvoda.



 KRKA

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

Dijagnostika i liječenje bolesti usne šupljine u kunića



B. Radišić, Tajna Kovač, B. Pirkić, B. Škrlin i Marija Lipar

Uvod

Kunići su u posljednje vrijeme sve češći i popularniji kućni ljubimci pa time i pacijenti u veterinarskim ambulancama. Posebnost kunića kao vrste je specifična građa njegova probavnog sustava jer je izraziti biljožder, ali nije preživlač. Najvažniju ulogu u probavi ima slijepo crijevo građeno za fermentaciju celuloznih vlakana. Pasaža vlaknine kroz crijeva je vrlo brza za razliku od konja i preživlaha. Usna šupljina je prilagođena za usitnjavanje, žvakanje i glodanje biljne hrane što se postiže specifičnom građom zubala i rasporedom zubiju. Zbog kontinuiranog rasta zubiju kunići su izrazito osjetljivi na dentalne abnormalnosti. Sve nepravilnosti, kongenitalne ili stečene, u obliku, položaju ili strukturi zuba otežavaju njihovo normalno trošenje. Neadekvatan smještaj i prehrana kunića naročito pogoduju razvoju stomatoloških, a posljedično i probavnih bolesti (Meredith, 2006.). Najčešće patološke promjene usne šupljine kunića su: malokluzija, prerasli sjekutići ili kutnjaci, frakture čeljusti ili korijena zuba, periodontalne bolesti, apscesi čeljusti i lica. Dijagnostika je zahtjevnija i vrlo često je, uz klinički pregled životinje i njezine usne šupljine, potrebna radiološka dijagnostika. Ovisno o patološkim promjenama primijenit

će se odgovarajući terapijski postupak i prognoza. Svekolika patologija rezultira time da će neliječeni kunić naglo razviti simptome poput anoreksije, gubitka na tjelesnoj masi, neurednog krzna i depresije. Liječenje kunića zbog njihove posebne anatomije i fiziologije je vrlo zahtjevno, a ponekad može biti i frustrirajuće. Posebnu pozornost treba posvetiti pravilnom odabiru antibiotika, poslijeoperacijskoj skrbi i analgeziji te izrazitoj sklonosti stresu (Hobson, 2006., Van Caelenberg i sur., 2008.). Ta problematika predstavlja izazov za svakog kliničara koji se bavi patologijom i liječenjem kunića koji spadaju u kategoriju kućnih ljubimaca.

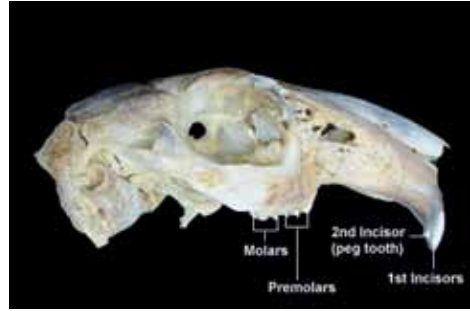
Anatomija zubala

Domaći kunić (*Oryctolagus cuniculus*) pripada redu dvojezubaca (*Lagomorpha*). Karakteristika dvojezubaca su tzv. zaglodnjaci, par malih sjekutića smještenih iza primarnih sjekutića u maksili, tako da ukupno imaju četiri gornja sjekutića. Svi zubi dvojezubaca imaju otvoreni korijen pa kod zdravih jedinki rastu tijekom čitavog života, za razliku od glodavaca (npr. miš, štakor, hrčak) kod kojih rastu jedino sjekutići, a pretkutnjaci i kutnjaci ne rastu (Harcourt-Brown, 2002.).

Dr. sc. Berislav RADIŠIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Boris PIRKIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, Branimir ŠKRLIN, dr. med. vet., stručni suradnik, dr. sc. Marija LIPAR, dr. med. vet., viša stručna suradnica, znanstvena savjetnica, Veterinarski fakultet, Zagreb; Tajna KOVAČ, dr. med. vet.



Slika 1. Prikaz sjekutića i zaglodnjaka kunića



Slika 2. Prikaz maksile kunića

Kunići imaju mliječne i trajne zube. Mliječni zubi izrastu još u fetalnom razvoju, a promjena u trajne započinje neposredno prije ili poslije rođenja. Trajni zubi izrastu u prvih pet tjedana života kunića (Wiggs i Lobprise, 1995.a).

1. zubna formula trajnog zubala kunića: $2 \times (I\ 2/1, C\ 0/0, P\ 3/2, M\ 3/3) = 28$
2. zubna formula mliječnog zubala kunića: $2 \times (I\ 2/1, C\ 0/0, P\ 3/2, M\ 0/0) = 16$



Slika 3. Prikaz mandibule kunića

Zubi kunića građeni su, slično kao i kod većine drugih životinja, od dentina, cakline, cementa i pulpe. Spadaju u hipsodontne zube što znači da imaju vrlo dugačku krunu. Nezatvoreni korijen i germinalno tkivo na vrhu zuba omogućavaju njihov stalni rast. Donji sjekutići rastu brže (20,3 cm godišnje ili 2,4 mm tjedno, ovisno o istraživanjima) od gornjih (12,7 cm godišnje ili 2 mm tjedno). Postoje individualne razlike između rasta i trošenja zubiju koje ovise o dobi, graviditetu, hranidbi i jačini zagriža (Harcourt-Brown, 2002., Verstraete i Ososky, 2005.).

Čeljust i zubi kunića anatomski i fiziološki podijeljeni su u dvije cjeline. S obzirom da nemaju očnjake postoji velika dijastema između sjekutića prema pretkutnjacima i kutnjacima. Mandibula je uža od maksile pa donji sjekutići u zdravih kunića nalježu između primarnih sjekutića i zaglodnjaka dok se dodiruju bukalni rub donjih i lingvalni rub gornjih

pretkutnjaka, odnosno kutnjaka. Glavna uloga sjekutića je otkidanje i uzimanje hrane, ali s njima mogu i ugrijeti i glodati. Pretkutnjaci i kutnjaci međusobno se neznatno razlikuju te zajedno služe za mljevenje i usitnjavanje hrane. Donji pretkutnjaci i kutnjaci zajedno čine ravnu liniju. Zubi maksile slično su posloženi, ali zbog užeg prvog pretkutnjaka i zadnjeg kutnjaka zubi između njih su blago konveksnog oblika na bukalnoj strani (Harcourt-Brown, 2002.).

Uzdužno i morfološki kruna i korijen zuba se ne razlikuju. Ponekad, kunići hranjeni travama i divljim biljkama imaju smeđe obojeni dio zuba koji prominira iznad zubnog mesa što je pogotovo vidljivo na kutnjacima. Savršeni raspored zubiju omogućava njihovo trošenje trenjem okluzalne površine u suprotni zub, točnije središnje cakline i interdentalnog prostora. Prirodna se hrana kunića sastoji od mnogo biljaka i različitih trava. Silikatni fitoliti, lignin i

celuloza imaju abrazivno djelovanje na zube. Postoje velike i znatne razlike u rastu i trošenju zubiju kunića hranjenih isključivo peletiranom hranom i onih čija je prehrana bazirana na sijenu i bilju. Hrana mora biti dobro usitnjena kako bi ju kunić mogao progutati i probaviti (Harcourt-Brown, 2002.).

Žvakanje (mastikacija) je u kunića vrlo složeni proces koji se odvija u nekoliko faza koje čine različiti pokreti čeljusti. Tip 1 predstavlja pripremnu fazu žvakanja otvaranjem i zatvaranjem čeljusti s pokretima u sagitalnoj ravnini uz neznatne pomake prema medijalnoj ravnini. Nakon skraćivanja hrane sjekutićima uz pomoć jezika hrana se premješta do pretkutnjaka i kutnjaka. Tada hrana može biti samo na jednoj strani usta i predstavlja Tip 2 mastikacije. Tip 2 podijeljen je u fazu otvaranja čeljusti, brzog zatvaranja i fazu sporog zatvaranja tijekom koje usitnjena hrana zaostaje između zuba. Tekstura hrane ne utječe na ritam žvakanja, ali tvrđa hrana jačom silom potiče na žvakanje. Glavni mehanizam povratne sprege dolazi iz baroreceptora periodontalnog ligamenta i mišića koji sudjeluju u žvakanju. Periodontalni ligament dvojezubaca, građen od finih kolagenih vlakana, znatno je slabiji od periodontalnog ligamenta malih mesoždera. Na taj način omogućen je nesmetani stalni rast zubiju. Završni, Tip 3 žvakanja odvija se u dodatne dvije faze otvaranja tijekom kojih životinja proguta zalogaj hrane (Harcourt-Brown, 2002., Hobson, 2006.).

Oblik temporomandibularnog zgloba omogućava znatne lateralne, ali vrlo ograničene rostralno kaudalne pokrete (Crossley, 1995.).

Najčešće patološke promjene usne šupljine kunića

Bolesti zubiju u kunića su jedne od najučestalijih bolesti kunića u kategoriji kućnih ljubimaca. U laboratorijskih

kunića patologija usne šupljine je značajno rjeđa. Patofiziologija još uvijek nije razjašnjena i mnogo je kompleksnija nego u ostalih sisavaca. Najčešće etiološke teorije su: genetski, nasljedni čimbenici, traume, jatrogena malokluzija, neadekvatna hranidba te metabolički poremećaji.

Malokluzija sjekutića

Malokluzija je poremećaj u smještaju i kontaktu gornjih i donjih zuba koji utječe na efikasnost pokreta čeljusti pri žvakanju, tj. nepravilan zagriz (okluzija) i vrlo je česta patološka promjena, posebno u patuljastih kunića. Ako se pojavi u ranoj dobi, prvim tjednima života, pretpostavlja se da je uzrok urođena mana skraćena donja čeljust (*brachygnathia maxillae*). Nasljeđuje se autosomno recesivno s nepotpunom pojavnosću (81%). Zbog nepravilnog zagriža, sjekutići se nedovoljno troše što rezultira njihovim prekomjernim rastom. Sjekutići maksile se savijaju u usnu šupljinu, a donji rastu dorzalno prema licu. Ukoliko se ne liječi prouzroči ozljede usana i nepca.

Hranidba deficitarna biljem koje zahtijeva glodanje može biti uzrok prekomjernom rastu sjekutića. Malokluzija sjekutića može se javiti i kao posljedica ili zajedno s malokluzijom pretkutnjaka i kutnjaka. Vrlo je rijetka malokluzija isključivo sjekutića, bez malokluzije pretkutnjaka i kutnjaka, posebno u starijih kunića. Zbog toga se



Slika 4. Prikaz nepravilnog zagriža sjekutića

svakom kuniću s nepravilnim zagrizom sjekutića moraju pregledati i kutnjaci (Legendre, 2002., Verstraete i Osofsky, 2005., Jekl i Redrobe, 2013.).

Hipodoncija (*hypodontia*)

U svih pasmina kunića moguća je odsutnost zaglodnjaka (*dentes incisivi minores*). Ponekad se javlja i nedostatak maksilarnih pretkutnjaka. No, ove urođene abnormalnosti ne utječu na razvoj dentalnih bolesti (Verstraete i Osofsky, 2005.).

Trauma

Gubitak ili fraktura sjekutića prouzročit će prerastanje nasuprotnog zuba. Frakture pretkutnjaka, kutnjaka i čeljusti nisu toliko česte kao ozljede sjekutića. Do frakture zuba ili njegovog korijena može doći zbog glodanja neadekvatnih predmeta (npr. rešetki kaveza), pada s visine, traume glave ili jatrogeno (Hobson, 2006.).

Jatrogena malokluzija

Nepravilno skraćivanje sjekutića može prouzročiti njihove ozljede. Iako se smatra da je takvo skraćivanje nepravilno, još uvijek mnogi praktičari koriste škare za nokte, kliješta ili pile za kosti. Na taj način oštećuje se caklina na mjestu reza ili se zub u potpunosti, ali nepravilno slomi. Osim toga jako nepravilne sile koje djeluju na zub tijekom njegovog skraćivanja mogu prouzročiti ozljede zubnog mesa, alveolarno krvarenje, torziju zuba, frakturu korijena, apscese ili osteomijelitis (Jekl i Redrobe, 2013.).

Malokluzija kutnjaka

Malokluzija kutnjaka gotovo je redovita posljedica malokluzije sjekutića. Neki autori navode sindrom malokluzije sjekutića, pretkutnjaka i kutnjaka (*incisor-premolar-molar malocclusion*). Urođena malokluzija kutnjaka je rijetka, ali je stečena dentalna bolest (*acquired dental disease*) vrlo česta bolest kunića kućnih ljubimaca. Nepravilnosti

pretkutnjaka i kutnjaka najviše su vidljive na okluzalnoj površini. Mijenjaju se položaj, oblik, struktura i smjer rasta zuba pa se gubi fiziološki zagriz. Vrh prerastlog zuba je ušiljen i vrlo oštar. Oštri vrhovi maksilarnih kutnjaka nalaze se na bukalnoj, a mandibularni na lingvalnoj strani uzrokujući rane na jeziku i sluznici obraza. U određenom broju slučajeva, zbog produljivanja korijena zuba može doći do perforacije alveolarne kosti i nastanka apscesa (Verstraete i Osofsky, 2005., Van Caelenberg i sur., 2008., Varga, 2014.).

Metabolički poremećaji

Većina kunića s dentalnim poremećajima jede znatno manje sijena ili ga u potpunosti odbija. Hranidba bazirana na žitaricama (posebno visoki udio kukuruza, graška i pšenice) osim što nema abrazivni učinak ima nezadovoljavajući omjer kalcija i fosfora (Ca:P = 1:3). Takav način hranidbe, peletima ili cjelovitim žitaricama, rezultirat će razvojem nutritivnog sekundarnog hiperparatireoidizma. Sijeno osim što je idealno za trošenje zubiju ima i optimalan omjer kalcija i fosfora (Ca:P = 1,5-2:1). Nedovoljan unos kalcija i/ili vitamina D najčešći je uzrok metaboličkih bolesti kostiju, a odrazit će se kao progresivni gubitak koštane mase čeljusti i produljenje korijena zuba (Harcourt-Brown, 2006., Jekl i Redrobe, 2013.).

Apsces (*abscessus*)

Uzroci apscesa lica ili čeljusti su mnogobrojni, npr. hematogena infekcija, strana tijela ili površinske rane. Ipak, najčešći uzrok je patologija zubala. Oštri vrhovi prerastlih zuba perforiraju sluznicu, a predugački korijen penetrira kost. Retrobulbarni apsces nastaje zbog perforacije alveolarne kosti te se očituje protruzijom oka. Apscesi maksile ili mandibule manifestiraju se kao vrlo tvrde otekline. Češće su zahvaćeni stražnji zubi, negoli sjekutići koji su uzrok apscesa nakon njihovog

nepravilnog skraćivanja i frakture pulpe. Za točnu lokalizaciju i opsežnost procesa neophodna je radiološka dijagnostika. Na rendgenogramu je tipično vidljivo prorjeđenje koštane strukture okruženo oteklinom mekog tkiva i reakcijom periosta (Harcourt-Brown, 2002., Van Caelenberg i sur., 2008.).

Periodontalna patologija

Periodontalna je patologija vrlo česti nalaz prilikom pregleda usne šupljine kunića, posebno pretkutnjaka i kutnjaka. Zbog slabih struktura periodontalnog ligamenta lako dolazi do njegovih ozljeda i zaostajanja hrane. Predugački zub, posebice kutnjak ili pretkutnjak, poremeti savršenu okluzalnu površinu i poveća prostor između zuba. Periodontalna infekcija, najčešće izazvana anaerobnim bakterijama usne šupljine kao što je *Fusobacterium* spp. ili aerobima



Slika 5. Apsces mandibule u kunića



Slika 6. Egzoftalmus kao posljedica retrobulbarnog apscesa

(*Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* spp.), može se proširiti na korijen zuba što dovodi do lezija korijena i infekcije pulpe (Tyrrell i sur., 2002., Meredith, 2007.).

Opstrukcija nazolakrimalnog kanalića

Nazolakrimalni se kanalić u kunića proteže od orbite do nosne jame (*fossa nasalis*) uz korijene pretkutnjaka i kutnjaka te gornjih sjekutića. Ako su ti zubi predugački nerijetko će prouzročiti destrukciju kosti i začepljenje nazolakrimalnog kanalića što će se manifestirati epiforom, sa ili bez sekundarne infekcije (Meredith, 2007.).

Klinički simptomi bolesti usne šupljine kunića

Većina simptoma dentalnih bolesti u kunića je nespecifična. Kunić koji osjeća bolnost zubiji, čeljusti ili sluznice usta smanjeno će uzimati ili u potpunosti prestati uzimati hranu. Pokreti čeljusti su mu nepravilni, škrguće zubima što može biti znak bolnosti, a hranu ne može adekvatno uzimati, sažvakati ili progutati. S obzirom na nedovoljni unos hrane životinja je mršava, slaba, letargična, a količina, oblik kuglica i veličina fecesa smanjena. Zbog bolova ne mogu koristiti usta za čišćenje i uređivanje pa je krzno neuredno, a oko anusa se nakupljaju cekotrofi. Također, često je moguće primijetiti iscjedak iz nosa i/ili oka te pojačano slinjenje. U ekstremnim i zapuštenim stanjima vidljivi su zubi koji prominiraju iz usne šupljine te oteklina u području obraza ili čeljusti. Iako je većina dentalnih bolesti kroničnog tijeka, ponekad slučaj može postati hitan zbog akutnog dekompenzacijskog šoka (Legendre, 2002., Verstraete i Osofsky, 2005., Hobson, 2006.).

