

Strukturne promjene u hrvatskom veterinarstvu (1990.-2010.)

M. Tadić, D. Cvitković, Vera Tadić, Z. Hrastnik i Vlasta Anić



Hrvatsko veterinarstvo uoči strukturnih promjena

Tijekom nekoliko desetljeća minulog stoljeća hrvatsko je veterinarstvo zadržavalo postojanu organizacijsku strukturu. Ono je bilo organizirano u vrlo specifičnim uvjetima, bez poznatog uzora u svijetu, dvojnosti vlasničkih odnosa u poljoprivredi, raslojavanja sela, izrazito velikog broja „patuljastih“ privatnih poljoprivrednih gospodarstava na jednoj strani i manjeg broja velikih ili pak vrlo velikih „društvenih“ gospodarstava na drugoj strani, obavljanja djelatnosti „od posebnog društvenog interesa“, samofinanciranja, vrlo ograničenog utjecaja tržišta na ponudu i potražnju te na cijene veterinarskih usluga.

Temeljne sastavnice hrvatskog veterinarstva bile su: Uprava za veterinarstvo pri Republičkom komitetu za poljoprivredu i šumarstvo, Veterinarski fakultet u Zagrebu, Veterinarski institut Zagreb, Veterinarski zavod Vinkovci,

Veterinarski zavod Split, Veterinarski zavod Rijeka, Veterinarski zavod Križevci, Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske, Republička zajednica za zdravstvenu zaštitu stoke, Poslovna zajednica veterinarskih stanica, Društvo veterinara i veterinarskih tehničara Hrvatske i veterinarske stanice.

Uprava za veterinarstvo pripremala je pripadne veterinarske propise te ostvarivala upravni i inspekcijski nadzor. Te je zadaće godine 1990. ostvarivalo ukupno 77 djelatnika: 9 u Upravi za veterinarstvo, 3 republička veterinarska inspektora i 65 općinskih veterinarskih inspektora. Veterinarski fakultet u Zagrebu bio je i ostao jedina visokoškolska veterinarska ustanova u Hrvatskoj. Temeljne su mu zadaće bile: organizacija i izvedba različitih razina obrazovanja, znanstveno-istraživački i stručni rad. Tijekom sedamdesetih i osamdesetih godina minulog stoljeća

Dr. sc. Marko TADIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Denis CVITKOVIĆ, dr. med. vet., docent, Vlasta ANIĆ, dr. stom., Veterinarski fakultet Zagreb; dr. sc. Vera TADIĆ, dr. med. vet., Ministarstvo vanjskih poslova i europskih integracija Republike Hrvatske; mr. sc. Zlatko HRASTNIK, dr. med. vet., u mirovini

Fakultet se suočio s prekomjernim upisima studenata i hiperprodukcijom doktora veterinarske medicine te feminizacijom. Tijekom označenog razdoblja Fakultet je intenzivno razvijao različite oblike stručnog rada. Veterinarski institut u Zagrebu i regionalni veterinarski zavodi, kao javne ustanove, poglavito su se bavili dijagnostičkim i analitičkim poslovima. Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske bio je „veterinarska” organizacija koja je tijekom nekoliko desetljeća davala znatan obol razvitku stočarstva i afirmaciji veterinarske profesije. Republička je zajednica za zdravstvenu zaštitu stoke bila stanovita paradržavna institucija - produžena ruka Uprave za veterinarstvo. Temeljna joj je zadaća bila prikupljanje financijskih sredstava koja su služila za provedbu pojedinih propisanih mjera zaštite zdravlja životinja. Poslovna zajednica veterinarskih stanica integrirala je znatan dio poslovanja veterinarskih stanica, osobito onih koje su se bavile stočarskom proizvodnjom ili prometom različitih proizvoda. Ona je bila stanovito „društvo kapitala”. Društvo veterinara i veterinarskih tehničara Hrvatske bilo je udruga veterinara i veterinarskih tehničara s gotovo simboličnim značajem u veterinarstvu.

Temeljna je jedinica hrvatskog veterinarstva ipak bila veterinarska stanica. Ona je istodobno bila i ustanova i poduzeće (ne u formalno-pravnom smislu). Među njezinim su djelatnostima bile i one izvorno poduzetničkog, ali i one javnog karaktera. Veterinarske su stanice bile organizirane po teritorijalnom načelu u svakoj općini. Uoč

društveno-ekonomskih promjena početkom devedesetih godina minulog stoljeća u Hrvatskoj ih je bilo 104. Svoje su djelatnosti ostvarivale putem 323 veterinarske ambulante, 963 „punkta za umjetno osjemenjivanje”, 37 veterinarskih apoteka, 57 jedinica za provedbu dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije, 60 prodavaonica i 5 dijagnostičkih laboratorija. Veterinarske su stanice poslovale po načelu „čistih računa” i samofinanciranja. Njihove su usluge plaćali korisnici. Međusobno su se razlikovale i po veličini i po djelatnostima. Većina ih se, povrh osnovne djelatnosti, bavila različnim oblicima stočarske proizvodnje i prometom (trgovinom). Razvidno je to i po činjenici da su sve one u prosjeku gotovo dvije petine svojih prihoda ostvarivale organiziranjem stočarske proizvodnje, više od jedne trećine prihoda ostvarivale su trgovinom, a samo četvrtinu osnovnom djelatnošću (Tadić, 1985.).

Veterinarski se „sustav” temeljio na dva zakona: 1. Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti (Narodne novine, 31/86.) i 2. Zakon o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju cijelu zemlju (Službeni list SFRJ, 43/86.) te na stotinjak provedbenih propisa temeljem navedenih zakona.

Osnovna obilježja „veterinarskog sustava” bila su:

- Prostorna raspoređenost veterinarskih organizacija sukladna upravnom ustroju Republike
- Vertikalna subordinacija
- Horizontalna povezanost
- Institucionaliziran profesionalni monopol

- Nepostojanje konkurencije
- Samofinanciranje
- Transparentnost poslovanja
- Integriranje poduzetničkih i javnih funkcija.

Sustav je, međutim, imao tri ozbiljne manjkavosti koje su bile izvorom trajne mrzovolje između korisnika i pružatelja određenih veterinarskih usluga. One su bile ugrađene u pripadne propise. Prva je manjkavost bila da je odgovornost za zdravlje životinja bila pripisana veterinarima i veterinarskim organizacijama, a ne vlasnicima, odnosno držateljima životinja.¹ Druga manjkavost je bila u svezi institucije „ovlaštenog veterinarskog inspektora“. Ona je bila posljedica nejasne (neprecizne) definicije veterinarske inspekcije i distinkcije među pojmovima; veterinarsko-sanitarni nadzor, veterinarsko-sanitarna kontrola i veterinarsko-sanitarni pregled (Bet, 1988.). Treća je manjkavost bila eksterno određivanje cijena pojedinih usluga bez obzira na razinu ponude i potražnje (Izvršno vijeće Republike Hrvatske ili skupštine općina).

Čimbenici koji su uvjetovali strukturne promjene

Bitni čimbenici koji su uvjetovali strukturne promjene u hrvatskom veterinarstvu bili su:

1. Promjena društveno-ekonomskog sustava početkom devedesetih godina minulog stoljeća

¹ U zemljama tržišnog gospodarstva za zdravlje životinja odgovorni su njihovi vlasnici odnosno držatelji.

2. Pretvorba i privatizacija (Zakon o pretvorbi društvenih poduzeća, Narodne novine 19/91., 83/92., 84/92., 94/93., 2/94., 9/95., 21/96., 118/99. i Zakon o privatizaciji, Narodne novine 21/96., 71/97., 73/00.)
3. Ratne okolnosti
4. Pristupanje Republike Hrvatske Svjetskoj trgovinskoj organizaciji
5. Pripreme Republike Hrvatske za punopravno članstvo u Europskoj Uniji.

Potkraj osamdesetih i početkom devedesetih godina prošlog stoljeća u Hrvatskoj počinju rasprave o prikladnosti postojećeg ustroja veterinarstva očekivanim novim društvenim i ekonomskim odnosima. Juzbašić (1989.) upozorava da je potrebno u novi Zakon o veterinarstvu ugraditi stvarne potrebe budućeg razvoja veterinarske profesije. Tadić (1990.) upozorava na manjkavosti u organizaciji i funkcioniranju veterinarstva u Hrvatskoj, a osobito na prenošenje državnih funkcija na veterinarske organizacije te na postojanje paradržavnih organizacija u veterinarstvu. Rasprave su bile vrlo oštre, često s ideoloških motrišta, i lišene ozbiljnih argumenata. Žustro se zagovarala potpuna privatizacija veterinarskih organizacija.²

Proces strukturnih promjena u hrvatskom veterinarstvu počinje pretvorbom vlasništva i postupkom privatizacije. Tijekom pretvorbe vlasništva veterinarske su stanice postale državno

² Spoznaju o potrebi strukturnih promjena u hrvatskom veterinarstvu afirmiralo je i savjetovanje: „Veterinarstvo i Evropa 92“ koje je održano u Zagrebu 1990. (Vet. stn. 21 (1), 3-120.)

vlasništvo i uslijedila je njihova privatizacija. Tijekom tog postupka zane-marena je činjenica da su se veterinarske stanice bavile i djelatnostima „od posebnog društvenog interesa“, odnosno da su imale „odlike“ javnih ustanova ili javnih poduzeća. Zbog toga su se pojavile određene devijacije u postupku privatizacije veterinarskih stanica. Postupak njihove privatizacije bio je izjednačen s postupkom privatizacije bilo kojeg „poduzeća“, odnosno trgovačkog društva. Vlasnicima pojedinih veterinarskih stanica postale su pravne i/ili fizičke osobe koje se nikada nisu bavile bilo kojom veterinarskom djelatnošću i one su se ubrzo suočile s ozbiljnim poslovnim teškoćama jer su novi vlasnici bili zainteresirani isključivo za „izvlačenje“ dobiti. Te su veterinarske stanice doživjele radikalne promjene upravljačke strukture, ustroja i djelatnosti. Vlasnici većine veterinarskih stanica postali su zaposleni djelatnici (najčešće veterinari), a one su registrirane kao društva s ograničenom odgovornošću (d.o.o.) ili kao dionička društva (d.d.). U cjelini je proces privatizacije veterinarskih stanica okončan uspješnije, s manje negativnih posljedica, nego proces privatizacije drugih gospodarskih organizacija. Privatizacijom nisu bile obuhvaćene javne veterinarske dijagnostičke ustanove.

Strukturne promjene usporene su ratnim okolnostima. One su prouzročile znatne štete hrvatskom veterinarstvu, osobito jer su se pojedine veterinarske organizacije našle na okupiranim područjima i što je njihova privatizacija „odgođena“ do okončanja okupacije.

Usvajanjem Zakona o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj

djelatnosti (Narodne novine 52/91.) započinju znatnije institucionalne strukturne promjene u veterinarstvu. Počinje postupna promjena „starog modela“. Ukida se Republička zajednica za zdravstvenu zaštitu stoke, a njezine funkcije, prava i obveze preuzima Ministarstvo poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva. Veterinarski institut u Zagrebu i područni veterinarski zavodi postaju organizacije (ustanove) Ministarstva poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva (Hrvatski veterinarski zavod) te se dijelom financiraju i iz državnog proračuna. Kasnijim veterinarskim propisima postupno se osnažuje javna funkcija Hrvatskog veterinarskog instituta i znatnije popravljaju njegov ekonomski položaj sredstvima državnog proračuna. Veterinarsku inspekciju tvore republički, općinski i granični veterinarski inspektori, a pravnim i fizičkim osobama omogućuje se obavljanje zdravstvene zaštite životinja i veterinarske djelatnosti u „specijaliziranoj veterinarskoj ambulanti i veterinarskoj klinici za mesojede i druge male životinje koje se ne koriste za ljudsku prehranu“. Hrvatsku se veterinarsku komoru definira kao „organizaciju veterinarskog staleža“.³ Izmjenama i dopunama Zakona o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti (Narodne novine 64/91., 26/93., 29/94.) poticane su sve ozbiljnije strukturne promjene u veterinarstvu; osnažuje se uloga Uprave za veterinarstvo pri provedbi

3 Hrvatska veterinarska komora osnovana je 1991., a Hrvatsko veterinarsko društvo 1893. osnovano je 1992. godine kao slijednik Hrvatsko-slavonskog veterinarskog društva i Dalmatinskog veterinarskog društva.

upravnog i inspekcijskog nadzora. Osnivaju se nove privatne veterinarske prakse. Provedbeni propisi temeljem označenog zakona usmjeravali su i ubrzavali strukturne promjene.

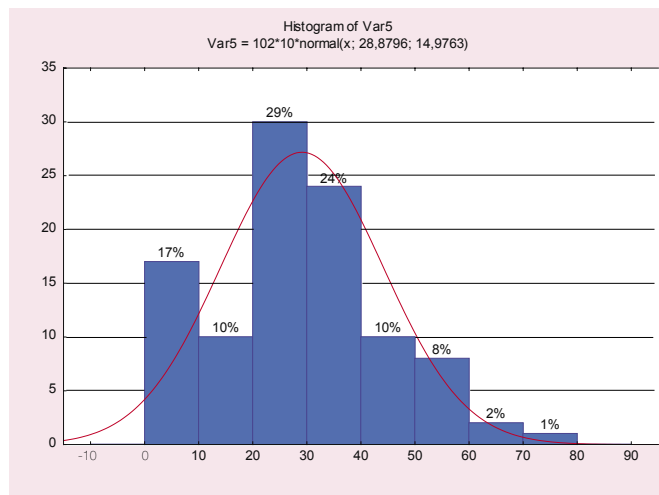
Usvajanjem Zakona o veterinarstvu (Narodne novine 41/97.) ubrzavaju se i jasnije usmjeravaju strukturne promjene u veterinarstvu. Usvojeni Zakon propisuje da veterinarske djelatnosti obavljaju: veterinarska ambulanta, veterinarska stanica, veterinarska bolnica, veterinarska klinika, veterinarska ambulanta privatne prakse. Zakonom se definira „epizootiološko područje“, a obavljanje se pojedinih mjera zdravstvene zaštite regulira javnim natječajem. Uvodi se monitoring rezidua te pojam „veterinarska zaštita okoliša“. Definiraju se zadaće i nadležnosti Hrvatske veterinarske komore. Umjesto „ovlaštene veterinarske inspekcije“ uvodi se institut „ovlaštene veterinarske organizacije“ i „ovlaštenog veterinara“. Osniva se Fond za zdravstvenu zaštitu životinja kao financijska institucija Vlade Republike Hrvatske. Očevidne su bile barem tri intencije zakonodavca: očuvati funkcionalnost veterinarskog sustava, nastaviti sa strukturnim promjenama i postupno razdvojiti javnu veterinarsku službu od privatne veterinarske prakse (poduzetnička aktivnost). Te su intencije afirmirane izmjenama i dopunama tog zakona (Narodne novine 105/01., 172/03.) te osobito njegovim provedbenim propisima. Svoj prinos strukturnim promjenama u hrvatskom veterinarstvu dale su odredbe Zakona o veterinarskim lijekovima i veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 79/98.) i Zakona o dobrobiti životinja (Narodne novine 19/99.).

Godine 2000. Hrvatska je postala punopravna članica Svjetske trgovinske organizacije (WTO)⁴. Od tada je ona obvezna dosljedno primjenjivati odredbe Sporazuma o primjeni sanitarnih i fitosanitarnih mjera što je zaključen u Marrakeshu 1994. u okviru GATT-a.⁵ Sporazum se temelji na načelima u međunarodnoj trgovini poljoprivrednim proizvodima: transparentnost, ekvivalentnost, regionalizacija i procjena rizika te na primjeni međunarodnih standarda, preporuka i uputa. To je bio poticaj za daljnje strukturne reforme u hrvatskom veterinarstvu kako bi se ono prilagodilo novim zadaćama. Godine 2001. Hrvatska je potpisala Sporazum o stabilizaciji i pridruživanju s Europskom Unijom.⁶ Od tada počinju pripreme za usklađivanje pravnog sustava Republike Hrvatske s pravnom stečevinom Europske Unije (*acquis communautaire*). Od tada počinju intenzivnije strukturne reforme u hrvatskom veterinarstvu koje se ubrzavaju nakon što je Republika Hrvatska 2004. godine dobila status kandidata za Europsku Uniju te 2005. otvorila pristupne pregovore s Europskom Unijom. Za hrvatsko je veterinarstvo osobito značajno poglavlje 12. pristupnih pregovora: „Sigurnost hrane, veterinarstvo i fitosanitarni nadzor“ koje eksplicitno i implicitno upućuje na potrebu znatnijih strukturnih promjena u hrvatskom veterinarstvu. Te su promjene (uglavnom) ugrađene u Zakon o veterinarstvu (Narodne novine 41/07.) i Zakon o hrani (Narodne novine 46/07.)

4 World Trade Organisation

5 General Agreement on Tariffs and Trade.

6 Stabilisation and Association Agreement



Grafikon 1. Razdioba broja općina u Republici Hrvatskoj prema udjelu bruto društvenog proizvoda stočarstva u društvenom bruto proizvodu poljoprivrede privatnih poljoprivrednih gospodarstava 1990. godine (u %)

te u brojne provedbene propise. One nisu mimoišle gotovo nijednu sastavnicu hrvatskog veterinarstva. Osobito su se očitovale reorganizacijom Uprave za veterinarstvo (*Uprava za veterinarstvo, Uprava za veterinarske inspekcije*), jasnijom distinkcijom javne veterinarske službe i privatne veterinarske prakse te osnutkom Hrvatske agencije za hranu.

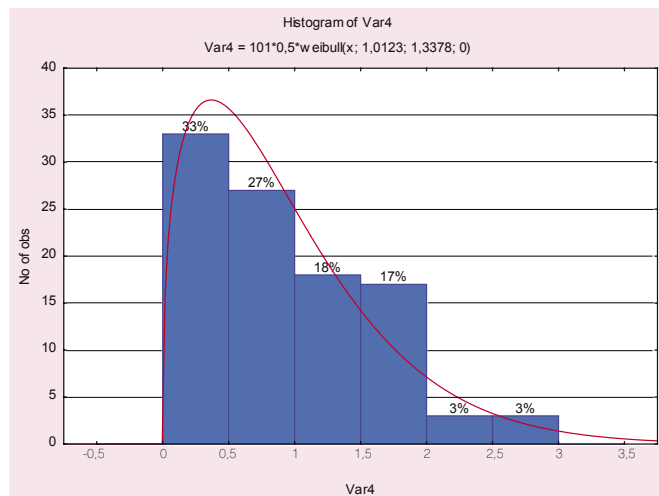
Strukturne su promjene, samo prividno, najmanje zahvatile Veterinarski fakultet. „Puzajuća“ reforma nije mimoišla tu ustanovu koja je sve više postajala dominantno „obrazovna“ ustanova, a sve manje uključena u veterinarski sustav. „Bolonjski proces“ predstavlja petu ili šestu reformu visokog obrazovanja u veterinarstvu tijekom pola stoljeća s neizvjesnim ishodom, odnosno s nepouzdanom procjenom kakvoće budućeg „proizvoda“.

Djelotvornost hrvatskog veterinarstva

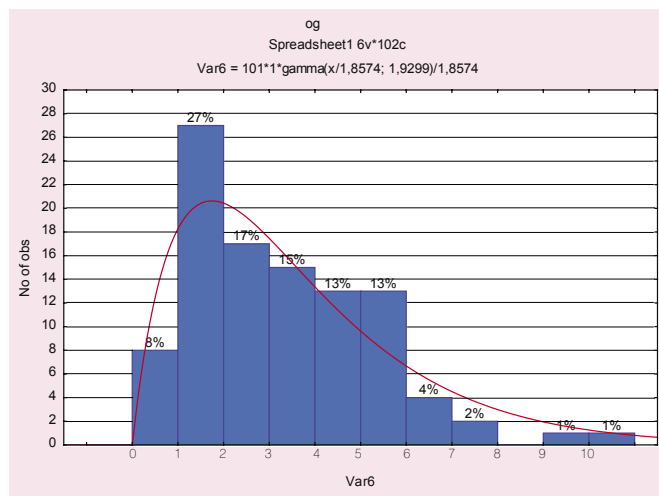
Neprijeporna je činjenica da je hrvatsko veterinarstvo od 1945. do 1990.

(stari model) dalo nemjerljiv prinos zaštiti zdravlja ljudi i životinja, liječenju bolesnih životinja, unaprjeđivanju reprodukcije, uzgoja i korištenja životinja i zaštiti okoliša. Ono se razvijalo, organiziralo i djelovalo u specifičnim uvjetima. Djelovalo je i kao javna služba i kao poduzetnička aktivnost. Ta je dvojnost sve više ugrožavala i pogoršavala ekonomski položaj veterinarstva (osobito u primarnoj raspodjeli) i veterinarskih organizacija te slabila ugled veterinarske profesije (Tadić, 1985.). Cijene veterinarskih usluga bile su eksterno zadane i depresirane.

Razvidno je to iz grafikona 1, 2, i 3. Rezultati te analize osobito su relevantni za prosudbu ondašnje i sadašnje djelotvornosti veterinarske prakse pri pružanju usluga privatnim poljoprivrednim gospodarstvima. Na tim je gospodarstvima stočarstvo bilo i ostalo znatna gospodarstvena djelatnost (grafikon 1). Troškovi lijekova i veterinarskih usluga tih gospodarstava tvorili su u prosjeku 1,07% bruto društvenog proizvoda (BDP) poljoprivrede tih



Grafikon 2. Razdioba broja općina u Republici Hrvatskoj 1990. godine prema udjelu troškova lijekova i veterinarskih usluga u bruto društvenom proizvodu poljoprivrede u tim općinama (u %)



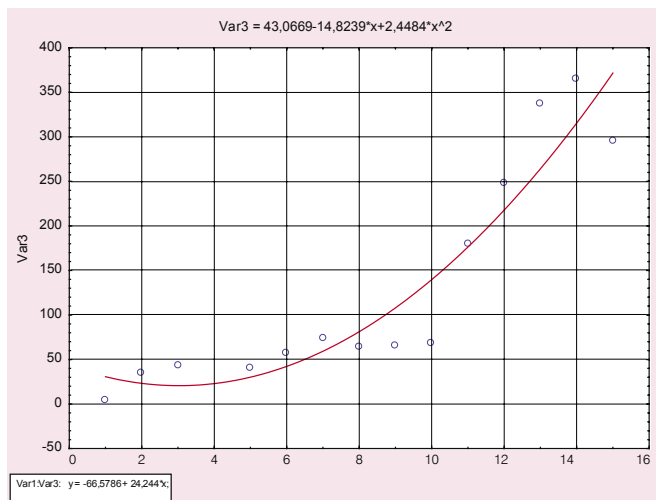
Grafikon 3. Razdioba broja općina u Republici Hrvatskoj prema udjelu troškova lijekova i veterinarskih usluga (u %) u bruto-društvenom proizvodu stočarstva na privatnim poljoprivrednim gospodarstvima 1990. godine

gospodarstava godine 1990. U gotovo tri petine općina Republike Hrvatske oni su bili manji od 1,5% BDP poljoprivrede (grafikon 2). Istodobno su ti troškovi iznosili u prosjeku 3,55% BDP stočarstva u svim općinama Republike Hrvatske označene godine, a u njih tri petine bili su manji od 5% BDP stočarstva (grafikon 3).

Ti su pokazivači sukladni rezultatima naših prijašnjih istraživanja

(Tadić i sur., 1984.) koja su upozorila na značajnu i pozitivnu korelaciju između ekonomičnosti proizvodnje mlijeka, tova junadi i tova svinja na ondašnjim društvenim gospodarstvima i udjela troškova lijekova u cijeni koštanja tih proizvoda.

Ukupni troškovi lijekova i veterinarskih usluga u Republici Hrvatskoj godine 1990. i na društvenim i na privatnim poljoprivrednim gospodarstvima



Grafikon 4. Potpore veterinarstvu (u mil. HRK) iz državnog proračuna između 1998. i 2012. godine (1998. = 1)

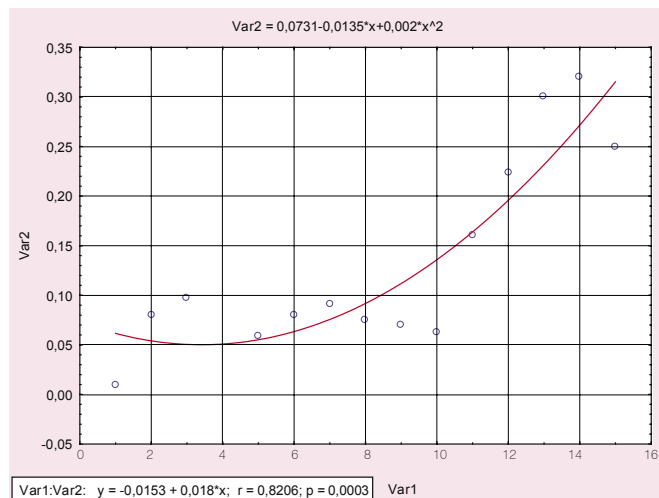
iznosili su 0,108% BDP Hrvatske ili 1,05% BDP poljoprivrede Republike Hrvatske.⁷

Strukturne promjene u hrvatskom veterinarstvu između 1990. i 2010. radikalno su promijenile društveni i ekonomski položaj veterinarstva i njegovu djelotvornost. Ranije smo upozorili na sve nepovoljniji ekonomski položaj veterinarskih organizacija i na opadanje društvenog ugleda veterinarske profesije (Tadić i sur., 2009., Tadić i sur., 2010.). Tijekom označenog razdoblja došlo je do reduciranja djelatnosti veterinarskih organizacija i do institucionalnog reduciranja monopola veterinarske profesije što se vrlo negativno odrazilo na ekonomski položaj veterinarskih organizacija. Istodobno je došlo do znatne „etatizacije” veterinarstva koja se očitovala sve jasnijim razdvajanjem

javne službe i veterinarske prakse, sve većim brojem zaposlenih veterinara u javnoj službi, sve većim brojem veterinarskih djelatnosti i poslova koji se financiraju iz državnog proračuna te osnutkom različitih državnih (javnih) ustanova koje preuzimaju pojedine veterinarske djelatnosti. Istodobno je u Republici Hrvatskoj smanjen obujam poljoprivredne proizvodnje 19,2%, a broj stoke kako slijedi: goveda 45,2%, svinja 29,8%, ovaca 14,4% i peradi 41,4%. Obračunato pak po veterinaru zaposlenom u veterinarskoj praksi smanjen je broj pojedinih vrsta stoke kako slijedi: goveda 48,3%, svinja 33,4%, konja 59,3%, ovaca 18,7% i peradi 44,5%.⁸

⁷ Izdvajanja iz proračuna Republike Hrvatske za veterinarstvo, u to su vrijeme, bila minimalna i odnosila su se na osobne dohotke i materijalne troškove zaposlenih (veterinarskih inspektora) u organima uprave na razini općina, zajednica općina i Republike Hrvatske i iznosila su 0,06% konsolidiranog proračuna Republike Hrvatske.

⁸ Istodobno sa smanjivanjem obujma poljoprivredne proizvodnje povećavala su se novčana izdvajanja za potporu poljoprivrede iz državnog proračuna. Ona su se brže povećavala od porasta BDP i od državnog proračuna te su 2008. godine iznosila koliko i 14,2% vrijednosti poljoprivredne proizvodnje odnosno 53,9% neto dodane vrijednosti poljoprivredne proizvodnje. Dodajmo još i to da se u tom razdoblju trajno i brzo povećavao proračun nadležnog ministarstva, broj zaposlenika u tom ministarstvu te broj različitih agencija, zavoda i sličnih državnih organizacija u okviru ministarstva (16 takvih organizacija 2010. godine).



Grafikon 5. Udjeli potpora veterinarstvu (u %) u državnom proračunu između 1998. i 2012. godine. [1998. = 1]

Prije smo naznačili da su strukturne promjene u hrvatskom veterinarstvu započele ranih devedesetih godina prošlog stoljeća, ubrzale se pristupanjem Republike Hrvatske Svjetskoj trgovinskoj organizaciji i potpisivanjem Sporazuma o stabilizaciji i pridruživanju s Europskom Unijom, a vrlo intenzivirale otvaranjem pristupnih pregovora Republike Hrvatske s Europskom Unijom. Te su se promjene očitovale; postupnim reduciranjem ili napuštanjem pojedinih djelatnosti veterinarskih organizacija, ubrzanim povećavanjem broja organizacija koje se bave isključivo ili pretežito pružanjem usluga kućnim ljubimcima, snaženjem javne (državne) veterinarske službe te sve većim, apsolutno i relativno, ukupnim troškovima veterinarstva. Znatno brže su se povećavali troškovi javne (državne) veterinarske službe nego troškovi privatne veterinarske prakse. Tako su se izdvajanja iz državnog proračuna za veterinarstvo⁹

između 1998. i 2010. povećala 67 puta te su iznosila najmanje 0,01%, a najviše 0,30% državnog proračuna (grafikoni 4 i 5). Istodobno su troškovi privatne veterinarske prakse iznosili između 0,188% i 0,236% BDP, odnosno koliko i 0,56 do 0,68% državnog proračuna (da je privatna veterinarska praksa financirana iz državnog proračuna!).

Temeljem raspoloživih podataka opravdano je pretpostaviti da će ukupni troškovi hrvatskog veterinarstva¹⁰ tijekom 2010. godine biti oko 1,2 milijarde kuna odnosno oko 0,36% BDP ili koliko i 0,97% državnog proračuna. Odnos troškova javne (državne) veterinarske službe i privatne veterinarske prakse mogao bi biti 42,3% : 57,7%. Ti podatci upozoravaju na ubrzanu „etatizaciju” veterinarstva koja je izravna posljedica prilagodbe hrvatskih veteri-

naziva i pozicija u državnom proračunu pa su se sredstva namijenjena veterinarstvu vodila pod ovim nazivima: veterinarske usluge, zdravstvena zaštita životinja, veterinarstvo.

⁹ Poredbena analiza izdvajanja iz državnog proračuna otežana je čestim promjenama

¹⁰ Javna veterinarska služba, privatna veterinarska praksa, Hrvatski veterinarski institut.

narskih propisa i prakse (?) propisima Europske Unije.

Uspoređujući udjele ukupnih troškova veterinarstva u BDP Republike Hrvatske prije i poslije 1990. godine razvidno je da su ti troškovi znatno (nekoliko puta) veći poslije 1990. nego prije te godine. Temeljem, isključivo tih podataka nije moguće pouzdano prosuđivati djelotvornost veterinarstva u ta dva razdoblja. Temeljem podataka o broju uginulih goveda, svinja i ovaca tijekom 1990. i 2008. godine moglo bi se zaključiti o pogoršanju zdravstvene zaštite tih vrsta životinja, jer se znatno povećao postotak uginulih goveda i ovaca tijekom 2008. u odnosu na 1990., a smanjio postotak uginulih svinja. Ti podatci nisu nikako dostatni za prosudbu djelotvornosti veterinarstva. Istraživanje djelotvornosti veterinarstva mnogo je složenija zadaća.

Umjesto zaključaka

Hrvatsko je veterinarstvo između 1945. i 1990. tvorilo cjelovit sustav. Njegove su sastavnice bile horizontalno i vertikalno povezane. Temeljnu jedinicu tog sustava tvorile su veterinarske stanice organizirane po teritorijalnom načelu sukladno upravnom ustroju Republike Hrvatske. Sustav se razvijao u specifičnim društvenim, političkim i ekonomskim uvjetima, a bez poznatog uzora u svijetu. Razvitak je sustava bio vrlo dinamičan. Temeljne su funkcije cilja cijelog sustava bile ispuniti propisane zadaće i posloovati ekonomično. Upravo su te funkcije cilja bile nekonzistentne, jer su

u sustav ugradile javnu i poduzetničku funkciju. Eksterno zadane cijene veterinarskih usluga slabile su ekonomski položaj veterinarskih organizacija i prisiljavale ih na proširivanje djelatnosti što je vodilo sve većoj masovnosti i feminizaciji profesije.¹¹ Teritorijalni ustroj veterinarskih stanica isključivao je svaki oblik konkurencije, a veterinarske su stanice bile primorane poslovati po načelu „čistih računa i samofinanciranja“ u netržišnim uvjetima. Taj je model ustroja veterinarstva („stari model“) bio poglavito u funkciji zaštite zdravlja životinja i unapređivanja stočarstva.

Strukturne promjene u veterinarstvu započele su ranih devedesetih godina prošlog stoljeća. One su bile uvjetovane korjenitom promjenom društveno-ekonomskog sustava, pretvorbom i privatizacijom, ratnim okolnostima, pristupanjem Hrvatske Svjetskoj trgovinskoj organizaciji te osobito priprema Hrvatske za članstvo u Europskoj uniji. Dinamika strukturnih promjena bila je različna u različnim razdobljima. Osobito je bila intenzivna početkom devedesetih godina prošlog stoljeća te potkraj prvog desetljeća ovog stoljeća. Glavna značajka tih promjena je sporije ili brže razdvajanje javne veterinarske službe od privatne veterinarske prakse, sve veća „etatizacija“ veterinarstva i sve veći troškovi ukupnog veterinarstva. Glavni uzrok za to je prilagođavanje hrvatskog veterinarskog (i ne samo veterinarskog) zakonodavstva¹² i prakse

11 Izravna je posljedica masovnosti profesije smanjivanje cijene rada, a nju slijedi feminizacija, jer žene najčešće pristaju raditi iste poslove za manju jediničnu cijenu rada.

12 Izostala je kreativna prilagodba hrvatskog veterinarskog zakonodavstva propisima Europske Unije.

propisima Europske unije. „Novi model” ustroja veterinarstva poglavito je u funkciji javnog zdravstva utemeljen na jačanju javne veterinarske službe kao logična posljedica primjene standarda Europske unije, Svjetske trgovinske organizacije (*Codex alimentarius*) i Svjetske organizacije za zdravlje životinja (*World Organisation for Animal Health*) u veterinarskom javnom zdravstvu. Privatna pak veterinarska praksa poduzetnička je aktivnost.

Strukturne promjene u veterinarstvu su proces i one će se nastaviti. Njihov će smjer i dinamika ovisiti o globalnim promjenama na različnim područjima, a osobito o promjenama u javnom zdravstvu, poljoprivredi, stočarstvu, zaštiti okoliša i dobrobiti životinja. Veterinarska profesija i veterinarske organizacije nisu se dostatno prilagodile novim društveno-ekonomskim okolnostima da znatnije povećaju svoj udio u BDP-u na području veterinarskog javnog zdravstva, zaštite zdravlja kućnih ljubimaca i sustavne i kompleksne zaštite zdravlja farmskih životinja (usklađivanje razine proizvodnje i zdravlja stada, krda ili jata). Nova Zajednička agrarna politika Europske Unije izgledna je prilika za poboljšanje ekonomskog položaja i društvenog ugleda veterinarstva u Hrvatskoj.

Sažetak

Hrvatsko veterinarstvo prolazi, već dva desetljeća, kroz znatne strukturne promjene koje su ponajprije uvjetovane korjenitim promjenama društveno-ekonomskog sustava početkom deve-

desetih godina prošlog stoljeća te pripremama za punopravno članstvo Republike Hrvatske u Europskoj Uniji.

