

Bakteriološka mikroflora kože i vanjskog slušnog kanala klinički zdravih mačaka

Katarina Macan i Branka Šeol



Uvod

Mačke su relativno rijetki pacijenti u odnosu prema psima, pogotovo ako je riječ o dermatitisima i otitisima uzrokovanim bakterijskom vrstom *Staphylococcus*. Iako psi i mačke danas žive u istim uvjetima, a nerijetko dijele isti životni prostor što dovodi do zaključka da imaju istovrsnu bakterijsku mikrofloru na koži, odnosno sluznicama vanjskog slušnog kanala. To je bio jedan od razloga što smo odlučili istražiti prisutnost bakterija vrste *Staphylococcus*, odnosno ustanoviti koje sve vrste naseljavaju kožu i zvukovode zdravih mačaka.

Etiologija i proširenost

Prema suvremenoj klasifikaciji stafilokoki pripadaju porodici *Micrococ-*

cacea, koja obuhvaća rodove *Stomatococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcus* i *Micrococcus*. Rod *Staphylococcus* sadrži 28 vrsta i 8 podvrsta, a među njima ima onih koje su patogene za čovjeka i životinje. To su gram-pozitivne bakterije kugličasta oblika promjera 0,5–1,5 mm. Nakon diobe stanice mogu ostati pojedinačno, u parovima, tetradama i kako ih najčešće vidimo u mikroskopskom preparatu, u nepravilnim nakupinama koje nalikuju grozdovima. Fakultativni su anaerobi, nisu pokretni i ne tvore spore.

Najpatogenija vrsta je *S. aureus* (koagulaza-pozitivna), a *S. hyicus*, uzročnik eksudativnog epidermitisa svinja, jedini je koagulaza-varijabilni stafilokok. Velika većina ostalih pripadnika ove porodice su koagulaza-negativni stafilokoki: *S. hominis*, *S. felis*, *S. epidermi-*

Katarina MACAN, dr. vet. med.; dr. sc. Branka ŠEOL, dr. vet. med., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb

dis i brojni drugi. Podjela stafilokoka na osnovi tvorbe enzima koagulaze na patogene i nepatogene nije posve točna jer i pojedini koagulaza-negativni stafilokoki mogu u određenim uvjetima djelovati patogeno.

Uzgoj i fiziološke osobine stafilokoka

U laboratoriju se uzgajaju na uobičajenim bakteriološkim hranjivim podlogama kao što su obični agar, agar s dodatkom krvi (tzv. krvni agar) ili po potrebi u tekućoj hranjivoj podlozi. Za izdvajanje i uzgoj ponekad se upotrebljavaju različite selektivne i diferencijalne hranjive podloge. Stafilokoki rastu u većim temperaturnim rasponima, ali optimalna temperatura za njihov uzgoj iznosi 37 °C. Nakon 24 sata uzgoja pri 37 °C na čvrstim hranjivim podlogama porastu okrugle, konveksne kolonije, glatkih rubova, sjajne kao porculan i ovisno o vrsti, pigmentirane, primjerice *S. aureus*. Od nesporenih bakterijskih vrsta stafilokoki su najotporniji na nepovoljne uvjete u okolišu. Stafilokoki izlučuju niz enzima i egzotoksina koji sudjeluju u patogenezi infekcija i intoksikacija. Sastavni su dio fiziološke mikroflore kože i sluznica čovjeka i životinja, a prisutni su i u namirnicama, tlu, prašini i vodi. Većina njih ne uzrokuje nikakve promjene. Neke vrste u određenim prigodama uzrokuju infekcije koje se mogu prenositi dodirrom i zrakom. Infekcije mogu zahvatiti različite organske sustave i obično su gnojne naravi. Osim infekcija, svojim toksinima uzrokuju trovanje

hranom. Zbog toga se ubrajaju u uvjetno patogene bakterije. Stafilokoki otporni na antimikrobne pripravke u bolnicama česti su uzročnici sekundarnih infekcija (tzv. bolničke infekcije). Preboljenjem stafilokokne infekcije stječe se vrlo slaba imunost. Mogućnost imunoprofilakse postoji, a najbolji rezultati postižu se uporabom autocjepiva ili stajskih cjepiva.

Nalaz bakterije *Staphylococcus* sp. u zdravih i bolesnih mačaka

Bakterije iz porodice *Staphylococcus* se nalaze na koži mačaka s lezijama, ali i klinički zdravih mačaka. Tako su Cox i sur. (1985.) proučavali učestalost nalaza bakterija iz porodice *Staphylococcus* na koži i nekim sluznicama 113 klinički zdravih mačaka. Od 827 izdvojenih sojeva stafilokoka najzastupljenija koagulaza-negativna vrsta bila je *S. simulans* (43,9%). Od koagulaza-pozitivnih stafilokoka najzastupljeniji je bio *S. intermedius* i *S. aureus*, 32,2% od ukupnog broja izolata pripadalo je koagulaza-negativnim vrstama *S. epidermidis*, i *S. xylosus*, a 10,4% izolata vrstama *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. hycus*, *S. capitis*, *S. warneri* i *S. saprophyticus*. U istraživanju koje su proveli Igimi i sur. (1989., 1994.) obrađeno je 39 izolata stafilokoka izdvojenih iz mačaka. S obzirom da je veliki dio izolata identificiran kao *S. simulans*, a ovu je vrstu uobičajenim biokemijskim postupcima nemoguće razlikovati od vrste *S. felis*, autori su analizom DNK i utvrđivanjem međusobne podudar-

nosti dokazali da 12 od 39 izolata pripada vrsti *S. felis*, a svega četiri vrsti *S. simulans*. Ostatak izolata identificiran je kao *S. aureus* (13%), *S. intermedius* (10%), *S. sciuri* (6%), *S. epidermidis* (6%), *S. haemolyticus* (2 soja) i po jedan izolat *S. capitis*, *S. equorum*, *S. gallinarum* i *S. lentus*. Müller i Heusinger (1994.) proučavali su 413 izolata izdvojenih iz vanjskog slušnog kanala pasa i mačaka. Najviše izdvojenih sojeva pripadalo je koagulaza-pozitivnim vrstama. Lilenbaum i sur. (1998.) prikupili su 98 izolata s kože 148 mačaka. Najčešće izdvojene koagulaza-negativne vrste bile su *S. felis*, *S. simulans*, *S. epidermidis* i *S. saprophyticus*, a od koagulaza-pozitivnih vrsta *S. intermedius* i *S. aureus*. Patel i sur. (1999.) uzeli su uzorke s kože, sluznica i rana s kože 20 klinički zdravih kućnih mačaka, devet bolesnih mačaka i 10 mačaka lotalica i izdvojili 187 sojeva stafilocoka koji su identificirani kao 16 različitih vrsta. 21,4% izdvojenih sojeva stafilocoka bili su koagulaza-pozitivni, a većina ih je potjecala od bolesnih mačaka. S kože kućnih mačaka izdvojeno je samo dva koagulaza-pozitivna i 53 koagulaza-negativna stafilocoka. Statistički gledano nije bilo značajne razlike u odnosu koagulaza-pozitivnih i koagulaza-negativnih stafilocoka između zdravih kućnih mačaka i mačaka lotalica. Devriese i sur. (1984.) su prikupljali uzorke s kože, sluznica i raznih lezija, a najčešće zastupljena vrsta na koži zdrave mačke bila je vrsta *S. simulans*. Vrsta *S. aureus* prevladavala je u izolatima iz kožnih lezija, a vrsta *S. epidermidis* izdvojena je isključivo iz lezija. Medleau i Blue (1988.) su istražili prisutnost stafilocoka u lezijama na

koži mačaka. Uzorke su uzeli s lezija na 45 mačaka i izdvojili 32 soja od kojih su njih 23 bili koagulaza-pozitivne vrste: *S. aureus*, *S. intermedius* i *S. hycus*, a devet izolata identificirano je kao *S. simulans*, *S. epidermidis* i *S. xylosus*.

Materijal i metode

Uzorci su uzimani od nasumice odabranih mačaka koje su smatrane zdravim na osnovu njihovog fizičkog izgleda i podataka koje su nam dali vlasnici. Mačke su držane u stanu ili kući, a neke su povremeno boravile i izvan kuće. Prikupljeno je 78 uzoraka od 39 zdravih mačaka oba spola, različitih pasmina i različite starosti. Obriske smo uzimali s kože šapa i vanjskog slušnog kanala. Odmah po uzimanju su dostavljani obrisci u Bakteriološki laboratorij Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Svaki uzorak nacijepljen je na Kolumbija agar (Columbia agar base, Becton Dickenson & Co, Cockeysvill, MA) i inkubiran pri 37 °C tijekom 18 do 24 sata. Stafilocoki su porasli kao jedina bakterijska vrsta ili u kombinaciji s drugim bakterijama. Porasle kolonije diferencirane su prema veličini, boji i obliku. U kolonija koje su bile manjeg promjera i nalikovale vrsti *Streptococcus* istražili smo sposobnost tvorbe katalaze da bismo ih razlikovali od stafilocoka. Kolonije koje su kulturelno, tinktorijelno i morfološki odgovarale vrsti *Staphylococcus* precijepili smo na krvni agar da bi dobili čistu kulturu i ujedno ustanovili tvorbu hemolizina. Tvorbu koagulaze smo istražili postupkom koagulacije kuničje plazme. U epru-

vetu u kojoj je bila razrijeđena kunića plazma dodali smo bujonsku kulturu pretraživanog soja, inkubirali pri 37°C tijekom 24 sata. Nakon toga ostavili smo ih na sobnoj temperaturi. Pozitivnom reakcijom smatrali smo svaku promjenu konzistencije. Prisutnost tvorbe enzima deoksiribonukleaze dokazali smo na hranjivoj podlozi kojoj je dodana DNK. Nakon naciepljivanja pretraživanog soja podlogu što sadrži DNK inkubirali smo pri 37 °C tijekom 18 do 24 sata, a zatim je prelili otopinom kloridne kiseline. Pozitivnom smo reakcijom smatrali prozirno područje oko bakterijskih kolonija, dok je ostatak podloge bio mliječno zamućen. Izdvojene sojeve stafilocoka identificirali smo „ručno“, na osnovi tablica za identifikaciju stafilocoka u Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt i sur., 1994.) i komercijalnim testom *API Staph* (BioMérieux, France). *API Staph* je sustav identifikacije bakterijskih vrsta *Staphylococcus* i *Micrococcus*, a sastoji se od plastičnog podloška na kojem se nalaze mikroeprove u kojima su male količine različitih sterilinih dehidriranih supstrata (šećeri, kalijev nitrat, urea, arginin i drugi). Njime se može dokazati 21 fiziološka osobina ispitivane bakterije. Pri uporabi *API Staph* sustava slijedili smo upute proizvođača.

Rezultati

Bakteriološkom pretragom obrisaka kože i zvukovoda 39 zdravih mačaka stafilocoki su izdvojeni iz 15 (38,46%) mačaka, a ukupno je izdvojeno 20 so-

jeva *Staphylococcus* sp. Od ukupno 20 izdvojenih sojeva njih devet (45%) je izdvojeno iz vanjskog slušnog kanala, a 11 (55%) s kože šapa zdravih mačaka (tablica 1). Kod sedam mačaka stafilocoki su izdvojeni samo iz vanjskog slušnog kanala, kod njih pet izolirani su samo sa šapa, a kod 2 mačke stafilocoki su izdvojeni i s kože i iz zvukovoda.

Bakteriološkim postupcima za identifikaciju stafilocoka identificirano je pet vrsta stafilocoka: *S. intermedius*, *S. hominis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* i *S. xylosus*. Vrsta *S. intermedius* je bila najzastupljenija koagulaza-pozitivna vrsta, a izdvojena je iz devet uzoraka (45%). Od koagulaza-negativnih vrsta najzastupljenija je bila vrsta *S. hominis* izdvojena iz pet uzoraka (25%). Vrsta *S. aureus* izdvojena je iz četiri obriska (20%), a vrste *S. epidermidis* i *S. xylosus* iz jednog uzorka (5%) što je prikazano u tablici 2.

Rasprava

U odnosu na podatke o infekciji kože i zvukovoda pasa i ulozu stafilocoka kao etiološkog uzročnika kao i podatke o nalazu ove bakterijske vrste u mačaka, može se reći da su podatci o istoj problematici znatno šturiji. U našem smo radu od sveukupno 78 obrisaka kože i zvukovoda zdravih mačaka izdvojili 20 sojeva vrste *Staphylococcus* sp. Na temelju sposobnosti tvorbe enzima koagulaze, stafilocoki su podijeljeni u koagulaza-pozitive (patogene) i koagulaza-negativne (apatogene). Najviše izolata (13) pripadalo je koagulaza-pozitivnim vrstama *S. intermedius* (9) i *S. aureus* (4). Koagulaza-negativnim

stafilokokima pripadalo je sedam izolata od kojih je najzastupljeniji bio *S. hominis* (5 sojeva), a po jedan izolat vrsti *S. epidermidis* i *S. hylosus*. Ovi su rezultati u suglasju su s rezultatima Cox-a i sur. (1985.) i Lilenbaum i sur. (1998.) kod kojih su *S. intermedius* i *S. aureus* bile najzastupljenije koagulaza-pozitivne vrste. Isto tako se naši rezultati podudaraju s rezultatima sličnih istraživanja kada je riječ o koagulaza-negativnim vrstama stafilokoka (Devriese i sur. 1984., Cox i sur., 1985. i Patel i sur. 1999.) s jednom razlikom da su u jednom istraživanju (Igimi i sur., 1994.) izolati identificirani kao *S. simulans* podvrgnuti dodatnim istraživanjima kojima su neki od njih identificirani kao *S. felis*. Nažalost, mi nismo mogli provesti dodatna istraživanja koja bi obuhvatila znatno veći broj mačaka pa tako i vjerojatnost izdvajanja vrste *S. simulans* i *S. felis* u zdravih mačaka.

Tablica 1. Nalaz bakterije *Staphylococcus* sp. prema mjestu uzimanja uzorka

Mjesto uzimanja uzorka	Vanjski slušni kanal	Koža šape
Broj izdvojenih sojeva	9	11

Sažetak

Mačke su odnosu na pse relativno rijetki pacijenti, pogotovo kada je riječ o dermatitisima i otitisima uzrokovanih bakterijskom vrstom *Staphylococcus*. Stoga smo odlučili istražiti prisutnost bakterija vrste *Staphylococcus*, odnosno ustanoviti koje sve vrste naseljavaju kožu i zvukovode zdravih mačaka. U našem istraživanju uzeli smo obriske kože i zvukovoda 39 zdravih mačaka i iz 15 mačaka izdvojili 20 sojeva vrste *Staphylococcus* sp. Najviše izolata (13) pripadalo je koagulaza-pozitivnim vrstama *S. intermedius* (9) i *S. aureus* (4). Koagulaza-negativnim stafilokokima pripadalo je sedam izolata od kojih je najzastupljeniji bio *S. hominis* (5 sojeva), a po jedan izolat vrsti *S. epidermidis* i *S. hylosus*. Ovi su rezultati u suglasju s rezultatima sličnih istraživanja kod kojih su *S. intermedius* i *S. aureus* bile najzastupljenije koagulaza-pozitivne vrste, a *S. hominis*, *S. epidermidis* i *S. hylosus* koagulaza-negativne vrste. Mačke su relativno rijetko nosioci koagulaza-pozitivnih tako i koagulaza-negativnih stafilokoka. Vrsta *Staphylococcus* sp. nije izdvojena s kože i zvukovoda 24 zdrave mačke.

Tablica 2. Distribucija izdvojenih stafilokoka s obzirom na vrstu i mjesto izdvajanja

	<i>S. intermedius</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. xylosus</i>
Vanjski slušni kanal	5	1	1	1	1
Koža šape	4	4	3	0	0

Literatura

1. COX, H. U., J. D. HOSKINS, S. S. NEWMAN, G. H. TURNWALD, C. S. FOIL, A. F. ROY and M. T. KEARNEY (1985): Distribution of staphylococcal species on clinically healthy cats. *American Journal of Veterinary Research* 46, 1824-1828.
2. DEVRIESE, L. A., D. NZUAMB and C. GODARD (1984): Identification and characterization of staphylococci isolated from cats. *Veterinary Microbiology* 9, 279-285.
3. HOLT, J. G., N. R. KRIEG, P. H. A. SNEATH, J. T. STALEY and S. T. WILLIAMS (1994): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, Hong Kong, London, Munich, Sydney, Tokyo.
4. IGIMI, S., S. KAWAMURA, E. TAKAHASHI and T. MITSUOKA (1989): *Staphylococcus felis*, a New Species from Clinical Specimens from Cats. *International Journal of System Bacteriology* 39, 373-377.
5. IGIMI, S., H. ATOBE, Y. TOHYA, A. INOUE, E. TAKAHASHI and S. KONISHI, (1994): Characterization of the most frequently encountered *Staphylococcus* sp. in cats. *Veterinary microbiology* 39, 255-260.
6. LILENBAUM, W., E. L. C. NUNES and M. A. I. AZEREDO (1998): Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats. *Letters in Applied Microbiology* 27 (4), 224.
7. MEDLEAU, L. and J. L. BLUE (1988): frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from feline skin lesions. *JAVMA* 193, 1080-1081.
8. MUELLER, E., and A. HEUSINGER (1994): Microbiological results of ear swabs from dogs and cats. *Tierärztliche Praxis* 1, 80-84.
9. PATEL, A., D. H. LLOYD and A. I. LAMPORT (1999): Antimicrobial resistance of feline staphylococci in south-eastern England. *Veterinary dermatology* 10, 257-261.

Bacterial micro-flora of skin and outer ear canal in clinically healthy cats

Katarina MACAN, DVM; Branka ŠEOL, Ph.D., DVM, Associate Professor, Faculty of Veterinary medicine Zagreb

In the present paper 78 ear and skin swabs originating from 39 clinically healthy cats were examined for presence of bacteria, especially those of *Staphylococcus* genus. 20 bacterial strains identified as *Staphylococcus* sp. were collected from 15 healthy cats. The majority of strains were coagulase-positive staphylococci: *S. intermedius*

(9) and *S. aureus* (4). Coagulase-negative streptococci were represented with seven isolates as follows: *S. hominis* (5 strains), *S. epidermidis* (1 strain) and *S. hylosus* (1 strain). Out of 39 cats included in the survey 24 cats were negative for presence of bacteria from *Staphylococcus* genus. Our findings are in agreement with similar investigations.

Klenbuterol kao tvar s anaboličkim učinkom - uporaba, zlouporaba i nadzor

Jelka Pleadin i Nina Perši



Uvod

Klenbuterol je β_2 -adrenergički agonist koji se može zlouporabiti tijekom tova životinja za proizvodnju mesa, osiguravajući pritom veću mišićnu masu životinja, a time i veće prinose u stočarskoj proizvodnji (Van Der Wal i Berende, 1983.; Mersmann, 1989.). Dugogodišnja istraživanja izvješćuju o nizu toksičnih učinaka klenbuterola sa znakovima akutnih intoksikacija i utjecaju na razne metaboličke procese. Budući da njegova primjena kod različitih životinjskih vrsta dovodi do kumulacije ostataka i prisutnosti u proizvodima životinjskog podrijetla uporaba klenbuterola u anaboličke svrhe predstavlja rizik za zdravlje životinja i potrošača (FAO/WHO, 1997.). Za sprječavanje zlouporabe klenbuterola od velike je važnosti provođenje sustavnog nadzora, odnosno kontrole ostataka ovog kontaminanta u svim fazama proizvodnje hrane animalnog podrijetla, a temeljem propisanih za-

konskih odrednica i korištenjem suvremenih validiranih analitičkih metoda u njihovoj detekciji. Brojnim prethodnim istraživanjima ispitivana je perzistentnost ostataka klenbuterola u biološkom materijalu tijekom i nakon prestanka izloženosti različitih životinjskih vrsta terapijskoj i anaboličkoj dozi te vrijeme potrebno da se razina ostataka klenbuterola u ispitivanim matriksima snizi ispod najveće dopuštene količine (NDK) od 0,5 ng/g za jestiva tkiva (Smith, 2000.). U cilju unaprijeđenja osiguranja kvalitete i sigurnosti hrane animalnog podrijetla od velike su važnosti saznanja o distribuciji i brzini izlučivanja, odnosno perzistentnosti ostataka klenbuterola u tjelesnim tekućinama i jestivim tkivima kao što su jetra i bubrege te pigmentiranom tkivu oka i dlake kao potencijalnim novim matriksima u kontroli zlouporabe klenbuterola kao anabolika.

Dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. inž. biotehnol., znanstvena suradnica, Nina PERŠI, dipl. inž. preh. tehnol., stručna suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

Uporaba i zlouporaba

Uporaba klenbuterola moguća je u terapijske i anaboličke svrhe. Stimulacijom β_2 -adrenergičkih receptora dolazi do relaksacije glatkih mišića što klenbuterol kao bronhodilatator čini upotrebljivim u tretmanu astme i drugih kroničnih bolesti pluća (FAO/WHO, 1997.). Obično se primjenjuje u obliku hidrokloridne soli. Klenbuterol se kao bronhodilatator koristi kod konja s preporučenom terapijskom dozom od 0,8 $\mu\text{g/kg}$ tjelesne težine dva puta dnevno na razdoblje od oko 10 dana. Može se davati oralnim, intramuskularnim ili intravenoznim putem (EMA, 2000.). Isto tako, vezujući se za receptore prisutne na membranama stanica glatkih mišića maternice, klenbuterol djeluje na način da ih relaksira te se koristi u goveda i konja i kao tokolitik (Re i sur., 1997.). Preporučena doza klenbuterola kao tokolitičkog agensa u goveda je jednokratna parenteralna injekcija (0,8 $\mu\text{g/kg}$ tjelesne težine). Klenbuterol se također koristi i u humanoj medicini prilikom tretmana kroničnih obstruktivnih bolesti respiratornog sustava pri čemu je preporučena doza 10 do 20 μg dva puta dnevno (EMA, 2000.). Ukoliko se primjenjuje u dozama 5 do 10 puta većim od terapijske, njegovo djelovanje je anaboličko što dovodi do porasta mišićne mase i smanjenja količine masnog tkiva (Meyer i Rinke, 1991.; Stoffel i Meyer, 1993.). Rezultati istraživanja pokazuju da je klenbuterol učinkoviti promotor rasta kod različitih životinjskih vrsta i to goveda, ovaca, svinja i peradi (Elliott i sur., 1993.a). Ovisno o životinjskoj vrsti,

primijenjenoj dozi i dužini tretmana, drugim čimbenicima, anabolički tretman mladih životinja rezultira s 10-12% većim rastom i boljom konverzijom hrane, smanjenjem skladištenja masti za oko 18% te rastom udjela mišićne mase za oko 15% (Williams, 1987., Gigas i sur., 1996.).