Dijagnostika bolesti usne šupljine kunića

Klinički je pregled usne šupljine kunića vrlo ograničen zbog uske

komisure usana, dugačke dijasteme između sjekutića i kutnjaka te okolnog mekog tkiva koje otežava uvid. Prije stomatološkog pregleda potrebno je uzeti detaljnu anamnezu s naglaskom na način držanja i hranidbe kunića, provesti opći klinički pregled te palpaciju glave. Nakon pregleda veličine i zagriža sjekutića pristupa se inspekciji pretkutnjaka i kutnjaka te ostatka usne šupljine. Za to je potreban otoskop ili specijalizirana kamera koji se uvode u usta u području dijasteme. Bez anestezije moguće je dobiti samo okvirni uvid u stanje usne šupljine. Kad je kunić u anesteziji može se obaviti detaljniji pregled uz pomoć otvarača. Radiološka dijagnostika je neizostavni dio, jer se određena patologija može dijagnosticirati jedino na taj način. Ostale dijagnostičke metode poput CT-a su također korisne, ali se u praksi rijetko koriste. Radiografija je posebno indicirana kod kunića s epiforom, apscesom lica ili iscjerkom iz nosa, kako bi se vizualizirale podjezične strukture (Hobson, 2006.).

Opća anestezija kunića

Pretrage prije anestezije indicirane su u svim stomatološkim zahvatima na kunićima koji zahtijevaju opću anesteziju. One uključuju opći klinički pregled, hematološke i biokemijske pretrage krvi, a po potrebi i radiološku pretragu cijeloga tijela. Pregled prije anestezije vrlo je važan kako bi se isključile ostale bolesti (pneumonija, bolesti srca, bubrega ili jetre), gastrointestinalni zastoj i/ili teško opće stanje pacijenta koji su vrlo česta posljedica primarnog problema. Navedene komplikacije povećavaju rizik od nuspojava anestezije te je potrebna dodatna potporna terapija za stabilizaciju pacijenta (Verstraete i Osofsky, 2005.).

S obzirom da kunići ne mogu povraćati, prije anestezije ne trebaju postiti. Dovoljno im je uskratiti hranu 1 – 2 h prije zahvata kako bismo bili sigurni da u usnoj šupljini nema ostataka hrane (Harcourt-Brown, 2002., Heard, 2004.).

Osim velike osjetljivosti kunića na stres i specifičnosti njihove anestezije što



Slika 7. Pregled usne šupljine anesteziranog kunića uz pomoć otvarača usta

uključuje teško intubiranje i zadržavanje daha, prilikom stomatoloških zahvata pojavljuju se i dodatne teškoće. Uz to što je kunića teško intubirati, tubus u ustima može smetati prilikom zahvata jer je usna šupljina sama po sebi vrlo mala. Za kraće zahvate i u zdravih kunića injekcijska anestezija je prikladan izbor. Prije indukcije potrebna je sedacija kako bi se kunić smirio, smanjio stres i doza anestetika za postizanje anestezije pa time i spriječila hipotenzija i depresija disanja. U premedikaciji se koristi kombinacija opioida (najčešće butorfanol) i benzodiazepina (preferira se midazolam jer je hidrosolubiln pa manje iritira tkivo prilikom i.m. aplikacije). Na taj način osigurana je analgezija i miorelaksacija. Za parenteralnu anesteziju najčešća je kombinacija ketamina i α_2 - agonista adrenoreceptora (ksilazin hidroklorid ili medetomidin hidroklorid) aplicirana u mišić. Propofol je brzog, ali kratkog djelovanja, mora se aplicirati u venu i može izazvati zastoj disanja, posebice prilikom ponovljene primjene. Zbog toga, imajući na umu teško intubiranje, mnogi ga izbjegavaju koristiti. Plinoviti anestetici (izofluran ili sevofluran) primijenjuju

se pomoću endotrahealnog tubusa ili maske. Kunići često zadržavaju dah, pogotovo ako ih se pokuša anestetizirati plinom bez prethodne premedikacije. Preporuča se prvo primjena 100%-og kisika i tek onda inhalacijskog anestetika čija se koncentracija vrlo polagano i oprezno povećava. Kod kompliciranijih zahvata kao što su višestruke ekstrakcije zuba, intubacija je svakako indicirana jer, osim što olakšava kontrolu ventilacije, sprječava aspiraciju sadržaja iz usne šupljine. Endotrahealna intubacija kroz usta izvodi se pomoću otoskopa ili metodom "na slijepo". Intubacija kroz nos je lakše izvediva i ne ometa stomatološki zahvat, ali postoji rizik od unosa patogenih mikroorganizama iz nosa u dušnik.

Za smanjenje sekrecije i dokidanje bradikardije antikolinergik izbora je glikopirolat. Naime, većina kunića ima visoke koncentracije endogene atropinaze pa atropin kod njih nije djelotvoran (Verstraete i Osofsky, 2005., Flecknell, 2006., Matičić i Vnuk, 2010.).

Liječenje patološke promjene usne šupljine u kunića

Skraćivanje sjekutića

Cilj skraćivanja sjekutića je dobiti fiziološku duljinu krune kako bi se okluzalne površine zuba više dodirivale. Za skraćivanje predugačke krune sjekutića najbolje je koristiti cilindričnu dijamantnu brusilicu. Zahvat se može izvesti i bez sedacije ili anestezije ako kunić nema drugu patologiju usne šupljine i dobrog je općeg stanja. U anesteziji se kunić postavlja u sternalni ili lateralni ležeći položaj. Potreban je oprez i lagani pritisak kako se ne bi oštetila pulpa. Ako se skraćivanje pravilno izvodi ne bi smjelo doći do oštećenja pulpe. Ukoliko ipak dođe do oštećenja potrebno je učiniti djelomičnu pulpektomiju i ispuniti šupljinu restorativnim materijalom. Tradicionalno su se koristile škare za nokte ili klijesta što se iz više razloga ne

preporuča. Takvo skraćivanje, osim što je bolno, može izazvati longitudinalne frakture zuba, oštećenja germinalnog tkiva zuba i periapikalni patološki proces (Verstraete i Osofsky, 2005., Hobson, 2006.).

Skraćivanje kutnjaka

Iako se korekcijom kutnjaka pokušava vratiti zagriz u fiziološki položaj zbog promjena položaja, oblika, stanja i strukture zuba to najčešće nije moguće. Ponekad je u ranoj fazi moguće trajno izlječenje, no najčešće je potrebno ponoviti zahvat svakih 8–12 tjedana. To se razdoblje može produljiti primjenom nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSPUL). U životinja s ankilozom ovaj zahvat je kontraindiciran, jer takvi zubi prestaju rasti.

Za korekciju pretkutnjaka i kutnjaka potrebna je opća anestezija, dobro osvjetljenje i specijalni instrumenti.

Posebnim dugačkim škarama za kutnjake moguće je skratiti prerasle krune i vrhove oštih zuba. Prednost njihova korištenja, ukoliko je ono pravilno, je ta da se neće ozlijediti okolno meko tkivo. Nedostaci su veliki rizik oštećenja zuba i znatno manja preciznost u odnosu na skraćivanje dijamantnom brusilicom. Kako se ne bi ozlijedilo zubno meso i tkivo, osim priloženih graničnika na brusilici, nužne su i dentalne spatule ili drveni štapići. Neki kliničari kombiniraju obje tehnike. Nakon "grubog" skraćivanja kliještima oblikuju i poliraju zube brusilicom male brzine. Nažalost, ni jednom metodom nije moguće vratiti kompleksnu okluzalnu površinu zuba u njeno fiziološko stanje. Cilj ovog zahvata je skratiti krunu zuba na fiziološku dužinu, ukloniti oštre vrhove kako ne bi ozljeđivali meka tkiva i vratiti, koliko je moguće, simetriju usta. Neki kliničari prakticiraju skraćivanje krune zuba do razine zubnog mesa, ali tako se ne produljuje interval između korekcija već samo povećava rizik izlaganja inerviranog dentina infekciji. Stoga je preporuka skratiti šiljaste vrhove i ostaviti dužinu koja omogućava kontakt gornjih i donjih



Slika 8. Rendgenološki lateralni prikaz glave kunića u dobi od 7 godina. Vidljiva je ankilozna pretkutnjaka i kutnjaka gornje i donje čeljusti. (Iz arhive Zavoda za rendgenologiju, ultrazvučnu dijagnostiku i fizikalnu terapiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)

zuba kako bi kunić odmah nakon zahvata i buđenja iz anestezije mogao jesti biljnu hranu (Meredith, 2007., Varga, 2014.).

Ekstrakcija zuba

Principi ekstrakcije zubiju kunića isti su kao i kod vađenja brahiodontnih zubiju pasa i mačaka, a to su:

- procjena
- plan liječenja
- anestezija
- priprema operacijskog polja
- incizija alveolarne gingive
- odvajanje zuba od periodontalnog ligamenta
- proširenje alveole
- ukoliko je potrebno, uklanjanje podržavne alveolarne kosti
- pažljivo izvlačenje odvojenog zuba iz alveole
- poticanje stvaranja trajnog alveolarnog krvnog ugruška.

Ekstrakcija sjekutića

Trajno rješenje rekurentnih problema malokluzije sjekutića je njihovo kirurško uklanjanje. Iako se kunići bez sjekutića brzo prilagode i nauče uzimati hranu ustima mogu imati teškoće s uređivanjem krzna, posebice dugodlake i angora pasmine kunića. U mlađih kunića, s kongenitalnom malokluzijom, ovaj



Slika 9. Prikaz specijalnog stomatološkog seta za kuniće. S lijeva na desno: otvarač usta, dilatator obraza i kliješta za ekstrakciju kutnjaka, kliješta za ekstrakciju zuba, dentalna spatula, turpije, škare za kutnjake, Crossley-ev elevator i luksator sjekutića, Crossley-ev elevator i luksator kutnjaka za rasklimavanje i podizanje zuba.

zahvat većinom prolazi bez komplikacija i svakako je indiciran. Kod starijih životinja, sa stečenom malokluzijom, zubi su krhi i moguće su njihove frakture. Osim toga, važno je vlasnika kunića sa stečenom dentalnom bolešću upozoriti da uklanjanje sjekutića neće biti dovoljno te će se morati nastaviti korigirati pretkutnjake i kutnjake. Prije operacije nužno je rendgenološki utvrditi stanje zubala i okolnih struktura. Zubi s opsežnim promjenama na korijenima ili u ankilozu više neće rasti te njihovo uklanjanje nema smisla. Osim opće anestezije provode se i lokalna anestezija dentalnih živaca. Analgezija *n. infraorbitalis* na *foramen infraorbitale* za gornje sjekutiće te analgezija donjih sjekutića blokadom *n. mandibularis* na *foramen mentale*. Lokalna anestezija lidokainom ili bupivakainom ima brzo i prolongirano djelovanje pa pomaže i u supresiji poslijeoperacijske boli. Za rupturu periodontalnog ligamenta koristi se Crossley-ev elevator ili velika hipodermalna igla. Nakon što se skalpelom zareže epitelno tkivo elevator se pažljivo uvlači u periodontalni prostor i postupno pomiče prema korijenu. Nakon odvajanja ligamenta zub je moguće kliještima izvaditi iz alveole. Važno je da se pritom ne rade nagli ili rotacijski pokreti kako zub ne bi puknuo.



Slika 10.
Prikaz kirurški
ekstrahiranog
sjekutića

Češće su frakture zaglodnjaka pa zbog toga neki autori preporučaju najprije njihovo vađenje dok još postoji fizičko uporište od strane sjekutića. Srećom, korijene zaglodnjaka lako je pronaći i izvaditi, a fragmenti korijena neće uvijek ponovno rasti. Izvađeni zub potrebno je pregledati kako bi se utvrdilo je li cijeli uklonjen zajedno sa tkivom pulpe.

Zub može ponovno izrasti ako je slomljeni korijen ostao vitalan ili je izvađen atraumatski pa su ostali dijelovi pulpe u zubnoj jamici. Zaostalo tkivo pulpe se tada kiretira i uništava savijenom hipodermalnom iglom. Alveola se može ispuniti antikoagulacijskom spužvicom kako bi se spriječilo poslijeoperacijsko krvarenje. Cijeljenje gingive može teći tvorbom granulacijskog tkiva ili se šiva resorptivnim materijalom debljine 5-0. Za liječenje malokluzije savjetuje se ukoniti sve prednje zube, uključujući i zaglodnjake. Ukoliko postoji indikacija za uklanjanje jednog sjekutića, npr. komplicirana fraktura krune s nekrozom pulpe, nije nužno izvaditi i suprotni zub. Lateralni pokreti prilikom žvakanja uglavnom su dovoljni za ravnomjerno trošenje preostalih sjekutića (Verstraete i Osofsky, 2005., Meredith, 2007., Varga, 2014.).

Ekstrakcija pretkutnjaka i kutnjaka

Vlasnici često zahtijevaju uklanjanje pretkutnjaka i kutnjaka kako bi se izbjegle učestale anestezije i korekcije zubala. No, ako ne postoji periapikalni apsces,



Slika 11. Stomatološki zahvat na pretkutnjacima i kutnjacima kunića

ekstrakcija zuba se ne preporuča i često je nepotrebna. Uklanjanje cijelog reda pretkutnjaka i kutnjaka predstavlja tešku proceduru. Korijeni zuba su dugački, interdentalni prostor je uzak, a pristup usnoj šupljini je ograničen jer kunić fiziološki ne može široko otvoriti usta. Kostí čeljusti su, i kod zdravih kunića, tanke i osjetljive te sklone frakturama. Odluka o uklanjanju pretkutnjaka i kutnjaka ne smije se donijeti olako. Moguće je da se njihovim vađenjem neće riješiti problem, a česte su nepotrebne traume i oporavak je bolan.

Postoji nekoliko metoda ekstrakcije pretkutnjaka i kutnjaka u kunića:

- ekstraoralni kirurški pristup (slično izbijanju zuba konja kroz maksilarni sinus)
- bukotomija
- intraoralna nekiruska tehnika.

Bukotomija je izvediva, ali nastaju kirurška oštećenja miškulature za žvakanje te je poslijeoperacijski oporavak vrlo bolan. Za posljednju tehniku potrebne su poprilične vještine i iskustvo, ali je za pacijenta najmanje stresna. Procedura je slična kao i kod sjekutića. Nakon rasklimavanja zuba s Crossley-evim luksatorom zub se kliještima pažljivo povlači u smjeru rasta. Ako zbog previše okretanja dođe do frakture zuba moraju se pronaći i izvaditi fragmenti, kroz usta ili ekstraoralnu inciziju.

Zub čiji je korijen zahvaćen apscesom može se izvaditi resekcijom korijena kroz šupljinu apscesa. Gnoj se mora uklanjati iz apscesne šupljine s minimalnom

kontaminacijom okolnog tkiva. Ostatak periodontalnog ligamenta može se ukloniti kroz usta ili šupljinu apscesa, nakon čega se zube ekstrahira na ranije opisani način. Uvriježeno je mišljenje da nakon ekstrakcije pretkutnjaka ili kutnjaka treba ukloniti i njima suprotni zub. No, to nije točno iz nekoliko razloga. Prvo, svaki zub pri okluziji dolazi u kontakt s dva zuba suprotne čeljusti; drugo, susjedni zub će se nagnuti prema novonastaloj pukotini. I na kraju, zubi se ionako ne bi dodirivali jer rastu inkongruentno (Wiggs i Lobprise, 1995.b, Verstraete i Osofsky, 2005., Hobson, 2006., Varga, 2014.).

Liječenje dentalnih apscesa

Za uspješno tretiranje dentalnih apscesa potrebno je djelovati na više razina:

- kirurško uklanjanje i debridman čahure apscesa i zahvaćenih zuba te inficirane kosti
- lokalna primjena antibiotika
- sistemska primjena antibiotika.