Stari je model ustroja veterinarstva bio neprimjeren novim društveno-ekonomskim odnosima. Taj je model egzistirao i razvijao se duže od pola stoljeća i bio je primjeren ondašnjim društveno-ekonomskim okolnostima. Povrh brojnih odlika osnovna mu je slabost bila integriranje javne i poduzetničke funkcije. Uz to, model je bio „otporan” na djelovanje ekonomskih zakona.

Novi se model ustroja veterinarstva, koji se još izgrađuje, temelji na jasnom razdvajanju javne veterinarske službe od poduzetničke privatne veterinarske prakse. Prva je sastavnica tog modela poglavito u funkciji javnog (veterinarskog) zdravstva, a druga u funkciji proizvodnje profita.

Neprijeporno je da je „stari model” bio jeftiniji (manji ukupni društveni troškovi) od „novog modela” te da će se nastaviti proces „etatizacije” veterinarstva, odnosno troškovi javne veterinarske službe biti će sve veći i ona će zapošljavati sve veći broj veterinara i stručnjaka drugih struka.

Strukturne će se promjene u hrvatskom veterinarstvu nastaviti, a njihov će smjer i dinamika ovisiti o budućim promjenama na različnim društvenim i gospodarstvenim područjima.

Literatura

1. BETI, Grozdana (1988): Osvrt na zadatke i nedostatke ovlaštene veterinarske inspekcije. *Vet. stn.* 19, 287-290.
2. JUZBAŠIĆ, S. (1989): U novi zakon treba hrabro ugraditi stvarne potrebe budućeg razvoja veterinarske profesije. *Vet. stn.* 20, 65-66.
3. TADIĆ, M., A. DEAN i Vera TADIĆ (1984): Utjecaj troškova lijekova na ekonomiku proizvodnje u pojedinim granama stočarstva (odnosi cijena lijekova, stoke i stočnih proizvoda). *Vet. glasnik* 38, 669-684.
4. TADIĆ, M. (1985): Djelatnosti veterinarskih stanica u SR Hrvatskoj i njihov ekonomski položaj (Ekonomska kriza i veterinarske stanice). *Vet. stn.* 16, 1-48.
5. TADIĆ, M. (1990): Veterinarstvo i veterinarska profesija u novim društvenim i gospodarstvenim uvjetima. *Vet. stn.* 21, 281-287.
6. TADIĆ, M., Vera TADIĆ, D. CVITKOVIĆ, Marina PAVLAK i Vlasta ANIĆ (2009): Recesija i veterinarstvo. *Vet. stn.* 40, 337-351.
7. TADIĆ, M., Vera TADIĆ, D. CVITKOVIĆ, Marina PAVLAK i Vlasta ANIĆ (2010): Recesija (depresija?) i veterinarska praksa. *Vet. stn.* 41, 9-18.

Structural changes in Croatian veterinary medicine (1990–2010)

Marko TADIĆ, DVM, Ph.D., Full Professor, Denis CVITKOVIĆ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Vlasta ANIĆ, DDS, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Vera TADIĆ, DVM, Ph.D., Ministry of Foreign Affairs and European Integration of the Republic of Croatia; Zlatko HRASTNIK, DVM, M.Sc., Retired

Over the past two decades, Croatian veterinary medicine has passed through significant structural changes stemming primarily from the deep rooted changes in the socioeconomic system in the early 1990s, and from preparations for Croatia's full membership in the European Union.

The previous structural model of veterinary medicine was inappropriate for the new socioeconomic environment. That model existed and developed over half a century, adapted to the socioeconomic conditions of the time. Though it had many excellent characteristics, the main weakness of the system was the integration of public and entrepreneurial functions. Furthermore, the model was "resistant" to the functioning of economic laws.

The new structural model of veterinary medicine, that is still developing,

is based on a clear separation of public veterinary services from entrepreneurial private veterinary practice. The former element is primarily in the function of public veterinary health, while the later is in the function of profit generation.

It is certain that the "old" model was cheaper (lower overall social cost) than the "new" model, and that the process of classification of veterinary medicine will continue. This will result in increasing costs of public veterinary service, and greater employment of veterinarians and experts in other fields.

The structural changes in Croatian veterinary medicine will continue, and the direction and dynamics of that development will depend on future changes in various social and economic areas.

Analiza krmnih smjesa na prisustvo animalnih proteina

Manuela Zadravec, Mario Mitak i Vesna Jaki



Uvod

Uvođenje je metode za identifikaciju animalnih sastojaka u krmivima potrebna zbog pojave BSE-a i njezine povezanosti s hranidbom animalnim proteinima (Sellier, 2003.). Prije pojave BSE-a, uporaba animalnih proteina u hranidbi je životinja bila široko rasprostranjena, pogotovo u intenzivnom uzgoju. Mesno su brašno, mesno-koštano brašno, brašna peradi, brašna perja, krvno brašno, životinjske masti, riblje brašno, riblje ulje, mlijeko u prahu, sirutka u prahu lako dostupne sirovine s velikom količinom kvalitetnih proteina koje su se miješale u hranu za životinje.

Od 1994. godine zabranjena je uporaba proteina životinjskog podrijetla sisavaca i za ostale vrste životinja koji se koriste za prehranu ljudi (Kamphues, 2002.). Stoga je bilo potrebno uspostav-

iti nadzor u obliku zabrane uporabe animalnih bjelančevina za hranidbu životinja (NN 56/2006.).

BSE je subakutna degenerativna bolest središnjeg živčanog sustava odraslih goveda. Pripada u skupinu zaraznih spongiformnih encefalopatija ili prionskih bolesti.

Uzročnik bolesti je prion. Prema epizotiološkim podacima infekcija nastupa kada se uzročnika unese peroralno s hranom koja sadrži animalne proteine dobivene od oboljele životinje. (Prince i sur., 2003.). Bolest je prvi put opisana u Velikoj Britaniji 1986. godine.

Direktiva Europske Unije 2003./126/EC definira osnovna pravila za identifikaciju dijelova animalnih tkiva u hrani za životinje. Potreba za ovom identifikacijom bazirana je na zabrani dodavanja animalnih proteina u hranu za

Manuela ZADRAVEC dr. med. vet., asistent, dr. sc. Mario MITAK dr. med. vet., viši znanstveni suradnik Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Vesna JAKI dr. med. vet., stručni suradnik, Veterinarski zavod, Križevci

farmske životinje, osim ribljih proteina, u posebnim okolnostima. Veći dio Direktive 2003/126/EU opisuje reagens, opremu i način obrade uzorka (sijanje i sedimentaciju), bojanje, izračun količine i ocijenu hrane.

Alternativni testovi, kao ELISA, PCR (lančana reakcija polimerazom) i NIR (near infrared) spektrofotometrija, koriste se kao screening ili konfirmirajuća metoda (van Raamsdonk i sur., 2007.). U ovom radu željeli smo ispitati koliko je alternativna imunoenzimna metoda pouzdana u dokazivanju prisustva proteina preživača u stočnoj hrani.

Materijal i metode

Na prisutnost animalnih proteina pretraženo je 20 uzoraka smjesa s umiješanim različitim količinama mesno-koštanog brašna koje je sadržavalo animalne proteine preživača. Prisutnost proteina podrijetlom od preživača u mesnokoštanom brašnu dokazali smo PCR metodom. Smjese koje su korištene za kontaminaciju, korištene su prilikom međulaboratorijskog ispitivanja i dokazano su slobodne od proteina podrijetlom od preživača. Smjesama smo dodali mesnokoštano brašno u količini od 0,5%, 1% i 5%. Tako pripremljeni uzorci pretraživani su mikroskopskom metodom, koja je propisana Direktivom EU 126/2003. i imunoenzimnim NEOGEN-ovim kitom za dokaz proteina podrijetlom od preživača.

Mikroskopska pretraga

Od uzorka se odvaže najmanje 5 g koji se melje (ako je potrebno na veličinu čestica koje prolaze kroz sito,

promjera 2 mm), a zatim prosije kroz sito promjera s otvorom 0,5 mm. Ta se prosijana frakcija promatra mikroskopski pod različitim povećanjima, a tražimo dlaku i mišićne fragmente. Kao pomoć u pretraživanju uzorak se oboji lužinom, Fehlingovim reagensom, Lugolovom otopinom ili cystin reagensom. Frakciju, koja je veća od 0,5 mm se promatra pod stereomikroskopom. Treba se pregledati najmanje 1 slajd (površina pokrovnice 18 mm x 18 mm) prosijane frakcije.



Slika 1. Dlaka (Aries, 2004.)



Slika 2. Mišićno vlakno (Aries, 2004.)



Slika 3. koštani fragment (Aries, 2004.)

Da bi se dobio koncentrirani sediment potrebno je najmanje 5 g samljevenog uzorka sedimentirati u separacijskom lijevku s 50 mL tetrakloretilena. Nakon protresivanja i sedimentacije u trajanju od najmanje 3 minute, sediment se odvoji, zatim se mješavina još jednom promješa i ostavi najmanje 3 minute sedimentirati, tada se sediment odvoji i ostavi sušiti. Ako sediment sadrži velike dijelove, treba ga prosijati kroz sito veličine otvora 0,5 mm.

Sediment se promatra pod stereo-mikroskopom i složenim mikroskopom (40-400x). Za lakše promatranje pod složenim mikroskopom upotrebljava se glicerol ili parafinsko ulje kao uklopno sredstvo. Za lakšu identifikaciju djelića kostiju, sediment se može obojiti alizarinskim crvenilom.

Imunoenzimna pretraga

Princip se reakcije temelji na kapilarnom prolasku ekstrakta uzorka kroz zonu s protutijelima specifičnim za termostabilne proteine koji se spajaju u obojeni sloj.

Postupak:

1. Odvagati 10 g uzorka.
2. Dodati 100 mL ekstrakcijske tekućine.
3. Zagrijavati u kipućoj vodi 10 min.
6. Odpipetirati oko 0,5 mL uzorka u kivetu.
7. Staviti test trake u kivete s ekstraktom uzorka.
8. Ostaviti u kiveti 10 min. i očitavanje reakcije.

Pozitivna se reakcija očituje pojavom linije u zoni detekcije i druge linije u zoni kontrole. Ako je linija vidljiva samo u zoni kontrole, test se interpretira kao negativan.

Tablica 1. Prikaz rezultata imunoenzimne pretrage i mikroskopske pretrage

SMJESA	IMUNOENZIMNA PRETRAGA				MIKROSKOPSKA PRETRAGA			
	0%	0,5%	1%	5%	0%	0,5%	1%	5%
1	-	+	+	+	-	+	+	+
2	-	+	+	+	-	+	+	+
3	-	-	+	+	-	+	+	+
4	-	+	+	+	-	+	+	+
5	-	+	+	+	-	+	+	+
6	+	+	+	+	-	+	+	+
7	-	+	+	+	-	+	+	+
8	-	+	+	+	-	+	+	+
9	-	+	+	+	-	+	+	+
10	-	+	+	+	-	+	+	+
11	-	+	+	+	-	+	+	+
12	-	-	+	+	-	+	+	+
13	-	+	+	+	-	+	+	+
14	+	+	+	+	-	+	+	+
15	-	+	+	+	-	+	+	+
16	-	-	+	+	-	+	+	+
17	-	+	+	+	-	+	+	+
18	-	+	+	+	-	+	+	+
19	-	+	+	+	-	+	+	+
20	-	+	+	+	-	+	+	+

Test može detektirati prisuće goveđih proteina u količini većoj od 1%

Rezultati

Nakon izvršenih ispitivanja imunoenzimnom metodom dobili smo dva lažno pozitivna rezultata i tri lažno negativna. Mikroskopskom pretragom svi rezultati su bili sukladni s kontaminacijom uzoraka.

Zaključak

Na osnovu dobivenih rezultata uočili smo da sadržaj životinjskih masti u krmnim smjesama može često dati lažno pozitivan rezultat pri imunoenzimnoj analizi (Boix i sur., 2006.). Isto se tako i male koncentracije proteina podrijetlom od preživača ponekad ne mogu (manje od 1%) detektirati imunoenzimnom pretragom, dok se mikroskopskom pretragom mogu detektirati i male količine dodanih animalnih proteina, ukoliko je uzorak dobro homogeniziran i ako ga analizira iskusan analitičar.

Međutim, imunoenzimna pretraga može dobro poslužiti kao skreening metoda pri velikom broju uzoraka na analizu prisutnosti goveđih proteina u krmnim smjesama.

Sažetak

Animalni se proteini, dobiveni od termički obrađenih životinjskih nusproizvoda, zbog svoje hranjive vrijednosti, često koriste kao dodatak krmnim smjesama. Uvođenje kontrole

nad krmivima i krmnim smjesama na prisutnost animalnih proteina, nužna je zbog bolesti goveđe spongiformne encefalopatije (GSE) i njezine povezanosti s uporabom i hranidbom životinja animalnim proteinima.

Na prisutnost animalnih proteina pretraženo je 20 uzoraka smjesa s umiješanim različitim količinama mesno-koštanog brašna koje je sadržavalo animalne proteine preživača. Prisutnost proteina podrijetlom od preživača u mesno-koštanom brašnu dokazali smo PCR metodom. Smjese koje su korištene za kontaminaciju, korištene su prilikom međulaboratorijskog ispitivanja, i dokazano su slobodne od proteina podrijetlom od preživača. Smjesama smo dodali mesno-koštano brašno u količini od 0,5%, 1% i 5%. Tako pripremljeni uzorci pretraživani su mikroskopskom metodom, koja je propisana Direktivom EU 126/2003. i imunoenzimnim NEOGEN-ovim kitom za dokaz proteina podrijetlom od preživača.

Imunoenzimnom pretragom dobili smo 2 lažno pozitivna rezultata (prisutnost životinjskih masti) i 3 lažno negativna (koncentracija mesno-koštanog brašna 0,5%) rezultata, dok smo mikroskopskom pretragom točno odredili prisutnost animalnih dijelova u svim ispitivanim smjesama.

Literatura

1. ARIES (2004): Animal remains identification and evaluation system, Version 1.0. In: STRATFEED Consortium, RIKILT. Wageningen, The Netherlands.
2. BOIX, A., F. SERANO, S. BELLORINI and C. VAN HOLST (2006): Rugged-

- ness study of immunoassays for processed animal proteins detection in feed: Neogen Reveal for Ruminant Feed Test System: European Commission. DG JRC-IRMM, Belgium.
3. KAMPHEUS, J. (2002): Animal feeding and feed legislation after the detection of the first indigenous BSA cases in Germany. *Dtsch. Tierarztl. Wochensh.* 109, 362-367.
4. EUROPIEN UNION (2003): COMMISSION DIRECTIVE EC/126/2003 on the analytical method for determination of constituents of animal origin for the official control of feeding stuffs. *Off.J.Eur.Comm.* L339, 78-84.
5. Pravilnik o načinu postupanja s nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi. *Narodne novine* 56/2006.
6. PRINCE, M. J., J. A. BAILEY, P. R. BARROWMAN, K. J. BISHOP, G. R. CAMPBELL and J. M. WOOD (2003): Bovine spongiform encephalopathy. *Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz.* 22, 37-60.
7. SELLIER, P. (2003): Protein nutrition for ruminants in European countries, in the light of animal feeding regulations linked to bovine spongiform encephalopathy. *Rev. Sci. Tech.* 22, 259-269.
8. VAN RAAMSDONK, L. W. D., C. VAN HOLST, V. BAETEN, G. BERBEN, A. BOIX and J. DE JONG (2007): New developments in the detection and identification of processed animal proteins in feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 133, 63-83.

Analysis of fodder for the presence of animal proteins

Manuela ZADRAVEC, DVM, Assistant, Mario MITAK, DVM, Ph.D., Senior Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Vesna JAKI, DVM, Senior Associate, Križevci Veterinary Institute

Animal proteins obtained from thermal processing of animal byproducts are often used as additives in fodder due to their nutritional value. However, the introduction of controls of the presence of animal feed and fodder is necessary due to bovine spongiform encephalopathy (BSE) and its association with the use and feeding of animal proteins to animals.

A total of 20 samples containing various quantities of bone meal containing ruminant animal proteins were tested for the presence of animal proteins. The presence of proteins originating from ruminants in meat-bone meal was determined using the PCE method. The mix-

tures used for contamination were used during the interlaboratory testing are proven to be free of ruminant proteins. Meat-bone meal in quantities of 0.5%, 1% and 5% were added to the mixture. Prepared samples were examined microscopically as prescribed by EU Directive 126/2003 and using the NEOGEN immunoassay kit to establish the presence of ruminant proteins.

The immunoassay test gave two false positive results (presence of animal fats) and three false negatives (concentration of meat-bone meal of 0.5%), while the microscopic analysis gave the precise determination of presence of animal parts in all tested mixtures.

Ecoacid® 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, namijenjen za opću uporabu te za profesionalne i industrijske korisnike.
- Siguran za okoliš, ljude i životinje.
- Kompatibilan je sa HACCP.



Sastav Ecoacid S je uravnotežena stabilizirana smjesa peroksidnih spojeva, površinski aktivne tvari, organske kiseline i anorganskog puferuskog 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/II, p.p. 205, Zagreb 10002, Telefon 01/63 12 100, 63 12 101, Faks 01/61 70 739, E-mail: krka-farma@zag.hr, www.krka-farma.hr

Sigurnost hrane i pesticidi

Zorka Knežević, Nina Bilandžić, Maja Đokić i Marija Sedak



Uvod

Većina hrane koju konzumiramo sadrži određene potencijalno štetne tvari, bilo da se radi o tvarima koje su prirodni sastojci hrane ili su to tvari dodane u hranu, odnosno tvari koje su dospjele u hranu kao posljedica kontaminacije nekim vanjskim čimbenikom ili na neki drugi način. Međutim, prisutnost štetnih tvari u hrani ne znači nužno da je hrana koju konzumiramo štetna za naše zdravlje. Kada govorimo o sigurnosti hrane moramo razlikovati dva osnovna termina - zdravstveno ispravnu i zdravstveno neispravnu hranu. Prema Zakonu o hrani, hrana se zdravstveno ispravnom smatra ukoliko ne može izazvati štetne utjecaje na zdravlje ljudi te ako je proizvedena, pripremljena i konzumirana u skladu s njezinom namjenom (NN br. 46/2007.).

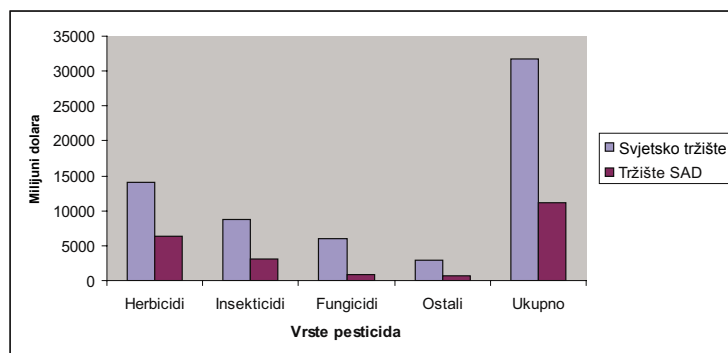
Važnost je hrane u našem svakodnevnom životu neupitna te njezina zdravstvena ispravnost i neškodljivost predstavljaju bezuvjetan uvjet, kako od kupaca tako i domaćeg i međunarodnog zakonodavstva. Programi sigurnosti hrane sve se više usmjeravaju na kontrolu hrane tzv. pristupom „od farme do stola“. Ovakvim se pristupom nas-

toji kontrolirati svaki korak vezan uz proizvodnju, skladištenje/čuvanje, distribuciju i pripremu hrane. Bez obzira na postupke kontrole hrane od njezine proizvodnje do priprave prisutnost štetnih tvari u hrani je neizbježna (Directorate – General for Press and Communication, 2004.).

Pesticidi predstavljaju vrlo značajnu skupinu kemijskih spojeva koje je nužno kontrolirati u hrani ponajprije zbog njihove visoke toksičnosti i široke primjene u poljoprivredi pri proizvodnji poljoprivrednih kultura. Većina se poljoprivrednih kultura tijekom uzgoja, po nekoliko puta, tretira različitim vrstama pesticida. Stoga je vrlo vjerojatno da će ostatci pesticida zaostati na tretiranim poljoprivrednim kulturama (Nasreddine i Parent-Massin, 2002.).

Široka uporaba pesticida na poljoprivrednim kulturama uzrokuje ostajanje pesticida u hrani čak po nekoliko mjeseci nakon uporabe, kao i kontaminaciju okoliša (zraka, površinskih voda, izvorskih voda i tla). Iako je uporaba pesticida u hrani područje koje je zakonski najbolje regulirano, proizvođači hrane kao i vladine institucije zadužene za sigurnost

Zorka KNEŽEVIĆ, dipl. ing. kemije, dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., viša znanstvena suradnica, Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. teh., Marija SEDAK, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut Zagreb



Slika 1. Prikaz financijskih izdataka za pesticide u svijetu i SAD-u

hrane pod stalnim su pritiskom različitih organizacija potrošača koje zahtijevaju poboljšanje situacije vezano uz sigurnost hrane, a s posebnim naglaskom na dopuštenu uporabu velikog broja pesticida koji se smiju koristiti u različitim stupnjevima proizvodnje hrane (Alder i sur., 2006., Paya i sur., 2007).

Broj pesticida, odnosno aktivnih tvari koje se mogu primjenjivati u proizvodnji hrane, sve je veći te se procjenjuje da je u uporabi više od 1000 vrsta pesticida koji se mogu svrstati u 126 različitih kemijskih skupina (CRL-Pesticides Data Pool). Prema biološkom djelovanju dijele se na: algicide, akaricide, fungicide, herbicide, insekticide, muluskicide, nematocide, regulatore rasta, rodenticide i dr. Prema podacima U.S. Environmental Protection Agency (US EPA) u svijetu se za pesticide izdvoji oko 32 milijarde dolara. Od toga 11 milijardi otpada na SAD što je oko 33% svjetskih izdvajanja za pesticide. S obzirom na vrste pesticida najviše se upotrebljavaju herbicidi koji čine 44% ukupne potrošnje pesticida, odnosno insekticidi 28%, fungicidi 19% i ostali pesticidi 9%. SAD su najveći svjetski potrošač pesticida (34% ukup-

ne potrošnje pesticida) te u odnosu na svjetsku potrošnju pesticida koriste 44% od ukupne potrošnje herbicida, 34% od ukupne potrošnje insekticida, 13% od ukupne potrošnje fungicida i 27% od ukupne potrošnje ostalih pesticida. Na slici 1 prikazani su financijski izdatci za pesticide u svijetu i SAD.

Štetni utjecaji pesticida

Pesticidi su otrovi širokog spektra djelovanja. Ako se izuzme profesionalna izloženost pesticidima, pesticidi se u organizam unose ingestijom preko hrane i vode. Štetno djelovanje pesticida ovisi o njihovoj vrsti pa tako mogu imati štetne utjecaje na središnji živčani sustav, reproduktivne organe, izazivati iritaciju očiju i kože, oštećenje jetre, mogu utjecati na poremećaj izlučivanja hormona, mnogi su karcenogeni, mutageni i teratogeni. Količine pesticida koje unosimo hranom i vodom ne mogu izazvati akutna trovanja, ali svakako imaju štetan utjecaj na ljudsko zdravlje.

Organofosforni, organoklorini pesticidi, karbamati i piretroidi su najispitivanije skupine spojeva. Oko 75% organofosfornih pesticida će se nakon unosa u

organizam metabolizirati u dialkilfosfate. Suprotno od organofosforinih pesticida dialkilfosfati ne inhibiraju acetilkolinesterazu, nisu toksični i služe kao markeri za procjenu izloženosti organofosforinih spojevima. Za razliku od organofosforinih spojeva organoklorni su spojevi lipofilni spojevi koji se ne metaboliziraju nego se akumuliraju u masnom tkivu. Najveći unos organoklornih pesticida u organizam je preko hrane životinjskog podrijetla – mlijeko, meso, riba. Piretroidi u usporedbi s ostalim pesticidima spadaju u manje toksične pesticide, a njihovim unosom u organizam dolazi do brzog metaboliziranja i izlučivanja iz organizma. Toksičnost karbamata je slična toksičnosti organofosforinih spojeva kao i njihovo primarno djelovanje koje se temelji na inhibiciji acetilkolinesteraze (Third National report on Human Exposure to Environmental Chemicals, 2005.)

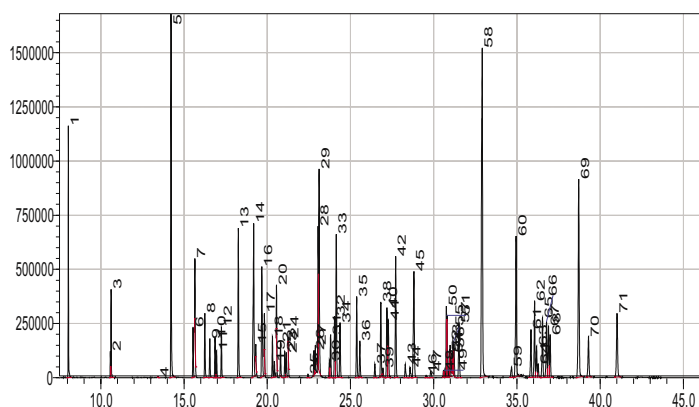
Metodologija određivanja pesticida

Analizu pesticida u hrani otežava raznolikost i složenost vrsta hrane koje je potrebno analizirati kao i niske koncentracije u kojima su pesticidi obično prisutni u hrani. Kontrola ostataka pesticida u hrani, posebno u svježem voću i povrću, postaje sve veći problem kako za institucije koje su zadužene za sigurnost hrane tako i za proizvođače hrane (Martinez Vidal i sur., 2002.). U zadnjih nekoliko godina analitika pesticida u hrani suočena je s različitim problemima zbog implementacije novih i strožijih zakonskih propisa koji se odnose na pesticide i njihove maksimalno dopuštene količine koje se smiju

naći u hrani. Promoviranje novih spojeva pesticida „manjeg rizika“ kontinuirano doprinosi povećanju broja pesticida koji se smiju koristiti u i na hrani što isto tako otežava kontrolu ostataka pesticida u hrani (Fernández-Alba i Agüera, 2007.)

U svrhu očuvanja ljudskog zdravlja potrebno je osigurati stalno praćenje njihove koncentracije u različitim proizvodima biljnog podrijetla (voće i povrće, žitarice, proizvodi od voća, povrća i žitarica) te hrani životinjskog podrijetla (masno tkivo, mlijeko i mliječni proizvodi, riba i proizvodi od ribe, meso i mesne prerađevine). Sustavnom kontrolom potrebno je osigurati da na tržište dolaze samo one namirnice biljnog i životinjskog podrijetla u kojima razine pesticida ne premašuju maksimalno dopuštene razine pesticida, koje su u Republici Hrvatskoj propisane Pravilnikom o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani biljnog i životinjskog podrijetla (NN 148/2008., 49/2009., 118/2009.). Laboratoriji nadležni za kontrolu ostataka pesticida u hrani moraju imati razvijenu i implementiranu multirezidualnu metodu za istovremeno određivanje što većeg broja pesticida u različitim vrstama hrane (slika 2). Veliki broj aktivnih supstanci koje se mogu koristiti u proizvodnji hrane te kemijska različitost aktivnih supstanci, različita funkcionalnost i različita fizikalno-kemijska svojstva, s analitičkog gledišta otežavaju ispitivanje zdravstvene ispravnosti hrane s obzirom na prisutnost ostataka pesticida u hrani (Knežević i Serdar, 2009.).

Kemijska i fizikalna svojstva pesticida znatno se razlikuju. Postoji nekoli-

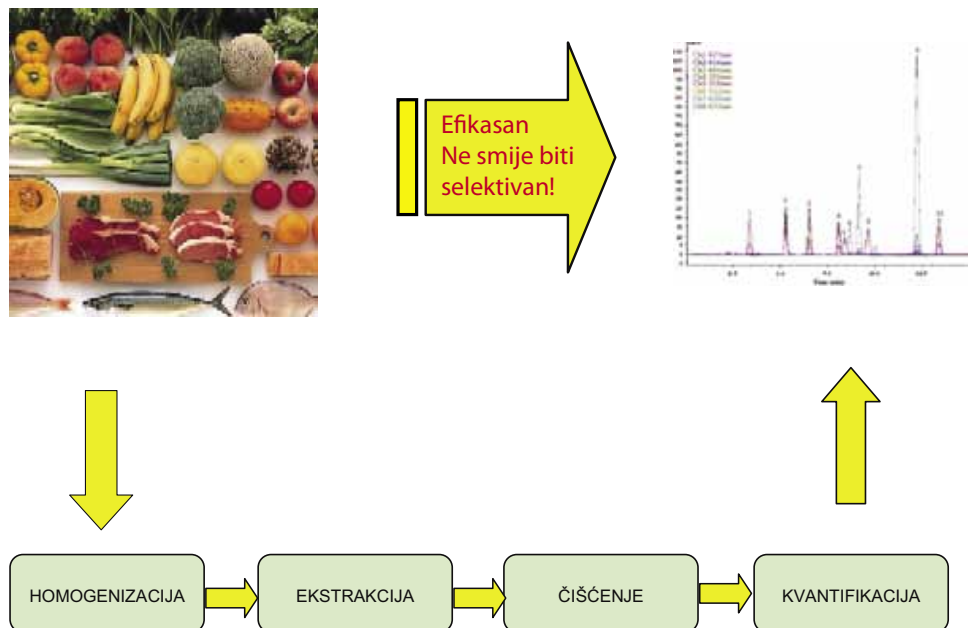


Slika 2. Kromatogram multirezidualne metode određivanja pesticida i PCB-a u Laboratoriju za određivanje rezidua (1-diklorvos; 2-mevinfos; 3-TBP (IS); 4-alfa-HCH; 5-HCB; 6-karbofuran; 7-beta-HCH; 8-lindan; 9-propetamfos; 10-diazinon; 11-pirimikarb; 12-klorpirifos-metil; 13-PCB 28; 14-malaokson; 15-karbaril; 16-heptaklor; 17-fenklorfos; 18-pirimifos-metil; 19-fenitrotrion; 20-PCB 52; 21-malation; 22-klorpirifos; 23-aldrin; 24-fention; 25-paration; 26-heptaklorepksid-endo; 27-klorfenvinfos; 28-heptaklorepksid-endo; 29-aletrin I; 30-aletrin II; 31-bromofos-etil; 32-trans-klordan; 33-tetraklorinfos; 34-PCB 101; 35-endosulfan alfa; 36-cis-klordan; 37-p,p-DDE; 38-dieldrin; 39-endrin; 40-PCB 118; 41-endosulfan-beta; 42-etion; 43-p,p-DDD; 44-o,p-DDT; 45-PCB 153; 46-karbofention; 47-endosulfan sulfat; 48-PCB 138; 49-p,p-DDT; 50-resmetrin I; 51-resmetrin II; 52-tetrametrin I; 53-bifen-trin; 54-tetrametrin II; 55-metoksiklor; 56-fenpropartrin; 57-PCB 180; 58-amitraz; 59-kumafos; 60-permetrin; 61-ciflutrin I; 62-ciflutrin II; 63-ciflutrin III; 64-ciflutrin IV; 65-cipermetrin I; 66-cipermetrin II; 67-cipermetrin III; 68-cipermetrin IV; 69-fenvalerat I; 70-fenvalerat II; 71-deltametrin)

cina pesticida koji imaju izrazito kiseli karakter dok su ostali neutralnog ili baznog karaktera. Neki spojevi sadrže halogene, drugi fosfor, sumpor, dušik ili neki drugi heteroatom. Prisutnost navedenih heteroatoma može imati veliko značenje prilikom odabira načina detekcije određenih spojeva od kojih su neki jako hlapljivi, a neki uopće nisu hlapljivi. Ovakva raznolikost fizikalno-kemijskih svojstava uzrokuje ozbiljne probleme prilikom razvoja „univerzalne“ multirezidualne analitičke metode čije područje primjene treba biti što je moguće šire. Prema tome metodologiju određivanja pesticida karakterizira široki spektar analita, različitih polarnosti, topljivosti, pKa vrijednosti, različitih koncentracijskih nivoa, a koji

se mogu nalaziti u istom uzorku i kao takvi trebaju odrediti u istom uzorku. Isto tako, metodologiju određuju i vrste uzoraka hrane s njihovim različitim utjecajem na pojedine analite, zbog različitog udjela vode i masti u svom sastavu te različitog biokemijskog sastava (Paya i sur., 2007.).

Danas postoji veliki broj postupaka obrade uzorka i ekstrakcije pesticida iz različitih uzoraka hrane. Većina predloženih postupaka uključuje homogenizaciju s organskim otapalom ili smjesom organskog otapala, s vodom s ili bez podešavanja pH vrijednosti uporabom homogenizatora, miksera ili ultrazvučnih miješalica (slika 3). Analitičke metode koje se koriste za određivanje ostataka pesticida u hrani



Slika 3. Shematski prikaz analitičkog postupka određivanja pesticida u hrani

obično uključuju: ekstrakciju spojeva pesticida iz uzoraka, pročišćavanje sirovog ekstrakta i kao završni korak kvantitativno određivanje kromatografskim tehnikama (Garrido Frenich i sur., 2005.). Ključni je korak u analizi ostataka pesticida priprava uzorka, odnosno efikasna ekstrakcija analita iz kompleksne matrice kao što je hrana.

Pored klasičnih ekstrakcijskih tehnika u zadnje su vrijeme predloženi novi pristupi kao što su Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS), ekstrakcija superkritičnim fluidom (engl. SFE – supercritical fluid extraction), tekućinska ekstrakcija pod tlakom (engl. PLE-pressurized-liquid extraction), ekstrakcija mikrovalovima (engl. MAE-microwave-assisted extraction), disperzija matrice na čvrstoj fazi (engl. MSPD-matrix solid-phase dispersion), ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl.

SPE-solid-phase extraction), mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. SPME-solid-phase microextraction) i stir-bar-sorptive extraction (SBSE). Glavna je prednost navedenih tehnika u tome što znatno smanjuju vrijeme ekstrakcije i potrošnju organskog otapala, a odabir pojedine tehnike ovisi o analitičkom problemu.

Ekstrakcija ostataka pesticida u uzorcima hrane obično je praćena znatnim udjelom interferirajućih komponenti iz uzoraka hrane. Zbog toga je vrlo bitno odabrati efikasan postupak ekstrakcije i čišćenja ekstrakta kako bi se postigla visoka iskorištenja, a utjecaj interferirajućih komponenti sveo na minimum (Lambropoulou i Albanis, 2007.)

Bez obzira na znatan broj predloženih postupaka pripreme uzorka ekstrakcija organskim otapalom uz obvezno čišćenje ekstrakta gel-permeacijskom

kromatografijom i/ili ekstrakcijom na čvrstoj fazi još uvijek je najzastupljeniji postupak pripreme uzorka. Za ekstrakte hrane biljnog podrijetla dovoljno je pročititi ekstrakte ili gel-permeacijskom kromatografijom ili ekstrakcijom na čvrstoj fazi. U slučaju hrane životinjskog podrijetla nužno je višestruko čišćenje ekstrakta tj. pročišćavanje gel-permeacijskom kromatografijom i ekstrakcijom na čvrstoj fazi često uz primjenu više različitih faza u svrhu što efikasnijeg uklanjanja masti.