Toksični učinci

Brojna istraživanja toksičnosti klenbuterola nakon akutnog, subakutnog i kroničnog tretmana na različitim vrstama životinja, kao i slučajevi alimentarnih intoksikacija u ljudi pokazali su njegovu izričitu toksičnost. Kroničnim tretmanom životinja uočene su promjene u metaboličkoj aktivnosti (Zimmerli i Blum, 1990.), promjene na respiratornom sustavu (dilatacija traheje), deplecija glikogena (Biolatti i sur., 1994.), vakuolarna degeneracija prostate, smanjeni razvoj i proliferacija testisa te promjene u težini i veličini timusa i tiroidne žlijezde (Groot i sur., 1998.). Zabilježene su i degenerativne promjene uretralnog i glandularnog epitela prostate, vakuolizacija epitela i nekroza s piknozom jetre i fragmentacijom, promjene u izlučivanju estradiola i progesterona (Illera i sur., 2003.a, Illera i sur., 2003.b), povećanje broja mitohondrija, glatkog endoplazmatskog retikuluma, Golgijevog aparata i lipidnih kapljica te smanjenje veličine jezgre (Blanco i sur., 2002., Blanco i sur., 2003.). U više europskih zemalja zabilježeni su slučajevi akutnih alimentarnih intoksikacija u ljudi koji su konzumirali meso, odnosno jetru kontaminiranu ostacima

Tablica 1. Slučajevi trovanja ljudi nakon konzumiranja mesa kontaminiranog klenbuterolom

Zemlja, godina	Broj otrovanih	Izvor kontaminacije	Literatura
Španjolska, 1990.	135	goveđa jetra	Martinez-Navarro, 1990.
Francuska, 1990.	22	teleća jetra	Pulce i sur., 1991.
Španjolska, 1992.	232	teleća jetra	Garay i sur., 1997.
Italija, 1996.	62	goveđe meso	Brambilla i sur., 1997.
Portugal, 1996.	-	teleća jetra	Ramos i sur., 2003.
Kina, 2003.	39	svinjsko meso	Woodward, 2005.

klenbuterola (Tablica 1). Toksikološka istraživanja klenbuterola u ljudi pokazala su da klenbuterol reagira s β_2 -adrenergičkim receptorima bronhija, β_1 -receptorima srčanog mišića te β_2 -adrenergičkim receptorima centralnog živčanog sustava, uzrokujući ubrzan rad srca, drhtanje, nervozu, opću slabost, vrtoglavicu i glavobolju (Paige i sur., 1997., Kuiper i sur., 1998.). Zbog nedvojbene toksičnosti klenbuterola određena je njegova NDK u jestivim tkivima od 0,5 ng/g (FAO/WHO, 1997.).

Zakonska regulativa provedbe nadzora (monitoringa) zlouporabe

Zlouporaba je anabolika u proizvodnji mesa uočena u nekoliko zemalja EU pokrenula programe kontrole, odnosno nadzora njihove primjene te je Direktivom Vijeća 96/22/EC zabranjena njihova uporaba, a Direktivom Vijeća 96/23/EC propisana primjena godišnjeg programa praćenja, odnosno monitoringa ostataka tih tvari u biološkom ma-

terijalu životinja u tovu i na klaonici. Potom je i u Republici Hrvatskoj od strane Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja definirano provođenje sustavne kontrole zlouporabe tvari s anaboličkim učinkom, a provodi se sukladno Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla (N.N. 75/08.), Pravilniku o monitoringu određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla (N.N. 79/08.) i Naredbi o zabrani primjene određenih β -agonista te tvari hormonskog i tireostatskog učinka na farmskim životinjama (N.N. 112/08.). Temeljem navedenih zakonskih odredbi na području Republike Hrvatske zabranjeno je stavljati na tržište i prerađivati meso koje potječe od životinja na kojima su u anaboličke svrhe primjenjivani prirodni steroidni spolni hormoni i njihovi sintetički derivati, tireostatici, stilbeni i njihove soli i esteri, laktoni rezorciklične kiseline te β_2 -adrenergički agonisti uključujući klenbuterol.

Analitičke metode i validacija

Nakon donošenja Odluke komisije EU 2002/657/EC, koja se odnosi na analitičke metode za određivanje ostataka anabolika u biološkom materijalu, u Republici Hrvatskoj je također donesen Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. 2/05.). Navedeni Pravilnik određuje primjenjive analitičke metode te obveznu provedbu validacije, uz klasifikaciju analitičkih metoda na kvalitativne i kvantitativne te nadalje na orijentacijske (*screening*) i potvrdne metode. Bez obzira koja se analitička metoda koristi u određivanju ostataka klenbuterola, a i drugih supstancija, ona prethodno treba biti ispitana kroz određivanje validacijskih parametara, čime se dokazuje da ista ispunjava zahtjeve u pogledu njene primjene. Od *screening* metoda u određivanju ostataka klenbuterola uz radioimunoenzimsku metodu (RIA) najviše se koristi imunoenzimska metoda (ELISA). Prethodna istraživanja pokazuju da se pri korištenju komercijalno dostupnih imunoenzimskih kitova za ELISA metodu u kvantitativnim analizama klenbuterola postižu vrlo niski limiti detekcije, odnosno visoka osjetljivost metode, brza i jednostavna analiza uzoraka, niska cijena analize, ali ujedno i nedovoljna specifičnost što rezultira *cross*-reakcijama s konjugiranim metabolitima klenbuterola i stereoisomerima (Posyniak i sur., 2003.). Istraživanja su pokazala da kvaliteta kitova također može varirati od proizvođača do proizvođača, a također i da postoje raz-

like i u različitim serijama kitova istog proizvođača. U slučaju dobivanja pozitivnog rezultata isti se mora potvrditi jednom od potvrdnih metoda koje daju informaciju o kemijskoj strukturi analita, a osim kromatografske analize uključuju i masenu spektrometriju. Kao prikladne potvrdne metode koje udovoljavaju zadanim kriterijima i omogućavaju selektivno određivanje ostataka klenbuterola, mogu se koristiti:

- tekućinska kromatografija (LC), ili plinska kromatografija (GC) uz dokazivanje spektrometrijom masa (MS),
- tekućinska kromatografija (LC) ili plinska kromatografija (GC) uz dokazivanje infracrvenom (IR) spektrometrijskom detekcijom.

Rezultati istraživanja: ostaci klenbuterola u tjelesnim tekućinama i tkivima životinja za proizvodnju mesa

Perzistentnost ostataka klenbuterola ispitivana je na različitim životinjskim vrstama, primjenom različitih doza klenbuterola kroz određeno razdoblje te određivanjem razina ostataka u tjelesnim tekućinama i tkivima. Istraživanja pokazuju da, iako je korištenje plazme kao mogućeg matriksa u kontroli zlorabe klenbuterola najlakše dostupno i životinja se pri tome ne mora žrtvovati, ona nije dovoljno pouzdan matriks s obzirom da koncentracija klenbuterola pada ispod limita detekcije već oko 4

dana nakon prestanka tretmana (Stoffel i Meyer, 1993.). Uporaba klenbuterola uglavnom ne može biti detektirana u urinu oko jedan tjedan nakon prestanka tretmana (Meyer i Rinke, 1991.). Upravo zbog toga razmatrani su i drugi matriksi koji omogućavaju njegovu detekciju tijekom dužeg razdoblja. Rezultati ispitivanja razina ostataka klenbuterola u jetri i bubregu pokazali su da je kumulacija klenbuterola ovisna o dozi (Elliott i sur., 1993.a) i vremenu tretmana (Elliott i sur., 1993.b). Također, u jetri kao ispitnom matriksu ostaci su detektirani i 56 dana nakon završetka tretmana (Elliott i sur., 1993.a) te se stoga jetra smatra prikladnim tkivom za provedbu nadzora zlouporabe klenbuterola (Sauer i sur., 1995.). Anabolička uporaba klenbuterola može biti detektirana na još znatno dulje vrijeme korištenjem retine kao pigmentiranog tkiva oka (Smith, 2000.). U retini su pronađene vrlo visoke koncentracije klenbuterola (Meyer i Rinke, 1991., Sauer i sur., 1995., Smith i Paulson, 1997.), a zlouporaba može biti detektirana najmanje 140 dana nakon prestanka tretmana (Elliott i sur., 1993.a). Međutim, bitan nedostatak je da je taj matriks raspoloživ samo pri žrtvovanju životinja i to u vrlo malim količinama. Ostaci klenbuterola kumuliraju se više u retini i horioidnom dijelu oka nego u nepigmentiranom tkivu oka, a smatra se da je melanin komponenta u oku koja je odgovorna za vezivanje klenbuterola (Howells i sur., 1994.). Istraživanje na govedima rezultiralo je visokim koncentracijama klenbuterola u mrežničnom epitelu oka i 56 dana nakon tretmana, a ta razina je

bila usporediva s ostacima klenbuterola u jetri nulti dan nakon prestanka tretmana (Elliott i sur., 1993.c). Podatci govore i o visokom afinitetu vezivanja klenbuterola za melanin koji je prisutan u pigmentiranom tkivu dlake (Howells i sur., 1994.). Prednost dlake kao matriksa je u tome što se može koristiti u kontroli zlouporabe bez žrtvovanja životinje i pri tome dati informaciju za dugo prethodno razdoblje (Sauer i Anderson, 1994.). Analizom dlake pruža se mogućnost lakog, jednostavnog i brzog sakupljanja uzorka i iz više razloga smatra se najboljim matriksom za određivanje prisustva klenbuterola (Cristino i sur., 2003.). Međutim, istraživanja provedena na teladi su također pokazala da u prvom tjednu tretmana eksperimentalnih životinja klenbuterol ne može biti detektiran, jer je to vrijeme potrebno da naraste nova dlaka tretirane životinje (Gleixner i sur., 1996., Gaillard i sur., 1997.). Primjenom anaboličke doze na teladi određene su visoke koncentracije klenbuterola i 80 dana nakon završetka tretmana (Gaillard i sur., 1997.), a u životinja tretiranih terapijskom dozom određene su više koncentracije u tamnoj dlaci u odnosu na svijetlu što se objašnjava većom koncentracijom melanina u tamnoj dlaci (Gleixner i sur., 1996.). Rezultati naših posljednjih istraživanja provedenih na svinjama kao eksperimentalnim životinjama, nakon prestanka tretmana anaboličkom dozom, pokazala su također bržu eliminaciju ostataka klenbuterola iz plazme u odnosu na urin (Pleadin i sur., 2009.), a u ispitivanim tkivima najbržu iz bubrega, zatim jetre, sporiju iz retine te najsporiju iz dlake

(Gojmerac i sur., 2008.). Na temelju svih rezultata istraživanja određena je izrazita perzistentnost ostataka klenbuterola u pigmentiranim tkivima kao što su dlaka i retina oka u odnosu na jetru kao jestivo tkivo i druge matrikse, naročito u slučaju kada je prošlo dulje razdoblje nakon prestanka tretmana. S obzirom na prednosti njihove primjene u kontroli zlouporabe klenbuterola, uz jetru i urin kao ispitne matrikse, u zemljama Europske Unije započelo se i s primjenom pigmentiranih tkiva.

Analiza ostataka klenbuterola u Hrvatskom veterinarskom institutu

Analitika rezidua klenbuterola u biološkom materijalu provodi se u Laboratoriju za analitičku kemiju Hrvatskog veterinarskog instituta u okviru Državnog programa monitorin-ga rezidua Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja od 1998. god. Kontrola zlouporabe putem monitoringa uključuje određivanje razina klenbuterola u urinu, plazmi i jetri kao ispitnim matriksima uzorkovanim od životinja u tovu i na klaonici. U analitici se primjenjuje akreditirana ELISA metoda uz korištenje R-Biopharm kitova, validirana kao kvantitativna kroz određivanje validacijskih parametara iskorištenja, ponovljivosti, unutarlaboratorijske obnovljivosti, istinitosti, specifičnosti, robusnosti te sposobnosti dokazivanja metode (CC β). Koncentracija se klenbuterola u uzorcima izračunava uz primjenu R-Biopharm Ridasoft Win software i

izražava u ng/g, odnosno ng/mL (ppb). U slučaju određivanja rezultata većeg od NDK (najveća dopuštena količina) od 0,5 ng/g za jetru, odnosno većeg od MRPL (najmanje zahtjevana granica učinkovitosti izvedbe metode) za urin i plazmu, uzorak se šalje na potvrdnu metodu tekućinske kromatografije s masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) u Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise „G. Caporale”, Teramo, Italija. S obzirom da je ELISA metoda koja se koristi vrlo specifična i pokazuje nisku *cross*-reaktivnost s drugim supstancijama, dobiveni rezultati su uglavnom niži od zadanih limita te je time uporaba potvrdne metode svedena na minimum. Tijekom 2008. god. u Laboratoriju za analitičku kemiju provedeno je 169 analiza na klenbuterol u biološkom materijalu dostavljenom iz svih županija RH i svi rezultati bili su niži od NDK, odnosno MRPL vrijednosti.

Sažetak

Rezultati analize klenbuterola, provedenim na uzorcima biološkog materijala i dostavljenim iz svih županija RH tijekom 2008. god. u Hrvatski veterinarski institut, bili su niži od NDK, odnosno MRPL vrijednosti. U kontroli zlouporabe klenbuterola u zemljama Europske Unije započela je primjena retine i dlake kao novih ispitnih matriksa putem kojih se može detektirati zlouporaba na duže razdoblje nakon prestanka tretmana životinja za proizvodnju mesa. S obzirom na utvrđenu izrazitu perzistentnost ostataka klen-

buterola u navedenim pigmentiranim tkivima, a time i nedvojbenu prednost njihove primjene kao ispitnih matriksa u odnosu na jetru, bubreg, urin i plazmu, potrebno je razmotriti mogućnosti njihove primjene u okviru nadzora rezidua.

Literatura

- BIOLATTI, B., E. BOLLO, G. RE, S. APPINO, E. TARTARI, G. BENATTI, C. T. ELLIOTT, and W. J. McCAUGHEY (1994): Pathology and residues in veal calves treated experimentally with clenbuterol. *Res. Vet. Sci.* 57, 365-371.
- BLANCO, A., F. FLORES-ACUNA, R. ROLDAN-VILLELOBOS and G. MONTERDE (2002): Testicular damage from anabolic treatments with the β_2 -adrenergic agonist clenbuterol in pigs: a light and electron microscope study. *Vet. J.* 163, 292-298.
- BLANCO, A., E. ARTACHO-PERULA, R. FLORES-ACUNA, R. MOYANO and J. G. MONTERDE (2003): Quantitative changes in the normal and apoptotic thymocytes of pigs treated with anabolic doses of the β_2 adrenergic agonist clenbuterol. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 96, 111-115.
- BRAMBILLA, G., A. LOIZZO, L. FONTANA, M. STROZZI, A. GUARINO and V. SOPRANO (1997): Food poisoning following consumption of clenbuterol-treated veal in Italy. *J. Am. Med. Ass.* 278, 635-640.
- CRISTINO, A., F. RAMOS and M. I. NORONHA DA SILVEIRA (2003): Control of the illegal use of clenbuterol in bovine production. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 32, 311-316.
- ELLIOTT, C. T., S. R. H. CROOKS, G. D. McEVOY, W. J. McCAUGHEY, S. A. HEWITT, D. PATTERSON and D. KILPATRIK (1993a): Observations on the effects of long-term withdrawal on carcass composition and residue concentrations in clenbuterol-medicated cattle. *Vet. Res. Commun.* 17, 459-468.
- ELLIOTT, C. T., W. J. McCAUGHEY and H. D. SHORTT (1993b): Residues of the beta-agonist clenbuterol in tissues of medicated farm animals. *Food Addit. Contam.* 10, 231-244.
- ELLIOTT, C. T., J. G. D. McEVOY, W. J. McCAUGHEY, H. D. SHORTT and S. R. H. CROOKS (1993c): Effective laboratory monitoring for the abuse of the beta-agonist clenbuterol in cattle. *Analyst.* 118, 447-448.
- European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) (2000): Clenbuterol - summary report, 1-6.
- Food and Agriculture Organisation / World Health Organisation (FAO/WHO) (1997): Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Monographs prepared by the Forty-Seventh meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. FAO Food & Nutrition Paper 41 (9), 1-139.
- GAILLARD, Y., A. BALLAND, F. DOUCET and G. PÉPIN (1997): Detection of illegal clenbuterol use in calves using hair analysis. Application in meat quality control. *J. Chromatogr. B.* 703, 85-95.
- GARAY, J. B., J. E. H. JIMENEZ, M. L. JIMENEZ, M. V. SEBASTIAN, J. P. MATE-SANZ, P. M. MORENO and J. R. GALIANA (1997): Clenbuterol poisoning - clinical manifestations and analytical findings in an epidemic outbreak in Mostoles, Madrid. *Rev. Clin. Esp.* 197, 92-95.
- GIGOSOS, P. G., T. F. FERNÁNDEZ, O. C. MARÍZ, C. A. F. SAMPAYO, C. F. ABULÍN and A. C. SÁEZ (1996): Rapid and simple determination of clenbuterol residues in retina by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr. B.* 677, 167-171.
- GLEIXNER, A., H. SAUERWEIN and H. H. D MEYER (1996): Retrospective monitoring of clenbuterol-intake by hair analysis. In: Proceedings of the Euroresidue III conference, Veldhoven, The Netherlands, 411-420.
- GOJMERAC, T., J. PLEADIN, I. BRATOS, A. VULIC and N. VAHCIC (2008): Xenobiotic clenbuterol in food producing male pigs: Various tissue residue accumulation on days after withdrawal. *Meat Sci.* 80, 879-884.
- GROOT, M. J., R. SCHILT, J. S. OSSENKOPPELE, P. L. M. BERENDE and W. HAASNOOT (1998): Combinations of growth promoters in veal calves: Consequence for screening and confirmation methods. *J. Vet. Med. A.* 45, 425-440.
- HOWELLS, L., M. GODFREY and M. J. SAUER (1994): Melanin as an adsorbent for drug residues. *Analyst.* 119, 2691-2693.
- ILLERA, J. C., G. SILVÁN, M. M. MARTI-

- NEZ, A. BLASS, P. L. LORENZO and M. ILLERA (2003a): Effect of long-term exposure of growth promoters in Long Evans rats Part 1. Endocrine ovarian function. *Anal. Chim. Acta.* 483, 225-232.
19. ILLERA, J. C., G. SILVÁN, M. M. MARTINEZ, A. J. CONLEY, J. CORBIN, A. BLASS, P. L. LORENZO and M. ILLERA (2003b): Effect of long-term exposure of growth promoters in Long Evans rats Part 2. Ovarian morphology. *Anal. Chim. Acta* 483, 233-240.
20. KUIPER, H. A., M. Y. NOORDAM, M. M. H. DOOREN-FLIPSEN, R. SCHILT and A. H. R. ROOS (1998): Illegal use of β -adrenergic agonists: European Community. *J. Anim. Sci.* 76, 195-207.
21. MARTINEZ-NAVARRO, J. F. (1990): Food poisoning related to consumption of illicit beta-agonist in liver. *Lancet* 336, 1311.
22. MERSMANN, H. J. (1989): Potential mechanisms for repartitioning of growth by β -adrenergic agonists. In: *Animal Growth Regulation* (CAMPION, D. R., HAUSMAN, G. J., MARTIN, R. J., eds.), Plenum Press, New York, 337-357.
23. MEYER, H. H. D. and L. M. RINKE (1991): The pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves. *J. Anim. Sci.* 69, 4538-4544.
24. Naredba o zabrani primjene određenih beta-agonista te tvari hormonskog i tireostatskog učinka na farmским životinjama (N.N. br. 112, 2008.).
25. PAIGE, J. C., L. TOLLEFSON and M. MILLER (1997): Public health impact on drug residues in animal tissues. *Vet. Human. Toxicol.* 39 (3), 162-169.
26. PLEADIN, J., T. GOJMERAC, I. BRATOŠ, Z. LIPEJ, D. NOVOSEL and A. VULIĆ (2009): Clenbuterol residues in plasma and urine samples of food-producing pigs during and after subchronic exposure to a growth-promoting dose. *Food Technol. Biotechnol.* 47 (1), 67-74.
27. POSYNIK, A., J. ZMUDZKI and J. NIEDZIELSKA (2003): Screening procedures for clenbuterol residue determination in bovine urine and liver matrices using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta* 483, 61-67.
28. Pravilnik o monitoringu određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla (N.N. br. 79, 2008.).
29. Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla (N.N. br. 75, 2008.).
30. Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. br. 2, 2005.).
31. PULCE, C., D. LAMAISSON, G. KECK, C. BOSTVIRONNOIS, J. NICOLAS and J. DESCOTES (1991): Collective and human food poisonings by clenbuterol residues in veal liver. *Vet. Human Toxicol.* 33, 480-481.
32. RAMOS, F., A. CRISTINO, P. CARROLA, T. ELOY, J. MANUEL SILVA, A. C. CASTILHO and M. I. N. SILVEIRA (2003): Clenbuterol food poisoning diagnosis by gas chromatography-mass spectrometric serum analysis. *Anal. Chim. Acta* 483, 207-213.
33. RE, G., P. BADINO, A. NOVELLI and C. GIRARDI (1997): Effects of clenbuterol as a repartitioning agent on β -adrenoreceptor concentrations in heart, bronchi and brain of veal calves. *Vet. J.* 153, 63-70.
34. SAUER, M. J. and S. P. L. ANDERSON (1994): In vitro and in vivo studies of drug residue accumulation in pigmented tissues. *Analyst.* 119, 2553-2556.
35. SAUER, M. J., R. J. H. PICKETT, S. LIMER and S. N. DIXON (1995): Distribution and elimination of clenbuterol in tissues and fluids of calves following prolonged oral administration at a growth-promoting dose. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 18, 81-86.
36. SMITH, D. J. (2000): Total radioactive residues and clenbuterol residues in swine after dietary administration of [14 C] clenbuterol for seven days and preslaughter withdrawal periods of zero, three, or seven days. *J. Anim. Sci.* 78, 2903-2912.
37. SMITH, D. J. and G. D. PAULSON (1997): Distribution, elimination, and residues of [14 C] clenbuterol HCl in holstein calves. *J. Anim. Sci.* 75, 454-461.
38. STOFFEL, B. and H. H. D. MEYER (1993): Effects of the β -adrenergic agonist clenbuterol in cows: lipid metabolism, milk production, pharmacokinetics, and residues. *J. Anim. Sci.* 71, 1875-1881.
39. VAN DER WAL, P. and P. L. M. BERENDE (1983): Effects of anabolic agents on food-producing animals. In: *Anabolics in animal production*, (MEISSONNIER, E. i MITCHELL-VIGNERON, J., ed.), Office International des Epizooties, Paris, 73-115.
40. WILLIAMS, P. E. V. (1987): The use of β -agonists as a means of altering body com-

- position in livestock species. *Nutr. Abstr. Rev. (Series B)* 57, 453-464.
41. WOODWARD, K. N. (2005): Veterinary pharmacovigilance. Part 2. Veterinary pharmacovigilance in practice – the operation of a spontaneous reporting scheme in a European Union country – the UK, and schemes in other countries. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 28, 149-170.
42. ZIMMERLI, U. V. and J. W. BLUM (1990): Acute and long term metabolic, endocrine, respiratory, cardiac and skeletal muscle activity changes in response to perorally administered β -adrenoreceptor agonist in calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 63, 157-172.