Radiološka dijagnostika je nužna prije kirurškog zahvata kako bi se procijenilo koji je zub, odnosno zubi zahvaćeni te koliki je stupanj oštećenja okolnog tkiva. Kad god je moguće kirurški se moraju ukloniti čahura apscesa, svi zahvaćeni zubi i dijelovi inficiranih kostiju. Nakon agresivnog debridmana i kiretaže, rana se ostavlja otvorenom kako bi se svakodnevno mogla ispirati fiziološkom otopinom ili dezinficijensom. Nakon lavaže može se aplicirati gel ili krema s probavnim enzimima (npr. tripsin) i nastaviti postupak sve dok zdravo granulacijsko tkivo ne ispuni šupljinu apscesa. Ovakvim pristupom omogućena je veća kontrola rane i lakše uočavanje eventualnog recidiva apscesa. Ispražnjena se šupljina apscesa može ispuniti i pastom na bazi kalcij hidroksida koji se uklanja nakon tjedan dana. Djeluje na način da stvara lužnati pH koji ubija bakterije, a ne oštećuje okolno tkivo. No, neka iskustva pokazuju da ipak može doći do teških oštećenja i nekroze tkiva. Stoga

se korištenje paste više ne preporuča. Lokalni antibiotici mogu se aplicirati na nekoliko načina. Antibiotik impregniran u kuglicu polimetilmetakrilata postavljenu u kirurški očišćenu ranu postiže vrlo visoke i dugotrajne lokalne koncentracije s minimalnom sistemskom apsorpcijom. Postoje i već gotove kuglice (npr. *Septopal*[®]). No, one su često prevelike za korištenje kod kunića. Fibrozno tkivo vrlo brzo inkapsulira kuglicu i ograničava njeno djelovanje na 3 mm u promjeru pa aplikacija u kapsulu apscesa nema smisla. Ispunjavanje oštećenja nastalih kao posljedica kirurškog zahvata ili periapikalnih infekcija mogu se ispuniti gelom s doksiciklinom (npr. *Atridox*[®]). Odabir sistemskog antibiotika najbolje je temeljiti na izdvajanju uzročnika i antibiogramu. Istraživanje (Tyrrell i sur., 2002.) je pokazalo da su najbolji antibiotici izbora klindamicin, kloramfenikol i penicilin G. Penicilin G se u kunića smije primjenjivati isključivo injekcijski, nikad na usta kako ne bi došlo do disbioze crijeva. Najčešće korišteni antibiotici za kuniće fluorokinoloni (npr. enrofloksacin) i trimetoprim-sulfa pokazali su se nedjelotvorni za periodontalne infekcije prouzročene kombinacijom aerobnih i anaerobnih bakterija. Sistemski antibiotici obično nisu potrebni duže od 2 do 3 tjedna nakon operacije. U slučajevima gdje nije bila moguća potpuna ekscizija, dugotrajna primjena antibiotika je nužna kako ne bi došlo do progresije rasta apscesa (Jenkins, 1997., Tyrrell i sur., 2002., Verstraete i Osofsky, 2005., Meredith, 2007.).

Poslijeoperacijski postupak s kunićem

Nakon anestezije i kirurškog zahvata kunića je potrebno smjestiti u mračnu, toplu i mirnu prostoriju. Unatoč dobroj analgeziji, kunići nakon anestezije često premalo piju pa supkutna aplikacija tople fiziološke otopine ubrzava oporavak. Nakon buđenja treba im ponuditi vodu i hranu kako bi se što prije uspostavila peristaltika. Kod stomatoloških zahvata

ponekad je potrebno dohranjivanje ili hranjenje kunića specijalnom hranom za oporavak baziranoj na sijenu. Kunići su vrlo osjetljivi na bol koju pokazuju smanjenim unosom vode i hrane te GI stazom. Odmah nakon zahvata, ako je potrebno, mogu se zajedno aplicirati opioidni analgetik i nesteroidni protuupalni lijek (NSPUL). Obično je jedna doza opioidnog analgetika dovoljna, a terapija NSPUL-ima se nastavlja kroz 3–5 dana. Butorfanol je bolji izbor od morfija koji povećava rizik pojave ileusa. Opioidni analgetici su bolji za liječenje somatske nego visceralne boli. Zbog toga se smatra da je kod vađenja zuba dovoljan NSPUL. Flunixin meglumin i karprofen osim protupalnog imaju analgetsko djelovanje 24 h koje se, po jačini, može usporediti s opioidnim analgetikom. Za poticanje peristaltike daju se lijekovi s prokinetičkim djelovanjem, npr. metoklopramid ili cisaprid. Važno je informirati vlasnike i o pravilnoj i balansiranoj hranidbi te ih upozoriti da je veći dio patologije usne šupljine u kunića kroničnog i recidivirajućeg karaktera (Harcourt-Brown, 2002., Verstraete i Osofsky, 2005., Flecknell, 2006.).

Zaključak

Dijagnostika i liječenje različitih oblika patologije usne šupljine kunića uvrštenog u kategoriju kućnog ljubimca predstavlja izazov za svakog kliničara. Kunić kao biljožder koji nije preživac ima posebno oblikovano zubalo za uzimanje, glodanje i žvakanje hrane - pripada redu dvojezubaca. Pregled i dijagnostika pa tako i liječenje različitih oblika patologije usne šupljine otežani su zbog njezine specifične građe i podložnosti kunića stresu. Najčešći oblici patologije usne šupljine kunića su: malokluzija sjekutića, hipodoncija, trauma, jatrogena malokluzija, malokluzija kutnjaka, metabolički poremećaji, apsces, periodontalna patologija, opstrukcija nazolakrimalnog kanalića te karijes. Većina kliničkih simptoma bolesti zubiju kunića je nespecifična, a očituje

se u vidu anoreksije, gubitaka tjelesne mase, neurednog krzna, slinjenja te iscjetka iz oka. Najčešći terapijski zahvati usne šupljine kunića predstavljaju: skraćivanje zuba, ekstrakciju zuba i liječenje dentalnih apscesa. Podložnost stresu uvjetuje primjenu opće anestezije i analgezije te u određenim slučajevima lokalne anestezije *n. infraorbitalis* i *n. mandibularis*. Poslijeoperacijska skrb uključuje antibiotsku terapiju, analgeziju, rehidraciju i primjenu prokinetika.

Sažetak

Bolesti usne šupljine smatraju se najčešćim poremećajima u kunića kućnih ljubimaca. Kunići su dvojezupci koji u gornjoj čeljusti imaju iza sjekutića dva rudimentarna zuba, tzv. zaglodnjaka. Nemaju očajake, a između sjekutića i pretkutnjaka postoji velika dijastema. Zbog kontinuiranog rasta zubiju kunići su vrlo skloni dentalnim poremećajima. Neadekvatan smještaj i hranidba znatno utječu na stečenu bolest zubiju kunića. Najčešća patologija usne šupljine kunića je: malokluzija sjekutića, malokluzija i prerasli pretkutnjaci i kutnjaci, stečena bolest zubiju, apscesi lica, periodontalna patologija te posljedično opstrukcija nazolakrimalnog kanalića. Većina kliničkih simptoma bolesti zubiju kunića je nespecifična: anoreksija, gubitak tjelesne mase, neuredno krzno, slinjenje te iscjedak iz oka. Pregled usne šupljine može se obaviti bez sedacije, ali za sigurniju dijagnozu je ista potrebna. Radiološka dijagnostika je neizostavni dio dijagnostike bolesti usne šupljine u kunića. Opća je anestezija ponekad potrebna za skraćivanje sjekutića, a uvijek je indicirana za korekciju pretkutnjaka i kutnjaka, ekstrakcije zuba te kiruršku obradu apscesa. Izbor antibiotske terapije najbolje je temeljiti na izdavanju uzročnika i antibiogramu. U poslijeoperacijskom periodu važna je adekvatna analgezija, tekućinska terapija, smanjivanje stresa te primjena prokinetika.

Literatura

1. CROSSLEY, D. A. (1995): Clinical aspects of lagomorph dental anatomy: The rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Vet. Dent.* 12, 137-140.
2. HARCOURT-BROWN, F. (2002): *Textbook of Rabbit Medicine*, Butterworth Heinemann, Oxford, pp. 121- 224.
3. HARCOURT-BROWN, F. (2006): *Metabolic bone*

- disease as a possible cause of dental disease in pet rabbits. Thesis for Fellowship of Royal College of Veterinary Surgeons, UK.
4. HEARD, D. J. (2004): Anesthesia, analgesia, and sedation of small mammals. In: *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. (QUESENBERRY K. E., J. W. CARPENTER, eds.), 2nd ed. Philadelphia, W. B. Saunders, pp. 356-369.
 5. HOBSON, P. (2006): Dentistry. In: *Manual of Rabbit Medicine and Surgery*. (MEREDITH, A., P. FLECKNELL, eds.), British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, pp. 184-196.
 6. FLECKNELL, P. (2006): Anaesthesia and perioperative care. In: *Manual of Rabbit Medicine and Surgery*. (MEREDITH, A., P. FLECKNELL, eds.), British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, pp. 154-165.
 7. JEKL, V. and S. REDROBE (2013): Rabbit dental disease and calcium metabolism – the science behind divided opinions. *J. Small. Anim. Pract.* 54, 481-490.
 8. JENKINS, J. R. (1997): Soft tissue surgery and dental procedures. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. (HILLYER, E. V., K. E. QUESENBERRY, eds.), W. B. Saunders, Philadelphia, pp. 227-239.
 9. LEGENDRE, L. F. J. (2002): Malocclusions in guinea pigs, chinchillas and rabbits. *Can. Vet. J.* 43, 385-390.
 10. MATIČIĆ, D. i D. VNUK (2010): Anesteziologija. U: *Veterinarska kirurgija i anesteziologija*. (MATIČIĆ D., D. VNUK, ur.), Medicinska naklada, Zagreb, str. 319-324.
 11. MEREDITH, A. (2006): General biology and husbandry. In: *Manual of Rabbit Medicine and Surgery*. (MEREDITH, A., P. FLECKNELL, eds.), British Small Animal Veterinary Association, Gloucester. Pp. 1-17.
 12. MEREDITH, A. (2007): Rabbit dentistry. *Eur. J. Comp. Anim. Pract.* 17, 55-62.
 13. TYRRELL, K. L., D. M. CITRON, J. R. JENKINS and E. J. C. GOLDSTEIN (2002): Periodontal bacteria in rabbit mandibular and maxillary abscesses. *J. Clin. Micro.* 40, 1044-1047.
 14. VAN CAELENBERG, A., L. DE RYCKE, K. HERMANS, L. VERHAERT, H. VAN BREE and I. GIELEN (2008): Diagnosis of dental problems in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 77, 386-394.
 15. VARGA, M. (2014): *Textbook of Rabbit Medicine*, 2nd, Butterworth Heinemann Elsevier, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto, pp. 203-270.
 16. VERSTRAETE, F. J. M. and A. OSOFSKY (2005): Dentistry in pet rabbits. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 9, 671-682.
 17. WIGGS, R. B. and H. LOBPRISE (1995a): Dental anatomy and physiology of pet rodents and lagomorphs. In: *Manual of Small Animal Dentistry*. (CROSSLEY, D. A., S. PENMAN, eds.), 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, pp. 68-73.
 18. WIGGS, R. B. and H. LOBPRISE (1995b): Prevention and treatment of dental problems in rodents and lagomorphs. In: *Manual of Small Animal Dentistry*. (Crossley, D. A., S. Penman, eds.), 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, pp. 84-91.

Diagnosis and Treatment of Rabbit Oral Cavity Diseases

Berislav RADIŠIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Boris PIRKIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Branimir ŠKRLIN, DVM, Expert Associate, Marija LIPAR, DVM, PhD, Senior Expert Associate, Scientific Advisor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Tajna KOVAČ, DVM

Dental disease is considered one of the most common disorders in pet rabbits. Rabbits are lagomorphs that have two larger incisors and two rudimentary maxillary incisors (peg teeth). They have no canine teeth and a long diastema between the incisors and the premolars. Due to the continuous growth of their teeth, rabbits are very susceptible to dental abnormalities. Inappropriate husbandry and diet are associated with several acquired dental disorders in pet rabbits. The most common dental problems are incisor overgrowth, premolar and molar overgrowth, acquired dental disease, facial abscesses, periodontal disease and nasolacrimal duct pathology. Many of the signs of dental disease

are non-specific: anorexia, weight loss, ptyalism, ocular discharge and facial swelling. An initial dental examination can be carried out in a conscious animal, though examination under deep sedation or anaesthesia is preferable. Radiography is an essential part of a comprehensive oral examination. General anaesthesia is necessary in most cases of tooth-height reduction of incisors, and always for occlusal adjustment of premolars and molars, tooth extractions or abscess debridement. Appropriate antibiotic treatment should be selected based on aerobic and anaerobic culture and sensitivity. Analgesia, fluids, prokinetics and minimizing stress are very important in the postoperative period.

Tumor Sertolijevih stanica u bulterijera s pruritičnim dermatitisom – prikaz slučaja

Nikša Lemo



Opis slučaja

Mužjak bulterijera star 11 godina, težine 26 kilograma doveden je u dermatološku ambulantu zbog intenzivnog svrbeža.

Anamneza

Anamnezom je zabilježeno kako pas ima određene probleme s kožom 6 mjeseci, a situacija se u posljednja dva mjeseca pogoršala. Vlasnici su primijetili da pas u početku gubi dlaku na sve 4 noge. Nakon 2 mjeseca pojavile su se kraste i pas je počeo češati noge i lice. Vlasnici nisu mijenjali hranu niti su primijetili nikakve probavne smetnje. Pas je uredno cijepljen jednom godišnje protiv bjesnoće te polivalentnim cjepivom za zarazne bolesti. Svaki drugi mjesec psu je aplicirana pipeta koja sadrži fipronil (Frontline®, Merial, Francuska). Kada je pas došao u ambulantu već je bio na antibiotskoj terapiji s cefaleksinom 15 mg na kilogram t.m. kroz tri tjedna. Vlasnik je primijetio blago poboljšanje na početku terapije, ali alopecija i svrbež su i dalje bili prisutni.

Klinički i dermatološki pregled

Općim je kliničkim pregledom ustanovljeno da je pas u dobroj tjelesnoj kondiciji i veseo za vrijeme pregleda. Sluznice i limfni čvorovi su bili uredni. Tjelesna temperatura je bila 38,2 °C, bilo 104 i CRT je bio niži od 2 sekunde. Jedan testis je bio 3 puta veći od drugoga, oba testisa pri palpaciju su bili tvrde



Slika 1. Testis psa, lijevi testis je tri puta veći od desnog. Makularna hiperpigmentacija.

Dr. sc. Nikša LEMO, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb



Slika 2a. i 2b. Ulceracije po koži, ožiljci, alopecija i hiperpigmentacija po nogama.

konzistencije (Slika 1.). Rektalnim pregledom je uočena hiperplazija prostate.

Dermatološkim su pregledom uočene: ulceracije, erozije, hiperpigmentacija i alopecija na sve 4 noge kao i eritem lica, skrotalna makularna hiperpigmentacija i linearni prepucijalni dermatitis (Slika 2.a i 2.b). Krzno je bilo loše kvalitete (Slika 3.).

Kako je prva lezija na koži bila neupalna alopecija, na diferencijalnoj listi dijagnoza endokrinološke dermatoze su bile na prvom mjestu. Testisi su bili nesimetrični, uočena je skrotalna hiperpigmentacija i hipotrihija, a tumori testisa su bili suspekti. U tom trenutku hipotireoidizam je isto tako bio na listi diferencijalnih dijagnoza s obzirom na gubitak dlake i zbog dobi psa. Od ostalih bolesti s liste diferencijalnih dijagnoza ističe se sarkoptoza zbog svrbeža i distribucije lezija koja uključuje laktove kod psa, alergija na hranu, epiteliotropni



Slika 3. Ožiljci i kraste na sve 4 noge.

limfom i lišmanijoza. Piodermija i demodikoza su bili suspekti kao sekundarne infekcije/infestacije.

Dijagnostika i liječenje

Provedeno je nekoliko testova za vrijeme prvog pregleda. Trihogram je pokazao 95% dlaka u telogenoj fazi. Duboko struganje kože provedeno je na 5 različitih mjesta i svi su bili negativni. Citološkom pretragom otiska kože uočeni su neutrofil i nekoliko kokoidnih bakterija po vidnom polju mikroskopa x 100. Citologija prepucijalnog razmaska pokazala je nekoliko epitelijalnih stanica kuboidnog do okruglog oblika sa zdravom jezgrom. Ultrazvučna je pretraga pokazala područje povećane heterogenosti s niskom refleksivnosti na lijevom testisu te prisutan peritestikularni edem. U abdomenu nisu uočene metastaze. Uočena je i cistična hiperplazija prostate.

Preporučena je kastracija psa i patohistološka analiza testisa. Prije kirurškog zahvata uzet je serum za analizu hormona iz lijeve i desne

Tabela 1. Analiza hormona iz periferne krvi i venske krvi oba testisa.

	Periferna krv (jugularna vena)	Venska krv iz lijevog testisa	Venska krv iz desnog testisa
Androstenedion (nmol/L)	19,2	32.7 ↑	12,7
Testosteron (nmol/L)	4	46 ↑	15
Estradiol (pmol/L)	23	139 ↑	35
IGF (ng/mL)	344		
Progesteron (nmol/L)	/	8	3
FT4 (pmol/L)	18	15	15
Kortizol (nmol/L)	91	247	188

vene testisa i jugularne vene. Psu je propisan nastavak antibiotske terapije cefaleksinom 15 mg na kilogram, 2 puta dnevno kroz 6 tjedana.