Razvojem QuEChERS metode napravljen je znatan iskorak u analizi pesticida posebno što se tiče jednostavnosti izvedbe i potrošnje organskog otapala. QuEChERS metoda ne zahtijeva dodatni postupak čišćenja, ali zahtijeva uporabu visokoselektivnih detekcijskih sistema kao što su LC-MS-MS i GC-MS-MS i za sada se primjenjuje samo za određivanje pesticida u hrani biljnog podrijetla.

Većina aktivnih supstanci pesticida je hlapljiva i termički stabilna pa je zbog toga plinska kromatografija u kombinaciji s različitim detektorima: plameno-fotometrijskim (engl. FPD-flamephotometric detector), detektor zahvata elektrona (engl. ECD-electron capture detector), dušik-fosfor detektor (engl. NPD-nitrogen-phosphorus detector), spektrometar masa (MS), još uvijek najzastupljenija analitička tehnika koja se koristi u analizi ostataka pesticida u hrani. Posljednjih godina sve značajnije mjesto u multirezidualnoj analizi pesticida u hrani zauzimaju tehnike tekućinske kromatografije, posebno vezani sustav tekućinska kromatografija-tendemska spektrometrija masa (LC-MS-MS).

Detekcijski sustav koji se najviše koristi u analizi pesticida je spektrometar masa. Razlog je tome što je spektrometar masa univerzalni detekcijski sustav koji u kombinaciji s kromatografskim tehnikama čini vrlo moćan analitički sustav sposoban analizirati gotovo sve organske spojeve, bez obzira na kemijsku funkcionalnost. Vezani sustavi kromatografija-spektrometrija masa omogućuju istovremenu identifikaciju, kvantifikaciju i potvrdu prisutnosti spojeva od interesa.

Sažetak

Hrana koju konzumiramo sadrži određene štetne tvari. Pesticidi su vrlo značajna skupina kemijskih spojeva čiju je prisutnost nužno kontrolirati u hrani, kako zbog njihove toksičnosti tako i zbog izrazito velikog broja spojeva (preko 1000) koji se mogu koristiti u različitim stupnjevima proizvodnje i skladištenja hrane. Laboratoriji nadležni za kontrolu ostataka pesticida u hrani imaju vrlo zahtjevan zadatak kontrole prisutnost velikog broja spojeva različitih fizikalno-kemijskih svojstava u različitim vrstama hrane. Analiza pesticida u hrani je skup i dugotrajan proces koji zahtijeva razvoj multirezidualne metode za simultano određivanje što većeg broja pesticida u što kraćem vremenu.

Literatura

1. ALDER, L., K. GREULICH, G. KEMPE and B. VIETH (2006): Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS. *Mass Spectrom. Rev.* 25, 838-865.
2. Directorate – General for Press and Communication (2004): From farm to

- fork: Safe food for Europe's consumers. European Commission, Brussels.
3. FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. and A. AGÜERA (2007): Pesticides in food. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1661.
 4. GARRIDO FRENICH, A., I. MARTÍNEZ SALVADOR, J. L. MARTÍNEZ VIDAL and T. ÓPEZ-LÓPEZ (2005): Determination of multiclass pesticides in food commodities by pressurized liquid extraction using GC-MS/MS and LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 383, 1106-1118.
 5. KNEŽEVIĆ, Z. and M. SERDAR (2009): Screening of fresh food and vegetables on pesticides residues on Croatian market. *Food Control* 20, 419-422.
 6. LAMBROPOULOU, D. A. and T. A. ALBANIS (2007): Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1663-1683.
 7. MARTINEZ VIDAL, J. L., F. J. ARREBOLA and M. MATEU-SÁNCHEZ (2002): Multi-residue method for determination of pesticides in vegetable samples by GC-MS-MS. *Chromatographia* 56, 474-481.
 8. NASREDDINE, L. and D. PARENT-MASSIN (2002): Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? *Toxicology Letters* 127, 29-41.
 9. PAYA, P., M. ANASTASSIADES, D. MACK, I. SIGALOVA, B. TASDELEN, J. OLIVA and A. BARBA (2007): Analysis of pesticides residue using Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticides multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1697-1714.
 10. Pravilnik o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva (NN 148/2008., 49/2009., 118/2009.).
 11. Third National report on Human Exposure to Environmental Chemicals (2005): National Center for Environmental Health Division of Laboratory Sciences Atlanta, Georgia NCEH Pub. No. 05-0570.
 12. Zakon o hrani. Hrvatski sabor (NN 46/2007.).
 13. www.crl-pesticides-datapool.eu (citirano 10.03.2010.)

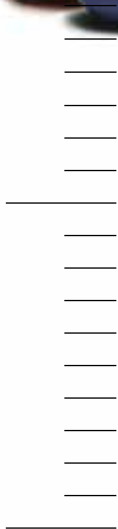
Food safety and pesticides

Zorka KNEŽEVIĆ, B.Sc., Nina BILANDŽIĆ, B.Sc. Ph.D., Senior Scientific Associate, Maja ĐOKIĆ B.Sc., Marija SEDAK, B.Sc., Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Food for human consumption contains some harmful substances. Pesticides are very important group of chemical compound necessary continuously control because of high toxicity and extremely high number of active substances which are may use in food production (over 1000). Laboratories responsible for control of pesticides residues in food had very dif-

ficult task to control presence of high number compound with very different physical-chemical properties in different kind of food. Analysis pesticides in food is a time consuming an expensive procedure and demands development of multiresidual method for simultaneous determination high number of compounds in shorter time is possible.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

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

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

Detaljnije informacije možete dobiti od proizvođača:

KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/II, p.p. 205, Zagreb 10002
www.krka-farma.hr



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

Hemofilija u životinja



Josipa Kuleš, Renata Barić-Rafaj i Vladimir Mrljak

Uvod

Hemofilije su nasljedni poremećaji krvarenja uzrokovane niskom koncentracijom ili nedostatkom specifičnih koagulacijskih faktora – koagulacijskog faktora VIII (FVIII) u hemofiliji A, ili koagulacijskog faktora IX (FIX) u hemofiliji B. Bolest se javlja u pasa (osobito njemačkog ovčara), mačaka, konja, goveda, koza i ovaca (Henninger, 1988., Deniz i sur., 1995., Brooks i sur., 2005., Goree i sur., 2005., Lutze i sur., 2005., Nakata i sur., 2006., Moritomo i sur., 2008.). Faktor VIII je ključan koagulacijski faktor u krvi, koji u aktiviranom obliku pomaže stabilizaciji primarnog hemostatskog ugruška fibrinom. U koagulacijskom kaskadnom nizu reakcija služi kao kofaktor za FIX koji zatim aktivira faktor X u aktivirani faktor X (FXa) (Bolton-Maggs i Pasi, 2003.).

Faktori VIII i IX u koagulaciji

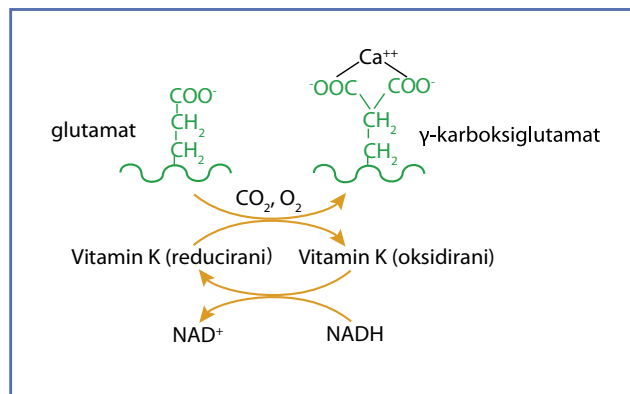
Do krvarenja u hemofiliji dolazi zbog defekta sekundarne hemostaze.

Sekundarna hemostaza uključuje aktiviranje sustava zgrušavanja krvi i učvršćivanje trombocitnog ugruška pomoću fibrinskih vlakana. Primarna se hemostaza, nastanak trombocitnog ugruška na mjestu ozljede krvne žile odvija normalno, ali dolazi do defekta u stabilizaciji nastalog ugruška fibrinom zbog nedostatka trombina. Nastajanje trombina predstavlja središnji događaj u mehanizmu zgrušavanja krvi, jer samo djelovanjem trombina iz topljivog fibrinogena nastaje netopljivi fibrin.

Sustav se zgrušavanja krvi sastoji od niza međusobno povezanih proteolitičkih reakcija. Koagulacijski faktori, proteini plazme, koji sudjeluju u zgrušavanju nalaze se u krvi u neaktivnom obliku, a prevode u aktivne oblike enzimskim djelovanjem ili pomoću kofaktora. Postoji vanjski i unutarnji put zgrušavanja koji se sastaju nakon nastajanja FXa u zajednički put.

Vanjski put zgrušavanja započinje nakon ozljede tkiva vezanjem tkivnog

Josipa KULEŠ, mag. med. biokem., znanstvena novakinja, dr. sc. Renata BARIĆ-RAFAJ, mag. med. biokem., docentica, dr. sc. Vladimir MRLJAK, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Zagreb



Slika 2. Karboksilacija glutaminske kiseline ovisna o vitaminu K

nužne za normalnu funkciju i biološku aktivnost (Bolton-Maggs i Pasi, 2003.).

Formacija gla-domena u nekim proteinima sustava zgrušavanja krvi predstavlja kritičan korak u njihovoj normalnoj funkciji. Za njihovo stvaranje neophodan je vitamin K. Prisutnost gla-domene dopušta proteinu da veže na sebe kalcijeve ione, i tako se aktivira.

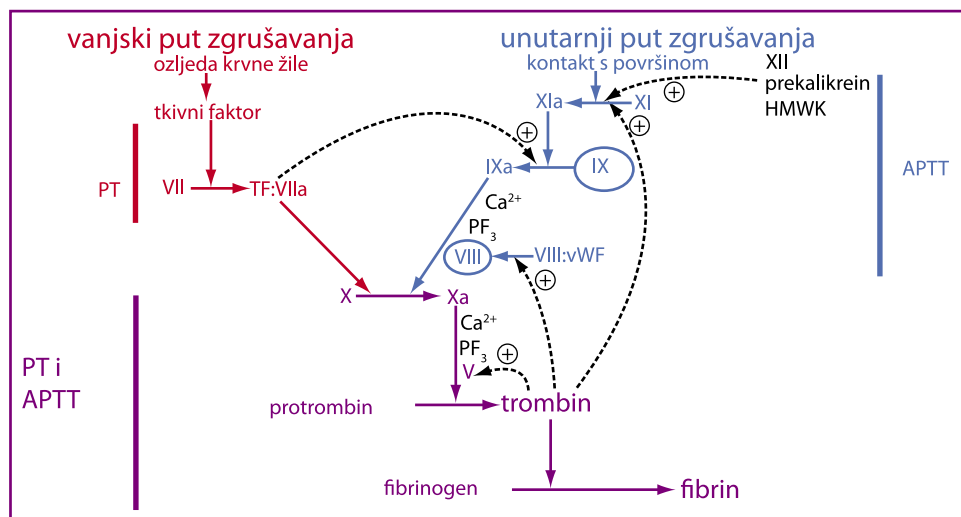
Dijagnostika hemofilija

Hemofilija u ljudi je prepoznata još u drevnom Egiptu. Bolest je vezana za X kromosom, što znači da oboljevaju muškarci, a žene su nosioci. Bolesnici imaju produžena vremena krvarenja, hematome, podljeve i modrice te tendenciju krvarenju (Wahl i sur., 2008.). Dijagnoza se hemofilije A postavlja kvantifikacijom koagulacijskih faktora i određivanjem aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena. Sklonost je krvarenju ovisna o koncentraciji faktora, odnosno njegovoj aktivnosti (FVIII:C). Tako hemofiliju dijelimo na tešku (<1% normalne aktivnosti FVIII), umjerenu (1-5%) i blagu hemofiliju

(5-40%). U teškoj se hemofiliji javljaju teška produžena krvarenja nakon ozljeda, spontana krvarenja u mišiće i zglobove te u unutrašnje šupljine. U umjereno teškoj hemofiliji, javljaju se obilna krvarenja nakon veće ozljede ili kirurškog zahvata te krvarenja u mišiće i zglobove nakon manjih ozljeda. U blagom obliku hemofilije nema

spontanih krvarenja već samo nakon većih ozljeda ili kirurškog zahvata (Henninger, 1988., White i sur., 2001., Bolton-Maggs i Pasi, 2003., Nakata i sur., 2006., Moritomo i sur., 2008.). Ova klasifikacija općenito predviđa rizik od krvarenja, optimalnu terepeutsku strategiju i ishod.

Već rutinski koagulacijski testovi kao APTT i PT ukazuju na moguću prisutnost hemofilije (slika 3). Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTT) je test kojim se mjeri vrijeme zgrušavanja plazme nakon aktivacije kontaktnih faktora, ali bez dodatka tkivnog tromboplastina pa test odražava učinkovitost unutarnjeg puta zgrušavanja. Test ovisi i o faktorima VIII i IX te također i o faktorima X, V, II i fibrinogenu. Protrombinsko vrijeme (PT), test koji odražava učinkovitost vanjskog puta zgrušavanja, u hemofiličara je normalno, dok je APTT produženo. APTT se pokazao kao pouzdan i osjetljiv dijagnostički test za hemofiliju u pasa i mačaka (Mischke, 1993., Deniz i sur., 1995., Mischke i sur., 1996., Mischke, 2000., Nakata i sur., 2006.).



Slika 3. Koagulacijski testovi PT (protrombinsko vrijeme) i APTT (aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme)

APTT odražava učinkovitost unutarnjeg puta zgrušavanja u kojem sudjeluju faktori VIII i IX.

Hemofilija A i B se klinički ne razlikuju jedna od druge pa se dijagnoza mora potvrditi određivanjem specifičnog koagulacijskog faktora. Hemofilija A se često može zamijeniti s von Willibrandovom bolešću, u kojoj također može doći do sniženja aktivnosti FVIII pa je potrebno određivanje von Willibrandovog faktora za diferencijalnu dijagnozu. Potrebno je razlikovati FVIII antigen (FVIII:Ag) koji označava koncentraciju faktora, ali nam ne govori o njegovoj aktivnosti ni funkcionalnosti te FVIII:C koji označava stvarnu koagulacijsku aktivnost faktora. Aktivnost se faktora može mjeriti polukvantitativnim biološkim te imunokemijskim metodama. Pomoću modificiranog APTT testa mjeri se aktivnost FVIII u razrjeđenjima pacijentove plazme i standarda (poznate FVIII aktivnosti). Ne postoje internacionalni standardi za

životinje već se plazma pacijenta obično uspoređuje sa skupnim uzorkom zdravih životinja (Littlewood, 2000.). Imunokemijski testovi koriste monoklonalna ili poliklonalna protutijela na humani FVIII koja pokazuju dobru križnu reaktivnost s animalnim FVIII. U blagoj i umjerenoj hemofiliji moguće je detektirati FVIII antigen (FVIII:Ag), dok se u teškoj hemofiliji obično ne može detektirati (Mischke, 2000.).

Hemofilija B ili Christmas disease, nasljedni manjak FIX, je mnogo rjeđi oblik od hemofilije A. Klinički se ne može razlikovati od hemofilije A, osim što ima tendenciju blažim krvarenjima. Klasifikacija bolesti je prema težini kliničke slike koja odgovara razini faktora IX. Za teški oblik bolesti razina faktora IX je manja od 1%, za umjereni od 1 do 5%, a blagi oblik je >5% normalne aktivnosti FIX. Laboratorijski se dijagnosticira produženim APTT-om i određivanjem specifične aktivnosti faktora IX. Protrombinsko vrijeme, kao

i vrijeme krvarenja, je normalno. Varijanta hemofilije B-Leyden označava specifičnu mutaciju koju karakterizira porast koncentracije FIX i poboljšanje kliničke slike s dobi (Bolton-Maggs i Pasi, 2003.).

Krvarenja se u pacijenata s hemofilijom događaju pretežito u koštano-mišićnom sustavu. Hemoartroze, krvarenja u zglobove, događaju se u 65-85% epizoda krvarenja, a hematomi u mišićima se događaju u 10-30% slučajeva (Littlewood, 2000., Alcalay i Deplas, 2002.). Za teški oblik hemofilije A i B tipična su učestala krvarenja u zglobove i mišiće. Takva krvarenja su iznimno bolna. Učestala ili dugotrajna krvarenja u zglobove mogu rezultirati sinovijalnom hipertrofijom te progresivnim oštećenjima hrskavice i kostiju. Dugoročno, u nedostatku prikladnog tretmana, može doći do teške progresivne artropatije te deformiteta zglobova, a naposljetku i do gubitka funkcije.

Zbog ponavljanih hemoatroza, događaju se specifične promjene u sinovijalnoj tekućini i hrskavici. Taj se proces naziva hemofilična artropatija. Patogenetski mehanizam hemofilične artropatije je multifaktorski i uključuje degeneraciju hrskavice i upalne promjene u sinovijalnoj tekućini koje inducira izloženost krvnim komponentama. Krvarenja u zglobove imaju direktan učinak na hrskavicu kao rezultat željezom kataliziranog nastanka destrukтивnih metabolita kisika, a učinak na sinovijalnu membranu posredovan je hemosiderinom (Roosendal i Lafeber, 2003., Roosendal i Lafeber, 2006.).

Hemofilija u životinja

Hemofilija A je jedna od najčešćih bolesti hemostaze u pasa i zabilježena je kod mnogih vrsta. Tako su u jednoj studiji mužjaci zlatnog retrivera pokazivali produžena vremena krvarenja nakon ozljeda ili kirurških zahvata, a umjereni je oblik hemofilije utvrđen određivanjem aktivnosti i koncentracije faktora VIII (FVIII:C=4%, FVIII:Ag=3%) (Brooks i sur., 2005.). Hemofilija A je česta i u njemačkih ovčara (Clark i Parry, 1997.). Zabilježeni su i slučajevi hemofilije B u pasa, s produženim APTT-om i sniženom aktivnošću FIX (Nakata i sur., 2006.).

U mačaka se također pojavljuju i hemofilija A i B (Cotter i sur., 1978., Dillon i Boudreaux, 1988., Littlewood i Evans, 1990., Deniz i sur., 1995., Goree i sur., 2005., Lutze i sur., 2005.). Klinička ekspresija mačke hemofilije slična je kao u ljudi i drugih životinja, što znači da stupanj deficijencije faktora VIII, odnosno IX, određuje težinu i učestalost krvarenja. Referentni raspon za APTT za mačke je 14.6-24.4s (Deniz i sur., 1995.). U mačaka je izvršena i molekularna karakterizacija mutacije koja uzrokuje hemofiliju B (Goree i sur., 2005.). Mački gen za FIX kodira protein koji se sastoji od 420 aminokiselina (za razliku od ljudskog koji ima 415 aminokiselina ili psećeg koji ima 413). Utvrđena je mutacija, supstitucija samo jednog nukleotida, koja uzrokuje prekid jedne disulfidne veze ključne za normalnu strukturu i funkciju proteina.

U goveda, nakon simptoma potkožnih, mišićnih, peritrahealnih te periezofagealnih krvarenja, ustvrđeno je

produženo APTT i niska aktivnost FVIII te potvrđena dijagnoza hemofilije (Healy i sur., 1984., Moritomo i sur., 2008.).

Koze s hemofilijom A pokazuju sklonost krvarenju već unutar nekoliko tjedana nakon rođenja, s razvojem hematoma, stalnog krvarenja iz nosa te nagle smrti nakon masivnih unutarnjih krvarenja. Laboratorijski nalazi pokazuju anemiju te nisku aktivnost FVIII (Henninger, 1988.).

U konja su uočeni dispneja i disfagija zbog hematoma u vratu te intraabdominalno krvarenje. Laboratorijskim testovima dokazano je normalno protrombinsko vrijeme i vrijeme krvarenja, a produženo APTT i snižena aktivnost faktora VIII (Mills i Bolton, 1983., Henninger, 1988.).

Stečena hemofilija

Stečena hemofilija je vrlo rijetka bolest karakterizirana prisustvom autoantitijela na faktor VIII, s kliničkom slikom sličnom hemofiliji A. Povezana je s različitim autoimunim i dermatološkim bolestima, trudnoćom, tumorima, uzimanjem lijekova, ali u gotovo 50% pacijenata je idiopatska (Bouvry i Recloux, 1994.). Za razliku od urođene hemofilije, koja se često manifestira hemoartrozama, krvarenja kod pacijenata sa stečenom hemofilijom su najčešće u meka tkiva (Franchini i Lippi, 2008.). U ljudi, 87% pacijenata sa stečenim inhibitorima FVIII pati od hemoragijskih komplikacija, a oko 22% umire od posljedica (Hay, 1991.).

Laboratorijski su nalazi za stečenu hemofiliju također normalno vrijeme

krvarenja i protrombinsko vrijeme te produženo APTT. Za dijagnozu je potrebno kvantitativno određivanje FVIII inhibitora.

Terapija hemofilije

Temelj terapije hemofilicnih životinja je zaustavljanje krvarenja zavojima, kompresijom te lokalnom kauterizacijom. Preporučljiva je infuzija egzogenog faktora VIII. U slučajevima velikog gubitka krvi potrebna je transfuzija krvi ili krvnih pripravaka. Koriste se svježja plazma te krioprecipitat, koji u manjem volumenu sadrži visoku koncentraciju FVIII (Stokol i Parry, 1998., Mansell, 2000.).

Osnovni cilj terapije hemofilije je postići razinu nedostajućeg faktora dovoljnu da spriječi, odnosno zaustavi spontana i traumatska krvarenja. Osnovu terapije čine periodične ili profilaktične infuzije plazmatskog ili rekombinantnog FVIII odnosno FIX. U blagoj hemofiliji porast aktivnosti faktora VIII se može postići aplikacijom dezmopresina, sintetičkog analoga antidiuretskog hormona (Mannucci, 2000.).

Koncentrati krvi s koagulacijskim faktorima VIII i IX vrlo su učinkoviti u liječenju hemofilija A i B. Koriste se transfuzija pune krvi, svježja smrznuta plazma te krioprecipitat. Problemi koji se javljaju prilikom terapije su pojava protutijela na koagulacijski faktor (inhibitora), potreba za učestalim aplikacijama, visoka cijena te rizik od prijenosa infekcija. Proizvodnja faktora VIII i IX primjenom rekombinantne tehnologije omogućava rješavanje nekih od

ovih problema. Rekombinantni aktivni faktor VIIa je učinkovita i sigurna, ali i skupa alternativa za pacijente s razvijenim protutijelima (Kristensen i sur., 2003., Habart, 2006.).

Razvoj protutijela (inhibitora) na infuzirani faktor je ozbiljna komplikacija, koja se javlja pretežito u teškoj hemofiliji i češća je u hemofiliji A nego B. U ljudi je incidencija pojave inhibitora u hemofiliji A 21-33% (Haya i sur., 2007.).

Hemofilija je idealna meta genske terapije, jer i mali porast aktivnosti može postići profilaktički učinak. Ultimativna genska terapija hemofilije A i B bi bila direktno ispravljanje molekularnog defekta u mutiranom genu. Rekombinantni faktor VIII posjeduje potpunu funkcionalnu aktivnost i veže se za cirkulirajući von Willebrandov faktor. Nedavna istraživanja pokazala su dugoročnu transgenu ekspresiju i prisustvo vektora u hemofilicnih životinja i konverziju teškog fenotipa hemofilije u umjereni. Problem kod genske terapije predstavlja potencijalna toksičnost vezana uz vektor (McCormack i sur., 2006.). Adenovirusni vektori (AAV) se smatraju najboljim za prijenos terapijskih gena jer su izvedeni iz nepatogenih virusa i omogućuju dugotrajnu transgenu ekspresiju u stanicama koje se ne dijele, s malim rizikom toksičnosti (Ishiwata, 2006.). Prijenos FVIII gena putem AAV vektora je ograničen zbog njihovog malog kapaciteta prijenosa (Lu, 2004.).

Metaboličke se hepatopatije mogu liječiti transplantacijom jetre. Kako se i hemofilija ubraja u metaboličke jetrene bolesti, jer se sinteza koagulacijskih faktora odvija u jetri, djelomična

ortotopična transplatantacija jetre (APOLT, auxiliary partial orthotopic liver transplantation), može pomoći u liječenju hemofilije. Ovaj model liječenja je testiran na psima oboljelim od hemofilije A i knock-out miševima s hemofilijom B te se pokazao uspješnim (Ko i sur., 2005., Tatsumi i sur., 2008.).

Najnoviji lijek koji se primjenjuje u terapiji hemofilije je A V513, fukoidan, sulfatizirani polisaharid biljnog podrijetla. On inhibira aktivnost inhibitora faktora tkivnog puta (TFPI) i ubrzava zgrušavanje. Primijenjen podkožno u pasa s hemofilijom A popravljajući hemostazu, što dokazuju testovi zgrušavanja i tromboelastografija (Prasad i sur., 2008.).

Asimptomatski heterozigoti su genetski rezervoar ove bolesti. Detekcija ženki prenositelja vrši se metoda DNA analize, analizom plazme te uvidom u rodovnicu. Uvidom u rodovnicu moguće je predvidjeti vjerojatnost da je ženka nositelj mutiranog gena na temelju Mendelovih zakona nasljeđivanja. Razlikovanje zdravih i heterozigotnih ženki pomoću temeljnih koagulacijskih testova te aktivnosti FVIII u plazmi ovisi o slučajnoj supresiji X kromosoma u somatskim stanicama te je prisutna velika varijabilnost u rezultatima. Jedino DNA analiza omogućava definitivnu procjenu statusa (Mansell, 2000.). Za detekciju nositelja pseće hemofilije A razvijeni su faktor VIII mikrosatelitni markeri (Brooks i sur., 2008.).

Zaključci

Osnovne smjernice u veterinarskoj praksi za dijagnostiku hemofilije:

- temeljni koagulacijski testovi (vrijeme krvarenja, protrombinsko vrijeme i aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme)
- ako su vrijeme krvarenja i PT normalni, a APTT produženo, sumnja na hemofiliju
- potvrda dijagnoze određivanjem specifičnog koagulacijskog faktora (FVIII ili FIX)
- odabir terapije krvnim pripravcima ili rekombinantnim faktorom
- genetski testovi kod uzgajivača pasa u kojih je zabilježena hemofilija.

Sve veći napredak bioinženjeringa i rekombinantne tehnologije obećava prevladavanje ograničenja dosadašnje terapije i visoke cijene te veću pristupačnost liječenja svim životinjama oboljelih od hemofilije. Dosadašnje spoznaje o strukturi i funkciji koagulacijskih faktora, mehanizmima hemofilije i inhibitorima te sve veći zahtjevi za koncentratima faktora i genskom terapijom dovode do novih poboljšanih terapijskih strategija (Pipe, 2005.).

Sažetak

Hemofilije su nasljedni poremećaji krvarenja uzrokovane niskom koncentracijom ili nedostatkom specifičnih koagulacijskih faktora – koagulacijskog faktora VIII (FVIII) u hemofiliji A, ili koagulacijskog faktora IX (FIX) u hemofiliji B. Bolest se javlja u pasa (osobito njemačkog ovčara), mačaka, konja, goveda, koza i ovaca. Do krvarenja u hemofiliji dolazi zbog defekta sekundarne hemostaze. Bolesne živo-

tinje imaju produžena vremena krvarenja, hematome, podljeve i modrice te tendenciju krvarenju. Dijagnoza hemofilije se postavlja kvantifikacijom koagulacijskih faktora i određivanjem aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena (APTT). Osnovu terapije čine periodične ili profilaktične infuzije plazmatskog ili rekombinantnog FVIII odnosno FIX. Koriste se transfuzija pune krvi, svježa smrznuta plazma te krioprecipitat.

Literatura

1. ALCALAY, M. and A. DEPLAS (2002): Rheumatological management of patients with hemophilia. Part I: joint manifestations. *Joint Bone Spine* 69, 442-449.
2. BOLTON-MAGGS, P. H. B. and K. J. PASI (2003): Haemophilias A and B. *The Lancet* 361, 1801-1809.
3. BOUVRY, P. and P. RECLOUX (1994): Acquired hemophilia. *Haematologica* 79, 550-556.
4. BROOKS, M. B., J. L. BARNAS, J. FREMONT and J. RAY (2005): Cosegregation of a factor VIII microsatellite marker with mild hemophilia A in Golden Retriever dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 205-210.
5. BROOKS, M. B., R. MACNGUYEN, R. HALL, R. GUPTA and J. G. BOOTH (2008): A Indirect carrier detection of canine haemophilia A using factor VIII microsatellite markers. *Anim. Genet.* 39, 278-283.
6. CLARK, P. and B. W. PARRY (1997): Cytogenetic analysis of German Shepherd Dogs with haemophilia A. *Aust. Vet. J.* 75, 521-522.
7. COTTER, S. M., R. M. BRENNER and W. J. DODDS (1978): Hemophilia A in three unrelated cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172, 166-168.

8. DENIZ, A., R. MISCHKE and I. NOLTE (1995): Applicability of activated partial thromboplastin time (APTT) as a screening test of milk to medium deficiencies of coagulation factors in cats. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 102, 206-208.
9. DILLON, A. R. and M. K. BOUDREAUX (1988): Combined factors IX and XII deficiencies in a family of cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193, 833-834.
10. DONATH, M. S., P. J. LENTING, J. A. VAN MOURIK and K. MERTENS (1995): The role of cleavage of the light chain at positions Arg1689 or Arg1721 in subunit interaction and activation of human blood coagulation factor VIII. *J. Biol. Chem.* 270, 3648-3655.
11. FRANCHINI, M. and G. LIPPI (2008): Acquired factor VIII inhibitors. *Blood* 112, 250-255.
12. GOREE, M., J. L. CATALFAMO, S. ABER and M. K. BOUDREAUX (2005): Characterization of the mutations causing hemophilia B in 2 domestic cats. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 200-204.
13. HABART, D. (2006): New approaches to haemophilia treatment-recombinant and transgenic concentrates, gene therapy and engineered coagulation factors. *Cas. Lek. Cesk.* 145, 104-111.
14. HAUPTMANN, E. i B. LABAR (1998): *Hematologija, Školska knjiga, Zagreb*, str. 48-52.
15. HAYA, S., A. MORET, A. R. CID, V. CORTINA, P. CASAÑA, N. CABRERA and J. A. AZNAR (2007): Inhibitors in haemophilia A: current management and open issues. *Haemophilia* 13 (Suppl.), 52-60.
16. HAY, C. R. (1991): Innovative use of porcine factor VIII:C for immune tolerance induction. *Am. J. Med.* 91, 27S-29S.
17. HEALY, P. J., C. A. SEWELL, T. EXNER, A. G. MORTON and B. S. ADAMS (1984): Haemophilia in Hereford cattle: factor VIII deficiency. *Aust. Vet. J.* 61, 132-133.
18. HENNINGER, R. W. (1988): Hemophilia A in two related quarter horse colts. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193, 91-94.
19. HOLLESTELLE, M. J., T. THINNES, K. CRAIN, A. STIKO, J. K. KRUIJT, T. J. C. VAN BERKEL, D. J. LOSKUTOFF and J. A. VAN MOURIK (2001): Tissue distribution of factor VIII gene expression in vivo: a closer look. *Thromb. Haemost.* 86, 855-861.
20. ISHIWATA, A., J. MIMURO, Y. KASHIWAKURA, M. NIIMURA, K. TAKANO, T. OHMORI, S. MADOIWA, H. MIZUKAMI, T. OKADA, H. NAKA, A. YOSHIOKA, K. OZAWA and Y. SAKATA (2006): Phenotype correction of hemophilia A mice with adeno-associated virus vectors carrying the B domain-deleted canine factor VIII gene. *Thromb. Res.* 118, 627-635.
21. JACQUEMIN, M. G. and J. M. SAINT-REMY (1998): Factor VIII immunogenicity. *Haemophilia* 4, 552-557.
22. KO, S., I. TANAKA, H. KANOKOGI, H. KANEHIRO, J. OKAYAMA, J. ORI, M. SHIMA, A. YOSHIOKA, A. GILES and Y. NAKAJIMA (2005): Efficacy of Auxiliary Partial Orthotopic Liver Transplantation for Cure of Hemophilia in a Canine. *Hemophilia a Model Transplantation Proceedings* 37, 1131-1133.
23. KRISTENSEN, A. T., M. L. EDWARDS and J. DEVEY (2003): Potential uses of recombinant human factor VIIa in veterinary medicine. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33, 1437-1451.
24. LITTLEWOOD, J. D. (2000): Haemophilia A. In: DAY, M., A. MACKIN, J. LITTLEWOOD: *Manual of Canine and Feline Hematology and Transfusion Medicine*; British Small Animal Veterinary Association. pp. 237-241.
25. LITTLEWOOD, J. D. and R. J. EVANS (1990): A combined deficiency of factor VIII and contact activation defect in a family of cats. *Br. Vet. J.* 146, 30-35.
26. LOLLAR, P., P. J. FAY and D. N. FASS (1993): Factor VIII and factor VIIa.