Clenbuterol as a substance with anabolic effect – use, abuse and control

Jelka PLEADIN, Ph.D., Graduate Biotechnology Engineer, Scientific Colaborator, Nina PERŠI, Graduate Food Technology Engineer, Expert Colaborator, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Results of clenbuterol analysis, conducted on samples of biological material supplied from all Croatian counties in 2008 to the Croatian Veterinary Institute were lower than MRL or MRPL. In the control of clenbuterol abuse in the EU countries, retina and hair are used as new matrices to detect the abuse for a long period after stopping the treat-

ment of meat producing animals. Considering the established persistency of clenbuterol residues in the foregoing pigmented tissue and the undoubted advantage of their application in test matrices in comparison to liver, kidney, urine and plasma, options for their use within residue control framework should be considered.

HERVATSKA, SLAVONIA, DALMACIA I VOJVODINA SÈRBIA

Iz Zemuna 12. listopada. Ovih danah pojavila se u susjednoj Sèrbii marvinska kuga, s koje je već i više komadah rogata marve skapalo. Čim je ovaj nepovoljni glas ovamo prispio, odaslan je odmah dr. Mušicki u Sèrbiju, za da se osobno osviedoči o stanju pošasti. Čujemo, da je gosp. Mušicki sbilja pronašao nieka znamenja bolesti, Isto tako pojavila se je i oko Varne nieka kužna bolest medju tamošnjim stanovništvom.

“Narodne novine” (Zagreb), 246, 703, 1851 (god. 17) (25. listopada 1851.).



alfamec[®] 1%

injekcijska otopina

antiparazitik, endektocid, makrociklički lakton, avermektin, ivermektin za goveda i svinje



JEDINI IVERMECTIN ZA 74,90 kn / 100 mL

SASTAV

1 mL injekcijske otopine Alfamec[®] 1% sadržava:

Ivermektin.....10 mg

Pomoćne tvari: benzilni alkohol, glicerol formal i propilenglikol.

INDIKACIJE

Alfamec[®] 1% se upotrebljava za liječenje nametničkih bolesti uzrokovanih brojnim vrstama želučano-crijevnih i plućnih oblika u goveda i svinja, te istodobno za suzbijanje invazije ušima, ličinkama štrkova u migraciji i šugarcima. Spekter antiparazitskog djelovanja IVM obuhvaća sljedeće nametnike:

Govedo

Želučano-crijevni obliči: *Ostertagia* spp., *Haemonchus placei*, *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Oesophagostomum radiatum*, *Nematodirus helvetianus* i *N. spathiger*, *Trichuris* spp. i *Toxocara vitulorum*. **Plućni vlasci:** *Dictyocaulus viviparus*. **Očni nematodi:** *Thelazia* spp. **Goveđi štrk:** *Hypoderma* spp. (ličinke u migraciji). **Uši:** *Linognathus vituli*, *Haematopinus eurysternus* i *Solenopotes capillatus*. **Šugarci:** *Psoroptes ovis*, *Sarcoptes bovis*, *Chorioptes bovis* (slabiji učinak)

Svinja

Želučano-crijevni obliči: *Ascaris suum*, *Hyostrongylus rubidus*, *Oesophagostomum* spp., *Strongyloides ransomi* i *Trichuris suis*.

Plućni vlasci: *Metastrongylus* spp. **Svinjski bubrežni nematod:** *Stephanurus dentatus*. **Svinjska uš:** *Haematopinus suis*.

Šugarci: *Sarcoptes suis*.

KONTRAINDIKACIJE

Alfamec[®] 1% injekcije ne smije aplicirati:

- intravenski i intramuskularno; životinjskim vrstama za koje taj pripravak nije registriran. Posebno je toksičan za pojedine pasmine pasa npr. škotski i staroengleski ovčari (colie i bobtail), te za njihove križance.

NAČIN PRIMJENE I DOZE

Alfamec[®] 1% injekcijska otopina može se aplicirati automatskom i svakom drugom standardnom brizgaljkom isključivo s.c.

Govedo

Ispred ili iza lopatice isključivo s.c. 1 mL/50 kg t.m. (0.2 mg/kg).

Svinja

Iza uha s.c. 1.0 mL/33 kg t.m. (0.3 mg/kg).

U **mlade prasadi**, posebice one lakše od 16 kg kojoj se aplicira manje od 0.5 mL pripravka, važno je Alfamec[®] 1% točno dozirati (upotrijebiti brizgaljke s podjelom od 0.1 mL). **Rasplodne svinje:** na početku jednokratno liječiti sve životinje, a zatim se savjetuje provoditi sljedeći program: **Krmače:** 7 do 14 dana prije prasnja. **Nazimice:** 7 do 14 dana prije oplodnje i 7 do 14 dana prije prasnja.

Nerasti: tretirati 2 x na godinu. **Tovljenici:** sve životinje tretirati prije smještaja u nove nastambe.

Nakon svakog liječenja šuge poduzeti mjere da se spriječi reinvazija.

KARENCIJA

Meso i jestive iznutrice:

Govedo.....35 dana.

Svinja.....28 dana.

ROK VALJANOSTI

Označen je na opremi, u originalnoj ambalaži 3 godine. Sadržaj načete bočice treba utrošiti u roku mjesec dana.

PROIZVOĐAČ Alfasan International B.V., Nizozemska

ZASTUPNIK: CVA d.o.o., Zagreb, R. Hrvatska

DOSTUPNO U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Anatomija i histologija škrga koštunjača kao osnova njihove višestruke funkcije

Marko Dolenec i Snježana Kužir

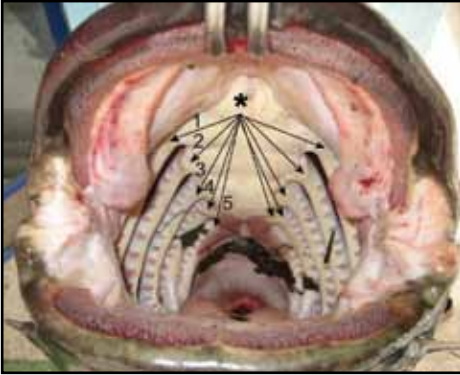


Anatomija škrga

Građa škrga znatno se razlikuje unutar tri razreda riba (bezčeljusnice, hrskavičnjače i koštunjače). U koštunjača škrge su smještene u šupljinu zatvorenu pomičnim poklopcem (operkulum) koji ima čvrstu koštanu osnovu po čemu su dobile naziv „operkularne škrge“. Razlikuju se dva podtipa operkularnih škrga, ovisno o tome završava li škržni poklopac membranom (npr. u šarana, *Cyprinus carpio*) ili ne (npr. u dužičaste pastrve, *Onchorhynchus mykiss*). Tanki koštani poklopac (operkulum), zajedno s drugim operkularnim kostima (suboperkularna, interoperkularna, preoperkularna) izvana zatvara škržnu komoru. Voda iz usta ulazi u ždrijelo nakon čega prelazi preko škržnih listića i uz unutarnji rub operkuluma dolazi do izlaza kroz otvor odignutog škržnog poklopca.

Osnovu škržnog organa koštunjače čini pet pari ždrijelnih lukova (slika 1.). Peti ždrijelni luk može biti rudimentiran ili kod nekih vrsta preoblikovan te nosi ždrijelne zube. Osnova škržnog luka su četiri hrskavična ili koštana segmenta. Gledano s dorzalne strane to su: pharyngobranchialna, epibranchialna, ceratobranchialna i ventralno položena hypobranchyalna hrskavica ili kost. Na svaki škržni luk nadovezuju se dva niza primarnih škržnih listića (slika 2.a i 2.b) („gill filaments“). Njihovo pokretanje omogućuju mišići koji ujedno svojim kontrakcijama pospešuju i cirkulaciju. Na primarnim škržnim listićima nalaze se sekundarni škržni listići (škržni nabori ili „gill lamellae“) (slika 3.). Sekundarni škržni listići su osnovna funkcionalna jedinica škrge. Broj i površina sekundarnih

Marko DOLENEC, dr. vet. med., AGROPREDERADA d.d.; dr. sc. Snježana KUŽIR, dr. vet. med., viša znanstvena suradnica, Veterinarski fakultet, Zagreb



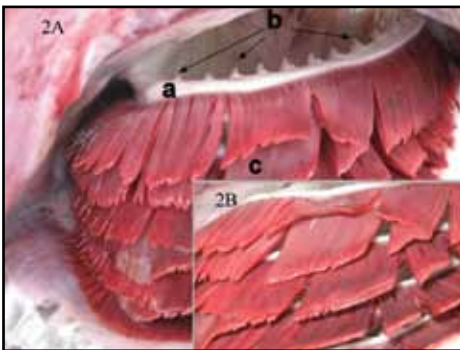
Slika 1. Otvorena usta soma [*Silurus glanis*], vidljivi škružni lukovi (*1-5) i ostaci biljaka u ždrijelu.

listića karakterističan je za svaku riblju vrstu, a pokretno aktivnije vrste imaju veću površinu škružnog aparata (Bogut i sur., 2006.).

Histologija škrga

Škržni listići

Snimke elektronskog mikroskopa pokazuju da su sekundarni škružni listići sastavljeni od dvije epitelne površine koje odvaja bazalna membrana i niz



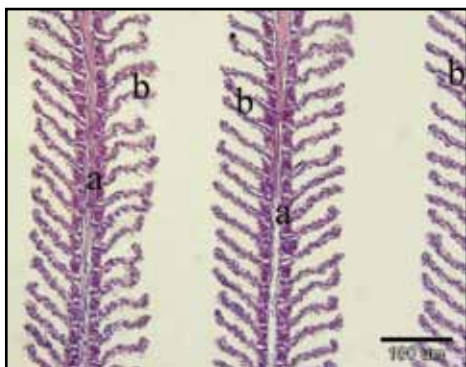
Slika 2.a Škržni lukovi soma [*Silurus glanis*] (škružni luk (a), procjedni nastavci (b), primarni škružni listići (c)).

Slika 2.b Škržni lukovi soma [*Silurus glanis*] povećan prikaz dva reda primarnih škružnih listića na jednom škružnom luku.

individualnih stanica nazvanih „pillar cell“ ili potporne stanice (Evans i sur., 2005.). Epitel primarnih i sekundarnih škružnih listića konačna je granica između ribljeg vanjskog okoliša i tjelesnih tekućina. Sastavljen je od nekoliko vrsta stanica (Laurent, 1984., Wilson i Laurent, 2002.) od kojih pokrovne epitelne stanice (PES) čine i više od 90% epitela, a u većem broju su utvrđene i stanice bogate mitohondrijima (MBS), oko 10% epitela. Učestalo se spominju i tzv. akcesorne stanice (AS) (Hootman i Philpott 1980., Philpott, 1980. i Anderson i sur., 2001.) te mukozne stanice (Morgan i Tovel, 1973., Diaz i sur., 2001.).

Pokrovne epitelne stanice su pločastog ili kubičnog oblika s izdancima na vršnom dijelu stanice. Tipične PES ne sadrže puno mitohondrija, ali mogu biti bogate citoplazmatskim vezikulama i razvijenim Golgijevim aparatom. Međustanični spojevi su jako razvijeni i višestruki što čini međustanične prostore uskima i relativno nepropusnima za ione. U škrga slatkovodnih koštunjača neke PES mogu imati aktivnu ulogu u prijenosu iona, kiselina i lužina (Evans i sur., 2005.).

Iako mitohondrijima bogate stanice (MBS) pokrivaju puno manju površinu škružnog epitela i nalaze se na samo nekim njegovim dijelovima, smatra se da su one od velike važnosti za odvijanje fiziološkog procesa u škrgama. PES se mogu naći u svim područjima škružnih listića, a MBS su najčešće na aferentnom kraju istih te u područjima koja se nalaze između sekundarnih škružnih listića. Unutarnja su struktura i funkcija MBS različite u tri spomenuta razreda

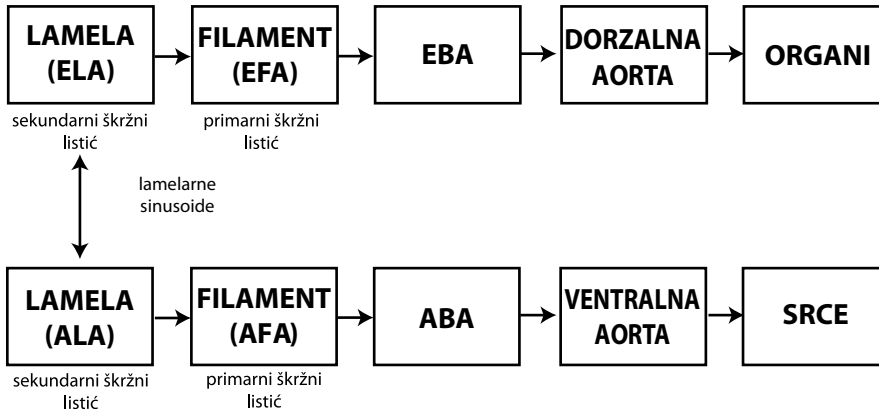


Slika 3. Histološki preparat škrge (primarni škržni listić (a), sekundarni škržni listići (b)).

riba, a znatne su razlike utvrđene i u odnosu slatkovodnih na morske vrste. Općenito, MBS su velike, ovalne stanice, izrazito polarizirane, koje na apikalnom dijelu imaju izdanke ili udubinu, a na bazalnom dijelu mnogostruka uvrnuća. Apikalna je kriptna ili udubina u morskih vrsta duboka, a plića u riba koje žive u ionima bogatijoj slatkoj vodi. U slatkovodnih riba koje žive u ionima siromašnoj vodi, udubine nema. Zamijenjena je mikrovilima koji imaju ulogu u povećanju površine za transport. U odnosu na PES, MBS sadrže veliki broj mitohondrija u citoplazmi. Specijalizirana istraživanja na temu unutarnje strukture MBS su brojna (Laurent i Dunel, 1980., Laurent, 1984., Karnaky, 1986., Pisam i Rambourg 1991., Perry, 1997., Wilson i Laurent, 2002.).

U morskih se pripadnika nadreda Teleostei (prave koštunjače) MBS često spominju kao „kloridne stanice”, što se pripisuje funkciji izlučivanja natrijevog klorida. Kod slatkovodnih su teleosta MBS također prisutne, ali su karakterizirane drugačijim izgledom i funkcijom. MBS-ovi pravih koštunjača

uglavnom imaju neke slične ultrastrukturne karakteristike, kao što su uvrnuća bazolateralne membrane koja tvore mrežu kanalića povezanu s mitohondrijima i subapikalnim tubulovezikularnim sustavom (Perry i sur., 1992., Laurent i Perry, 1995., Perry, 1997.). Međutim, postoje i bitne različitosti, npr. akcesorne stanice i više stanični kompleksi koje se dovode u vezu s MBS-ovima morskih vrsta pravih koštunjača, a nisu česti kod slatkovodnih vrsta pravih koštunjača. MBS-ovi se često pojavljuju pojedinačno u škržnom epitelu slatkovodnih vrsta, umetnuti između PES-ova. MBS-ovi slatkovodnih vrsta pravih koštunjača također tvore opsežne nitaste međustanične spojeve s okolnim PES-om ili s drugim MBS-ovima da bi stvorili relativno nepropusnu ionsku barijeru. Budući da morske ribe iskazuju hipoosmolarost izvanstaničnih tekućina u odnosu na vodu u kojoj se nalaze, one uzimaju velike količine vode iz okoliša, točnije „piju” vodu u kojoj se nalaze. Natrijev klorid se iz morske vode resorbira u crijevima, a iz krvi se odstranjuje škragama i kožom. Sekrecija natrijevog klorida kroz škrge regulirana je upravo kloridnim ili mitohondrijima bogatim stanicama, odnosno kompleksom MBS-a i akcesornih stanica. Spomenutim kompleksom natrij klorid izlazi iz organizma (Na^+ pasivno, Cl^- aktivno), a Ca^{2+} ulazi u krv. Posebno zanimljive za ovu vrstu istraživanja su tzv. eurihaline ribe koje mogu obitavati u različitim vodama obzirom na sadržaj natrijevog klorida. Ultrastrukturna i imunohistokemijska studija škrge ribe *Fundulus heteroclitus* (Katoh i Kaneko, 2003.), po-



Crtež 1. Shema cirkulacije kroz škrge koštunjača.

kazala je akutne i kronične promjene na MBS-u povezane s prelaskom iz morske u slatku vodu. U ovoj je studiji otkriveno da su MBS-i morskih jedinki ribe *Fundulus heteroclitus* preobraženi u slatkovodne MBS-ove i onda su postupno zamijenjeni novo-nastalim slatkovodnim MBS. Pri tome, posebnosti u građi slatkovodnih MBS-a ukazuju na ulogu u unosu iona, a morskih MBS-a na mogućnost izlučivanja natrijevog klorida.

Slično kao MBS, akcesorne stanice (AS) imaju veliki broj mitohondrija, ali su puno manje (Anderson i sur., 2001.), sa slabije zastupljenim tubularnim sistemom i manjim izlučivanjem natrij-kalij-ATPase (Hootman i Philpott, 1980.) koja sudjeluje u transportu. Dvostruki je stav o AS i njihovoj ulozi. Jedna skupina autora smatra da su to posebne, dobro definirane stanice škržnog epitela (Pisam i sur., 2000.). Za razliku od njih, drugi autori sugeriraju da su akcesorne stanice samo razvojni stadij MBS (Wendelaar Bonga i Van der Meij, 1989., Wendelaar Bonga i sur., 1990.).

Uz tri najučestalije spominjana tipa stanica u škržnom epitelu, postoje naznake o četvrtom tipu, barem kod nekih ribljih vrsta. Morgan i Tovel (1973.) te Diaz i suradnici (2001.) četvrti tip stanica prema osobitostima i morfologiji (brojne mukozne vakuole u citoplazmi) nazivaju mukoznim stanicama. Jezgra tih stanica je potisnuta uz bazalni rub, a citoplazme ima malo, i raspoređena je između mukoznih vakuola. Mukozne se vakuole ili mjehurići stapaju s membranom stanice te preko nje mukopolisaharidi izlaze izvan same stanice. Smatra se da je funkcija mukopolisaharida iz mukoznih stanica u podmazivanju, prevenciji dehidracije škrge te zaštiti od infekcije.

Krvne žile i živci škrge

Krv iz srca riba, preko ventralne aorte dolazi u škrge i to kroz aferentne branchijalne arterije (ABA). Svaki primarni listić opskrbljuje krv iz aferentne filamentarne arterije (AFA) koja se proteže duž listića. Krv putem AFA prolazi kroz tkivo primarnog škržnog listića prateći sekundarne škržne listiće koji su oko-

miti na dugu os primarnog škržnog listića. Krv koja dođe na sekundarne škržne listiće aferentnom lamelarnom arterijom (ALA) ulazi u uske krvožilne prostore koje ograničavaju potporne („pillar“) stanice stvarajući tako lamelarne sinusoide. Potporne se stanice sastoje od središnjeg trupa stanice i tankih citoplazmatskih produžetaka koji povezuju granične „pillar“ stanice (Olson, 2002.b, Wilson i Laurent, 2002.) tako oblažući krvožilni prostor. U potpornim stanicama nekih koštunjača Newstead (1967.) i Bettex-Galland i Hughes (1973.) pronalaze kontraktilne mikrofilamente ili tragove miozina. Ovi nalazi ukazuju na kontraktilnu narav potpornih stanica. Obzirom na navedene osobitosti postoji mogućnost da upravo one reguliraju protok krvi kroz lamele. Iz sinusoida se krv ulijeva u eferentnu (odvodnu) lamelarnu (ELA) te eferentnu filamentarnu arteriju (EFA) koja prolazi duž primarnog listića i vodi krv u suprotnom smjeru od onog u aferentnoj filamentarnoj arteriji. Eferentna branhijalna arterija (EBA) sakuplja krv obogaćenu kisikom s listića škržnog luka te je usmjerava na dorzalnu aortu koja vodi krv po organskim sustavima (crtež 1.).