Kontrolni pregled

Novi je dermatološki pregled zakazan 20 dana nakon kastracije. Pas je i dalje bio u dobroj tjelesnoj kondiciji. Kraste na sve 4 noge i skrotalna makularna hiperpigmentacija su i dalje bili prisutni, ali manjeg inteziteta. Kožni edem i eritem su uočeni na mjestu kirurške resekcije kao lokalna iritacija na šavove (Slika 4.). Vlasnik je istaknuo da je svrbež kod psa smanjen za 80%. Provedeni su novi testovi te je trihogramom uočeno 75% dlaka u telogenoj fazi. Citološka pretraga kože



Slika 4. Skrotalna hiperpigmentacija s makulama, eritem na mjestu kirurške resekcije.

i duboko struganje kože su negativni. Rezultati hormonske analize su stigli uoči kontrole i pokazali su povećanje svih steroidnih hormona iz venske krvi tumorom zahvaćenog testisa (Tabela 1.) Patohistološka analiza je potvrdila difuzni tumor Sertolijevih stanica.

Zaključak

Dijagnoza prikazanog slučaja je tumor Sertolijevih stanica sa sekundarnom dubokom piodemijom.

Rasprava

Tumori testisa predstavljaju tipične neoplazije kod starih nekastriranih pasa (Coffin i Munson, 1953.). Tumori Sertolijevih stanica često su povezani s paraneoplastičnim sindromima kod pasa (Leger, 1977., Post i sur., 1987., Grieco i sur., 2008.). Bolesni psi mogu imati ginekomastiju, atrofiju penisa te privlačiti druge mužjake (sindrom feminizacije) (Tremblay, 1971., Frank i sur., 2003., Turek, 2003.). Od kožnih problema ističu se bilateralne alopecije na vratu, slabinama, perineumu i genitalnom području (Brodey i Martin, 1958., Baker, 1986.). Epidermis može biti stanjen kao i promjena boje krzna, inguinalna

makularna melanoza i prepucijalni linearni dermatitis (Scott i sur., 2003.).

U prikazanom slučaju dermatološki problemi su se razvijali sporo te su započeli ispadanjem dlake na sve 4 noge i hiperpigmentacijom kože skrotuma te prepucijalnim makulama. Kada se pas počeo češati prouzročio je traumatizaciju kože i pojavu sekundarne piodermije.

Za vrijeme prvog pregleda tumor testisa je bio evidentan, no dijagnoza paraneoplastičnog sindroma nije mogla biti potvrđena prvim pregledom zbog toga što i druge hormonske dermatoze imaju slične simptome. Postoje 3 različite dijagnoze tumora testisa: seminom, tumor intersticijskih stanica i tumor Sertolijevih stanica (Peters i sur., 2000.). Retrospektivna studija kod tumora na testisima (Grieco i sur., 2008.) pokazala je da su od 110 tumora na testisima, njih 55 (50%) bili tumori intersticijskih stanica, 46 (42%) seminomi i 9 (8%) tumori Sertolijevih stanica.

Glavina dermatoloških problema povezani s tumorom Sertolijevih stanica rezultat su sekundarne hormonske neusklađenosti povezane s funkcionalnim tumorom (Mischke i sur., 2002., Sanpera i sur., 2002.).

Koncentracija estradiola u venskoj krv testisa i perifenoj venskoj krvi je povećana u pasa s tumorom Sertolijevih stanica u odnosu na zdrave pse, dok je koncentracija testosterona smanjena u omjeru s estradiolom. Ove promjene koncentracije hormona uočene su periferno od dlačnih folikula (Bamber i sur., 2004.). U prikazanom je slučaju koncentracija hormona iz periferne krvi zahvaćenog testisa bila signifikantno veća nego u perifernoj krvi normalnog testisa.

U jednoj retrospektivnoj studiji s 276 pasa, endokrinoloških pacijenata, uočeno je povećanje bazičnog i stimuliranog progesterona. Hiperprogesteronemija povezana s alopecijom je uočena kod pasa s tumorom Sertolijevih stanica (Fadok i sur., 1986.).

Kod funkcionalnih tumora koji izlučuju estrogen postoji indikacija za uzimanje prepucijalnog obriska za citološku pretragu. Povećana koncentracija estrogena u serumu prouzroči orožnjavanje epitelnih stanica prepucija (Root Kustritz, 2006.).

Kastracija oba testisa preporučena je kod svih tumora testisa kako bi se spriječile eventualne metastaze i hormonski disbalans. Poboljšanje kliničke slike i stanja na koži kod pasa s tumorom Sertolijevih stanica može se očekivati za 3 do 6 mjeseci nakon kastracije.

Sažetak

Pas je imao 6 mjeseci probleme s kožom, a u posljednja 2 mjeseca problemi su postali izraženiji. Kožne lezije su započele kao alopecije na sve 4 noge. Nakon 2 mjeseca lezije su postale krustozne i pas se počeo češati po nogama i licu. Kliničkim pregledom ustanovljeno je da je jedan testis tri puta veći od drugoga te su oba testisa palpatorno tvrde konzistencije. Dermatološkim pregledom ustanovljene su: ulceracije, erozije, ožiljci, hiperpigmentacija i alopecija na sve četiri noge kao i eritem kože lica, skrotalna makularna hiperpigmentacija i linearni prepucijalni dermatitis. Ultrazvučnim pregledom promijenjenog lijevog testisa razotkrila je difuzno prošireno područje heterogene, uglavnom niske refleksije te edem u okolini testisa, a nisu uočene metastaze u abdomenu već cistična hiperplazija prostate. Pas je kirurški kastriran. Prije zahvata uzeti su uzorci krvi za hormonsku analizu. Patohistološki je ustanovljen tumor Sertolijevih stanica. Kastracija oba testisa je preporučena kod svih tumora testisa kao prevencija mogućih metastaza i izbjegavanje hormonskog disbalansa oboljelih jedinki. Poboljšanje dermatoloških lezija može se očekivati 3 do 6 mjeseci nakon kastracije oboljelih pasa od tumora Sertolijevih stanica.

Literatura

1. BAKER, K. (1968): Hormonal alopecia in dogs and cats. In Practice 8, 71-88.
2. BAMBERG, E., A. AICHINGER and G.

- MITTEREGGER (2004): In vitro metabolism of dehydroepiandrosterone and testosterone by canine hair follicle cells. *Vet. Dermatol.* 15, 19-24.
3. BRODEY, R. S. and J. E. MARTIN (1958): Sertoli cell neoplasms in the dog; the clinicopathological and endocrinological findings in thirtyseven dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 133, 249-257.
 4. COFFIN, D. L. and T. O. MUNSON (1953): Endocrine diseases of the dog associated with hair loss: Sertoli cell tumor of testis, hypothyroidism, canine Cushing's syndrome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 123, 402-408.
 5. FADOK, V. A., C. D. LOTHROP JR and P. COULSON (1986): Hyperprogesteronemia associated with Sertoli cell tumor and alopecia in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 1058-1059.
 6. FRANK, L. A., K. A. HNILICA, B. W. KROHRBACH and J. W. OLIVER (2003): Retrospective evaluation of sex hormones and steroid hormone intermediates in dogs with alopecia. *Vet. Dermatol.* 14, 91-97.
 7. GRIECO, V., E. RICCARDI, G. F. GREPPI, F. TERUZZI, V. IERMANÒ and M. FINAZZI (2008): Canine testicular tumours a study on 232 dogs. *J. Comp. Pathol.* 138, 86-89.
 8. LÉGER, L. (1977): Sertoli cell tumor in a dog. *Can. Vet. J.* 18, 253-256. (in French).
 9. MISCHKE, R., D. MEURER, H. O. HOPPEN, S. UEBERSCHÄR and M. HEWICKER-TRAUTWEIN (2002): Blood plasma concentrations of oestradiol-17beta, testosterone and testosterone/oestradiol ratio in dogs with neoplastic and degenerative testicular diseases. *Res. Vet. Sci.* 73, 267-272.
 10. PETERS, M. A., F. H. DE JONG, K. J. TEERDS, D. G. DE ROOIJ, S. J. DIELEMAN and F. J. VAN SLUIJS (2000): Ageing, testicular tumours and the pituitary-testis axis in dogs. *J. Endocrinol.* 166, 153-161.
 11. POST, K. and S. H. KILBORN (1987): Canine Sertoli Cell Tumor: A Medical Records Search and Literature Review. *Can. Vet. J.* 28, 427-431.
 12. ROOT KUSTRITZ, M. V. (2006): Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract, *Theriogenology Volume 66, Issue 3, Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, August 2006.* Pp. 567-574.
 13. SANPERA, N., N. MASOT, M. JANER, C. ROMEO and R. DE PEDRO (2002): Oestrogen-induced bone marrow aplasia in a dog with a Sertoli cell tumour. *J. Small Anim. Pract.* 43, 365-369.
 14. SCOTT, D. W., W. H. MILLER and C. E. GRIFFIN (2001): *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 6th ed. W. B. Saunders, Philadelphia, USA.
 15. TREMBLAY, B. (1971): Sertoli cell tumor with gynecomastia in the dog. *Can. Vet. J.* 12, 29-30. (in French).
 16. TUREK, M. M. (2003): Cutaneous paraneoplastic syndromes in dogs and cats: a review of the literature. *Vet. Dermatol.* 14, 279-296.

Sertoli Cell Tumour Associated with Pruritic Dermatitis in a Bullterrier – A Case Report

Nikša LEMO, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

A male Bull terrier was referred for a six-month history of skin problems that worsened 2 months previously. Lesions began as alopecia on all four legs. After 2 months, these became more crusted and the dog started to scratch its legs and face. Physical examination revealed that one testicle was enlarged to 3 times the other, and both testicles were hard to palpation. Dermatological examination revealed ulceration, erosions, scaring, hyperpigmentation and alopecia on all four legs, and facial erythema, scrotal macular hyperpigmentation and linear preputial dermatosis. Ultrasound revealed a diffuse enlarged area of heterogeneous,

predominantly low reflectivity of the left testicle with peritesticular oedema, absence of abdominal metastasis, and cystic hyperplasia of the prostate. Surgical castration was performed. Pre-surgery blood was taken for hormonal analysis. Histopathological analysis revealed a diffuse Sertoli cell tumour and cytological observation showed malignancy. Castration of both testicles is suggested in all testicular tumours as a prevention of possible future metastasis or hormone imbalance of the body. After castration of dogs with Sertoli's cell tumours, improvement of dermatological lesions can be expected within three to six months.

Mikrosporoza u jorkširskog terijera – prikaz slučaja

Nikša Lemo



Opis slučaja: ženka jorkširskog terijera, stara četiri godine.

Anamneza

Ženka je upućena u specijalističku dermatološku ambulantu zbog multifokalnih alopecija i papulokrustoznog dermatitisa. Kraste i papule uočene na koži leđa nisu pokazivale poboljšanja na prijašnje tretmane. Ženka je udomljena iz prihvatilišta za pse šest mjeseci prije nego su se pojavile kožne promjene. Ženka je redovito tretirana protiv unutarnjih i vanjskih parazita, cijepljena je i protiv bjesnoće i zaraznih bolesti. Svrbež je započeo neposredno prije pojave problema s kožom i u vrijeme tog perioda antibiotska terapija (cefaleksin), kortikosteroid (deksametazon) i lokalna terapija Betadinom provedena je u dva navrata. Terapija kortikosteroidima nije utjecala na smanjenje svrbeža kod psa.

Opći klinički i dermatološki pregled

Kuja je bila u dobroj tjelesnoj kondiciji i pozorna tijekom pregleda. Sluznice i površinski limfni čvorovi bili su uredni, rektalna temperatura je iznosila 39,1 °C, bilo 120, disanje 60 i CRT je bio manji

od dvije sekunde. U ambulanti, za vrijeme pregleda, svrbež nije bio uočen. Dermatološkim pregledom uočene su kraste i papule s alopecijama i eritemom na dorzalnoj liniji leđa (Slika 1. i 2.). Hiperpigmentacija je uočena u centru alopecije (Slika 3.).



Slika 1. Kraste i papularni dermatitis s alopecijom na koži leđa.



Slika 2. Papula u centru alopecije.

Dr. sc. Nikša LEMO, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb



Slika 3. Hiperpigmentacija u centru alopecije.

Dijagnostika

Lista dermatoloških problema uključuje: kraste, papule, hiperpigmentaciju, alopeciju i svrbež. Lista diferencijalnih dijagnoza uključuje: dermatofitozu, stafilokokalni folikulitis, demodikozu, preosjetljivost na ubode buha, *pemfigus foliaceus* i dermatofilozu.

Dermatofitoza je postavljena na prvo mjesto budući da nije bilo poboljšanja za vrijeme terapije antibioticima, a ni kortikosteroidi nisu ublažili svrbež. Kako su lezije bile folikularne, stafilokokalni folikulitis i demodikoza isto su tako uzeti u razmatranje kao i specifična perzistentna infekcija poput dermatofiloze, gdje u kroničnoj infekciji dlačni folikul može biti zahvaćen. Preosjetljivost na ubode buhe je na listi zbog stalnog svrbeža i same lokalizacije lezije. Alopecije i kraste su sugestivne kod kroničnog tijeka pemfigusa foliaceusa, iako sama bolest započinje pustularnim dermatitisom.

Trihogram nije pokazao nikakve nepravilnosti u građi dlake i većina dlaka je bila u anagenoj fazi. Pretraga Woodovom lampom bila je negativna. Svih pet dubokih struganja kože isto su tako bili negativni. Citolška je pretraga uzeta otiskom selotejpom bila negativna dok ona uzeta otiskom stakalcem je pokazala piogranulomatoznu upalu s prisutnošću brojnih neutrofila i 30% makrofaga. Uzorak za mikološku kulturu uzet je metodom „tepiha“ te je nasaden na Sabouraud dekstrozni agar.

Liječenje

Kako je kuja bila na terapiji cefaleksinom propisanim od strane veterinara isti tretman je nastavljen od sljedeće kontrole. Klorheksidin 3%-na kupka propisana je dva puta tjedno kao i aplikacija pipete selamektina (STRONGHOLD) svaka četiri tjedna. U ovom su trenutku najvjerojatnije dijagnoze bile dermatofitoza i *pemfigus foliaceus*. Kontrolni pregled dogovoren je za tri tjedna kada će biti gotovi rezultati mikološke kulture i kada će biti znano hoće li biti potrebna biopsija kože.

Kontrolni pregled 1.

Na kontrolnom pregledu kuja je i dalje bila u dobroj kondiciji i svi fiziološki parametri su normalni. Svrbež je i dalje prisutan i liječenje nije imalo efekta na lezije na koži. Mikološka kultura pokazala je brojne kolonije *Microsporum canis* (Slika 4.). Biopsija kože je odgođena pošto je potvrđena dermatofitoza (mikrosporoza) i isto tako demodikoza je isključena dubokim struganjem kože, a dermatofiloza citološkom pretragom.

Liječenje

Terapija antibioticima je prekinuta kao i antiseptičke kupke. Itrakonazol



Slika 4. Brojne kolonije *Microsporum canis* na Sabouraud dekstroznom agaru.

(ITRAFUNGOL) 5 mg na kg svakih 24 sata propisani su u maniri pulsne terapije, sedam dana tretmana i zatim sedam dana pauze u tri ciklusa ponavljanja. Preporučena je i lokalna terapija enilkonazolom (IMAVERAL) dva puta tjedno u prva dva tjedna, zatim jednom tjedno. Čišćenje kuće i automobila usisavanjem te dezinfekcija sa sredstvom za čišćenje koje sadrži enilkonazol (CLINAFARM) je preporučeno. Sljedeći kontrolni pregled dogovoren je za mjesec dana.

Kontrolni pregled 2.

Kuja je i dalje u dobroj kondiciji i svi fiziološki parametri su normalni. Dlaka je počela prorastati alopeciju, ali nova dlaka je tamno plave do crne boje. Svrbež više nije prisutan. Uzet je uzorak za mikološku kulturu. Nastavak sistemske i lokalne terapije kao što je propisano na prethodnom kontrolnom pregledu 1. do sljedećeg negativnog rezultata mikološke kulture. Kultura uzeta na analizu na kontrolnom pregledu 2. je bila negativna.

Kontrolni pregled 3.

Nisu uočene promjene u općem stanju, niti su uočene promjene na koži. Vlasnici nisu primijetili češanje. Uzet je uzorak za novu mikološku kulturu. Nastavljena je samo lokalna terapija enilkonazolom jednom tjedno, svi ostali tretmani su prekinuti. Kultura uzeta na analizu na kontrolnom pregledu 3. je bila negativna. Liječenje je u potpunosti prekinuto nakon drugog negativnog rezultata.