- Methods Enzymol. 222, 128–143.
27. LU, Y. (2004): Recombinant adeno-associated virus as delivery vector for gene therapy—a review. *Stem. Cells. Dev.* 13, 133–145.
28. LUTZE, G., K. KUTSCHMANN, K. FÜRST and R. SCHNEPPENHEIM (2005): Hemophilia B (factor IX deficiency) with concomitant factor XII degradation in a male crossbreed cat. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 118, 255–260.
29. MCCORMACK, W. M., M. P. SEILER, T. K. BERTIN, K. UBHAYAKAR, D. J. PALMER, P. NG, T. C. NICHOLS and B. LEE (2006): Helper-dependent adenoviral gene therapy mediates long-term correction of the clotting defect in the canine hemophilia A model. *J. Thromb. Haemost.* 4, 1218–1225.
30. MANNUCCI, P. M. (2000): Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders: the first twenty years. *Haemophilia* 6 (Suppl. 1), 60–67.
31. MANSELL, P. (2000): Hemophilia A and B. In: FELDMAN, B. F., J. G. ZINKL and N. C. JAIN: *Schalm's Veterinary Hematology*, Lippincott, New York, pp. 1026–1029.
32. MILLS, J. N. and J. R. BOLTON (1983): Haemophilia A in a 3-year-old thoroughbred horse. *Aust. Vet. J.* 60, 63–64.
33. MISCHKE, R. (1993): The effect of factor VIII:C activity on the activated partial thromboplastin time (aPTT) in the dog. Adaptation of the aPTT as a screening test for canine hemophilia A. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 100, 219–222.
34. MISCHKE, R. (2000): Influence of factor VIII:C and factor IX activity in plasmas of haemophilic dogs on the activated partial thromboplastin time measured with two commercial reagents. *Haemophilia* 6, 135–139.
35. MISCHKE, R., P. A. RIVERARAMIREZ, A. DENIZ, R. HANIES and K. OTTO (1996): Hemophilia A in the dog: symptoms, blood coagulation analysis and treatment. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 109, 279–287.
36. MORITOMO, Y., K. SHIMOJO, K. MIYADERA, M. KHALAJ, Y. ASANO, T. KUNIEDA and H. OGAWA (2008): Clinical and pathological aspects of hemophilia A in Japanese Brown cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 70, 293–237.
37. NAKATA, M., M. SAKAI and T. SAKAI (2006): Hemophilia B in a crossbred Maltese dog. *J. Vet. Med. Sci.* 68, 1223–1224.
38. PIPE, S. W. (2005): The promise and challenges of bioengineered recombinant clotting factors. *J. Thromb. Haemost.* 3, 1692–1701.
39. PRASAD, S., D. LILLICRAP, A. LABELLE, S. KNAPPE, T. KELLER, E. BURNETT, S. POWEL and K. W. JOHNSON (2008): Efficacy and safety of a new-class hemostatic drug candidate, AV513, in dogs with hemophilia A. *Blood* 111, 672–679.
40. ROOSENDAL, G. and F. P. LAFEBER (2003): Blood-induced joint damage in hemophilia. *Semin. Thromb. Hemost.* 29, 37–42.
41. ROOSENDAL, G. and F. P. LAFEBER (2006): Pathogenesis of haemophilic arthropathy. *Haemophilia* 12 (Suppl. 3), 117–121.
42. SADLER, J. E. (1998): Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 395–424.
43. STOKOL, T. and B. W. PARRY (1998): Efficacy of fresh-frozen plasma and cryoprecipitate in dogs with von Willebrand's disease or hemophilia A. *J. Vet. Intern. Med.* 12, 84–92.
44. TATSUMI, K., K. OHASHI, M. SHIMA, Y. NAKAJIMA, T. OKANO and A. YOSHIOKA (2008): Therapeutic effects of hepatocyte transplantation on hemophilia B. *Transplantation* 86, 167–170.
45. WAHL, J. A., S. M. HERBST, L. A. CLARK, K. L. TSA and K. E. MURPHY (2008): A review of hereditary diseases of the German shepherd dog. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 3, 255–265.
46. WANG, W., Y. J. WANG and D. N. KELNER (2003): Coagulation factor

- VIII: structure and stability. *Int. J. Pharmacol.* 259, 1-15.
47. WHITE, G. C., F. ROOSENDAAL, L. M. ALEDORT, J. M. LUSHER, C. ROTH-SCHILD and J. INGERSLEV (2001): Definitions in hemophilia: recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb. Haemost.* 85, 560.
48. WISE, R. J., A. J. DORNER, M. KRANE, D. D. PITTMAN and R. J. KAUFMAN (1991): The role of von Willebrand factor multimers and propeptide cleavage in binding and stabilization of factor VIII. *J. Biol. Chem.* 266, 21948-21955.

A brief review of haemophilia in animals

Josipa KULEŠ, B.Sc., Med. Mag. Biochem., Junior Researcher, Renata BARIĆ-RAFAJ, B.Sc., Ph.D., Med. Mag. Biochem., Assistant Professor, Vladimir MRLJAK, DVM, Ph.D., Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Haemophilias are inherited bleeding disorders caused by low concentrations of specific coagulation factors: deficiencies of factor VIII (haemophilia A) or factor IX (haemophilia B). It is an inherited disorder of haemostasis in dogs and has also been diagnosed in cats, horses, cattle, goats and sheep. Bleeding occurs in haemophilia owing to failure of secondary haemostasis, in the absence of factor VIII or factor IX. Affected animals exhibit prolonged bleeding times, abnormal platelet retention, hematomas, excessive bruising, and a mild to severe tendency to bleed. Bleed-

ing in animals with haemophilia occurs mainly in the musculoskeletal system. The bleeding tendency is related to the measured concentration of the factor and is classified as mild, moderate, or severe. Diagnosis of haemophilia is made through quantification of blood clotting factors with the use of the activated partial thromboplastin time test. Diagnosis must be confirmed using the specific factor assay. The mainstay of treatment is to raise the concentration of the missing factor (A or IX) to allow for effective treatment of haemophilia A and B.

DNEVNE VIESTI

PRVI DOKTOR ŽIVINARSTVA U UGARSKOJ. Na visokoj živinarskoj školi u Budimpešti obaviti će se danas prije podne promocija na čast doktora živinarstva.

„Obzor“ (Zagreb), 39, 3, 1907 (god. 48) (9. veljače 1907.)

Vitamina AD₃E

Injekcijska otopina, probavni sustav i mjena tvari
kombinacija vitamina za goveda, ovce i koze



Sastav

1 mL injekcijske otopine

Vitamina AD₃E sadržava:

Retinol propionat (vit. A) 500.000 i.j.

Kolekalciferol (vit. D) 50 mg

Tokoferil acetat (vit. E) 75.000 i.j.

Način primjene i doze

Pripravak se aplicira i/m

Vrsta i kategorija životinje	Vitamina AD ₃ E doza/životinja
Odraslo govedo	5 mL
Tele	3 - 4 mL
Svinja (oko 100 kg)	2 - 3 mL
Prase	0.5 - 1.0 mL
Ovca i koza	2 mL
Janje i jare	0.5 - 1 mL

Osnovna svojstva i djelovanje

Pripravak Vitamina AD₃E sadržava liposolubilne vitamine koji se u organizmu brzo resorbiraju i raspodjeljuju, a potom dugotrajno pohranjuju u spremištima u jetri. Vitamin A zaštitni je faktor epitela i endotela, pomaže u zacjeljivanju rana, a životinje štiti od zaraznih bolesti.

Vitamin D prijeko je potreban za razvoj koštanog sustava. U organizmu regulira promet kalcija i fosfora, te sprječava pojavu rahitisa i demineralizacije.

Vitamin E fiziološki je antioksidans koji stabilizira nezasićene masne kiseline, poglavito one u staničnim membranama te umanjuje stvaranje slobodnih radikala i pojavu poremećaja mišićnog i živčanog tkiva. Osim toga, regulira razvitak i funkciju zametnog epitela i spolnih žlijezda.

Indikacije

Neke od važnijih indikacija za parenteralnu primjenu injekcijske otopine Vitamina AD₃E u goveda, svinja i koza su:

- sprječavanje i liječenje stanja nestašice liposolubilnih vitamina (rahitis, osteomalacija, rekonvalescencija, poremećaji hranidbe);
- povećanje otpornosti prema zaraznim i nametničkim bolestima;
- poticanje rasta i proizvodnosti životinja;
- poremećaji u plodnosti muških i ženskih životinja;
- nestašica kalcija u kostima

Karencija

Meso i jestive iznutrice.....0 dana

Mlijeko.....0 dana

Rok valjanosti

Označen na opremi, u originalnoj ambalaži 3 godine



CVA d.o.o., Zagreb, Utinjska 40
Tel: 01/2304-334; 01/2304-335
Fax: 01/6604-031
cva@cva.hr, www.cva.hr

50 mL = 40,00 kn

U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA



invesa

INVESTA
Industrial Veterinaria, S.A.
Animal Health Products

Epilepsija - 1. dio

Općenito o epilepsiji, mozak, faze epilepsije i klasifikacija

Jadranka Pejaković, Miljenko Šimpraga i Damir Žubčić



Uvod

U starom vijeku smatrali su epilepsiju „svetom bolešću“ (*morbus sacer*), no već je Hipokrat (460.-377. g. prije Krista) povezivao veliki epileptički napadaj sa zbivanjem u mozgu. U srednjem vijeku pripisivali su epileptički napadaj utjecaju zlih sila, opsjednutosti pa su ljude „liječili“ egzorcizmom, a životinje ubijali (Braund, 2003.). Slična razmišljanja postoje i danas u primitivnim sredinama.

Mozak kao glavno i jedino ishodište svih epileptičkih manifestacija dolazi u centar pažnje tek krajem 19. stoljeća. Moderan pristup ponudili su Jackson, Bravais, Lennox, Penfield, Jasper, Gibbs i Gastaut (Hajnšek, 1967.). Definiranjem mozga kao isključivog ishodišta bolesti, ali i napretkom medicinske tehnologije intenzivirala se i potraga za novim i preciznijim dijagnostičkim metodama o kojima će biti govora kasnije.

Klasični veliki epileptički napadaj (Grand mal) jedna je od stereotipnih obrambenih manifestacija središnjeg živčanog sustava (SŽS) viših sisavaca na prekoračen prag podražaja (Bunch,



Slika 1. Pradavni pokušaji ljudi da pomognu svojim ljubimcima (Dostupno na: http://www.canine-epilepsy.net/basics/basics_index.html, 30. kolovoza 2009. godine.)

1986., LeCouteur i Child, 1989.). Razni mehanički, kemijski, električki i drugi podražaji izazivaju epileptički, tzv. „fiziološki napadaj“, ako su dovoljno jakog intenziteta i dugog trajanja (Hajnšek, 1967.). Pri tome mozak sam ne mora biti patološki promijenjen. Jasno je tako da epileptoidni napadaj još ne znači da je posrijedi epilepsija kao bolest. Epileptičar mora u prvom redu imati snižen prag podražaja. Drugim riječima, između epileptičara i neepileptičara razlika je samo relativna, s obzirom na prag podražaja (Oliver i sur., 1997.). Klinički oblik epilepsije ovisit će o mjestu unutar živčanog

Jadranka PEJAKOVIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Miljenko ŠIMPRAGA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Damir ŽUBČIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Zagreb

sustava gdje se nalazi određeno epileptogeno žarište, a ne o vrsti etiološkog čimbenika, niti o njegovu intenzitetu (Gastaut, 1954., Penfield i Jasper, 1954.). Postoje predilekciona mjesta u mozgu odakle je lakše izazvati epileptični napadaj. Tako je kod ljudi temporalni režanj sa svojim dodatnim funkcionalnim strukturama mjesto gdje se češće nalaze epileptogena žarišta nego u svim ostalim dijelovima mozga zajedno (Penfield i Erickson, 1941.). Frontalni dio mozga, naročito motorni dio, sljedeći je po redu dok neke strukture, npr. mali mozak, praktički nikada nisu ishodište epileptičkih izbijanja (Hajnšek, 1967.).

Dakle, dijagnostika epilepsije je kompleksan i zahtjevan zadatak. Sam mozak, centar epilepsije, ali i svih životnih funkcija, krije još mnogo tajni. Otkrivanje epileptičkih manifestacija koje su izuzetno brojne, često nespecifične, a ponekad i znanstveno nedokučive, moguće je jedino uz pravilno, svrsishodno i pravovremeno korištenje dijagnostičkih metoda.

Epilepsija se može manifestirati različitim kliničkim slikama koje se mogu, djelomično ili potpuno, podudarati s nalazom različitih drugih patoloških stanja. Zato je diferencijalna dijagnostika od izuzetne važnosti, a koristi se temeljitom anamnezom, neurološkim testiranjem, eventualnim laboratorijskim testiranjem i drugim specijalističkim pregledima te uporabom RTG-a, CT-a, EEG-a, MR-a, scintigrafije itd. U humanoj medicini značajan, a ponekad i presudan moment u postavljanju dijagnoze jest razgovor s pacijentom i uvid u njegovo subjektivno doživljavanje epi-ataka. Naravno

da veterinari imaju teži zadatak jer ne mogu doći do tih važnih informacija od svojih pacijenata. Također, iako je bolest kod ljudi i životinja temeljena na sličnoj patologiji, etiologiji, klasifikaciji, simptomatologiji pa i terapiji, razlike mogu biti važne. Dijagnostika epilepsije u veterinarskoj medicini u praksi je najčešće nedostatna zbog više opravdanih, a i neopravdanih razloga. Pretrage su skupe i rijetko ekonomski isplative, a u Hrvatskoj nema specijaliste veterinaru epileptologa.

Zbog toga je, u ovom radu naglasak stavljen na dijagnostičke metode, s ciljem da se prikažu i osnovne informacije o epilepsiji (iz humane i veterinarske medicine) koje je korisno znati i razmotriti prilikom dijagnostike ove bolesti.

Epilepsija

Općenito

Epilepsija je jedan od najčešćih neuroloških poremećaja kod pasa i mačaka. Prevalencija kod pasa je između 0,5% i 5,0% (Bielfelt i sur., 1971., Löscher i Meldrum, 1984., Schwartz-Porsche, 1994.), a u populaciji mačaka se procjenjuje na 0,5% (Schwartz-Porsche, 1994.). Epilepsija je povremeni poremećaj živčanog sustava koji se događa zbog prekomjernog i nepravilnog izbijanja živčanih impulsa u mozgu (Braund, 2003.). Defini- ra se i kao skup simptoma obilježen motoričkim, psihičkim i neurovegetativnim poremećajima kojima podlogu čine različiti patološki procesi i disfunkcije u mozgu (LeCouteur i Child, 1989.). Uzroci su brojni i raznovrsni. Prema Hajnšeku (1967.) mogu se ot-



Slika 2. Shema modificirana Lennoxova konvulzivnog rezervoara (prema Hajnšek, 1967.)

kriti u poremećaju SŽS-a (novotvorine, infekcije, poremećaji razvoja mozga, metabolički i degenerativni poremećaji), ali veliki broj epilepsija su idiopatske (nepoznati uzrok, genetska osnova) i kriptogene (uzrok nepoznat ali se smatra da postoji mikrotrauma koja se ne može evidentirati).

Epilepsija je poremećaj SŽS-a, konkretno mozga. Živčani sustav sisavaca je svojevrsna komunikacijska mreža koja kontrolira svaku misao, emociju, impresiju, memoriju i kretanje, zapravo definira biće. Kroz živce, putem električnog signala, mozak komunicira sa svakim dijelom tijela. Kod epilepsije, električni ritam mozga ima tendenciju postati neuravnotežen, rezultirajući epi napadajem (Commission on classification and terminology of the ILAE, 1993.).

Mozak je nevjerovatno kompleksan organ, a da bi se razumjela epilepsija treba obratiti pozornost na neke činjenice. Prvo, mozak kontinuirano generira male električne impulse u određenom ritmu. Ti impulsi putuju kroz neurone do mozga, i cijelog tijela pomoću kemijskih glasnika, neurotransmitera. Napadaj se dogodi kad živčane stanice mozga greškom i naglo generiraju nekontrolirani val električne aktivnosti u mozgu (Fisher, 1995.).

Prema jednoj teoriji, epilepsija nastaje kao posljedica neravnoteže između ekscitatornih i inhibitornih neurotransmitera (Braund, 2003.). Uz to, poznato je da različiti dijelovi mozga kontroliraju različite funkcije. Ako napadaj izraste iz specifičnog dijela mozga, tada su i inicijalni simptomi refleksija funkcije baš tog dijela. Desna strana mozga kontrolira lijevu stranu tijela i obratno. Tako, ako napadaj počne s desne strane mozga, u dijelu koji kontrolira kretanje, napadaj može početi s trzanjem lijeve strane tijela ili ekstremiteta.

Radi boljeg uvida u odnos etioloških čimbenika i promjena u konvulzivnom pragu donosi se modificirani Lennoxov „konvulzivni rezervoar i stanja koja dovode do njegovog prelijevanja“, tj. epileptičkog napadaja (Hajnšek, 1967.). U desnoj polovici slike („bazen“) navedeni su osnovni i dodatni uzroci koji dovode do epilepsije. Na dnu se nalazi „predispozicija“ za hereditarnu dizritmiju.

Hajnšek (1967.) navodi: „Oštećenje mozga je u najširem smislu riječi, najčešći uzrok pojave epilepsije kod ljudi. To naročito vrijedi za perinatalnu dob. Razna oboljenja ploda još tijekom gravidnosti (naročito u prvoj polovini), poznata kao embriopatije, mogu kasnije uz ostale smetnje dovesti

i do epilepsije. Međutim, porod je vjerojatno jedno od najčešćih razdoblja kada se formira anatomsko žarište koje može kasnije tijekom života postati epileptogeno. To su u pravilu protrahirani porodi s asfiksijom, direktno traumatiziranje mozga zbog rigidnog porođajnog kanala, uporaba instrumentata (forceps), omotana pupčana vrpca oko vrata itd. Kod hipoksije mozga nastaju mala izolirana anemična žarišta koja fibroziraju i tek kasnije se tijekom života može oko njih kumulirati ekscitativno izbijanje ganglijskih stanica, dakle epileptički napadaj. Postoji pravilo: što je ranije u životu nastalo oštećenje mozga, to je kasnija mogućnost pojave epilepsije veća. To naročito vrijedi za dob gdje dolazi do formiranja cerebralnog ritma, jer je u direktnoj vezi sa stabilizacijom konvulzivnog praga". Iako se pouzdano ne može tvrditi da činjenice iz humane vrijede u veterinarskoj medini te se kritičnost itekako potiče, postoje signifikantne sličnosti. Brojni su se znanstvenici bavili upravo analizom sličnosti epilepsije kod ljudi i životinja (Berendt i Dam, 2003., Licht i sur., 2003.).

Pod ekstracerebralnim oštećenjima podrazumijevaju se sva ona stanja koja sekundarno zahvaćaju SŽS i dovode na taj način do stvaranja epileptogenog žarišta (intoksikacije, endokrinopatije itd.). U lijevoj polovici Lennoxova dijagrama nalazi se „nasip“ koji spriječava ili olakšava prelijevanje iz bazena. Taj nasip je konvulzivni prag, u njemu su naznačeni čimbenici koji ga podižu (dakle otežavaju izbijanje napadaja) i čimbenici koji djeluju u suprotnom smislu. Na vrhu nasipa postavljani su antiepileptici. Oni održavaju

najkritičniji dio praga iznad nivoa i na taj su način stalna brana koja spriječava prelijevanje (Hajnšek, 1967.).

Mozak

Mozak je podijeljen u lijevu i desnu hemisferu koje su povezane snopom živčanih vlakana, tzv. *corpus callosum*. Svaka hemisfera ima četiri režnja: frontalni, parijetalni, okcipitalni i temporalni. Svaki režanj ima mnogo različitih područja koja kontroliraju bezbroj funkcija.

Produžena moždina kontrolira ciklus spavanje – budno stanje, disanje i kucanje srca. Dio čini talamus i hipotalamus, a nastavlja se u kralježničkoj moždini koja provodi poruke između mozga i ostatka tijela.

Neuroni su građevne stanice mozga koje rade kao računalni čipovi – analiziraju i procesiraju informacije i šalju signale kroz živčana vlakna, povezujući različite dijelove mozga, kralježničke moždine, mišića i žlijezda. U mozgu nalazimo milijarde živčanih stanica. Za vrijeme napadaja neuroni šalju četiri puta više impulsa u sekundi u odnosu na uobičajene vrijednosti (Cendella, 1999.). Svaka stanica je bombardirana sa stotinama impulsa svake sekunde. Još uvijek je nepoznanica kako milijuni neurona u mozgu funkcioniraju koordinirano. Kada dođe do poremećaja u tom savršenom mehanizmu, možemo očekivati brojne nepravilnosti u njegovom radu, na fizičkoj ili psihičkoj osnovi, a to je slučaj i kod epilepsije.

Neurotransmiteri su kemijski glasnici mozga. Otpuštaju se na kraju stanica i kroz sinapsu dolaze do drugog neurona, potičući ili kočeći živčani im-

puls. Iako ima mnogo vrsta neurotransmitera, svaka živčana stanica producira samo jedan osnovni tip. Neki od neurotransmitera imaju lokalni efekt, neki se prenose na velike udaljenosti kroz živčani sustav. Pojedini neurotransmiteri u mozgu smanjuju ili potpuno „ugase“ električnu aktivnost mozga i živčane stanice prestanu provoditi impulse. Najpoznatiji inhibitorni neurotransmitter je GABA. Druga vrsta neurotransmitera su ekscitatorni, oni stimuliraju i povećavaju električnu aktivnost mozga, a primjer je glutamat. Prema jednoj teoriji epilepsija je uzrokovana neravnotežom između ekscitatornih i inhibitornih neurotransmitera (Ellenberger i sur., 2004.). Ako inhibitorni neurotransmiteri u mozgu životinje nisu dovoljno aktivni ili su ekscitatorni neurotransmiteri preaktivni, životinje vjerojatno imaju epileptični napadaj.

Faze epileptičnog ataka

U veterinarskoj praksi od epilepsije najčešće liječimo kućne ljubimce, odnosno pse i mačke. Kako kliničar rijetko doživljava da bude svjedok epi napadaja, za pravilnu orijentaciju u pogledu geneze, tijeka prognoze i načina terapije, od izuzetnog je značenja pravilno uzeta anamneza. Vlasnik bi trebao promatrati i detektirati sve promjene na životinji prije, za vrijeme i nakon napadaja, po mogućnosti više puta da se uoči pravilnost u ponavljanju određenih simptoma. Za dijagnostiku mogu biti značajni podatci o trajanju i manifestaciji pojedinih faza epi napadaja.

Iako klinička manifestacija epilepsije značajno varira, atak možemo podijeliti u tri ili četiri osnovne faze,

ovisno o izvoru. Podjelu na prodromalnu, iktus i postiktalnu fazu opisuju LeCouteur i Child (1989.). Podell (2004.) razlikuje četiri faze napadaja, nakon prodromalne faze slijedi „aura“ u kojoj se fokalni napad manifestira u smislu osjetilnih, psihofizičkih ili iskustvenih simptoma. Auru slijede iktus i postiktalna faza. Promjene u ponašanju životinje prije napadaja, nazivamo prodromalnom fazom. Moguće je da se aura isprepliće s prodromalnom fazom, ali teško je napraviti nedvojbenu distinkciju u veterinarskoj medicini budući da životinje ne mogu verbalizirati postojanje tog fenomena.

Vlasnici pacijenata često kažu da im je ljubimac imao „predosjećaj“. Ta faza je korisna jer se životinja i čovjek mogu pripremiti za napadaj i možda spriječiti ozljede. Prodromalni stadij znatno varira u simptomima od pacijenta do pacijenta. Može se dogoditi nekoliko minuta do nekoliko sati ili dana prije napadaja. Najčešći upozoravajući znaci prije napadaja su promjene osjeta, promjene u mogućnosti da životinja reagira s okolnim svijetom i promjene doživljavanja i prepoznavanja okoliša u kojem se pacijent nalazi. Satima prije napadaja prodromalnu fazu može karakterizirati depresija, iritabilnost, poremetnja spavanja, bolno glasanje, skrivanje itd. Kako su brojni simptomi koji mogu biti „predosjećaj“, a neki se kod životinje ne mogu niti prepoznati, često ostaju neotkriveni (Berendt i Dam, 2003.). Mišljenja smo da bi korisno bilo ustvrditi eventualni specifični slijed promjene ponašanja jer ta početna faza može uputiti na fokus, leziju u mozgu iz kojeg napadaj kreće.

Nakon prodromalnog stadija i eventualne aure slijedi druga faza napadaja,

takozvani iktus. Životinja je najčešće pomućene svijesti ili gubi svijest, pada i grči se. Noge mogu biti ispružene ili se ritmično trzati, vrat se savija unatrag. Trzaji trupa uglavnom traju od nekoliko sekundi pa do nekoliko minuta. Za vrijeme ataka ili neposredno nakon njega životinja može nekontrolirano mokriti i/ili defecirati, sliniti te ponekad povraćati. Nakon napadaja nastupa postiktalna faza. Životinje su dezorijentirane, vlasnici kažu kao gluhe i slijepe, teturaju, vrte se, hodaju bez cilja ili spavaju. Kada se stanje normalizira, često postaju enormno žedni i gladni. Ako se napadaj dogodio kod veterinara, uočiti će se i drugi simptomi koje vlasnik nije u mogućnosti primijetiti - npr. pupile su svijetle i ukočene, pogled pomućen, pupilarni refleksi izostaju itd. (Braund, 2003.).

U svakom slučaju, epileptički napadaj se može dogoditi svakoj životinji bez obzira na dob i spol. Taj napadaj može biti više ili manje klinički manifestan. Stanje svijesti može biti poremećeno ili očuvano. S obzirom na zahvaćeni dio mozga te trajanje i „ozbiljnost“ napadaja, oporavak, prognoza i terapija su različiti kao i mogućnost dijagnostike. Fatalni ishodi su mogući, najčešće zbog ozljeda i ugušenja.

Klasifikacija

Epilepsija obuhvaća više simptoma koje klasifikacija, jedinstvenim jezikom logično organizira. Stari Babilonski zapisi koji datiraju iz vremena 500 – 700 godina pr. Kr. opisuju tipove epileptičkih napadaja, simptome i moguće provokirajuće čimbenike (Wilson i Reynolds, 1990.). Liječnik Calmei je 1824. godine ponudio klasifikaciju

epileptičkih napadaja prema njihovoj simptomatologiji. Neurolog Jackson je tvrdio da klasifikacija mora uzimati u obzir anatomske lokalizacije, fiziološki poremećaj i sam patološki proces (Jackson, 1931.).

Veterinarska je nomenklatura po ovom pitanju prenešena iz humane medicine. Humanu klasifikaciju ustanovila je međunarodna organizacija The International League Against Epilepsy (ILEAE) koju koriste i mnogi veterinarski izvori (Commission on classification and terminology of the ILAE, 1981. i 1989.). U novije vrijeme se pokušavaju ispraviti nesukladnosti i modificirati dosadašnju klasifikaciju epileptičkih napadaja i pasminski specifičnih epileptičkih sindroma, osobito referirajući se na moguće EEG i genetske abnormalnosti.

ILEAE je 1981. godine epileptičke napadaje podijelila u tri tipa s podtipovima (Commission on classification and terminology of the ILAE, 1981.): 1) parcijalni ili fokalni (napadaj uključuje samo dio mozga); 2) primarno generalizirani (napadaj uključuje obje strane mozga) i 3) neklasificirani napadaj (oni kod kojih nismo sigurni jesu li epileptični ili epileptični napadaji koje u tom trenutku ne znamo svrstati).

Pojavio se problem jer ta jednostavna podjela nije zadovoljavala praktično. Jedan je pacijent mogao imati više različitih napadaja, zajedno ili u sekvencama. Također, kroz tijek bolesti jednog pacijenta mnogi se napadaji mijenjaju. To je 1989. godine dovelo do stvaranja drugog sustava klasifikacije koji je nadopunio prethodni i obuhvaća 4 grupe: 1) lokalizirani napadaji; 2) generalizirani napadaji; 3) nedetermi-

nirani, bez obzira jesu li generalizirani ili lokalizirani napadaji, i 4) specijalni sindromi (Commission on classification and terminology of the ILAE, 1989.).

Koristeći se smjernicama ILAE nastaju modificirane klasifikacije primjenjene veterinarskoj medicini. Tako Podell (2004.) i Engel (1996.) dijele napadaje i epilepsiju prema uzroku na:

Idiopatski napadaj i epilepsija (primarne, genuine, funkcionalne, nasljedne) - Nemoguće je utvrditi jasan primarni uzrok osim ev. genetske osnove.

Simptomatski napadaj i epilepsija (sekundarne, organske, lezijske, stečene) - Uzrok ove vrste epilepsije je neko kronično organsko oštećenje mozga ili bolest mozga.

Kriptogeni napadaj i epilepsija - Epilepsije za koje se vjeruje da su simptomatske i da imaju organski supstrat u podlozi, ali ga je nemoguće dokazati.

Reaktivni napadaji javljaju se zbog metaboličkih bolesti i intoksikacija te se njihova pojava ne smatra epilepsijom.

Podell (2004.) modificira humani dijagnostički sustav te ga vješto adaptira veterinarskim pacijentima.

Tipovi napadaja

Kada u neurologiji govorimo o napadajima onda mislimo na različita iznenadna klinička zbivanja koja su posljedica prolaznog poremećaja funkcije mozga. Epileptički napadaj je vidljiv simptom toga i manifestacija će ovisiti o zahvaćenom dijelu mozga. Prije početka terapije veterinar mora procijeniti koji tip napadaja ima pacijent.

Specijalni epileptički sindromi u veterinarskoj medicini imaju malo

praktično značenje. To je skupina simptoma koja se češće pojavljuje te ih medicinari svrstavaju u sindrome prema kliničkim posebnostima (uzrok epilepsije, dob pojavljivanja, vrsta napadaja, karakteristike EEG nalaza, način liječenja i prognoza).

Epileptički status je termin pod kojim se podrazumijeva dugo trajanje epileptičkog napadaja ili dugo trajanje učestalih kratkih napadaja. Važan je jer ponekad ugrožava život, a uvijek oštećuje mozak.

Dvije su osnovne skupine napadaja ovisno ima li poremećaja svijesti ili ne - generalizirani i parcijalni (Engel, 1989.).

Parcijalni epileptički napadaji izbijaju iz jednog ograničenog mjesta u različitim predjelima kore mozga (epileptički fokus ili žarište). Neki su u vezi s ozljedama glave, traumama mozga, neki s cerebralnim infekcijama, krvarenjem, novotvorinom, ali u mnogim slučajevima uzrok je nepoznat. Svijest može biti očuvana ili poremećena što ovisi o lokalizaciji epileptičkog žarišta u mozgu. Tako će se oštećenje motoričkog dijela mozga manifestirati grčevima zahvaćenih mišića, a oštećenje senzornog dijela različitim osjetnim senzacijama (vidne, njušne, slušne halucinacije, osjećaj utrnulosti i sl.). Moguće su i kombinacije (senzomotorni napadaji). Ponekad se električna pražnjenja šire na druge dijelove mozga pa dolazi do sekundarne generalizacije. U tom slučaju jednostavni parcijalni napadaj koji dolazi prvi zove se aura (Jaggy i sur., 1998.).

Ukoliko je zahvaćeno područje mozga za „svjesnost“ pacijent može izgledati kao da je budan, ali gubi kontakt s okolinom. Javljaju se automatizmi

poput grimasa, žvakanja, mljackanja, škljocanja zubima, besciljnog hodanja i kruženja itd. Životinja je nesvjesna svog ponašanja, a nakon napadaja često je pospana, zbunjena, nemirna ili agresivna.

Sekundarno generalizirani napadaji su parcijalni napadaji koji se nakon kraćeg ili dužeg vremena pretvaraju u jedan od oblika generaliziranih napadaja, najčešće u velikih epileptički napadaj (Berendt i Gram, 1999., Berendt i sur., 2002.).

Primarno generalizirani napadaji su oni kod kojih abnormalno električno izbijanje započinje u prednjem dijelu moždanog debla i simetrično se širi s jedne strane na centar za svijest, a s druge strane na čitavu koru mozga. Kod ovih napadaja svijest nije očuvana, a hereditarni čimbenik se smatra značajnim (Falco i sur., 1974., Jaggy i sur., 1998.).

Kod životinja nije dokazan u humanoj medicini poznat *apsans*, oblik generaliziranog napadaja gdje dolazi do kratkotrajnog gubitka svijesti s prestankom aktivnosti uključujući i disanje. Do sada je u stručnoj literaturi zabilježen kod djece, ali moguće je da se javlja i kod kućnih ljubimaca iako se ne dijagnosticira. Moguće ga je detektirati nalazom specifične EEG abnormalnosti, traje najduže dvadesetak sekundi. Nakon prestanka pacijent nastavlja radnju koju je ranije radio.

Mioklonizmi su nevoljni trzajevi mišića. Javljaju se kao trzajevi mišića čitavog tijela (generalizirani mioklonizmi) ili kao trzajevi pojedine skupine mišića (segmentni mioklonizmi – treptaji kapaka, trzaji glavom).

Atonički ili astatski napadaji označavaju iznenadni gubitak tonusa mišića čitavog tijela, najčešće s dramatičnim padom. Traje kratko, ponekad i samo sekundu, a pacijent osim ovih uglavnom ima i druge vrste napadaja.

Toničko – konički napadaji (*Grand – mal*). Govorimo o generaliziranom napadaju karakteriziranim naglim padom i gubitkom svijesti s tipičnim grčevima. Klinička manifestacija je opisana u odlomku s podnaslovom „Faze epileptičnog napadaja“. Atak obično ima dvije faze, toničku i kloničku. Tonička faza dolazi prva, svi mišići su zgrčeni, pojačanog tonusa. Zrak silom prolazi kroz glasnice pa može zvučati kao cviljenje. Jezik ili obrazi se mogu udariti ili ugristi pa pjena koja ide na usta može biti s primjesama krvi. U kloničkoj fazi koja slijedi dolazi do brzog ritmičkog grčenja i relaksacije mišića, odnosno opetovano trzanje najčešće ekstremiteta, ali i cijelog tijela. Životinja se može pomokriti ili defecirati za vrijeme napadaja. Sve traje nekoliko minuta, a životinja sporo dolazi svijesti. Nakon napadaja pacijent je zbunjen i umoran, ponekad zaspe i duboko spava, ali ponekad postaje uznemiren, zbunjen, prestrašen, agresivan, depresivan (Braund, 2003.).

Do danas nije nađen specifičan anatomske – patološki supstrat koji bi se sigurno mogao dovesti u vezu s epilepsijom. Poznato je da makrofaktori kao što su novotvorine, apscesi, malformacije, ciste parazita i slične promjene izazivaju epilepsiju, naročito ako su lokalizirani u moždanoj kori (Geist, 1962.). S druge strane, mnogo češće nađeni su mikrofaktori (mala fibro-

zna žarišta, gliozna, hematomi, atrofična žarišta itd.). Niti prvi niti drugi nisu specifični za epilepsiju.

Epileptični napadaj se može javiti i kad nije riječ o epilepsiji (LeCouteur i Child, 1989., Schwartz-Porsche, 1994., Berendt i Gram, 1999.). Neki od najčešćih stanja su:

- *febrilne konvulzije* - javlja se jedan ili više napadaja za vrijeme visokih temperatura, obično kod djece, ali najčešće brzo prestanu.
- *upale mozga i moždanih ovojnica (encefalitis, meningitis)* - Često izazivaju pokoji epileptični napadaj tijekom bolesti zbog upalnog i kemijskog podražaja moždane kore.
- *epileptoformni napadaji* mogu se javiti kao posljedica *djelovanja toksina* koji nastaju kod jakih invazija s ascaridima, tenijama i drugim crijevnim parazitima pasa.
- *kontuzija mozga* - kod ozljeda se često javlja epileptični napadaj kao jedan od simptoma koji se kasnije više ne pojavljuje osim ako nastali ožiljak i oštećenje mozga u kasnijem razdoblju ne uzrokuju pojavljivanje epilepsije.
- *krvarenje u mozgu* - posljedično može imati pojavu epileptičnih napadaja čiji je ishod sličan onom kod nagnječenja mozga.
- *metabolički poremećaj* - mogu uzrokovati pojavu napadaja zbog npr. manjka Ca i drugih elektrolita, niske razine glukoze, teških stanja kod oštećenja bubrega i jetre.

Važni etiološki čimbenici kod epilepsije su (LeCouteur, 2000.): 1) genetska predispozicija ili neki čimbenik uvjetovan spolom i starošću psa; 2) opće

metaboličke smetnje koje snižavaju konvulzivni prag kao što su hipoglikemija, insuficijencija bubrega ili hormonalna neravnoteža; 3) oštećenje mozga različite patologije. Tu se mogu pribrojati i čimbenici otkočenja, tj. emocionalni i drugi stresovi koji se nameću kliničarima prilikom uzimanja anamneze.