Pojačana aktivnost ribe, hipoksija i adrenergične tvari (npr. epinefrin) povećavaju protok kroz sekundarne škržne listiće, dok stres, kolinergici (npr. acetilkolin) i neki neurohormoni reduciraju prolaz kroz iste (Gilmour, 1998., Olson, 1998., 2002.a, 2002.b, Wilson i Laurent, 2002.).

Funkcija škrga

Nutritivna uloga škrga

Na osnovu istraživanja (Schmitz i sur., 2000.) i opisa građe škrga pro-

tovertebrata nameće se zaključak da škrge ne služe samo za disanje već da sudjeluju u procesu uzimanja hrane. U nekih recentnih ribljih vrsta također su razvijeni tzv. procjedni nastavci (slika 2.) s kranijalne strane škržnog luka kojim riba zadržava veće ili manje hranjive tvari iz vodenog toka kroz škržnu šupljinu.

Respiratorna uloga škrga

U recentnih ribljih vrsta, u prvom redu iz razreda koštunjača najvažnija uloga škrga je u procesu disanja. Disanje organizma podrazumijeva uzimanje kisika (O_2) iz okoliša i odstranjivanje ugljik dioksida (CO_2) u okoliš. Izmjena se plinova odvija procesom difuzije na osnovi razlika u tlakovima. Uzeti kisik mora doći do svake stanice i tu se postupak ponavlja, O_2 ulazi u stanicu, CO_2 kao glavni nusprodukt metabolizma izlazi iz stanice. Uneseni O_2 je u stanici nužan za sve njezine životne procese, a osnova je za stvaranje energije. Budući su znatne razlike u sastavu zraka i vode u odnosu na sadržaj O_2 (1 l zraka sadrži 210 ml O_2 , 1 l vode sadrži 5-10 ml O_2) različiti su i načini prilagodbe organizama na zadane životne uvjete. Brzo plivajuće ribe za vrijeme kretanja imaju otvorena usta pa voda stalno protječe preko njihovih škržnih listića. Navedene ribe (npr. skuše, pas-trve) imaju šira usta i škržni poklopac bez branhiostegmalne membrane (Bogut i sur., 2006.). Kod manje pokretnih riba (npr. iz porodice ciprinida) voda ulazi u usnu šupljinu, škržni poklopac se odmiče, a branhiostegmalna membrana je priljubljena što dovodi do stvaranja podtlaka u škržnoj šupljini u

odnosu na usnu šupljinu te voda ulazi u škržnu šupljinu. Prolazak vode kroz škržnu šupljinu, između škržnih listića omogućuje primicanje škržnog poklopca i odmicanje, „odljepljivanje“ branhioestegmalne membrane.

Matoničkin i Erben (1994.) napominju da je upravo količina CO_2 od velike važnosti za regulaciju disanja preko centra koji se nalazi u produženoj moždini kralježnjaka. Budući O_2 u vodu dolazi fotosintezom bilja ili difuzijom treba napomenuti da ga ima više u površinskim slojevima i da koncentracija pada porastom dubine. Na učestalost disanja će utjecati mnogi čimbenici, prvenstveno temperatura vode (učestalije disanje kod viših temperatura vode), zatim količina otopljenog O_2 u vodi, kao i sva onečišćenja vode koja će dovesti do procesa oksidacije u vodi i tako smanjiti količinu O_2 . Na frekvenciju disanja utjecaj će imati i veličina ribe te njena dob, a neki autori navode i da mužjaci dišu brže od ženki (Bogut i sur., 2006.). Olson (2002.a, 2002.b) navodi čitav niz neuro, endo, para i auto-krinih čimbenika koji koordiniraju i kontroliraju funkciju škrge, u prvom redu regulirajući protok krvi kroz krvne žile škržnih listića.

Uloga škrge u održavanju homeostaze ribljeg organizma

Ribe žive u vodenom okolišu. Sva stanica njihovog tijela je također okružena međustaničnom tekućinom. Sastav tih tekućina je različit, u prvom redu u pogledu sadržaja iona (Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Cl^- , SO_4). Postupak održavanja unutarnjeg ionskog sastava koji omogućava neometano funk-

cioniranje svih tjelesnih stanica naziva se osmoregulacija i dio je održavanja tjelesne homeostaze. U tom procesu u riba važnu ulogu imaju i škrge. Obzirom na sastav krvne plazme i odnos prema sastavu vode u kojoj se nalaze, Marshall i Grosell (2006.) su ribe razvrstali u tri skupine: skupina riba kod kojih su navedeni elementi u ravnoteži (morske hrskavičnjače); skupina riba kod kojih je krvna plazma hiperosmolarna u odnosu na okolnu (razrijeđenu) vodu (većina slatkovodnih vrsta); skupina riba kod kojih je krvna plazma hipoosmolarna u odnosu na okolnu vodu (morske koštunjače). To drugim riječima znači da će slatkovodne vrste riba odavati ione u okoliš dok će voda kroz kožu i škrge nastojati prodrijeti u organizam na mjesto veće ionske koncentracije. Morske ribe pak neprekidno gutaju morsku vodu koja prolazi kroz crijevnu stijenk, gdje budu apsorbirani i ioni, Na^+ , K^+ i Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} . U bubregu dolazi do reapsorpcije Na^+ , K^+ i Cl^- , njihov se suvišak odstranjuje u manjoj mjeri pomoću bubrega, a u većoj pomoću škrge (Bogut i sur., 2006.). Preveliku količinu vode u organizmu i poremećaj osmotske ravnoteže, slatkovodne vrste rješavaju izlučivanjem vode iz organizma stvaranjem većih količina razrijeđenog urina. Istovremeno, morske ribe će gubiti vodu, a kako bi ju nadoknadile pit će vodu u kojoj se nalaze i u tijelo s njom unijeti veliku količinu NaCl -a. Na^+ i Cl^- te riblje vrste će zbog održavanja osmotalansa izlučiti u okolinu što je dijelom uloga škrge, odnosno MBS-a koje su uklopljene u škržni epitel. Hootman i Philpott (1980.) smatraju da MBS u toj ulozi pomaže i

prilježuće AS koje zajedno s MBS čine posebnu „sekretornu žlijezdu“. Shuttleworth (1988.) navodi da MBS po pitanju ionske ravnoteže u morskih hrskavičnjača nemaju tako važnu ulogu kao u koštunjača. Procjenjuje se da je njihova uloga u hrskavičnjača važnija za održavanje pH vrijednosti.

Održavanje pH ravnoteže organizma još je jedna važna funkcija škrge. Izmjeren pH krvne plazme riba kreće se u granicama od 7,7 do 7,9. Utjecaj na pH krvi ima aktivnost ribe u smislu snižavanja pH zbog pojačane glikolize pri većoj mišićnoj aktivnosti. Utjecaj ima i temperatura okolne vode, jer je Heisler (1984.) izmjerio da pH 7,95 kod 10 °C pada na 7,80 kod 20 °C i na 7,70 kod 30 °C. Posebno je pH ravnoteža važna u riba koje žive u jezerima koja za razliku od morske vode mogu iskazati velika odstupanja pH vrijednosti. Dostupna saznanja o ovom mehanizmu regulacije i sudjelovanja škrge hrskavičnjača u procesu izlučivanja HCO_3 i CO_2 opisali su Swenson i Maren (1987.), a kasnija saznanja je sažeo Claiborne (1997.).

Obavljanje svih životnih procesa zahtijeva određeni temperaturni optimum. Tjelesna temperatura riba u pravilu odgovara temperaturi okoliša. Kod kolebanja vanjske temperature ili kod određenih procesa u tijelu (probava, plivanje), potreban optimum ribe održavaju posebnim modelom ponašanja ili specifičnim fiziološkim procesima. U modele ponašanja ubraja se npr. promjena dubine, a time i temperatura vode pri hranjenju i probavljanju hrane. Naime, ukoliko je temperatura okoliša viša i svi procesi (pa time i probava uzete hrane pri dnu)

bit će brži. Treba uzeti u obzir da voda ima veliki toplinski kapacitet, znatno veći od zraka, uz istovremeno znatno manju količinu kisika. Da bi dobile dovoljnu količinu kisika, kroz usta i škrge riba prolazi velika količina vode koja dolazi u bliski dodir s krvi i neminovno odnosi ili donosi toplinu. Samim se time u organizmu smanjuje (raste) brzina probave i rad srca. Ima podataka da se preko škrge ribe odvija 10-30% ukupne izmjene topline (Bogut i sur., 2006.). Metz i suradnici (2003.) su proveli pokus na šaranima držeći ih na različitoj temperaturi (15 i 29 °C). Imunohistokemijskim metodama ustvrdili su znatno veći broj kloridnih stanica u riba držanih na 15 °C. Do sličnih rezultata, ali za vrstu *Alosa sapidissima* su došli Zydlewski i McCormick (2001.).

Uloga škrge u izlučivanju nusproizvoda metabolizma

Stanice ribljeg organizma, kao i one u sisavaca razgradnjom hranjivih tvari stvaraju nusproizvode koji su višak u organizmu, a mogu biti i štetni po njega. Kao najvažniji nusproizvodi staničnog metabolizma navode se voda, CO_2 i dušik odnosno amino skupine. Izlučivanje se većine tih otpadnih tvari u riba odvija pomoću dišnog sustava (CO_2), probavnog te mokraćnog sustava. Važnu ulogu opet imaju škrge za koje se smatra da odstranjuju veći dio dušika iz organizma i to putem amonijaka. Amonijak je za organizam vrlo toksičan, ali je u vodi lako topiv pa ga riba može odstraniti putem škrge u okolnu vodu. Stoga se koštunjače, zajedno s vodozemcima ubrajaju u tzv. amniotelične životinje, za razliku od ureoteličnih sisavaca ili urikoteličnih

ptica. Osim amonijaka, ribe mogu izlučivati i druge spojeve amonijaka (mokraćevina, mokraćna kiselina, guanin, aminodušik), ali u manjoj količini (Matonićkin i Erben, 1994.).

Zaključak

Na osnovu prikupljenih podataka o makro i mikro građi škrga može se zaključiti da su one do detalja usavršene i prilagođene multifunkcionalni organ. Zahvaljujući modernim metodama istraživanja i multidisciplinarnosti, danas se puno zna o njima no još uvijek nisu razjašnjene sve funkcije. Poznavanje makro i mikro anatomije škrga jedina je polazna osnova za daljnja proučavanja funkcije i važnosti ovog organa za riblji organizam u cijelosti.

Sažetak

Škrge koštunjača razmatramo kao jedinstven organ sastavljen od nekoliko elemenata: kosti, hrskavice te više vrsta epitelnih stanica koje su opskrbljene razgranatom cirkularnom mrežom i kontrolirane humoralnim i neuralnim mehanizmima. Složena škržna morfologija te stanična struktura upućuju i na višestruku ulogu ovog organa. Prije svega, škrge su organ za disanje, ali rezultati novijih istraživanja navode i druge, ne manje važne, uloge: izlučivanje metaboličkih produkata, u prvom redu amonijaka, održavanje ionske ravnoteže te održavanje pH.

Literatura

- ANDERSON, W. G., M. C. CERRA, A. WELLS, M. L. TIERNEY, B. TOTA, Y. TAKEI and N. HAZON (2001): Angiotensin and angiotensin receptors in cartilaginous fishes. *Comp. Biochem. Physiol. A. Physiol.* 128, 31–40.
- BETTEX-GALLAND, M. and G. M. HUGHES (1973): Contractile lumentous material in the pillar cells of fish gills. *J. Cell. Sci.* 13, 359–370.
- BOGUT, I., D. NOVOSELIĆ i J. PAVLIČEVIĆ (2006): *Biologija riba*. Poljoprivredni fakultet, Osijek.
- CLAIBORNE, J. B. (1997): Acid-base regulation. In: EVANS, D. H.: *The Physiology of fishes*, 2nd. ed. CRC Press, Boca Raton (177–198).
- DIAZ, A. O., A. M. GARCIA, C. V. DEVINCENTI and A. L. GOLDEMBERG (2001): Mucous Cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and Ultrastructure. *Anat. Histol. Embryol.* 30, 135–139.
- EVANS, D. H., P. M. PIERMARINI and K. P. CHOE (2005): The Multifunctional Fish gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogen Waste. *Physiol. Rev.* 85, 97–177.
- GILMOUR, K. M. (1998): Gas Exchange. In: EVANS, D. H.: *The Physiology of fishes*, 2nd. ed. CRC Press, Boca Raton (101–127).
- HEISLER, N. (1984): Acid base regulation in fishes. In: HOAR, W. S. and D. J. RANDALL: *Fish Physiology*. New York, Academic Press (315–401).
- HOOTMAN, S. R. and C. W. PHILPOTT (1980): Accessory cells in teleost branchial epithelium. *Amer. J. Physiol.* 238, 199–206.
- KARNAKY, K. J. (1986): Structure and function of the chloride cell of *Fundulus heteroclitus* and other teleosts. *Am. Zool.* 26, 209–224.
- KATOH, F. and T. KANEKO (2003): Short-term transformation and long-term replacement of branchial chloride cells in killifish transferred from seawater to freshwater, revealed by morphofunctional observations and a newly established „time-differential double fluorescent staining” technique. *J. Exp. Biol.* 206, 4113–4123.
- LAURENT, P. and S. DUNEL (1980): Morphology of gill epithelia in fish. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 238, 147–159.
- LAURENT, P. (1984): Gill internal morphology. In: HOAR, W. S. and D. J. RANDALL: *Fish Physiology*, Orlando, FL: Academic (73–183).
- LAURENT, P. and S. F. PERRY (1995): Morphological basis of acid-base and ionic regulation in fish. In: HEISLER, N.: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. Heidelberg, Springer-Verlag (91–118).
- MARSHALL, W. S. and M. GROSELL (2006): Ion Transport, Osmoregulation, and Acid-Base Balance. In: EVANS, D. H. and J. B. CLAIBORNE: *The Physiology of fishes*, 3th

- ed. Taylor&Francis, Boca Raton-London-New York (177-230).
16. MATONIČKIN, I. i R. ERBEN (1994): Opća zoologija. Školska knjiga, Zagreb.
17. METZ, J. R., E. H. VAN DEN BURG, S. E. BONGA and G. FLIK (2003): Regulation of branchial Na⁺/K⁺ -ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperatures. *J. Exp. Biol.* 206, 2273-2280.
18. MORGAN, M. and P. W. A. TOVELL (1973): The structure of the Gill of the Trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Z. Zellforsch.* 142, 147-162.
19. NEWSTEAD, J. D. (1967): Fine structure of the respiratory lamellae of teleostean gills. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 79, 396-428.
20. OLSON, K. R. (1998): Hormone Metabolism by the Fish Gill. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 119A, 1, 55-65.
21. OLSON, K. R. (2002a): Gill circulation: Regulation of Perfusion Distribution and Metabolism of Regulatory Molecules. *J. Exp. Zool.* 293, 320-335.
22. OLSON, K. R. (2002b): Vascular Anatomy of the Fish Gill. *J. Exp. Zool.* 293, 214-231.
23. PERRY, S. F., G. G. GOSS and P. LAURENT (1992): The interrelationships between gill chloride cell morphology and ionic uptake in four freshwater teleosts. *Can. J. Zool.* 70, 1775-1786.
24. PERRY, S. F. (1997): The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. *Annu. Rev. Physiol.* 59, 325-347.
25. PISAM, M. and A. RAMBOURG (1991): Mitochondria-rich cells in the gill epithelium of teleost fishes: an ultrastructural approach. *Int. Rev. Cytol.* 130, 191-232.
26. PISAM, M., F. MASSA, C. JAMMET and P. PRUNET (2000): Chronology of the appearance of beta, A and alpha mitochondria-rich cells in the gill epithelium during ontogenesis of the brown trout (*Salmo trutta*). *Anat. Rec.* 259, 301-311.
27. SCHMITZ, A., M. GEMMEL and S. F. PERRY (2000): Morphometric partitioning of respiratory surfaces in amphioxus (*Branchiostoma lanceolatum* Pallas). *J. Exp. Biol.* 203, 3381-3390.
28. SHUTTLEWORTH, T. J. (1988): Salt and water balance-extrarenal mechanisms. In: SHUTTLEWORTH, T. J.: *The Physiology of Elasmobranch Fishes*. Springer, Berlin (171-199).
29. SWENSON, E. R. and T. H. MAREN (1987): Roles of gill and red cell carbonic anhydrase in elasmobranch HCO₃⁻ i CO₂ excretion. *Amer. J. Physiol.*, 253, 450-458.
30. WENDELAAR BONGA, S. E. and C. J. M. VAN DER MEIJ (1989): Degeneration and death, by apoptosis and necrosis of the pavement and chloride cells in the gills of the teleost *Oreochromis mossambicus*. *Cell. Tissue. Res.* 255, 235-243.
31. WENDELAAR BONGA, S. E., G. FLIK, P. H. M. BALM and J. C. A. VAN DER MEIJ (1990): The ultrastructure of chloride cells in the gills of the teleost *Oreochromis mossambicus* during exposure to acidified water. *Cell. Tissue. Res.* 259, 575-585.
32. WILSON, J. M. and P. LAURENT (2002): Fish gill morphology: inside-out. *J. Exp. Zool.* 293, 192-213.
33. ZYDLEWSKI J. and S. D. McCORMICK (2001): Developmental and environmental regulation of chloride cells in young American shad, *Alosa sapidissima*. *J. Exp. Zool.* 290, 73-87.

Anatomy and Histology of Bony Fish Gills as a Basis of their Multiple Roles

Marko DOLENEC, DVM, AGROPRERADA d.d.; Snježana KUŽIR, DVM, Ph.D., Senior Scientific Colaborator, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb

Osteichthyes branchiae (gills) are considered as a single organ composed of several elements: bone, cartilage, and different types of epithelial cells which are supplied by an extensive circular network and controlled by humoral and neural mechanisms. Branchial complex morphology and cell structure refers to the multiple role of this organ. Primarily, gills were breathing body but the results of recent research quote another not less important role: secretion of metabolic products, primarily ammonia, maintaining ionic balance and maintaining the pH.

Parvo je krenuo dalje. Moramo i mi !



Atenuirano virusno cjepivo protiv štenećaka, zaraznog hepatitisa, parainfluence i parvoviroze (liofilizat), te inaktivirano bakterijsko cjepivo protiv leptospiroze (diulent) za pse

Od pojave parvovirusa kasnih 70-ih, mutacije primarnog biotipa CPV2 su poprimile tolike razmjere da više gotovo nije moguće naći originalni virus u psećoj populaciji.

Novi mutirani biotipovi CPV2a i CPV2b su odgovorni za pojavu bolesti diljem Europe.

Usprkos evoluiranju virusa vakcine su, do nedavno, ostale bazirane na originalnom biotipu CPV2.

Dolaskom
Duramune Max 5 / 4 L
zaštita protiv parvovirusa
je AŽURIRANA.

Duramune Max 5 / 4 L pruža zaštitu od 4 serovara Leptospire, umjesto od 2, kako smo navikli do sada.

Leptospira interrogans serovar canicola, Hond Utrecht
Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae, 1 Copenhagi
Leptospira interrogans serovar grippotyphosa, F4397
Leptospira interrogans serovar pomona, Kennewicki



Duramune®
The Next Generation
Of Canine Vaccination

CVA

FORT DODGE®

¹ Pratelli A. and others: Canine parvovirus (CPV) vaccination: Comparison of neutralising antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. Clin. Diagn. lab Immunol. 2001, May, 8,3:612-5

Tularemija - specifičnost morfološkog nalaza, izdvajanje uzročnika iz zeca i određivanje osjetljivosti prema antimikrobnim lijekovima

Boris Habrun, Dinko Novosel i Gordan Kompes



Uvod

Tularemija je zarazna bolest primarno divljih glodavaca koja se prenosi na divlje i domaće životinje i čovjeka. Tijek bolesti može biti akutan ili kroničan. Uzročnik bolesti je *Francisella (F.) tularensis* (Zaharija, 1978., Timoney i sur., 1992.).

Tularemija nije bila dijagnosticirana u divljih glodavaca u Hrvatskoj od 1983. god. najvjerojatnije zbog smanjenja populacije zečeva i malog broja uginulih zečeva koji su bili dostavljeni u Hrvatski veterinarski institut radi utvrđivanja uzroka uginuća (Bilić i sur., 1997.). Zbog vrlo rijetkog dijagnosticiranja tularemije u glodavaca i izdvajanja bakterije *F. tularensis* smatrali smo interesantnim opisati ova dva slučaja, napose radi određivanja osjetljivosti izdvojenog soja *F. tularensis* prema antimikrobnim lijekovima.

Materijali, metode i rezultati

Opis slučaja

U ožujku 1999. god u selu Bukevju (Velika Gorica) u dvorištu obiteljske kuće nađen je bolestan zec promijenjena ponašanja, koji nije pokazivao strah prema čovjeku. Idući dan zec je uginuo te je dostavljen u Hrvatski veterinarski institut radi utvrđivanja uzroka uginuća. U siječnju 2009. godine lovački pas je uhvatio neozlijeđenog zeca, vjerojatno poremećena senzorijski. Zec je dostavljen u Hrvatski veterinarski institut radi utvrđivanja uzroka uginuća.