Rasprava

Dermatofitoza spada u grupu zaraznih bolesti prouzročene razmnažanjem patogenih gljivica kod ljudi i životinja u tkivima koja sadrže keratin (koža, nokti, dlaka). Kod pasa rodovi *Microsporum* i *Trichophyton* su često uključeni u infekciju

(Guillot, 1999.). Rod *Microsporum* sadrži sedamnaest vrsta i sve formiraju makrokonidije i mikrokonidije. Njihov oblik, veličina i stanična stijenka su važne i karakteristične za njihovu identifikaciju (Viani i sur., 2001., Brouta i sur., 2002., Kozak i sur., 2003., Perrins i Bond, 2003., Sharma i sur., 2007.). Razlikovanje ovog roda od trichophytona bazira se na debljini makrokonidijalne stijenke, iako je u praksi to ponekad teško uočiti (Pinter i Štritof, 2004.). *Microsporum canis* je najčešća vrsta koja prouzroči dermatofitozu kod pasa, trihofitoza je manje zastupljena. U periodu od tridesettri godine (od 1970. do 2002. godine) 3854 psa s različitim dermatološkim problemima pregledano je na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu kliničkim i laboratorijskim pregledom kože i dlake, a kod 66 pasa izoliran je *Trichophyton mentagrofites* dok *Microsporum canis* je izoliran u 840 slučajeva (21,8%) (Pinter i Štritof, 2004.). Retrospektivna studija dermatofitoze kod jorkširskih terijera provedena na klinici u Parizu od 27 testiranih pasa, 7 je bilo pozitivno na *Microsporum canis* dok je 1 uzorak bio pozitivan na *Trichophyton menagrofites*. Dermatofitoza kao kožna bolest karakterizirana je kružnim multifokalnim alopecijama, eritemom, ljuštenjem kože i krastama. Onihomikoza prouzročena *Microsporum canis* je rijetka, ali je opisana u jorkširskog terijera. Kerion, kao forma dermatofitoze, predstavlja upalni odgovor domaćina i karakteriziran je kao prominentna kružna lezija prosječne veličine od 1 cm u promjeru. Generalizirana forma dermatofitoze je uočena u perzijskih mačaka i jorkširskih terijera (Sparkes i sur., 1993., Cerundulo, 2004.). Psi koji oboljevaju od *Microsporum canis* infekcije mogu imati lezije po čitavom tijelu i nema predispozicijskog mjesta. U prikazanom slučaju multifokalna alopecija s eritemom i hiperpigmentacijom uočene su na dorzalnoj liniji tijela. U jednom

izvješću kod mlade ženke mančesterskog terijera mnogostruki dermalni i subkutani čvorići su se razvijali uz kroničnu površinsku dermatofitozu. Mikološke kulture iz uzorka biopsije čvorića pokazale su razvoj *Trichophyton mentagrofites* kolonija (Bergman i sur., 2002.). U literaturi objavljen je samo jedan slučaj dermatofitoznog granuloma u psa prouzročenom *Microsporium canis* (MacKay i sur., 1997.). Diferencijalne dijagnoze kod dermatofitoze uključuju demodikozu i stafilokokalni folikulitis. Kod različite kliničke slike kada je prisutan krustozni dermatitis *pemfigus foliaceus* može biti dodan u listu diferencijalnih dijagnoza (Peters i sur., 2007.).

Orijentacijska dijagnostička metoda obuhvaća mikroskopsku pretragu strugotine kože i dlake. Te pretrage su jednostavne i mogu biti obavljene sa standardnom opremom u veterinarskoj ambulanti. Ukoliko je direktna pretraga uzorka pozitivna, druge dijagnostičke metode su neophodne. Sekundarna kontaminacija dlaka s nepatogenim gljivicama može biti uočena ovim testom. Kliničari isto tako koriste Woodovu lampu kao orijentacijski test. Istraživanje je provedeno na 8 jorkširskih terijera s pozitivnom mikološkom kuturom na dermatofite, a samo je jedan test s Woodovom lampom bio pozitivan. Ako je test s Woodovom lampom negativan samo mikološka kultura može isključiti dijagnozu dermatofitoze budući da je statistički 50% pregleda Woodovom lampom negativno. Ako je pas zaražen *Microsporium canis*, *Sabouraud* dektrozni agar je izbor za mikološku kulturu da bi se potvrdila infekcija.

Patohistološki se hife gljivica mogu prikazati bojanjem po HES, PAS ili GMS. Retrospektivna studija provedena na 190 biopsata psa kože od kojih su 95 dijagnosticirani ili dermatofitozom ili *pemfigus foliaceus*. Svi uzorci su bojani

s HES, PAS i GMS. Dermatofiti nisu bili viđeni ni u jednom slučaju kod pemfigusa. Akantoliza karakteristična za *Pemfigus* je viđena u 14% uzoraka kod slučajeva s dermatofitozom gdje nijedan klinički znak nije bio povezan s pemfigusom foliaceusom. U slučajevima s pemfigusom viđen je signifikantan broj akantolitičkih stanica. *Trichophyton* spp. najviše je bio uključen u akantolitičku dermatofitozu od ostalih gljivica (Peters i sur., 2007.).

Liječenje dermatofitoze se sastoji od aplikacije različitih antimikotičnih lijekova, lokalno i sistemski. Lokalna terapija s 0,25% enilkonazol kupkama i kombinacijom 2% mikronazol-klorheksidin pokazali su dobre rezultate u kliničkim studijama, dok su itrakonazol, grizeofulvin i terbinafin pokazali poboljšanje kao sistemski lijekovi (Moriello, 2004., Hofbauer i sur., 2002.). Liječenje može trajati od 2 do 4 mjeseca dok se god ne dobiju dvije uzastopne mikološke kulture negativne u razmacima od mjesec dana. Dezinfekcija s kloridnim dezinficijensima ili enilkonazolom pokazala se uspješna u eliminiranju spora iz okoline. Gljivična cjepiva nisu dala dovoljno dokaza da su učinkovita kao prevencija ili dio liječenja kod dermatofitoze.

Sažetak

Ženka jorkširskog terijera dovedena je u dermatološku ambulantu zbog gubitka dlake i papulokrustoznog dermatitis. Kraste i papule su uočene na koži leđa i nije bilo poboljšanja na terapiji s antibioticima, kortikosteroidima i lokalnoj terapiji s antispeticima. Kortikosteroidi nisu imali utjecaj na svrbež. Trihogram je bio uredan te je većina dlaka bila u anagenoj fazi rasta. Test Woodovom lampom je bio negativan. Svih je 5 dubokih struganja kože bilo negativno. Citologija napravljena sa selotejpom bila je negativna, a ona napravljena iz otiska stakalca pokazala je piogranulomatoznu upalu s prisutnim brojnim neutrofilima

i 30% makrofaga. Uzorak kože i dlake je uzet za mikološku kulturu. Brojne kolonije *M. canis* su izrasle na podlozi. Propisana je terapija Itrakonazolom u tjednim pulsnim intervalima uz lokalnu terapiju enilkonazolom dva puta tjedno prva 2 tjedna, a zatim jednom tjedno. Sistemska i lokalna terapija su prekinute nakon dva uzastopna negativna rezultata testova provedenih na mikološkim kulturama.

Literatura

1. BERGMAN, R. L., L. MEDLEAU, K. HNILICA and E. HOWERTH (2002): Dermatophyte granulomas caused by *Trichophyton mentagrophytes* in a dog. *Vet. Dermatol.* 13, 49-52.
2. BROUTA, F., F. DESCAMPS, M. MONOD, S. VERMOUT, B. LOSSON and B. MIGNON (2002): Secreted metalloprotease gene family of *Microsporium canis*. *Infection and Immunity* 70, 5676-5683.
3. CERUNDOLO, R. (2004): Generalized *Microsporium canis* dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. *Vet. Dermatol.* 15, 181-187.
4. GUILLOT, J. (1999): Le diagnostic biologique des mycoses animales, *Revue Française des Laboratoires* 310, 57-64.
5. HOFBAUER, B., I. LEITNER and N. S. RYDER (2002): In vitro susceptibility of *Microsporium canis* and other dermatophyte isolates from veterinary infections during therapy with terbinafine or griseofulvin. *Med. Mycology* 40, 179-183.
6. KOZAK, M., J. BILEK, V. BELADICOVA, K. BELADICOVA and Z. BARANOVA, BUGARSKY (2003): A Study of the dermatophytes in dogs and the risk of human infection. *Bratislava Med. J.* 104, 211-217.
7. MACKAY, B. M., I. JOHNSTONE, D. A. O'BOYLE et al. (1997): Severe dermatophyte infections in a dog and cat. *Austral. Vet. Pract.* 27, 86-90.
8. MORIELLO, K. A. (2004): Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies, *Vet. Dermatol.* 15, 99-107.
9. PERRINS, N. and R. BOND (2003): Synergistic inhibition of the growth in vitro of *Microsporium canis* by miconazole and chlorhexidine. *Vet. Dermatol.* 14, 99-102.
10. PETERS, J., D. W. SCOTT, N. H. ERB and W. H. MILLER JR (2007): Comparative analysis of canine dermatophytosis and superficial pemphigus for the prevalence of dermatophytes and acantholytic keratinocytes: a histopathological and clinical retrospective study. *Vet. Dermatol.* 18, 234-240.
11. PINTER, LJ. and Z. ŠTRITOF (2004): A retrospective study of *Trichophyton mentagrophytes* infection in dogs (1970-2002). *Vet. arhiv* 74, 251-260.
12. SHARMA, R., S. DE HOOG, W. PRESBER and Y. GRÄSER (2007): A virulent genotype of *Microsporium canis* is responsible for the majority of human infections. *J. Med. Microbiol.* 56, 1377-1385.
13. SPARKES, A. H., T. J. GRUFFYDD-JONES, S. E. SHAW, A. I. WRIGHT and C. R. STOKES (1993): Epidemiological and diagnostic features of canine and feline dermatophytosis in the United Kingdom from 1956 to 1991. *Vet. Rec.* 133, 57-61.
14. VIANI, F. C., J. I. DOS SANTOS, C. R. PAULA, C. E. LARSON and W. GAMBALE (2001): Production of extracellular enzymes by *Microsporium canis* and their role in its virulence. *Med. Mycology* 39, 463-468.

Microsporium canis Infection in a Yorkshire Terrier – A Case Report

Nikša LEMO, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

A Yorkshire terrier bitch was referred for alopecia and papulo-crustous dermatitis. Crusts and papules were observed on the dorsal body line and no response observed to previous treatments with antibiotic therapy, corticosteroid and topical treatment with antiseptics. Corticosteroid treatment had no effect on the pruritus. A trichogram did not reveal any hair abnormalities; most hairs were in the *anagen* phase. A wood lamp examination was negative. All five deep skin scrapings were negative. Cytology collected with tape was negative though

cytology of skin impression smears revealed pyogranulomatous inflammation with the presence of numerous neutrophils and 30% macrophages. A skin sample was taken for fungal culture and numerous colonies of *Microsporium canis* were isolated. Itraconazole was prescribed in a pulse-dosing schedule: treat for 7 days and then stop treatment for 7 days and topical treatment with enilconazole twice weekly for the first two weeks, then once per week. Systematic and local treatment were stopped after two consecutive negative mycological cultures.

Osiguranje životinja u zakonskim propisima i uvjetima osiguranja kroz povijest

K. Severin, P. Džaja, D. Agičić,
T. Bigač, Ž. Grabarević i Zrinka Perić



Nastanak suvremenog oblika osiguranja vezuje se za 14. stoljeće u Italiji, iako za moderan razvoj osiguranja ne treba zaboraviti Englesku u kojoj se uz imovinu počinje osiguravati i život. Već 1779. godine javlja se Lloydova tipska polica za pomorsko osiguranje koju u izvornom izdanju primjenjuje velik broj svjetskih osiguravatelja. U našim krajevima prvi pisani dokument o osiguranju potiče iz Dubrovnika iz 1395. g. koji ima sve elemente pomorskog osiguranja. Početkom 20. stoljeća u našim je krajevima posebno bilo razvijeno zadrugarsko osiguranje čiji su vlasnici bili zadrugarski savezi. Takvih je društava u Kraljevini SHS 1927. g. bilo 24, a najpoznatija je bila "Providnost" iz Zagreba (1909.).

O institucionalnom razvoju osiguranja na prostorima RH putem samostalnih organizacija za osiguranje možemo govoriti tek od kraja 19. stoljeća, a do tada usluge pružaju strana osiguravajuća društva. Prve organizacije za osiguranje bile su osnovane 1804. g. u Rijeci i Karlovcu, a 1874. g. August Senoa je pokrenuo inicijativu za osnivanje Zagrebačkog uzajamnog osiguravajućeg zavoda. Do osnivanja prve domaće organizacije za osiguranje došlo je tek 1884. kada je odlukom Gradskog poglavarstva Zagreba, osnovana Osiguravajuća zadruga „Croatia“ s ciljem bavljenja osiguranjem rizika požara za grad Zagreb. S osiguranjem života Croatia će se početi

baviti tek od 1905. Novaković (1915.) pišući o Zadruzi i osiguranju goveda navodi da je jedna od dužnosti članova Zadruga bila da sva svoja za osiguranje sposobna goveda osiguraju i na vrijeme prijave svaku zdravstvenu promjenu kod osiguranih goveda (prodaju, nabavu, dozvole procjene i nadzor osiguranih goveda) te pokoravanje zadružnim odredbama u smislu liječenja i postupka s osiguranim životinjama. U Zadruzi su se osiguravala goveda na gubitke od uginuća, klanja iz nužde ili veterinarsko-redarstvene zaplijene mesa, ako ona nije padala na teret člana, a osiguranje nije imalo nikakve zapreke. Nije bilo moguće osigurati goveda mlađa od 6 mjeseci i starija od 12 godina. Ona koja su bila osigurana prije 12 godina ostajala su i dalje osigurana. Isto se tako nisu mogla osigurati ni bolesna ili na bolest sumnjiva goveda dok se veterinarskom svjedodžbom nebi dokazala da su zdrava, a ni bez zakonskog jamstva kupljena goveda dok ne bi prošao jamstveni rok, kao ni izgladnjela goveda. Goveda se nisu osiguravala protiv nastalih šteta u smislu prolazne umanjene vrijednosti ili nesposobnosti samo za jednu izvjesnu uporabivost te štete koje su se događale pri otpremi željeznicom ili parabrodom, kod utovara i istovara u njih, odnosno iz njih. Osiguranje je započinjalo 14. dan u 12 sati u podne iza upisa goveda u knjige osiguranja, i ako je do toga roka član uplatio propisane

Dr. sc. Krešimir SEVERIN, dr. med. vet., docent, dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Zagreb; Tomislav BIGAČ, dr. med. vet., Croatia osiguranje; Damir AGIČIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Slavonski Brod; Zrinka PERIĆ, dr. med. vet., Pia-vet d.o.o.

pristojbe i premije. Za životinje koje su uginule ili im je meso bilo zaplijenjeno prije 14. dana o podne, nije se davala odšteta, a samo u nekim slučajevima, premija. U slučaju da je govedo oboljelo do 14. dana osiguranja, osiguranje vrijedi tek od ozdravljenja goveda. U slučaju promjene vlasnika osiguranje je trajalo još 8 dana iza promjena, ako je u tom roku učinjena prijava ravnateljstvu o toj promjeni. Osiguranje je prestajalo prestankom članstva, prjelaskom goveda u vlasništvo nečlana Zadruga ili izvan područja Zadruga, smrću člana ili prjelaskom svih osiguranih goveda u ruke kojeg drugog člana, ako novi vlasnik nije učinio propisanu prijavu. U slučaju da je član morao prodati životinju zbog danog jamstva za bolest preuzeti natrag, odnosno štetu snositi, Zadruga mu je takvu štetu nadoknađivala, samo ako je za dotičnu životinju bila uplaćena premija. Za temelj osiguranja služila je procjena vrijednosti goveda, koja je podjednako bila osnova za procjenu premije i odštete. Vrijednost osiguranih goveda procjenjivala se početkom svakog polugodišta, a u svako drugo doba godine pri upisu novih članova. Procjenu vrijednosti goveda vršila su dva Zadružna povjerenika. Već osigurana goveda procjenjivana su prvih 8 dana svakog polugodišta, a kod novih prijava procjena se obavljala za 3, a najdalje za 5 dana od prijave. U slučaju da se vlasnik nije složio s procjenom vrijednosti goveda isti je mogao tražiti novu procjenu dvojice procjenitelja imenovanih od ravnateljstva Zadruga, a čija je presudba bila konačna. U sumnjivim i bitnim slučajevima vezano za visinu procjene moglo se pozvati veterinaru. Svako osigurano govedo moralo je biti uneseno u osigurateljnu knjigu. U slučaju da je član Zadruga kupio od Zadruga neko govedo ili da je na drugi način došao do osiguranog goveda za koje je plaćena premija, nije plaćao premiju ni upisninu. Članovi su bili dužni svako oboljenje, uginuće, stradanje ili zapljenu mesa još isti dan prijaviti najbližem povjereniku koji je s još jednim povjerenikom procjenjivao štetu, identičnost goveda i nevinost vlasnika. O tome je sastavljen zapisnik, a

član nije smio ubiti nastradalo govedo bez znanja i privole bar jednog povjerenika, a u hitnim slučajevima svjedoka. Glavna skupština je određivala u kojim se slučajevima pozivao i kako se plaćao veterinar. Ako je član izgubio pravo na naknadu štete pripadao mu je utržak za prodane dijelove njegova goveda. Odšteta je iznosila za prvo nastradalo govedo kod jednog člana u tekućoj poslovnoj godini redovito 80% od vrijednosti posljednje procjene, a isplaćivala se odmah. Odšteta je bila manja za krave i junice za 5%, za uginuća od metiljavosti i nadma za 10%, a ako je nastradao veći broj grla istom vlasniku u istoj tekućoj godini odšteta se povrhu toga snižavala još za 5% za svako daljnje nastradalo govedo (kazna za nemar). U slučaju spora šteta se isplaćivala tek nakon završetka spora. Član je gubio pravo na odštetu: ako nije osigurao sva za osiguranje sposobna goveda; ako se dokaže da je u svezi s uginućem životinje htio na neki način Zadrugu prevariti; ako je meso zaplijenjeno; ako oboljenje ili uginuće odmah nije prijavio; ako oboljelo govedo nije liječio; ako nije prijavio nastale promjene kod goveda; ako Zadruga odredi klanje iz nužde; a on je to odbio; ako nije uplatio premiju; ako u slučaju zaraznih bolesti u oblasti u kojoj je određeno utamanjenje životinje pa je član odštetu dobio od države; u slučaju uginuća ili stradanja koja nastanu radi rata i dr.; u slučaju da su štetu učinile treće osobe; ako je kupljeno govedo uginulo pod jamstvenom manom; ako je član skrivio stradanje ili uginuće goveda; ako u slučaju zaraznih bolesti član nije slušao savjete veterinara.