Sažetak

U davna vremena epilepsija je smatrana svetom bolešću ili opsjednutošću zlim silama. Ljude su „liječili“ egzorcizmom, a životinje ubijali.

Mozak, kao ishodište svih epileptičnih manifestacija dolazi u centar pažnje tek krajem 19. stoljeća. Usporedo s novim saznanjima o bolesti i napretkom medicinske tehnologije intenzivira se i potraga za novim dijagnostičkim metodama koje su od ključne važnosti za otkrivanje uzroka bolesti i liječenje. Osobito je to važno kod organskih uzroka koji i sami po sebi predstavljaju patološko stanje. Sam mozak, centar epilepsije, ali i svih životnih funkcija, krije mnoge tajne te je dijagnostika epilepsije kompleksan i zahtjevan zadatak. Epileptične manifestacije su izuzetno brojne i često nespecifične.

U humanoj medicini značajan, a ponekad i presudan moment u postavljanju dijagnoze jest razgovor s pacijentom i uvid u njegovo subjektivno doživljavanje epi-ataka. Naravno da doktori veterinarske medicine imaju teži zadatak jer ne mogu doći do tih važnih informacija od svojih pacijenata, a postoje tehnološke i financijske prepreke specifične za veterinarsku medicinu.

Navedena nas je problematika mo-

tivirala za izbor obrađene teme te ćemo kroz tri rada pokušati sažeti osnovne informacije o bolesti i metode dijagnostike epilepsije.

Radovi su podijeljeni u tematske cjeline. U uvodnom dijelu prvog rada mozak se definira kao ishodište bolesti i

navode se uobičajena žarišta. Nastavak sažima općenite informacije o bolesti, građi i fiziologiji mozga, auri. Na kraju navode se tipovi epileptičnih napadaja i podjela epilepsije prema uzroku.

Epilepsy – Part 1

Introduction, Basics of Epilepsy, Brain, Stages of a Seizure, Classification

Jadranka PEJAKOVIĆ, DVM, Miljenko ŠIMPRAGA, DVM, Ph.D., Full Professor, Damir ŽUBČIĆ, DVM, Ph.D., Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

In ancient times, epilepsy was considered a “holy” disease or obsession with evil forces. People were “healed” by exorcism and animals killed. The brain, the starting point of all epileptic seizures, became the centre of attention in the late 19th century. With new findings about the disease and advancements in medical technology, the search was intensified for new diagnostic methods that are crucial for detecting the causes of illness and treatment. This is especially important in cases of organic causes, which themselves represent a pathological condition. The brain is both the centre of epilepsy and the centre of all functions, and thus holds many secrets, making the diagnosis of epilepsy a complex and demanding task.

Epileptic episodes are extremely numerous and often nonspecific. In human medicine, a significant and sometimes decisive moment in making a diagnosis is in talking with a patient

and obtaining his insight into the subjective perception of an epileptic event. Obviously, veterinarians have a more difficult task as they are unable to get this important information, and there are technological and financial barriers specific to veterinary medicine.

The problems listed above were the motive for the selection of this theme. Three articles are presented to summarize basic information about the disease and diagnostic methods of epilepsy.

The articles are divided into thematic sections. In the introduction of the first article, the brain is defined as a source of illness and the typical hot spots in the brain are listed. Following, general information is given about the disease, the structure and physiology of the brain and the aura. In the last part of the first article, the types of epileptic seizures and classification of epilepsy by causes are described.

Primjena simulacijskog modeliranja kod influence ptice



Ksenija Zobel Štauber, M. Tadić, J. Šimičić, D. Cvitković i Marina Pavlak

Uvod

U zadnjih nekoliko desetljeća, sve češće se javljaju „nove“ bolesti ili bolesti koje, zbog promjena nekih determinanti dovode do promjena u poznatoj epizootiološkoj slici širenja bolesti. Primjer takvih bolesti su goveđa spongiformna encefalopatija (BSE) te Sin Nombre virus (Hantavirus – pulmonarni sindrom 1993). Jedna od važnih determinanti u pojavi oboljenja je i sam uzročnik. Promjene bioloških osobitosti uzrokovanih mutacijama glavni je razlog promjene ponašanja uzročnika u ekološkom sustavu. Jedan je od uzročnika koji zbog mutacije može promijeniti svoju patogenost i virus influence ptica, koji zbog mogućih mutacija zadnjih godina predstavlja veliku opasnost od moguće pandemije. Upravo za takve bolesti koje, s jedne strane dovode do znatnih gospodarskih gubi-

taka, a s druge predstavljaju opasnost širih razmjera i za ljude, novi znanstveni pristupi predstavljaju znatni doprinos poznavanju bolesti, a pomažu i u donošenju odluka koje se prije svega odnose na suzbijanje i kontrole bolesti. Jedan od znanstvenih pristupa je i simulacijsko modeliranje. U posljednjih 50 godina došlo je do velikog napretka u razvoju simulacijskih tehnika, zahvaljujući prije svega razvoju informatičke tehnologije. Višestrukim povećanjem resursa (procesorske snage, memorije) i stalnim razvojem metoda programiranja i usavršavanjem razvojnih alata omogućen je snažan zamah simulacijskom modeliranju. Modeliranje se u osnovi sastoji u provođenju vrlo opsežnih postupaka izračunavanja (statističke analize, diferencijalne jednadžbe), ali i u modeli-

Ksenija ZOBEL ŠTAUBER, dr. med. vet., dr. sc. Marko TADIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Denis CVITKOVIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Marina PAVLAK, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet, Zagreb; mr. sc. Josip ŠIMIČIĆ, dr. med. vet., Par-am d.o.o., Zagreb

ranju sustava u kojima su analitička i matematička rješenja nemoguća.

Influenca ptica je zarazna bolest vrlo prikladna za demonstriranje mogućnosti simulacijskog modeliranja. Karakteristično je za influencu postojanje vrlo različitih skupina parametara koji mogu biti odabrani za modeliranje. Etiološki, osnovna karakteristika virusa influence A je njegova stalna sklonost mutacijama. Mutacije se odvijaju stalnim malim promjenama genoma (antigenic drift), ali i povremenim izmjenama dijelova genoma između virusa (antigenic shift) (Suarez i Schultz-Cherry, 2000.). Posljedica je postojanje mnoštva sojeva virusa podijeljenih u dvije skupine: virusi visoke patogenosti (high pathogen avian influenza virus, HPAI) i virusi niske patogenosti (low pathogen avian influenza virus, LPAIV). Virus niske patogenosti zbog navedenih svojstava uvijek zadržavaju mogućnost mutiranja u viruse visoke patogenosti (OIE, 2005., 2006.). U prirodi virusi influence A su prošireni u slobodno živućim pticama, poglavito migratornim vrstama, koje su ujedno i prenositelji virusa na veće zemljopisne udaljenosti (Tracey i sur., 2004., Munster i sur., 2006., Olsen i sur., 2006.). Prema nekim je istraživanjima i do 20% divljih pataka nositelj virusa influence, no u većini slučajeva radi se o virusima niske patogenosti. Influenca ptica klinički se manifestira u osjetljivih vrsta, a to je uglavnom domaća perad, poglavito kokoši i purani. Stoga su i najugroženija i najrizičnija mjesta gdje bi se influenza mogla javiti, farme peradi koje se nalaze na migracijskim putovima ptica (Savić, 2006.). Posljedice unosa virusa influence na farme dovode do velikih ekonomskih gubitaka u inten-

zivnoj peradarskoj proizvodnji (Assel-donk i sur., 2005., Burns i sur., 2006.). Godine 1997. u Hong Kongu su zabilježeni i prvi slučajevi oboljenja ljudi visokopatogenim H5N1 virusom koji je do tada bio zabilježen kao uzročnik influence ptica (Chan, 2002.). Od 1997. godine H5N1 postaje uzročnik teških epizootija ptica i uzročnik fatalne zoonoze s pandemijskim potencijalom (Smith i sur., 2006.).

Budući da stupanj razvoja znanosti danas omogućuje predviđanje, odnosno modeliranje takvih globalnih, složenih pojava, virus influenze peradi te influenza kao bolest, zbog opisanih svojstava, postali su najčešći predmet simulacijskog modeliranja u epidemiologiji.

Simulacijski modeli ptičje influence

U modeliranju influence razlikuje se nekoliko tipova modela, ovisno o tome što se modelima želi postići. Najveći broj modela služi za procjenu širenja bolesti pa se ti modeli nazivaju epidemijskim ili pandemijskim modelima. Drugi pristup modelima je na molekularnom nivou, tj. modeli razrađuju mogućnost promjena virusa temeljenih na molekularnim promjenama kao i moguće posljedice tih promjena što doprinosi razumijevanju molekularne epidemiologije influence.

Modeliranje influence kao bolesti (epidemijski modeli)

Stohastički simulacijski model SPADA

Stohastički simulacijski model H5N1 influence nastao je s ciljem razvoja

strategije za kontrolu bolesti domaćih životinja u siromašnim zemljama. U okviru razvoja te strategije - Pro-Poor Livestock Policy Initiative - Strategic Pathogen Assessment for Domesticated Animals (SPADA) razvijen je model za kontrolu influence peradi u Vijetnamu. U modelu se primjenjuje epidemiološka i ekonomska analiza s komponentama upravljanja rizikom. Model opisuje različite načine prijenosa bolesti i načine suzbijanja s ciljem pronalaženja najboljeg načina kontrole bolesti kako bi se smanjila mogućnost prijenosa HPAI virusa na lokalnoj, regionalnoj i nacionalnoj razini. Opisan je prijenos bolesti na vijetnamskim farmama koji prikazuje dinamiku kretanja epidemija H5N1 virusa pod različitim uvjetima. Tijekom modeliranja su u obzir uzete epidemiološke mjere procjene bolesti kao što su incidenција i osnovni reprodukcijski čimbenik. Simulirala su se četiri različita načina kontrole bolesti (tablica 1).

Simulacijom se pokazalo da uključivanje profilaktičkih mjera kao što je cijepljenje, dovodi do najboljih rezultata. Način kontrole influence koja uključuje 25%-tnu procijepljenost može smanjiti prijenos uzročnika ispod granične vrijednosti. Ipak, ostaje mogućnost cirkuliranja rezidualnih infekcija unutar populacije peradi (Magalhaes i sur., 2006.).

Deterministički simulacijski model širenja niskopatogenih virusa ptičje influence u divljih pataka

U cilju procjene širenja niskopatogenih virusa influence razvijen je deterministički SIR simulacijski model. Model simulira mogućnost širenja virusa u divljih pataka tijekom godine dana uključujući osjetljive, inficirane i jedinke koje su isključene (npr. uginule jedinke). Širenje i prijenos virusa u populaciji pataka prikazan je preko koeficijenta prijenosa (β) koji se je računao na temelju podataka dobivenim iz objavljenih znanstvenih radova. Modelom se pokazalo da je najmanja granica gustoće domaćina, odnosno divljih pataka potrebnih za širenje virusa 380 osjetljivih jedinki, dok kritična veličina zajednice koja omogućuje opstanak virusa iznosi oko 1.200 jedinki. Model je pokazao da je najveća prevalencija virusa bila nakon gniježđenja i za vrijeme mitarenja što se može povezati s povećanjem populacije u to vrijeme (Guberti i sur., 2007.).

Mape rizika za širenje visokopatogenog virusa ptičje influence u populaciji peradi

Mape rizika predstavljaju prostorne analize prijenosa virusa influence. Jedna takva mapa rizika napravljena je za prikaz širenja H7N7 podtipa virusa između uzgajališta peradi u Nizozem-

Tablica 1. Četiri načina (strategije) kontrole bolesti simulirana modelom

Strategija	Intervencija
I	eutanazija prijavljenih slučajeva
II	I + preventivna eutanazija (radius 3 km) oko zaraženog područja
III	II + cijepljenje na svim farmama u sektoru 3
IV	III + cijepljenje na 25% farmi u sektoru 4

skoj 2003. godine. Razvijena je metoda kojom se procjenjuju ključni epidemijski parametri. Centralni koncept predstavlja jezgru prijenosa (transmission kernel) kojom se određuje vjerojatnost prijenosa uzročnika sa zaraženog na nezaraženo uzgajalište kao funkciju udaljenosti između tih uzgajališta.

Procjena jezgre prijenosa uključuje procjenu kritične gustoće uzgajališta i lokalnog čimbenika reprodukcije. Time je omogućeno evaluiranje strategija kontrole. Za influencu ptica analiza je pokazala da postoje dva područja s gustom populacijom peradi u Nizozemskoj gdje je moguće širenje epidemije, a gdje bi najvjerojatnije mogle lokalne mjere suzbijanja zakazati. U tim područjima epidemija bi se mogla zaustaviti samo masovnom eutanazijom peradi na ugroženim farmama. Analiza daje procjenu prostora kojim će se HPAI virus širiti i naglašava da mjere suzbijanja moraju uzeti u obzir i gustoću lokalnih farmi. Koncept mape rizika je instrument prikladan za analizu mjera suzbijanja u vrijeme kritičnog razdoblja širenja bolesti, kao i u vrijeme kada epidemije nema.

Tehnički, podatci o infekciji su sakupljeni u $n \times t_{max}$ matrici zaraze $C = (cij)$, a to su elementi od kojih se sastoji infekcijski status svih n farmi tijekom t_{max} dana epidemije. Za epidemiju u Nizozemskoj vrijedi $n = 5,360$ i $t_{max} = 78$. Svaki dan farma je klasificirana kao osjetljiva - susceptible (S); inficirana tog dana (B); inficirana, ali ne i zarazna (E); zarazna (I); uklonjena (R). Model je definiran na nivou uzgajališta kao individualne jedinice. Jedinice se razlikuju po lokaciji i epidemiološkom statusu, no smatraju

se identičnima po svim ostalim aspektima. Model pretpostavlja vjerojatnost $p(rij)$ da će nezaražena farma j biti zaražena od već zaražene farme i ovisi samo o infektivnom razdoblju $T(i)$ farme i , i o (Euklidovoj) udaljenosti $rij = |ri - rj|$ među farmama, danoj funkcijom $P(rij) = 1 - \exp(-h(rij)T(i))$. Funkcija $h(rij)$ se naziva jezgra prijenosa (transmisije) (transmission kernel) i definirana je kao opasnost (hazard) od zaraze koju farma i predstavlja za farmu j izražena kao funkcija udaljenosti među farmama. S procjenom jezgre transmisije može se konstruirati mapa rizika. Na svakoj farmi izračunava se osnovni čimbenik R , koji je jednak očekivanom broju sekundarno inficiranih farmi od strane jedne zaražene farme u ranim fazama epidemije. Ako je $R > 1$, uzročnik je sposoban izazvati epidemiju većih razmjera (Boender i sur., 2007.).

Procjena rizika zaraze s H5N1 virusom i uloga divljih ptica pri procjeni rizika

Analiza rizika je proces koji uključuje 4 komponente: identifikaciju uzroka, procjenjivanje rizika, upravljanje rizikom i komunikaciju rizikom (Šimičić i Tadić, 2004.). Simulacijski modeli, osim za opisivanje dinamike prijenosa H5N1 virusa, primjenjuju se i za procjenu rizika i evaluaciju djelovanja strategija upravljanja rizikom. Takva simulacija zahtijeva jedno određeno vrijeme izrade i uključivanje specifičnih

parametara potrebnih u kvantitativnoj procjeni rizika. Simulacijski model procjene rizika H5N1 virusa daje odgovor na pitanja o vjerojatnosti unosa virusa u definiranu populaciju divljih ptica i domaće perad preko migratornih divljih ptica kao vektora. Prvi korak bio je opis mogućih mehanizama za unos uzročnika u promatranu populaciju. Postupci u procjeni su procjenjivanje aktivacije, procjene izloženosti i posljedica. Rezultati simulacije procjene rizika ukazali su da postoji visoki rizik širenja H5N1 pod-tipa virusa influence A putem ptica selica i mogućnost postojanja enzootskog modela bolesti u nekih europskih divljih vrsta. Rizik prijenosa virusa na domaću perad držanu u uvjetima uobičajenim za zemlje EU (isključivši slobodno držanu perad u dvorištima) je procijenjen kao nizak (Pfeiffer, 2006.).

Jedan od modela koji je isto tako razvijen za procjenu rizika od bolesti, ali i ekonomskih posljedica je VIRiS model (Virus Introduction Risk Simulation model). Ovaj model, temeljen na Monte Carlo metodi, koristi slučajne brojeve iz određenih distribucija i uvažava činjenicu da se moraju modelirati varijacije u sustavu. Varijacije se javljaju zbog nesigurnosti točnih ulaznih vrijednosti i zbog svojstava samog sustava. Kada se ovakva Monte Carlo simulacija višekratno ponavlja distribucija će izlaznih vrijednosti realno reflektirati moguće ponašanje promatranog sustava. Kompletan VIRiS se odvija u vremenskom razdoblju od 5 godina, u koracima od po jedan dan. Svakog „dana“ model započinje skupljanjem podataka o novim pojavama bolesti u

europskim zemljama. Ako je u jednoj od zemalja (grupirane su u klastere) registrirana pojava bolesti, model „slijedi“ bolest do mogućnosti kada će ona ući u zemlju (u Nizozemsku). Tri su glavna aspekta koji određuju ulazak virusa: (1) frekvencija pojave bolesti u Europi, (2) trajanje razdoblja visokog rizika (razdoblje visokog rizika je vrijeme u kojem je virus već prisutan u zemlji, ali još nije dokazan i u to vrijeme virus može lako prelaziti iz države u državu), (3) faktori rizika - sredstva kojima se virus širi: promet stoke, uvoz životinjskih proizvoda, transport (Horst, 1999.).

Jednostavni stohastički model influence konja

Jednostavan stohastički model opisuje širenje influence A u necijepljenih konja. Model uključuje cijepljene i necijepljene konje i ukazuje da procijepljenost konja znatno utječe na smanjivanje zaraze. Modelom su isto tako razmatrani učinci cijepljenja i širenje virusa u procijepljenoj populaciji u zavisnosti od razine protutijela (Glass i sur., 2002.).

Hijerarhijsko statističko modeliranje epidemije influence u prostoru i vremenu

Zarazna bolest se uobičajeno širi kontaktom između zaraženih i osjetljivih jedinki. Budući da se nebitna mala kretanja i kontakti među ljudima uglavnom ne bilježe, dostupni podatci

o zaraznim bolestima su često kumulirani u prostoru i vremenu. U ovom radu razvijen je prostorno deskriptivni, vremenski dinamični hijerarhijski model koji bi odgovarao takvim podacima. Broj bolesnih je uziman kao realizacija autoregresivnih procesa u podlozi, gdje je relativni rizik zaraze ugrađen u prostorno-vremensku dinamiku. Primijenjeno je Bayesovo učenje (dodjeljivanje vjerojatnosti pojedinim hipotezama, kvantitativno vaganje dokaza koji podržavaju različite hipoteze), koristeći Markovljev lanac i Monte Carlo metodu za sve odabrane parametre. Metodologija je aplicirana na epidemiju influence u Škotskoj 1989./90. (Muglin i sur., 2002.).

Studija slučaja iz ekologije bolesti: modeliranje avijarne influence

Prošireni klasični SIR (susceptible-infective-removed) model u kojem kompartmenti predstavljaju podgrupe populacije inficirane s bolesti „X” koje mogu širiti bolest „Y”. Npr. „X” može predstavljati ptice inficirane s niskopatogenim sojem virusa influence, koji mutira u viskopatogeni pa te ptice prenose taj tip virusa što predstavlja „Y”. Parametri modela uključuju skupinu osjetljivih ptica, skupinu ptica koje su inficirane i prenose LPAI, skupinu ptica koje su u početku inficirane s LPAI, ali koji je mutirao u HPAI (ove ptice su oboljele od LPAI zaraze, ali šire HPAI infekciju), skupinu ptica koje su se oporavile, skupinu ptica inficiranih s HPAI koje su inficirale druge oboljele ptice od HPAI, skupinu mrtvih ptica, skupinu osjetljivih ljudi, skupinu ljudi s HPAI koji su se zarazili od pti-

ca i ne mogu širiti infekciju na druge ljude, skupinu ljudi koji su se zarazili od drugih ljudi i šire HPAI među ljudima, skupinu ljudi koji su se zarazili od ptica, ali čija je infekcija mutirala u interhumanu te skupinu inficiranih ljudi koji su uklonjeni iz sustava (npr. umrle). Pokazatelji su definirani unutar skupina stopom infektivnosti, stopom uklanjanja (oporavka ili smrti) i stopom kontakata.

Simulacija je modelirana prvo kao kontinuirani model, a zatim kao diskretni. Diskretna simulacija se nije pokazala dobrom jer su za neke inicijalne uvjete kompartmenti postajali negativni. Model je pokazao da je moguće s ekstremno malom LPAI infekcijom u populaciji ptica dobiti HPAI koji će se na kraju širiti među ljudima. To vrijedi i za ekstremno male vrijednosti stopa mutacije i stopa infektivnosti između vrsta (Deckelman i Tiany, 2006.).

Pandemijski modeli

Pandemijski simulacijski modeli razrađuju i modeliraju širenja ptičje influence do pandemijskih razmjera kao i različite pristupe i strategije preveniranja takvih pandemija, uzimajući u obzir prostorne, socijalne i kulturološke osobine područja za koji se model primjenjuje.

Stohastički simulacijski model uspješnosti primjene interventnih mjera kod širenja ptičje influence u ljudi

Ovaj pandemijski stohastički model simulira i procjenjuje uspješnost primjene interventnih mjera u slučaju širenja

ptičje influence u ljudi izravno putem dodira. Simulirana je pojava i pandemijsko širenje influence u maloj urbanoj zajednici u SAD. Podaci za simulaciju uzeti su iz pandemije azijske gripe A (H2N2) 1957./58. godine i iz podataka o broju hospitaliziranih pacijenata i broju smrtnih slučajeva povezanih s influencom. Simulacija započinje generiranjem zajednice kućanstava, koja predstavlja američko društvo. Stanovnici su bili podijeljeni u dobne skupine: predškolska djeca (0-4 godine), školska djeca (5-18 godina), odrasli (19-64 godina) i starija dobna populacija (65 i više godina). Uz simuliranje prijenosa skupine, simuliran je i međusobni dodir pojedinaca između navedenih skupina stvarajući mješovite skupine koje predstavljaju kućanstva, dječje vrtiće, škole, radna mjesta i staračke domove.

Simulacija započinje tako što je zadan prvi dan širenja, a potom svakog zadanog dana jedna osjetljiva jedinka A kontaktira s nekom jedinkom od koje može biti zaražena. Vjerojatnost da će osoba A biti zaražena ovisi o sljedećim ulaznim parametrima: broju dodira koje je A imala s drugim jedinkama, trajanju kontakta u minutama za tu jedinku kao i za sve jedinke tj. za sve kontakte ukupno te o stopi prijenosa zaraze po minuti. Rezultati simulacija ukazuju na mogućnost smanjenja pobola i smrtnosti, ukoliko se dodiri među ljudima smanje za 50%. No, da bi se to postiglo, trebalo bi 60% klinički bolesnih osoba isključiti kao potencijalne izvore zaraze. U stvarnom životu to bi značilo da bi se te osobe trebale povući u svoje domove i izolirati od drugih osoba, što je u realnom životu teško prihvatljivo.

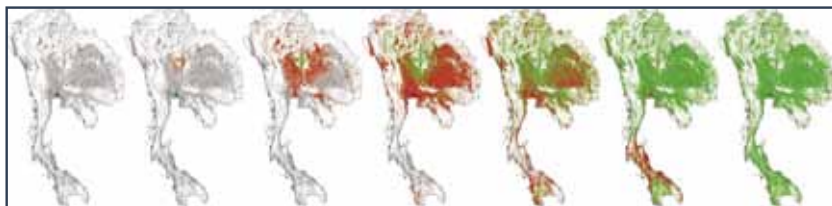
Rezultati primjena ovog simulacijskog modela na neke druge prilike kao

što su u zemljama Jugoistočne Azije predviđaju da bi karantena uz cijepljenje i antivirusnu terapiju u tim zemljama bila djelotvorna (Longini i sur. 2005., Ferguson i sur., 2005.). No, treba uzeti u obzir da će svaka intervencija ovisiti o kulturi i navikama određenog podneblja (Haber i sur., 2007.).

Stohastički simulacijski model suzbijanja pandemije ptičje influence u Jugoistočnoj Aziji

Ovaj simulacijski model izgrađen je za procjenu strategija sprječavanja pandemijskog širenja ptičje influence u području Tajlanda i okolnih zemalja. To je prostorni (specijalni) simulacijski model koji uključuje 85 milijuna ljudi u Tajlandu i 100 km široku prostornu zonu susjednih država. Ovim modelom simuliran je nastanak pandemije kao posljedice mutacije ili rekombinacije virusa u jednoj inficiranoj jedinki. Simulacija započinje infekcijom jedne jedinke u najruralnijim područjima s najnižom gustoćom naseljenosti kao pretpostavkom da je upravo takva populacija najizloženija infekciji s visoko patogenim virusom ptičje influence.

Model je stohastički, prostorno strukturiran i temeljen na diskretnoj vremenskoj simulaciji. Jedinke su raspoređene po domaćinstvima koje predstavljaju aktualne okolnosti dobne strukture i veličine domaćinstava u Tajlandu. U svakom vremenskom rasponu $\Delta T = 0,25$ dana, osjetljiva jedinka ima vjerojatnost $1 - \exp(-\lambda_i \Delta T)$ da bude inficirana, gdje je λ_i trenutni rizik zaraze za



Slika 1. Prikaz širenja nove pandemije prikazan stohastičkim diskretnim modelom

jedinku i. Rizik zaraze ima tri izvora: domaćinstvo, mjesto i nasumični kontakt u zajednici. Tipični obrazac širenja nove pandemije, započete na opisani način, pokazan je na slici 1.

Rezultati simulacije pokazuju da je u prvih 30 dana zaraza ograničena oko mjesta prve pojave bolesti. Širenje epidemije eksponencijalno raste s brojem novih slučajeva te između 60. i 90. dana prelazi s lokalne na nacionalnu razinu. Uspješnost zaustavljanja širenja epidemije ovisit će o vremenu primjene preventivnih mjera. Rezultati simulacije širenja epidemije pokazuju da, ukoliko se preventivne mjere primjene prije prijelaza zaraze na nacionalnu razinu, tj. prije 60. dana od dana prve zaraze, epidemiju je moguće kontrolirati i suzbiti. Međutim, primjene li se kasnije, zbog nekih logističkih ograničenja, ne bi bilo moguće kontrolirati infekciju i ona bi se raširila na druge susjedne države i prešla u pandemiju. Model je isto tako pokazao da je najuspješnije suzbijanje epidemije istodobnom primjenom više mjera, a najboljom se pokazala primjena antivirusne profilakse s mjerama socijalnog distanciranja (Ferguson i sur., 2005.).

Simulacijski sustav IDESS

Za područja zemalja u razvoju razvijen je simulacijski sustav širenja zaraznih bolesti, IDESS (Infectious Dis-

ease Epidemic Simulation System) koji brzo konstruira modele zaraznih bolesti s postojećim podacima za bilo koje zemljopisno područje (Yergens i sur., 2006.).

Stohastičko modeliranje globalnog širenja influence prikazano je epidemiološkim modelom koji u sebi sadrži prostorno vremenske komponente širenja koji uzima u obzir zračni prijevoz između urbanih područja. Prikazana je brzina nastajanja pandemije u različitim stadijima infektivnosti virusa i različitim uvjetima nastajanja epidemije (Colizza i sur., 2007.).

Model širenja ptičje influence pandemijskih razmjera te procjena strategija za njeno ublažavanje razrađeni su za Veliku Britaniju i SAD. Podatci širenja zasnovani su na podacima o gustoći i kretanju populacije (Ferguson i sur., 2006.).

Modeliranje promjena svojstava virusa na staničnoj razini

Modeliranje promjena svojstava virusa na staničnoj razini uključuje različite pristupe. Jedan od pristupa je modeliranje fuzije virusa pa je razvijen stohastički matematički model koji

opisuje mogućnost događaja i promjena molekula u virusu tijekom procesa fuzije, odnosno spajanja virusa s nekom drugom molekularnom česticom (Schreiber i sur., 2004.). Drugi pristup je modeliranje razvoja virusa otpornog na postojeće lijekove. Upotrijebljen je deskriptivni SIR (susceptible-infective-removed) model za jednu zatvorenu populaciju u vrijeme jedne epidemije (Stilianakis i sur., 1998.).

Događaji koji se zbivaju u životinjskoj stanici za vrijeme replikacije virusa su kvalitativno dobro poznati. No, za bolje razumijevanje kompleksnih reakcija između virusa i stanice domaćina i razumijevanja cjelovite dinamike čitavog ciklusa zaraze stanice, razrađen je matematički model replikacije virusa influence u kulturi stanica. Ovdje je prezentiran strukturirani model reproduktivnog ciklusa influence A virusa u jednoj stanici. Model uzima u obzir pojedine korake procesa kao što su prihvaćanje za stanicu, internalizacija, replikacija i translacija genoma i sastavljanje novih virusnih infektivnih čestica. Model opisuje prosječnu stanicu okruženu malom količinom medija i inficiranu malim brojem virusnih čestica. Model dopušta procjenu utrošenih staničnih resursa za replikaciju virusa. Rezultati simulacije pokazuju da broj površinskih receptora stanice i endosoma, kao i drugih resursa, poput broja slobodnih nukleotida ili aminokiselina, ne utječe znatno na razmnožavanje virusa. Čimbenik koji ograničava stopu rasta virusa i njegovog oslobađanja jest ukupna količina M1 proteina u jezgri za vrijeme akumuliranja novosintetiziranog virusnog

proteina i virusne RNA. Matriksni proteini su strukturni proteini koji povezuju virusnu ovojnicu sa srži virusa. Za vrijeme pupanja sinteza vRNP (viralnog ribonukleoproteinskog kompleksa) predstavlja drugi ograničavajući čimbenik. Na ovom modelu može se temeljiti analiza učinka promjene parametara dinamike replikacije virusa. Na taj način mogu se identificirati moguće mete za molekularni inženjering ili za razvoj strategija poboljšanja procesa proizvodnje cjepiva (Sidorenko i Reichl, 2004.).

Primjena gotovih simulacijskih programa

Rastom značenja simulacijskog modeliranja u današnjim uvjetima i uvažavanjem potencijalne opasnosti i posljedica pojave novih uzročnika pandemije influence razvijeni su različiti besplatni (open source) primjenjivi programi (software) za jednostavno modeliranje, bez potrebe poznavanja programiranja.

Većina softverskih alata (programa) za simulaciju diskretnih događaja su prevodioci, kao što su SIMSCRIPT i SIMULA, jer su zbog svoje brzine pogodniji za višestruko izvođenje već testiranih velikih programa. Međutim, koriste se i tzv. interpretatori koji su fleksibilniji, ali mnogo sporiji.

1. FluAid 2.0:

Ovaj softver je kreiran kao pomoć pri planiranju pripremljenosti za pandemiju influence na državnoj i lokalnoj razini. Svrha mu je da pomogne pri

procjeni ekonomskih i socijalnih posljedica. Brojevi koji se generiraju uporabom aplikacije nisu prognoza što će se dogoditi, nego su procjene onoga što bi se moglo dogoditi. Metodologija pri dizajniranju ovog softvera zahtijeva da korisnik upisuje najmanje (minimum), i najveće (maksimum) „najvjerojatnije” osobine nekog pokazatelja (npr. broj smrtnosti, pobola i sl.). Upisane podatke program tada koristi za izračunavanje procjena (Meltzer i sur., 2000.).

2. FluSurge 2.0

FluSurge je Excel-model koji omogućava bolničkim administratorima i djelatnicima javnog zdravstva procjenu porasta zahtjeva za bolničkim uslugama u eventualnoj sljedećoj pandemiji influence. FluSurge procjenjuje broj hospitalizacija i smrti pri čemu su duljina epidemije i virulencija zadane od korisnika, zatim uspoređuje broj hospitaliziranih osoba, broj potrebnih jedinica intenzivnog liječenja, potrebnih

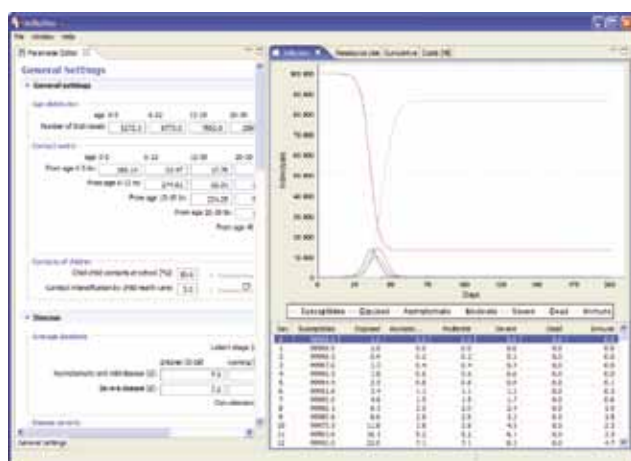
respiratora s postojećim kapacitetima (Zhang i sur., 2005.).

3. InflaSim (2.0 beta)

Program InflaSim v. 2.0 beta je deterministički simulator koji omogućuje predviđanje tijeka epidemije influence u potpuno osjetljivoj populaciji. Korisnik može mijenjati vrijednosti pokazatelja. Uzete su u obzir sljedeće intervencije: terapija, izolacija i promjene u obrascima ponašanja u populaciji. Program izračunava za svaki pojedini dan koliki je broj osoba zahvaćenih epidemijom, broj izgubljenih radnih dana, količinu potrebnih lijekova i troškove. Ovaj program izgrađen je na determinističkom simulacijskom modelu opisanom s više od 1.000 diferencijalnih jednadžbi (Schwehm i sur., 2005.. Schwehm i Eichner, 2006.). Korisničko sučelje aplikacije prikazano je na slici 2.