Patološko anatomska i histopatološka pretraga

Razudbom zeca iz Bukevja utvrđena su difuzna krvarenja po dušniku, ne-

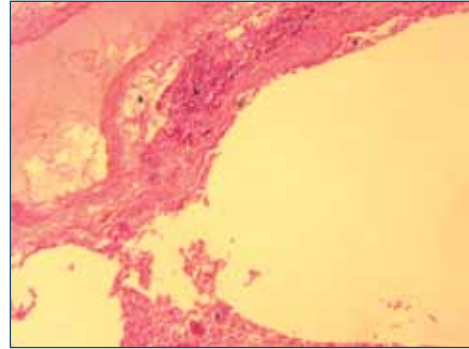
Dr. sc. Boris HABRUN, dr. vet. med., znanstveni savjetnik, Dinko NOVOSEL, dr. vet. med., znanstveni novak, Gordan KOMPES, dr. vet. med., znanstveni novak, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb.

krotični fokus promjera oko 1 cm u dijafragmatskom režnju pluća, splenomegalija (slezena je bila dugačka 11 cm), hepatomegalija s nekrotičnim žarištima u jetri veličine 0,5 cm, suspektne multifokalne nekroze u kori bubrega i kataralni gastritis. Na zecu iz okolice Čakovca utvrđena su difuzna krvarenja po trahei i pjenušavi sadržaj u lumenu bronha, ulerozna tvorba na plućima i izrazito hiperplastična slezena. Pluća lešine zeca iz Čakovca su fiksirana u

10% puferniranom formalinu, dehidrirana i uklopljena u parafinske blokove. Rezovi 4 μ m su deparafinizirani i bojeni standardnom tehnikom H&E. Na plućima se uočava difuzna proliferativno-intersticijska pneumonija s jakom limfocitarnom infiltracijom. Uz nekrozu epitela u bronhima, submukozalno se vide nekroza mukoznih žlijezda i limfocitarna infiltracija. Makroskopski vidljiva ulcerozno-nekrotična tvorba na presjeku je građena od kazeozne mase i nekrotičnog staničnog debrisa koji pi-



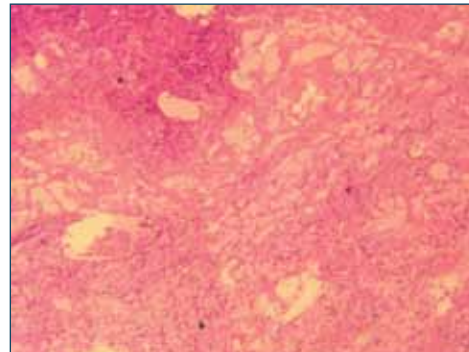
Slika 1. Ulcerozno-nekrotična tvorba na plućima: a. područje nekroze s centralno smještenim otvorom, b. okolina nekroze zahvaćena proliferativno-intersticijskom pneumonijom



Slika 3. Presjek lumena bronha: a. nekrotizirane mukoglandularne stanice b. limfocitarni infiltrat c. atrofirane stanice ciliarnog epitela. H&E, 20x.



Slika 2. Napadna splenomegalija



Slika 4. Presjek ulcerozno – nekrotične tvorbe pluća: a. nekrotični debris, b. Intersticijsko-proliferativna pneumonija, c. kolonija mikroorganizma. H&E, 20x.

ramidalno penetrira u parenhim pluća. Na granici nekroze i proliferiranog područja mogu se uočiti kolonije mikroorganizma dok pleura na površini potpuno nedostaje.

Bakteriološka pretraga

Nakon razudbe bakteriološki su pretraženi parenhimski organi (jetra, slezena i pluća). Organi su bili nacijepljeni na krvni agar (Blood agar base, Oxoid CM 271) s dodatkom 5 v/v % defibrinirane ovčje krvi, neutralni agar (Columbia agar base CM 311), XLD agar (Merck 1.05287) i Francisov agar (vlastita priprema) s dodatkom defibrinirane kuničje krvi (na 400 ml agara 30 ml defibrinirane kuničje krvi).

Nasađene su podloge bile inkubirane pri 37 °C i pregledavane svakih 24 sata. Nakon 72 sata na Francisovu agaru su izrasle bakterijske kolonije, dok na ostalim hranjivim podlogama nije bilo izraslih kolonija. Izrasle kolonije bile su malene, konfluirajuće, izgleda kapljice rose okružene zelenkastom zonom nepotpune hemolize.

Izrasla kutura bila je oksidaza negativna (Merck 1.13300) i katalaza slabo pozitivna (Merck 1.11351). Brza aglutinacija na predmetnici sa specifičnim antiserumom (vlastita proizvodnja) za *F. tularensis* bila je pozitivna (+++).

Biokemijska svojstva uzročnika nismo određivali, budući da je teško izvedivo i nije neophodno za identifikaciju *F. tularensis* (Quinn i sur., 1994.).

Nakon identifikacije uzročnika odredili smo difuzijskim postupkom osjetljivost izdvojene bakterije prema penicilinu G, ampicilinu, amoksicilinu, amoksicilinu s klavulanskom kiselinom, cefaleksinu, ceftiofuru, eritromicinu, azitromicinu, sulfametoksazolu, sulfametoksazolu s trimetoprimom, streptomycinu, neomicinu, gentamicinu, spektinomycinu, oksitetraciklinu, linkomicinu, linkomicinu sa spektinomycinom, apramicinu, enrofloxacinu.

Difuzijski smo postupak izvodili na Francisovom agaru, a zone inhibicije rasta mjerili smo nakon 24 h inkubacije i interpretirali prema preporuci CSLI-a (M31 A3). Osjetljivost se oba soja

Tablica 1. Prikaz osjetljivosti izdvojenog soja *F. tularensis* prema antimikrobnim lijekovima

Izdvojeni sojevi osjetljivi	Izdvojeni sojevi rezistentni
ceftiofur	penicilin G
streptomicin	amoksicilin
neomicin	ampicilin
gentamicin	amoksicilin + klavulan. kis.
spektinomycin	cefaleksin
apramicin	eritromicin
oksitetraciklin	azitromicin
enrofloxacin	sulfametoksazol
ciprofloksacin	sulfametoksazol+ trimetoprim
	linkomicin

podudarala, usprkos razlici u vremenu izdvajanja i regiji izdvajanja.

Osjetljivost izdvojenog soja *F. tularensis* prikazana je u tablici 1.

Rasprava i zaključci

Tularemija je u divljih glodavaca u Hrvatskoj vrlo rijetko dijagnosticirana. Nakon 1984. godine (Anon. 1984.), tularemija je dijagnosticirana u ožujku 1999. u zeca čija je klinička slika odgovara simptomima bolesti koji se očituju poremećenim senzorijem, gubitkom straha i tromim kretanjama (Zaharija, 1978., Timoney i sur., 1992.). Nakon toga, idući put je tularemija u zeca dijagnosticirana 2009. godine. Patološko je anatomski nalaz bio karakterističan i odgovarao je najčešćem plućnom ulcero-glandularnom tipu tularemije, a bakteriološkom pretragom izdvojena je *F. tularensis* iz parenhimskih organa. Ovako rijetko dijagnosticiranje može se pripisati vrlo malom broju zečeva koji se godišnje pretražuju u Hrvatskom veterinarskom institutu.

Određivanje osjetljivosti difuzijskim postupkom na Francisovu agaru pokazalo je da je uzročnik rezistentan prema antibioticima penicilinske skupine (penicilin G, ampicilin, amoksicilin i amoksicilin s klavulanskom kiselinom) i makrolidnim antibioticima (eritromicin i azitromicin). Izdvojeni uzročnik bio je rezistentan prema sulfonamidu (sulfametoksazolu) i potenciranom sulfonamidu (sulfametoksazol + trimetoprim). Izdvojeni je soj također bio rezistentan prema linkomicinu.

Od antibiotika cefalosporinske skupine, izdvojeni je soj bio rezistentan prema cefalosporinu prve generacije, cefaleksinu i osjetljiv prema cefalosporinu treće generacije, ceftiofuru.

Izdvojena bakterija bila je osjetljiva prema antibioticima aminoglikozidne skupine. Utvrđena je osjetljivost prema streptomycinu, koji je još prije pola stoljeća bio predlagan kao lijek izbora (Howe i sur., 1946.), a također i prema gentamicinu i neomicinu, što potkrepljuje tvrdnju Timoneya i sur. (1992.) da su antibiotici aminoglikozidne skupine učinkoviti u liječenju tularemije.

Dobra je osjetljivost utvrđena i prema aminociklitolnim antibioticima spektinomycinu i apramicinu te prema antimikrobnom lijekovima iz skupine kinolona (enrofloxacin i ciprofloksacin).

Izdvojeni soj bio je osjetljiv prema oksitetraciklinu, koji se spominje kao učinkovit lijek u terapiji oboljelih ovaca (Frank i Meinershagen, 1961.), dok se u terapiji ljudi spominje javljanje relapsa nakon terapije tetraciklinima (Brooks i sur., 1995.).

Navedeni podatci ukazuju da se osjetljivost izdvojenog soja *F. tularensis* u Hrvatskoj podudara s podacima iz literature te smatramo da ovi podatci mogu biti od pomoći prilikom određivanja terapije ljudi i životinja oboljelih od tularemije.

Sažetak

Tularemija je vrlo rijetko dijagnosticirana u divljih glodavaca u Hrvatskoj. Nakon 1983. god. bila je dijagnosticirana

ticirana u ožujku 1999. u selu Bukevje (Velika Gorica), gdje je nađen bolestan zec koji je sutradan uginuo. Nakon toga, dijagnosticirana je u zeca iz okolice Čakovca 2009. godine, kojeg je ulovio lovački pas, a da zec nije bio nestrijeljen. Klinička slika i patoanatomski nalaz oba uginula zeca bili su karakteristični za tularemiju, a bakteriološkom pretragom je izdvojena *Francisella tularensis*. Difuzijskim postupkom na Francisovu agaru određena je osjetljivost izdvojenog soja prema antimikrobnim lijekovima. Oba izdvojena soja bila su rezistentna prema antibioticima penicilinske skupine (penicilin G, ampicilin, amoksicilin, amoksicilin + klavulanska kiselina), makrolidima (eritromicin, azitromicin), sulfonamidima (sulfametoksazol) i potenciranim sulfonamidima (sulfametoksazol + trimetoprim), linkomicinu i cefalosporinu prve generacije (cefaleksin). Oba izolata bila su osjetljiva prema aminoglikozidnim antibioticima (streptomycinu, neomicinu i gentamicinu), aminociklotolima (spektinomycin i apramicin), oksitettraciklinu, florkinolonom (enrofloksacin i ciprofloksacin) i cefalosporinskom antibiotiku treće generacije (ceftiofuru). Smatramo da će podatci o osjetljivosti izdvojenog soja biti od koristi prilikom određivanja terapije ljudi oboljelih od tularemije.

Literatura

1. Anon. (1984): Godišnje izvješće Hrvatskog veterinarskog instituta za 1983. godinu.
2. BILIĆ, V., B. HABRUN i A. HUMSKI (1997): *Francisella tularensis* - nalazi protutijela u humanim serumima. Infektološki glasnik 17 (4), 95-97.
3. BROOKS, G. F., J. S. BUTEL and L. N. ORNSTON (1995): Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 20 edition. Prentice-Hall Inc. London, Sydney, Toronto, Mexico, New Delhi, Tokyo, Singapore, Rio de Janeiro, New Jersey.
4. CSLI M31A3 (Clinical and laboratory standards institute) (2008): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved standards, Third Edition.
5. FRANK, F. W. and W. A. MEINERSHAGEN (1961): Tularemia epizootic in sheep: A review of the disease and controlled clinical study of treatment. Vet. Med. 56, 374-378.
6. HOWE, C., L. L. CORIELL, J. H. L. BOOKWALTER and H. V. ELLINGSON (1946): Streptomycin treatment of tularemia. J.A.M.A. 132, 195-200.
7. QUINN, P. J., M. E. CARTER, B. MARKEY and G. R. CARTER (1994): Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing. London.
8. TIMONEY, J. F., J. H. GILLESPIE, F. W., SCOTT and J. E. BARLOUGH (1992): Hagens and Bruner's Microbiology and infectious Diseases of Domestic Animals. Comstock Publishing Associates. Ithaca and London.
9. ZAHARIJA, I. (1978): Zarazne bolesti domaćih životinja. Školska knjiga, Zagreb.

Tularemia – specificity of morphological findings, isolation of agent from hare and sensitivity to antimicrobial agents

Boris HABRUN, DVM, Ph.D., Scientific Advisor, Dinko NOVOSEL, DVM, Junior Researcher, Gordan KOMPES, DVM, Junior Researcher, Croatian Veterinary Institute Zagreb

Tularemia is very rarely diagnosed in wild rodents in Croatia. After 1983, it was diagnosed in March 1999 in the village of Bukeyje (Velika Gorica) where a diseased rabbit was found that died on the following day. After that, it was diagnosed in a rabbit in the surroundings of Čakovec in 2009. The rabbit was caught by a hunting dog and was not shot. The clinical image and patho-anatomical results of both rabbits were characteristic of tularemia, and *Francisella tularensis* was isolated by a bacteriological test. Diffusion process on Francis agar determined the sensitivity of the isolate to antimicrobial agents. Both isolates were resistant to antibiotics of penicillin group (penicillin G,

ampicillin, amoxicillin, amoxicillin + clavulanic acid), macrolides (erythromycin, azithromycin), sulfonamides (sulfamethoxazole) and potentiated sulfonamides (sulfamethoxazole + trimethoprim), lincomycin and 1st generation cephalosporin (cephalexin). Both isolates were sensitive to aminoglycoside antibiotics (streptomycin, neomycin and gentamycin), aminocyclitols (spectinomycin and apramycin), oxytetracyclin, fluoroquinolones (enrofloxacin and ciprofloxacin) and 3rd generation cephalosporin antibiotic (ceftiofur). In our opinion, the sensitivity data of the isolate will be of use in determination of therapy for humans with tularemia.

GOSPODARSKA SPOMEN-KNJIGA

(Priobduje V, dr. K.)

17. Lipanj 1856, Gospodarsko društvo predstavlja, da se što prije nameste po čitavoj Hrvatskoj i Slavoniji kotarski živinari.

“Gospodarski list” (Zagreb), 12, 95, 1881 (god. 29) (20. lipnja 1881.).

Veterinarsko-medicinski proizvodi kontrolirani u Hrvatskom veterinarskom institutu tijekom 2008. godine

Svjatlana Terzić, Ksenija Šandor, Irena Žarković i Miroslav Andrišić



Uvod

Prema propisima koji reguliraju promet i kontrolu veterinarsko-medicinskih proizvoda (VMP) (Zakon o veterinarsko-medicinskim proizvodima „Narodne novine“ br. 84/08., Pravilnik o načinu provjere kakvoće veterinarskog lijeka, ljekovitog dodatka i veterinarsko-medicinskog proizvoda te o načinu njihova čuvanja i vođenja očevidnika o provedenoj provjeri kakvoće „Narodne novine“ br. 148/99.), Hrvatski veterinarski institut kontrolira kvalitetu VMP koji se stavljaju na tržište u Republici Hrvatskoj. Kontrola se provodi u svrhu redovite provjere VMP proizvedenih u Hrvatskoj, provjere kvalitete uvezenih VMP, uzoraka VMP dostavljenih u svrhu dobivanja odobrenja za stavljanje u promet i prema zahtjevu Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog

razvoja. U 2008. godini u Hrvatskom veterinarskom institutu kontrolirano je ukupno 3.228 različitih uzoraka VMP prema metodama proizvođača, prema propisima Europske farmakopeje (European Pharmacopoeia, 2008.), Hrvatske farmakopeje (2007.) te prema internim metodama. Redovita kontrola provedena je na 2.853 uzorka s ukupno 12.550 analiza od kojih je 212 provedeno akreditiranim metodama, dok je 375 uzoraka analizirano u svrhu dobivanja/produženja odobrenja za stavljanje u promet ili druge svrhe.

Provjera kvalitete VMP obavlja se u više Laboratorija HVI-a, a po obavljenim se analizama izdaje Izvješće o rezultatima pretraživanja. Izvješće sadržava, uz rezultate analize i podatke o VMP (farmaceutski oblik, opremljenost, rok

Dr. sc. Svjetlana TERZIĆ, dr. vet. med., znanstvena savjetnica, Ksenija ŠANDOR, dipl. inž. kemije, Irena ŽARKOVIĆ, dr. vet. med., Miroslav ANDRIŠIĆ, dr. vet. med., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

valjanosti), podatke o proizvođaču, uvozniku i količini jediničnih pakovanja i broj i oznaku „markice“ kojom se potvrđuje da je obavljena kontrola navedene serije VMP (za uvezene VMP) ili je tiskana na ambalaži (u slučaju domaćih proizvođača).

Kako bi se dobio uvid u VMP na tržištu Republike Hrvatske prema njihovim aktivnim tvarima ili prema njihovim farmakološkim skupinama, napravljena je analiza strukture i zastupljenosti prema vrstama farmakološki aktivnih tvari. Analizom su obuhvaćeni samo VMP za koje je zatražena kontrola i prema podatcima koje su proizvođači ili zastupnici obvezni uz ostale podatke o VMP navesti u zahtjevu za kontrolu.

Materijal i metode

Analiza se temeljila samo na službenim podatcima HVI-a tj. na podatcima iz zahtjeva uvoznika ili proizvođača evidentiranih u Hrvatskom veterinarskom institutu putem VETLAB sustava (internog programa

koji omogućava sve postupke od prijema uzoraka do ispisa analitičkog izvješća) u 2008. godini.

Svi uzorci razvrstani su prema aktivnim tvarima, farmakološkim skupinama i broju jediničnih pakovanja.

Biološki VMP podijeljeni su na inaktivirana i atenuirana cjepiva i cjepiva koja sadržavaju obje vrste antigena te na ostale VMP biološkog podrijetla. Također su unutar svake navedene skupine i svake skupine životinja za koje su cjepiva namijenjena izdvojena najzastupljenija bakterijska, odnosno virusna cjepiva.

Rezultati

Dobiveni rezultati svrstani su u tablice koje osim farmakološke skupine sadrže i podatke o aktivnim tvarima te broju uvezenih jediničnih pakovanja, odnosno u slučaju cjepiva vrste životinja, cjepiva razvrstana prema vrsti antigena i broj doza uvezenih ili proizvedenih cjepiva.

*odnosi se na serije koje su bile dostavljene na kontrolu u HVI

Tablica 1. Prikaz zastupljenosti (jediničnih pakiranja) veterinarsko-medicinskih proizvoda s obzirom na aktivne tvari kontroliranih u HVI-u tijekom 2008. godine.

Skupina	Aktivne tvari	Broj uvezenih/proizvedenih jediničnih pakovanja*
β laktamski	Penicilini (amoksicilin, benzilpenicilin i dr.)	174.849
	Cefalosporini (cefadroksil, cefkvinom, cefovicin, ceftiofur i dr.)	20.643
	Kloksacilin	5.131
β laktamski i aminoglikozidi	Penicilin/DHS	22.722
	Penicilin/neomicin	10.751

Skupina	Aktivne tvari	Broj uvezenih/proizvedenih jediničnih pakovanja*
Aminoglikozidi	Gentamicin DHS	11.864 750
Kinoloni	Enrofloksacin Flumekvin Marbofloksacin	47.045 1.278 8.203
Makrolidi	Tulatromicin Tilozin Spiramicin/metronidazol Spiramicin Eritromicin	1.595 3.329 3.800 1.497 1.214
Tetraciklini	Doksiciklin OTC i kombinacija s drugim Tetraciklin Doksaciklin	3.200 282.020 3.717 400
Amfenikoli	Florfenikol	26.107
Linkozamidi i kombinacije	Linkomicin klorid Linkomicin/spektinomycin Linkomicin/neomicin	2.110 5.989 464
Polipeptidni antibiotici	Kolistin sulfat Polimiksin sulfat	13.712 1.342
Sulfonamidi	Sulfaguanidin	3.184
Sulfonamidi/ di-aminopirimidini	Sulfadoksin/trimetoprim Sulfadiazin/ trimetoprim Sulfamonometoksin/trimetoprim Sulfadimidin/trimetoprim	3.232 3.522 23.900 356
Pleuromutilini	Tiamulin	10.847
Antikokcidijski lijekovi	Toltrazuril Diklazuril Salinomycin Monenzin Na	1.746 3.192 592 2.438

Skupina	Aktivne tvari	Broj uvezenih/proizvedenih jediničnih pakovanja*
Insekticidi i antelmintici	Ciflutrin	225
	Flumetrin	20.473
	Ivermektin	3.685
	Doramektin	1.271
	Levamisol	3.778
	Tetrametrin/permetrin/piperonil	6.890
	butoksid	2.270
	Albendazol	1.799
	Permetrin	4.311
	Klozantel	91.137
	Fipronil	400
	Akrinatrin	6.165
	Fenbendazol	2.752
	Deltametrin	624
	Foksim	4.808
	Selamektin	19.023
	Amitraz	2.939
	Prazikvantel	14.500
	Mebendazol	4.549
	Prazikvantel/pirantel embonat	2.831
	Flubendazol	1.550
	Kumafos	201
	Eprinomektin	19.731
	Pirantel pamoat	3.218
	Pirantel/prazikvantel	3.799
	Pirantel/prazikvantel/febantel	11.452
	Imidiklopid/moksidektin	38.101
	Imidiklopid	
Kortikosteroidi	Prednizolon i deksametazon	8.620
	Deksametazon	4.301
Hormoni (u re-produkciji)	Gonadotropin	4.133
	Progesteron	499
	Progesteron i estrogen	225
	D-phe6-gonadorelin	3.701
	Prostaglandin	5.930
	Oksitocin	15.763
Dezinficijensi	GnRF	12.964
	Kalijev peroksimonosulfat	12.364
	Eterična ulja/kamfor/mentol	1.100
	Polikrezulen	503

Skupina	Aktivne tvari	Broj uvezenih/proizvedenih jediničnih pakovanja*
Vitaminsko- mineralni VMP	Željezo	2.567
	Vitaminski B kompleks	598
	Natrijev selenit	2.000
	Kalcijev glukonat	41.808
	β karoten	3.040
	Vitamin B12 i minerali	10.898
	Minerali/glukoza	4.197
	Minerali	3.317
Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSPUL)	Vitaminski AD3E	36.142
	Fenilbutazon	622
	Flunixin meglumin	1.797
	Ketoprofen	6.238
VMP koji djeluju na CNS (sedativi i dr.)	Tolfenamična kiselina	589
	Atipamezol hidrat	348
	Medetomidin	735
	Detomidin	100
	Ketamin hidroklorid	2.402
	Ksilazin hidroklorid	1.759
Antitusici/ekspektoransi	Acepromazin	1.310
	Dekstrometorfan	531
Analgetici	Bromheksin	3.500
	Butorfanol	101
Probiotici		500
Ostalo	Menbuton	5.097
	Mikonazol/polimiksin B sulfat/ prednizolon	5.731
	Metil salicilat/kamfor/mentol	7.393
	Denaverin hidroklorid	351
	Embutramid	3.063
	Tiamulin hidrogen fumarat	581
	Eilkonazon	1.673
	Karbegolin	370
	Kimotripsin/tripsin/papain	250
	Fenilpropanolamin	498

Tablica 2. Prikaz zastupljenosti bioloških VMP izraženih u dozama kontroliranih u HVI-u tijekom 2008. godine

Vrsta životinja	Broj doza			
	Atenuirana cjepiva	Inaktivirana cjepiva	Kombinirana atenuirana i inaktivirana cjepiva	Ukupno
Goveda	80.000	15.655	80.930	176.585
Svinje	53.510	759.060	-	812.570
Ovce	-	70.250	-	70.250
Perad	49.444.350	5.648.000	-	55.092.350
Psi/mačke	4687	455.397	109.659	569.743
Konji	200	-	-	200
Kunići	16.000	15.000	-	31.000
Ukupno	49.598.747	6.961.362	190.589	56.750.698

Tablica 3. Ostali biološki VMP (dijagnostička sredstva, serum) kontrolirani tijekom 2008. godine

Veterinarsko-medicinski proizvod	Količina
bovini tuberkulin	93.500 doza
avijarni tuberkulin	35.900 doza
tetanus antitoksin	35,2 L

Rasprava

Rezultati dobiveni obradom podataka dali su informaciju o najčešće zastupljenim VMP u Hrvatskoj. S obzirom na različite farmaceutske oblike, koncentracije i različita pakovanja veoma je teško izraziti količine VMP na drugi jednoznačni način osim kao jedinično pakovanje. Uzimajući u obzir još i vrste životinja, doze, kombinacije aktivnih tvari, način primjene te druge elemente koji utječu na potrošnju VMP, ovakvom analizom moguće je dobiti samo osnovne podatke o vrstama aktivnih tvari i ukupnim količinama VMP. Međutim, do sada se nije provela slična procjena te stoga dobiveni rezultati mogu biti osnova za preciznije analize koje bi dale cjelovitije podatke o pojedinim aktivnim tvarima, farmakološkim skupinama i slično.