Njemčić (1916.) navodi da u tadašnjoj državi postoje samo dva poduzeća koja se bave osiguranjem stoke i to: Minerva u Budimpešti (osiguranje konja i krava) i Elementare u Beču (osiguranje konja). Elementare je protiv obvezatnog osiguranja, ali misli da bi država trebala biti ta kojoj je interes da narodna imovina od 600 milijuna kruna bude osigurana (3,5 milijuna stoke).

Pozajić (1940.) navodi da su postojali pokušaji osiguranja stoke još od 1905. g., ali u tome se nije uspjelo te iznosi da je

jedini oblik koji dopušta i omogućava uspjeh osiguranja stoke je zadružni oblik. On navodi da je osiguranje stoke djelovalo na unaprjeđivanje stočarstva. Pri zadružnom osiguranju stoke bila je onemogućena svaka špekulacija, a svaka zadruga je kao samostalna jedinica nosila teret nastalih šteta te je bilo isključeno svako bogaćenje na račun drugoga. Uplaćeni novčani iznos članova Zadruga predstavljalo je prisilnu štednju za slučajevne štete, a odšteta za nastale štete bila je pomoć u nevolji onome tko je bio štetom pogođen. Mjesne su zadruge morale poduzeti sve, što je moguće i što je potrebno, da bi spriječile nastajanje štete među osiguranom stokom uz obvezno vođenje popisa osigurane stoke, procijenjene vrijednosti svakog grla za vrijeme osiguranja kao i početkom svakih 6 mjeseci te i nakon uginuća. Savez je imao zadaću osiguravanje uputa kako bi članovi svojim ponašanjem i djelovanjem spriječili nastanak štete. Savez navodi da se nastanak štete sprječavao osiguranjem zdrave i dobre staje, blagovremenim čišćenjem i njegovanjem stoke, ispravnim hranjenjem te čuvanjem od zaraznih i parazitarnih bolesti (uništavanjem uzročnika bolesti, ograničavanjem uporabe predmeta i zaštitnim cijepljenjem). Po Pravilima za osiguranje stoke (Savjet Državnog osiguravajućeg zavoda) (Anonymous, 1953.) mogli su biti osigurani: konji, magarci, mazge, mule u dobi od 6 mjeseci do navršanih 12 godina, goveda, bivoli u dobi od 6 mjeseci do navršanih 12 godina, svinje u dobi od najviše 4 mjeseca, ovce i koze od 6 mjeseci. U osiguranje se nisu mogle primiti: bolesne životinje ili sumnjive na neku zaraznu bolest, iscrpljene, zakrčljale, slijepa te životinje u lošoj kondiciji, životinje koje se drže u lošim higijenskim uvjetima, svinje koje su lakše od 20 kg bez obzira na starost. Stoka se osiguravala na iznos koji je označavao osiguranik, a koji nije mogao premašiti stvarnu vrijednost životinje, a u slučaju štete, bez obzira na svotu osiguranja, morala se izvršiti procjena stvarne vrijednosti životinje. Mlada se stoka mogla osigurati na vrijednost koju će postići do kraja godine

osiguranja, a svinje u tovu na vrijednost koju bi mogle imati na kraju tova. Svota osiguranja procjenjivala se prema njenoj stvarnoj vrijednosti, a kad su u pitanju male životinje (stado), osiguranje se vršilo na prosječnu vrijednost. Državni osiguravajući zavod nadoknađivao je osiguraniku nadoknadu: uslijed uginuća osigurane stoke od bolesti ili nesretnog slučaja; uslijed prinudnog ubijanja ili prinudnog klanja osigurane stoke u vezi provođenja veterinarsko sanitarnih mjera u cilju suzbijanja zaraznih bolesti, osim tuberkuloze; zaraznog pobačaja i infekciozne anemije kopitara; ako su bolesti ustanovljene samo kliničkim pregledom. Nadoknada štete davala se i u slučajevima prinudnog klanja osiguranih goveda zbog bolesti ili nesretnog slučaja, kada je životinji prijetila neposredna opasnost od uginuća pa se klanje vršilo u cilju smanjenja štete. Kao uzroci prinudnog klanja iz ekonomskih razloga nisu mogli biti: sipljivost, kronično oboljenje zglobova, tetiva, kostiju i jalovosti grla. Obveza Državnog osiguravajućeg zavoda za nadoknadu štete bila je: za štete od uginuća, klanja ili ubijanja uslijed nesretnih slučajeva u roku od 24 sata od dana kada je osiguranje zaključeno i ako je do tog dana premija plaćena; za štete od uginuća; prinudnog klanja ili ubijanja uslijed bolesti u 24 sata petnaestog dana od dana kad je premija plaćena; ako je osigurano grlo do 24 sata 15. dana oboljelo od neke nezarazne bolesti i nije ozdravilo do isteka toga roka. Obveza Državnog osiguravajućeg zavoda počinjala je onog dana, kad je grlo ozdravilo, o čemu se trebalo podnijeti veterinarsko uvjerenje. Ako je grlo oboljelo od zarazne bolesti Državni osiguravajući zavod nije nadoknađivao štete, a produžavalo se za sva grla i trajalo dok zaraza ne bi prestala o čemu je osiguranik bio dužan podnijeti veterinarsko uvjerenje. Obveza je počinjala ako je osiguranje uvjetovano cijepljenjem, a cijepljenje nije bilo izvršeno prije početka osiguranja. Karenci za bolest protiv koje je životinju trebalo cijepiti počinjala je teći od dana naknadno izvršenog cijepljenja. U nesretne slučajeve smatrale su se štete koje su nastale: odronjavanjem ili klizanjem

terena, burom, poplavom, lavinom i sl., ozljede uslijed gaženja vozilima, sudarima vozila, međusobne borbe stoke, kliznućem, utapanjem u vodu ili blato, mehaničkim gušenjem, električnom strujom ili gromom, ozljedom od ujeda zmija i divljih zvijeri, požarom i smrzavanjem te kemijskim otrovima. Državni Zavod nije nadoknađivao štetu u slučajevima ratnih zbivanja; dok obveza osiguranja nije počela; uslijed namjere ili velike nemarnosti osiguranika ili osobe kojoj je povjerena briga i postupak sa stokom; uslijed bolesti na osiguranoj stoci, ako se utvrdilo da je bolest postojala prije osiguranja; uslijed kastracije od nestručnih osoba; uslijed nedovoljne i nepravilne hranidbe; uslijed tuberkuloze, zaraznog pobačaja ili infekciозна anemije kopitara i ako se ove bolesti utvrde samo kliničkom pretragom te ako uslijed starosti životinja nije mogla biti osigurana. Uz obveze prijavljivanja rizika od osiguranika, Državni zavod je mogao od ugovora o osiguranju odustati u roku od 30 dana od saznanja da zlonamjerno nije navedena koja važna okolnost. No, isti nije mogao odustati od ugovora ako je pri zaključenju ugovora znao ili je morao znati da je dati ugovor nepotpun, odnosno zlonamjerno; ako osiguranik nije bio kriv za netočan podatak; ako prešutna, netočno prikazana okolnost nije utjecala na odluku Državnog zavoda, ni na nastajanje štete, kao i u slučajevima kada se šteta desila, a nema osnove za odbijanje prava na odštetu. Osiguranik je morao osigurati svu stoku iste vrste koju je ima u posjedu u istom mjestu, a koja je bila zdrava i sposobna za osiguranje. Samo u iznimnim slučajevima moglo se od toga odustati kad je u takvim slučajevima morao prijaviti svu stoku iste vrste koja nije osigurana. Premija se plaćala unaprijed i to odjednom za svaku godinu, odnosno razdoblje trajanja osiguranja, ako je zaključeno s određenim rokom trajanja do godinu dana. U slučaju poduzimanja nekih radnji koje su povećavale rizik na osiguranim životinjama o tome se morao obavijestiti Državni osiguravajući zavod najkasnije 15 dana od dana njegova nastanka. U takvim slučajevima kada je nastupila šteta koja

nije posljedica povećanog rizika Zavod je izračunavao štetu kao omjer između plaćene premije i premije koju je trebalo platiti s obzirom na povećani rizik. Kod svakog znatnog povećanja rizika Državni osiguravajući zavod je predlagao novu premijsku stopu. U slučajevima kada je šteta nastala kao neposredna posljedica povećanog rizika, a osiguranik nije na vrijeme obavijestio Zavod isti je gubio pravo na odštetu. U slučaju potrebe provođenja nekih zaštitnih mjera na životinjama Državni osiguravajući zavod je mogao to zahtijevati, jer u slučaju nastanka štete prouzročene ovom povredom Zavod gubi pravo na odštetu, osim u slučajevima ako osiguranik nije povredu učinio zlonamjerno ili ako povreda nije utjecala na nastajanje štete. Nadalje je bila dužnost osiguranika prijaviti promjenu mjesta boravka ili promjenu broja životinja. Kad je osigurano grlo oboljelo ili mu se dogodio nesretan slučaj morao je pozvati veterinara (u suprotnom se šteta nije nadoknađivala), a u slučaju uginuća ili prisilnog klanja pisano obavijesti Zavod. Prinudno ubijanje ili klanje, ako su nadležne vlasti u vezi sa suzbijanjem zaraznih bolesti to naredile, po preporuci veterinara (u suprotnom nije bilo nadoknade štete) ili predstavnik Zavoda kada zbog bolesti ili nesretnog slučaja prijetila opasnost od uginuća (smanjenje štete). Osiguranik je uvijek bio dužan prilikom klanja ili ubijanja osigurane životinje iskoristiti dijelove životinja kako bi smanjio štetu. Utvrđivanje štete vršilo se na licu mjesta, a vršio ju je predstavnik Državnog osiguravajućeg zavoda s osiguranikom i veterinar. Tada su se morale utvrditi okolnosti pod kojima je šteta nastala kao i procjena nastale štete. Kao stvarna vrijednost životinje uzimala se njena vrijednost prema stanju uoči oboljenja ili nesretnog slučaja koji je bio uzrok nastanka štete, i prema cijeni koja je na snazi na dan uginuća, odnosno prinudnog klanja. U iskorištenje se računali svi dijelovi nastradale životinje, koji su bili iskorišteni na bilo koji način. U slučajevima prinudnog klanja Zavod je priznavao još nagradu za izvršeno klanje, a u slučaju uginuća za skidanje kože. Ako

je veterinar procjenjivao visinu štete ona je bila mjerodavna jer je dana od stručne osobe. Odšteta nije mogla biti veća od stvarno pretrpljene štete. Osiguranje se moglo zaključiti na godinu dana i na neodređen rok.

Pravilnik za uzajamno osiguranje stoke (Skupština zadrugnog saveza NRH) (Anonymous, 1954.) je potvrdio gore navedena pravila što se tiče dužnosti zadrugara u svezi prijave stoke iste vrste u istom mjestu, prijava svake promjene kod osigurane životinje, iskorištavanja dijelova od osigurane životinje u slučaju uginuća i sl. U uzajamno osiguranje uzimala se samo zdrava stoka i to: goveda u dobi od 6 mjeseci do navršenih 12 godina, konji od 6 mjeseci do navršenih 15 godina, svinje u dobi od 4 mjeseca i više, ovce u dobi od 6 mjeseci i više, a osiguranje se nije odnosilo na bolesne ili na bolest sumnjive životinje dok se veterinarskim uvjerenjem ne dokaže da je zdrava, kirijaška stoka ili stoka na šumskim radovima, iscrpljena, pregladnjela, zakržljala i slijepa stoka, životinje koje se drže u lošim higijenskim uvjetima te stoka prekupaca i mesara. Uzajamno osiguranje počinjalo je onog dana u 12 sati kad je ugovor potpisan i dostavljen Savezu i trajao je do kraja osiguranja. Što se tiče karence, početka, produženja osiguranja vrijedilo je kako je naprijed navedeno. Za nesretan slučaj jamstvo za naknadu štete je počinjalo odmah po osiguranju životinja, a to su slučajevi koji su naprijed navedeni (vidi pravila 1953.). Ako član ne bi na vrijeme platio doprinos, obveza se prekidala i počinjalo je teći ponovno petnaesti dan popodne nakon naknadne uplate. U slučajevima prijelaza stoke u drugo vlasništvo osiguranje se nije prekidalo ako se ta promjena prijavila unutar 8 dana od dana promjene. Jedno razdoblje uzajamnog osiguranja trajalo je u pravilu 6 mjeseci, ali je po želji moglo trajati i godinu dana. Polugodišnje razdoblje se računalo od 1. siječnja i 1. srpnja, a cjelogodišnje od 1. siječnja. U slučaju da osiguranje nije padalo na navedene datume, prvi doprinos se plaćao za toliko mjeseci, koliko je bilo do kraja razdoblja, ali nije moglo manje od 3 mjeseca. Istekom

osiguranja, isto se produživalo novom uplatom u roku od 14 dana od isteka osiguranja. Procjenu stoke vršila su 2 procjenitelja Zadruga u prisustvu veterinaru koji je istovremeno vršio i zdravstveni pregled, a zajedno su ocjenjivali higijenske prilike. Procjena novih grla osiguranja vršila se kod prijave, a za navedeno razdoblje posljednjih 14 dana osiguranja. Član Zadruga mogao je životinju osigurati i na nižu vrijednost od procijenjene. Procjene su unesene u popis stoke koje su procjenitelji potpisivali, a veterinar je u popis stoke davao svoj nalaz o zdravlju i kondiciji, o vrsti i danu cijepjenja, o higijenskim prilikama uz napomenu preporučuje li osiguranje ili ne. Uz navedeni datum veterinar bi se ispod toga potpisao. Svinje su morale obvezno biti cijepjene, a ostala stoka po potrebi, jer inače u suprotnom osiguranje nije vrijedilo. Popis stoke slao se odmah Savezu, a najkasnije 14 dana nakon početka osiguranja. Osiguranik je imao pravo na naknadu štete samo u slučajevima prinudnog klanja ili uginuća životinja. Nužno klanje vršilo se u slučajevima kada je zbog nesretnog slučaja prijetila opasnost uginuća, a svrha mu je bila da se šteta smanji. Vršila se prema odredbi veterinaru, ali i bez njega u hitnim slučajevima kada su za to postojali opravdani razlozi (uz dvojicu svjedoka). Osiguranik nije imao pravo na odštetu ako je šteta nastupila nakon prestanka članstva, prijelazom stoke u vlasništvo nečlana, u slučaju ratnih zbivanja; ako je do štete došlo krivnjom člana; ako se utvrdilo da je član pri osiguranju davao hotimično i zlonamjerno krive podatke; ako nije izvršio preventivno cijepjenje, a bilo je potrebno; ako je došlo do štete što se član nije pridržavao uputa; ako se nužno klanje izvršilo po odredbi vlasti; ako je do štete došlo uslijed zaraznog pobačaja, infekciozne anemije kopitara ili tuberkuloze, u slučaju krađe životinje; ako štetu počini treća osoba te u slučajevima otpreme životinja željeznicom ili brodom. Šteta se prijavljivala službeniku Zadruga i veterinaru čim se dogodila te se ista odmah procjenjivala. Službenik je sastavljao zapisnik o šteti, koji su potpisivali oštećenik, dva procjenitelja ili