4. Sisspread: softver za simulaciju širenja zaraznih bolesti mrežama kontakata

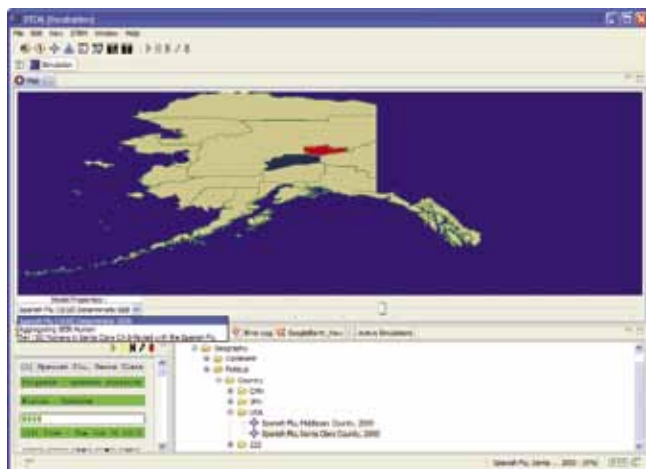
Simulacijski softver koji proučava dinamiku hipotetske zarazne bolesti unutar mreže povezanih ljudi. Cilj je olakšati razlikovanje stohastičkih čimbenika koji utječu na evoluciju zaraze u mreži. Upotrebljava se jednostavni alat za kreiranje mreža kontakata jedinki i postavljaju se epidemiološki parametri. Mogu se koristiti tri najčešća modela zarazne bolesti: SI (susceptible-



Slika 2. Korisničko sučelje InflaSim v. 2.0 beta determinističkog simulatora

infective) i SIS (susceptible-infective-susceptible) modeli koji uključuju osjetljive (S) i zaražene jedinke (I) i SIR (susceptible-infective-removed) model koji sadržava osim dva navedena pokazatelja (osjetljivi i zaraženi) i treći pokazatelj izdvojenih jedinki (R). Izrađuje se simulacija jedne ili više epidemija unutar jedne mreže ili epidemije kroz više mreža. Rezultat simulacije je stopa prevalencije u određenom vremenskom presjeku tijekom razvoja epidemije. Aplikacija je predviđena za

Simulacijski model predviđa i prijenos bolesti putem prijevoznih sredstava, uključujući i putovanja zrakoplovima. Model prijenosa bolesti zasniva se na vjerojatnosti da će se bilo koje dvije jedinke u populaciji sresti bilo kojeg dana i na bilo kojem mjestu. Znatno broj ljudi nikad ne razvije simptome bolesti, iako su zaraženi. Zbog toga trajanje inkubacije i zaraznost jedinke mogu varirati i nasumično se odabiru više puta za svaku jedinku omogućavajući još veći broj kombinacija (Kelsey, 2006.).



Slika 3. STEM - korisničko sučelje

Linux operativni sustav (Alvarez i sur., 2007.).

5. EpiCast system

EpiCast sistem razvijen je u Los Alamos National Laboratory (LANL) kao alat za predviđanje i sprječavanje širenja ptičje influence. Računalo modelira populaciju koja odgovara postojećim demografskim pokazateljima tako da nasumično dodjeljuje simulirane jedinke u domaćinstva, na radna mjesta, u škole ili neke druge ustanove.

6. Prostorno – vremenski epidemiološki modelator (STEM)

Prostorno – vremenski epidemiološki modelator ili Spatiotemporal Epidemiological Modeler (STEM) je alat dizajniran za pomoć znanstvenicima i javnozdravstvenim djelatnicima pri kreiranju prostornih i vremenskih modela novih zaraznih bolesti. Dizajniran je

kako bi omogućio brzo kreiranje epidemioloških modela zemljopisnog širenja ptičje influence. STEM model grafički prikazuje širenje bolesti na temelju podataka o gustoći populacije i zemljopisnih podataka neke zemlje, na temelju podataka gustoće prometa ljudi i životinja (cestovnog, željezničkog, zračnog) u nekoj zemlji te na temelju ornitoloških podataka o putevima migracije ptica (Ford i sur., 2006.). Korisničko sučelje aplikacije prikazano je na slici 3.

Zaključak

Simulacijsko modeliranje na području epidemiologije posljednjih godina snažno se razvija prateći ubrzani razvoj informatičke tehnologije. Razvoj simulacijskih tehnika i metoda posebno je potaknut mutacijama visoko patogenog H5N1 virusa ptičje influence i opasnošću od potencijalnog širenja ovog virusa na ljude i nastajanja moguće pandemije. S ciljem predviđanja razvoja širenja ove bolesti, predviđanja nastajanja pandemija te predviđanja načina suzbijanja ove bolesti, simulacijski modeli predstavljaju najbolja rješenja za donošenje strateških odluka. Upotrebljavani su simulacijski stohastički i deterministički modeli. Dobiveni rezultati služe prognoziranju ishoda epidemije ovisno o različitim ulaznim pokazateljima i određivanju najboljih mjera suzbijanja. Modeli omogućuju razumijevanje strukture prirode i njezinog funkcioniranja kada ostale metode to nisu u mogućnosti te čine osnovu za postavljanje i dokazivanje hipoteza. Dakako, mnoge epidemiološke vjerojatnosti su povezane s visokim stupnjem nesigurnosti, što reflektira naše ograničeno razumijevanje epidemioloških procesa. Unatoč sofisticiranosti metode, modeliranje i dalje ovisi o podacima prikupljenim metodama deskriptivne, analitičke i eksperimentalne epidemiologije.

Sažetak

U radu je opisano simulacijsko modeliranje kao jedna od metoda teorijske epidemiologije. Simulacijsko modelira-

nje se posljednjih godina snažno razvija prateći ubrzani razvoj informatičke tehnologije. Posebno je potencirano pojavom HPAIV H5N1 pa je upravo zbog novih osobina virusa avijarna influenza prikladna bolest za modeliranje epidemija u životinja i ljudi, naročito zbog svog pandemijskog potencijala. Modelirane su simulacije u odnosu na epidemiju u životinja, pandemijske modele humane influence te modeliranje promjena virusa na staničnoj razini. Upotrebljavani su simulacijski stohastički i deterministički modeli na epidemiološkom SIR modelu. Dobiveni rezultati služe prognoziranju ishoda epidemije ovisno o različitim ulaznim pokazateljima i određivanju najboljih mjera suzbijanja. Unatoč sofisticiranosti metode, ona i dalje ovisi o podacima prikupljenim metodama deskriptivne, analitičke i eksperimentalne epidemiologije.

Literatura

1. ALVAREZ, F. P., P. CRÉPEY, M. BARTHÉLEMY and A. J. VALLERON (2007): A Software to Simulate In Infectious Diseases Spreading on Contact Networks. *Methods of Information in Medicine*, 46, 19-26. Dostupno: <http://www.ihop-net.org/UniPub/iHOP/pm/12425870.html?pmid=17224976>.
2. ASSELDONK, M. A. P. M., M. P. M. MEUWISSEN, M. C. M. MOURITS and R. B. M. HUIRNE (2005): Economics of controlling avian influenza epidemics. In: SCHRIJVER, R. S., G. KOCH (eds.): *Avian influenza: prevention and control*. Springer, P.O. Box 17, 3300AA, Dordrecht, The Netherland, pp. 149-148.
3. BOENDER, G. J., T. J. HAGENAARS, A. BOUMA, G. NODELIJK, A. R. W. ELBERS, M. C. DE JONG and M. BOV-

- EN (2007): Risk maps for the spread of highly pathogenic avian influenza in poultry. *PLoS Comput Biol.* 2007 April; 3(4): e71. Dostupno na: www.pubmed-central.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1853123&blobtype=pdf.
4. BURNS, A., D. MENSBRUGGHE and H. TIMMER (2006): Evaluating the economic consequences of avian influenza. *Global Development Finance*. Dostupno na: <http://www.worldbank.org/gdf2006>.
5. CHAN, P. K. (2002): Outbreak of avian influenza A (H5N1) virus infection in Hong Kong. *CID* 34 (Suppl. 2), 58-66.
6. COLIZZA, V., A. BARRAT, M. BARTHELEMY, A. VALLERON and A. VESPIGNANI (2007): Modeling the Worldwide Spread of Pandemic Influenza: Baseline Case and Containment Interventions. *PLoS Medicine* 4, 1-16. Dostupno na: <http://arxiv.org/ftp/q-bio/papers/0701/0701038.pdf>.
7. DECKELMAN, S. and J. P. TIAN (2006): A Case Study of Disease Ecology: Modeling of Avian Flu. Submitted Paper. Dostupno na: www.math.ohio-state.edu/~tianjj/avi.pdf.
8. FERGUSON, N. M., D. A. T. CUMMINGS, S. CAUCHEMEZ, C. FRASER, S. RILEY, A. MEEYAL, S. IAMSIRITHAWORN and D. S. BURKE (2005): Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature* 437, 209-214. Dostupno na: www.cccb.pitt.edu/BBSI/2006/jc_paper/kennerly.pdf.
9. FERGUSON, N. M., D. A. T. CUMMINGS, C. FRASER, J. C. CAJKA, P. C. COOLEY and D. S. BURKE (2006): Strategies for mitigating an influenza pandemic. *Nature* 442, 448-452.
10. FORD, D. A., J. K. KAUFMAN and I. EIRON (2006): An extensible spatial and temporal epidemiological modelling system. *International Journal of Health Geographics* 2006, 5, 1-6. Dostupno na: <http://www.ij-healthgeographics.com/content/5/1/4>.
11. GLASS, K., J. L. N. WOOD, J. A. MUMFORD, D. JESSET and B. T. GRENFELL (2002): Modelling equine influenza 1: a stochastic model of within-yard epidemics. *Epidemiology and Infection* 128, 491-502.
12. GUBERTI, V., M. SCREMIN, L. BUSANI, L. BONFANTI and C. TERREGINO (2007): A Simulation Model for Low-Pathogenicity Avian Influenza Viruses in Dabbling Ducks in Europe. *Avian Diseases*, Vol. 51, No. s1, 275-278.
13. HABER, M. J., D. K. SHAY, M. X. DAVIS, R. PATEL, X. JIN, E. WEINTRAUB, E. ORENSTEIN and W. W. THOMPSON (2007): Effectiveness of Interventions to Reduce Contact Rates during a Simulated Influenza Pandemic. *Emerging Infectious Diseases*, www.cdc.gov/eid, 13, 581-589. Dostupno na: www.cdc.gov/eid/content/13/4/pdfs/581.pdf.
14. HORST, S. (1999): Risk and economic consequences of exotic animal disease outbreaks: Computer simulation to help set priorities in policy making. *FAO, Research Group Meeting 1999 - Appendix 1*. Dostupno na: www.fao.org/ag/AGA/AGAH/EUFMD/reports/rg1999ma/app01.htm.
15. KELSEY, H. T. (2006): Los Alamos licenses avian flu modeling and simulation software Company to run flu impact models for government, public, and private organizations. Dostupno na: http://www.lanl.gov/news/index.php/fuseaction/home.story/story_id/9178.
16. LONGINI, I. M., A. NIZAM, S. XU, K. UNGCHUSAK, W. HANSHAWORKUL, D. A. T. CUMMINGS and M. E. HALLORAN (2005): Containing Pandemic Influenza at the Source. *Science* 309, 1083-1087. Dostupno na: www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/309/5737/1083.
17. MAGALHAES, R. S., D. U. PFEIFFER, B. WIELAND, D. DUNG and J. OTTE (2006): Commune-level Simulation Model of HPAI H5N1 Poultry Infection and Control in Viet Nam. *FAO Re-*

- search Report. Dostupno na: www.fao.org/AG/AGAINFO/projects/en/pplpi/docarc/rep-hpai_modelupdate.pdf.
18. MELTZER, M. I., H. A. SHOEMAKE, M. KOWNASKI and R. CROSBY (2000): FluAid 2.0: A manual to aid state and local-level public health officials plan, prepare and practice for the next influenza pandemic (Beta test version). Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health and Human Services. Dostupno na: <http://www.cdc.gov/flu/tools/fluaid/downloads.htm>.
 19. MUNSTER, V. J., J. VEEN, B. OLSEN, R. VOGEL, A. D. M. E. OSTERHAUS and R. A. M. ROUCHIER (2006): Towards improved influenza A virus surveillance in migrating birds. *Vaccine* 24, 6729-6733.
 20. MUGGLIN, A. S., N. CRESSIE and I. GEMMELL (2002): Hierarchical statistical modelling of influenza epidemic dynamics in space and time. *Statistics in Medicine* 21, 2703 – 2721.
 21. OIE (2005): Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Dostupno na: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summry.htm.
 22. OIE (2006): Terrestrial Animal Health Code 2006: Guidelines for import risk analysis http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm.
 23. OLSEN, B., V. J. MUNSTER, A. WALLENSTEN, J. WALDENSTROEM, A. D. M. E. OSTERHAUS and R. A. M. FOUCHIER (2006): Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science* 312, 384-388.
 24. PFEIFFER, D. U. (2006): Assessment of H5N1 HPAIV Risk and the Importance of Wild Birds. Presentation at the FAO/OIE International Scientific Conference on Avian Influenza and Wild Birds. Dostupno na: www.wildlifedisease.org/Documents/Pfeiffer.pdf.
 25. SAVIĆ, V. (2006). Influenza ptica – globalna prijetnja. *Infektološki glasnik* 26, 7-12.
 26. SCHREIBER, S., K. LUDWIG, H. G. HOLZHÜTTER and A. HERRMANN (2004): Stochastic Modelling of Influenza Virus Fusion. Fourth International Workshop on Bioinformatics and Systems Biology. Dostupno na: <http://www.jsbi.org/journal/IBSB04/IBSB04Poster.html>.
 27. SCHWEHM, M., H. P. DUERR and M. EICHNE (2005): Network Models for influenza transmission and control. Global Health Security Initiative, Influenza Modeling Workshop, London. Dostupno na: www.ghsi.ca/documents/Paper_Schwehm.pdf.
 28. SCHWEHM, M. and M. EICHNER (2006): Influsim Handbuch. Modelliererguppe am Institut für Medizinische Biometrie, Universität Tübingen. Dostupno na: http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod_Pub_Software_InfluSim_de.html.
 29. SIDORENKO, Y. and U. REICHL (2004): Structured model of influenza virus replication in MDCK cells. *Biotechnology and Bioengineering* 88, 1-14.
 30. STILIANAKIS, N., A. PERELSON and F. HAYDEN (1998): Drug resistance and influenza pandemics. *The Lancet* 359, 1862-1863. Dostupno na: www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v177n4/ap25_863/ap25_863.web.pdf.
 31. SMITH, G. J. D., T. S. P. NAIPOSPOS, T. D. NGUYEN, M. D. DE JONG, D. VIJAYKRISHNA, T. B. USMAN, S. S. HASSAN, T. V. NGUYEN, T. V. DAO, N. A. BUI, Y. H. C. LEUNG, C. L. CHEUNG, J. M. RAYNER, J. X. ZHANG, L. J. ZHANG, L. L. M. POON, K. S. LI, V. C. NGUYEN, T. T. HIEN, J. FARRAR, R. G. WEBSTER, H. CHEN, J. S. M. PEIRS and Y. GUAN (2006): Evolution and adaptation of

- H5N1 influenza virus an avian and human hosts in Indonesia and Vietnam. *Virology* 350, 258-268.
32. SUAREZ, D. L. and S. SCHULTZ-CHERRY (2000): Immunology of avian influenza virus: review. *Development Comp. Immunol.* 24, 269-283.
33. ŠIMIČIĆ, J. i M. TADIĆ (2004): Analiza rizika u ekonomici veterinarstva. *Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*.
34. TRACEY, J. P., R. WOODS, D. ROSE, P. WEST and G. R. SAUNDERS (2004): The role of wild birds in the transmission of avian influenza for Australia: an ecological perspective. *Emu* 104, 109-124.
35. YERGENS, D., J. HINER, J. DENZINGER and T. NOSEWORTHY (2006): Multi Agent Simulation System for Rapidly Developing Infectious Disease Models in Developing Countries. *Computational Biology, and Bioinformatics*, Hakodate, pp. 104-116. Dostupno na: http://pages.cpsc.ucalgary.ca/~denzinger/papers/AAMASHealth_Yergens_Final.pdf.
36. ZHANG, X., M. I. MELTZER and P. WORTLEY (2005): FluSurge 2.0: a manual to assist state and local public health officials and hospital administrators in estimating the impact of an influenza pandemic on hospital surge capacity (Beta test version). Centers for Disease Control and Prevention. Dostupno na: <http://www.cdc.gov/flu/tools/flusurge/>.

Using simulation modelling in avian influenza

Ksenija ZOBEL ŠTAUBER, DVM, Marko TADIĆ, DVM, Ph.D., Full Professor, Denis CVITKOVIĆ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Marina PAVLAK, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Josip ŠIMIČIĆ, DVM, M.Sc., Par-am d.o.o., Zagreb

Simulation modelling as a method of a theoretical epidemiology is the essence of this paper. Following the development of information technology, simulation modelling has been also strongly developed. Due to phenomena of HPAIV H5N1 and traits of the all avian influenza viruses, the concerned disease is convenient for modelling of epidemics in humans and animals, particularly due to its pandemic potential. Emergence of epidemic in animals, pandemic of human influenza, and altera-

tion of viruses on cellular level have been modelled. Stochastic simulation processes and deterministic models on epidemiological SIR model have been used. Results are used to forecast the outcome of the epidemic, due to different input parameters and choosing the best containment measures. Despite the complexity of the method, it still strongly depends on the data collected by descriptive, analytical and experimental epidemiology.

PRIRODNIM PUTEM DO ZDRAVIH PČELA



A P I G U A R D

REGISTRIRANI VETERINARSKO
MEDICINSKI PROIZVOD
(UP/I-322-05/09-01/259)



Varroa je pčelinji neprijatelj broj 1. U posljednje vrijeme postala je otporna na tretmane raznim lijekovima koji su do sada bili učinkoviti. Suočeni sa problemima rezistencije (otpornosti), rezidua (ostataka štetnih tvari iz neregistriranih lijekova u medu, vosku i drugim pčelinjim proizvodima) i smanjene učinkovitosti, vrijeme je za DRUGAČIJI PRISTUP.

Sporo otpuštajući gel timola - novi i efikasan tretman

- * Prirodan i netoksičan tretman
- * Visoka efikasnost protiv Varroa (u prosjeku 93%)
- * Rezistencija nije primjećena
- * Rezidue ne postoje u medu i vosku
- * Osigurava pojačanu higijenu (pčela) u košnici, a time sprečava povezane probleme
- * Smanjuje pojavnost CCD (kolaps pčelinje zajednice)
- * Krajuje jednostavna upotreba (2x50 mg plitica po košnici u razmaku od 14 dana)
- * Apiguard je siguran za pčele i njihovo leglo
- * Istodobno djeluje na više mjesta, čime smanjuje mogućnost ponavljanja invazije

Proizvođač



Vita (Europe) Ltd: 21/23 Wote Street,
Basingstoke, Hants, RG21 7NE, UK
Tel: ++441256 473 175
Fax: ++441256 473 179
www.vita-europe.com
www.apiguard.com

Zastupnik



CVA d.o.o.
Zagreb, Utijska 40
Tel: 01/2304-334
01/2304-335
Fax: 01/6604-031

Regionalni distributeri



VETERINARSKA AMBULANTA
KONJŠČINA d.o.o.
Tel: 049/464-777
Mob: 099/4654-654

VETERINARSKA STANICA d.o.o.
SENJ
Tel: 053/881-404
Fax: 053/884-864

SVE BOLJE VELEDROGERIJE

Najčešće primjedbe pri procjeni dokumentacije o veterinarsko-medicinskim proizvodima

Miroslav Andrišić, Irena Žarković, Ksenija Šandor i Svjetlana Terzić



Uvod

Stavljanje veterinarsko-medicinskih proizvoda (VMP) u promet regulirano je Zakonom o VMP (NN 84/2008.) i drugim pratećim propisima. Jedna od ključnih faza dobivanja odobrenja za stavljanje u promet je procjena dokumentacije proizvođača o VMP za koji se traži odobrenje i na temelju toga izrađuje se izvješće o VMP.

Izvješće o procjeni dokumentacije VMP izrađuje se na temelju zahtjeva domaćeg proizvođača ili ovlaštenog zastupnika stranog proizvođača VMP u Republici Hrvatskoj. Zahtjev za izradu izvješća u svrhu dobivanja odobrenja za stavljanje u promet (tzv. registracije) VMP u Republici Hrvatskoj (RH) mora sadržavati cjelovitu dokumentaciju proizvođača (administrativni dio, analitički dio, farmakološko-toksikološki dio i dio o učinkovitosti VMP), uzorak VMP za kojeg se traži odobrenje za stavljanje u promet s certifikatom o provedenoj analizi, standard aktivne tvari i certifikat analize

aktivne tvari (ako se radi o VMP za koje je to primjenjivo). Izvješće o administrativnom i analitičkom dijelu te o kliničkoj učinkovitosti u nadležnosti je Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI) dok je procjena farmakološko-toksikološkog dijela dokumentacije u nadležnosti Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uz izradu izvješća istovremeno se analizira i uzorak predmetnog VMP prema metodama propisanim od strane proizvođača. Procjena dokumentacije proizvođača VMP, odnosno provjera podataka i priloga na temelju kojih se izrađuje izvješće o VMP u skladu je s europskim zahtjevima i standardima te u skladu s osnovnim aktima koji reguliraju to područje, prihvaćenim i u legislativi koja je na snazi u Republici Hrvatskoj (Direktiva Europske komisije 82/2001. i 28/2004., Europska farmakopeja i Hrvatska farmakopeja).

Sukladno propisanom sadržaju i obliku izvješća ono u administra-

Miroslav ANDRIŠIĆ, dr. med. vet., stručni suradnik, Irena ŽARKOVIĆ, dr. med. vet., stručna suradnica, Ksenija ŠANDOR, dipl. ing. kemije, asistentica, dr. sc. Svjetlana TERZIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica

tivnom dijelu sadržava: osnovne podatke o VMP, ovlaštenom zastupniku u RH, nositelju prava odobrenja VMP, proizvođaču VMP, proizvođaču aktivne tvari, sažetak opisa svojstava proizvoda, popis zemalja u kojima je odobren za stavljanje u promet i gdje je postupak odobravanja u tijeku te gdje je zahtjev odbijen ili gdje je odobrenje ukinuto ili povučeno.

Nadalje, dokumentacija mora sadržavati farmaceutsko, kemijsko i biološko ekspertno mišljenje, ekspertno mišljenje o neškodljivosti VMP, ekspertno mišljenje o reziduama i kliničko ekspertno mišljenje.

Analitički dio izvješća sadrži podatke o sastavu VMP, formuli proizvodnje, proizvodnom procesu, njegovoj kontroli i validaciji, kontroli aktivnih tvari (zahtjevi, specifikacije i metode kontrole, put sinteze, certifikati analize i studija stabilnosti), kontroli pomoćnih tvari, kvaliteti i kontroli materijala od kojih je izrađena ambalaža, posebnim mjerama prevencije prenošenja transmisivne spongiformne encefalopatije, prema potrebi i kontroli intermedijarnog proizvoda, zahtjevima, specifikacijama i metodama kontrole gotovog VMP, validaciji metoda kontrole VMP, rezultatima kontrole VMP (certifikat analize), stabilnosti VMP, rok valjanosti i uvjeti skladištenja te prema potrebi o stabilnosti VMP nakon njegovog otvaranja, rekonstitucije i miješanja s hranom ili vodom.

Izvješće o procjeni dokumentacije za biološke VMP (atenuirana i inaktivirana cjepiva) sadrži iste dijelove osim što su u dijelu o kontroli aktivnih tvari navedeni podatci o podrijetlu sjemen-

skih sojeva bakterija, virusa, mikoplazmi ili protozoa, njihovoj virulenciji (atenuacija ili inaktivacija), proizvodnji, kontroli i stabilnosti radnih sojeva.

Izvješće o kliničkoj učinkovitosti VMP sadrži podatke o laboratorijskim i terenskim pokusima učinkovitosti VMP u skladu s indikacijama i ciljnim vrstama. U slučaju VMP koji nisu lijekovi, a ipak se primjenjuju na životinjama ili njihovom okolišu (npr. dezinficijensi i sl.) te u svrhu dijagnostike bolesti (dijagnostička sredstva) učinkovitost se procjenjuje sukladno vrsti VMP.

Izvješće u svrhu produženja odobrenja za stavljanje u promet sastoji se isto tako od istih dijelova uključujući i sve promjene vezane za VMP koje su se dogodile od zadnjeg odobrenja.

U slučaju promjena nastalih u vrijeme važenja odobrenja za stavljanje u promet nositelj odobrenja je obvezan pokrenuti postupak odobravanja novonastalih promjena koji mora biti potkrijepljen odgovarajućom dokumentacijom. One mogu biti manje značajne ili bitne (značajne) pa se po njihovu opsegu i značenju dostavlja dokumentacija. Manje promjene su: administrativne promjene (naziv i kontaktni podatci o proizvođaču VMP, aktivnih tvari, pomoćnih tvari ili materijala za pakiranje), ukidanje jednog od mjesta proizvodnje VMP, aktivnih tvari, pomoćnih tvari ili materijala za pakiranje, promjene metode kontrole fizikalno-kemijskih karakteristika VMP, promjene specifikacija kontrole aktivne ili pomoćne tvari radi usklađivanja s nekom od farmakopeja (europska ili nacionalna), promjene dijela pakiranja koji nije u kontaktu s

proizvodom, sužavanje granica specifikacija parametara kontrole gotovih VMP. Veće promjene su: promjene indikacija, ciljnih vrsta, proširenje granica specifikacija kontrolnih parametara aktivnih tvari ili gotovog proizvoda, promjene proizvodnog procesa ili sastava VMP, promjene sojeva ili serotipova u biološkim VMP kao i promjene karencije.

Izvrješće se o procjeni dokumentacije u svrhu odobrenja VMP dostavlja Ministarstvu poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (MPRRR) koje je nadležno tijelo za donošenje rješenja o odobrenju za stavljanje VMP u promet. Odobrenje za stavljanje u promet vrijedi 5 godina ukoliko ne nastupe promjene koje bi mogle dovesti do njegova ukidanja ili drugih promjena.

Svrha ovog rada je utvrđivanje najčešćih nedostataka u dokumentaciji o VMP i ukazivanje na njih kako bi se postupak procjene kvalitete dokumentacije ubrzao. U tu svrhu analizirane su primjedbe iz 313 izvješća izrađenih u HVI tijekom 2008. i 2009. godine budući da je primijećeno da se pojedine primjedbe i nedostaci učestalo ponavljaju.

Rezultati analize nedostataka i primjedbi na dokumentaciju o VMP

Između 1995. i 2009. godine izrađeno je 1861 izvješća u svrhu dobivanja odobrenja za stavljanje u promet. Od toga je: 441 izvješća (23,70%) izrađeno u svrhu prvog odobrenja, a 1420 izvješća (76,30%) izrađeno u svrhu produženja i

promjena odobrenja. U istom je razdoblju u svrhu registracije VMP domaćih proizvođača izrađeno 417 izvješća. Od toga je 30 izvješća (7,19%) izrađeno u svrhu prve registracije, a 387 izvješća (92,81%) je izrađeno u svrhu produženja registracije.

Iako je sadržaj dokumentacije propisan često se pri procjeni dokumentacije mogu uočiti nedostaci te je analizom podataka u izvješćima o procjeni dokumentacije za 2008. i 2009. godinu dobiven uvid u one koje se najčešće pojavljuju. One se mogu svrstati u tri osnovne kategorije i mogu bit potpuni nedostatak pojedinih informacija, nepotpuna ili nedovoljno jasna dokumentacija. Međutim, ponekad je priložena čak i nepotrebna dokumentacija.

Najčešći se upiti, nedostaci ili pitanja odnose općenito na oblik dokumentacije npr. dokumentacija nije pripremljena u potpunosti prema načelima tzv. EU formata što je najčešći slučaj u proizvođača izvan EU ili je dostavljena dokumentacija u skraćenom obliku (samo sažetci, bez dodataka koji opisuju pojedine postupke). U administrativnom dijelu dokumentacije najčešće nedostaju informacije o zemljama u kojima VMP ima odobrenje za stavljanje u promet. Često nedostaje sažetak opisa proizvoda (engl. Summary of Products Characteristics, SPC) ili on nije usklađen s dokumentacijom. Tako se mogu naći različiti podatci o proizvodu u različitim dijelovima dokumentacije i priloga kao što su npr. podatci u uputi, na pakiranju, studiji stabilnosti i sl. Vrlo se često evidentira nedostatak ekspertnih izvješća ili njihov nepotpun sadržaj.

U analitičkom dijelu dokumentacije najčešće nedostaju podatci koji

posredno govore o kvaliteti gotovog proizvoda. Tako je u dokumentaciji nekih proizvođača vrlo čest nedostatak formule proizvodnje, validacije procesa proizvodnje, nedostatak podataka o kontroli aktivnih tvari (proizvođač aktivne tvari, put sinteze, rezultati kontrole ili certifikat analize i studija stabilnosti aktivnih tvari) kao i rezultata kontrole ili certifikata analize pomoćnih tvari. Često se u dokumentaciji ne prilažu i drugi certifikati kao što su certifikati analize materijala za pakiranje ili izjava proizvođača da VMP ne sadrži sastojke kojima bi se mogla prenijeti transmisivna spongiformna encefalopatija.

Znatni propusti u dokumentaciji su i nedostaci rezultata kontrole gotovog proizvoda i popratnog certifikata analize, validacije metoda kontrole gotovog proizvoda te studije stabilnosti VMP nakon otvaranja za pakiranje s više doza. Uz ovaj je podatak važna i studija stabilnosti nakon rekonstitucije VMP (ako se radi o VMP koji se sastoji od praška i otapala) te studija stabilnosti nakon miješanja s hranom, vodom za piće ili mliječnim nadomjescima (ako se radi o premiksima, prašcima, otopinama, emulzijama ili suspenzijama namijenjenim za pripremu otopina ili suspenzija za peroralnu primjenu). U navedenim se slučajevima ne može sa sigurnošću potvrditi rok valjanosti lijeka pripremljenog za primjenu naveden u dokumentaciji i preporučen od proizvođača. Ovi su podatci presudni za procjenu roka valjanosti, budući da istraživanja moraju potvrditi stabilnost VMP i u navedenim mješavinama.

Isto se tako javljaju i manjkavosti u dokumentaciji o farmakološkim i

toksikološkim istraživanjima, ali se pitanja vezana za taj dio dokumentacije upućuju od strane Veterinarskoga fakulteta kao nadležne ustanove za procjenu.

Klinički pokusi u svrhu dobivanja odobrenja moraju biti provedeni u skladu sa zahtjevima za kliničke pokuse s obzirom na ciljne vrste i indikacije. Pri tome se vodi briga i o dobrobiti životinja u pokusu. Prilikom procjene dokumentacije o kliničkoj učinkovitosti VMP najčešće, potpuno ili djelomično, nedostaju laboratorijski ili terenski pokusi ili čak oba tipa pokusa učinkovitosti. Ponekad su priloženi sažeti opisi pokusa učinkovitosti pri čemu nedostaju potpuni podatci o životinjama (pasmina, kategorija, broj, dob, smještaj), dozi i načinu davanja VMP ili placeba, načinu primjene, dozi i karakteristikama izazivačkih sojeva (ako je to potrebno) te rezultatima pokusa, a u terenskim pokusima često nedostaju epizootiološki podatci o lokacijama na kojima se pokusi provode. U nekim je slučajevima klinički dio dokumentacije dopušteno zamijeniti drugim istraživanjima koja potvrđuju učinak lijeka. Ako se radi o generičkim VMP koji su jednakog sastava i istog načina primjene kao i referentni lijek, proizvođač je dužan provesti studije bioraspoloživosti na svim ciljnim vrstama za koje je lijek namijenjen. Proizvođači VMP najčešće prilažu podatke o kliničkoj učinkovitosti istih aktivnih tvari koji su objavljeni raznim znanstvenim radovima, ali bez studije bioraspoloživosti.

U nekim se slučajevima podatci u dokumentaciji prilikom produženja

Tablica 1. Najčešće primjedbe, pitanja ili nedostaci u dokumentaciji o VMP zabilježeni tijekom 2008. i 2009. godine

Nedostatak/pitanje/primjedba	Učestalost (%)
Pokusi učinkovitosti (potpuni ili djelomični)	52,5
Stabilnost nakon otvaranja, rekonstitucije ili miješanja s hranom ili vodom	40
Validacija procesa proizvodnje	36,3
Kontrola aktivnih tvari (najčešće put sinteze i studija stabilnosti)	34,1
Kontrola (certifikati analize) pomoćnih tvari	29,7
Ekspertna mišljenja	29,7
Lista zemalja u kojima je lijek registriran	20,9
Formula proizvodnje	20,9
Kontrola gotovog proizvoda (podjednako certifikat analize i validacija metoda kontrole)	19,8
Sažetak karakteristika proizvoda	16,5
Potvrda o mjerama prevencije GSE-a	13,2
Kontrola materijala za pakiranje	13,2
Neprijavljene promjene prilikom procjene dokumentacije za produženje VMP-a	25
Ostali nedostaci (oblik dokumentacije i nejasni podatci)	17,6

razlikuju od podataka dostavljenih u dokumentaciji za dobivanje prvog odobrenja za stavljanje u promet. Takve promjene trebale su se prijaviti odmah po njihovu nastanku kako bi se promijenilo rješenje o odobrenju ili se takve promjene registrirale u drugim dokumentima.

Ukoliko se pregledom dokumentacije proizvođača VMP ustvrde nedostaci ili nejasni podatci, proizvođaču VMP ili ovlaštenom zastupniku šalje se lista pitanja u kojoj se traže dodatna objašnjenja i odgovori na pitanja te dokumentacija o tome. Po primitku zadovoljavajućih objašnjenja i odgovora završava se izvješće i ono odlazi u daljnju proceduru.

Zaključak

Sukladno porastu broja izvješća za dobivanje odobrenja raste i broj primjedbi i pitanja koja proizlaze iz rada na procjeni dokumentacije. Kako je vidljivo iz analize u Hrvatskom veterinarskom institutu udio primjedbi u nekim poglavljima dokumentacije je veći, ali to ne mora nužno značiti da su te primjedbe značajnije od onih poglavlja u kojima ih je evidentirano manje.

Budući da se za sada u Hrvatskoj provodi samo nacionalni postupak odobravanja, neki od stranih proizvođača dostavljaju dokumentaciju čija kvaliteta i sadržaj nisu u potpunosti sukladni sa zahtjevima koji vrijede u zemljama članicama Europske Unije. Razlog

tome često je ograničenje distribucije povjerljivih podataka o VMP kako bi se izbjegla njihova neovlaštena uporaba. Međutim, postupanje s dokumentacijom u Hrvatskom veterinarskom institutu i njeno čuvanje usklađeno je sa zahtjevima i propisima koji osiguravaju tajnost podataka. Ulaskom u Europsku Uniju takvi će problemi nestati, ali će sigurno i dalje biti dijelova dokumentacije koji neće zadovoljiti propisane zahtjeve.

Dokumentacija se proizvođača stalno poboljšava, dopunjuje i ažurira, a tome pridonose nove spoznaje, ali i primjedbe koji im daju procjenitelji.

Sažetak

U svrhu odobrenja za stavljanje u promet VMP prosuđuje se dokumentacija koja se sastoji od administrativnog, analitičkog, farmakološko-toksikološkog i kliničkog dijela. Sadržaj je svakog od navedenih dijelova propisan. Međutim, u nekim slučajevima pojedini dijelovi dokumentacije nisu potpuni, jasni ili nisu sukladni propisanim zahtjevima.

Najčešće primjedbe i nedostaci prilikom procjene dokumentacije o VMP odnose se na njen oblik ukoliko dokumentacija nije pripremljena prema načelima tzv. EU formata ili

je u skraćenom obliku (samo sažetci, bez dodataka koji opisuju pojedine postupke i sl.), potom nedostaci vezani za informacije o odobrenjima za promet VMP u drugim zemljama, ekspertna izvješća, sažetak opisa proizvoda ili ako on nije usklađen s podacima u dokumentaciji, u uputi ili na pakiranju. Često nedostaju rezultati kontrole, certifikat analize i validacija metoda kontrole gotovog proizvoda, a u nekim slučajevima manjkava je dokumentacija o stabilnosti i roku valjanosti VMP te podatci u poglavlju kliničkih pokusa.