Količine pojedinih VMP iskazane na ovaj način indirektno ukazuju i na njihovu potrošnju tj. primjenu u liječenju i preventivi, a dobiveni podatci za lijekove koji se koriste u veterinarskoj medicini i imaju propisanu karenciju mogu poslužiti pri izradi monitoring plana praćenja rezidua u životinja koje služe za hranu. Sve aktivne tvari i drugi sastojci VMP odobreni su za stavljanje u promet u Hrvatskoj i svrstane su u Dodatak I., II. ili III. Pravilnika o najvećim dopuštenim količinama rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla „Narodne novine“ br. 75/08. Navedeni je Pravilnik usklađen s Direktivom 2377/90. Prema podacima kojima raspolaže HVI niti jedna od zabranjenih tvari iz Dodatka IV. Pravilnika nije deklarirana u VMP koji su stavljeni na tržište.

Analizom uzoraka dostavljenih na kontrolu utvrđeno je da su svi uzorci u vremenu propisanom rokom valjanosti zadovoljili zadane kriterije kvalitete (npr. sastav, količina pojedinih sastojaka, pH, sadržaj vode i sl.).

Uspoređujući dobivene podatke o distribuciji jediničnih pakovanja VMP najbrojnija je teraciklinska skupina VMP s obzirom na farmaceutske oblike i koncentracije, ali i s obzirom na broj gotovih veterinarsko-medicinskih proizvoda koji su u 2008. godini stavljeni na tržište Hrvatske. Za njima slijede VMP iz skupine β laktamskih lijekova i njihovih kombinacija s drugim aktivnim tvarima te kinoloni različitih proizvođača i formulacija. Prema zastupljenosti slijede potencirani sulfonamidi te velika skupina različitih aktivnih tvari koje se koriste kao antiparazitici npr. insekticidi, antihelminthici i kokcidistatici. Navedene aktivne tvari primjenjuju se u liječenju brojnih bolesti u svih vrsta domaćih životinja. Najčešći farmaceutski oblici su oni za peroralnu primjenu (otopine, prašci, tablete, suspenzije), potom VMP za injekcije, pripravci za vanjsku primjenu te intramamarni pripravci. Drugi su načini primjene također zastupljeni ali u razmjerno manjem opsegu.

Znatan udio kontroliranih uzoraka čine i vitaminsko-mineralni veterinarsko-medicinski proizvodi te hormoni i to posebice oni koji se koriste u reprodukciji.

U kategoriji bioloških VMP procjena zastupljenosti pojedinih cjepiva je preciznija budući da su količine izražene u dozama. U ovoj skupini pretežito su zastupljena cjepiva, nešto serum i

dijagnostička sredstva (npr. tuberkulin). Količina bioloških VMP koji se stavljaju na tržište u Hrvatskoj varira od godine do godine, a ovisi o epizootiološkoj situaciji. Međutim, zastupljenost nekih od cjepiva koja se primjenjuju u programima cijepljenja posljednjih se godina kreće u približno istim količinama. S obzirom na primjenu istih cjepiva u različitim životinjskih vrsta nije ih moguće točno razvrstati na temelju podataka koji su na raspolaganju, stoga je u nekim slučajevima navedeno da se koriste samo za jednu vrstu životinja.

Najveći broj uzoraka cjepiva, ali i doza odnosi se na cjepiva koje se primjenjuju u peradarstvu. Ona imaju znatan utjecaj na cjelokupnu sliku prometa veterinarskim cjepivima ali i na odnos broja doza bakterijskih i virusnih cjepiva. Promatramo li ukupni odnos broja doza atenuiranih cjepiva prema inaktiviranim vidljivo je da je zastupljenost atenuiranih cjepiva i njihova količina značajno veća od inaktiviranih kojih je samo oko 14%. Broj doza virusnih cjepiva također je značajno veći od udjela bakterijskih s obzirom da su u preventivi bolesti peradi kod nas zastupljena isključivo virusna cjepiva.

Međutim, bakterijska cjepiva (broj doza proizvedenih ili uvezenih u Hrvatsku tijekom 2008. godine) najzastupljenija su među cjepivima za svinje. Čak oko 85% ukupnih doza cjepiva za svinje su bakterijska cjepiva.

Osim cjepiva u 2008. godini na tržište je stavljeno 93.500 doza bovinog tuberkulina i 35.900 doza avijarnog i 35,2 L tetanus antitoksina. Kako je već navedeno, svi VMP koji su tijekom 2008. god. bili kontrolirani u HVI imaju odo-

brenje za stavljanje u promet, međutim posebnom odlukom Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja dozvoljen je uvoz i obavljena kontrola jedne serije cjepiva protiv antraksa i dvije serije tuberkulina.

Velik udio VMP namijenjen je i za liječenje kućnih ljubimaca tj. životinja koje ne ulaze u hranidbeni lanac ljudi, no stvarnu količinu VMP koji se koriste za te kategorije nije moguće realno sagledati iz podataka koji su dostupni. Međutim, s priličnom sigurnošću moguće je odrediti broj doza cjepiva za pse i mačke od čega je najviše bilo cjepiva protiv bjesnoće tj. 363.097 doza što je oko 63% od ukupnog broja doza cjepiva za pse i mačke. Iako su cjepiva protiv bjesnoće namijenjena za cijepljenje i drugih vrsta domaćih životinja njihova najveća primjena je u pasa.

Budući da se ovi podatci odnose samo na zahtjeve koji su dostavljeni sukladno nacionalnim propisima, moguće je odstupanje od stvarnog stanja na tržištu. Razlika bi mogla nastati u koliko nije poštivana procedura propisana navedenim Zakonom i Pravilnikom tj. ako su uvezeni VMP stavljeni u promet bez odobrenja za stavljanje u promet, ako su uvezeni ili proizvedeni nelegalno ili nisu bili dostavljeni na obveznu kontrolu.

Uz praćenje prometa (uvoza i proizvodnje) pravu sliku potrošnje VMP moglo bi se dobiti na temelju evidencije o liječenju ili preventivi domaćih životinja te bi objedinjeni podatci mogli poslužiti za analizu rizika s obzirom na rezidue veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani.

Sažetak

Analizom podataka o kontroli kvalitete veterinarsko-medicinskih proizvoda (VMP) kako kemofarmaceutskih tako i bioloških dobio se okvirni uvid u zastupljenost pojedinih aktivnih tvari, odnosno vrsta cjepiva u prometu u Republici Hrvatskoj. S obzirom na način vođenja evidencije o kontroli VMP koja se provodi u Hrvatskom veterinarskom institutu moguće je dobiti i preciznije podatke za pojedine aktivne tvari, farmaceutske oblike, vrste životinja za koje je VMP namijenjen, a s podacima o potrošnji VMP na temelju evidencije veterinara moguće je dobiti potpune podatke. Ovako objedinjeni podatci mogli bi biti korisna informacija za analizu rizika u monitoringu rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani.

Literatura

1. Anon. (2007): Hrvatska farmakopeja s komentarima, Hrvatsko farmaceutsko društvo, Zagreb.
2. Anon. (2008): European Pharmacopoeia 6th Edition, European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. Council of Europe, Strasbourg.
3. Pravilnik o načinu provjere kakvoće veterinarskog lijeka, ljekovitog dodatka i veterinarsko-medicinskog proizvoda, te o načinu njihova čuvanja i vođenja očevidnika o provedenoj provjeri kakvoće „Narodne novine“ br. 148/99.
4. Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla „Narodne novine“ br. 75/08.
5. Zakon o veterinarsko-medicinskim proizvodima „Narodne novine“ br. 84/08.

Veterinary Medicine Products Controlled at the Croatian Veterinary Institute in 2008

Svjetlana TERZIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Advisor, Ksenija ŠANDOR, Graduate Chemistry Engineer, Irena ŽARKOVIĆ, DVM, Miroslav ANDRIŠIĆ, DVM, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Data analysis on the quality control of veterinary medicine products (VMP), both chemo-pharmaceutical and biological, provided an overall view of the presence of specific active substances and vaccine types in trade in the Republic of Croatia. Due to the records on VMP control kept at the Croatian Veterinary Institute, it is possible to obtain more precise

information for specific active substances, pharmaceutical forms, animals for which VMP is intended, and with the information on VMP consumption based on veterinarians' records, full information is available. Such integral information could be of use for risk analysis in the monitoring of VMP residues in food.

Ecocid® S

SIGURAN I DJELOTVORAN

- ▶ Univerzalni visoko djelotvoran dezinficijens za sigurnu i vrlo učinkovitu zaštitu od uzročnika zaraznih bolesti koje ugrožavaju zdravlje ljudi i životinja.
- ▶ Dezinficijens širokog spektra virucidnog, baktericidnog i fungicidnog djelovanja.
- ▶ Vodotopivi prašak, namjenjen za opću uporabu te za profesionalne i industrijske korisnike.
- ▶ Siguran za okoliš, ljude i životinje.
- ▶ Kompatibilan je sa HACCP.



Sastav Ecocid S je uravnotežena stabilizirana smjesa peroksidnih spojeva, površinski aktivne tvari, organske kiseline i anorganskog puferskog sustava. **Uputa za uporabu** Radna otopina Ecocida S koristi se u obliku spreja, magle, kupke za papke te dezinfekcijske barijere. **Za dezinfekciju prethodno očišćenih površina i opreme pripremite 1% otopinu Ecocida S. Oprema** Kutija sa 25 vrećica po 50 g praška, vrećica po 1 kg i 2,5 kg praška.

Biocide koristite s oprezom. Prije uporabe obavezno pročitajte upute i podatke o proizvodu.



Naša inovativnost i znanje posvećeni su zdravlju. Zbog toga naša odlučnost, ustrajnost i iskustvo zajedno doprinose jednom cilju - razvoju djelotvornih i neškodljivih proizvoda vrhunske kvalitete.

Detaljnije informacije možete dobiti od firme:

KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/I, p.p. 205, Zagreb 10002, Telefon 01/63 12 100, 63 12 101, Faks 01/61 76 739, E-mail: krka-farma@gg.hinet.hr, www.krka-farma.hr

Transfuzija krvi u mačaka

Maja Jenčić, Damjan Gračner, Ljiljana Bedrica i Gordana Gregurić Gračner



Uvod

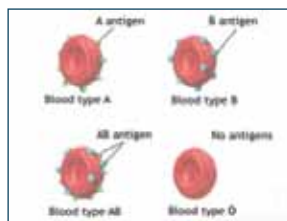
Transfuzija krvi definirana je kao jednostavni oblik transplantacije. To je, zapravo, postupak liječenja različitih patoloških stanja, a sastoji se u tome da se krv zdrave životinje prenese u optok krvi bolesne životinje. Indikacije za transfuziju su različite vrste anemija, koagulopatija, bolesti jetre te maligne i mnoge druge bolesti.

Jedna od najznačajnijih osobina imunološkog sustava je da ne stvara protutijela protiv antigena na vlastitim stanicama, no ako se prenesu stanice jedne osobe u drugu osobu, kao što je slučaj kod transfuzije, primalac reagira stvaranjem protutijela protiv svih primljenih antigena koja sam ne posjeduje.

Krvne grupe i njihova učestalost u mačaka

Krvne grupe u mačaka podijeljene su prema tzv. AB sustavu. Postoje tri

krvne grupe A, B i AB, a određene su prema prisutnosti jednog od dvaju antigena (A i B), tj. specifičnih ugljikohidrata koji su vezani na membranske lipide i proteine na površini eritrocita (Bedrica i sur., 2004.).



Slika 1. Eritrocitni antigeni i krvne grupe

Učestalost pojedine krvne grupe različito je zastupljena u pojedinim pasmina, a zamijećene su i različitosti unutar jedne pasmine, ovisno o geografskom podrijetlu pojedine uzgojne linije. Poznato je da u populaciji nekih čistokrvnih mačaka zastupljenost krvne grupe B može varirati između 10 i 50% (Bedrica i sur., 2004.) Također,

Maja JENČIĆ, dr. vet. med.; dr. sc. Damjan GRAČNER, dr. vet. med., docent, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. vet. med., redovita profesorica, dr. sc. Gordana GREGURIĆ GRAČNER, dr. vet. med., znanstvena novakinja, Veterinarski fakultet, Zagreb

podatci o učestalosti krvnih grupa u europskih domaćih mačaka upućuju na povezanost učestalosti krvne grupe i geografskog podrijetla (Tablica 1.) (Auer i Bell, 1981.).

Npr. u Sjedinjenim Američkim Državama u populaciji Devon Rex mačaka učestalost krvne grupe B je oko

45%, a sve do tada tipizirane sijamske, američke kratkodlake, orijentalne kratkodlake i burmanske mačke imale su krvnu grupu A (Tablica 2.). Krvna se grupa AB javlja vrlo rijetko, no do sada je utvrđena kod domaće kratkodlake, abesinske, norveške šumske, perzijske, britanske kratkodlake, škotske i somal-

Tablica 1. Učestalost pojedine krvne grupe u domaćih kratkodlakih i dugodlakih mačaka u europskim državama (Auer i Bell, 1981.)

Zemlja podrijetla	Ukupan broj pretraženih mačaka	Krva grupa A (%)	Krvna grupa B (%)
Austrija	101	97,0	3
Vel. Britanija	477	97,1	2,9
Finska	61	100,0	0
Francuska	350	85,1	14,9
Njemačka	600	94,0	6
Italija	401	88,8	11,2
Nizozemska	103	96,1	3,9
Škotska	70	97,1	2,9
Švicarska	1018	99,6	0,4

Tablica 2. Učestalost krvnih grupa A i B u određenih pasmina mačaka u Sjedinjenim Američkim Državama (Griot-Wenk i Giger, 1991.).

Pasmina	Grupa A (%)	Grupa B (%)
Britanska kratkodlaka	41	59
Orijentalna kratkodlaka	100	0
Američka kratkodlaka	100	0
Norveška šumska	100	0
Devon Rex	57	43
Perzijska	76	24
Somalijska	78	22
Abesinska	80	20
Himalajska	80	20
Sveta Birma	82	18
Scottish Fold	85	15
Sijamska	100	0
Tonkineška	100	0
Burmanska	100	0

ske mačke. Zanimljivo je da je kod bengalskih mačaka učestalost krvne grupe AB znatno veća. Prema nekim autorima to se može protumačiti križanjem s azijskom divljom mačkom (Auer i Bell, 1981., Griot-Wenk i Giger, 1991.).

Klinička važnost krvnih grupa u mačaka

Klinička se važnost krvnih grupa u mačaka temelji na činjenici da se u krvi mačke određene krvne grupe nalaze alopolutijela koja reagiraju na prisutnost bjelančevina heterologne krvne grupe. Tako mačke krvne grupe B, u više od 95% slučajeva sadrže srednje do visoke razine titra hemaglutinirajućih (IgM) i hemolitičnih (IgM i IgE) protutijela protiv antigena krvne grupe A. No, u mačaka krvne grupe A pronađena su protutijela za antigene krvne grupe B samo u 25 % slučajeva i to u vrlo niskim titrima. Vrlo rijetka krvna grupa AB ne sadrži alopolutijela (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Ova alopolutijela imaju kliničku važnost u sljedećim slučajevima: transfuzije krvi s visokim rizikom transfuzijskih reakcija i opasnosti skraćenja poluživota eritrocita te kod neonatalne izoeritrolize (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Indikacije i pripravci za transfuziju

Ciljevi davanja transfuzije uključuju povećanje kapaciteta prijenosa kisika, nadomještanje nepostojećih ili disfunk-

cionalnih hemostatskih komponenata (proteina, faktora koagulacije ili trombocita), nadomještanje proteina plazme čime se povećava osmotski tlak, nadomještanje leukocita te povećanje volumena (povećanje hidrostatskog tlaka) krvi (Kristensen i Feldman, 1995.). Najčešće su indikacije za transfuziju različite vrste anemija koje mogu biti regenerativne i neregenerativne naravi. Hipoproteinemije i hipovolemije uzrokovane krvarenjem također predstavljaju indikacije za transfuziju. Nadalje, treba spomenuti nedostatke faktora zgrušavanja prirodne (hemofilija A, hemofilija B) i stečene (trovanje antikoagulansima, ugrizi zmija otrovnica) prirode.

Nadoknada eritrocita neophodna je u sljedećim slučajevima:

- ako hematokrit naglo padne ispod 12-15% u mačaka; daje se 13-22 ml/kg tjelesne težine jednom ili dva puta tijekom 24 sata (Lubas, 1996.)
- ako je izgubljeno više od 30% ukupnog volumena krvi (to približno iznosi 20 ml/kg tjelesne težine u mačaka)
- ako je gubitak krvi doveo do kolapsa
- ako je krvarenje pojačano
- u slučajevima kada standardna antišok terapija ne daje rezultate (Crystal i Cotter, 1992.).

Ovisno o uzroku gubitka krvi u pacijenta te o tome koju komponentu krvi želimo nadoknaditi, odlučujemo se za određeni krvni pripravak. Krvni pripravci su stanični i plazmatski. Najčešće upotrebljavani stanični pripravak je puna krv, a postoje još i koncentracije eritrocita, plazma bogata trombocitima

i koncentratu trombocita te leukociti. Pripravci plazme su svježe smrznuta plazma, pohranjena smrznuta plazma i krioprecipitati.

Transfuzijske reakcije

Imunološke transfuzijske reakcije

Akutna intravaskularna hemolitička reakcija

Visoka razina anti-A protutijela u mačaka krvne grupe B, u kliničkom smislu znači da ove mačke nose visoki rizik od transfuzijske reakcije prime li krv mačke krvne grupe A. Isto tako, neke pasmine imaju veću učestalost krvne grupe B pa je stoga kod ovih pasmina i rizik od transfuzijske reakcije povećan (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Ako mačka krvne grupe B primi krv grupe A, donirani eritrociti bivaju uništeni u roku od nekoliko minuta ili nekoliko sati ovisno o titru. Prvi se klinički znakovi pojavljuju u prvim nekoliko sekundi nakon primanja 1-2 ml krvne grupe A i tipični su za akutnu anafilaktičku reakciju, a to su: nemir, učestalo i nekontrolirano mokrenje, povraćanje, slinjenje, kolaps, midrijaza, hipopneja, apneja, bradikardija, disritmija i hipotenzija. Ovi klinički znakovi najčešće traju 1-5 minuta, a slijede ih: tahikardija, disritmija, hipertenzija, tahipneja. Zbog akutne intravaskularne hemolize razvijaju se i hemoglobinemija i hemoglobinurija.

Iako transfuzijske reakcije mogu biti fatalne, neke mačke, zbog niskog titra protutijela, imaju samo neke subakutne simptome.

Transfuzijske reakcije u mačaka krvne grupe A koje su primile krv

krvne grupe B nisu zabilježene, ali znatno skraćenje poluživota eritrocita u ovim slučajevima predstavlja znatan problem (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Skraćenje poluživota transfundiranih eritrocita

Poluživot transfundiranih eritrocita u mačaka kojima je dana homologna krv je 30-38 dana. Podjednaki rezultati utvrđeni su i kod A i B alogenskih transfuzija. No, kod heterogenih transfuzija eritrociti imaju znatno kraći poluživot. Ovisno o anti-A titru, mačke krvne grupe B mogu imati znatno kraći poluživot eritrocita (minute ili samo nekoliko sati), a eritrociti B krvne grupe, transfundirani mački krvne grupe A, najčešće imaju poluživot u trajanju od 2 dana (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Neonatalna izoeritroliza

To je imuna hemolitička bolest novorođenčadi mačića krvne grupe A (ili AB) čija je majka krvne grupe B. Mogućnost se za nastanak bolesti javlja pri parenju mačaka krvne grupe A s mačkama krvne grupe B, a šanse se za to povećavaju kod pasmina kod kojih je krvna grupa B češća (Bedrica i sur., 2004.).