dva svjedoka i veterinar koji je u zapisnik upisivao svoje mišljenje, nakon čega su ga potpisivale dvije ovlaštene osobe Zadruga, uz stavljanje žiga i slanje odmah Savezu (najkasnije u roku od 3 dana). Odšteta nije smjela prijeći visinu stvarne štete. Stvarna šteta se izračunavala na način da se od vrijednosti životinje odbijala vrijednost iskorištenja. Ako je vrijednost osiguranja jednaka ili veća od stvarne vrijednosti odšteta je jednaka osiguranju svoti. Ako je bilo iskorištenja (nekih dijelova) odšteta se odmjeravala u omjeru između osigurane svote i stvarne vrijednosti životinje. Pri procjeni štete uzimala se vrijednost životinje na dan oboljenja, a cijena na dan štete. Uputstvo za uzajamno osiguranje stoke (Zadružni stočarski savez NRH) propisivalo je da je veterinar na popisu stoke potvrdio da su životinje zdrave i u dobroj kondiciji, cijepjene, a njihove higijenske prilike besprijekorne. Ovdje se navodilo da je popis stoke ispravan, da osiguranje može početi svakim danom u godini, a kod tovne stoke osiguranje je počinjalo teći danom uplate doprinosa (koji se mogao uplatiti na najmanje 6 mjeseci) i trajalo je određeni broj mjeseci. Zakon o veterinarskoj službi (NN 67/1957) je navodio da su veterinarske stanice mogle obavljati pojedine usluge uz jamstvo za naknadu eventualno nastale štete koja može nastati na stoci prilikom obavljanja dotičnih usluga. One su obavljale usluge uz jamstvo samo u slučajevima ako je vlasnik stoke pristao platiti pored redovne cijene i premiju jamstva. Visinu premije odobravao je službenik stanice, a takve stanice morale su u svom proračunu osigurati sredstva za isplatu nadoknade štete do visine premija za koje je bilo predviđeno da budu u tekućoj godini uplaćene. Upute za provođenje osiguranja stoke (Zajednica osiguranja Hrvatske) (Anonymous, 1963.) definirao je nekoliko pojmova: policia je pisani ugovor o uspostavi osiguravajućeg odnosa; karenca je vrijeme po zaključivanju osiguranja, u kojem još ne nastupa obveza osiguravatelja za naknadu štete; skadencija je vrijeme kada u slučaju višegodišnjeg osiguranja dospijeva uplata naredne godišnje premije; vinkulacija je klauzula

na polici, prema kojoj osiguravatelj štetu ne isplaćuje naslovniku police, već materijalno zainteresiranoj i u polici navedenoj trećoj osobi; proporcija je omjer između provedenog osiguranja i onakvog kakvo je trebalo biti provedeno. Pri osiguranju životinja trebalo je utvrditi identitet osigurane životinje (tako je dobna granica za kopitare bila od 4 mjeseca do 15 godina, za goveda i bivole od 4 mjeseca do 12 godina, za ovce i koze od 6 mjeseci, za svinje od 4 mjeseca. U svinja s društvenog sektora donja granica je bila 2, a kod ovaca i koza 3 mjeseca), zdravstveno stanje, vrijednost životinje, utvrđivanje rizika protiv koga se životinja osigurava, utvrđivanje svote osiguranja, utvrđivanja vremena trajanja osiguranja. Premijske stope zastupnik je određivao na osnovu vrste životinje, u odnosu na vlasništvo (društveni i privatni sektor), u odnosu na uporabu životinje (laki, teški i izuzetno teški rad), u pogledu higijenskih uvjeta te o izuzetno pojačanim rizicima. Osiguranje bez veterinarskog pregleda provodilo se iznimno kad su bile u pitanju potpuno zdrave životinje i tamo gdje nije bilo zaraznih bolesti. Ako je postojala i najmanja sumnja na bolest nije se moglo osigurati stoku bez veterinarskog pregleda. U ovom dijelu se navodi da osiguranje stoke ne može biti sklopljeno bez veterinarskog pregleda te su navedene dužnosti veterinaru u osiguranju stoke. U posebnim slučajevima kada se vrijednost osiguranja tijekom godine mijenja (prema stanju zaliha koje se prijavljuju u ugovorenim rokovima: petnaestodnevno, mjesečno, tromjesečno, polugodišnje) istovremeno se mijenja i premija osiguranja - u tom slučaju se sklapa flotantno osiguranje. Propisani su bili posebni uvjeti osiguranja pčela, a Osiguravajući zavod je nadoknađivao nastalu štetu koja nastane pod normalnim okolnostima: uslijed uginuća zbog bolesti ili nesretnog slučaja; uslijed uništenja pčela i košnica; uslijed nesretnog slučaja; uslijed uništenja pčela zbog provođenja veterinarsko-sanitarnih mjera te jamstvo za štete na drugim domaćim životinjama; uslijed uboda pčela. Osiguravatelj nije priznavao štetu koja je nastala zbog ratnih djelovanja,

krađe ili nestanka, prijevoza, nedovoljnih zaliha hrane ili nestručnog zazimljavanja, gubitka matice, griže, grabeži pčela, za vrijeme trajanja karantene. Nadalje se bili propisani uvjeti za osiguranje pasa po kojemu se u osiguranje moglo primiti pse od navršanih 9 mjeseci do navršanih 8 godina, a psi osigurani do navršanih 6 godina starosti mogli su se osigurati do navršanih 10 godina starosti. Svi su psi morali biti zdravi. U osiguranje se nisu mogli primiti bolesni psi i psi sumnjivi na zaraznu bolest, iscrpljeni i zakržljali; psi u lošoj kondiciji; psi koji se drže u lošim higijenskim uvjetima; psi čiji način držanja nije moguće kontrolirati. Psi su se osiguravali na svotu koju označi osiguravnik uz uvjet da taj iznos nije mogao premašiti stvarnu vrijednost psa, a Osiguravajući Zavod nije nadoknađivao štete koje bi nastale provedbom veterinarsko-sanitarnih mjera; uslijed prinudnog ubijanja pasa te uslijed nestanka ili krađe. Za pse od 6 mjeseci do 6 godina Osiguravajući Zavod je isplaćivao 90%, za pse starosti od 6 do 8 godina 80%, a za pse od 8 do 10 godina 70% iznosa osigurane svote. Uvodi se kolektivno osiguranje stoke koje se moglo zaključiti na određenom prostoru gdje ima do 400 grla krupne stoke i ako se osiguranjem obuhvatilo najmanje 50% od ukupnog broja, a tamo gdje je bilo više od 400 grla ako je osiguranjem obuhvaćeno najmanje 200 grla. Kod sitne stoke obvezatan je obuhvat 50% od ukupnog broja popisane stoke iste vrste. Kasnije se uvodi kolektivno osiguranje stoke s uključenjem rizika liječenja, posebni uvjeti za osiguranje muških grla od opasnosti rizika kastracije. Ovo osiguranje počinjalo je teći od trenutka pristupanja obaranju životinje radi izvršenja kastracije i trajalo je mjesec dana po izvršenju kastracije, tj. prestajalo je 30.-tog dana po izvršenoj kastraciji. Ako se pojavila komplikacija u vremenu osiguranja, a osiguravnik je odmah o tome obavijestio Zavod, osiguranje se produžavalo. U suprotnom, trajalo je isto samo mjesec dana, ovdje nije bilo karence, a osiguranje je važno samo ako je kastraciju proveo veterinar. Iznosi premijskih stopa: pastusi koji su imali normalno razvijene i

zdrave spolne organe; u starosti do 5 godina 1%, u starosti od 5 do 8 godina 2% i u starosti preko 8 godina 3%; pastusi koji nisu imali normalno razvijene i zdrave spolne organe (kriptorhid) u starosti do 5 godina 6%, u starosti od 5 do 8 godina 8% i u starosti preko 8 godina 10%. Ako je kriptorhid obostran, bez obzira na starost, primjenjivala se premijska stopa od 10%. Za bikove, ako se kastracija vršila beskrvnim metodom, u starosti od 2 godine 0,5% i u starosti preko 2 godine 1%. Ako se kastracija vršila krvnom metodom u starosti do 2 godine 1%, u starosti od 2 do 5 godina 2% i u starosti preko 5 godina 3%. Za ovnove ako se kastracija vršila beskrvnim metodom u starosti do 2 godine 1% i u starosti preko 2 godine 2%. Ako se kastracija vršila krvnom metodom u starosti do 2 godine 2%, u starosti od 2 do 5 godina 3% i u starosti preko 5 godina 4%. Za neraste s normalno razvijenim i zdravim spolnim organima 2% te s normalno razvijenim i bolesnim spolnim organima 5%. Opisana su i pravila osiguranja kontrahiranih goveda i svinja; osiguranje stoke na izložbama; osiguranje goveda i svinja u kooperaciji; osiguranje stoke iz inozemnog uvoza, posebni uvjeti osiguranja uvezene stoke za vrijeme karantene; osiguranje teladi od 8. dana starosti; posebni uvjeti osiguranja ovaca za vrijeme trajanja merinizacije i dr. Zakon o veterinarskoj službi (NN 10/65) propisivao je da veterinarske stanice mogu obavljati pojedine poslove uz jamstvo za naknadu slučajne štete, koja može nastati na stoci prilikom obavljanja usluga. Veterinarske stanice obavljale su usluge uz jamstvo samo u slučaju, ako vlasnik uz redovnu cijenu pristane platiti i premiju jamstva. Winterhalter (1972.) navodi Pravila za osiguranje životinja iz 1972. g. koja su predviđala da su predmet osiguranja mogli biti konji, magarci, mazge, mule u dobi od 4 mjeseca do navršanih 12, odnosno 15 godina ukoliko su u posljednje tri godine bili neprekidno osigurani; goveda i bivoli u dobi od 4 mjeseca do navršanih 10, odnosno 13 godina ukoliko su u posljednje tri godine bili neprekidno osigurani; krave muzare u eksploataciji mogle su biti osigurane do 8

godina starosti; ovce i koze u dobi od 3 mjeseca do navršenih 6 godina; svinje u dobi od 2 mjeseca i s najmanjom težinom od 20 kg do navršenih 5 godina. Osiguravatelj se obvezivao nadoknaditi štetu uslijed uginuća ili nesretnog slučaja; prisilnog klanja kada životinji prijete neposredna opasnost od uginuća pa se klanje vrši radi njenog iskorištenja, odnosno radi smanjenja štete; prilikom prisilnog klanja ili ubijanja; kada zbog bolesti ili nesretnog slučaja životinji ne prijete neposredna opasnost od uginuća, ali je postala neuporabljiva za bilo koju namjenu. Osiguravatelj nije u obvezi nadoknaditi štetu u slučaju prisilnog klanja zbog sipljivosti, kronične bolesti zglobova, tetiva i kostiju; zbog rasplodne nesposobnosti, sljepoće, smanjenjog ili potpunog gubitka radne sposobnosti, odnosno smanjene mliječnosti. Slučajevi koji nisu bili obuhvaćeni osiguranjem su: kada osiguravajuća obveza nije nastupila; zbog bolesti ili infekcije osigurane životinje ako se utvrdi da je bolest postojala prije osiguranja, bez obzira jesu li znaci bolesti bili vidljivi ili ne, i ako je šteta nastala u roku od 3 mjeseca poslije zaključenja osiguranja; životinje oboljele od slinavke i šapa, tuberkuloze, zaraznog pobačaja i infekciozne anemije iako su bolesti ustanovljene samo kliničkom pretragom, a štete nastale od hematurije vezikularis bovis u prvih 6 mjeseci od dana zasnivanja osiguranja. Nadalje, zbog uginuća ili prisilnog klanja odnosno ubijanja životinja koje po starosti nisu mogle biti osigurane; zbog nedovoljne i nepravilne prehrane; zbog namjere ili nemara osiguravatelja; kastracije koju su izvršile nestručne osobe; ratnim događajima; zbog uginuća nastalih zbog nepoduzimanja veterinarsko sanitarnih mjera pa i kad služba ne donese naredbu za prisilno klanje, odnosno ubijanje; zbog otpremanja životinje željeznicom, brodom, kamionom; kada grlo boravi izvan mjesta navedenog u polici duže od 8 dana. Obveze osiguravatelja, započinjanje osiguranja bilo je kako je naprijed navedeno. Posebna pravila za osiguranje od opasnosti kastracije i ovariotomije nalagala da se mogu osigurati muška grla: pastusi, magarci, bikovi,

ovnovi i nerasti, a od ženskih: krmače. Osiguranje se odnosilo na štete koje nastanu na osiguranim životinjama zbog uginuća, prisilnog klanja ili ubijanja kao neposredna posljedica izvršene kastracije ili zbog nesretnog slučaja koji je nastao zbog opiranja ili obaranja životinje prilikom kastracije. Kad su u pitanju kastracije koje se vrše u vezi licenciranja osiguranje počinje od trenutka pristupanju obaranju životinje radi kastracije ili ovariotomije; ako je premija plaćena, a završava 30 dana nakon kastracije. Kad se radi o kastracijama koje su neovisne o licenciranju osiguranje traje kako je gore navedeno s tim da obveza osiguravatelja za naknadu štete počinje u 24 sata onog dana kad je osiguranje zaključeno, ako je tog dana premija plaćena. Životinja je trebala biti osigurana prethodnoga dana prije vršenja kastracije. Osiguranje je vrijedilo pod uvjetom da je kastraciju obavila ovlaštena služba ili diplomirani veterinar. Iz navedenog je dalje bilo vidljivo kako osiguravajuća društva nisu zahtijevala prethodni klinički pregled životinje pri osiguranju već se isti zadovoljio s letimičnom ocjenom zdravlja i gojidbenog stanja koji je davao službenik-neveterinar. Osiguravajući zavodi su se osiguravali od rizika institucijom karence. Prema Općim uvjetima osiguranja životinja (Croatia) (Anonymous, 1979.). Pod zaraznom bolesti podrazumijevaju se sve zarazne bolesti iz Zakona kao i sve druge zarazne prenosive bolesti. U slučaju da je cijepljenje bilo uvjet osiguranja, a ono nije provedeno, osiguranje počinje od dana cijepjenja. Obveze osiguravatelja nisu postojale u slučajevima istekom osiguranja. Osigurati su se mogli kopitari od 10 dana do navršenih 18 godina, odnosno 21 godine, ukoliko su najmanje 15 godina neprekidno osigurani. Goveda i bivoli od 10 dana do navršenih 12 godina, odnosno 15 godina ako su neprekidno osigurani 9 godina. Ovce i koze od 3 mjeseca do navršenih 8 godina. Svinje u starosti od 21 dana s najmanjom težinom od 5 kg do navršenih 7 godina, a u osiguranje se nisu mogle primiti bolesne ili sumnjive na bolest životinje; iscrpljene, zakržljale, slijepe i u lošoj kondiciji, životinje koje se drže pod

lošim zoohigijenskim prilikama. Osiguratelj je plaćao naknadu štete u slučajevima uginuća od bolesti ili nesretnog slučaja; prisilnog klanja zbog bolesti ili nesretnog slučaja; prisilnog klanja zbog bolesti ili nesretnog slučaja kada nema opasnosti za uginuće već iz ekonomskih razloga. Osiguratelj nije plaćao prisilna klanja iz ekonomskih razloga koja su nastala kao posljedica dugotrajnog, pretjeranog iskorištavanja životinja; jalovosti; sljepoće; smanjenja gubitka radne sposobnosti; smanjenja mliječnosti; smanjenja ljepote; smanjenja mogućnosti dotadašnjeg iskorištavanja i kod tovnih životinja radi slabog prirasta. Nesretni slučaj (vidi naprijed nabrojani) smatra se svaki iznenadni od volje osiguranika nezavisan događaj koji djeluje izvana i to naglo i ima za posljedicu oboljenje, liječenje, prisilno klanje, uginuće i dr. Nesretnim slučajevima nisu se smatrali: porođaji, alimentarne intoksikacije, nadam, kolika, hernija i sve druge bolesti. U opasnosti koje nisu obuhvaćene osiguranjem su: bolesti koje su postojale prije osiguranja, slinavka i šap, tuberkuloza, bruceloza, svinjska kuga, i.a.k., krvomokrenje, nedovoljna i neispravna hranidba, kastracija od nestručnih osoba, ratna događanja, uslijed potresa, eksplozije, krađa i nestanak, mane, ako životinja boravi duže od 14 dana od navedenoga u polici. Uvjeti za osiguranje životinja (Croatia osiguranje d.d., Zagreb) (Anonymous, 1984.), propisivali su da se na mjesto otuđene osigurane životinje moglo se u osiguranje uvesti druga osiguranikova životinja iste vrste, ako odgovara uvjetima osiguranja, a osiguranik je otuđen i nabavu nove životinje prijavio osiguravatelju. Ova zamjena bila je dopuštena samo u tjeku trajanja osiguranja koje je na snazi i vrijedi samo za kopitare, rasplodna goveda i rasplodne svinje. U slučaju otuđenja osigurane životinje osiguranje prestaje u trenutku kad osiguranik prestaje držati životinju.

Prema uvjetima za osiguranje životinja (Croatia osiguranje) (Anonymous, 2006.) predmet osiguranja mogu biti: kopitari do 15 g. starosti; goveda do 10 godina starosti;

ovce i koze od 6 mjeseci do 6 godina; svinje u dobi od mjesec dana s najmanjom težinom od 5 kg do navršениh 7 g. starosti; psi i mačke u dobi od 6 mjeseci do 8 g.; pčele od prvog proljetnog izletnog dana; ukrasne i egzotične životinje (sisavci, gmazovi, ptice i ribe u ograđenom prostoru); kuniću (u intenzivnom uzgoju); domaća perad (fazani, jarebice i prepelice); pernata divljač (u intenzivnom uzgoju fazani, jarebice, prepelice i dr.); slatkododne ribe (u intenzivnom uzgoju), ribe u moru, školjke, a posebni uvjeti osiguranja životinja odnose se na životinje u karanteni, za vrijeme kastracije i ovariotomije; za vrijeme izlozbe i za vrijeme dok se nalaze u sabiralištima. U osigurane rizike ubrajaju se slučajevi uginuća osigurane životinje zbog bolesti ili nesretnog slučaja; klanje iz nužde; zbog bolesti ili nesretnog slučaja, eutanazija životinje zbog bolesti ili nesretnog slučaja. Pod bolesti se podrazumijeva promjena uobičajenog zdravstvenog stanja koje nastaje iznenada, neovisno o volji osiguranika, a može imati za posljedicu uginuće, prisilno klanje ili ubijanje životinje. Nesretni slučaj je svaki budući iznenadni i o volji osiguranika nezavisan događaj koji djeluje na osiguranu životinju izvana i to naglo, a ima za posljedicu uginuća, klanja iz nužde ili eutanaziju. Priznaje se nesretni slučaj (vidi naprijed navedeno). U neosigurane rizike kada osiguravatelj nije u obvezi nadoknaditi štetu spadaju osiguranje životinje koja nije smjela biti osigurana; kad osiguranje nije započelo; postojanje bolesti prije osiguranja; nepoštivanje dobne granice osiguranja životinja; dugotrajno nerazumno iskorištavanje životinja, nepregledavanje životinje od strane veterinarara ili nepridržavanje uputa veterinarara; djelomičan gubitak vida; slabog prirasta; gubitka mliječnosti; hranjenje nedovoljnom količinom i nepravilnom i škodljivom hranom; prevarom ugovaratelja; potres; nuklearne eksplozije i radioaktivne kontaminacije; krađa i nestanak životinje; klanje ili eutanazije bez opravdanih razloga; oboljenje većeg broja životinja odmah ne izvijesti osiguravatelj i uputi na klanje

životinju bez znanja osiguravatelja; prijevoz duži od 10 km; utovar ili istovar, neprovođenje naređenih mjera i dr. Osiguravatelj nije u obvezi nadoknaditi štetu uslijed jalavosti goveda (ako nije drugačije ugovoreno), za pse i mačke koji nisu čistokrvni i nemaju rodovnika osim označenih pasa tartufara i visoko vrijednih pasa i mačaka; za pčele ako su štete nastale zaprašivanjem sredstvima protiv insekata, gubitak matice, pčelinjeg roja i grabeži pčela; za egzotične i ukrasne životinje u slučaju nastanka štete zbog napuštanja svog stalnog boravka; za perad štete nastale od požara (ako nije drugačije ugovoreno); za pernatu divljač ako šteta nastane urušavanjem mreža zimovnika zbog velike količine vlažnog snijega (ako se drugačije ne ugovori); za slatkododne ribe u slučaju bježanja pastrva zbog poplava ili ugušenja pastrva koje nastaje kao posljedica pomanjkanja vode; a za ribu iz mora svaki bijeg ribe ispod nadzora (ako drugačije nije ugovoreno). Iznos osiguranja ne može prijeći stvarnu vrijednost životinje, a osiguravatelj može za pojedine životinje odrediti najniži i najviši iznos osiguranja. Mlade i toвне životinje osiguravaju se na vrijednost koju mogu postići na kraju osiguranja, a životinje držane zajedno, a izjednačene su mogu se osigurati na prosječan iznos osiguranja kada se moraju osigurati sve te životinje bez obzira čije su vlasništvo. Životinje čija je vrijednost veća na početku ili u tijeku osiguranja osiguravaju se na najveću vrijednost koju imaju tijekom osiguranja. Ako nije drugačije dogovoreno osiguranje nije na snazi za vrijeme boravka životinja na izložbama, sportskim i drugim manifestacijama, na dresuri na paši i dr. preko 10 km od mjesta osiguranja. O ovome je osiguranik dužan izvijestiti osiguravatelja najkasnije za 14 dana ako životinju stalno ili na duži rok od 14 dana premješta izvan mjesta koje je napisano u polici ili ako među osigurane životinje stavi neku drugu životinju. Karenca se mogla otkupiti u velikim aglomeracijama životinja. Karenca se u odnosu na bolest ne primjenjuje kod životinja koje se osiguravaju od prvog dana života (jednodnevni pilići, fazani, purani i td.).

Uz navedeno osigurani slučaj je nastupio u osiguranju dopunskog rizika gubitka teleta ili ždrjebeta kod porođaja u trenutku uginuća, ili eutanazije teleta ili ždrjebeta od 9 mjeseci gravidnosti, odnosno 11. mjeseca ždrjebnosti do 10. dana po porođaju. U osiguranju dopunskog rizika gubitka rasplodne sposobnosti muških rasplodnih grla osigurani slučaj je nastupio stručnim utvrđivanjem trajne nemogućnosti izvršenja opasivanja, odnosno polučivanja sjemena, a u slučaju osiguranja dopunskog rizika gubitka rasplodne sposobnosti junica i krava osigurani slučaj je nastupio stručnim dokazom o trajnom gubitku reprodukcijske sposobnosti osigurane životinje. Nadalje su u pravila navedena pravila osiguranja pri promjeni vlasništva, nastavljanje osiguranja po isteku tekućeg razdoblja osiguranja, pridržavanja odredbi zaštitnih mjera te obveze osiguranika kad nastane bolest ili nastane osigurani slučaj da bez odlaganja to prijavi i pozove veterinaru te u slučaju bolesti koja životinji ugrožava život. Osiguranik je morao poduzeti sve mjere prinudnog klanja kako bi smanjio štetu. Šteta se utvrđuje odmah na mjestu nastanka, a to u pravilu provodi predstavnik osiguratelja veterinar ili veterinar cenzor uz sudjelovanje osiguranika. Uvijek treba utvrditi okolnosti pod kojima je šteta nastala i izvršiti njenu procjenu. Nadalje je propisano utvrđivanje osigurane i naknada troškova. U dopunskim rizicima osiguranja za gubitak teleta i ždrjebeta osigurani su rizici uginuća teleta ili ždrjebeta kod spontanog ždrjebljenja ili za vrijeme intervencije koju je poduzeo ordinirajući veterinar; uginuća teleta u porođaju u 9. mjesecu gravidnosti ili uslijed uginuća ždrjebeta kao posljedica preranog porođaja u 11. mjesecu gravidnosti; teljenje-ždrjebljenje mrtvog ploda kao i uginuća teleta i ždrjebeta zbog bolesti ili nesretnog slučaja u trajanju do 10 dana poslije porođaja. U neosigurane rizike su spadali: pobačaj teleta-ždrjebeta prije 9., odnosno 11. mjeseca gravidnosti, laičke intervencije kod porođaja. Dopunskim rizikom za osiguranje muških rasplodnih grla od rizika gubitka

rasplodne sposobnosti u obuhvaćene rizike obuhvaćene ovim osiguranjem spadaju: gubitak rasplodne sposobnosti samo u slučaju kada je grlo postalo nesposobno da zaskoči ili oplodi – *impotentio coeundi aut generandi*, a nisu bili obuhvaćeni oblici rizika; ako je grlo isključeno iz rasploda uslijed zootehničkih uvjeta; ako je gubitak rasplodne sposobnosti prouzročen pretilnošću, namjerom ili velikom nemarnošću osiguravatelja, nedovoljnom ili nepravilnom hranidbom kao i oboljenjem od bruceloze, tuberkuloze, vibrioze ili trihomonijaze. Dopunski rizik osiguranja rizika gubitka rasplodne sposobnosti krava i kobilica podrazumijevao je da je osiguratelj u obavezi isplatiti osigurniku uslijed gubitka rasplodne sposobnosti osigurane kobile i krave, a osiguratelj nije bio u obavezi nadoknaditi štetu kada je gubitak rasplodne sposobnosti nastao zbog isključenja kobile ili krave uslijed zootehničkih razloga te nedovoljne i nepravilne hranidbe. Po posebnim uvjetima za osiguranje životinja za vrijeme izdržavanja uvjeta osiguratelj je u obavezi isplatiti osigurniku za štete koje nastanu uslijed uginuća, klanja iz nužde ili eutanazije zbog bolesti ili nesretnog slučaja. Obveza osiguratelja počinje od trenutka prestanka transportnog osiguranja, odnosno do trenutka smještaja životinja u karantenu i traje za ugovorno vrijeme dok se životinje nalaze u karanteni. Ovdje se ne primjenjuje odredba o karenci, a obveze osiguravatelja prestaju u 24 sata posljednjeg dana trajanja osiguranja ili ranije u trenutku kada je životinja napustila karantenu. Prema posebnim uvjetima za osiguranje životinja od rizika kod kastracije i ovariometrije u osigurane rizike spadaju isplata osigurarine za štete na osiguranim životinjama koje nastanu uslijed uginuća, klanja iz nužde ili eutanazije zbog bolesti, kao neposredne posljedice izvršene kastracije, ovariometrije ili zbog nesretnog slučaja koji je nastao uslijed opiranja ili obaranja životinje prilikom samog kastriranja. Obveza osiguravatelja za isplatu štete počinjala je onim danom koji je u ugovoru naveden kao početak osiguranja, odnosno od

trenutka pristupanja obaranju životinje radi izvršenja kastracije ili ovariometrije, ako je premija plaćena i traje 30 dana po izvršenoj kastraciji ili ovariometriji. Ako se pojave posljedice zbog izvršene kastracije-ovariometrije dok traje osiguranje obveza osiguravatelja za naknadu štete zbog tih posljedica traje i nadalje pod uvjetom da osiguranik odmah u tijeku trajanja osiguranja javi osiguravatelju i veterinaru radi liječenja. Neizvršenje prijave na vrijeme gubi se pravo na naknadu štete uslijed kastracije-ovariometrije poslije isteka trajanja osiguranja od 30 dana. Osiguranje vrijedi pod uvjetom da je kastraciju-ovariometriju obavio samo veterinar te se ni na ovo osiguranje ne primjenjuje odredba o karenci. Isto tako propisani su posebni uvjeti za osiguranje životinja na izložbama te u sabiralištima. Od 2012. g. Croatia osiguranje započinje s osiguranjem kućnih ljubimaca s rizikom liječenja.

Danas na prostoru Republike Hrvatske postoje brojna osiguravajuća društva koja pružaju uslugu osiguranja životinja pod različitim uvjetima i za različite skupine životinja koja nisu bila predmet ovoga rada. Naime, u radu su prikazani uvjeti osiguranja najstarijeg osiguravajućeg društava na prostoru RH, Croatia osiguranje d.d., koji su se mijenjali kroz povijest.

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

Sažetak

U radu je prikazan pregled pojedinih zakonskih propisa, pravila i uputa o osiguranju životinja kroz povijest iz kojega proizlazi da razvojem intenzivne stočarske proizvodnje raste i broj osiguravajućih životinjskih vrsta kao i osigurani rizici protiv nastanka štete. Uz osnovno osiguranje počinje osiguranje životinja u posebnim uvjetima. Veterinar će razvojem osiguranja postati glavna osoba čiji će pregled biti odlučujući ispunjava li životinja uz navedene uvjete i uvjete osiguranja. Isto tako kad je u pitanju početak osiguranja, osiguranik je trebao veterinarskim uvjerenjem

dokazati kada je bolest počela, odnosno kada je prestala.

Literatura

1. Anon. (1953): Pravila za osiguranje stoke. Savjet Državnog osiguravajućeg zavoda.
2. Anon. (1954): Pravilnik za uzajamno osiguranje stoke. Skupština zadružnog saveza NRH.
3. Anon. (1957): Zakon o veterinarskoj službi. Narodne novine 67/1957.
4. Anon. (1963): Upute za provođenje osiguranja stoke. Zajednica osiguranja Hrvatske. I, II i III dio.
5. Anon. (1965): Zakon o veterinarskoj službi. Narodne novine 10/1965.
6. Anon. (1979): Opći uvjeti osiguranja životinja. Croatia.
7. Anon. (1984): Uvjeti za osiguranje životinja. Croatia osiguranje d.d. Zagreb.
8. Anon. (2006): Uvjeti za osiguranje životinja. Sektor za osiguranje imovine i reosiguranja, Croatia osiguranje.
9. NOVAKOVIĆ, M. (1915): Zadruga za osiguranje goveda. Kraljevska zemaljska tiskara Zagreb.
10. NJEMČIĆ, M. (1916): Osiguranje stoke. Veterinarski vjesnik 1, 1-15.
11. POZAJIĆ, D. (1940): Osiguranje stoke - Kako treba shvatiti zadatke pri narodnim poslovima oko osiguranja stoke u našoj državi. Tiskara Kuzma Rožmanić Zagreb.
12. WINTERHALTER, M. (1972): Upravno Veterinarstvo. Skipta Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Insurance of Animals in Legal Provisions and Rules Through the History

Krešimir SEVERIN, PhD, DVM, Assistant Professor, Petar DŽAJA, PhD, DVM, Full Professor, Željko GRABAREVIĆ, PhD, DVM, Full Professor; Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Tomislav BIGAČ, DVM, Croatia osiguranje; Damir AGIČIĆ, DVM, Veterinary Office Slavonski Brod; Zrinka PERIĆ, DVM, Pia-vet d.o.o.

The paper presents specific legal provisions, rules and guidelines governing the animal insurance through the history showing that, with the development of intensive animal farming, there is an increasing number of insured animal species and of insured risks. In addition to the basic insurance, there is also the insurance of animals in specific conditions. With the development of insurance, the

veterinarian will become the main person whose examination will prevail in decision on whether an animal meets the requirements to be insured in the specified conditions. Also, when it comes to the start of insurance, the insured party should prove the start and the end of the disease with a veterinarian certificate.

ŽIVOTINJE U KATASTROFAMA priručnik za vlasnike životinja

Autor: Aneta Karakaš
Naslov: Životinje u katastrofama,
priručnik za vlasnike životinja
Naklada: vlastita
Godina izdanja: 2015
Broj stranica: 100
ISBN 978-953-58468-0-2
CIP 000899967
Cijena: 70,00 kn



Knjiga Životinje u katastrofama – priručnik za vlasnike životinja prva je takve tematike u Hrvatskoj. Ona upućuje

vlasnike životinja, ali i sve one koji se njima na bilo koji način bave, kako postupati prije, tijekom i nakon katastrofa. Navodi detaljne mjere i postupke koje valja primijeniti u slučaju hitnih stanja prouzročenih meteorološkim i geološkim katastrofama ili bioterorizmom.

Knjiga je podijeljena na poglavlja prema vrstama katastrofa. Detaljno je opisano kako se vlasnik treba ponašati i što treba osigurati svojoj životinji, bilo da se radi o kućnom ljubimcu ili farmskoj životinji.

Recenzije za knjigu napisali su Darija Vratarić, dr. med. vet. i Niko Fabris, dipl. ing. građ.

Darija Vratarić, dr. med. vet. smatra da je predmetni priručnik za vlasnike životinja cjeloviti vodič u kojem su stručno i pregledno razrađeni postupci i mjere koje će držatelju/vlasniku životinja biti od velike pomoći pri pojavi određene vrste kataklizme. Brojne fotografije pridonose preglednosti i boljem razumijevanju građe.

Niko Fabris, dipl. ing. građ., djelatnik Državne uprave za zaštitu i spašavanje, toplo preporučuje ovu knjigu dragocjenu svima koji odgovorno žele umanjiti ili spriječiti moguću štetu koje trpe životinje, ali i šira zajednica te okoliš u izvanrednim situacijama prouzročenim prirodnim nepogodama. Knjiga pruža i sustavni program prevencije, zaštite i pomoći životinjama pred nadolazećim kataklizmama.

Aneta KARAKAŠ

Medika d.d. - mjesto ugodnih druženja koja valja pamtiti



Marijan Sabolić

Štovani kolega Antun Štivić, dr. med. vet. u više je navrata dokazao svu raskoš svojeg talenta u organizaciji zajedničkih druženja i domjenaka pred blagdane

Božića i Nove godine. Tako je bilo i 2000. godine kada je druženje vodio g. Branko Uvodić, a pjesmom nas zabavio g. Ćiro Gašparac.



Na slici, s lijeva na desno: neprepoznat, Antun ŠTIVIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Zlatko MATIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet. i Vladimir NAZANSKY, dr. med. vet.

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

- 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 pisačem 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 okružju 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:** KRSNIK, 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 Aujezskogoga. 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. KRUEWIG (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.