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. Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products.
4. Directive 2004/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/82/EC on the Community code relating to veterinary medicinal products.
5. Zakon o veterinarsko medicinskim proizvodima, Narodne Novine 84/2008., 18. srpnja 2008.

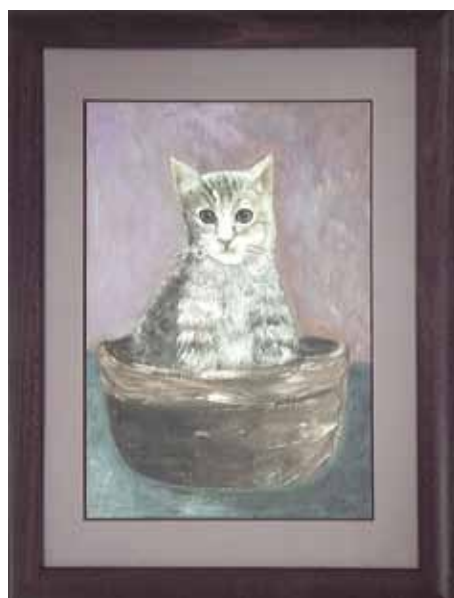
Most common remarks in the assessment of documentation for veterinary medicine products

Miroslav ANDRIŠIĆ, DVM, Professional Associate, Irena ŽARKOVIĆ, DVM, Professional Associate, Ksenija ŠANDOR, B.Sc., Assistant, Svjetlana TERZIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute Zagreb

In the procedure of granting marketing authorization for veterinary medicine products, documentation consisting of administrative, analytical, pharmacological, toxicological and clinical sections is assessed. The content of each of these sections is prescribed, however, in some cases, certain sections of the documentation are incomplete, ambiguous or not in line with the prescribed requirements.

The most common remarks and shortcomings during the assessment of the veterinary medicine product documentation pertains to its form if the documentation is not prepared in line with the principles of the EU format, or is in abbreviated form (with

only summaries, without additions describing individuals procedures, etc.). Shortcomings observed include those pertaining to information on the marketing authorization of a veterinary medicine product in other countries, expert reports, the Summary of Product Characteristics or if the information is not aligned with the information in the documentation, in the instructions or on the packaging. Frequently, control results, analysis certificates and the validation of product control methods are lacking, while in some cases, documentation on the stability and expiry period of the product, or information on clinical trials is lacking.



Marija Švob: Zbunjena maca

**VETERINA d.o.o. - VAŠ POUZDAN I DUGOGODIŠNJI PARTNER
PREDSTAVLJA VAM NOVE PROIZVODE ZA TRŽIŠTE RH**



GENTAMICIN 10% otopina za injekciju

- primjena u teladi, junadi, krava, svinja, pasa i mačaka

OXYTOCIN otopina za injekciju

- primjena u krava, kobilu, ovaca, koza, krmača, kuja i mačaka

TILMOVET® 30% otopina za injekciju

- primjena u teladi i junadi

TILMOVET® 250 mg/ml koncentrirana otopina za pripremu peroralne otopine

- primjena u svinja, kokoši, purana i teladi

TILMOVET® 200 mg/g premiks za izradu lijekovite hrane za životinje

- primjena u svinja

PRIJE PRIMJENE PAŽLJIVO PROČITAJTE UPUTU O VETERINARSKO - MEDICINSKOM PROIZVODU!
O RIZICIMA I NUSPOJAVAMA POSAVJETUJTE SE S VETERINAROM.

Primjena kalcij-alginata u liječenju ugrizne rane u psa prikaz slučaja



D. Želježić, A. Jurca, D. Konjević, D. Matičić, D. Deždek i T. Keros

Uvod

Rana je prekid kontinuiteta tkiva uzrokovan prijenosom odgovarajuće sile na organizam. Pri tome može doći do djelomičnog ili potpunog oštećenja i na dubljim tkivima (Matičić i Vnuk, 2010.). Sukladno tome rane se mogu podijeliti na jednostavne (ozlijeđeni su koža i potkožje) i složene (rana zahvaća i dublja tkiva). Ovisno o tipu sile te vrsti oruđa ili oružja kojim je došlo do ranjavanja rane se mogu podijeliti na ubodne, posjekotine, porezotine, razderotine, nagnječne rane, razderane i nagnječne rane i zggnječene rane te ugrizne rane, strijelne i eksplozivne rane (Matičić i Vnuk, 2010.). Osim uzročno, rane se dodatno mogu podijeliti na čiste kirurške rane, čiste-kontaminirane, kontaminirane i nečiste, a prema tijeku ugrubo na akutne i kronične. Na nastale ozljede organizam reagira procesima regeneracije ili reparacije, zajednički nazvanim

cijeljenje rane. Ovi dinamički procesi uključuju više faza, od kojih se neke i međusobno preklapaju (Hargis i Ginn, 2008.). Prema današnjoj podjeli postoji pet faza: vaskularna, upalna, proliferacijska, kontrakcija rane i reorganizacija izvanstaničnog matriksa ili stvaranje ožiljka (Matičić i Vnuk, 2010.). Prema Hargisu i Ginu (2008.) zgrušavanje krvi i početak upale protječu u razdoblju od 12 do 24 sata po nastanku rane, kontrakcija i proizvodnja kolagena od 1 do 2 tjedna po ozljedi te obnavljanje epitela, bujanje vezivnog tkiva i stvaranje novih krvnih žila u razdoblju od 3 do 7 dana po nastanku rane. Brzina i ishod zacijeljenja rane ovise o njoj vrsti, čistoći, regenerativnim sposobnostima organizma, možebitnim komplikacijama, ali i komunikaciji između stanica koje sudjeluju u zacijeljenju rane (Ono, 2002.). Pored citokina važnu ulogu u zacijeljenju rane

Darko ŽELJEŽIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Danko DEŽDEK, dr. med. vet., stručni suradnik, dr. sc. Tomislav KEROS, dr. med. vet., znanstveni novak, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Alan JURCA, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta za male životinje „Fabela“, Zagreb; dr. sc. Dean KONJEVIĆ, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Dražen MATIČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Zagreb



Slika 1. Rana nakon šivanja i ponovnog otvaranja od strane psa, a prije primjene kalcij-alginata



Slika 2. Stavljanje kalcij-alginata

imaju i različiti čimbenici rasta poput epidermalnog čimbenika rasta (EGF), čimbenika rasta iz trombocita (PDGF-a), transformirajućeg čimbenika rasta alfa ($TGF\alpha$), čimbenik rasta fibroblasta (βFGF) i drugih te trombospondina-1 koji uzrokuje kemotaksiju, staničnu proliferaciju, angiogenezu i regulaciju proteaza tijekom zacjeljenja rane (Krishnaswami, 2002., Ono, 2002.).

Nakon kirurške obrade, ranu je nužno ponajprije zaštititi od vanjskih utjecaja i mikrobnog onečišćenja, a potom joj, po mogućnosti, osigurati što bolje uvjete cijeljenja. Preparati za vlažno cijeljenje rana poznati su medicini dugi niz godina (Winter, 1962.), za razliku od veterinarske medicine gdje je njihova primjena i do danas znatno manja (Campbell, 2004). Cilj rada je bio prikazati poželjne osobitosti primjene kalcij-alginata (korišteni preparat Suprasorb® A, Lohmann & Rauscher GmbH & Co., Neuwied, Njemačka) u saniranju ugrizne rane na psu.

Prikaz slučaja

Dana 10. travnja 2009. godine u veterinarsku je ambulantu „Fabela” doveden žuti mužjak labradora u dobi od 6 godina s ugriznom ranom u perianalnom području. Pregledom je utvrđeno nepromijenjeno opće stanje životinje, a ugrizna rana s karakteristikama razderotine se nalazila s lijeve i desne strane počevši neposredno uz otvor analne vrećice i šireći se ventralno. Desnu stranu rane činile su tri zasebne, pliće razderotine. Sondiranjem otvora i kanala analne vrećice isključeno je nježno oštećenje. Sfinkter je anusa s izuzetkom manjeg dijela fascija bio očuvan. Područje rane je bilo onečišćeno izmetom i dlakama. Prema anamnestičkim podacima zaključeno je da je rana stara oko 3 sata. Prije operativnog zahvata pas je uveden u opću anesteziju primjenom medetomidin hidroklorida i ketamin hidroklorida.



Slika 3. Kalcij-alginat na području rane

Rana je očišćena i šivana pojedinačnim šavom, s PDS II resorptivnim koncem (Ethicon, Johnson & Johnson, SAD) i neresorptivnim monofilamentnim Nylonom 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson, SAD). Pas je tretiran kombinacijom antibiotika Spiramicina i Metronidazola te mu je postavljen ovratnik. S obzirom na položaj rane ista nije previjana, a ispirana je Rivanolom. Petog dana po šivanju rane pas je otvorio šav za oko 1 cm. Uslijed pozicije rane i sklonosti novim onečišćenjima, a uvažavajući sekundarno cijeljenje, u nastavku terapije primijenjen je preparat Suprasorb® A. Cijeljenje rane je uočeno trećeg dana po primjeni takvog povoja. Dobrim slijedom cijeljenja šavovi su uklonjeni trinaestog dana (ukupno gledano) i prekinuta je primjena preparata Suprasorb® A.

Rasprava

Kirurška sanacija rane ovisi ponajprije o njenim osobitostima te o općem

stanju pacijenta. Kako je primarni cilj ovoga rada bio prikaz uporabe kalcij-alginata u liječenju rane, u daljnjem dijelu teksta usredotočit ćemo se isključivo na principe povoja rane. Dugo su u povoju rana kao isključive korištene sterilne komprese koje su zapravo predstavljale isključivo zaštitno pokrivalo namijenjeno zaštititi rane od vanjskih utjecaja te da, što je moguće više, priječe gubitak tekućine i bjelancevina. Čimbenici idealnog povijanja rana izneseni su još od strane Turnera (1979.) i uključuju: upijanje tekućine i otrovnih produkata, održavanje vlažnosti na području doticaja rane i povoja, omogućavanje izmjene plinova, osiguravanje toplinske izolacije, zaštitu rane od prodora bakterija, izostanak nepovoljnog djelovanja na samu ranu te jednostavno uklanjanje bez daljnjeg ozljeđivanja tkiva. Upravo o potonjem je pisano u jednom od prijašnjih brojeva Veterinarske stanice raspravljajući o uporabi neadherentnih kompresa u povijanju rana (Željezić i sur., 2003.). Teže uklonjivi povoj (adherentni) pri čemu dolazi do skidanja površinskog sloja rane mogu biti dijelom i prikladni, za primjerice rane s većom količinom manje viskoznog sekreta, odnosno rane s većom količinom nekrotičnog tkiva, jer takav povoj možemo posredno koristiti i za mehaničko čišćenje rane. Kako spoznaje o cijeljenju rane i postupku s ranom napreduju tako su prethodno pobrojenim čimbenicima naknadno pridodani i otpornost na vanjske utjecaje (trganje) neovisno o količini upijene tekućine te mogućnosti sterilizacije. Isto se tako sve više nastoji osigurati i povoljno okruženje za optimalno cijeljenje rane (Stashak



Slika 4. Zacijeljena rana pet dana po postavljanju kalcij-alginata



Slika 5. Izgled perianalnog područja nakon skidanja šavova

i sur., 2004.). Pri tome, upravo vlažan okoliš bez prisutnosti mikroorganizama predstavlja sredinu bogatu obrambenim mehanizmima domaćina, citokinima, enzimima i čimbenicima rasta, poželjnu za brže i učinkovitije cijeljenje rane. Prema Dolynchuk (2001.) i Campbell (2004.), prigodom vlažnog povoja dolazi do početnog autolitičnog procesa na površini rane koji prema nekim pokazateljima zahvaća isključivo nekrotično tkivo te na taj način potpomaže čišćenje rane. Danas postoji čitav niz različitih povoja koji mogu izravno sudjelovati u cijeljenju rane osiguravajući prikladan medij te olakšavajući skidanje povoja, odnosno

ne uzrokujući ponovno ozljeđivanje tkiva. Neki od tih povoja proizvedeni su iz bioloških materijala poput amniona, potrbušnice, trbušne maramice, kolagena, međustaničnog matriksa i sl.

U ovome su radu korišteni kalcij-alginat (inače dostupan od različitih proizvođača) pripremljen od soli kiselina alge *Phaeophyceae* spp., a koje se mogu pronaći u morskim travama. Princip se djelovanja takvog povoja temelji na njegovoj sposobnosti vezivanja vode. Tako kalcij-alginat povoji mogu vezati tekućinu u težini i do 30 puta većoj od vlastite. Pri tome, zahvaljujući međuodnosu iona kalcija i natrija nastaje hidrofilni gel koji osigurava vlažan

okoliš prikladan za cijeljenje rane te lagano skidanje povoja bez dodatnog ozljeđivanja (Swaim i Gillette, 1998.). Pored formiranja vlažnog okoliša, takav povoj i izravno sudjeluje u poticanju cijeljenja rane kroz postojeće iona kalcija, koji u ne prevelikim koncentracijama potiču proliferaciju stanica (pa tako i epitela i vezivnog tkiva) te isto tako, kroz poticanje protrombina promiču zgrušavanje krvi u svježim ranama (Turner, 1997., Turner, 2001.). Za razliku od pojedinih antimikrobnih povoja, „čisti“ kalcij-alginat povoji nemaju izravan učinak na mikrobe, ali uvlačenjem veće količine tekućine u sebe, oni mogu, doduše pasivno, upiti i određen broj bakterija koje se prigodom promjene povoja uklanjaju s površine rane. Pored „čistih“ povoja s kalcij-alginatom postoje i miješani povoji koji osim spomenute tvari sadrže i određene sastojke odgovorne za takozvanu biološku i antimikrobnost povoja. Takvim je povojima moguće promicati signale upale i brže granulacije, odnosno pokretanje kaskade cijeljenja kroz raspadanje mastocita i oslobađanje histamina (Thomas i sur., 2000., Turner, 2001.), štiteći ih pri tome antimikrobnom aktivnošću i aktivnim smanjivanjem rizika od infekcije.

Povoji su s kalcij-alginatom prikladni poglavito za primjenu kod srednje do jako eksudirajućih rana, posebice u fazi početka cijeljenja. S obzirom da se pored klasičnih povoja za površinske rane, kalcij-alginat koristi i za duboke rane, valja naglasiti da se u pojedinih pacijenata pri dužoj primjeni može pojaviti lokalna reakcija na strano tijelo.

Sažetak

U radu je prikazano saniranje ugrizne rane u području anusa psa pasmine labrador. Kirurški obrađena rana previjena je povojem za vlažno zacjeljivanje rana Suprasorb® A, s kalcij-alginatom. Primjena kalcij-alginata u povoju rana poznata je već duži niz godina, ali je nešto veću primjenu u području veterinarske medicine pronašla tek u posljednjih nekoliko godina. Kalcij-alginat osigurava upijanje tekućine koju zadržava te osigurava vlažan okoliš povoljan za aktivaciju stanica, citokina, enzima i čimbenika rasta te time blagotvorno djeluje na procese cijeljenja. Takvi povoji posredno smanjuju brojnost bakterija na rani pasivnim upijanjem i zadržavanjem istih. Dodatkom drugih tvari poput cinka, srebra i slično moguće je postići i biološku i antimikrobnost takvih povoja. Kalcij-alginat povoji posebnu primjenu nalaze kod površinskih rana sa srednjom velikom količinom sekreta te u posljednje vrijeme sve više i kod dubokih rana.

Literatura

1. CAMPBELL, B. G. (2004): Current concepts and materials in wound bandaging. Proc. North Am. Vet. Conf. Orlando Florida 18, 1217-1219.
2. DOLYNCHUK, K. N. (2001): Debridement. In: Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals, 3rd edn. (KRASNER, D. L., RODEHEAVER, G. T., SIBBALD, R. G., eds). HMP Communications, Wayne, PA, 385-391.
3. HARGIS, A. M. and P. E. GINN (2008): Koža. U: Specijalna veterinarska patologija, 4. izdanje (MCGAVIN, M. D.,

- ZACHARY, J. F., eds). Prevedeno izdanje (Grabarević, Ž., urednik hrvatskog izdanja). Stanek, Varaždin, 807-963.
4. KRISHNASWAMI, S., Q. P. LY, V. L. ROTHMAN and G. P. TUSZYNSKI (2002): Thrombospondin – 1 Promotes Proliferative Healing through Stabilization of PDGF. *J. Surg. Res.* 107, 124-130.
 5. MATIČIĆ, D. i D. VNUK (2010): Veterinarska kirurgija i anesteziologija. Medicinska naklada, Zagreb.
 6. ONO, I. (2002): The effects on basic fibroblast growth factor (bFGF) on the breaking strength of acute incisional wounds. *J. Derm. Sci.* 29, 104-113.
 7. STASHAK, T. S., E. FARSTVEDT and A. OTHIC (2004): Update on wound dressings: Indication and Best Use. *Clin. Tech. Equine Pract.* 3, 148-163.
 8. SWAIM, S. F. and R. L. GILLETTE (1998): An update on wound medications and dressings. *Comp. Contin. Ed.* 20, 1133-1143.
 9. THOMAS, A., K. G. HARDING and K. MOORE (2000): Alginates from wound dressings activate human macrophages to secrete tumour necrosis factor-alpha. *Biomaterials* 21, 797-802.
 10. TURNER, T. D. (1979): Hospital usage of absorbent dressings. *Pharmaceutical J.* 222, 421-424.
 11. TURNER, T. D. (1997): Interactive dressings used in the management of human soft tissue injuries and their potential in veterinary practice. *Vet. Dermatol.* 8, 235-232.
 12. TURNER, T. D. (2001): The development of wound management products. In: *Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals*, 3rd edn. (KRASNER, D. L., RODEHEAVER, G. T., SIBBALD, R. G., eds). HMP Communications, Wayne, PA, 293-310.
 13. WINTER, G. D. (1962): Formation of scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the domestic pig. *Nature* 193, 293-294.
 14. ŽELJEŽIĆ, D., D. MATIČIĆ, T. KEROS i D. KONJEVIĆ (2003): Uporaba jednokratnih neadherentnih kompresa u saniranju rana. *Vet. stn.* 34, 301-305.

Application of calcium-alginate dressings in bite wound management in a dog – a case report

Darko ŽELJEŽIĆ, DVM, Danko DEŽDEK, DVM, M.Sc., Expert Associate, Tomislav KEROS, DVM, Ph.D., Junior Researcher, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Alan JURCA, DVM, Fabela Veterinary Clinic, Zagreb; Dean KONJEVIĆ, DVM, Ph.D., Junior Researcher, Dražen MATIČIĆ, DVM, Ph.D., Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The management of a bite wound located in the anal region of a male labrador is presented. A wet dressing containing calcium alginate (Suprasorb® A) was applied to the surgically treated wound. The application of calcium-alginate dressings has been known for decades, but has only been applied in veterinary medicine during recent years. Calcium-alginate ensures the absorption of fluids and the wet milieu supports cell activation, cytokines, enzymes and growth factors, thus enhancing the healing processes.

Indirectly, such dressings decrease bacterial contamination of the wound by passive absorption and confinement of microbes within the dressing itself. By adding certain substances such as zinc, silver or others, calcium-alginate dressings can acquire biological and antimicrobial activity. Calcium-alginate dressings are specially intended for shallow, moderate to heavily exudated wounds, and its application in deep cavity wounds is becoming more commonplace.

Retencija mekonija u ždrebadi

D. Đuričić, T. Dobranić, J. Grizelj, Iva Getz, S. Vince,
I. Folnožić, Branimira Ževrnja, Marija Lipar i M. Samardžija



Uvod

Crijevena smola ili mekonij (*meconium*) nastaje od amnionske tekućine, sekreta crijevnih stanica, uginulih stanica (debrisa) i ostalog što je plod progutao za vrijeme gravidnosti (Higginson, 1942.). Počinje nastajati u prvoj trećini gravidnosti te se nakuplja tijekom trajanja gravidnosti. Žučne se kiseline počinju izlučivati u drugoj trećini gravidnosti. Crijevena se smola sastoji od vode, mukopolisaharida, kolesterola, bjelančevina, lipida, žučnih kiselina i boja, raznih enzima, skvamoznih stanica i *vernix caseosa* (loj i deskvamirane stanice kože ploda) (McCue, 2006.). Ukoliko ždrijebe po porodu ne deficira 4-12 sati govorimo o začepu mekonija.

Prije se smatralo da ova patologija nastaje ako mladunče ne posiše dovolj-

no mljeziva, ako kobilica nema dovoljne količine mljeziva te ako je mladunčad avitalna. Pasaža mekonija *in utero* povezana je sa stresom, a pojavljuje se kad se uspostavi inervacija gastrointestinalnog trakta te trakt odgovara na podražaje. Defekacija je pod kontrolom parasimpatikusa pa se pretpostavlja da je prisutan podražaj *n. vagusa* tlačenjem od strane srca ili pupčanog tračka (McCue, 2006.).

Pretpostavlja se da većina slučajeva retencije mekonija u ždrebadi nastaje ranije, a ne neposredno pred porod i u porodu. Najčešće obolijeva ždrebac s lošim motilitetom gastrointestinalnog trakta kao posljedica asfiksije (hipoksija-ishemija), septicemije te prerano ili prekasno rođena ždrebac. Ukupna masa zaostalog mekonija može iznositi

Dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni suradnik, Veterinarska stanica Đurđevac; dr. sc. Tomislav DOBRANIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Iva GETZ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Silvijo VINCE, dr. med. vet., viši asistent, Ivan FOLNOŽIĆ, dr. med. vet., znanstveni novak, Branimira ŽEVRNJA, dr. med. vet., znanstvena novakinja, dr. sc. Marija LIPAR, dr. med. vet., stručna suradnica, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Zagreb

i do 1% od ukupne mase novorođenog ždrijebeta.

Klinička slika: Oboljele životinje pokazuju znakove perzistentnog količnog nemira od blagog ogledanja na trbuh, čestog podizanja repa i sapetosti, lupanja nogom o trbuh, kopanja do valjanja, ležanja i veslanja na boku. Takva je ždrijebad češće na sisi. Sisa i odjednom stane i stoji ispod majke tako da mu mlijeko kaplje na glavu. Kako je učestali tenezam prisutan moguće je krvarenje iz pupka ili curenje mokraće što je preduvjet nastanka upale pupka. Rijetko kad nastane izvala rektuma. U prostoru pripremljenom za ždrijebljenje teško je pronaći crijevnu smolu, pogotovo ako je duboka stelja, osim ako ne ugazimo u nju. Sumnju na retenciju možemo postaviti u ždrijebadi sa znakovima kolike već nakon prvih sati života (Radostis i sur., 1994.).

Dijagnoza: Sigurnu dijagnozu najčešće možemo postaviti već nakon digitalne palpacije rektuma pri čemu nalazimo stvrdnute kuglice fecesa različitih veličina i najčešće neravnog oblika. Ako je završni dio rektuma prazan pružimo prst dublje prema zdjeličnoj šupljini. Kad je nalaz pri palpaciji negativan prelazimo na palpaciju abdomena pri kojoj možemo naći veće količine zaostale stvrdnute crijevne smole. Najčešće palpiramo kaudalni dio abdomena dorzalno od mokraćnog mjehura ili u području sternalne ili diaphragmatske fleksure kolona (McCue, 2006.). Nemirnu ždrijebad sediramo i postavimo na bok. Dijagnozu možemo potvrditi ultrazvučnom pretragom (Fischer i Yarbrough, 1995.) (slika 1).

Diferencijalno dijagnostički moramo isključiti atreziju kolona (nema ni-

kakve pasaže niti se može do fecesa), perforaciju rektuma (prilikom grube pretrage ili aplikacije klizme), ruptura mokraćnog mjehura, volvulus tankog crijeva, intususcepcija crijeva i drugo (Cable i sur., 1997.).

Liječenje: Pripravke koje koristimo za liječenje zaostajanja crijevne smole svrstavamo u analgetike, izotonične otopine, oralne laksative (aplicirane nazogastričnom sondom) i klizme. Stvrdnuti mekonij uklanjamo iz rektuma prstom ili rjeđe instrumentima



Slika 1.

Ultrazvučni prikaz zaostale crijevne smole

zvanim mekonitoriji (Masch-ov i Mensik-ov mekonitorij) (Oklješa, 1957.). Niže doze flunixin meglumina (0,25 do 0,5 mg/kg iv. svakih 12 sati ponekad su dovoljni za rješenje problema. Od analgetika i sedativa možemo aplicirati diazepam u dozi od 0,05-0,2 mg/kg iv., te butorphanol (0,01-0,04 mg/kg iv.). Lakši oblik retencije mekonija možemo liječiti s klizmama mlačne sapunice po 500 mL u više navrata lagano, jer je prilikom grube aplikacije moguća ruptura rektuma. Blaga se otopina sapunice može zamijeniti s različitim lubrikantima koje ne draže (namijenjeni za uporabu u medicinske svrhe). Prečesta aplikacija klizmi iritira rektum pa je treba izbjegavati. Neki koriste glicerini koji isto tako iritira sluznicu rektuma

i potiče sekreciju vrčastih stanica debelog crijeva te pospješuje evakuaciju sadržaja iz crijeva. Može se upotrijebiti i 4% acetilcistein (6 g acetilcisteina pul. u 150 mL vode) (Pusterla i sur., 2004.) u kombinaciji s barijevim solima (osmotički učinak) (Lopes, 2003.). Postoji još načina aplikacije klizme npr. Foleyevim kateterom (sa širokim balonom 30 -50 ml) (slika 2).

Kateter postavimo u rektum do 2,5 – 5 cm dubine te polako napušemo balon na kateteru tako da ga fiksiramo. Aplici-



Slika 2. Foleyev kateter

ramo 100 -200 mL klizme, zatvorimo kateter i ostavimo dvadesetak minuta.

Potporna je terapija potrebna kod perzistirajuće retencije, a sastoji se od intravenske aplikacije tekućine, obogaćene dekstrozom i vitaminima. Zaostajanje crijevne smole se u većini slučajeva rješava bez kirurške intervencije. Uspjeh kirurškog liječenja je relativno loš i nepouzdan (Hughes i sur., 1996., Bryant i Gaughan, 2005.).

Prikaz slučajeva: Na području Veterinarske ambulante Đurđevac prisutno je 67 konja, od toga 39 oždrebljenih kobilu u proljeće 2009.: lipicanske pasmine četiri, hrvatskog toplokrvnjaka 10, posavskih kobilu 8, hrvatskih hladnokrvnjaka 14 i tri-poni kobile.

Od svih kobilu koje su se oždriježile 2009. godine, u 3 iz različitih uzgoja

zamijećeni su zdravstveni problemi ždrebadi od 10 do 24 sata nakon poroda. Iako je ovo relativno mali uzorak smatrali smo da je incidencija od 7,69% previsoka s obzirom da u posljednjih 10 godina nije zabilježen niti jedan slučaj retencije mekonija, iako je nekad bilo puno više konja na tom području.

Slučaj 1. Kobila hrvatski toplokrvnjak, dorata, stara 5 godina. Porod ujutro u 4.30h. Žensko ždrijebe ustaje pola sata nakon poroda i siše i tijekom dana normalno siše. Nakon 10 sati života javljaju se kolike, prvo blaže, a zatim sve jače. Ždrijebe se valja, liježe na bok i nakon 12 sati od poroda više ne ustaje. Dijagnoza je potvrđena rektalnom palpacijom pri čemu je prstom izvađeno desetak kuglica fecesa tvrde konzistencije (većina se nije mogla smrviti niti jačim pritiskom šake). Intravenski smo aplicirani Menbuton (Wercht), Vetalgina (Veterina d.d.) i glukosalinu s Vitaminom B+C (Veterina d.d.). Intramuskularna terapija: antihistaminik i antibiotik širokog spektra. Poslije znatnog poboljšanja nakon sat vremena ponovno počinju kolike (slika 3). U tri navrata u idućih 24 sata aplicirano je po 500 mL mlačne sapunice s jestivim uljem te razrijeđeni Mucogel, Bovivet. Dolazi do evakuacije stvrdnutog sadržaja i kašastog, smrdljivog proljeva.

Slučaj 2. Kobila hrvatski hladnokrvnjak, zatvoreni dorat, stara 7 godina oždriježila se ujutro. Žensko ždrijebe ubrzo ustaje, ali je slabije na noge (vlasnik izjavljuje da je kobila malo „prenesla“). Ovo ždrijebe siše, ali češće i to samo nekoliko desetaka sekundi. Nakon 20 sati od poroda počinju kolike



Slika 3. Ždrijebe s kolikama

jačeg intenziteta (slika 4). Palpacijom je potvrđena dijagnoza retencije mekonija. Pristup terapiji kao u slučaju 1.

Slučaj 3. Kobila lipicanske pasmine, jabučasti siva, stara 4 godine. Tijek i razvoj događaja identičan kao u slučaju 1.



Slika 4. Ždrijebe s kolikama leži pored majke

Sažetak

Retencija mekonija je zaostajanje crijevne smole (koja nastaje od progutane amnionske tekućine, sekreta crijeva i staničnog debrisa), popraćeno kolikama u novorođene ždrebadi. Većina ždrebadi počinje izbacivati me-

konij 1-2 sata nakon sisanja mljeziva, sve do 12 sati poslije poroda. Klinički znaci su: abdominalna bol, opća slabost, česta defekacija i uriniranje, tenezam, udaranje po trbuhu, veslanje nogama i ležanje. Dijagnoza zastoja mekonija postavlja se digitalnom rektalnom palpacijom, dubokom transabdominalnom palpacijom ili ultrazvučno. Liječenje obuhvaća uporabu analgetika, intraven-skih izotoničnih otopina, oralnih laksativa ili najčešće klizme mlačne sapunice. U proljeće 2009. na području Veterinar-ske ambulante Đurđevac oždrijebilo se 39 kobila (14 hrvatskih hladnokrvnih kobila, 10 hrvatskih toplokrvnih kobila, 8 posavskih kobila, 4 lipicanske kobile i tri poni kobile). Zaostajanje crijevne smole zabilježeno je u 3 ždrijeteta od 39 (7,69%).

Literatura

1. BRYANT, J. and E. GAUGHAN (2005): Abdominal Surgery in Neonatal Foals Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 21, 511-535.
2. CABLE, C. S., S. L. FUBINI, H. N. ERB and J. E. HAKES (1997): Abdominal surgery in foals: a review of 119 cases (1977-1994). Equine Vet. J. 29, 257-261.
3. FISCHER, A. and T. YARBROUGH (1995): Retrograde contrast radiography of the distal portions of the intestinal tract in foals. J. Am. Vet. Med. Assoc. 207, 734-737.
4. HIGGINSON, C. M. (1942): Retention of the Meconium. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 6, 26.
5. HUGHES, F., H. MOLL and D. SLONE (1996): Outcome of surgical correction of meconium impactions in 8 foals. J. Equine Vet. Sci. 16, 172-175.
6. LOPES, M. A. F. (2003): Administration of enteral fluid therapy: methods, composition of fluids and complications. Equine Vet. Educ. 15, 107-112.

7. McCUE, P. (2006): Meconium impaction in newborn foals. *J. Equine Vet. Sci.* 26, 152-155.
8. OKLJEŠA, B. (1957): Patologija novorođenčeta. U: *Porodiljstvo domaćih životinja*, Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb, str. 614-616.
9. PUSTERLA, N., K. MAGDESIAN, K. MALESKI, S. J. SPIER and J. E. MADIGAN (2004): Retrospective evaluation of the use of acetylcysteine enemas in the treatment of meconium retention in foals: 44 cases (1987-2002). *Equine Vet. Educ.* 16, 133-136.
10. RADOSTIS, O. M., D. C. BLOOD and C. C. GUY (1994): Diseases of the alimentary tract. In: *Veterinary medicine*, 8th edition, Bailliere Tindall, London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto. 210-212.

Meconium impaction in foals

Dražen ĐURIČIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Associate, Veterinary Practice Đurđevac; Tomislav DOBRANIĆ, DVM, Ph.D., Full Professor, Juraj GRIZELJ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Iva GETZ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Silvijo VINCE, DVM, Ph.D., Senior Assistant, Ivan FOLNOŽIĆ, DVM, Junior Researcher, Branimira ŽEVRNJA, DVM, Junior Researcher, Marija LIPAR, DVM, Ph.D., Professional Associate, Marko SAMARDŽIJA, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Meconium impaction is a painful retention of meconium (composed of intestinal secretions, swallowed amniotic fluid and cellular debris) associated with colic in newborn foals. Most foals will start to evacuate meconium within one to two hours after birth, shortly after the ingestion of colostrum, within 12 hours after foaling. Clinical signs are: abdominal pain in foals including general restlessness, frequent straining and tenesmus, kicking at their abdomen, pawing at the ground. We may identify the impaction by digital rectal examina-

tion, deep trans-abdominal palpation or ultrasonography. Medical therapy for meconium impaction includes use of analgesics, intravenous isotonic fluids, oral laxative therapy and warm-water liquid-detergent enemas. In the spring 2009, at the Veterinary Clinic Đurđevac, part of Veterinary Station Đurđevac Ltd., 39 mares foaled (14 Croatian coldblood mares, 10 Croatian warmblood mares, 8 Posavina mares, 4 Lipizzan mares, and 3 Pony mares). We diagnosed meconium impaction in 3 newborn foals (7.69 %).

2. simpozij “Bjesnoća u republici Hrvatskoj”



U organizaciji Referentnog centra za bjesnoću Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske pri Zavodu za javno zdravstvo grada Zagreba i pod pokroviteljstvom Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske u Zagrebu je 15. prosinca 2006. godine održan Drugi Simpozij bjesnoće u Republici Hrvatskoj.

Uz uvodni referat „Povijesni pregled zaštite od bjesnoće u Republici Hrvatskoj” (prof. dr. sc. Ivan VODOPIJA) održano je još 14 referata te prikazano

šest postera o stanju kontrole i prevencije bjesnoće u Hrvatskoj i Europi.

Među stotinjak sudionika, simpoziju je - aktivno s referatima - nazočilo i sedmero veterinara (prof. dr. sc. Mirko LOJKIĆ, dr. sc. Mate BRSTILO, dr. sc. Željko ČAČ, dr. sc. Anđelko GAŠPAR, mr. sc. Damir NEJEDLI, mr. sc. Sanja ŠEPAROVIĆ i mr. sc. Olivera VARVODIĆ RUPNIK). Na priloženoj fotografiji prisutna su trojica sudionika.

Željko ČAČ



Sjede (slijeva nadesno): 1. prof. dr. sc. Mirko LOJKIĆ, dr. med. vet., 2. prof. dr. sc. Mate LJUBIČIĆ, dr. med. i 3. dr. sc. Željko ČAČ, dr. med. vet.