U kolostrumu se i mlijeku mačaka krvne grupe B nalaze anti-A protutijela te se u mačića nakon sisanja, ova IgG protutijela mogu resorbirati preko crijevne sluznice i doći u krv tijekom prvih 24 sata života. Ovisno o visini titra protutijela u majčinoj krvi i kolostrumu te o količini apsorbiranih protutijela, u mačića krvne grupe A može se razviti

hemolitička anemija i smrt tijekom 2 do 3 dana nakon rođenja. Iako je opisano samo nekoliko slučajeva neonatalne izoeritrolize, stvarnu je incidenciju teško utvrditi jer mnogi mačići uginu bez definirane dijagnoze. Klinička su slika i prognoza vrlo različite: od nagle slabosti i uginuća unutar prva dva dana života do sasvim blagih općih kliničkih znakova praćenih pojavom nekroze vrha repa i ušiju koji otpadnu 10. do 14. dana života. Kod određenog broja mačića vanjski simptomi nisu vidljivi, a mačići nakon nekoliko tjedana ugibaju zbog jakog oštećenja unutarnjih organa (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Neonatalna se izoeritroliza danas smatra jednim od glavnih uzroka neonatalnog uginuća i zadaje veliki problem pri uzgoju čistokrvnih mačaka. Određivanjem krvne grupe mužjaka i ženke prije parenja ta se pojava može spriječiti bilo odabirom drugog mužjaka ili odvajanjem mačića od majke tijekom prvih 16 do 24 sata života. Naime, nakon tog vremena crijevna sluznica mačića postaje nepropusna za protutijela iz kolostruma pa nema opasnosti od njihova kontakta s eritrocitima.

Osim neonatalne izoeritrolize, kao poseban problem, spominje se prenatalni gubitak mačića. Naime, prema nekim podacima, u mačaka parenih s mužjacom nepodudarne krvne grupe češće dolazi do pobačaja između 6. i 8. tjedna gravidnosti. Ta pojava do sada nije dostatno istražena, no moguće je da u nekim slučajevima aloprotutijela mogu proći kroz placentu i uzrokovati prenatalnu smrt mačića nepodudarne krvne grupe (Griot-Wenk i Giger, 1991.).

Neimunološke transfuzijske reakcije

Reakcije koje nastaju zbog bakterijske kontaminacije ili reakcije antigen-protutijelo koja uključuje limfocite, granulocite ili trombocite, a uglavnom su karakterizirane vrućicom. Takve reakcije najčešće prolaze same od sebe ili se liječe antipireticima i antibioticima (Steinberger-Gjermek i sur., 1999.).

Cirkulatorno preopterećenje javlja se kao posljedica prevelike količine ili prebrzog toka transfuzije krvi. Simptomi su nemir, povraćanje, kašalj, tahikardija, dispneja i cijanoza. U tom slučaju transfuziju treba prekinuti barem na 10-15 minuta, dok ne procijenimo kliničke znakove. Ako je potrebno nastaviti transfuziju, onda protok maksimalno smanjujemo (Steinberger-Gjermek i sur., 1999.).

Druge se komplikacije, kao što su npr. intoksikacija citratom ili hipokalcemija, vrlo rijetko pojavljuju i uglavnom su reverzibilnog karaktera (Steinberger-Gjermek i sur., 1999.).

Postupak izvođenja transfuzije

Prije transfuzije krvi potrebno je učiniti neke dijagnostičke pretrage kako bi se odredili uzroci gubitka krvi u pacijenta i formulirala prognoza, a to su: hematokrit, krvni razmaz (zbog broja retikulocita-regenerativna i ner-regenerativna anemija, nalaz mogućeg uzročnika bolesti-*Haemobartonella felis*, ili dokaza eventualne leukemije), prisutnost FeLV i FIV protutijela, pretraga plazme ili seruma (zbog moguće prisutnosti ikterusa ili hemoglobinemije), pretraga hemostatskih parametara (broj trombocita, protrombinsko vrijeme, vrijeme zgrušavanja), Coomb-

sov test kod sumnje na autoimunu hemolitičku anemiju (Knottenbelt i Mackin, 1998.).

Tipizacija krvi

Pod pojmom prave tipizacije krvi podrazumijevamo točno određivanje krvne grupe određene jedinke. U tu svrhu služe komercijalni testovi (kitovi) koji se temelje na djelovanju anti-A ili anti-B seruma na uzorak krvi. Reakcija aglutinacije posljedica je međudjelovanja aloprotutijela iz seruma s eritrocitnim antigenom jedinke čiju krvnu grupu određujemo. Kao anti-A serum služi serum mačke za koju se zna da ima krvnu grupu B, a samim time ima i vrlo jaka serumska protutijela za A antigen. Međutim, aloprotutijela za krvnu grupu B u serumu mačaka krvne grupe A znatno su slabija. Zbog toga se kao anti-B serum upotrebljava lecitin pšenice *Triticum vulgaris* u razrjeđenju 1:1 s fiziološkom otopinom (Bedrica i sur., 2004.).

Dobiveni rezultat možemo provjeriti tzv. povratnom tipizacijom. Pritom se koristimo već tipiziranim eritrocitima A i B i izdvojenom plazmom pacijenta te tako zapravo otkrivamo prisutnost aloprotutijela za određeni eritrocitni anti-

gen. Negativna reakcija s oba eritrocitna antigena ukazuje na to da se radi o jedinki koja ima krvnu grupu AB pa nema aloprotutijela ni za jedan eritrocitni antigen (Gračner, 2002.). Ovim se testom otkriva bilo koji tip nepodudarnosti uključujući i onu koja nije strogo vezana za eritrocitne antigene.

Unakižna reakcija ili crossmatching test

Ovim se testom ne određuje krvna grupa, već on služi za određivanje kompatibilnosti između krvi mačke davalateljice i mačke primateljice, a izvodi se na sljedeći način:

1. Izvaditi 0,5 do 1 ml krvi davatelja i primatelja u epruvetu s antikoagulansom.
2. Izvađenu krv centrifugirati (3000 okretaja 5 do 10 minuta) ili ostaviti na sobnoj temperaturi nekoliko sati kako bi se plazma odvojila od eritrocita.
3. Pažljivo pipetama preseliti plazmu u nove epruvete.
4. Pripremiti suspenziju eritrocita: 0,2 ml izdvojenih eritrocita pomiješati sa 4,8 ml fiziološke otopine (razrjeđenje eritrocita sprječava nastanak rouleaux formacija te olakšava mikroskopska zapažanja, ali negativno utječe na intenzitet reakcije aglutinacije).
5. Pripremiti i označiti 4 mikroskopska stakalca i označiti ih:
 - kontrola davatelja (eritrociti davatelja + plazma davatelja)
 - glavna reakcija (eritrociti da-



Slika 2. Komercijalni kitovi za određivanje krvnih grupa u mačaka

- vatelja + plazma primatelja)
 - pomoćna reakcija (eritrociti primatelja + plazma davatelja)
 - kontrola primatelja (eritrociti primatelja + plazma primatelja)
6. Na svako od ovih stakalaca kapnuti po kap plazme i kap suspenzije eritrocita i dobro promiješati.
 7. Lagano nagnjati stakalca prema naprijed i natrag te promatrati reakciju.
 8. Pozitivna je reakcija vidljiva kao reakcija aglutinacije.

Izbor davatelja

Kao davatelje treba izabrati klinički zdrave mačke, koje su testirane na FeLV, FIV, FIP, krvni im je razmaz pretražen na *Haemobartonella felis*, redovito su cijepljene protiv mačjih zaraznih bolesti (Calici virus, Herpes virus, panleukopenija, klamidioza i bjesnoća), tjelesne mase od 5 do 7 kg, u dobi 2 do 8 god, vrijednosti hematokrita iznad 35% i blagog temperamenta. Naravno, neophodno je i odrediti krvnu grupu (Steinberger-Gjermek i sur., 1999.).

Sakupljanje krvi

Iako je humana medicina jako napredovala u razvoju transfuzijskih tehnika pa je i odvajanje pojedinih dijelova krvi (plazma, plazma+trombociti, eritrociti) rutinska stvar, u veterinarskoj se medicini uglavnom upotrebljava puna krv.

Za sakupljanje i eventualno čuvanje pune krvi najčešće se koristimo humanim transfuzijskim setom koji se sastoji od plastične cijevi s ugrađenom iglom koja ulazi u plastičnu vrećicu za

250 ml krvi s 35 ml antikoagulansa, a koja na svojem gornjem dijelu ima dva slijepa završetka na koja se priključuje transfuzijski pribor (Steinberger-Gjermek i sur., 1999.). Transfuzijski se pribor sastoji od plastične cjevčice s oštrim nastavkom koji ulazi u vrećicu, od plastičnog proširenja s filtrom i kapaljkom (pore veličine 170-230 µm, koje zaustavljaju mikrougruške te od plastične cjevčice s adapterom za kani lu (Lubas, 1996.).

Nemamo li takav pribor krv se može skupljati i u staklenu bocu, a za mačke u brizgalicu od 60 ml (Pichler i Turnwald, 1985.). Omjer antikoagulansa i krvi je 14 ml antikoagulansa na 100 ml krvi (Lubas, 1996.). Za davanje pune krvi preporučuje se svakako barem transfuzijski pribor. Kao antikoagulansi mogu služiti CPDA (citrate-phosphate-dextrose-adenine), ACD (acid citrate-dextrose), heparin ili neki drugi antikoagulans. Razlika je u trajnosti konzerviranja. Naime, s CPDA krv možemo čuvati do 4 tjedna na 4° C, s ACD do 2 tjedna na 4° C, a s heparinom je krv uporabljiva samo 48 sati od uzimanja (Pichler i Turnwald, 1985.).



Slika 3. Vrećica za transfuziju



Slika 4. Pribor za transfuziju

Količina i brzina transfuzije

Količina i brzina transfuzije se određuje prema formuli:

KOLIČINA KRVI ZA TRANSFUZIJU = $K \times (H_o - H_p)/H_d$, gdje je:

K = koeficijent, 66 za mačke

H_o = očekivani hematokrit

H_p = hematokrit primatelja

H_d = hematokrit davatelja

Brzina: 2 ml/kg/sat za pacijente s bolešću srca ili s bubrežnom disfunkcijom

5-10 ml/kg/sat za normovolemične pacijente

do 20 ml/kg/sat za hipovolemične pacijente.

Bitno je održavati sterilne uvjete za krv koja se uskladišćuje i izbjegavati uskladištenje tijekom duljeg vremena. Krv treba sakupljati s prikladnom količinom antikoagulansa, a davati je pomoću transfuzijskog pribora. U prvih 15 minuta transfuzije potrebno je pomno pratiti zdravstveno stanje primatelja (Knottenbelt i Mackin, 1998.).

Njega davatelja nakon davanja krvi

Hipotenzija je čiji su glavni klinički znakovi blijede sluznice, tahikardija i slabi puls vrlo česta komplikacija pri davanju krvi u mačaka. Da bi se to preveniralo, najbolje je, prije same donacije, davatelju ubrizgati 90 ml fiziološke otopine s/c te nastaviti terapiju sa 60 ml i/v također fiziološkom otopinom u

trajanju od 15- 20 minuta, počevši u sredini trajanja donacije (Sparkes i Gruffydd-Jones, 2000.).

Sažetak

Zbog prirodno visokog titra izrazito jakih protutijela za nepodudarnu krvnu grupu, mačke se smatraju rizičnim pacijentima u transfuzijskoj medicini. Budući da transfuzijske reakcije mogu predstavljati znatnu komplikaciju prilikom transfuzije krvi, u kliničkoj je praksi potrebno prije samog postupka transfuzije odrediti kompatibilnost krvi primatelja i davatelja uporabom komercijalnih kitova ili primjenom testa unakrižne reakcije. Učestalost se krvne grupe A u mačaka u europskim državama kreće od 85,1% do 100%, a krvne grupe B od 0 do 14,9%. Krvna grupa AB javlja se vrlo rijetko, no do sada je utvrđena kod domaće kratkodlake, abesinske, norveške šumske, perzijske, britanske kratkodlake, škotske i somalske mačke. Prije izvođenja transfuzije krvi potrebno je učiniti dijagnostičke pretrage da bi se ustvrdili uzroci gubitka krvi te prema dobivenim nalazima odredili brzinu transfuzije kao i vrstu i količinu krvnog pripravka.

Napomena

Rad je potpomognut sredstvima projekata MZOŠ RH broj 053-0531863-1861, 053-000000-3655.

Literatura

1. AUER, L. and K. BELL (1981): Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility. Res. Vet. Sci. 35, 145-152.

2. BEDRICA, LJ., I. MAYER, D. GRAČNER, I. HARAPIN i V. HAHN (2004): Važnost krvnih grupa u mačaka. *Vet. Stn.* 35 (1), 21- 25.
3. CRYSTAL, M. A. and S. M. COTTER, (1992): Acute hemorrhage: A hematologic emergency in dogs. *Comp. Contin. Ed.* 14, 60.
4. GRAČNER, D. (2002): Učestalost krvne grupe DEA 1.1. u dalmatinskog psa, istarskog goniča i hrvatskog ovčara. Znanstveni magistarski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
5. GRIOT-WENK, M. and U. GIGER (1991): Feline transfusion medicine. Blood types and their clinical importance. *Vet. Clin. North. Amer. Anim. Pract.* 25, 1305- 1322.
6. KNOTTENBELT, C. and A. MACKIN (1998): Blood transfusion in dog and cat. Part 2. Indications and safe administration. *In practice* 20, 191-199.
7. KRISTENSEN, A. T. and B. F. FELDMAN (1995): Blood banking and Transfusion medicine. In: ETTINGER, S. J. and E. C. FELDMAN: Textbook of Veterinary Internal Medicine. W. B. Saunders company., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, (347-360).
8. LUBAS, G. (1996): Blood transfusion in dogs and cats. *Waltham Focus*, 6 (4) 2-9.
9. PICHLER, M. E. and G. H. TURNWALD (1985): Blood transfusion in the dog and cat. Part I. Physiology, collection, storage and indications for whole blood therapy. *Compendium on continuing education article* 7, 64-71.
10. SPARKES A. and T. GRUFFYD-JONES (2000): Blood groups in cats. In: Day, A. MACKIN, J. LITTLEWOOD.: *Manual of Canine and Feline haematology and transfusion medicine.* British small animal veterinary association, Gloucester (305-307).
11. STEINBERGER-GJERMEK L., T. PETRINOVIĆ, D. POTOČNJAK, D. GRAČNER i N. KUČER (1999): Transfuzija krvi u pasa i mačaka. *Vet. Stn.* (5), 279- 285.

Blood transfusion in cat

Maja JENČIĆ, DVM; Damjan GRAČNER, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Ljiljana BEDRICA, DVM, Ph.D., Full Professor, Gordana GREGURIĆ GRAČNER, DVM, Ph.D., Junior Researcher, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Due to a naturally high titre of markedly strong antibodies to a non-corresponding blood group, cats are considered as risky patients in transfusion medicine. Transfusion reactions are most prevalent complication of blood transfusion in cats. Determination of blood groups in cats by use of commercial kits, or determination of blood compatibility between blood donor and blood recipient by use of a cross-matching test is a necessary precondition for carrying out safe blood transfusion as well as for successful breeding process in cats.

The frequency of blood type A in Europe varies between 85.1% and 100%, and that of blood type B from 0 to 14.9 %. The blood type AB occurs very rarely. However, until now, it has been established in domestic Short-haired, Abyssinian, Norwegian forest, Persian, British short-haired, Scottish and Somali cat. Before proceeding with blood transfusion in cats, it is of great importance to do laboratory diagnostics, in order to determine the reasons of blood loss in patient and with help of given results, choose adequate blood preparation.

Za uporabu u veterinarskoj medicini

giraxa[®]
prašak za peroralnu otopinu

antibakterijski lijek za crijevne infekcije

polimiksin, kolistin
za telad, prasadi i peradi

**KLASIČAN
I POUZDAN**

- Sadržava kolistin sulfat (u dobro topivom obliku).
- Koristi se za sprječavanje i liječenje želučano-crijevnih infekcija u teladi, prasadi i peradi.
- Kolistin je vrlo djelotvoran na gram-negativne bakterije, posebno na enterobakterije otporne na druge antibiotike.
- Kolistin posjeduje odličnu baktericidnu aktivnost na mnoge aerobne bacile koje uzrokuju teške infekcije i proljev u domaćih životinja, posebno na *E. coli* i *Salmonella* spp..
- Djelovanje kolistina je ograničeno na probavni trakt jer se gotovo ne resorbira iz želuca i crijeva, a u crijevnu sluznicu ne prodire. Ta osobina osigurava mu kratku karenciju.
- Otpornost bakterija na kolistin pojavljuje se izvanredno rijetko.
- Iz želučano-crijevnog trakta izlučuje se izmetom isključivo u vezanom obliku.
- Ne djeluje na korisnu floru probavnog trakta.

Detaljnije informacije možete dobiti od firme:

KRKA - FARMA d.o.o.
Radnička cesta 48/II
p.p. 205, Zagreb 10002
Telefon 01/63 12 100, 63 12 101
Faks 01/61 76 739
E-mail: krka-farma@zg.htnet.hr
www.krka-farma.hr



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

Hyperplasia-pyometra-kompleks u kuja i mačaka

prikaz iz prakse

Marijan Sabolić



Uvod

Pyometra jest kronični endometritis karakterističan po nakupljanju sekreta u šupljini maternice uz zatvoreni ili djelomično otvoreni maternični cerviks.

Piometra se javlja prije svega u kuja starijih od 5 godina. Može se javiti i kod mladih kuja, a zabilježeni su slučajevi oboljenja kuja već nakon prvog estrusa (Ptaszynska, 2002.).

U kuja i mačaka razlikuju se uglavnom tri oblika kroničnog endometritisa: cistična degeneracija (hiperplazija) endometrija, mukopurulentni endometritis i piometra (Miljković, 1984.).

Piometra je vjerojatno najvažnija bolest reproduktivnog trakta u kuja. To je relativno česta i teška bolest kod koje se uterus ispunji sekretom koji može, ali ne mora sadržati bakterije. U gotovo jedne trećine slučajeva radi se o

sadržaju koji nije zagađen bakterijama. Kod otvorene piometre (djelomično otvoreni cerviks) postoji manje ili više obilan iscjedak. Kod zatvorene piometre ne postoji vaginalni iscjedak pa i klinička slika ukazuje na akutno oboljenje. Toksemija koja će nastati kao posljedica, uzrokuje karakteristične kliničke simptome, naročito pak povećanu žeđ zbog inicijalno reverzibilnog glomerulonefritisa, povraćanje, inapetenciju, šok i smrt (Ptaszynska, 2002.).

U drugim slučajevima cistična hiperplazija endometrija dovodi do neplodnosti bilo zbog nemogućnosti koncepcije bilo zbog resorpcije embrija (Arthur i sur., 1997.).

Infekcija u pravilu nastaje sekundarno i ascendentno. Najčešće su prisutne *E. coli* te stafilokokne i streptokokne in-

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

fekcije (Jakšić i Sofrenović, 1987.). Upravo o vrsti bakterija koje su uzrokovale proces ovisi boja i konzistencija eksudata. Eksudat je gust i smeđi kod *Escherichia coli* infekcije, a kremast i žut kod streptokokne infekcije. Makroskopski, na sluznici maternice su prisutna nekrotična, ulcerirana, hemoragična područja zajedno sa suhim bjeličastim zadebljanim cističnim područjima. Mikroskopski suha, bjeličasta područja predstavljaju hiperplaziju i skvamoznu metaplaziju površinskog epitela. Cistična područja predstavljaju cističnu hiperplaziju endometrija. Cistična hiperplazija endometrija koja nastaje pod utjecajem progesterona nakon estrusa, može osigurati povoljan medij za rast bakterija koje mogu uzrokovati piometru. Cistična hiperplazija može pak nastati i sekundarno nakon infekcije maternice i endometritisa (McGavin i Zachary, 2007.).

Nije u potpunosti jasno kako nastaje cistična hiperplazija endometrija, no smatra se da je povezana s progresivnim hormonalnim disbalansom povezanim s progesteron senzitivnom maternicom kuje. Sekvencijalna razdoblja dominacije estrogena nakon koje slijedi dominacija progesterona dovodi do razvoja cistične endometrijske hiperplazije (engl. cystic endometrial hyperplasia = CEH) nakon čega može nastati mukometra ili piometra. Estrogeni povećavaju stimulacijske učinke na uterus. CEH-piometra kompleks može dakle nastati prirodnim putem, ali može biti induciran i lijekovima. Ovo potonje odnosi se na nepromišljenu uporabu estrogena radi neželjenog parenja ili nepravilnu up-

orabu gestagena za kontrolu estrusa. U pokusnih životinja cistična degeneracija endometrija inducirana je administracijom megoestrol acetata. Pokazalo se da nastale promjene na uterusu ovise i o količini apliciranog gestagena kao i o trajanju primjene (Ptaszynska, 2002.).

Administriranje, sintetičkih priprema koji su po učinku slični progesteronu (medroksiprogesteron-acetat), a u cilju supresije estrusa, može izazvati CEH jer poput progesterona potiče proliferacijsku i sekrecijsku aktivnost sluznice uterusa što može rezultirati piometrom. Vlasnike životinja valja savjetovati da ne primjenjuju ovaj hormonski pripravak ako jedinke žele koristiti za rasplod (Sakar i Sakar, 1999.).

Od ukupno 97 kuja kojima je u svrhu sprječavanja estrusa apliciran gestagenski pripravak, sintetički steroid medroksiprogesteron-acetat (MAP) koji je vrlo sličan prirodnom progesteronu, ali ima 20-30 puta jači učinak od hormona žutog tijela, njih 12 ili 11,64% oboljelo je od piometre. Istraživanje je ukazalo da aplikacija MAP-a može uzrokovati piometru u kuja bez obzira na dob. Višekratna aplikacija povećava rizik od nastanka piometre zbog kumulativnog djelovanja (Sabolić, 1992.).

Prikazi iz prakse

Primjeri piometre u kuja koje želimo prikazati znatno odskaku od svih drugih iz moje prakse, posebice svojom veličinom te količinom nakupljenog sadržaja. Jednako tako donosimo slikovni prikaz piometre u mačke koja je jedini primjer iz tridesetpetogodišnje prakse naše ambulante za malu praksu.



Slika 1. pas, doberman, fem., 7 godina, tjelesne mase oko 35 kg., crna

Iz anamneze:

U posljednja tri do četiri tjedna kuja pije velike količine vode, oslabljenog apetita, počela mršavjeti, povećanog i obješenog trbuha, pospana, povremeno su zapažene male količine viskoznog vaginalnog iscjotka boje bijele kave. Prethodnih godina nekoliko puta opažen je estrus, parila se, ali nije koncipirala, u dva navrata s ciljem supresije estrusa primila je injekciju medroksiprogesteron-acetata.

Klinički pregled - nalaz:

- Urednog habitusa, nešto lošije kondicije
- T-38,6 °C; B-84, ritmično, slabijih kvaliteta; D-26, kostalno, ritmično
- vidljive sluznice: blago zamućene, relativno suhe
- pulmo cor: b.o.
- abdomen: napet, povećan, perkusijom muklina, na palpaciju očituje umjerenu bol
- lokomotorno: uredna, stekne se dojam opreznog hodanja
- neurološki: stabilna, koordinirana
- ginekološki: malo svježeg i posušenog vaginalnog iscjotka na ventralnoj komisuri

Radiološki nalaz

Nativna profilna rentgenografija abdomena ocrta u gotovo cijelom abdomenu, a naročito u kaudoventralnom području nepravilno oblikovane jako proširene, međusobno superponirane maternične rogove.

Dg./ Pyometra

Th./ Obzirom na anamnestičke podatke, klinički i radiološki nalaz učini se laparotomija koja je potvrdila klinički i radiološki nalaz te ovariohisterektomija odnosno ekstirpacija maternice i jajnika. Operacijski zahvat obavljen je u općoj ekstrapulmonalnoj anesteziji uobičajenom operacijskom tehnikom. Rogovi maternice bili su duljine oko 70 centimetara, debljine 5-7 cm. U maternici je bilo oko 3.950 ml gustog tekućeg sadržaja boje i neprozirnosti poput bijele kave. Uslijedila je sedmodnevna poslijeoperacijska obrada pacijentice i njezin potpuni oporavak.

Iz anamneze

U posljednje vrijeme kuja je apatična, slabije jede, ponekad povraća, pije višestruko više vode nego ranije, naglo joj se povećao trbuh, do sada se više



Slika 2. pas, cocker spaniel, fem., 4 godine, tjelesne mase oko 15 kg., smeđa

puta tjerala, ali se nije parila, posljednji estrus prije oko mjesec dana, sigurno se nije parila.

Klinički pregled - nalaz:

- urednog habitusa, dobre kondicije
- T-38,5 °C; B-128, ritmično; D-36, kostalno, otežano, plitko, ritmično
- vidljive sluznice: prljavo sive
- pulmo cor: b.o.
- abdomen: jako proširen, napet
- lokomotorno: insuficijentna
- neurološki: koordinirana, stabilna
- ginekološki: nalaz b.o.

Radiološki nalaz

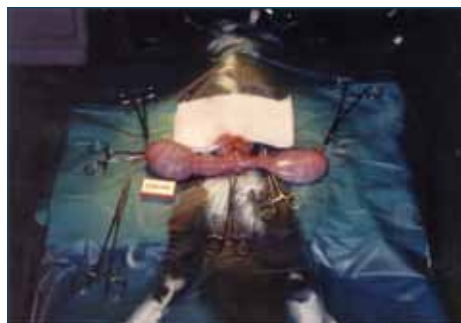
Nativna profilna rentgenografija prikazala je difuzno zasjenjenje cijelog područja abdomena s tek naznakom da bi se moglo raditi o jako proširenim i nepravilno povećanim rogovima maternice te torakalno potisnutim trbušnim organima.

Dg./ Pyometra in obs.

Th./ Učini se dijagnostička laparotomija koja je potvrdila suspektu kliničku i radiološku dijagnozu. Potom i ovariohisterektomija. Rogovi ekstirpirane maternice bili su duljine oko 45 cm., debljine 6-8 cm. Ukupna količina sadržaja maternice bila je oko 3.460 ml što je s težinom maternice gotovo trećina ukupne tjelesne mase pacijentice. Uz intenzivnu terapiju tijekom poslijeoperacijskog zbrinjavanja, pacijentica je u potpunosti ozdravila za desetak dana.

Iz anamneze

Vlasnik opaža da se u posljednje vrijeme (mjesec do mjesec i pol dana) kod mačke značajno povećao trbuh te da je



Slika 3. mačka, križana, fem., 6 g., 4 kg., crno-bijela

mirnija. Misli da je povećanje trbuha apsolutno nesrazmjerno količini hrane koju pojede. Tjerala se više puta, ali se nije parila. Obitava u stanu, tek povremeno izlazi.

Klinički pregled-nalaz

- urednog habitusa, dobre kondicije
- T-39,2 °C; B-112; D-26
- vidljive sluznice: b.o.
- pulmo cor: b.o.
- abdomen: jako proširen, na perkusiju muklina
- lokomotorno: b.o.
- neurološki: b.o.
- ginekološki nalaz: - uredan (odnosi se na vanjske spolne organe)

Radiološki nalaz

Na profilnoj slici abdomena mačke uočavaju se sjene jako proširenih i povijenih rogova maternice koji zauzimaju područje mezo i hipogastrične regije abdomena. Unutar rogova nema naznaka sjena koje bi odgovarale osifikaciji fetalnih skeleta.

Dg./ Pyometra

Th./ U općoj ekstrapulmonalnoj anesteziji učini se ovariohisterektomi-

ja. Rogovi ekstirpirane maternice bili su duljine oko 20 cm., debljine 3-7 cm. Ukupna količina sadržaja maternice, gustog eksudata čokoladaste boje, bila je oko 780 ml.

Rasprava

Kako u opisanim slučajevima tako i u svima drugima, u liječenju piometre učinili smo ovariohisterektomiju koju držimo metodom izbora.

Medikamentozna terapija prostaglandinima temelji se na luteolizi, kontrakcijama miometrija, relaksaciji cerviksa i evakuaciji sadržaja maternice. U slučajevima kada se radi o zatvorenoj piometri ne smije se zanemariti rizik od moguće rupture maternice (Kahn i sur. 2005.). Posljedično izlivanje sadržaja maternice u trbušnu šupljinu uzrokuje vrlo često pogibeljni peritonitis.

Efikasnost prostaglandina kao cervikalnih dilatatora upitna je pa se njihova primjena posebice u zatvorene piometre povezuje s vrlo visokim rizikom od rupture uterusa što predstavlja opasnu komplikaciju. Administriranje prostaglandina u kuja s uznapredovalom piometrom i lošim kliničkim statusom dovodi se i u vezu s cirkulacijskom i respiratornom depresijom što može imati fatalni ishod. Loš klinički status ionako znači povećani kirurški rizik naročito ako nije ordinirana rehidracijska terapija intravenskim tekućinama (Ptaszynska, 2002.). Ovariektomija i drenaža uterušnog eksudata su nedovoljno istražene alternative (Rootwelt-Andersen i Farstad, 2006.).

U literaturi opisani medikamentozni protokoli liječenja piometre, imaju moguće opravdanje tek u, po našem mišljenju, vrlo rizičnom pokušaju oču-

vanja uzgojnog, odnosno fertilnog potencijala.

Izbor najoptimalnije metode liječenja zahtjeva vrlo preciznu dijagnozu uz odgovarajuću ocjenu težine bolesti.

Iako se dijagnostika bolesti čini relativno jednostavna ipak treba voditi računa o mogućim atipičnim znakovima bolesti osobito u ranom stadiju bolesti (Bedrica i sur., 2004.).

Anketa provedena u 130 norveških veterinarskih praksi kaže da će se 98% doktora veterinarske medicine u slučajevima zatvorene piometre odlučiti za kirurški zahvat. Kod piometre s otvorenim cerviksom njih 80% smatra kirurški zahvat primarnim oblikom liječenja. Prilikom kirurškog zahvata 100% je izvadilo uterus, a 98% i ovarije. Antibiotike je propisalo 99%, a intravenske tekućine 98% doktora veterinarske medicine. Postotak preživljavanja nakon kirurškog zahvata bio je 96%. Ako je odabrano medikamentozno liječenje 99% ordiniralo je antibiotike, 50% prostaglandine, a 26% je kao suplement davalo tekućine. Rezultat ankete jest da je u liječenju bilo kojeg oblika piometre ovariohisterektomija u kombinaciji s antibioticima i tekućinama nedvojbeno opravdanija i svrsishodnija od medikamentoznog liječenja. Ovariohisterektomija se preporuča kao metoda izbora (Rootwelt-Andersen i Farstad, 2002.).

Rana kastracija sprječava nastanak piometre. No, u pojedinim zemljama problem je u postojećoj legislativi. Primjerice, u Norveškoj je rutinska kastracija zabranjena Zakonom o dobrobiti životinja. Dopuštena je samo u kuja za službene potrebe i po medicinskoj indikaciji.

Naša iskustva govore da je operacijski pristup liječenju piometre u kuja metoda izbora. U svih pacijentica poslijeoperacijski ordinirali smo antimi-krobnu terapiju, stimulator kardio-vaskularnog sustava, antihistaminike, intravenske tekućine ili tekućine hipodermalno. U akutnim slučajevima proveli smo pred operacijsku stabilizaciju pacijentica kako bi što više umanjili operacijski rizik. U 94% liječenih učinak je bio potpuno izlječenje.

Sažetak

Autor opisuje dva slučaja piometre u kuja i jedan u mačke koje drži zanimljivima zbog svoje veličine te količine sekreta nakupljenog u mater-nici. Temeljem dugogodišnjeg iskustva drži da je ovariohisterektomija metoda izbora u liječenju kuja i mačaka obolje-lih od piometre. Svi ostali pristupi liječenju, parenteralnom aplikacijom lijekova, pretpostavljaju preciznu dijagnozu i odgovarajuću procjenu težine bolesti. Važno je procijeniti i svrsishod-nost takvog načina liječenja kao i hoće li on postići očekivani rezultat, ostvariti cilj. Ako je kirurški zahvat tek alterna-tiva, očekivani pozitivni ishod liječenja ovariohisterektomijom, radi trajanja bolesti i lošeg zdravstvenog statusa pacijentice može biti kompromitiran. Pravovremeno poduzeti operacijski zahvat u pravilu rezultira cjelovitim izlječenjem.

Literatura

1. ARTHUR, H. G., D. E. NOAKES, H. PEARSON and T. J. PARKINSON (1997): Veterinary Reproduction and Obstetric. Seventh Edition. WB Saun-
ders Company Limitetd. London, Phil-
adelphia, Toronto, Sydney, Tokyo.
2. JAKŠIĆ, L. B. i Đ. R. SOFRENOVIĆ (1987): Specijalna patološka morfologi-
ja. Beograd, Naučna knjiga.
3. KAHN, M. CYNTHIA, DANA G. AL-
LEN, D. P. ANDERSON, L. B. JEF-
FCOTT, KATHARINE E. QUESEN-
BERRRY, O. M. RADOSTITS, P. T.
REEVES and ALICE M. WOLF (2005):
The Merck Veterinar Manual. Ninth
Edition. In: Reproductive diseases of
the female small animal. Merck and
co., inc. Whitehouse Station, N. J. USA,
1154-1156.
4. BEDRICA, LJ., D. SAKAR, T.
DOBRANIĆ, I. HARAPIN, D.
GRAČNER, S. ČURIĆ, N. PRVANOVIĆ
und V. HAHN (2004): Atypischer Hy-
perplasie-Pyometra-Komplex bei der
Hündin. Tierärztl. Umschau 59, 433-
439.
5. McGAVIN, M. D. and J. F. ZACHARY
(2007): Pathologic Basis of Veterinary
dissease. Fourth Edition. Elsevier Inc.,
New York, USA.
6. MILJKOVIĆ, V. (1984): Porodiljstvo,
sterilitet i veštačko osjemenjavanje
domaćih životinja. Beograd: Veterinar-
ski fakultet Beograd.
7. PTASZYNSKA, M. (2002): Compendi-
um of animal reproduction. In: Canine
Reproduction. Disorders of the female
reproductive tract. Boxmeer: Intervet
International bv.
8. ROOWELT-ANDERSEN, V. and W.
FARSTAD (2006): Treatment of pyome-
tra in the bitch: A survey among Nor-
wegian small animal practitioners. The
European Journal of Companion Ani-
mal Practice 2, 195-198.
9. SABOLIĆ, M. (1992): Pojava piometre u
kuja poslije promjene Neonidana. Vet.
Stn. 23, 232-236.
10. SAKAR, D. i TATJANA SAKAR (1999):
Remedia veterinaria croatica. Zagreb,
Argus d.o.o.

Hyperplasia-Pyometra-Complex in Dogs and Cats – Case Studies

Marijan SABOLIĆ, DVM, M.Sc., Veterinary Station Varaždin

The author describes two pyometra cases in dogs and one in a cat which are interesting due to the size and amount of secretion collected in uterus. Based on long-term experience, the author claims that ovariectomy is a method of choice in treatment of dogs and cats suffering of pyometra. All other treatment approaches, by parenteral application of medications, assume a precise diagnosis and appropriate eval-

uation of the gravity of disease. It is important to evaluate the purposefulness of such treatment method and whether it will yield the expected result and objective. Where surgery is only an alternative, the positive outcome of ovariectomy, due to disease duration and bad health condition of the patient, may be compromised. Timely surgery as a rule results in full cure.

BILJEŠKE IZ GOSPODARSTVA POKUŠAJI SA RAZNIM VRSTAMA KOKOŠIJU S OBZIROM NA BROJ SNEŠENIH

JAJA, Veterinarska i gospodarska velika/ Škola (laboratorij za gospodarska istraživanja u Kopenhagenu), priopćuje u svom 84. izvještaju pokuse, koji su provedenima ovom svrhom: 1. ustanoviti razliku koliko koja vrst kokošiju daje jaja, 2. razjasniti razne odnose kod oplodjivanja i boje ljuske kokošijeg jajeta. Prema jednogodišnjem izvještaju u "International Agrar-technische Rundschau", došlo je do ovih zaključaka

1. Trogodišnji pokusi o nešenju pojedenih vrsta (bijela i smedja talijanska rasa, prugasta "pymouth-Rocks", bijla "Wyendottes", crna "Minorka" i "Houdana") dokazuju, da talijanska rasa zauzima prva mjesta i to koli s obzirom na broj tili i na ukupnu težinu snešenih jaja, Godišnji prosjek (3 godine) snešenih jaja bio je kod "Talijana" 100. kod "Pymouth-Rocks"-a 70, kod bijelih Wyandottese" 60, kod crnih "Minorka" 90, kod "Houdaba"-a 80 komad. Brojevi navedeni kod posljednje tri rase nisu apsolutno ispravni, jer su među trima rasama izbile bolesti.

Kod pokusa sa smedjima "Talijankama", "Nessauer"-ime i "Orpingtonima", dadoše "Orpingtoni" najveću čistu dobit, ne drugome su mjestu bili "Talijani", a na zadnjem "Nassau"-avci.

"Gospodar" (Osijek), 2, 22-23, 1915 (god. 39) (ožujak 1915.).

Antimikrobna sredstva za liječenje mastitisa



U LAKTACIJI

MASTIQUICK®
KLAVUXIL®



PRI ZASUŠENJU

MASTIDRY®



VETERINA

VETERINA d.o.o.
Svetonedeljska 2 • Kalinovica
10436 Rakov Potok • Croatia
www.veterina.hr

Proslava „Dana dječje radosti” u Veterinarskom institutu Zagreb

Potkraj četrdesetih godina prošlog stoljeća uobičajilo se u tadašnjem Veterinarskom institutu u Zagrebu proslaviti svake godine „Dan dječje radosti”. Tom su Danu prisustvovala redovito sva djeca službenika Instituta i njihovi roditelji ali i gotovo redovito drugi

službenici, iako nisu imali djece ili su im djeca navršila petnaest – šesnaest godina pa ih takve proslave nisu više zanimale. Na prikazanoj fotografiji, snimljenoj 28. prosinca 1958., prisutan je dio službenika Instituta.



Sjede: 1. Marija RIJAVEC, suprug Marije RIJAVEC, 3. Nevenka ORLIĆ, 4. neprepoznata, 5. Zvonimir ALERAJ, 6. Maks KARLOVIĆ, 7. Blažica, supruga Maksa KARLOVIĆA, 8. Josipa RICHTER, 9. Stanko RICHTER i 10. Božo TUNKL.

Podvučeni su tadašnji službenici Instituta.

Maks KARLOVIĆ

IN MEMORIAM

Zvonimir BRUDNJAK, rođen 16. 1. 1920. u Zagrebu, diplomirao 7. 11. 1945. i promovirao 25. 3. 1950. (Disocijacije kod *B. erysipelas suis*) u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio kao asistent (1946. – 1955.), kao naučni suradnik (1955. - 1960.) i kao viši naučni suradnik (1960. - 1964.) u Zavodu i Klinici za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta Zagreb, odnosno kao izvanredni (1964. - 1970.) i kao redoviti profesor Medicinskog fakulteta Zagreb do odlaska u mirovinu (1970. - 1986.) i to u prvom dijelu kao voditelj Odsjeka za biološko istraživanje virusa u Zavodu za virusologiju Škole narodnog zdravlja „Andrija Štampar” (1964. - 1970.) i u drugom dijelu u Odjelu za virusologiju Republičkog zavoda za zaštitu zdravlja (1970. - 1986.). Tijekom boravka u Veterinarskom fakultetu osnovao je virusološki laboratorij i objavio 47 rasprava, među kojima su značajni prvi nalazi leptospiroze konja u Hrvatskoj, *Nocardia asteroides* u pasa, prve primjene kulture tkiva za izolaciju animalnih virusa itd. Bio suradnik „Veterinarske stanice” i kao takav objavio 14 rasprava. Jednakim je uspjesima nastavio rad

i u Medicinskom fakultetu. Za svoj rad primio Orden rada sa zlatnim vijencem uz posebna priznanja, plakete, diplome i novčane nagrade. Bio član Hrvatske akademije medicinskih znanosti (predsjednik Kolegija veterinarske medicine), Hrvatskog imunološkog društva, World Association for the History of Veterinary Medicine itd. Umro 6. 7. 2006. u Zagrebu.

Josip GUBIĆ, rođen 12. 3. 1930. u Gornjem Varošu (Nova Gradiška), diplomirao 30. 12. 1958. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio kao veterinarski inspektor u NOO SAAT Kula - Skopje (1960. - 1961.), u Graničnoj veterinarskoj stanici Gevgelija - Savezna uprava za poslove veterinarstva (1961. - 1964.), u Saveznom sekretarijatu za poljoprivredu i šumarstvo (1964. - 1965.), u Republičkom sekretarijatu za poljoprivredu i šumarstvo (1965. - 1972.) i u Veterinarskoj stanici Slavonska Požega do odlaska u mirovinu (1972. - 2000.). Umro 13. 7. 2007. u Zagrebu.

Maks KARLOVIĆ

- 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 objavljivati 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 ambulantama.
- 4) Bit će u njemu i društvenih vijesti, obavijesti, najava i osvrta na znanstvene i stručne skupove i sl.
- 5) Objavljivat ćemo referate od posebna interesa za neposrednu praksu, zatim prikaze knjiga i drugih publikacija.
- 6) Tekstovi originalnih i stručnih rasprava te onih iz povijesti veterinarstva i prikazi obljetnica mogu imati pet do deset kartica (pisanih u MS Wordu, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvatit će se i veći broj kartica. Mišljenja, prijedlozi i sučeljavanja dvije do pet kartica.
- Literarni zapisi četiri do deset kartica.
- 7) Tekstove je potrebno pisati u MS Wordu, font 12, srednji prored (1,5) ili na pisaćem stroju, srednje veliki prored. Svaki novi stavak mora početi s uvučenim retkom.
- 8) Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:
 - a) ako je jedan autor: Nicolet (1975.).
 - b) ako su dva autora: Adamović i Jurak (1938.).
 - c) ako su tri ili više autora: Lojkić i sur. (1978.).
- 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 ili u nemogućnosti izrade na računalu na paus-papiru, a fotografije (obične i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.
- 12) Rukopisi se ne vraćaju.
- 13) 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. U:
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
tvori 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., Ljil-
jana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ
i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv
svinja na eksperimentalnu inakti-
viranu vakcinu bolesti Aujezskoga.
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. ŠIC (1983): Utjecaj genetskih
čimbenika na plodnost goveda. Vet.
stanica, 14 (4) 1-7.
8. **neka druga rasprava:** BOLLWAHN,
W. und B. KRUEDEWIG (1972): Die

symptomatische Behandlung der
Gratschstellung neugeborener Fer-
kel. Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 229
-231 (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI,
H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H.
KÖNIG und J. NICOLET: Vorkom-
men und Bedeutung von Sch-
weinekrankheiten: Analyse eines
Sektionsguts (1971 - 1973) Schweiz.
Arch. Tieheilk. 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 sa
kompjuterskim zapisom u Microsoft
Word programu na disketi od 3.5 inča
ili CD disku molimo poslati na adresu
glavnog urednika:

Doc. dr. sc. Marko Samardžija, Veteri-
narski fakultet, Heinzelova 55, 10000
Zagreb.

Radovi se mogu poslati i
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 funk-
ciju 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
objavljivani u časopisu.