Dr. Žiga Brüll, jedan od najstarijih pokojnih veterinara u Hrvatskoj

Maks Karlović



Unatrag desetak - petnaest godina nalazimo pokatkada poneku kratku bilješku o nekome tko je umro u 101., 102. ili mnogo rjeđe u nekoj još dubljoj starosti. U veterinarskoj struci našli smo podatak o samo jednom veterinaru u Hrvatskoj (Jurju Derenčinu) koji je umro u stotoj godini (rođen u Rijeci 18. travnja 1890. i umro također u Rijeci 18.

rujna 1990.). Iza njega poznat nam je - od pokojnih veterinara - samo dr. Žiga Brüll koji je umro u 97. godini.

Budući da danas ima vrlo malo veterinara koji bi o Žigi Brüllu mogli navesti neke značajnije podatke, smatramo zanimljivim prikazati njegov život koji je obilovao mnogobrojnim raznolikostima u skladu s vremenom u kojem je živio.

Žiga Brüll rođen je 6. prosinca 1881., u Novoj Gradiški. Završio je u Beču k.u.k. tierärztliche Hochschule (Carsku i kraljevsku veterinarsku visoku školu) 9. lipnja 1904. (Olensky, 1983.). Poslije diplomiranja postavljen je za rezervnog vojnog podveterinara u Artiljerijsku pukovnicu 13. Zbora (Anon. 1905.), a nakon odsluženja vojnog roka imenovan je - kao diplomirani veterinar - 1906., godine gradskim veterinarom u Varaždinu (Kucel, 1973., Anon 1907.a). Još te iste godine izlazi u prvom godištu časopisa

Dr. sc. Maks KARLOVIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik u mirovini, Zagreb

„Veterinarski vjestnik“ poziv diplomiranim veterinarima koji se nisu uključili u Hrvatsko-slavonsko veterinarsko društvo da to učine. Među navedenima nalazi se i Žiga Brüll (Anon. 1906.), a iduće godine nalazimo u istom časopisu ime Žige Brülla među darovateljima zaklade Veterinarskog društva (Anon. 1907.b), malo kasnije i u popisu članova Hrvatsko-slavonskog veterinarskog društva (Anon. 1907.c). Uz sav je terenski rad Brüll, zajedno s Ritzoffy-jem (Brüll i Ritzoffy, 1909.) objavio svoju prvu raspravu „O cijepljenju svinja proti vrbancu sa landberškim cijepivom“. Dvije godine kasnije proveo je godinu dana na Bujatričkoj klinici Veterinarske visoke škole u Beču kojom je prilikom izradio i svoju disertaciju (Kucel, 1973.) Promocija je održana 12. srpnja 1911. u novoj svečanoj dvorani bečke Veterinarske visoke škole, a među 20 kandidata bio je prisutan i Žiga Brüll iz Varaždina (Anon. 1911.a). Ubrzo se navode i naslovi obranjenih disertacija (Anon. 1911.b, Anon. 1911.c), da bi Brüllova disertacija bila još te iste godine objavljena u njemačkom veterinarskom časopisu „Berliner tierärztliche Wochenschrift“ (Brüll, 1911.).

U proljeće 1914. godine javljaju osječke novine „Die Drau“ (Anon. 1914.a) i zagrebački „Veterinarski vjesnik“ (Anon. 1914.b), da je gradski veterinar u Varaždinu dr. Žiga Brüll imenovan kotarskim veterinarom i premješten iz Varaždina u Vukovar. Tijekom kratkog boravka u Vukovaru - do mobilizacije u prvoj polovici 1914. godine - objavio je u „Veterinarskom glasniku“ tri stručna zapisa (Brüll, 1914.).

Samo dva mjeseca kasnije (28. lipnja 1914. *uzdrimali su* Sarajevski atentat na austrijskog prijestolonasljednika Franju Ferdinanda (Anon. 1997.) i kao posljedica toga austrijska objava rata Srbiji 28. srpnja 1914. cijeli svijet (Dubravica, 1997.). Jednako brzo zabilježen je i prvi zapis o već mobiliziranom vojnom podveterinaru 6. Husarske pukovnije dr. Žigi Brüllu (Anon. 1914.c) s izvještajem o dodjeli Zlatnog križa za zasluge s krunom na vrpici kolajne za hrabrost kojeg mu je dodijelio kralj Franjo Josip I. kao priznanje za hrabro držanje pred neprijateljem. U tom se zapisu posebno ističe:

„Koliko je poznato, to je prvo odlikovanje, koje je u ovom ratu dodijeljeno jednom austrijskom veterinaru“. Slične obavijesti o tom odlikovanju donose i časopisi „Österreichische Monatsschrift für Tierheilkunde“ (Anon. 1914.d) i „Wiener tierärztliche Monatsschrift“ (Anon. 1914.e), a osječka „Die Drau“ (Anon. 1914.f) dodaje da je Dr. Žiga Brüll rođen u Novoj Gradiški i da potječe iz jedne tamošnje obitelji. Nedugo zatim javlja se o promaknuću podveterinara Brüllu u vojnog veterinaru (Anon. 1914.g, Anon. 1914.h). O spomenutom odlikovanju pišu bečki (Anon. 1915.a) i osječki list „Zrno“ (Anon. 1915.b), ovaj posljednji uz napomenu da je Brüll prije odlaska u vojsku radio kao veterinar u Vukovaru. Te posljednje 1915. godine Brüll je objavio raspravu „Pyophag, ein neues Wundheilmittel“ u časopisu „Wiener tierärztliche Monatsschrift“ (Brüll, 1915.). I to je posljednji podatak o njegovu boravku na

ratištima austrougarske Monarhije. Iz svih se tih podataka, međutim, ne nazire na kojem je ratištu Brüll stekao svoje visoko odlikovanje.

Prvi poslijeratni podatak o njemu zabilježen je u vukovarskom listu „Novo doba“ (Anon. 1919.a) odnosno u „Veterinarskom vjesniku“ (Anon, 1919.b), prema kojem ga je povjerenik za narodno gospodarstvo imenovao kotarskim veterinarom u IX. činovnom razredu. Te iste godine prelazi Brüll iz Vukovara u Kraljevski zemaljski bakteriološki zavod u Križevcima (Kucel, 1973.), odakle ga Ban Hrvatske i Slavonije premješta 1920. godine u Bjelovar, gdje ga dodjeljuje specijalnoj službi u tamošnjim tvornicama suhomesnate robe (Anon. 1920.), a potkraj 1920. ili na početku 1921. godine premješta ga kr. županijskoj oblasti u Bjelovaru (Anon. 1921.a). Prema obavijesti u prvom dvo-broju novouređenog časopisa „Jugoslovenski veterinarski glasnik“ (Anon, 1921.b) veterinar Brüll postavljen je za rezervnog veterinarskog kapetana I. klase.

Iz Bjelovara Brüll prelazi 1922. godine u novoosnovani privatni Serum-zavod u Zagrebu (Kucel, 1973.) gdje ostaje do 1925., kada prelazi u Kutinu. Nasuprot Kucelu, Mašansker (1964.) navodi da je Brüll bio u Zavodu do 1926. godine pa je prema tome te godine i počeo raditi u Kutini.

U tih četiri ili pet godina provedenih u spomenutom Serum-zavodu Brüll je objavio dvije stručne rasprave u „Gospodarskom listu“ (Brüll, 1922.a, 1922.b) i dvije u „Jug. vet. glasniku“

(Brüll, 1924., 1925.). U međuvremenu je zabilježen na sastanku Jug. vet. udruženja u Zagrebu 25. veljače 1923. (Vuković i Omerza, 1923.) njegov prijedlog „da Sekcija mjesečno održava sjelo sa obligatnim predavanjem iz koje god grane veterinarske struke“.

U 1923. godini nalazimo rješenje o njegovu premještaju kr. županijskoj oblasti u Požegu (Anon. 1923.). Taj ga premještaj, međutim, nije zahvatio, jer je Brüll već prije toga napustio državnu službu.

Napustivši Serum-zavod (Kucel, 1973.) - 1925. ili 1926. godine - Brüll se vraća u državnu službu i nastavlja raditi kao kotarski veterinar u Kutini, gdje ostaje do 1929. godine, kad je „Ukazom Nj. V. Kralja od 30. maja 1929. postavljen za veterinara kod Sreskog načelstva u Dugom Selu (Anon. 1929.). U Dugom Selu je promaknut 12. veljače 1930. za višeg veterinarskog savjetnika Pete položajne grupe (Anon. 1930.). U tom je Dugom Selu napisao i svoju posljednju stručnu raspravu, ovog puta zajedno s prof. dr. Stjepanom Plasajem i objavljuje je u „Jug. vet. glasniku“ (Brüll i Plasaj, 1930.). Dvije godine kasnije (Anon. 1932.) Brüll je premješten u Osijek i unaprijeđen za višeg veterinarskog savjetnika IV. položajne grupe 2. stepena, a 6. lipnja 1936. za višeg veterinarskog savjetnika IV. položajne grupe 1. stepena (Anon. 1936.a), o čemu izvještavaju; „Glasnik Ministarstva poljoprivrede“ (Anon. 1936.b) „Narodne novine (Anon. 1936.c) i „Jug. vet. glasnik“ (Anon. 1936.d).

U toj 1936. godini Brüll je sudjelovao u ispitivanju vrijednosti glukozidskih cjepiva protiv bedrenice cijepići 640 goveda i 832 ovce (Hupbauer, 1937.).

U međuvremenu, tridesetih godina prošlog stoljeća uzrokovala je u tadašnjoj Jugoslaviji metiljavost ovaca i goveda, štete koje su ponekad premašivale i milijardu dinara na godinu. Potaknuti tim pojavama stručnjaci Veterinarske eksperimentalne stanice izradili su posebni pripravak Protumetilj za ovce i goveda. Uočivši u prvim pokusima relativno dobre rezultate proveli su niz istraživanja koja su na terenu dokazala njegovu stvarnu vrijednost (Kodrnja, 1938.). Pokuse je provodilo 179 terenskih veterinara, među kojima je bio i dr. Žiga Brüll u Osijeku. U njegovom se izvješću navodi da je primijenio Protumetilj na 2.415 ovaca. Tim je pokusom uočio slabu reakciju u dobro uhranjenih i nešto mršavijih ovaca. Reakcija se očitovala lakom turobnošću i pospanošću tijekom jednog do tri dana i lakim proljevom. Uginule su dvije kahektične ovce. Nije bilo pritužaba, osim tih dviju ovaca da neka od drugih tretiranih ovaca nije ozdravila. Na temelju tih pokusa Brüll je zaključio da je Protumetilj pouzdan lijek, a u usporedbi s tadašnjim distolom i metiljinom znatno jeftiniji i to mu je velika prednost.

Sav je dotadašnji rad dr. Brülla potaknuo 18. siječnja 1938. njegovo postavljanje za višeg veterinarskog savjetnika IV. položajne grupe 1. stepena u Ministarstvu poljoprivrede u Beogradu (Anon. 1938.a, Anon. 1938.b, Anon.

1938.c, Anon. 1938.d), a već 25. veljače 1939. za veterinarskog inspektora istog Ministarstva (Anon. 1939.a, 1939.b), da bi 8. studenog 1939. bio - kao veterinarski inspektor - premješten Kraljevskoj Banskoj upravi Dunavske banovine u Novom Sadu (Anon. 1939.c, Anon. 1939.d).

Na početku te posljednje godine dolazi do značajne prekretnice u odnosima unutar Kraljevine Jugoslavije. Naime, dugotrajna dotadašnja neriješena pitanja međusobnih odnosa, posebno tzv. „hrvatsko“ pitanje počelo se rješavati usklađivanjem nagomilanih nejasnoća Uredbom o Banovini Hrvatskoj, koja je utemeljena 26. kolovoza 1939., na temelju sklopljenog sporazuma Cvetković - Maček, a koji je zaključen spajanjem dviju dotada odvojenih hrvatskih banovina: Savske i Primorske u jednu Hrvatsku banovinu (Sirotković, 1996.). Tim je sporazumom dogovoreno stavljanje na raspoloženje Banu banovine Hrvatske hrvatskih veterinara koji su bili dotada raspoređivani po Srbiji, Makedoniji, Crnoj Gori i Bosni. Ta su stavljanja na raspoloženju Banu banovine Hrvatske temeljena Ukazom Ministarstva poljoprivrede. Takvim je Ukazom vraćen u Hrvatsku i dr. Žiga Brüll. Evo tog Ukaza:

„U ime Njegovog Veličanstva Kralja, Ukazom Kraljevskih Namesnika od 12. januara 1940. godine br. 3556/1, na predlog Ministra poljoprivrede u sporazumu sa Banom Banovine Hrvatske, a na osnovu paragrafa 22, 101 i 103 Zakona o činovnicima, stavljeni su na raspoloženje Banu Banovine

Hrvatske... dr. Brüll J. Žiga, veterinarski inspektor Banske uprave Dunavske banovine 4 položajne grupe 1. stepena..." (Anon. 1940.a, Anon. 1940.b, Anon. 1940.c). Slijedi obavijest o premještanju Brülla (Anon. 1940.d) i već 14 dana kasnije - 26. siječnja 1940. - njegovo postavljenje - Odlukom Bana banovine Hrvatske - za veterinarskog savjetnika kod Veterinarske eksperimentalne stanice u Zagrebu (Anon. 1940.e), da bi već 12. srpnja 1940. Brüll bio umirovljen s pravom na mirovinu koja mu prema godinama službe pripada (Anon. 1940.g.).

Kao umirovljeni veterinar dočekao je Brüll u Zagrebu i početak Drugoga svjetskog rata. Osjećajući nadolazeću opasnost Brüll napušta Zagreb. Nije nam poznato, međutim, kada se i na koji način uspio skloniti u Hrvatskom Primorju - prvo u Hreljinu i zatim u Križišću (Juretić, 1983.) gdje je proveo kao slobodnjak više od jedne godine. Tada ga u listopadu 1942. godine talijanska policija internira u Kraljevicu, da bi ga u lipnju 1943. godine prebacila u logor na Rabu, gdje ostaje do kapitulacije Italije u rujnu 1943. (Romano, 1980.). Iz oslobođenog Raba Brüll prelazi u Liku i počinje raditi kao referent veterine u Kotarskom NOO Vrginmost (Turudić i Bađovinac, 1971., Rapajić i Kolar-Dimitrijević, 1985.) odnosno kao referent veterine pri NOO Vrginmost i Topusko i nakon toga u Veterinarskom odsjeku pri ZAVNOH-u (Romano, 1980.). Sudjelovao je 1943. na konferenciji gospodarskih i tehničkih stručnjaka u Otočcu i potpis-

nik je Proglasa s te konferencije koji je objavljen 10. prosinca 1943. (Turudić i Bađovinac, 1971., Rapajić i Kolar-Dimitrijević, 1985.).

Vrativši se po završetku rata u Zagreb upućuje ga Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva dopisom od 2. lipnja (Anon. 1945.a) u Veterinarski eksperimentalni zavod u Zagrebu, gdje ostaje do 1. kolovoza 1945. (Anon. 1945.b), kad je Rješenjem istog Ministarstva umirovljen. Usprkos tom rješenju, Brüll se vraća 29. rujna 1945. ponovno u Veterinarski eksperimentalni zavod i ostaje do 8. ožujka 1946. (Anon. 1946.), kad je novim rješenjem Ministarstva poljoprivrede i šumarstva prestao raditi.

Nakon umirovljenja ostao je u Zagrebu, pri čemu je posljednjih desetak godina proveo u Domu zaklade Lavoslav Schwarz (Bukovačka cesta 55). U tom sam ga Domu potražio potkraj 1975. ili 1976., godine, a razgovor s njim dogovorila je tadašnja direktorica Doma dr. Nada Reiner. Dr. Žiga Brüll je, naime, u to vrijeme nepomično ležao u krevetu slomivši kratko prije toga na poledici bedrenu kost, što ja nisam znao. Usprkos tome, kad je saznao gdje radim primio me vrlo srdačno i posebno ga je zanimalo tadašnje stanje Zavoda, promjene u Zavodu i osoblje u Zavodu, iako je od njegova boravka u Zavodu prošlo više od 30 godina. Mene je pak zanimalo njegov boravak u Zavodu i njegovi eventualno objavljeni zapisi, osim onih koje sam već prikupio. Objavio je, međutim, samo ono što sam prikupio. Ipak, kao izrazito društven čovjek bio je član Hrvatsko-slavonskog veterinarskog društva od 1907.

do 1921. godine, Jugoslovenskog veterinarskog udruženja od 1921. ili 1922. do 1940. godine i Hrvatskog veterinarskog društva od 1940. do 1941. godine. Kao takav prisustvovao je većini skupova koji su se održavali skoro svake godine pod imenom Redoviti godišnji Zbor Jugoslovenskog Veterinarskog Udruženja i to u Sarajevu 1922. (Anon. 1922.a), u Zagrebu 1923. (Anon. 1923.b), u Subotici 1924. (Anon. 1924.), u Ljubljani 1925. (Anon, 1925.), u Zagrebu 1930., (Anon, 1930.b), u Beogradu 1936. (Anon. 1936.d) i u Zagrebu 1940. (Anon, 1940.f). Na tom posljednjem Zboru ujedinile su se Savska sekcija u Zagrebu i Primorska sekcija u Splitu u samostalno Hrvatsko veterinarsko društvo, a dr. Žiga Brüll bio je među prvim članovima tog novoosnovanog društva. Umro je 11. 9. 1978. u Zagrebu.

Sažetak

Jedan od rijetkih hrvatskih veterinarra koji je doživio 97. godinu života - dr. Žiga Brüll - rođen je 6. prosinca 1881. u Novoj Gradiški. U Beču je 9. lipnja 1904. završio veterinarsku visoku školu i promovirao u istoj veterinarskoj školi 12. srpnja 1911. (Beitrag zur Diagnostik des infektiösen Abortus des Rindes). Kao veterinar boravio je u Varaždinu i Vukovaru, odakle je već u drugoj polovici 1914. godine mobiliziran i ubrzo odlikovan Zlatnim križem za zasluge s krunom na vrpici kolajne za hrabrost i to je bilo prvo odlikovanje koje je u Prvom Svjetskom ratu dodijeljeno jednom austrougarskom veterinaru. U ratu je proveo pune četiri godine. Poslije rata

promijenio je deset mjesta (Vukovar, Križevci, Bjelovar, Zagreb, Kutina, Dugo Selo, Osijek, Beograd (Ministarstvo poljoprivrede), Novi Sad (Banska uprava Dunavske banovine) i Zagreb, gdje ostaje do odlaska u mirovinu 1940. godine. Na početku Drugoga svjetskog rata morao je kao Židov pobjeći u Hrvatsko Primorje, ali ga ondje 1943. godine interniraju Talijani u logor na Rabu. Poslije kapitulacije Italije prelazi na Kordun, gdje radi kao veterinar u Vrginmostu i u Veterinarskom odsjeku pri ZAVNOH-u. Slijedi povratak u Zagreb i rad u Veterinarskom eksperimentalnom zavodu (današnji Hrvatski veterinarski institut) do konačnog umirovljenja 1946. godine. Nakon umirovljenja ostaje u Zagrebu, a posljednjih desetak godina proveo je u Domu zaklade Lavoslav Schwarz. Umro je 11. rujna 1978. u Zagrebu.

Zahvala

Posebno zahvaljujem na korisnim podacima o boravku dr. Žige Brüllu u Domu zaklade Lavoslava Schwarza nekadašnjoj direktorici dr. Nadi Reiner i sadašnjoj direktorici gđi. Pauli Novak.

Bibliografija

1. BRÜLL, Ž. i N. RITZOFFY (1909): O cijepljenju svinja proti vrbancu sa landberškim cijepivom. Vet. vijestnik 4, 33-38.
2. BRÜLL, Ž. (1911): Beitrag zur Diagnostik des infektiösen Abortus des Rindes. Berl. tierärztl. Wochenschr. 27, 721-727.
3. BRÜLL, Ž. (1914): Sterilitet goveda. Vet. vijestnik 10, 97-106.

4. BRÜLL, Ž. (1914): Zanimiv slučaj hemoglobinemije i neka razmatranja o digalenskoj terapiji. *Vet. vijestnik* 10, 247-251.
5. BRÜLL, Ž. (1914): Amputacija maternice kod kobile. *Vet. vijestnik* 10, 313-314.
6. BRÜLL, Ž. (1915): Pyophag, ein neues Wundheilmittel. *Wiener tierärztl. Monatsschr.* 2, 414-416.
7. BRÜLL, Ž. (1922a): O zaraznim bolestima stoke. *Gospodarski list* 80, (6), 4.
8. BRÜLL, Ž. (1922b): O zaraznim bolestima stoke. *Gospodarski list* 80, (7), 3-4.
9. BRÜLL, Ž. (1924): O imunizaciji pasa protiv bjesnoće. *Jug. vet. glasnik* 4, 151-153.
10. BRÜLL, Ž. (1925): Stipendialna zaklada Bertolda Hirscha. *Jug. vet. glasnik* 5, (5), 65.
11. BRÜLL, Ž. i S. PLASAJ (1930): Abort kod krmače uslijed *B. pyogenes*. *Jug. vet. glasnik* 10, (3), 59-60.
13. Anon. (1914e): Personalnachrichten. *Wiener tierärztl. Mschr.* 1, 568.
14. Anon. (1914f): Provinz-Chronik. *Die Drau*, 47. (244) 4 (27. Oktober 1914.).
15. Anon. (1914g): Personalien. *Österr. Wschr. Tierheilk.* 39, 310.
16. Anon. (1914h): Personalien. *Tierärztl. Zbl.* 37, 463.
17. Anon. (1915a): Personalnachrichten. *Wiener tierärztl. Mschr.* 2, 398-400.
18. Anon. (1915b): Razno. *Zrno*, 6 (1-2) 15.
19. Anon. (1919a): Domaće vijesti. *Novo doba*, 2 (2), 3 (4. siječnja 1919.).
20. Anon. (1919b): Imenovanja i premještenja. *Vet. vjesnik* 15, 39-42.
21. Anon. (1920): Premještenja. *Vet. vjesnik* 16, 112.
22. Anon. (1921a): Osobne vijesti. *Vet. vjesnik* 17, 43.
23. Anon. (1921b): Rezervni veterinarski oficiri. *Jug. vet. glasnik* 1, 103.
24. Anon. (1922): Spisak veterinara članova Jug. Vet. Udruženja, prisutnih na II Zboru držanom 30. juna i 1. jula 1922 u Sarajevu. *Jug. vet. glasnik* 2, 21.
25. Anon. (1923a): Lične vesti. *Jug. vet. glasnik* 3, 82.
26. Anon. (1923b): Spisak prisutnih članova Jug. Vet. Udruženja na III redovnom godišnjem Zboru, držanom 28., 29. i 30. maja 1923. godine u Zagrebu. *Jug. vet. glasnik* 3, 94.
27. Anon. (1924): Spisak članova Jug. Vet. Udruženja, koji su učestvovali na trećem redovnom godišnjem Zboru u Subotici 7. 8 i 9 juna 1924. god. *Jug. vet. glasnik* 4, 114.
28. Anon. (1925): Spisak prisutnih članova na godišnjem zboru Jug.-Vet. Udruženja 18., 19. i 20. juna u Ljubljani. *Jug. vet. glasnik* 5, 89-90.
29. Anon. (1926): Spisak članova na godišnjem Zboru Jug. Vet. Udruženja održanom 5., 6. i 7. juna tg. Splitu. *Jug. vet. glasnik* 6, 111.
30. Anon. (1929): Lične vesti. *Jug. vet. glasnik* 9, 219.
31. Anon. (1930a): Lične vesti. *Jug. vet. glasnik* 10, 111.
32. Anon. (1930b): Popis veterinara prisut-

Literatura

1. Anon. (1905): Personalien. *Tierärztl. Zbl.* 28, 588.
2. Anon. (1906): Razne bilješke. *Vet. vijestnik* 1, 16.
3. Anon. (1907a): Imenovanja. *Vet. vijestnik* 2, 57.
4. Anon. (1907b): Potpornoj zakladi društva darovali su. *Vet. vijestnik* 2, 58.
5. Anon. (1907c): Članovi hrv.-slav. veterinarskog društva. *Vet. vijestnik*, 2, 106-107.
6. Anon. (1911a): Promotionen an der k.u.k. Tierärztlichen Hochschule in Wien. *Tierärztl. Zbl.* 34, 328-329.
7. Anon. (1911b): Inaugural-Dissertationen. *Tierärztl. Zbl.* 34, 362.
8. Anon. (1911c): Personalien. *Oesterr. Wschr. Tierheilk.* 36, 301.
9. Anon. (1914a): Tages-Chronik. *Die Drau*, 47 (111) 5 (16. Mai 1914.).
10. Anon. (1914b): Imenovanja. *Vet. vjesnik*, 10, 288.
11. Anon. (1914c): Auszeichnungen. *Tierärztl. Zbl.*, 37, 453.
12. Anon. (1914d): Auszeichnungen. *Österr. Wschr. Tierheilk.* 39, 302.

- nih na IX redovnom godišnjem Zboru Jug. Vet. Udruženja, održanom 13, 14 i 15 septembra 1930 godine u Zagrebu. Jug. vet. glasnik 10, 288-289.
33. Anon. (1932a): Spisak gg. kolega, koji su prisustvovali XI. red. godišnjem Zboru u Zagrebu. Jug. vet. glasnik 12, 411.
 34. Anon. (1932b): Lične vesti. Jug. vet. glasnik 12, 448.
 35. Anon. (1936a): Ukazi. Službene novine 18 (179) 1 (6 avgust 1936.).
 36. Anon. (1936b): Lične vesti. Glasnik Ministarstva poljoprivrede 14, 304.
 37. Anon. (1936c): Ukazi. Narodne novine, 102 (180) 1 (8. kolovoza 1936.).
 38. Anon. (1936d) Spisak prisutnih veterinar na XV. Redovnom godišnjem Zboru u Zagrebu 1936. god. Jug. vet. Glasnik 16, 667.
 39. Anon. (1938a): Premještaji. Glasnik Ministarstva poljoprivrede 16, 17.
 40. Anon. (1938b): Ukazi. Službene novine, 20 (25) 1 (4. februara 1938.).
 41. Anon. (1938c): Ukazi. Narodne novine, 104 (29) 1 (7. veljače 1938.).
 42. Anon. (1938d): Lične vesti. Jug. vet. glasnik 18, 90.
 43. Anon. (1939a): Ukazi. Službene novine, 21 (57) 1 (13 mart 1939.).
 44. Anon. (1939b): Lične vesti. Glasnik Ministarstva poljoprivrede 17, 225.
 45. Anon. (1939c): Ukazi. Službene novine, 21 (293) 1 (9. decembar 1939.).
 46. Anon. (1939d): Lične vesti. Glasnik Ministarstva poljoprivrede 17, 706.
 47. Anon. (1940a): Ukazi. Službene novine, 22 (22) 1 (30 januara 1940.).
 48. Anon. (1940b): Lične vesti. Glasnik Ministarstva poljoprivrede 18, 28.
 49. Anon. (1940c): Lične vesti. Jug. vet. glasnik 20, 35.
 50. Anon. (1940d): Lične vesti. Jug. vet. glasnik 20, 75.
 51. Anon. (1940e): Banska rješenja. Narodne novine, 106 (25) 1 (31. siječnja 1940.).
 52. Anon. (1940f): Spisak učesnika XVIII. Zbora J. V. Udruženja. Jug. vet. glasnik 20, 140-141.
 53. Anon. (1940g): Banska rješenja. Narodne novine, 106 (159) 1 (16. srpnja 1940.).
 54. Anon. (1945a): Dopis Ministarstva poljoprivrede i šumarstva od 2. lipnja 1945.
 55. Anon. (1945b): Dopis Ministarstva poljoprivrede i šumarstva od 1. kolovoza 1945.
 56. Anon. (1946): Dopis Ministarstva poljoprivrede i šumarstva od 8. ožujka 1946.
 57. Anon. (1997): Sarajevski atentat. Hrvatski leksikon. II. Svezak. Zagreb (404). Izdavač: Naklada Leksikon d.o.o. Zagreb.
 58. DUBRAVICA, B. (1997): Prvi svjetski rat (1914-1918). Hrvatski leksikon. II. svezak. Zagreb (325-327). Izdavač: Naklada leksikon d.o.o. Zagreb.
 59. HUPBAUER, A. (1937): Prilog poznavanju glukozidskih vakcina. Jug. vet. glasnik 17, 341-354.
 60. JURETIĆ, I. (1982): Usmeno priopćenje.
 61. KODRNJA, E. (1938): Ovčji protumetilj u praktičnoj primjeni. Brošura. Zagreb. Str. 67. Izdavač: Veterinarska eksperimentalna stanica Zagreb.
 62. KUCEL, J. (1973): Dr. Žiga Bril. Vet. stn., 4, (1-2), 63.
 63. MAŠANSKER, Z. (1964): Povijest veterinarske kemofarmaceutske proizvodnje u Hrvatskoj. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 64. OLENSKY, G. (1983): Daten Veterinärmedizinischer Universität Wien. Universitätsbibliothek.
 65. RAPAJIĆ, N. i Mira KOLARDIMITRIJEVIĆ (1985): Kongres privrednih stručnjaka Hrvatske Otočac-Čazma 1943/1944. Zagreb. Str. 210. Izdavač: Savez poljoprivrednih inženjera i tehničara SRH i Institut za historiju radničkog pokreta Hrvatske. Tisak: Grafički zavod Hrvatske Zagreb.
 66. ROMANO, J. (1980): Jevreji Jugoslavije 1941-1945. Žrtve genocida i učesnici narodnooslobodilačkog rata. Beograd. Str. 590. Izdavač: Jevrejski istorijski muzej Saveza jevrejskih opština Jugoslavije.

67. SIROTKOVIĆ, H. (1996): Banovina Hrvatska. Hrvatski leksikon. I. svezak. Zagreb (51). Tisak: Naklada Leksikon d.o.o.
68. TURUDIĆ, V. i J. BADOVINAC (1971): Veterinarski kadrovi zemaljskog anti-fašističkog vijeća narodnog oslobođenja i njegovih narodno-oslobodilačkih odbora u oslobodilačkom ratu. Vet. stn. 2, 369-385.
69. VUKOVIĆ, V. i OMERZA (1923): Zapisnik sastavljen dne 25 februara 1923. u predavaoni Veterinarske visoke škole u Zagrebu o konstituirajućem sastanku J.V.U. „Sekcije Zagreb“. Jug. vet. glasnik 3, 47-48.

Dr. Žiga Brüll, one of the eldest late veterinarians in Croatia

Maks KARLOVIĆ, DVM, Ph.D., Retired Scientific Adviser, Zagreb

One of rare Croatian veterinarians who lived up to the age of 97 – Dr. Žiga Brüll – was born on 6 December 1881 in Nova Gradiška. On 9 June 1904, he completed the school of veterinary medicine in Vienna and was promoted from the same school on 12 July 1911 (Beitrag zur Diagnostik des infektiösen Abortus des Rindes). As a veterinarian, he worked in Varaždin and Vukovar. In the second half of 1914 he was recruited and soon afterwards awarded a Golden Cross for his merits with a crown on the courage medal, first of a kind awarded to an Austro-Hungarian veterinarian in the World War I. He spent full four years in the war. After the war, he changed ten positions (Vukovar, Križevci, Bjelovar, Zagreb, Kutina, Dugo Selo, Osijek, Beograd (Ministry of Agriculture), Novi Sad

(Administration of Dunavska Banovina) and Zagreb, where he remained until his retirement in 1940. Being a Jew, he was forced to flee to the Croatian coast at the beginning of the World War II. However, in 1943 he was captured by Italians and taken to a concentration camp on the island of Rab. After the Italian capitulation, he moved to Lika and worked as a veterinarian in Vrginmost and at the Veterinarian Section of the Croatian Anti-Fascist Council of Liberation. Later he returned to Zagreb and worked at the Veterinary Experimental Institute (currently Croatian Veterinary Institute) until his final retirement in 1946. He continued to live in Zagreb and spent his last decade at the Lavoslav Schwarz Trust Centre. He died on 11 September 1978 in Zagreb.

IN MEMORIAM

Marinko VRČIĆ rođen je 21. 1. 1923. u Šibeniku. Diplomirao je 8. 5. 1954. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Do odlaska u mirovinu (1954. – 1988.) radio je kao veterinar u Veterinarskoj stanici Šibenik. Uz veterinarske poslove bavio se golubarstvom, pčelarstvom i uzgojem ptica pjevica s kojima je sudjelovao na izložbama i na kojima je često bio nagrađivan. Objavio je nekoliko stručnih zapisa o uzgoju ptica pjevica u odgovarajućim časopisima. Umro je 7. 1. 2009. u Šibeniku.

Zdravko MILAŠINČIĆ, rođen je 17. 2. 1935. u Jastrebarskom. Diplomirao je 20. 2. 1961. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio je kao veterinar u Veterinarskoj stanici Jastrebarsko (1962. – 1966.), u Serum zavodu Kalinovica (1966. – 1968.) i u Veterinarskoj stanici Jastrebarsko do odlaska u mirovinu (1968. – 2000.). Umro je 20. 7. 2009. u Jastrebarskom.

Mirko POTOČNJAK rođen je 9. 4. 1932. u Zagrebu. Diplomirao je 10. 7. 1959. i doktorirao 30. 6. 1981. (Kriteriji

za odabiranje goveda na mliječnost i posljedice njihove primjene) u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio je kao veterinar u Veterinarskoj stanici Vinkovci – Ambulanta Stari Mikanovci, poljoprivrednom kombinatu Borinci 1959. – 1963., Poljoprivrednoj školi Vinkovci (1963. – 1965.), Višoj poljoprivrednoj školi Vinkovci (1965. – 1972.), Poljoprivrednom fakultetu Osijek do odlaska u mirovinu (1971. – 2000.). Bio je tehnički suradnik časopisa „Slavonski stočar“, autor triju rasprava u monografiji „Slavonija“, jedne monografije „Slavonija“ i jedne u Zborniku radova Centra za znanstveni rad Vinkovci. Ukupno je objavio 68 znanstvenih i stručnih rasprava. Bio je član Skupštine Sveučilišta u Osijeku, Matičnog povjerenstva za izbor iz područja veterine i član Zajednice sveučilišta Republike Hrvatske itd. Umro je 6. 12. 2009. godine u Vinkovcima.

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 posebnog 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) Oglašavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu „Veterinarska stanica“ mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.).
- U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.

- 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): *Adaption of domestic animals*. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959): *African swine fever*. 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 tvari kao biokemijskom parametru. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 4. **zbornik referata:** SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
 5. **zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti 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. ŠIĆ (1983): Utjecaj genetskih čimbenika na plodnost goveda. *Vet. stn.*, 14 (4) 1-7.
 8. **neka druga rasprava:** BOLLWAHN, W. und B. KRUEDEWIG (1972): Die symptomatische Behandlung der Gratschstellung neugeborener Ferkel. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 79, 229 - 231 (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI, H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H. KÖNIG und J. NICOLET: Vorkommen und Bedeutung von Schweinekrankheiten: Analyse eines Sektionsguts (1971 - 1973) *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 118, 105 - 125, 1976).
 9. **sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe *Vet. J.* 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

Jednu kopiju rukopisa zajedno 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, Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10000 Zagreb.

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

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu..