

Bakterijski uzročnici, antimikrobna osjetljivost i terapija urinarnih infekcija pasa i mačaka

B. Habrun, G. Kompes, S. Špičić, Ivana Račić i Ž. Cvetnić



Uvod

Najčešći su uzrok bolesti urinarnog trakta u pasa i mačaka bakterijske infekcije. Otprilike 14% pasa tijekom života preboli bez obzira na dob urinarnu infekciju. Kod otprilike 10% pasa dovedenih veterinaru radi drugih zdravstvenih tegoba otkriju se i urinarne infekcije (Ling, 1984.).

Istraživanja urinarnih infekcija mačaka pokazuju da su urinarne infekcije rjeđe u mladih mačaka, dok čak 15 – 20% starijih mačaka imaju pozitivan bakteriološki nalaz urinokulture (Weestrop, 2009.). U jednoj je klinici utvrđeno da 25% mačaka ima pozitivan nalaz urinokulture. Prosjek starosti mačaka u toj klinici bio je 8,2 godine. Pretpostavlja se da je uzrok povećanom broju urinarnih infekcija starijih mačaka smanjena lokalna imunost i pojedine kronične bolesti (*diabetes mellitus*, zatajenje bubrega, hipetireoidizam) (Prescott i sur., 2000.).

Čest je problem što većina inficiranih pasa i mačaka ne očituju nikakve simptome bolesti, radi čega se ove infekcije ponekad slučajno otkriju. Bakterijska kolonizacija bilo kojeg

dijela urinarnog trakta čini životinju podložnjom infekciji ostalih dijelova urinarnog trakta i drugih organskih sustava. Najčešće posljedice neliječenih urinarnih infekata su neplodnost, inkontinencija, pijelonefritis i zatajenje bubrega. Septikemija se može javiti kao posljedica pijelonefritisa u imunokompromitiranih životinja. U pasa neliječena bakterijska infekcija urinarnog trakta redovito prelazi u prostatitis i ponekad u upalu sjemenskog užeta i testisa. Bakterijski prostatitis uzrokuje neplodnost, tvorbu apsesa i recidivirajuće urinarne infekcije. Infekcija bakterijama koje razgrađuju ureju (*Staphylococcus pseudintermedius* i *Proteus mirabilis*) često je povezana s tvorbom amonij magnezij fosfata iz čega nastanu urolita (Prescott i sur., 2000.).

Patogeneza

U patogenezi ovih infekcija važno je naglasiti da pojavnost urinarnih infekcija ovisi o imunosti životinje i virulenciji bakterija. U pasa i mačaka, kojima je lokalna imunost narušena kateterizacijom, kirurškim zahvatima i bolestima urinarnog trakta (npr. uroliti,

Dr. sc. Boris HABRUN, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, docent, dr. sc. Gordan KOMPES, viši asistent, dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, znanstveni savjetnik, Ivana RAČIĆ, dipl. ing, znanstvena novakinja, dr. sc. Željko CVETNIĆ, znanstveni savjetnik, izvanredni profesor, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

neoplazme i dr.) pojavnost je bakterijskih infekcija visoka.

Cijeli urinarni trakt ima obrambene mehanizme koji sprječavaju da se mikroorganizmi vežu na sluznicu i koloniziraju dijelove urinarnog trakta. Normalno mokrenje i potpuno pražnjenje mjeđura pomaže uklanjanju bakterija. Distalna uretra ima fiziološku mikrofloru koja sprječava ascedentni ulaz bakterija. Proksimalni dio uretre je sterilan i ima mikroplike koje pomažu pražnjenju urina i uklanjanju bakterija. Na sluznici urinarnog trakta nalaze se i sekretorna IgA protutijela, koja sprječavaju prihvatanje bakterija na sluznicu i posljedičnu kolonizaciju (Westropp, 2009.).

Od virulencijskih je čimbenika bakterija najznačajnija mogućnost prijanjanja za sluznicu urinarnog trakta, za što vrste *Escherichia (E.) coli* i *Proteus (P.) mirabilis* imaju fimbrije (Westerlund i sur., 1987., Gaastra i sur., 1996.). Većina uropatogenih bakterija, uključivši *E. coli*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.* i *Pseudomonas spp.* imaju tzv. R plazmide na kojima se nalaze geni za rezistenciju prema jednom ili više antimikrobnih lijekova. Neke bakterije imaju kapsulu koja pojačava upalni odgovor domaćina i sprječava fagocitozu i opsonizaciju. *E. coli* obično tvori hemolizin i aerobaktin koji pomažu razmnažanju bakterija (Wilson i sur., 1988.).

Najčešće je ulazna vrata infekta uretra, a normalna mikroflora vanjskih spolnih organa, rektuma i perineuma je primarni izvor infekcije (Low i sur., 1988.).

Normalnu floru prepucija i vagine pasa opisali su Ling i Ruby (1978.) i uglavnom obuhvaća difteroidne bakterije, mikrokoke, koliformne bakterije, *Proteus spp.*, enterokoke, kvasce i gram-negativne anaerobne bakterije.

Najčešće izdvajane bakterije kod urinarnih infekcija pasa su: *Escherichia coli*, potom *Staphylococcus spp.*, *Proteus*

spp., *Streptococcus spp.*, *Klebsiella spp.* i *Pseudomonas spp.* (Prescott i sur., 2000.). Osim navedenih bakterija, i pripadnici roda *Mycoplasma* mogu biti uzročnici urinarnih infekcija (Jang i sur., 1984.).

Kod urinarnih infekcija mačaka u više od 50 % slučajeva izdvaja se *E. coli*, potom stafilokoki, streptokoki te puno rjeđe druge uvjetno patogene bakterije (Prescott i sur., 2000.).

Dijagnostika urinarnih infekcija

Prvi korak u dijagnostici je uzorkovanje urina. Danas se sve više kao metoda izbora spominje predpubična cistocenteza, čime se u zdravih životinja dobija sterilan urin. Čest način uzorkovanja je kateterizacija, no kod imunokompromitiranih pacijenata na taj se način bakterije mogu unijeti u mokračni mjeđur sa sluznicu prepucija / vagine i time se prouzroči jatrogena infekcija (Prescott i sur., 2000.).

Nakon uzorkovanja urina, urin se mora unutar 15 minuta pohraniti u hladnjak, gdje može čekati pretragu najduže od 6 do 8 sati.

Prva pretraga urina jest pretraga sredstava u kojem se traže leukociti, eritrociti i bakterijske stanice, čiji nalaz ukazuje na upalu. Nalaz leukocita, eritrocita i bakterija u uzorcima dobivenim cistocentezom ukazuje na upalu mokračnog mjeđura, uretera i/ili bubrega. Normalan urin uzorkovan cistocentezom treba imati manje od 3 leukocita u jednom vidnom polju mikroskopa pod velikim povećanjem (Prescott i sur., 2000.). Može se desiti da postoji upala, a da se u sedimentu ne vide leukociti. To je slučaj kod imunokompromitiranih pacijenata (*diabetes mellitus*, imunosupresivna terapija, npr. dugotrajno davanje glukokortikoida, kada se ne stvara veći broj upalnih stanica zbog neadekvatnog imunosnog odgovora). Vail i sur. (1986.) ustvrdili su da samo 54% pasa s urinarnom infekcijom koji su bili terapirani glukokortikoidima radi alergijskih promjena kože

imaju više od 3 leukocita u vidnom polju sedimenta.

Nalaz eritrocita u sedimentu bez leukocita ukazuje na hemoragiju uzokovanu cistocentezom ili možebitna krvarenja u mjeđuru ili bubrežima koja nisu povezana s upalnim procesom.

Ako se uoče štapićaste bakterijske stanice u sedimentu, to ukazuje da ima više od 10.000 štapićastih bakterija u 1 mL urina, a ako se vide koki, vjerojatno ih ima više od 100.000 u 1 mL (Westrop, 2009.).

Najpouzdanija metoda dijagnostike bakterijskih infekcija urinarnog trakta jest urinokultura kojom se identificiraju bakterijske vrste u urinu i broj bakterija u 1 mL urina. Najznačajniji pokazatelj je broj bakterija u urinu. Ako kod cistocenteze u pasa i mačaka u urinu bude više od 1000 CFU / 1mL (CFU engl. colony forms unit, broj izraslih kolonija) riječ je o infekciji. Ako je urin uzorkovan kateterizacijom u mužjaka, dokaz infekcije je nalaz više od 10.000 CFU / 1mL. Ako je kateterizacija rađena u kući, smatra se da je infekcija prisutna kada se u 1 mL urina naše više od 100.000 CFU / 1 mL, jer se kateterom prikupe i bakterije kojih ima u vestibulumu vagine.

Uzorci urina koji su uhvaćeni prilikom uriniranja pasa i mačaka u različite posude nemaju dijagnostičku vrijednost, jer ne možemo biti sigurni je li broj bakterija u mL urina posljedica infekcija ili kontaminacije urina na vanjskim dijelovima spolovila.

Osim određivanja vrste i broja bakterija, za uspješnu terapiju važno je odrediti i osjetljivost izdvojenih bakterija prema antimikrobnim lijekovima.

Cilj je ovoga rada opis nalaza urinokultura pasa i mačaka pretraženih u Hrvatskom veterinarskom institutu tijekom 2010. godine i prvih 9 mjeseci 2011. godine i određivanje osjetljivosti izdvojenih bakterija prema antimikrobnim lijekovima.

Materijal i metode

U Laboratoriju za opću bakteriologiju Hrvatskog veterinarskog instituta tijekom 2010. i prvih 9 mjeseci 2011. godine pretražena su 62 uzorka urina pasa i 13 uzorka urina mačaka. Uzorci su potjecali iz veterinarskih ambulanti i klinika s područja Zagreba, a bili su dostavljeni radi bakteriološke pretrage (urinokulture).

Izdvajanje uzročnika

Uzorak je urina nacijspljivan jednokratnom ezom od 10 µL na krvni agar (Blood agar base s 5% defibrinirane sterilne ovčje krvi), XLD agar i hranjivi agar. Ove su hranjive podloge dostatne za rast bakterija koje su najčešći uzročnici urinarnih infekata pasa i mačaka.

Nacijspljene su podloge bile inkubirane aerobno pri temperaturi od 37 +/- 1 °C najduže 72 sata, s pregledom nacijspljenih podloga svakih 24 sata inkubacije.

Ukoliko je bakterijska kultura bila miješana, kolonije različite morfologije su precijspljivane radi dobijanja čistih kultura, koje onda mogu biti identificirane te im se može odrediti osjetljivost prema antimikrobnim lijekovima.

Identifikacija uzročnika

Pripadnost gram pozitivnim ili gram negativnim bakterijama potvrđeno je pomoću KOH testa i prema potrebi korištenjem reagensa Bactident Aminopeptidase (Merck). Određivanje tvorbe katalaze provedeno je pomoću reagensa Bactident Catalase (Merck), a oksidaze pomoću Bactident Oxidase (Merck). Biokemijska su svojstva određena pomoću biokemijskog niza BBL Crystal Identifications Systems, Gram Positive ID Kit za gram pozitivne bakterije i BBL Crystal Identifications Systems, Enteric Nonfermenter ID Kit za gram negativne bakterije (Becton Dickinson, SAD). Rezultati su interpretirani pomoću software-a BBL Crystal Microbiology Interactive database.

Određivanje broja bakterija (CFU) u urinu

Istodobno s nacijseljivanjem na hranjive podloge određivan je i broj izraslih kolonija (CFU) u 1 mL urina metodom po Sanfordu, a rezultat se izrazio kao rast bakterija u decimalnom razrijedenju urina (npr. 10^4 , 10^5).

Određivanje osjetljivosti bakterija

Određivanje osjetljivosti napravljeno je disk difuzijskom metodom (CLSI, M31 A3, 2008.) za sljedeće antimikrobnе lijekove: ampicilin (AM, 10 µg), amoksicilin s klavulanskom kiselinom (AMC 20/10 µg), ceftiofur (CTX, 30 µg), cefovecin (CVN 30 µg), enrofloxacin (ENR, 5 µg), ciprofloksacin (CIP, 5 µg), florfenikol (C 30 µg), oksitetraciklin (T, 30 µg), streptomycin (S, 10 µg), neomicin (N, 30 µg), gentamicin (GM, 10 µg), i sulfametoksazol / trimetoprim (SXT 23,75/1,25 µg). Penicilin G, oksacilin i eritromicin su testirani samo kod

određivanja osjetljivosti gram pozitivnih bakterija.

Kao podloga korišten je Mueller-Hinton agar acc. to NCCLS (Merck 1.05435). Za kontrolu postupka korišteni su sojevi *Escherichia coli* ATCC 25922 (kod testiranja gram negativnih izolata) i *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (kod testiranja gram pozitivnih izolata).

Inhibicije zone rasta bile su interpretirane kao osjetljiv, umjereno osjetljiv i rezistentan, prema preporuci CLSI-a (M31 A3, 2008.).

Rezultati

Od 62 uzorka urina pasa 41 je bio bakteriološki pozitivan, a od 13 urina mačaka 5 je bilo bakteriološki pozitivno.

Bakteriološki nalazi prikazani su u tabeli 1.

Rezultati određivanja osjetljivosti disk difuzijskom metodom prikazani su u tabelama 2 do 5.

Tabela 1. Bakteriološki nalazi pretraženih uzoraka urina pasa i mačaka

Bakterijski izolat	Pas	Mačka
<i>Escherichia coli</i>	16	1
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	11	2
<i>Proteus mirabilis</i>	9	-
<i>Enterococcus</i> sp.	5	2
Ukupno bakteriološki pozitivnih uzoraka	41	5
Ukupno pretraženih uzoraka	62	13

Tabela 2. Rezultati određivanja osjetljivosti 17 sojeva bakterije *Escherichia coli*

Antimikrobnji lijek	Osjetljiv	Umjereno osjetljiv	Neosjetljiv
ampicilin	8	1	8
amoksicilin s klavulanskom kiselinom	8	1	7
ceftiofur	13	1	3
cefovecin	14	-	3
enrofloxacin	11	-	6
ciprofloksacin	12	-	5
fluorfenikol	13	2	1
streptomycin	4	5	8
neomicin	9	3	4
gentamicin	14	1	2
oksitetraciklin	8	1	8
sulfametoksazol i trimetoprim	8	-	9

Tabela 3. Rezultati određivanja osjetljivosti 13 sojeva *Staphylococcus pseudintermedius*

Antimikrobi liječnik	Osjetljiv	Umjereno osjetljiv	Neosjetljiv
penicilin	2	-	11
ampicilin	2	-	11
amoksicilin s klavulanskom kiselinom	7	-	6
ceftiofur	7	-	6
cefovecin	8	-	5
oksačilin	6	1	6
eritromicin	8	-	5
enrofloksacin	8	-	5
ciprofloksacin	11	-	2
fluorfenikol	10	2	1
streptomicin	8	3	2
neomicin	10	2	1
gentamicin	10	-	3
oksitetraciklin	8	2	1
sulfametoksazol i trimetoprim	9	-	4

Tabela 4. Rezultati određivanja osjetljivosti 7 sojeva *Enterococcus faecium*

Antimikrobi liječnik	Osjetljiv	Umjereno osjetljiv	Neosjetljiv
penicilin	6	-	1
ampicilin	6	-	1
amoksicilin s klavulanskom kiselinom	7	-	-
ceftiofur	3	-	4
cefovecin	5	-	2
eritromicin	3	-	4
enrofloksacin	4	2	1
ciprofloksacin	6	-	1
fluorfenikol	6	-	1
streptomicin		-	7
neomicin	3	-	4
gentamicin	2	1	4
okxitetraciklin	2	-	4
sulfametoksazol i trimetoprim	3	1	3

Tabela 5. Rezultati određivanja osjetljivosti 6 sojeva *Proteus mirabilis*

Antimikrobi liječnik	Osjetljiv	Umjereno osjetljiv	Neosjetljiv
ampicilin	5	-	1
amoksicilin s klavulanskom kiselinom	6	-	-
ceftiofur	6	-	-
cefovecin	6	-	-
enrofloksacin	4	-	2
ciprofloksacin	5	-	1
fluorfenikol	6	1	
streptomicin	4	-	2
neomicin	5	-	1
gentamicin	6	-	-
okxitetraciklin		-	4
sulfametoksazol i trimetoprim	4	-	2

Rasprava

Prije odluke o terapiji detaljnog anamnezom valja ustvrditi je li urinarna infekcija nekomplicirana ili komplikirana. Nekomplicirana je urinarna infekcija obično uzrokovana reverznom promjenom imunosti domaćina, daje brzi odgovor na poduzetu terapiju i ne recidivira (Prescott i sur., 2000.).

Komplicirana urinarna infekcija nastaje u imunokompromitiranih životinja (visoke doze glukokortikoida ili drugog imunosupresivnog lijeka), uslijed zatajerenja bubrega, *diabetes mellitus-a*, urolita, neoplazmi, ektopičnih uretera, obstrukcija mokraćnih puteva, zbog otežena mokrenja s nepotpunim pražnjenjem mjeđura i dr. Kod komplikiranih slučajeva može doći do recidivirajuće infekcije, reinfekcije ili ponovne infekcije nekom drugom bakterijom (Prescott i sur., 2000., Westropp, 2009.).

Terapija nekompliciranih urinarnih infekcija može se temeljiti na empirijskim saznanjima koji su najčešći uzročnici urinarnih infekcija i koji lijekovi na njih djeluju (Prescott i sur., 2000.) Kod komplikiranih infekcija urinarnog traka (recidiva ili ponovne infekcije nekom drugom bakterijom unutar 3 mjeseca od prethodne infekcije) svakako treba napraviti urinokulturu i odrediti osjetljivost bakterijskog uzročnika prema antimikrobnim lijekovima (Anonymus, 2010.).

Kod odabira antimikrobnih lijekova za terapiju urinarnih infekata valja koristiti one antimikrobne lijekove koji se iz krvi u aktivnom obliku izlučuju putem bubrega.

Među antimikrobnim lijekovima dostupnim u veterinarskoj medicini najčešće se u terapiji urinarnih infekcija koriste beta laktamski antibiotici (penicilini i cefalosporini), florirani kinoloni (enrofloksacin, marbofloksacin i dr.) i sulfonamid s trimetoprimom. Doza i interval aplikacije određuju

se prema uputama proizvođača. Kod beta laktama lijek se obično daje 2-3 puta dnevno, dok se florirani kinoloni i sulfonamid s trimetoprimom obično daje 1x dnevno (Westropp, 2009.). Nakon početne parenteralne terapije, terapija se može nastaviti i peroralnim davanjem istog lijeka.

Terapija nekomplicirane urinarne infekcije obično se provodi 2 tjedna s odgovarajućim antimikrobnim lijekom. Preporuča se urinokulturu ponoviti 3-7 dana nakon početka terapije. Ako urinokultura bude pozitivna, mijenja se antimikrobeni lijek u skladu s novim antibiogramom i terapira dulji vremenski period (3-4 tjedna). Prilikom recidiva i reinfekcija terapija treba trajati 4-6 tjedana. Zbog duljine terapije urinarnih infekcija valja razmisliti o uporabi peroralnih pripravaka, koji se mogu koristiti od početka terapije ili se nakon nekoliko dana parenteralni oblik može zamijeniti istim antimikrobnim lijekom u peroralnom obliku (Anonymus, 2010.).

Preporuča se po završetku terapije bez obzira što pacijent ne očituje ikakve znakove bolesti ponoviti urinokulturu te jednom mjesечно tijekom 3 mjeseca nakon uspješne terapije (Anonymus, 2010.).

Ukoliko se uz urinarnu infekciju dijagnosticira neoplazma ili uroliti, i njih valja adekvatno ukloniti zajedno s antimikrobnom terapijom. Bakterije roda *Proteus* i *Staphylococcus* tvore enzim ureazu te razgradnjom ureje povisuju pH urina ($> 7,5$) i pogoduju tvorbi amonij magnezij fosfata (urolita) pa dugotrajna neliječena infekcija ovim bakterijama može uzrokovati tvorbu urolita i razvoj komplikirane urinarne infekcije. *Escherichia coli* zna prodrijeti dublje u sluznicu mjeđura što otežava terapiju (Weestrop, 2009.).

Glede bakterijske otpornosti prema lijekovima, prema rezultatima prikazanim u tabelama 2 do 5 možemo uočiti da niti jedan testirani lijek nije bio

učinkovit prema svih 17 testiranih sojeva *E. coli* (Tabela 2). Najučinkovitiji su bili gentamicin i cefovecin na koje je bilo osjetljivo 14 (82%) sojeva *E. coli*. Prema amoksicilinu s klavulanskom kiselinom bilo je osjetljivo samo 47% izolata, a prema enrofloksacincu 67% izolata, a prema ciprofloksacincu 71%. Ovakav visok stupanj rezistencije redovito je posljedica ponavljanih terapija koje nisu bile učinkovite radi krivog odabira lijeka ili nedijagnosticiranja drugih patoloških stanja koja pogoduju razvoju komplikiranih urinarnih infekcija. Većina su pretraženih urina bili uzorkovani nakon recidiviranja bolesti te ovaj prikaz osjetljivosti najbolje pokazuje kakav se razvoj rezistencije može dogoditi kod uzročnika urinarnih infekata.

Ono što zabrinjava kod rezultata osjetljivosti pretraženih sojeva *S. pseudintermedius* je to što je čak 6 sojeva rezistetno na oksacilin. Sojevi koji su rezisteti na oksacilin vjerojatno pripadaju skupini meticilin rezistetnih sojeva *S. pseudintermedius*, što znači da im je promijenjeno ciljno mjesto za koje se vežu beta laktamski antibiotici i da ih se treba proglašiti rezistetnim na sve beta laktamske antibiotike (sve peniciline i cefalosporine) bez obzira jesu li u testiranju osjetljivosti disk difuzijskom metodom možda i prikazali osjetljivost prema pojedinom beta laktamu. Veliki udio meticilin rezistetnih sojeva *S. pseudintermedius* u Hrvatskoj opisao je Matanović (2011.).

U zaključku valja naglasiti da je prilikom terapije urinarnih infekcija važno znati je li infekcija komplikirana te učinak liječenja pratiti bakteriološkim pretragama i određivanjem osjetljivosti izdvojenih bakterija kako bi terapija bila što uspješnija i izbjegnuto stvaranje višestruko rezistetnih bakterijskih sojeva.

Sažetak

Bakterijske infekcije su najčešći uzrok urinarnih infekcija u pasa i mačaka.

Pravilno uzorkovanje urina, pohrana nakon uzorkovanja i dostava u laboratorij su od pre-sudnog značenja za točnu dijagnozu infekcija urinarnog trakta. Najpouzdaniji dokaz urinarene infekcije je urinokultura. Njom se uz izdvajanje bakterijskog uzročnika određuje i broj bakterija u 1 mL. Uz izdvajanje uzročnika bitno je i određivanje osjetljivost bakterija radi provođenja učinkovite terapije. Terapija u nekomplikiranih urinarnih infekcija treba trajati 2 tjedna, dok se kod komplikiranih infekcija životinja terapira od 4 do 6 tjedana. U ovom je radu pretraženo 62 uzorka urina pasa od čega je 41 bio bakteriološki pozitivan i 13 urina mačaka od kojih je 5 bilo bakteriološki pozitivno. Uzorci su potjecali većinom iz recidivajućih infekcija. Izdvajani su: *Escherichia coli* (17), *Staphylococcus pseudintermedius* (13), *Enterococcus faecium* (7) i *Proteus mirabilis* (6). Izdvojeni sojevi *E. coli* i *S. pseudintermedius* pokazali su značajan razvoj rezistencije prema antimikrobnim lijekovima koji se koriste u terapiji urinarnih infekcija. Čak 6 (46%) sojeva *S. pseudintermedius* bilo je rezistetno na oksacilin, što znači da najvjerojatnije pripadaju meticilin rezistetnim sojevima (MRSI) te da su svi beta laktamski antibiotici neučinkoviti u terapiji takvih infekcija.

Literatura

1. Anon (2010): Bacterial cystitis. In: The Merck Veterinary Manual. 10th edition. Merck & C., Inc, Whitehouse Station, N. J., USA, 1394-1395.
2. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE M31 A3 (2008): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved standards – third edition.
3. GAASTRA, W., R. A. VAN OOSTEROM, E. PRETERS, H. E. BERGMANS, L. VAN DIJK, A. AGNES and H. M. TER HURNE (1996): Isolation and characterisation of dog uropatogenic *Proteus mirabilis* strains. *Vet. Microbiol.* 48, 57-71.
4. JANG, S. S., G. V. LING, R. YAMAMOTO and A. M. WOLF (1984): *Mycoplasma* as a cause of canine urinary tract infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185, 45-47.
5. LING, G. V. (1984): Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the canine urinary tract. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185, 1162-1164.
6. LING, G. V. and A. L. RUBY (1978): Aerobic bacterial flora oft he prepuce, urethra and vagina of normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 39, 695-698.
7. LOW, D. A., B. A. BRATEN, G. V. LING, D. L. JOHNSON and A. L. RUBY (1988): Isolation and

- comparison of *Escherichia coli* strains from canine and human patients with urinary tract infection. *Infect. Immun.* 56, 2601 – 2609.
8. MATANOVIĆ, K. (2011): Genotipizacija i dokazivanje gena za rezistenciju meticilin rezistentnih sojeva bakterije *Staphylococcus pseudintermedius*. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
9. PRESCOTT, J. F., J. D. BAGGOT and R. D. WALKER (2000): Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 3rd ed., Iowa State University Press.
10. VAIL, D. M., T. A. ALLEN, G. WEISER (1986): Applicability of leukocyte esterase test strip in detection of canine pyuria. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189, 1451-1453.
11. WESTERLUND, B., A. PERE, T. K. KORHONEN, A. K. JARVINEN, A. SIITONEN and P. H. WILLIAMS (1987): Characterisation of *Escherichia coli* strains associated with canine urinary tract infections. *Res. Vet. Sci.* 42, 404–406.
12. WESTROPP, J. L (2009): Diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cat. Proceedings of the 4th International Baytril® Symposium. Florence, Italy, 18.–19. June 2009, pp. 16–23.
13. WILSON R. A., T. J. KEEFE, M. A. DAVIS, M. T. BROWNING and K. ONDRUSEK (1988): Strains of *Escherichia coli* associated with urogenital disease in doga and cats. *Am. J. Vet. Res.* 49, 743–746.

Bacterial agents, antimicrobial sensitivity and therapy for urinary infections of dogs and cats

Boris HABRUN, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Gordan KOMPES, DVM, PhD, Senior Assistant, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Ivana RAČIĆ, BSc, Junior Researcher, Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Bacterial infections are the most common cause of urinary infections in dogs and cats. The proper sampling of urine, storage after sampling and delivery to the laboratory are of crucial importance for an accurate diagnosis of a urinary tract infection. The most reliable evidence of a urinary infection is the urine culture test. In addition to isolating the bacterial agent, the number of bacteria per millilitre is also determined. In addition to isolating the agent, it is also important to determine the sensitivity of the bacteria, in order to administer effective therapy. Therapy in non-complicated urinary infections should last 2 weeks, while for complicated infections, therapy should continue for 4 to 6 weeks. This paper

presents the results of 62 dog urine samples, of which 41 samples were bacteriologically positive, and 13 cat urine samples, of which 5 were bacteriologically positive. The samples primarily showed relapse infections. Bacteria isolated were: *Escherichia coli* (17), *Staphylococcus pseudintermedius* (13), *Enterococcus faecium* (7) and *Proteus mirabilis* (6). The isolated strains of *E. coli* and *S. pseudintermedius* indicated a strong development of resistance to antimicrobial medicines used to treat urinary infections. Six of the strains (46%) of *S. pseudintermedius* were resistant to oxacillin, meaning they likely belong to the methicillin resistant strains (MRSI) and are thus resistant to all beta-lactam antibiotics.

Zarazna hematopoetska nekroza pastrva na hrvatskom ribogojilištu: utvrđivanje i iskorjenjivanje

Snježana Zrnčić, Dražen Oraić, Peter Hostnik i Sven M. Bergman



Uvod

Zarazna hematopoetska nekroza (ZHN) je akutna virusna bolest mlađa i starijih kategorija različitih salmonidnih vrsta riba s mortalitetima koji sežu do 90% (Bootland i Leong, 1999.). Uzročnik izaziva opsežne nekroze hematopoetskog tkiva te je stoga bolest nazvana zarazna hematopoetska nekroza (Amend i sur., 1969.). Virus pripada rodu *Novirhabdovirus* iz skupine *Rhabdoviridae*. Prvi je puta izdvojen iz „srebrnog lososa“ (*Oncorhynchus nerka*) na pacifičkoj obali SAD ((Rucker i sur., 1953., Wolf, 1988., Bootland i Leong, 1999.), a uskoro se uvozom zaražene ikre s Aljaske proširio u Japan (Sano i sur., 1977.). U Europi je bolest prvi puta opisana u Francuskoj (Baudin-Laurencin, 1987.) i Italiji (Bovo i sur., 1987.), a nekoliko godina kasnije i u Belgiji (Hill, 1992.). Bolest se može širiti vertikalno ili horizontalno s oboljele ribe na neinficiranu ribu, putem fecesa, urina i ovarijalane ili seminalne tekućine (Bootland i Leong, 1999.).

Virus ZHN je vrlo otporan na okolišne uvjete, može preživjeti nekoliko mjeseci u vodi i tada inficirati zdravu ribu (Mulcahy i sur., 1983.). Zaražena je voda potencijalni izvor zaraze, ali po svoj prilici virus ne može preživjeti niske temperature izvan rive domaćina. Primljivost riba na ovu virusnu infeciju pada s porastom dobi i težine te stoga kod mlađa do 2 mjeseca izaziva 90% mortaliteta, a kod rive u dobi od 6 mjeseci taj se postotak smanjuje na 50% (La Patra i sur., 1994.). Najvažniji okolišni čimbenik koji utječe na virulenciju je temperatura (Nicholson, 1982.). Bolest se najčešće javlja u proljeće i jesen pri temperaturama između 10 i 12 °C. Iako je uopćeno mišljenje da se bolest ne razvija pri temperaturama iznad 15 °C, opisani su slučajevi bolesti između 2 i 18 °C. Sprječavanje i kontrola bolesti su usmjereni ponajprije na sprječavanje unošenja bolesti i jedini učinkoviti način sprječavanja unošenja bolesti je kontrola kretanja žive rive između uzgajališta (Barlič-Maganja i sur., 2002.).

Dr. sc. Snježana ZRNČIĆ, dr. med. vet., viša znanstvena suradnica, dr. sc. Dražen ORAIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Peter HOSTNIK, dr. med. vet., Veterinarski fakultet, Ljubljana, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija; dr. sc. Sven M. BERGMAN, dr. med. vet., Friedrich-Loeffler-Institut, Državni istraživački institut za zdravlje životinja, Infektološki institut, Greifswald-Insel Reims, Njemačka

Uzgoj salmonidnih vrsta u Hrvatskoj, ponajprije kalifornijske pastrve (*Oncorhynchus mykiss*) i u manjem udjelu potočne pastrve (*Salmo trutta fario*) odvija se kroz 24 uzgajališta s godišnjom proizvodnjom od dvadesetak do nekoliko stotina tona (CROSTAT, 2009.). Znatan je udio punosistemskih uzgajališta što znači da održavaju svoj vlastiti matični plov, proizvode mlađ za vlastite potrebe te uzgajaju ribu do konzumne veličine. Međutim, dio uzgajališta ovisi o mlađu s drugih ribogojilišta ili uvozu oplođene ikre ili mlađa iz inozemstva.

Hrvatska su pastrvska uzgajališta slobodna od značajnih virusnih bolesti, virusne hemoragične septikemije (VHS) i zarazne hematopoetske nekroze (ZHN), koje podliježu prijavi prema svjetskim (OIE, 2010.), europskim (EC, 2006.) i nacionalnim propisima (MPRRR, 2008.). Kontrola zdravstvenog statusa pastrvskih vrsta riba zasniva se na kliničkim pregledima ribe na uzgajalištima, uzorkovanju spolnih produkata, ribe ili ciljanih organa te konačnog laboratorijskog pretraživanja uzoraka na spomenute uzročnike. U proteklom desetljeću nisu izdvojeni uzročnici virusnih bolesti koje podliježu prijavljivanju, a od virusnih bolesti pastrvskih riba u Hrvatskoj je prisutna samo zarazna nekroza gušterače (Oraić i Zrnčić, 2005., Mladineo i sur., 2011.).

Međutim, na jednom uzgajalištu kalifornijske pastrve u Hrvatskoj uočeno je iznenadno uginuće uvezenog mlađa smještenog u izdvojene bazene. Ribe promijenjenog ponašanja su zamijećene uskoro nakon istovara te su uzorci послani na laboratorijske pretrage, a u materijalu oboljelih riba utvrđen je virus zarazne hematopoetske nekroze.

U radu je opisano utvrđivanje pojave zarazne hematopoetske nekroze i mјere koje su provedene s ciljem sprječavanja širenja virusa, parcijalni „Stamping

out“ opisan u OIE Kodeksu za zdravlje akvatičnih životinja (OIE, 2004.).

Materijali i metode

Uzorci ribe

Dva su uzorka mlađa kalifornijske pastrve sakupljena nasumice u karantenskim bazenima u koje su smješteni nakon uvoza dostavljena na laboratorijsku pretragu. Svaki je uzorak sadržavao 30 primjeraka kalifornijske pastrve prosječne težine 26 ($\pm 2,5$) grama.

Nakon izdvajanja i identifikacije virusa zarazne hematopoetske nekroze uzeti su uzorci riba iz svakog bazena na uzgajalištu radi kontrole na prisuće virusa. Kako je na uzgajalištu 12 bazena provedena je kontrola ribe iz svih bazena neposredno nakon uvoza mlađa. Sljedeće uzorkovanje je poduzeto nakon provođenja parcijalnog „stamping-out-a“, a naknadno su provedena još dva uzorkovanja s ciljem utvrđivanja prisuća virusa zarazne hematopoetske nekroze; prvo nakon mjesec dana, a drugo nakon pola godine. Svaki od uzoraka iz 12 bazena sadržavao je 10 riba pretkonzumne ili konzumne kategorije.

Za virusološke su pretrage pripremani „pool“-ovi viscerálnih organa (srca, slezene, bubrega i mozga) od 10 riba (OIE, 2009.) koji su inokulirani na stanične kulture. Organi su homogenizirani i razrijeđeni u otprilike pterostrukim volumenima EMEM-a uz dodatak 10% FBS, 1% antibiotika i Tris-HCl (Invitrogen, Carlsbad, USA), centrifugirani na 5000 rpm kroz 20 minuta na temperaturi od 4 °C. Nadalozi su filtrirani kroz 0,45 μm membranski filter (Millipore, Cork, Irska) i inokulirani na stanične kulture.

Umnažanje i izdvajanje virusa

EPC (*Epithelioma papulosum cyprini*) (Fijan i sur., 1983.) i BF-2 (bluegill fibroblast) (Wolf i Quimby, 1962.) linije

stanica podrijetlom iz EU referentnog laboratorija u Aarhusu, Danska su korištene za umnažanje i izdvajanje virusa. Obje su stanične linije kultivirane u EMEM-u uz dodatak 10% fetalnog telećeg seruma i Tris-HCl. Suspenzije EPC i BF-2 stanica (otprilike 150.000 stanica u 150 µL medija) su raspoređene u dvije 96-jažične mikroploče. Nakon 24 satne inkubacije EPC linija stanica na 24 °C i BF-2 na 21 °C obje su linije inkulirane deseterostrukim serijskim razrjeđenjima uzoraka ribljih organa. Mikroploče su inkubirane na 15 °C i stanice su redovito kontrolirane na pojavu citopatogenog učinka (CPU). Ako se tijekom 7 dana inkubacije CPU nije pojavio materijal je sakupljen i supkultiviran na svježe pripremljene ploče te inkubiran slijedećih 7 dana.

Materijal iz jažica u kojima je uočen CPU sakupljen je i podvrgnut identifikaciji primjenom imunoperoksidaznog testa i RT-PCR-a.

Imunoperoksidazni test

Da bi potvrdili virus zarazne hematopoetske nekroze (ZHNV) proveli smo imunoperoksidazni test tako da smo na 96-jažične mikrotitar ploče s 24 satnim EPC staničnim linijama inkulirali materijal koji je uzrokovao CPU u četiri deseterostruka razrjeđenja. Kada je zamijećen CPU u nultom razrjeđenju, odstranjen je EMEM sa stanica te su one fiksirane 85% acetonom tijekom 30 minuta na -20 °C. Komercijalno dostupna monoklonalna protutijela protiv ZHNV (Biox, Belgija) su dodana u količini od 50 µL u prethodno osušene jažice. Protutijela su razrijeđena u fosfatnoj puferiranoj otopini u omjeru 1:40. Mikrotitar ploče su inkubirane 1 sat na 37 °C. Nakon ispiranja dodan je anti-mišji konjugat (DAKO, Danska) i ploče su ponovno inkubirane 1 sat na 37 °C. Naposlijetu je nakon ispiranja na jažice dodana otopina AEC supstrata (Merck, Njemačka) uz dodatak vodikovog peroksida i ploče su ponovno inkubirane

1 sat na 37 °C. Konačno su isprane i pretražene invertnim mikroskopom.

Ekstrakcija RNK

Ukupna RNK je ekstrahirana primjenom Trizol® Reagent (Invitrogen) prema uputama proizvođača uz male modifikacije. Jedan mL EPC stanične kulture koji je pokazivao 100 % CPU je centrifugiran 20 minuta, na 4000 rpm pri temperaturi od 4 °C (Hettich Centrifuge) da bi se oborio stanični debris. Pelet je ponovno razrijeđen u nadatalogu slobodnom od stanica i izmiješan s 1 mL Trizol® Reagent, lagano protresan tijekom 5 min. i tada preliven s 200 µL kloroform. Suspenzija je ponovno snažnije protresana kroz 30 sec. Nakon toga je postupak nastavljen prema uputama Invitrogen-a.

RT-PCR i potvrđni semi-nested PCR

RT-PCR i semi-nested PCR su provedeni prema modificiranoj metodi Millera i sur. (1998). RT-PCR je proveden korištenjem 2 µg RNK primjenom jednostupanjskog RT-PCR kita (Qiagen) u Eppendorf Mastergradient cycler. Amplikoni (2 µL) iz RT-PCR produkta su korišteni za "semi-nested" PCR da bi potvrdili rezultate RT-PCR-a (Bergmann i sur., 2003.).

Eradikacija bolesti i laboratorijska provjera učinkovitosti

Uvezeni je mlađ odmah nakon što je dijagnosticiran virus zarazne hematopoetske nekroze izlovljen i uništen. Bazeni u kojima je boravila riba temeljito su oprani i dezinficirani Virkonom (Bayer) te ostavljeni da se suše tijekom tjedan dana.

Svi su bazeni ribogojilišta u kojima je boravila konzumna riba izlovljeni i riba prodana za ljudsku ishranu dok su pretkonzumne rive smještene u bazene na kraju ribogojilišta. Manipulacije ribom provođene su s posebnom pozornošću te je oprema između korištenja u dva različita bazena uvijek dezinficirana Virkonom.

Rezultati

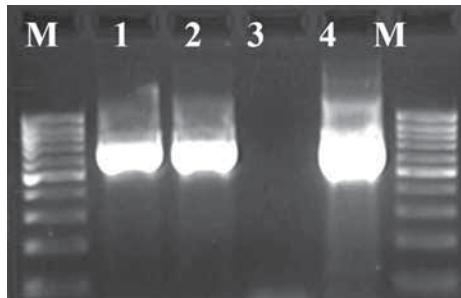
Izdvajanje ZHNV virusa iz uzorka riba te identifikacija imunoperoksidaznim testom

Dva uzorka uvezenog mlađa kalifornijske pastrve testirana su na prisutne virusa koji podliježu obvezi prijavljivanja, virus virusne hemoragične septikemije i virus zarazne hematopoetske nekroze. U oba je uzorka utvrđen CPU koji je bio izraženiji na EPC linijama stanicama, a daljnjim provođenjem imunoperoksidaznog testa identificiran je virus zarazne hematopoetske nekroze. Nakon prvog izdvajanja virusa ZHN iz uzorka uvezenih na uzgajalište, provedena je pretraga uzorka pretkonzumnih riba iz svih bazena uzgajališta ($n=12$) predmetnog ribogojilišta te je 8/12 uzorka izazvalo CPU na staničnim kulturama. Imunoperoksidaznim testom je u svih 8 pozitivnih uzorka identificiran virus zarazne hematopoetske nekroze.

U 12 pretraženih uzorka sakupljenih mjesec dana nakon „stamping-out“ bila su 2/12 pozitivna na ZHNV, dok su nakon 6 mjeseci svi pretraženi uzorci bili negativni na ZHNV.

RT-PCR i „semi-nested PCR“

Ukupna RNK izdvojena je iz nadtaloga s EPC staničnih linija s



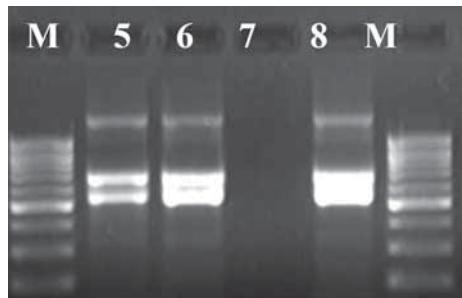
Slika 1. Agarozni gel koji pokazuje nalaz virusa zarazne hematopoetske nekroze u nadtalogu stanične kulture RT-PCR-om. M kolone - markeri (100 bp, Peqlab); kolona 1 i 2 - materijal iz riba koji je izazao CPU na staničnim kulturnama; kolona 3 - negativna kontrola; kolona 4 - pozitivna kontrola (njemački izolat virusa ZHN)

izraženim CPU, a inficiranih virusom zarazne hematopoetske nekroze. RNK je podvrgнутa RT-PCR i „semi-nested PCR“ umnažanju korištenjem nukleotidnih početnica specifičnih za G-gen. Rezultat RT-PCR je potvrdio identifikaciju virusa ZHN u nadtalogu sa stanične kulture, a kao pozitivna kontrola je korišten njemački izolat istog virusa (Slika 1.). Identičan je rezultat postignut primjenom „semi-nested PCR“-a (Slika 2.).

Rasprijava

U proteklih desetak godina nije bilo kliničkih pojava znakova virusnih bolesti koje podliježu obvezi prijavljivanja u uzgoju pastrvskih vrsta riba u Hrvatskoj. Ti su rezultati dokumentirani rezultatima pretraga u okviru kontrole virusnih bolesti na uzgajalištima propisanih Naredbom. Pretraživanja su provođena prema postupcima za utvrđivanje i identifikaciju virusa Zarazne hematopoetske nekroze i Virusne hemoragične septikemije propisanih u dijagnostičkom priručniku OIE-a. Oba virusa su značajni uzročnici bolesti u uzgoju pastrvskih vrsta riba i uzrokuju velike materijalne štete (Einer-Jensen i sur., 2002.). Jedina metoda kontrole bolesti je sprječavanje širenja zarazne bolesti kontrolom širenja virusa.

Kao što se pokazalo u ovoj epizodi izbijanja zarazne hematopoetske nekroze



Slika 2. Agarozni gel koji pokazuje nalaz virusa zarazne hematopoetske nekroze u nadtalogu stanične kulture „semi-nested“ PCR-om. M kolone - markeri (100 bp, peqlab); kolona 1 i 2 - materijal iz riba koji je izazao CPU na staničnim kulturnama; kolona 3 - negativna kontrola; kolona 4 - pozitivna kontrola (njemački izolat virusa ZHN)

nekroze, trgovina živom ribom predstavlja veliku opasnost u širenju bolesti i samo certifikati nisu potpuna garancija da je uvezena riba slobodna od virusa. Stoga je nužno poboljšati mјere kontrole bolesti temeljem planova uzorkovanja koji propisuju vrijeme i način uzorkovanja te dijagnostičke postupke da bi ustvrdio vjerodostojan zdravstveni status ribe koja se transportira u područje slobodno od virusnih bolesti.

Nadalje, poznato je da je transport stresan za ribu. Odavno je opisano da su kalifornijske pastrve izložene stresu razvile žeće simptome zarazne hematopoetske nekroze nakon eksperimentalne infekcije istim titrom virusa nego one koje nisu bile izložene stresu (Herrick i sur., 1979.).

Cini se da je metoda „djelomičnog stamping out“-a učinkovita, jer su svi pretraženi uzorci riba s navedenog ribogojilišta bili negativni na prisutne virusa zarazne hematopoetske nekroze.

Usprkos žurnu provedenim mјerama, ribogojilište je pretrpilo ekonomski gubitak i još uvjek nije isključena mogućnost ponovnog izbijanja bolesti. Ponekad su tradicionalne dijagnostičke metode pretraživanja nedovoljno osjetljive da utvrde virus u supklinički/latentno zaraženih riba (Miller i sur., 1998.). Molekularni su testovi osjetljiviji od tradicionalnih metoda i mogu biti vrlo korisni za detekciju virusa koji bi mogli izazvati pojavu bolesti odnosno, sprječiti njeno širenje (Barlič-Maganja i sur., 2002.). Osim toga, molekularnim je metodama moguće ustvrditi i prisutne virusnih čestica te se na taj način može sprječiti unos virusnog uzročnika ribom koja se unosi u područje ili uzbunjalište slobodno od bolesti.

Sažetak

Zarazna hematopoetska nekroza (ZHN) je akutna virusna bolest od koje obolijevaju mlađi i starije kategorije različitih salmonidnih vrsta riba s mortalitetima koji sežu i do 90%. Uzročnik, virus roda *Novirhabdovirus* iz skupine *Rhabdoviridae* izaziva opsežne nekroze hematopoetskog tkiva te je bolest nazvana zarazna hematopoetska nekroza. Bolest podliježe obvezi prijavljivanja prema

globalnim, europskim i hrvatskim propisima. U Hrvatskoj je na snazi program kontrole virusnih bolesti riba (VHS i ZHN) i tijekom posljednjih 10 godina nije bilo pozitivnih uzoraka. Međutim, tijekom karantene uvezenog pastrvskog mlađa uočeni su znakovi bolesti u ribogojilištima u Hrvatskoj. Laboratorijskim pretraživanjima uzročnik izdvojen na EPC and BF2 staničnim kulturama, identificiran imunoperoksidaznim testom I potvrđen RT-PCR i semi-nested PCR. Na uzbunjalištu je proveden parcijalni „stamping-out“ i primjenom dezinfekcije, zootehničkih mјera i učestalih laboratorijskih pretraga uspjelo je sprječiti širenje bolesti te su nakon deset mjeseci rezultati pretraživanja na ZHN virus bili negativni. Raspravljena je potreba temeljitijih pretraživanja uzoraka riba prije uvoza u područja slobodna od virusnih bolesti.

Literatura

- AMEND, D. F., W. T. YASUTAKE and R. W. MEAD (1969): A hematopoietic virus disease of rainbow trout and sockeye salmon. Trans. Am. Fish. Soc. 98, 796-804.
- BARLIČ-MAGANJA, D., M. ŠTRANCAR, P. HOSTNIK, V. JENČIĆ and J. GROM (2002): Comparison of the efficiency and sensitivity of virus isolation and molecular methods for routine diagnosis of infectious haematopoietic necrosis virus and infectious pancreatic necrosis virus. J. Fish. Dis. 25, 73-80.
- BAUDIN-LAURENCIN, F. (1987): IHN in France. Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol. 7, 104.
- BERGMANN, S. M., D. FICHTNER, H. F. SKALL, H.-J. SCHLOTFELDT, N. J. OLESEN (2003): Age- and weight-dependent susceptibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to isolates of infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) of varying virulence. Dis. Aquat. Org. 55, 205-210.
- BOOTLAND, L. M. and J. C. LEONG (1999): Infectious haematopoietic necrosis virus. In: Fish Diseases and Disorders, Vol. 3 (ed. by P.T.K. Woo & D.W.Bruno), pp. 57-121. CAB International, UK.
- BOVO, G., G. GIORGETTI, P. E. V. JORGENSEN and N. J. OLESEN (1987): Infectious haematopoietic necrosis: first detection in Italy. Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol. 7, 124.
- CROSTAT (2009): Statistički ljetopis. Zagreb, Hrvatska.
- EC (2006): Council Directive 2006/88/EC on animal health requirements for aquaculture animals and products thereof, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals. Official Journal of the European Union, 328, 14.
- EINER-JENSEN, K., H. BJORKLUND, SORESHKOVA, I. SCHELKUNOV, T. VESELY and N. LORENZEN (2002): Detection and typing of fish viruses. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 22, 158-165.
- FIJAN, N., D. SULIMANOVIC, M. BEARZOTTI, D. MUZINIC, L.O. ZWILLENBERG, S. CHILMONCZYK, J. F. VAUTHEROT and P. DE KINKELIN (1983): Some properties of the epithelioma papulosum cyprinid (EPC) cell

- line from carp (*Cyprinus carpio*). *Annal. Virol.* (Institute Pasteur) 134E, 207-220.
11. HETRICK, F.M., M.D.KNITTEL and J.L.FRYER (1979): Increased Susceptibility of Rainbow Trout to Infectious Hematopoietic Necrosis Virus After Exposure to Copper. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 198-201.
 12. HILL, B. (1992): Impact of viral diseases of salmonid fish in the European community. In: KIMURA T. (ed.) *Proceedings of International Symposium on Salmonid Diseases*. Hokaido University Press, Sapporo, Japan, pp. 48-59.
 13. LAPATRA S. E., K. A. LAUDA and G. R. JONES (1994): Antigenic variants of infectious hematopoietic necrosis virus and implications for vaccine development. *Dis. Aquatic. Org.* 20, 119-126.
 14. MILLER, T. A., J. RAPP, U. WASTLHUBER, R. W. HOFFMANN and P.-J. ENZMANN (1998): Rapid and sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction based detection and differential diagnosis of fish pathogenic rhabdoviruses in organ samples and cultured cells. *Dis. Aquat. Org.* 34, 13-20.
 15. MLADINEO, I., S. ZRNČIĆ, I. LOJKIĆ, D. ORAIĆ (2011): Molecular identification of a new strain of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in a Croatian rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farm. *J. Appl. Ichthyol.* 27, 1165-1168.
 16. MULCAHY, D., R. J. PASCHO, C. K. JENES (1983): Titre distribution patterns of infectious haematopoietic necrosis virus in ovarian fluids of hatchery and feral salmon populations. *J. Fish Dis.* 6, 183-188.
 17. Naredba o mjerama zaštite od zaraznih i nemetničkih bolesti u njihovom finansiranju u 2009. godini. NN, 157/2008.
 18. NICHOLSON, B.L. (1982): Infectious hematopoietic necrosis (IHN). In: *Antigens of Fish Pathogens: Development and Production for Vaccines and Serodiagnostics*. Symposium International de Talloires, May 10-12, 1982. Collection Foundation Marcel Merieux, France, pp. 63-79.
 19. OIE (2004): *Aquatic Animal Health Code*. 7th edition. Office International Des Epizooties, Paris, France.
 20. OIE (2009): *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*. 6th edition. Office International Des Epizooties, Paris, France.
 21. OIE (2010): *Aquatic Animal Health Code*. 13th edition. Office International Des Epizooties, Paris, France.
 22. ORAIĆ, D. and ZRNČIĆ (2005): An Overview of Health Control in Croatian Aquaculture. *Vet. Res. Comm.* 29 (Suppl. 2), 139-142.
 23. Pravilnik o uvjetima zdravlja životinja koji se primjenjuje na životinje akvakulture i njihove proizvode te spriječavanju i uzbijanju određenih bolesti akvatičnih životinja. NN, 42/2008.
 24. RUCKER, R. R., W. J. WHIPLE, J. R. PARVIN and C. A. EVANS (1953): A contagious disease of salmon, possibly of virus origin. *U.S. Fish. Wild. Serv. Fish. Bull.* 54, 35-46.
 25. SANO, T., T. NISHMURA, N. OKAMOTO, T. YAMAZAKI, H. HANADA and Y. WATANABE (1977): Study on viral diseases of Japanese fishes. VI. Infectious haematopoietic necrosis (IHN) of salmonids in the mainland of Japan. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* 63, 81-85.
 26. WOLF, K. (1988): Infectious hematopoietic necrosis. In: *Fish Viruses and Fish Virus Diseases* (ed. by K. WOLF), pp. 83-114. Cornell University Press, Ithaca, New York.
 27. WOLF, K. and M. C. QUIMBY (1962): Established eurythermic line of fish cells. *In Vitro Sci.* 135, 1065-1066.

Infectious hematopoietic necrosis of rainbow trout at Croatian farm: diagnostics and eradication

Snježana Zrnčić, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Dražen Orać, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Peter Hostnik, DVM, PhD, University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Ljubljana, Slovenia; Sven M. Bergman, DVM, PhD, Friedrich-Loeffler-Institut, Federal Research Institute for Animal Health, Institute for Infectiology, Greifswald-Insel Reims, Germany

Infectious hematopoietic necrosis (IHN) is a viral disease caused by a rhabdovirus from the Novirhabdovirus genus that affects the fry and fingerlings of economically important salmonids, with mortalities of up to 90%. The disease is characterized by extensive necrosis of haematopoietic tissues and the name of disease derives from the main feature of the disease. This is a notifiable disease according to the OIE, EU and Croatian law. A national programme for notifiable disease control (VHS & IHN) is in place in Croatia and during the past 10 years, there have been no positive findings. Apart from these results, there was an occurrence of infectious haematopoietic necrosis in imported rainbow trout fry held

in a quarantine facility at one farm. The IHNV was isolated in EPC and BF2 cell cultures, identified by the immunoperoxidase test and confirmed by RT-PCR and semi-nested PCR. Partial stamping out was performed at the rainbow trout farm, and the remaining fish were subjected to continuous control for the presence of the virus. It appears that the partial stamping out method was successful, as the results of virological examination of the samples from all categories of rainbow trout at this farm were negative ten months later. However, the issue arises concerning the application of the proper diagnostic, due to the fact that the imported fish were certified as IHNV free.

Učestalost pojedinih uzročnika mastitisa u Republici Hrvatskoj u 2008. i 2009. godini

Martina Karadjole, M. Knežević, M. Benić, N. Maćešić, G. Bačić,
T. Karadjole, Iva Getz, D. Đuričić i M. Samardžija



Uvod

Mastitis, unatoč prevenciji i dostupnosti antibiotskih pripravaka na tržištu, zauzima glavno mjesto u problematici liječenja na farmama mlijecnih krava i nanosi velike ekonomске gubitke mlijekoindustriji (Maćešić, 2010.). Gubitci se očituju kroz povećanje troškova proizvodnje i smanjenu produktivnost, odnosno mlijecnost. Glavni su problem loši zoohigijenski uvjeti te održavanje muznih strojeva.

Mastitis je upala parenhima mlijecne žlijezde koja nastaje rastom i razmnožavanjem patogenih mikroorganizama prispjelih preko sisnog kanala (Cergolj i sur., 1998.). Dosadašnja istraživanja spominju više od 130 različitih vrsta ili podvrsta mikroorganizama izdvojenih iz mlijecne žlijezde (Watts, 1988., Benić, 2004.). Prema epidemiologiji, uzročnici mastitisa dijele se na: kontagiozne mikroorganizme i uvjetovane ili mikroorganizme iz okoliša (Radostits i sur., 2007., Bačić, 2009.). Najznačajniji kontagiozni uzročnici su *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* te rijđe *Mycoplasma bovis*.

Staphylococcus aureus se smatra najčešćim uzročnikom mastitisa diljem svijeta, a u pojedinim stadima infekcija je zastupljena između 50-95% (Sandholm i sur., 1995., Bačić, 2009.). Najvažniji su izvor uzročnika unutar stada kronično inficirana mlijeca žlijezda, koloniziran sisni kanal i lezije sisa (Roberson, 1999.). Zbog teških oštećenja parenhima vimena i smanjene mlijecnosti, mastitisi uzrokovani ovim mikroorganizmom nanose najveće ekonomске gubitke u mlijekoindustriji. *Streptococcus agalactiae* je vrlo kontagiozan uzročnik, a najčešće se prenosi tijekom mužnje. Raste i razmnožava se isključivo u vimenu zaražene krave. Najčešće uzrokuje subkliničke ili blage kliničke mastitise, ali kada se krava jednom inficira mikroorganizam perzistira u mlijecnom sinusu uzrokujući oštećenja žlezdanog dijela vimena (Bačić, 2009.). Kao jedan od najznačajnijih uzročnika mastitisa novijeg doba sve se češće spominje i *Mycoplasma bovis*. Mastitis izazvan ovim uzročnikom vrlo je kontagiozan, a liječenje neuspješno pa su gubitci u proizvodnji mljeka

Martin KNEŽEVIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Veterina d.o.o., Nova Gradiška, dr. sc. Miroslav BENIĆ, viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, viši znanstveni suradnik, Veterinarska stanica Đurđevac; dr. sc. Martina KARADJOLE, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Nino MAĆEŠIĆ, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Tugomir KARADJOLE, dr. med. vet., docent, dr. sc. Iva GETZ, dr. med. vet., izvanredni profesorica, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

znantni. Uvjetovane mastitise uzrokuju mikroorganizmi koji obitavaju u okolišu životinje. Najvažnije su bakterije iz rodova *Escherichia* i *Streptococcus*. Budući da su ovi uzročnici ubikvitarni, sposobni su preživjeti izvan vimena i prouzročiti infekciju kada se stvore povoljni uvjeti za njihovo razmnožavanje poput: loših higijenskih uvjeta, neispravne muzne opreme, ozljede sisa ili oslabljenog imuniteta (Radostits i sur., 2007.).

Svrha ovog rada je prosudba učestalosti pojavljivanja pojedinih mikroorganizama, uzročnika mastitisa, u sekretu vimena krava tijekom dvogodišnjeg perioda na području Republike Hrvatske.

Materijal i metode

Na osnovi godišnjih izvješća o rezultatima bakterioloških pretraga koje su provedene u Hrvatskom veterinarskom institutu u Zagrebu (HVI), dobiveni su podaci o učestalosti pojedinih uzročnika mastitisa u Republici Hrvatskoj. U razdoblju od 01. 01. 2008. do 31. 12. 2009. prikupljeni su uzorci sekreta vimena krava te je izvršena bakteriološka pretraga sekreta vimena prikupljenih od raznih proizvođača mlijeka u Republici Hrvatskoj. Prema godišnjim izvješćima Hrvatskog veterinarskog instituta, u

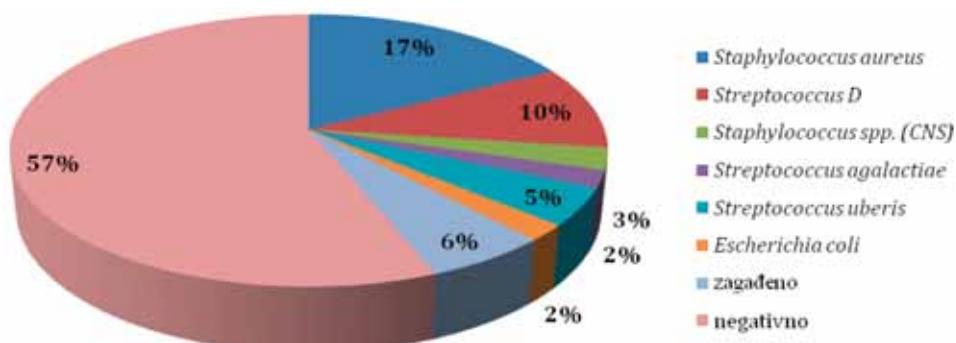
2008. godini prikupljeno je i obrađeno 13 313 uzoraka, a u 2009. godini prikupljeno je 10 969 uzorka sekreta vimena krava. Svi uzorci pretraženi su u Laboratoriju za mastitise i kakvoču sirovog mlijeka Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu.

Rezultati

Bakteriološkim pretragama provedenima tijekom 2008. godine na 13 313 uzoraka sekreta vimena krava, iz njih 43,43% izdvojen je neki od uzročnika mastitisa. Tijekom 2009. godine pretraženo je 10 969 uzorka, a postotak pozitivnih iznosi je 41,30%.

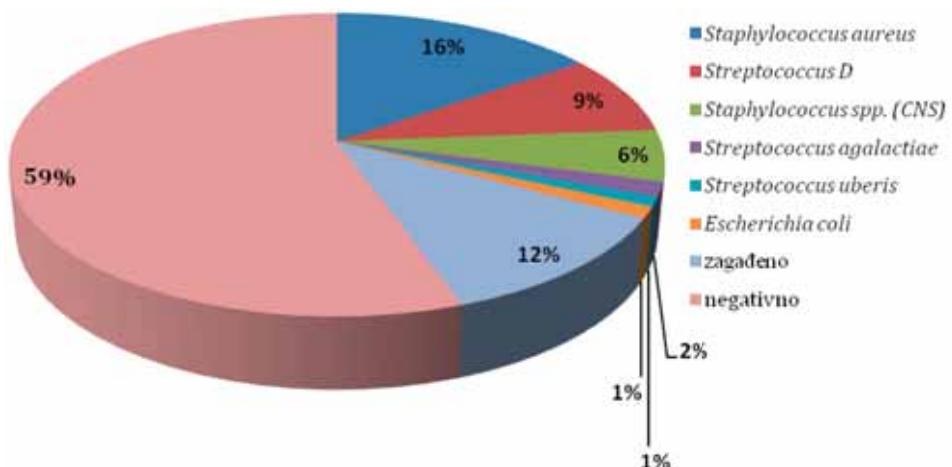
Rezultati bakteriološke pretrage dokazali su da je u Republici Hrvatskoj tijekom 2008. godine najzastupljeniji među izoliranim uzročnicima bio *Staphylococcus aureus* prisutan u 17,54% ispitivanih uzoraka. Slijedi ga *Streptococcus* serološke skupine D (10,05%), dok je udio ostalih uzročnika bio manji od 5% (Grafikon 1). Isto je i u 2009. godini, kada je *Staphylococcus aureus* bio prisutan u 16,24% uzoraka, a *Streptococcus* serološke skupine D u 9,08% uzoraka (Grafikon 2).

Usporedba pojavnosti pojedinih uzročnika mastitisa u Republici Hrvatskoj tijekom 2008. i 2009. godine prikazana je na grafikonu 3.

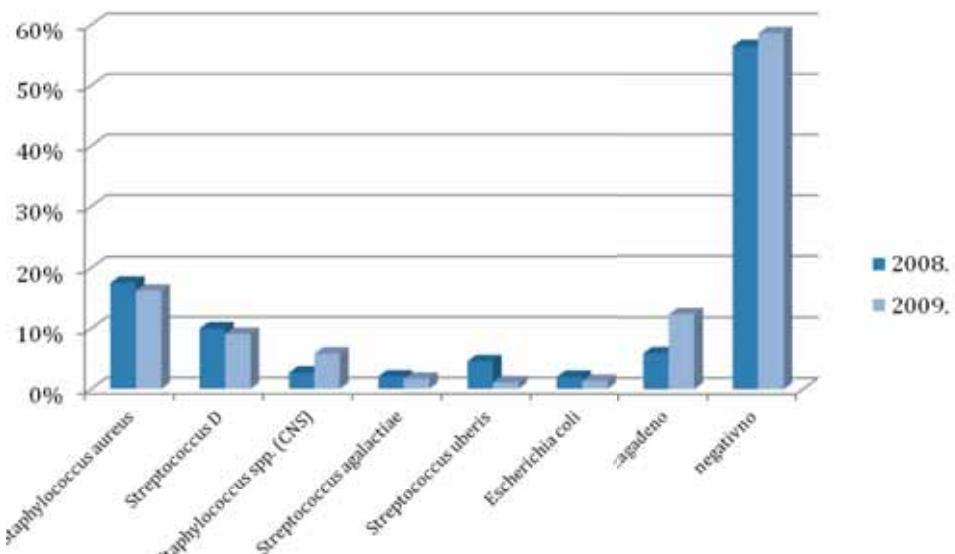


Grafikon 1. Učestalosti pojavljivanja pojedinih uzročnika mastitisa u sekretu vimena krava tijekom 2008. godine.

Učestalost pojedinih uzročnika mastitisa u Republici Hrvatskoj u 2008. i 2009. godini



Grafikon 2. Učestalosti pojavljivanja pojedinih uzročnika mastitisa u sekretu vimena krava tijekom 2009. godine.



Grafikon 3. Usporedba pojavnosti pojedinih uzročnika mastitisa u Republici Hrvatskoj tijekom 2008. i 2009. godine.

Rasprava

Mastitis danas predstavlja važnu ekonomsku stavku i glavni zdravstveni, a time i ekonomski problem. Unatoč naporima znanstvenika, mastitis ostaje najskuplja bolest mlijecnih krava (Bradley, 2002.). Troškovi mastitisa iznose

više od 6% vrijednosti same proizvodnje mlijeka. Ti se troškovi ponajprije odnose na smanjenu proizvodnju mlijeka, što čini čak 70% ukupnih troškova mastitisa. Mastitis je multikauzalna bolest koja nastaje kao rezultat interakcije između mikroorganizama, domaćina i okoliša. Rizik pojave mastitisa ovisi o sposobnosti

obrambenog mehanizma mlječne krave da se prilagodi uvjetima iz okoliša te ovrsti i patogenosti mikroorganizma (Mačešić, 2010.). Najčešći uzročnici mastitisa su bakterije. Kao što je vidljivo u tablicama, većinom u pretraženom sekretu vimena krava dominira bakterija *Staphylococcus aureus*, a slijedi ju *Streptococcus* serološke skupine D. Prema godišnjim izvješćima Hrvatskog veterinarskog instituta, najčešći uzročnik subkliničkih mastitisa bio je *Staphylococcus aureus*. Tako je u vremenu od 1990.-2002. godine *Staphylococcus aureus* jedan od najčešće izoliranih patogenih uzročnika u sekretu vimena krava (Topolko i Benić, 1997., Benić, 2003.). Rekssen i sur. (2006.) pronašli su *Staphylococcus aureus* kao prevladavajućeg uzročnika kliničkih mastitisa u Norveškoj s učestalošću od 47%. Prema drugom istraživanju, u istoj je zemlji u 95% uzoraka mlijeka iz 178 mljekara izoliran *Staphylococcus aureus*, a u prevalenciji se pojavljuje u 18% slučajeva (Whits i sur., 2007.). U Republici Hrvatskoj ovaj se uzročnik pojavljuje u 17,5%, odnosno 16,2% pretraženih uzoraka u 2008. i 2009. godini. Istraživanje u Danskoj pokazalo je da je između 21 i 70% svih krava inficirano bakterijom *Staphylococcus aureus*. Mačešić (2010.) navodi da je uzročnik izoliran iz 32,8% krava prije zasušenja. Osim u Europi, *Staphylococcus aureus* najučestaliji je uzročnik mastitisa i u SAD-u, a slični su rezultati potvrđeni i u Kanadi (Bouchard i sur., 2006.). Spomenuti autori su proveli istraživanje na ukupno 476 farmi i dokazali da je među izoliranim uzročnicima najučestaliji *Staphylococcus aureus*. Slične rezultate spominje i Baćić (2009.) navodeći da je prema mnogim istraživanjima ovaj uzročnik odgovoran za infekcije u 50 do 95% slučajeva. Mastitis uzrokovan ovim uzročnikom oštećuje parenhim vimena i uzrokuje smanjenu mlječnost i do 50%. Upravo zato *Staphylococcus aureus* predstavlja jedan od najvećih problema mlječne industrije.

Od ostalih kontagioznih uzročnika mastitisa spominje se i *Streptococcus agalactiae*. Tijekom 2008. i 2009. godine ovaj se uzročnik pojavio u 2,06% i 1,66% uzoraka sekreta vimena. U Hrvatskoj se u razdoblju od 1990.-2002. godine pojavljivao u 1,4-4,2% slučajeva, što se podudara s rezulatima drugih autora.

Stada mlječnih krava u kojima su kontagiozni mastitisi pod kontrolom, često imaju veliku učestalost kliničkih mastitisa uzrokovanih uvjetovanim ili okolišnim uzročnicima. Većina okolišnih uzročnika pripada rodu *Streptococcus* (osim *S. agalactiae*) i koliformnim bakterijama. Prema godišnjim izvješćima HVI, najučestaliji okolišni uzročnik bio je *Streptococcus* serološke skupine D. Ovaj je uzročnik izoliran u 2008. godini u 10%, a u 2009. godini u 9% uzoraka. Od ostalih okolišnih uzročnika treba spomenuti da je *Streptococcus uberis* izoliran iz 4,56% (2008. godina) i 1,08% (2009. godina) uzoraka, a *Escherichia coli* iz 1,98 i 1,31% uzoraka. Ovi uzročnici mogu uzrokovati i epizootije većih razmjera pa su Pankley i sur. (1996.) izolirali uzročnika *Streptococcus uberis* iz 12,2% uzoraka u prvih 5 dana laktacije. U skandinavskim zemljama je oko 20% kliničkih mastitisa uzrokovano koliformnim bakterijama, od čega 85% otpada na *E. coli* (Sandholm i sur., 1995.). Infekcije okolišnim mikroorganizmima najčešće se pojavljuju krajem suhostaja i u ranoj laktaciji kada je imunološki sustav životinje oslabljen (Smith i sur., 1985.). Otpornost krave, a osobito zdravog sisnog kanala važna je u kontroli okolišnih streptokoka (Hogan i Smith, 1992.). Povećanoj prisutnosti okolišnih mikroorganizama pogoduju prenapučene štale, mokra i prljava ležišta, loša priprema vimena za mužnju, ozljede sisa i neispravni muzni uređaji (Barkema i sur., 1998.).

Iz dobivenih se rezultata može zaključiti da su najčešće izolirani uzročnici iz sekreta vimena krava u RH tijekom 2008. i 2009. godine *Staphylococcus*

aureus i *Streptococcus* serološke skupine D. Uzroke česte pojave mastitisa na farmama mlijecnih krava u Hrvatskoj treba tražiti u lošoj higijeni smještaja muznih krava, lošoj higijeni mužnje i osobnoj higijeni muzača. Kako većina uzročnika mastitisa živi i razmnožava se u okolišu životinje, preventivnim mjerama potrebno je smanjiti mogućnost ulaska mikroorganizama kroz sisni kanal u samo vime. Kako bi smanjili i samu pojavnost mastitisa potrebno je smanjiti broj ostalih mikroorganizama koji se mogu prenjeti preko ruku muzača, neredovitom ili nepravilnom higijenom vimena i muznim uređajem. Potrebno je redovito provjeravati broj somatskih stanica u stajskom uzorku, što je i zakonska obveza, ako se mlijeko u bilo kojem obliku stavlja u javni promet. Redovito uzimanje uzoraka mlijeka za bakteriološku pretragu sprječava pojavu mastitisa uzrokovanih bakterijama *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* i *Streptococcus* serološke skupine D, kao i ostalih mikroorganizama, budući da omogućava ciljanu terapiju na temelju antibiograma. Prepoznavanje mastitisa moguće je samo kod redovitih analiza i praćenjem događaja na farmi pri čemu je na vrijeme moguće prepoznati rizične čimbenike povezane s nastankom mastitisa. Samo na vrijeme prepoznat mastitis i pravovaljana terapija obećavaju dobar ishod bolesti.

Sažetak

Cilj je ovog rada prosudba učestalosti pojavljivanja pojedinih mikroorganizama, uzročnika mastitisa u sekretu vimena krava tijekom dvogodišnjeg razdoblja. Podatci o učestalosti pojedinih uzročnika mastitisa prikazani u radu dobiveni su na osnovi godišnjih izvješća o rezultatima bakterioloških pretraga provedenih u Hrvatskom veterinarskom institutu u Zagrebu i odnose se na razdoblje od 01.01.2008. godine do 31.12.2009. godine. Prema rezultatima

bakterioloških pretraga najčešći uzročnik mastitisa krava je *Staphylococcus aureus* (16,2% - 17,5%), a u značajnijim postotcima još se pojavljuju *Streptococcus* serološke skupine D (9,1-10,1%) i *Staphylococcus* spp. (CNS) (2,7-5,8%). Ostali uzročnici manje su zastupljeni i izdvojeni su iz manje od 5% pretraženih uzoraka. Uzroke česte pojave mastitisa na farmama mlijecnih krava u Hrvatskoj treba tražiti u lošoj higijeni smještaja muznih krava, lošoj higijeni mužnje i osobnoj higijeni muzača.

Literatura

1. BAČIĆ, G. (2009): Dijagnostika i liječenja mastitisa u goveda. Ur. G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, S. VINCE. Veterinarski fakultet sveučilišta u Zagrebu. 29-42.
2. BARKEMA, H. W., Y. H SCHUKKEN, T. J. G. M. LAM, M. L. BEIBOER, H. WILMINK, G. BENEDICTUS and A. BRAND (1998): Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 81, 411-419.
3. BENIĆ, M. (2003): Mikrobioloski nalazi uzročnika upala mlijecne žlezde. *Veterinarski dani 2003.* Šibenik, Zbornik radova 125-131.
4. BENIĆ, M. (2004): Vrste stanica u sekretu vimena s mastitismom uzrokovanim streptokokima i stafilocokokima, Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
5. BOUCHARD, E., P. ROY, D. DU TREMBLAY (2006): Mastitis and milk culture. Proceedings of 24th buiatrics congress. Nice, France. pp. 216-224.
6. BRADLEY, A. J. (2002): Bovine mastitis: An evolving disease. *Vet. J.* 164, 116-128.
7. CERGOLJ, M., A. TOMAŠKOVIĆ i Z. MAKEK (1998): Pregled i mužnja vimena krave. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
8. HOGAN, J. S. and K. L. SMITH (1992): Creating a quality environment: bedding. Proceedings of National Mastitis Council, 23-25th January. Madison, Wisconsin, United States of America. pp. 201-203.
9. MAČEŠIĆ, N. (2010): Učinkovitost pojedinih metoda zasuvanja krava. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
10. PANKEY, J. W., P. B. PANKEY, R. M. BARKER, J. H. WILLIAMSON and M. W. WOOLFORD (1996): The prevalence of mastitis in primiparous heifers in eleven Waikato dairy herds. *Nz. Vet. J.* 44, 41-44.
11. RADOSTITS, O. M., C. C. GAY, W. HINCHCLIFF and P. D. CONSTABLE (2007): Mastitis. In: *Veterinary Medicine. Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses.* 9th ed. (RADOSTITS, O. M., C. C. GAY, W. HINCHCLIFF, P. D. CONSTABLE, eds.), Saunders Ltd. Philadelphia. pp. 603-700.

12. REKSSEN, O., L. SOLVEROD, A. J. BRANSCUM and O. OSTERAS (2006): Relationships between milk culture results and treatment for clinical mastitis or culling in Norwegian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89, 2928-2937.
13. ROBERSON, J. R. (1999): The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* on Dairy Farms. Proceedings of National Mastitis Council Meeting, 14-17th February. Arlington, Virginia, United States of America, pp. 38-45.
14. SANDHOLM, M., T. HONKANEN-BUZALSKI, L. KAARTINEN and S. PYORALA (1995): The Bovine Udder and Mastitis. (SANDHOLM, M., T. HONKANEN-BUZALSKI, L. KAARTINEN, S. PYORALA, eds.). Gummerus Press. Jyvaskyla, Finland. pp. 75-103.
15. SMITH, K. L., D. A. TODHUNTER and P. A. SHOENBERGER (1985): Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. *J. Dairy Sci.* 68, 402-417.
16. TOPOLKO, S. i M. BENIĆ (1997): Aktualni problemi i epizootiološko stanje subkliničkih mastitisa u minifarmskoj proizvodnji mlijeka. *Praxis vet.* 45, 69-76.
17. WATTS, J. L. (1988): Etiology agents of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 16, 41-66.
18. WHITS, A., C. O. OSTARES and L. OVEROD (2007): Prevalence of staphylococcus species in four dairy herds. *Vet. Sci.* 41, 1-4.

The frequency of individual mastitis-causing microorganisms in the Republic of Croatia in 2008 and 2009

Martin KNEŽEVIĆ, DVM, Veterinary practice Veterina d.o.o., Nova Gradiška; Miroslav BENIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Dražen ĐURIĆIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Veterinary Practice Đurđevac; Martina KARADJOLE, DVM, PhD, Senior Assistant, Nino MAČEŠIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Goran BAĆIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Tugomir KARADJOLE, DVM, PhD, Assistant Professor, Iva GETZ, DVM, PhD, Associate Professor, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The aim of this paper is to describe the occurrence pattern of mastitis-causing microorganisms isolated from bovine udder secretion during a two year period (from 1 January 2008 to 31 December 2009). The data concerning the frequency of isolation of different mastitis pathogens were gathered from the annual reports of the Croatian Veterinary Institute in Zagreb. According to the results of bacteriological examination of cow udder secretion samples, *Staphylococcus aureus* was

the most frequently isolated pathogen (16.2–17.5%). Furthermore, group D streptococci were isolated from 9.1 to 10.1% of examined samples and *Staphylococcus* spp. (CNS) from 2.7–5.8% of samples. Other pathogens were less commonly isolated (< 5%). Poor zoohygienic management, weak milking hygiene and poor milker hygiene practices should be highlighted as the reason for the high prevalence of mastitis in Croatia.

Zahvale

Autori se zahvaljuju Laboratoriju za mastitise i kakvoću sirovog mlijeka Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu na ustupljenim podatcima korištenim u ovom istraživanju.

Za uporabu u veterinarskoj medicini

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil® Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

antibakterijski lijek za sustavne infekcije
fluorokinolon, enrofloksacin za goveda i svinje

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

Svinja: Lječenje dišnih infekcija svinje koje uzrokuju bakterije *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* i *Bordetella bronchiseptica*, kao i liječenje MMA-sindroma u krmaca 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.

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

Hyaka, 3/2010, 2010-1702, NGZ/MP

Detaljnije informacije možete dobiti od proizvođača:
KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/lI, p.p. 205, Zagreb 10002
www.krka-farma.hr

 KRKA

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

Dezinficijens i opći biocidni pripravak

Ecocid® S

SIGURAN I DJELOTVORAN

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



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

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



Nala inovativnost i znanje posvećeni su zdravlju. Zbog toga naša odlučnost, usmjerenost i takstvo zajedno doprinose jednom cilju - razvoju djelotvornih i neškodljivih proizvoda vrhunske kvalitete.

Utjecaj pasmine, načina držanja i spola teleta na duljinu trajanja gravidnosti i vrijeme porođaja u goveda

Robert Zobel, Ivana Pipal i Vlatka Buić



Uvod

Trajanje gravidnosti u goveda kao i mogućnost određivanja točnog vremena porođaja zaokupljaju pažnju znanstvene zajednice gotovo cijelo stoljeće. Dugi niz godina smatralo se da je prosječno trajanje gravidnosti u goveda 283 dana (Livesay i Bee, 1945.). Pasmina i križanje pasmina imaju značajan utjecaj na trajanje gravidnosti te je tako, primjerice, u Hereford pasmine prosječno trajanje gravidnosti 289 dana, a u Aberdeen Angus pasmine 272,8 dana. Istodobno, u križanaca Hereford i Aberdeen Angus pasmine prosječno je trajanje gravidnosti 281,4 dana (Rife i sur., 1943.). Fuller i First (1983.) navode kako duljina trajanja gravidnosti u goveda varira od 270 do 292 dana, a što prije svega ovisi o broju plodova, pasminu i spolu fetusa. Pasmina, blizanci, spol teleta, broj teljenja majke i doba dana kada se gonjenje pojavilo imaju utjecaja na dužinu trajanja gravidnosti i vrijeme porođaja, dok mjesec oplodnje nema nikakvog utjecaja (Foote, 1981.). Pored vremena i načina osjemenjivanja, postoje i naznake kako i sezona parenja (osjemenjivanja), hranidba, držanje, socijalni status, stres, dob i broj teljenja

imaju ulogu na spol teleta, vrijeme porođaja i dužinu trajanja gravidnosti (Clutton-Brock i Lason, 1986., Huck i sur., 1990., Hardy, 1997.).

Ovim smo istraživanjem pokušali utvrditi utjecaj načina držanja, pasmine (simentsalske, holštajn frizijske i križanaca) te spola teleta na dužinu trajanja gravidnosti i vrijeme porođaja u krava na području središnjeg dijela Hrvatske (Moslavina).

Materijali i metode

Životinje

Istraživanje je provedeno na uzorku od 472 goveda simentsalske, holštajn frizijske pasmine i njihovih križanaca u središnjem dijelu Hrvatske (Moslavina) tijekom četiri godine (2006. do 2009.). Životinje su bile smještene na tri farme mljeičnih goveda s tri različita načina držanja i hranidbe: a) slobodno držanje; b) držanje na vezu s ispašom tijekom dana ili noći ovisno o temperaturi okoliša i sezoni (ljeti tijekom noći, a ostatak godine tijekom dana); c) držanje na vezu tijekom cijelog dana bez mogućnosti ispaše ili

Robert ZOBEL, dr. med. vet., Ivana PIPAL, dr. med. vet., Vlatka BUIĆ, dr. med. vet., VETMED d.o.o., Veterinarska ambulanta Stružec, Popovača

slobodnog kretanja. Na svakoj je farmi odabran isti postotak životinja različitih pasmina u dobi od 4 do 5 godina kako bi se izbjegla mogućnost utjecaja dobi na rezultate.

Životinje su hranjene sijenom po volji uz dodatak koncentrata sastavljenog od kukuruza, zobi, ječma, pšenice i sojine sačme te minerala i vitamina. Uz navedeno, u obrok je dodavana kukuruzna i travno djetelinska silaža, a od svibnja do listopada i sveža trava. Mužnja je vršena dva puta dnevno (od 7 do 9 sati u jutro i 17 do 19 sati uvečer). Koncentrat i silaža davani su nakon mužnje.

Eksperimentalni protokol

Osjemenjivanje je vršeno prilikom redovitih tjednih obilazaka farmi i na poziv vlasnika prilikom zamijećenih znakova gonjenja uobičajenom bimanualnom metodom nakon otapanja duboko smrznutog sjemena u vodi na 35 do 37 °C tijekom 30 sekundi, a osjemenjivanje provedeno unutar 15 minuta po otapanju sjemena. Prije osjemenjivanja izvršen je rektalni pregled i vaginoskopija, a osjemenjivanje je izvršeno tek nakon nalaza dominantnog, odnosno Graafovog folikula na jednom od jajnika i prisutnosti estrusne sluzi i/ili otvorenog materničnog grljka. Sve su životinje narednog dana pregledane rektalno u cilju potvrde ovulacije, a u suprotnom osjemenjivane dnevno sjemenom istog bika do potvrde ovulacije (nestanka Graafovog folikula). Korišteno je sjeme dva bika (bika A za grla simentalske pasmine, bika B za grla holštajn frizijske pasmine te bikova A ili B za križana grla, prema želji vlasnika) u cilju izbjegavanja utjecaja bika na duljinu trajanja gravidnosti i vremena porođaja. U slučaju pojave pregona postupak je ponovljen po istom načelu do concepcije ili isključenja grla iz istraživanja u skladu s kriterijima za isključenje.

Razlozi za isključenje iz istraživanja bili su: sistemske bolesti bilo koje vrste

prilikom gonjenja ili tjedan dana prije pojave gonjenja praćena vrućicom (iznad 39 °C), sistemski terapiji antibioticima tijekom gonjenja ili tjedan dana ranije, teške deformacije stražnjih ekstremiteta, mastitis unazad dva mjeseca ili pojava mastitisa dva ili više puta u prethodnim laktacijama, povećani broj somatskih stanica iznad 200.000 unazad mjesec dana, endometritis, deformacije na spolnim organima (uključujući i priraslice), carski rez prilikom prethodnog porođaja, slabija plodnost (anovulatorni ciklus, anestrus, cistična bolest jajnika), urovagina te preganjanje nakon trećeg osjemenjivanja unatoč potvrđi ovulacije. Spol teladi određen je nakon porođaja, a vrijeme od osjemenjivanja do porođaja prema evidencijama veterinarske ambulante i reproduksijskim kartonima za svaku životinju. Vrijeme porođaja dobiveno je anamnističkim podatcima uzetim od vlasnika. Dan je podijeljen na četiri dijela od šest sati (24 sata do 06 sati, 06 do 12 sati, 12 do 18 sati i 18 do 24 sata) i vrijeme porođaja bilježeno unutar navedenih granica. Odlučeno je da u slučaju da se porođaj dogodi na točan, okrugli sat navedenih granica, bude bilježen kao porođaj u prethodnom razdoblju, no takvih slučajeva nije bilo.

Statistička obrada podataka

U statističkoj obradi podataka korišten je F-test u cilju utvrđivanja razdiobe podataka. Kako distribucija podataka nije bila pravilna korištena je specifičnija jednosmjerna ANOVA (pasmina: trajanje gravidnosti, držanje: trajanje gravidnosti, način držanja: vrijeme porođaja, pasmina: vrijeme porođaja, spol teleta: vrijeme porođaja). Rezultati su prikazani u tablicama s razinom statističke vjerojatnosti.

Rezultati

Kao što je prikazano u tabeli 1, najduže prosječno trajanje gravidnosti zabilježeno

Utjecaj pasmine, načina držanja i spola teleta na duljinu trajanja gravidnosti i vrijeme porođaja u goveda

Tabela 1. Utjecaj pasmine i načina držanja na trajanje gravidnosti u danima pasmina

Pasmina n= 472	Držanje	%	Gravidnost	Min.	Maks.	SD	P
S n=182	srednja vrijednost	38,56	287,81	271	306	6,41	<0,05
	slobodno n= 82	45,05	282,16	276	288	3,21	
	na vezu n= 56	30,77	288,15	281	306	6,98	
	na vezu i paši n= 44	24,18	277	290	4,32		
držanje/pasmina: gravidnost							0,062
HF n=212	srednja vrijednost	44,92	283,04	269	294	6,11	<0,05
	slobodno n= 122	57,54	272,12	269	275	2,11	
	na vezu n= 62	29,25	283,13	273	294	6,16	
	na vezu i paši n= 28	13,21	274,16	270	280	5,18	
držanje/pasmina: gravidnost	srednja vrijednost						0,066
K n= 78		16,53	285,33	269	295	7,57	<0,05
	slobodno n= 18	23,08	277,16	269	274	2,19	
	na vezu n= 37	47,44	282,26	274	295	8,22	
	na vezu i paši n= 23	29,49	279,22	272	278	4,11	
držanje/pasmina: gravidnost							0,071
držanje: gravidnost ukupno							0,069
pasmina: gravidnost	S:HF						0,006
	S:K						0,048
	HF:K						0,66

Legenda: S= simentalska pasmina; HF= holštajn fizijska pasmina; K= križane pasmine (simentalska+ holštajn frizijska); pasmina: gravidnost= usporedba trajanja gravidnosti u danima između pojedinih pasmina; držanje:gravidnost= usporedba trajanja gravidnosti s obzirom na način držanja; držanje/pasmina/gravidnost= utjecaj načina držanja i pasmine na trajanje gravidnosti u uzorku; držanje:gravidnost= utjecaj načina držanja na trajanje gravidnosti; pasmina:gravidnost= utjecaj pasmine na trajanje gravidnosti

Tabela 2. Utjecaj načina držanja na vrijeme teljenja u satima

Pasmina (n=472)	Način držanja	Teljenje (sati)	24-06	%	P	06-12	%	P	12-18	%	P	18-24		P
S	slobodna n=82		11	13	<0,05	31	38	<0,05	35	43	<0,05	5	6	<0,05
HF	slobodna n=122		16	13	<0,05	18	15	<0,05	64	52	<0,05	24	20	<0,05
K	slobodna n=18		4	22	<0,05	7	39	<0,05	5	28	<0,05	2	11	<0,05
Ukupno	n=222		31	14	<0,05	56	25	<0,05	104	47	<0,05	31	14	<0,05
S	na vezu n=52		28	54	<0,05	11	21	<0,05	6	12	<0,05	7	13	<0,05
HF	na vezu n=62		30	48	<0,05	14	23	<0,05	11	18	<0,05	7	11	<0,05
K	na vezu n=37		16	43	<0,05	5	14	<0,05	4	11	<0,05	12	32	<0,05
Ukupno	151		74	49	<0,05	30	20	<0,05	21	14	<0,05	26	17	<0,05
S	na vezu i paši n=44		9	20	<0,05	12	27	<0,05	16	36	<0,05	7	16	<0,05
HF	na vezu i paši n=28		4	14	<0,05	9	32	<0,05	10	36	<0,05	5	18	<0,05
K	na vezu i paši n=23		4	17	<0,05	6	26	<0,05	10	43	<0,05	3	13	<0,05
Ukupno	n=95		17	18	<0,05	27	28	<0,05	36	38	<0,05	15	16	<0,05
Ukupno			122	26	<0,05	113	24	<0,05	165	35	<0,05	72	15	<0,05

Legenda: S= simentalska pasmina; HF= holštajn-frizijska pasmina; K= križana pasmina (simentalska + holštajn frizijska)

je u životinja simentalske pasmine. U grla križanih pasmina prosječno trajanje gravidnosti bilo je kraće za 2,82 dana u odnosu na simentalska grla ($P<0,05$). Najkraće trajanje gravidnosti zabilježeno je u grla holštajn frizijske pasmine i to za 4,77 dana u odnosu na grla simentalske pasmine ($P<0,01$) i 2,29 dana u odnosu na križana grla ($P=0,66$).

Unutar svih pasmina najduže trajanje gravidnosti zabilježeno je u grla držanih na vezu, kraće u grla držanih na vezu s mogućnošću dnevne ispaše, a najkraće u slobodno držanih grla ($P>0,05$). Rezultati upućuju kako dužina trajanja gravidnosti, iako različita, nije u statistički značajnoj

korelaciji s načinom držanja, ali je razlika u duljini trajanja gravidnosti statistički značajna između pojedinih pasmina.

U tabeli 2 prikazan je utjecaj načina držanja na vrijeme porođaja. Prilikom slobodnog načina držanja najveći broj porođaja u svih pasmina (više od trećine ukupne skupine) zabilježen je u periodu od 12 do 18 sati ($P<0,05$). U periodu od 06 do 12 sati otelilo se 1,88 puta manje plotkinja ($P<0,05$). U periodu od 24 do 06 sati, kao i u periodu od 18 do 24 sata zabilježeno je 3,35 puta manje porođaja u odnosu na prvu skupinu ($P<0,05$). Prilikom držanja na vezu najveći je broj porođaja u svih pasmina zabilježen u

Utjecaj pasmine, načina držanja i spola teleta na duljinu trajanja gravidnosti i vrijeme porođaja u goveda

Tabela 3. Utjecaj pasmine na vrijeme porođaja

Pasmina (n=472)	Način držanja	Tetjenje (sati)	24-06	%	P	06-12	%	P	12-18	%	P	18-24		P
S	slobodna n=82		11	13	<0,05	31	38	<0,05	35	43	<0,05	5	6	<0,05
S	na vezu n=52		28	54	<0,05	11	21	<0,05	6	12	<0,05	7	13	<0,05
S	na vezu i paši n=44		9	20	<0,05	12	27	<0,05	16	36	<0,05	7	16	<0,05
Ukupno	n=178		48	27	<0,05	54	30	<0,05	57	32	<0,05	19	11	<0,05
HF	slobodna n=122		16	13	<0,05	18	15	<0,05	64	52	<0,05	24	20	<0,05
HF	na vezu i paši n=28		4	14	<0,05	9	32	<0,05	10	36	<0,05	5	18	<0,05
HF	na vezu n=62		30	48	<0,05	14	23	<0,05	11	18	<0,05	7	11	<0,05
Ukupno	212		50	24	<0,05	41	19	<0,05	85	40	<0,05	36	17	<0,05
K	slobodna n=18		4	22	<0,05	7	39	<0,05	5	28	<0,05	2	11	<0,05
K	na vezu n=37		16	43	<0,05	5	14	<0,05	4	11	<0,05	12	32	<0,05
K	na vezu i paši n=23		4	17	<0,05	6	26	<0,05	10	43	<0,05	3	13	<0,05
Ukupno	n=78		24	31	<0,05	18	23	<0,05	19	24	<0,05	17	22	<0,05
Ukupno	n=472		122	26	<0,05	113	24	<0,05	165	35	<0,05	72	15	<0,05

Legenda : S=simentalska pasmina; HF= holštajn-frizijska pasmina; K=križana pasmina (simentalska + holštajn frizijska)

periodu od 24 do 06 sati u jutro (gotovo pola promatrane skupine; P<0,05). U periodu od 06 do 12 sati zabilježeno je 2,45 puta manje porođaja (P<0,05) te od 18 do 24 sata primjećeno je 2,9 puta manje porođaja u odnosu na prvu skupinu. Najmanji se broj životinja (3,5 puta manje u odnosu na prvu skupinu) otelio u periodu od 12 do 18 sati (P<0,05). U slučaju držanja životinja na vezu s mogućnošću svakodnevne ispaše najveći je broj porođaja (više od jedne trećine) zabilježen u periodu od 12 do 18 sati (P<0,05). U periodu od 06 do 12 sati otelilo se 1,36 puta manje životinja u odnosu na prethodnu skupinu (P<0,05). U

periodu od 12 do 06 sati te od 18 i 24 sata zabilježeno je 2,5 puta manje porođaja u odnosu na prvu skupinu (P<0,05).

U ukupnom uzorku, više od jedne trećine porođaja zabilježen je u periodu od 12 do 18 sati (P<0,05). U periodu od 06 do 12 sati zabilježeno je 1,35 puta manje porođaja (P<0,05), a gotovo isti broj porođaja (više od dvostruko manje u odnosu na prvu skupinu) zabilježen je u periodu od 24 do 06 sati te od 18 do 24 sata (P<0,05).

U tabeli 3 prikazan je utjecaj pasmine na vrijeme porođaja. Najveći je broj porođaja unutar goveda simentalske pasmine zabilježen u periodu od 12 do

Tabela 4. Utjecaj spola teleta na trajanje gravidnosti i vrijeme porođaja

n=472	Gravidnost u danima	Vrijeme porođaja	%	P		%	P		%	P		%	P
		01-06			06-12			12-18			18-24		
SPOL													
M n= 248	291,2 ± 6,8	73	29	<0,05	41	16	<0,05	61	25	<0,05	37	15	>0,05
Ž n= 224	283,6 ± 5,4	49	22	<0,05	72	32	<0,05	105	47	<0,05	35	15	>0,05
Ukupno		122		<0,05	113		<0,05	165		<0,05	72		<0,05

Legenda: M= muško tele; Ž= žensko tele

18 sati (gotovo jedna trećina; $P<0,05$) i od 6 do 12 sati (skoro jedna trećina; $P<0,05$). Tek nešto manji broj porođaja zabilježen je u periodu od 24 do 06 sati ($P<0,05$), a najmanji broj porođaja (trostruko manje u odnosu na prve dvije skupine) u periodu od 18 do 24 sata ($P<0,05$).

Značajno najveći broj porođaja (40%) u holštajn-frizijske pasmine zabilježen je u periodu od 12 do 18 sati ($P<0,05$), tek nešto manje u periodu od 18 do 24 sata ($P<0,05$) te gotovo dvostruko manje u periodu od 24 do 06 sati ($P<0,05$) i najmanje u periodu od 06 do 12 sati ($P>0,05$).

Najveći broj porođaja (gotovo jedna trećina) u križanih pasmina zabilježen je u periodu od 24 do 06 sati ($P<0,05$) te 1,3 puta manje u ostalim periodima s podjednakim brojem porođaja ($P<0,05$).

U tabeli 4 prikazan je utjecaj spola teleta na vrijeme porođaja. U slučaju muškog teleta, najveći je broj porođaja (nešto manje od jedne trećine) zabilježen u vremenu od 01 do 06 sati ($P<0,05$), a u slučaju ženskog teleta (gotovo jedna polovica broja porođaja) u periodu od 12 do 18 sati ($P<0,05$). Jedna četvrtina broja porođaja u slučaju muškog ploda zabilježena je u periodu od 12 do 18 sati ($P<0,05$), a u slučaju ženskog ploda u periodu od 01 do 06 sati ($P<0,05$). Najmanji broj porođaja, u slučaju ženskog i muškog ploda, s istim postotkom, zabilježen je u periodu od 18 do 24 sata ($P<0,05$).

Raspisava

Na promatranom uzorku od 472 gravidnosti i porođaja utvrdili smo prosječno trajanje gravidnosti od 287,81 dan u goveda simentalske pasmine, u holštajn-frizijske pasmine 283,04 dana, a u križanih grla 285,33 dana. Na uzorku od 27.810 porođaja Lush (1937.) je ustvrdio prosječno trajanje gravidnosti u goveda od 282,1 dan što je blizu prethodnim podatcima. Livesay i Bee (1945.) uspoređivali su prosječno trajanje gravidnosti u tri pasmine goveda i ustvrdili kako je trajanje gravidnosti najkraće u Aberdeen Angus pasmine (277,8 dana), nešto duže u Jersey pasmine (277,9 dana), a najduže u Holštajn frizijske pasmine (278,3 dana). Rezultati našeg istraživanja upućuju na nešto dulje trajanje gravidnosti u holštajn-frizijske pasmine u odnosu na rezultate Livesay i Bee (1945.), a podatak o najduljem trajanju gravidnosti u simentalske pasmine iznesen u citiranom istraživanju sukladan je rezultatima našeg istraživanja. Razlika u duljini trajanja gravidnosti između simentalske i holštajn frizijske pasmine te križanaca je znatna i statistički signifikantna, dok razlika u trajanju gravidnosti između goveda holštajn frizijske pasmine i križanaca nije statistički značajna. U prilog iznesenom

govori činjenica kako su simentalska goveda našeg podneblja još uvijek u većini relativno niske mlijecnosti te mlijecnomesnog ili čak mesno-mlijecnog tipa.

Na duljinu trajanja gravidnosti ima utjecaj i način držanja te je najkraće trajanje gravidnosti zabilježeno u grla svih pasmina držanih slobodno, nešto dulje u grla držanih na vezu s mogućnošću dnevne ispaše, a najduže u grla držanih na vezu iako podatci nisu statistički značajni. Navedeni podatci u skladu su s rezultatima istraživanja Pruitt i sur. (2003.) prema kojima pasmina, način držanja i spol teleta imaju znatnu ulogu u vremenu porođaja te goveda držana slobodno imaju tendenciju kraćeg trajanja gravidnosti kao i mlijecne pasmine. Način držanja ima važnu ulogu u vremenu porođaja tako da je najveći broj porođaja (gotovo jedna polovica porođaja) zabilježen od 12 do 18 sati u goveda držanih slobodno ($P<0,05$) kao i u grla držanih na vezu s mogućnošću dnevne ispaše (više od jedne trećine porođaja; $P<0,05$). U životinja držanih na vezu bez mogućnosti slobodnog kretanja najveći je broj porođaja zabilježen tijekom noći, od 24 do 6 sati ($P>0,05$), a što je u skladu s navodima Williams i Jenkins (2003.) da se životinje držane slobodno u većini slučajeva tele tijekom dana, dok se krave držane na vezu tele većinom u noćnim satima.

Spol teleta isto tako utječe na vrijeme porođaja te je najveći broj porođaja muške teladi (gotovo jedna trećina) zabilježen noću od 01 do 06 sati ($P<0,05$), a najveći broj porođaja ženske teladi (gotovo jedna polovica) danju, od 12 do 18 sati ($P<0,05$). Dobiveni su rezultati suglasni s navodima Pruitt i sur. (2003.) kako postoje indicije da se krave koje nose mušku telad u većem broju tele noću, dok se one sa ženskom teladi tele danju.

Sažetak

Istraživanje je provedeno tijekom 4 godine na uzorku od 472 grla (simentalska, holštajn-

frizijska pasmina i njihovi križanci) smještena na tri farme s različitim načinom držanja s ciljem utvrđivanja utjecaja pasmine i načina držanja na trajanje gravidnosti i vrijeme porođaja te utjecaj spola teleta na vrijeme porođaja. Dan je podijeljen na četiri dijela od šest sati i vrijeme porođaja bilježeno je u navedenim granicama unutar skupina po načinu držanja, pasminskoj pripadnosti i spolu teleta. Rezultati istraživanja upućuju da način držanja i pasmina igraju važnu ulogu u trajanju gravidnosti i vremenu porođaja, kao i spol teleta. Najdulje trajanje gravidnosti zabilježeno je u grla držanih na vezu, kraće u grla držanih na vezu s mogućnošću dnevne ispaše, a najkraće u slobodno držanih grla ($P<0,05$). Gotovo se dvije trećine grla simentalske pasmine otelilo tijekom dana (od 06 do 18 sati, $P<0,05$). U grla holštajn frizijske pasmine najveći je broj porođaja (40%) zabilježen u periodu od 12 do 18 sati, a tek nešto manje od 18 do 24 sata. U križanih grla najveći je broj porođaja zabilježen u periodu od 24 do 06 sati ($P<0,05$), a u ostalim periodima podjednaki broj porođaja. Ustvrđeno je kako postoji tendencija teljenja muške teladi noću – najveći broj porođaja muške teladi zabilježen je od 24 do 06 sati, a u slučaju ženske teladi danju, od 12 do 18 sati.

Literatura

1. CLUTTON-BROCK, T. H. and G. R. LASON (1986): Sex ratio variation in mammals. *Q. Rev. Biol.* 61, 339-374.
2. FULLER, W. B. and N. L. FIRST (1983): Pregnancy and Parturition. *J. Anim. Sci.* 57, 425-460.
3. FOOTE, R. H. (1981): Factors affecting gestation length in dairy cattle. *Theriogenology* 15, 553-559.
4. HARDY, I. and C. W. (1997): Possible factors influencing vertebrate sex ratios: an introductory overview. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 5, 217-241.
5. HUCK, U. W., J. SEGER and R. D. LISK (1990): Litter sex ratios in the golden hamster vary with time of mating and litter size and are not binomially distributed. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 26, 99-109.
6. LIVESAY, E. A. and U. G. BEE (1945): A Study of the Gestation Periods of Five Breeds of Cattle. *J. Anim. Sci.* 4, 13-14.
7. LUSH, J. L. (1937): Animal Breeding Plans, Collegiate Press, Ames, Iowa.
8. PRUITT, D., R. HAIGH, W. EPPERSON, S. FAUSTI and D. YOUNG (2003): Effect of calving time and weaning time on cow and calf performance – a preliminary report. South Dakota State University Beef Report. Beef 08, 49-53.

9. RIFE, D. C., P. GERLAUGH, L. KUNKLE, G. W. BRANDT and L. H. SNYDER (1943): Comparative Lengths of the Gestation Periods of Aberdeen-Angus and Hereford Cows Carrying Purebred and Crossbred Calves. *J. Anim. Sci.* 2, 50-52.
10. WILLIAMS, C. B. and T. G. JENKINS (2003): A dynamic model of metabolizable energy utilization in growing and mature cattle. I. Metabolizable energy utilization for maintenance and support metabolism. *J. Anim. Sci.* 81, 1371-1381.

Influence of breed, management and calves gender on gestation period and the time of partus

Robert ZOBEL, DVM, Ivana PIPAL, DVM, Vlatka BUIĆ, DVM, VETMED d.o.o., Veterinary ambulance Stružec, Popovača

The presented field trial was conducted over four years in central Croatia (Moslavina region) on a total of 472 cows of three breeds (Simmental, Holstein Friesian and Crossbreeds) at three commercial dairy farms with different management and holding systems. Gestation period and the time of partus were observed. Each day was divided into four 6-hour periods and the time of partus noted within the periods in regard to the holding system (management), breed and calf gender. The results strongly suggest that management and calf gender play a significant role in the time of partus and gestation period. The longest gestation period was observed in the group of animals kept on collars all day long, shorter in those kept on collars with the

possibility of grazing during the day and the shortest in the group of free range animals ($P<0.05$). Concerning the breed, almost 2/3 of Simmental cows gave birth during daylight hours (6 am to 6 pm; $P<0.05$). Between noon and 6 pm, 40% of Holstein-Friesian cows gave birth and slightly smaller number of animals between 6 pm and midnight ($P<0.05$). Within the Crossbreds, the highest percentage of calvings was observed between midnight and 6 am ($P<0.05$). We noticed a tendency of calving male calves during the night, with the highest percentage of calvings between midnight and 6 am ($P<0.05$). On the contrary, female calves had a tendency of calving during daylight hours, with the greatest percentage of calvings between the noon and 6 pm ($P<0.05$).

GOSPODARSTVO

ČISTOĆA U KOKOŠINJCIH. Perad pati osobito mnogo od gamadi, e naročito, ako živi u tjesno ogradjenom dvorištu. Kokoši koje muči gamad, izgube perje, nakostrušene su, omrševe i malo nose jaja. Ako hoćemo da tomu izbjegnemo, valje nam se pobrinuti, za čistoću i razkuženje kokošnjaka. Svakoga tjedna valja gnoj odstraniti, posuti pod tankim slojem pijeska i povrh toga postaviti novu stelju. Svaki mjesec jedanput mora se kokošnjac pobieliti mliečnom kašom od vapna.

„Hrvat“ (Virovitica), 11, 2, 1910. (god. 29) (24. srpnja 1910.)

Određivanje hematoloških i biokemijskih parametara u krvi istarskih goniča

Hrvoje Labura, Ivica Harapin, Marija Lipar i Ljiljana Bedrica



Uvod

Intenzivnim uzgojem brojnih pasmina pasa, s ciljem dobivanja zdravog i kvalitetnog legla, ukazala se potreba za boljom kontrolom zdravlja tih životinja.

Laboratorijske pretrage krvi i drugih tjelesnih tekućina, sekreta i ekskreta zauzimaju veoma značajno mjesto u dijagnostici unutarnjih bolesti svih vrsta domaćih životinja. Krv povezuje sva tkiva i organe u organizmu, zbog čega je logično pretpostaviti da će se poremećaj bilo kojeg organa manifestirati određenim promjenama u sastavu krvi. Svaki sastojak krvi ima određen dijagnostički značaj (Meyer i Harvey, 1997.).

U cilju dobivanja što pouzdanih rezultata i mogućnosti njihovog uspoređivanja poželjno je uvijek krv uzeti na isti način, s istim antikoagulansom, najbolje rano ujutro, u mirovanju, prije hranjenja i napajanja. S uzetim uzorcima treba postupati na isti način, poštujući u prvom redu metodologiju predviđenu ovisno o vrsti ispitivanja.

Hematološke pretrage krvi (KKS)

Kompletna krvna slika (KKS) je osnovna rutinska hematološka pretraga koja uključuje određivanje crvene krvne slike, broja leukocita, broja trombocita i diferencijalnu bijelu krvnu sliku.

Eritrociti su najbrojnije stanice krvi. Nalaze se u perifernoj krvi, bikonkavnog su oblika, njihov je glavni sastojak

hemoglobin koji prenosi kisik iz pluća u tkiva i ugljični dioksid iz tkiva u pluća. Stanice eritropoeze se stvaraju u koštanoj srži, a funkcionalno zreli eritrociti obavljaju svoju funkciju u perifernoj krvi. Određivanje broja eritrocita u perifernoj krvi prvi je i osnovni pokazatelj hematoloških poremećaja eritrocitne loze.

Broj eritrocita je nedostatan podatak za interpretaciju pojedinih hematoloških poremećaja te je uz određivanje broja eritrocita uvijek potrebno analizirati i ostale parametre crvene krvne slike (koncentracija hemoglobina, hematokrit, eritrocitne konstante) (Schalm i sur., 2000.).

Eritrocitne konstante (MCV - mean cell volume, MCH - mean corpuscular hemoglobin, MCHC - mean corpuscular hemoglobin concentration, RDW - red cell distribution width) ili korpuskularne vrijednosti su vrijednosti dobivene računskim putem, a iz njih se može procijeniti karakteristika eritrocita (Bush, 1998.).

MCV je prosječni volumen eritrocita, a izračunava se iz broja eritrocita i hematokrita. Promjene vrijednosti pojedinih eritrocitnih konstanti, osobito MCV parametra, dijagnostički su značajne u klasifikaciji pojedinih anemija i uvijek se moraju promatrati u korelaciji s dobivenim vrijednostima broja eritrocita i koncentracije hemoglobina (Ravel, 1995.).

Hrvoje LABURA, dr. med. vet.; dr. sc. Ivica HARAPIN, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Marija LIPAR, dr. med. vet., stručna suradnica, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb

MCH je prosječni sadržaj hemoglobina u eritrocitu, a izračunava se iz koncentracije hemoglobina i broja eritrocita, MCHC predstavlja prosječnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitu, a izračunava se iz koncentracije hemoglobina i hematokrita (Ettinger i Feldman, 2000.).

Glavna uloga hemoglobina je prenošenje kisika iz pluća u tkiva i CO_2 iz tkiva u pluća, labilnim vezivanjem kisika i ugljičnog dioksida na dvovaljano željezo hema. Koncentracija hemoglobina je, uz broj eritrocita, pouzdaniji podatak o hematološkim poremećajima eritrocitne loze stanica (Schalm i sur., 2000.).

Hematokrit predstavlja volumni udio eritrocita u jedinici pune krvi. Promjene vrijednosti hematokrita slijede sukladne patološke promjene broja eritrocita i koncentracije hemoglobina (Harvey i John, 2001.).

RDW parametar označava distribuciju eritrocita po volumenu, čime se dobiva podatak o veličini i raspodjeli eritrocita kao brojčani podatak i/ili grafički prikazana raspodjela eritrocita u histogramu. Specifično ukazuje na postojanje jedne ili više populacije eritrocita što je karakteristična značajka pojedinih hematoloških bolesti eritrocitne loze, a ujedno je i važan prognostički pokazatelj o učinkovitosti liječenja te ekvivalentan podatak o anizocitozi koja se uočava u krvnom razmazu (Harvey i John, 2001.).

Retikulociti su mladi eritrociti koji sadrže ostatke ribonukleinske kiseline u obliku granulofilamentozne supstancije, koja se boji vitalnom bojom briljant krezil modrilo. Dijagnostička značajnost broja retikulocita je u tome što nam daje uvid i procjenu eritropoetske aktivnosti koštane srži te nam služi kao diferencijalna dijagnostika regenerativnih i aregenerativnih anemija (Schalm i sur., 2000.).

Određivanje sedimentacije eritrocita je pretraga kojom se u posebno graduiranoj pipeti, u određenim

vremenskim razmacima promatra brzina sedimentacije eritrocita citratne krvi. Uzrok sedimentacije eritrocita je povećana količina proteina plazme: fibrinogena i globulina, velike molekularne mase u raznim patološkim stanjima što dovodi do stvaranja tzv. rouleaux formacija eritrocita koje se talože na dno epruvete. Rezultati testa se izražavaju u milimetrima na sat. Sedimentacija se najčešće određuje nakon prvog sata.

Dijagnostička značajnost sedimentacije eritrocita je u tome što je to vrlo koristan test u praćenju tijeka infekcionog procesa ili na moguće postojanje organske bolesti. Sedimentacija eritrocita ubrzana je kod akutnih i kroničnih infektivnih bolesti, kod reumatskih bolesti, neoplastičnih sindroma i degenerativnih bolesti (Schalm i sur., 2000.).

Leukociti su stanice periferne krvi čija je osnovna funkcija zaštita organizma od raznih toksičnih agenasa. U krvi zdravih životinja nalaze se samo zrele stanice - leukociti.

Kod nekih bolesti u perifernu krv, osim zrelih stanica, mogu prijeći i nezrele stanice. Određivanje broja leukocita je značajno u dijagnostici i praćenju zaraznih bolesti za razlikovanje virusnih i bakterijskih infekcija te u određivanju imunološkog statusa organizma u stanjima stečenih imunodeficijencija (praćenje citotoksične terapije).

Određivanje **diferencijalne bijele krvne slike** (leukograma) je pretraga kojom se utvrđuje relativni postotak pojedinih populacija leukocita te morfološke osobitosti stanica leukocitopoeze i eritrocitopoeze u razmazu periferne krvi obojenom metodom po Pappenheimu.

Neutrofilni granulociti zajedno s monocitima čine osnovu fagocitnog obrambenog sustava u organizmu. Na ovaj način sudjeluju u obrani organizma od bakterijskih infekcija i drugih noksi. Eozinofilni granulociti sudjeluju u obrani organizma od alergijskih agenasa i parazitarnih infekcija. Limfociti predstavljaju populaciju

leukocita koja uključuje dvije osnovne subpopulacije: limfocite T koji sudjeluju u staničnom imunitetu, te limfocite B koji se transformiraju u plazma stanice koje proizvode protutijela i na taj način sudjeluju u humorarnom imunitetu. Bazofilni granulociti su najmanje zastupljena populacija leukocita u perifernoj krvi, čija funkcija u organizmu još nije utvrđena. Promjene relativnih proporcija pojedinih leukocitnih populacija uz pojavu patoloških stanica leukocitopoeze koje normalno nisu prisutne u perifernoj krvi, nalaze se i u raznim hematološkim poremećajima stanica leukocitopoeze na nivou koštane srži (maligne bolesti krvotvornog tkiva ili hemoblastoze) pa je određivanje diferencijalne krvne slike prvi i osnovni pokazatelj tih hematoloških poremećaja. Dijagnostička značajnost diferencijalne krvne slike je u dijagnostici i praćenju infektivnih bolesti, dijagnostika hematoloških poremećaja, praćenje citotoksične terapije (Schalm i sur., 2000.).

Tromboci su krvne stanice koje sudjeluju u procesu zgrušavanja krvi. Određivanje broja trombocita ponajprije daje podatak o primarnoj hemostazi. Morfološke osobine trombocita mogu se pratiti, osim pažljivim pregledom razmaza periferne krvi, na temelju dvaju trombocitnih indeksa dobivenih na hematološkom brojaču: raspodjela trombocita po volumenu (PDW) te određivanjem srednjeg volumena trombocita (MPV). Najvažniji sastojci su tromboplastinogeneza i retraktocin. Trombociti sadrže oko 60% bjelančevina (Schalm i sur., 2000.).

Biokemijske pretrage krvi

Izgled liste tzv. najvažnijih biokemijskih parametara koji zadovoljavaju najveći dio potreba svakodnevne prakse na neki način su definirali i proizvođači laboratorijske opreme. Najjednostavniji aparati za individualno ispitivanje pojedinih parametara, kao što je Reflotron (Boehringer), namijenjen malim kliničkim laboratorijama, osiguravaju ispitivanje

aktivnosti ALT, AST, AP, CK, GGT, amilaze, lipaze, zatim koncentracije ukupnih proteina i albumina, kolesterola, ureje, kreatinina, glukoze, hemoglobina, ukupnog bilirubina, triglicerida, mokračne kiseline, kalija, natrija, klorida, kalcija, fosfora i željeza.

Ovi parametri omogućavaju relativno efikasnu dijagnostiku oboljenja jetre, pankreasa i bubrega, dijelom i oboljenja središnjeg živčanog sustava, srčanog te skeletnih mišića. Poremećaji probave, apsorpcije i metabolizma, nutritivni poremećaji, endokrini poremećaji, zatim mnoga trovanja, također zahtijevaju određena biokemijska ispitivanja, ali to nadlazi okvir svakodnevne terenske prakse (Kaneko i Harvey, 1997.).

Povišena koncentracija glukoze (**Hiperglikemija**), javlja se u tijeku šećerne bolesti – dijabetes melitus. Uzrok toj bolesti je pomanjkanje aktivnog inzulina, bilo da se dovoljno ne izlučuje iz gušterice, bilo da se dovoljno ne stvara. Osim toga povišena koncentracija se susreće i kod svih stanja s povećanim izlučivanjem adrenalina, šoka, kod cerebralnih trauma i tumora (Kaneko i Harvey, 1997.).

Smanjena koncentracija glukoze (**Hipoglikemija**), je uzrokovana brojnim čimbenicima, ali se javlja rjeđe od hiperglikemije. Manjak hormona koji su antagonisti inzulinu rezultira hipoglikemijom. Obično se to javlja kod hipofunkcije nadbubrežne žlezde. Hipoglikemija se pojavljuje katkad i kod funkcionalnih i toksičnih oštećenja jetre. Hiperglikemija može dovesti do hiperglikemične kome (*koma diabeticum*), a hipoglikemija do hipoglikemičnog šoka (Kaneko i Harvey, 1997.).

Ureja je količinski najvažniji produkt razgradnje bjelančevina u organizmu (Herdt i Stevans, 1981.). Naime deaminacijom aminokiselina oslobođa se amonijak koji se uklanja iz krvi gotovo potpuno pretvorbom u ureju. Sintetizira se Krebs-Henseleitovim ciklusom u jetri. Reakcija počinje s ornitinom, derivatom aminokiseline, koji se spaja s jednom

molekulom ugljičnog dioksida i jednom molekulom amonijaka, tvoreći citrulin. Taj se zatim spaja s narednom molekulom amonijaka i tvori arginin, koji se potom cijepa na ornitin i ureju.

Ekskrecija ovisi o dva glavna čimbenika. To su koncentracija ureje u plazmi i veličina glomerularne filtracije. Ti faktori povećavaju izlučivanje zato što je količina ureje koja ulazi u proksimalne tubule jednakna umnošku koncentracije ureje u plazmi i glomerularne filtracije. Budući da lako difundira kroz stanične membrane, u tjelesnim tekućinama i tkivima se nalazi u približno istim koncentracijama.

Povišena koncentracija ureje upućuje na funkcionalne poremetnje bubrega. Retencija dušikovih tvari je jedan od ranih znakova bubrežne insuficijencije.

Porast ureje u serumu kod akutnog i kroničnog glomerulonefritisa ili pijelonefritisa, ovisi o stupnju smanjenja bubrežne funkcije. Koncentracija je također povećana kod svih bolesti kod kojih dolazi do pojačanog raspadanja bjelančevina (pneumonija, akutne zarazne bolesti). Na porast ureje u serumu utječe i hrana izuzetno bogata bjelančevinama, koncentracija je smanjena kod bolesti jetrenog parenhima (akutni kronični hepatitis, ciroza, trovanje fosforom), što je razumljivo, jer se ureja uglavnom sintetizira u jetri. Porast i pad vrijednosti ureje izaziva povećano ili pak smanjeno uzimanje tekućine, zatim dehidraciju i oliguriju, odnosno poluriiju.

Trigliceridi se u tijelu koriste za dobivanje energije za različite metaboličke procese, a to je funkcija koju skoro podjednako dijele s ugljikohidratima.

Povišena koncentracija triglicerida u serumu nalazi se kod šećerne bolesti, opstrukcijske žutice, nefroze, i hipofunkcije štitnjače. To su sve sekundarne hipertrigliceridemije, dok se primarne pojavljuju u nekim tipovima poremećenog metabolizma lipoproteina. Smanjenje vrijednosti triglicerida dosta je rijetko i od manje dijagnostičke vrijednosti. Referentne vrijednosti

triglicerida u serumu ovise o dobi, ishrani i načinu držanja životinja (Karlson, 1988.).

Osim **kolesterol** koji se unosi hranom i apsorbira iz probavnog trakta (egzogeni kolesterol), velika ga se količina stvara i u tjelesnim stanicama (endogeni kolesterol). Jetra stvara gotovo sav endogeni kolesterol koji kola s lipoproteinima plazme, ali sve druge stanice u tijelu tvore barem nešto kolesterolja, budući je sastavni dio gradi svih membrana u stanicama.

Koncentracija kolesterolja povećava se kod niza različitih bolesti. U početnoj fazi hepatitisa se povećava, ali se kasnije, zbog smanjene sinteze obično normalizira. Koncentracija se znatnije povećava kod opstrukcijske žutice, što je značajno za razlikovanje opstrukcijskog od hepatocelularnog ikterusa.

Visoke vrijednosti kolesterolja nalaze se i kod nefritisa, hipotireoze i šećerne bolesti. Povišenje koncentracije kolesterolja kod šećerne bolesti, iako je smanjena sinteza kolesterolja i masnih kiselina, posljedica je smanjenog izlučivanja i prijelaza kolesterolja u druge steroidne tvari.

Za razliku od ovih takozvanih sekundarnih hiperkolesterolemija, primarna se javlja zbog oštećenja u samom metabolizmu kolesterolja.

Hipokolesterolemija je rijeda pojava i javlja se obično kod hipofunkcije štitnjače. Osim toga javlja se i kod teških oštećenja jetara, kod ciroze i teških kroničnih hepatitisa (Zilva i Pannal, 1979.).

Kreatinin nastaje gubitkom molekule vode iz kreatinina pa, prema tome, predstavlja anhidrid kreatina. Metabolizam kreatina i kreatinina odvija se u bubrežima, mišićima, jetri i gušteraci. Najprije u bubrežima iz arginina i glicina nastaju ornitin i guanidoctena kiselina. Guanidoctena kiselina prelazi u jetru gdje se pomoću metionina metilira i nastaje kreatin. On krvlju dospijeva dijelom u bubrege, gdje se filtrira u glomerularni filtrat i u tubulima se gotovo sav reapsorbira.

Kreatinina ima u serumu, eritrocitima, gastrointerstinalnim tekućinama, žući, u likvoru. To je produkt razgradnje aminokiselina, odnosno bjelančevina. Koncentracija u serumu ovisi ponajprije o glomerularnoj filtraciji, stoga je to dobar pokazatelj funkcionalne sposobnosti bubrega. Pri smanjenoj funkciji bubrega javlja se povišena koncentracija kreatinina u serumu, ali tek kada je bolest uznapredovala i kad je smanjeno izlučivanje u mokraći. Smanjeno izlučivanje preko mokraće, može se javiti ukoliko je smanjena mišićna masa i smanjena razgradnja kreatin – fosfata. Osim toga koncentracija je povišena i kod opstipacije i kardijalne dekompenzacije (Straus, 1988.).

Materijal i metode rada

Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 30 pasa istarskih goniča, s područja općine Rovinj. Svim psima izvađena je krv iz *v. cephalica antebrachii* pomoću vacutainer pribora u epruvete s antikoagulansom za hematološke pretrage i u epruvete s gelom za biokemijske pretrage. Hematološke pretrage rađene su isti dan na Hematološkom brojaču MS4+ (Melet Schloesing Laboratoires). Isti dan načinjeni su krvni razmazi za diferencijalnu bijelu krvnu sliku. Razmazi su obojani metodom po Pappenheimu. Uzorci za biokemijske pretrage su nakon 20 minuta centrifugirani 10 minuta na 3.000 okretaja. Odvojeni serum prenesen je pipetom u sterilnu Eppendorf epruvetu i pohranjen na temperaturi od - 20 °C, do izvođenja pretrage. Pretrage su napravljene na biokemijskom analizatoru Reflotron Plus (Roche).

Rezultati

U istraživanje je bilo uključeno 30 pasa istarskih goniča, 18 mužjaka i 12 ženki. Psi su bili u dobi od 1,5 do 10 godina. Svim psima izvađena je krv za hematološke i neke biokemijske parametre – glukoza, ureja, trigliceridi

i kolesterol. U zagлавljtu tabeli, u zagrada su prikazane referentne vrijednosti pojedinih parametara.

U tabelama 1, 2 i 3 prikazani su rezultati hematoloških i biokemijskih pretraga, te rezultati diferencijalne bijele krvne slike istraživanih pasa.

U tabelama 4, 5 i 6 prikazani su statistički obrađeni rezultati hematoloških i biokemijskih pretraga te diferencijalne bijele krvne slike istraživanih pasa.

Raspisivanje

Maksimalne vrijednosti hematoloških parametara (eritrociti, hemoglobin, hematokrit, MCV, sedimentacija) bile su zanemarivo iznad gornje fiziološke granice. Ukupan broj leukocita bio je u fiziološkim granicama. Diferencijalna krvna slika također nije pokazivala odstupanja od fizioloških vrijednosti koja spominju drugi autori (Schalm i sur., 2000.). Naši rezultati su vrlo slični rezultatima Gračnera i sur. (2007.) koji su uz krvne grupe određivali i hematološke parametre u istarskih goniča.

Usapoređujući rezultate biokemijskih pretraga s fiziološkim vrijednostima (Kaneko i Harvey, 1997.) uočili smo da su minimalne, odnosno maksimalne vrijednosti za glukozu i ureju neznatno ispod, odnosno iznad gornje fiziološke vrijednosti.

Povišena koncentracija glukoze, osim kod *diabetes mellitus*, susreće se i kod svih stanja s povećanim izlučivanjem adrenalina, u stanju šoka. Kod naših pasa neznatno povećana količina glukoze u krvi je najvjerojatnije posljedica straha prilikom vađenja krvi.

Neznatno povećana koncentracija ureje u serumu ispitivanih pasa najvjerojatnije je posljedica davanja hrane izuzetno bogate bjelančevinama. Osim toga porast i pad vrijednosti ureje izaziva povećano ili pak smanjeno uzimanje tekućine, zbog toga je važno da životinje imaju stalni pristup svježoj vodi.

Tabela 1. Rezultati hematoloških pretraga

Br.	E (5,5-8,5)	Hb (120-180)	HMT (37-55)	MCV (60-77)	L	S1	S2
1	6,48	143	47,8	74	13,2	3	5
2	6,623	174	52,3	79	13,2	3	5
3	5,564	151	50,9	72	11,962	2	4
4	5,47	152	50	71	12,943	4	5
5	6,177	166	49,6	81	11,23	4	6
6	6,471	160	50,1	78	13,819	4	5
7	5,137	166	46,7	79	11,045	3	6
8	5,021	160	47	79	11,807	4	6
9	6,386	182	50,3	79	12,9	3	7
10	5,46	153	44,7	79	12,055	4	6
11	5,783	163	48,4	74	13,131	3	5
12	5,332	137	49	79	12,759	3	5
13	5,474	139	56,6	79	13,2	3	5
14	6,324	163	49,5	79	12,3	5	8
15	5,837	150	47,4	81	13,4	5	7
16	6,67	168	53,7	81	10,971	5	8
17	5,8	169	39	62	13,128	4	7
18	5,634	115	40,5	72	12,5	5	6
19	5,512	186	59	75	10,711	3	4
20	5,517	165	45	80	8,691	3	4
21	5,336	145	45,2	80	10,8	3	5
22	5,7	142	31,6	80	10,4	3	6
23	5,085	135	39,2	77	11,2	3	6
24	5,216	123	46,8	70	12,091	4	7
25	5,23	120	36,2	78	12,503	3	5
26	5,719	157	47,4	83	11,61	5	7
27	5,761	146	48,5	81	11,3	5	7
28	6,517	165	50,3	78	8,961	5	4
29	9,515	147	52	79	11,6	5	7
30	5,56	112	40	80	12	4	7

E – eritrociti

Hb – hemoglobin

MHT – hematokrit

MCV – prosječan volumen eritrocita

L – ukupan broj leukocita

S1 – sedimentacija nakon 1 sat

S2 – sedimentacija nakon 2 sata

Tabela 2. Rezultati diferencijalne bijele krvne slike

Br.	Eo [2-10]	Nsg [0-1]	Sg [60-77]	Ly [12-33]	Mo [3-10]
1	9	2	56	26	7
2	3	2	68	22	5
3	5	3	62	26	4
4	9	3	60	22	6
5	2	2	64	32	0
6	1	3	62	30	4
7	1	3	74	20	2
8	1	2	58	28	1
9	5	3	60	26	6
10	3	2	54	38	3
11	9	2	53	28	8
12	2	2	68	24	4
13	2	2	68	22	6
14	3	3	50	39	5
15	4	2	68	20	6
16	2	3	68	22	5
17	6	3	68	20	3
18	4	2	50	42	2
19	4	3	51	40	2
20	1	3	60	34	2
21	9	3	64	24	0
22	5	3	48	38	6
23	7	2	58	30	3
24	2	4	68	24	2
25	2	3	64	26	5
26	7	4	49	36	4
27	4	4	69	21	2
28	9	4	45	40	2
29	9	3	60	28	0
30	2	2	50	44	2

Eo – eozinofili

Ly – limfociti

Nsg – nesegmentirani leukociti

Mo – monociti

Sg – segmentirani leukociti

Tabela 3. Rezultati biokemijskih pretraga

Br.	GLUKOZA [3,6-6,5]	UREJA [3,3-8,3]	TRIGLICERIDI [0,2-1,3]	KOLESTEROL [3,5-7,1]	KREATININ [44-140]
1	5,90	3,00	0,91	8,32	109,00
2	5,35	3,30	0,44	5,69	135,00
3	6,15	3,50	0,69	4,98	140,00
4	5,40	3,60	0,95	8,15	152,00
5	5,56	3,60	0,76	5,92	130,00
6	3,51	3,00	1,24	8,70	127,00
7	3,26	3,62	1,14	4,83	127,00
8	5,00	6,54	0,90	8,83	139,00
9	5,45	4,46	0,93	6,75	148,00
10	5,77	3,38	0,67	6,23	134,00
11	4,76	3,41	0,73	6,12	128,00
12	5,08	3,08	0,57	5,84	130,00
13	6,66	3,30	1,08	8,70	135,00
14	6,29	3,29	0,67	5,67	158,00
15	6,05	6,80	0,42	3,91	136,00
16	4,99	3,80	1,76	6,74	156,00
17	6,61	3,61	1,73	5,76	124,00
18	5,22	3,64	1,30	5,27	154,00
19	6,47	3,41	1,18	6,03	129,00
20	4,12	3,20	0,53	4,54	118,00
21	4,70	5,18	1,02	6,23	139,00
22	5,37	3,20	1,20	4,49	120,00
23	5,74	6,60	0,79	4,57	146,00
24	5,84	5,12	0,68	5,48	121,00
25	5,56	9,91	1,32	6,22	134,00
26	6,19	4,00	0,87	4,59	143,00
27	5,20	2,91	1,03	7,80	139,00
28	6,54	5,43	0,63	8,06	146,00
29	6,06	3,20	0,52	4,69	126,00
30	5,20	3,80	1,33	7,80	108,00

Tabela 4. Statistički obrađeni rezultati hematoloških pretraga

	E (5,5-8,5)	Hb (120-180)	HMT (37-55)	MCV (60-77)	L (6-17)	S1 (do 5)	S2 (do 7)
Max	9,515	186	59	83	13,819	5	8
Min	5,021	112	31,6	62	8,691	2	4
Median	5,667	152,5	48,1	79	12,0275	4	6
SD	0,841931	18,59069	5,853775	4,371932	1,241365	0,897634	1,176885
Skew	2,922048	- 0,45454	- 0,6605	- 1,80859	- 0,86895	0,190933	0,093033
Average	5,877033	151,8	47,15667	77,3	11,9139	3,766667	5,833333
Mode	#N/A	166	50,3	79	13,2	3	5

E – eritrociti

Hb – hemoglobin

MHT – hematokrit

MCV – prosječan volumen eritrocita

L – ukupan broj leukocita

S1 – sedimentacija nakon 1 sat

S2 – sedimentacija nakon 2 sata

Tabela 5. Statistički obrađeni rezultati diferencijalne bijele krvne slike

	Eo (2-10)	Nsg (0-1)	Sg (60-77)	Ly (12-33)	Mo (3-10)
Max	9	4	74	44	7
Min	1	2	45	20	0
Median	4	3	60	27	3,5
SD	0,028599	0,006915	0,077919	0,074275	0,123242
Skew	0,570856	0,409212	-0,23498	0,569121	5,233518
Average	4,4	2,733	59,9	29,066	5,66
Mode	0,02	0,03	0,68	0,26	0,02

Eo – eozinofilni granulociti

HNsg – nesegmentirani leukociti

Sg – segmentirani leukociti

Ly – limfociti

Mo - monociti

Tabela 6. Statistički obrađeni rezultati biokemijskih pretraga istraživanih pasa

	GLUKOZA (3,6-6,5)	UREJA (3,3-8,3)	TRIGLICERIDI (0,2-1,3)	KOLESTEROL (3,5-7,1)	KREATININ (44-140)
Max	6,66	9,91	1,76	8,83	158,00
Min	3,26	2,91	0,42	3,91	108,00
Median	5,51	3,60	0,91	5,98	134,50
SD	0,834296	1,550097	0,346948769	1,45082018	12,78329549
Skew	- 0,92369	2,246493	0,679785084	0,438485666	- 0,07579180
Average	5,47	4,16	0,93	6,23	134,37
Mode	5,56	3,2	0,67	8,7	139

Referentne vrijednosti triglicerida i kolesterola u serumu ovise o dobi, ishrani i načinu držanja životinja (Karlson, 1988.). Budući da su u našem istraživanju bili psi različite dobi koji su različito hranjeni, to je najvjerojatnije razlog neznatnog povećanja vrijednosti triglicerida i kolesterola.

Maksimalna vrijednost kreatinina u ispitivanih pasa bila je neznatno iznad gornje fiziološke granice. Prema Ramadanu i Harapinu (1998.) koncentracija kreatinina u krvi je prilično promjenljiva pa intenzivniji fizički napor može znatno povisiti njegove vrijednosti. Osim toga, vrijednosti kreatinina više su kod onih životinja koje imaju bogatiju mišićnu masu.

Zaključci

Tablice normalnih vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja predstavljaju okvir za tumačenje rezultata. Neznatna odstupanja mogu se objasniti na više načina.

Interpretaciji rezultata laboratorijskih ispitivanja treba pristupiti ozbiljno, uzimajući u obzir sve činitelje koji su na bilo koji način mogli utjecati na rezultat.

Dehidracija može biti odgovorna za pojavu hemokoncentracije (povećanje broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematokrita, povećanje koncentracije ukupnih proteina), smanjenu perfuziju bubrega s prerenalnom azotemijom (oligurija s povećanjem koncentracije ureje i kreatinina).

Povećana koncentracija glukoze, osim kod dijabetesa, susreće se i kod svih stanja s povećanim izlučivanjem adrenalina, u stanju šoka pa tako i zbog straha prilikom vađenja krvi.

Neznatno povećana koncentracija ureje u serumu najčešće je posljedica davanja hrane izuzetno bogate bjelančevinama. Porast i pad vrijednosti ureje izaziva povećano ili smanjeno uzimanje tekućine.

Referentne vrijednosti triglicerida i kolesterola u serumu ovise o dobi, ishrani i načinu držanja životinja.

Koncentracija kreatinina u krvi je prilično promjenljiva pa intenzivniji fizički napor može znatno povisiti njegove vrijednosti. Osim toga, vrijednosti kreatinina više su kod onih životinja koje imaju bogatiju mišićnu masu.

Uspoređujući hematološke i biokemijske parametre u krvi 30 istarskih goniča nisu uočena veća odstupanja od fizioloških vrijednosti.

Sažetak

U istraživanje je bilo uključeno 30 pasa istarskih goniča, 18 mužjaka i 12 ženki. Psi su bili u dobi od 1,5 do 10 godina. Svim psima izvađena je krv za hematološke i neke biokemijske parametre – glukoza, ureja, trigliceridi i kolesterol. Uspoređujući rezultate biokemijskih pretraga s fiziološkim vrijednostima uočili smo da su minimalne, odnosno maksimalne vrijednosti za glukozu i ureju neznatno ispod, odnosno iznad gornje fiziološke vrijednosti. Kod naših pasa neznatno povećana količina glukoze u krvi je najvjerojatnije posljedica straha prilikom vađenja krvi. Neznatno povećana koncentracija ureje u serumu ispitivanih pasa najvjerojatnije je posljedica davanja hrane izuzetno bogate bjelančevinama. Osim toga porast i pad vrijednosti ureje izaziva povećano ili pak smanjeno uzimanje tekućine, zbog toga je važno da životinje imaju stalni pristup svježoj vodi. Referentne vrijednosti triglicerida i kolesterola u serumu ovise o dobi, ishrani i načinu držanja životinja. Budući da su u našem istraživanju bili psi različite dobi koji su različito hranjeni, to je najvjerojatnije razlog neznatnog povećanja vrijednosti triglicerida i kolesterola. Koncentracija kreatinina u krvi je prilično promjenljiva pa intenzivniji fizički napor može znatno povisiti njegove vrijednosti. Osim toga, vrijednosti kreatinina više su kod onih životinja koje imaju bogatiju mišićnu masu. Kod naših ispitivanih pasa maksimalna vrijednost kreatinina bila je neznatno iznad gornje fiziološke granice. Maksimalne vrijednosti hematoloških parametara (eritrociti, hemoglobin, hematokrit, MCV, sedimentacija)

bile su zanemarivo iznad gornje fiziološke granice. Ukupan broj leukocita bio je u fiziološkim granicama. Diferencijalna krvna slika također nije pokazivala odstupanja od fizioloških vrijednosti.

Literatura

1. BUSH, B. M. (1998): Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians. Blackwell Science, 31-63, 132-201.
2. ETTINGER, J. S. and E. C. FELDMAN (2000): Textbook of veterinary internal medicine. W. B Saunders company, USA.
3. GRAČNER, Đ., LJ. BEDRICA, Č. LABURA, D. MATIĆIĆ, G. GREGURIĆ GRAČNER and M. SAMARDŽIJA (2007): Blood groups and haematology in Istrian pointers. *Vet. arhiv* 77, 95-102.
4. HARVEY, J. W. and W. JOHN (2001): Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. W. B. Saunders Company, USA.
5. HERDT, H. T. and J. B. STEVANS (1981): Dairy Herd Metabolic Profile Testing, Continuing Education Article S32.
6. KANEKO, J. J. and J. W. HARVEY (1997): Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, San Diego, USA.
7. KARLSON, P. (1988): Biokemija. Školska knjiga, Zagreb.
8. MEYER, D. J. and J. W. HARVEY (1997): Veterinary laboratory medicine. W. B. Saunders, Philadelphia, USA.
9. RAMADAN, P. i I. HARAPIN (1998): Interna klinička propedeutika domaćih životinja, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
10. RASKIN, R. E. and D. J. MEYER (2001): Atlas of Canine and Feline Cytology. W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
11. RAVEL, R. (1995): Clinical Laboratory Medicine Clinical Application of Laboratory Data. 6th ed., Elsevier Health Sciences, 12-13.
12. SCHALM, O. W., N. C. JAIN and E. J. CAROLL (2000): Veterinary Hematology. Lea & Febiger, USA.
13. ŠTRAUS, B. (1988): Medicinska biokemija, Medicinska knjiga, Beograd – Zagreb.
14. ZILVA, J. F. i P. R. PANNALL (1979): Klinička kemijska u dijagnostici i terapiji. Školska knjiga, Zagreb.

Determination of haematological and biochemical parameters in the blood of Istrian Pointers

Hrvoje LABURA, DVM; Ivica HARAPIN, DVM, PhD, Full Professor, Marija LIPAR, DVM, PhD, Expert Associate, Ljiljana BEDRICA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The study included 30 Istrian Pointers (18 males and 12 females), aged from 1.5 to 10 years. Blood was drawn from all dogs for haematological and biochemical tests, i.e. glucose, urea, triglycerides and cholesterol. Comparing the results of biochemical with physiological values, the minimum and maximum values for glucose and urea were found to be slightly below or above physiological values. The study group showed slightly increased glucose levels, most likely due to fear of drawing blood. A slightly higher concentration of urea in the serum of the study group was likely a consequence of an extremely rich protein diet. Furthermore, the increase and decrease of urea levels causes increased or decreased fluid intake, and therefore, it is important that the animals have regular access to fresh water. Reference values of triglycerides and cholesterol levels in the serum are dependent on age, nutrition

and the environment the animals were held in. Since the animals in the study group were of varying age and had different types of diet, this could be a likely reason for the slight increase in triglycerides and cholesterol. The concentration of creatinine in blood was quite unsteady, and more intense physical activity can greatly increase its value. In addition, creatinine values were higher in those animals with greater muscle strength. In the study group, the maximum value of creatinine was slightly above the upper physiological limit. Maximum values of haematological parameters (erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, MCV, sedimentation) were insignificantly above the upper physiological limit. The total white blood cell count was within normal limits. Differential blood count also showed no deviation from the physiological values.

VETOFLOK® LA

100 mg/ml otopina za injekciju

LIJEK IZBORA ZA DIŠNE BOLESTI GOVEDA

- JEDNOKRATNA PRIMJENA
- PRODULJENO DJELOVANJE
- CILJANA I UČINKOVITA TERAPIJA
- MINIMALNO UZNEMIRAVANJE ŽIVOTINJA
- EKONOMSKI NAJISPLATIVIJA TERAPIJA
- SIGURAN USPJEH



GENERA

U SLUŽBI VETERINARSKE MEDICINE

Genera d.d.

Svetonedeljska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok

Telefon: +385 1 33 88 888 / telefaks: +385 1 33 88 600

e-mail: info@genera.hr / www.genera.hr / www.veterina.hr

Vaš pouzdan partner

Osobitosti spolnog ciklusa sirijskog hrčka (*Mesocricetus auratus*, Waterhouse 1839.)



Dražen Đuričić i Marko Samardžija

Uvod

Najčešća vrsta hrčka koja se drži kao kućni ljubimac ili služi kao laboratorijska životinja je sirijski ili zlatni hrčak (*Mesocricetus auratus*, Waterhouse, 1839.). Postoje različite varijante ove vrste od kratkodlakih ili dugodlakih i brojnih različitih kombinacija boja, za razliku od ugroženih pripadnika vrste u prirodnim uvjetima (Fritzsche i sur., 2006.). U divljini je (Aleppo visoravan u Siriji i južna Turska) (Yigit i sur., 2000.) ova vrsta hrčka ugrožena, jer se broj staništa gdje obitavaju drastično smanjio, zbog poljoprivrede i širenja obradivih površina (Gattermann i sur., 2001.). Dužina tijela odraslih zlatnih hrčaka je 13 do 18 cm, masa 110-140 grama (Sager, 1985.), a životni vijek u zatočeništvu 2-3 godine (Deamond i sur., 1990.). Zlatni hrčak je, u prirodi, krepuskularna životinja (životinja sumraka), jer je najaktivnija kasno navečer, poslije zalaska sunca i u zoru, a u zatočeništvu je nokturnalna (Gattermann i sur., 2008.). Kao i svi pripadnici potporodice ima kožna spremišta, džepove u obrazima koji se mogu proširiti, a u divljini im služe za transport hrane do njihovih rupa. Podzemni tunel je prosječno dubok 65 cm (36-106) (Gattermann i sur., 2001.).

Imaju loš vid, kratkovidni su i slijepi za boje, ali zato imaju istančan osjet njuha (Johnston i Mueller, 1990.) i izuzetno dobro čuju (Warren, 2002.). Njuhom se služe kod međusobnog raspoznavanja, otkrivanja hrane i spolnih mirisa (feromona) (Westberry i Meredith, 2003.). Dobro čuju i mogu komunicirati u ultrazvučnom dijapazonu (Floody, 1979.), a posebno su osjetljivi na visokofrekventne zvukove (Heffner i sur., 2001.). Osjetljivi su na nagle promjene temperature zraka, ne podnose izuzetnu hladnoću ili vrućinu. Hrčci u debelom crijevu imaju određenu bakterijsku floru koja potpomaže probavu hrane, a poznati su i po cekotrofiji. Ovo su ominivorne životinje (svežderi). Iako hrčci u zatočeništvu ne spavaju zimski san, mogu usporiti rad srca i disanje, nakratko im padne tjelesna temperatura ponekad 7-10 dana. Taj period nazivamo privremena hibernacija. Za to vrijeme hrčci u zatočeništvu po nekoliko dana ne jedu. Hibernirat će samo ako temperatura okoliša padne ispod 8 °C, za to vrijeme reagiraju samo na taktilne i termičke podražaje. U prirodi hibernacija može izostati ili se prekida nekoliko puta ako ima dovoljno zaliha hrane ili ako poraste temperatura (Samardžija i Đuričić, 2011.).

Dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Veterinarska stanica Đurđevac; dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa

Promjene duljine dana (svjetlosni sati) reguliraju i pravilno ritmički tijekom godine određuju sezonus rasplođivanja u brojnih životinjskih vrsta. U sisavaca, informacije o trajanju svjetlosti tijekom dana prenose se kao neuroendokrini signali u epifizu (Karsch i sur., 1984.). Količina melatonina kojeg izluči epifiza proporcionalna je trajanju tj. duljini noći (Reiter i sur., 1980., Aleandri i sur., 1996.). Vanjski se podražaj prenosi kao neuroendokrina poruka preko fotoreceptora mrežnice oka do suprahijazmatičkih jezgri kod sibirskog hrčka (Maywood i sur., 1990., Song i sur., 2000., Leitner i Bartness, 2010.) ili do dorzomedijalnog nukleusa hipotalamusu kod sirijskog hrčka (Lewis i sur., 2002., Mason i sur., 2010.) (kod ovce do mediobazalnog hipotalamusu). Kod sisavaca fotoperiod može različito utjecati na rasplođivanje. Tako postoje životinjske vrste koje se sezonski rasplođuju kad je dan kraći, a noć dulja (tzv. "short-day breeders") (koza i ovca su sezonski poliestrične životinje, a sezona je u kasnu jesen kad su dani najkraći) ili kad je dan duži (noć kraća) tzv. "long-day breeders" (kobile, hrčci (Lewis i sur., 2002.)). Kod ovaca i koza melatonin iz epifize potiče izlučivanje gonadotropnih releasing hormona (GnRH) (počinje rasplodna sezona) (Malpaux i sur., 1993., Samardžija i sur., 2010.). Naprotiv kod hrčaka melatonin (kojeg je najviše u jesen, jer je najduža noć) inhibira izlučivanje GnRH iz hipotalamusu te prestaje rasplodna sezona (Ciaccio i Lisk, 1973.). Kad je tamni dio dana dulji izlučuje se više melatonina koji preko hipotalamusno-hipofizne osovnine djeluje na gonade u oba spola (Tamarkin i sur., 1976., Reiter i sur., 1980.). Kod mužjaka nastaje atrofija testisa i akcesornih spolnih žlijezda (Reiter, 1975.) te se nakon ponovnog produženja svjetlosnih sati povećaju (Bae i sur., 1999.).

Određivanje spola

Izbočen i zaglađen rep imaju ženke hrčaka koje su spolno zrele, a kod mužjaka je tijelo zaobljenije na obje strane repa što nije primjetno u ostalih vrsta. Mužjaci imaju velike testise u odnosu na veličinu tijela. Prije spolne zrelosti u hrčaka je teško odrediti spol. Ženka sirijskog hrčka je spolno zrela s 4 do 6 tjedana (Beery i sur., 2008.), a rasplodno dozrela s 8 do 10 tjedana kad prvi put dopušta parenje (Place i sur., 2004., Schultz i Sisk, 2006.). Ženke imaju analne i genitalne otvore koji se gotovo spajaju (Slika 1.) dok mužjaci imaju dva odvojena otvora (Slika 2.). Na blagi pritisak prema tijelu iz prepucija izlazi penis ili se vidi ružičasta izbočina unutar otvora.



Slika 1. Vanjski spolni organi ženke



Slika 2. Vanjski spolni organi mužjaka

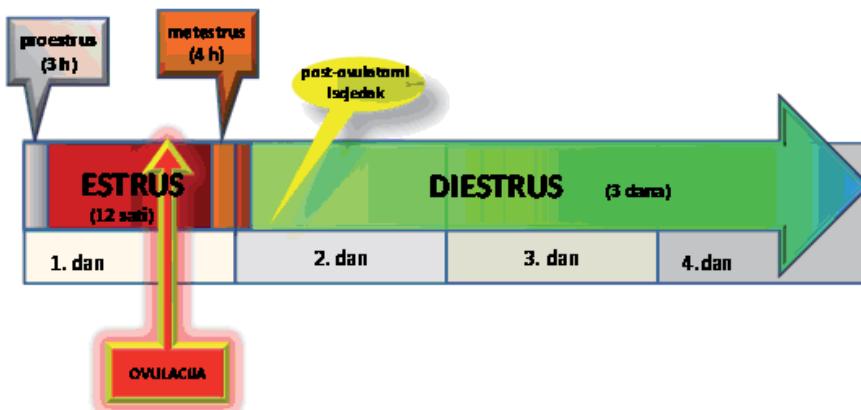
Spolni ciklus sirijskog hrčka

Za vrijeme rasplodne sezone ženka hrčka je u estrusu redovito svaka četiri dana koliko traje spolni ciklus (Carmichael i sur., 1981.). (Slika 3.) Prvog dana počinje kratki proestrus koji traje oko 3 sata. Isti dan slijedi estrus koji traje oko 12 sati te zatim metestrus (traje oko 4 sata). Za vrijeme estrusa (popodne prvog dana) epitel vagine sadrži 15-20 slojeva kubičnih i cilindričnih stanica s višeslojnim skvamoznim epitelom dok je u metestrusu epitel rodnice stanjen na 5-6 slojeva kubičnih stanica (za vrijeme anestrije sadrži samo 2-3 sloja stanica) (Grindeland i Folk, 1965., McBride i sur., 2004.). Ponašanje hrčaka za vrijeme parenja je u početku usmjereni na istraživanje i prokušavanje ženke od strane mužjaka koji se oprezno približava i rnuška. Ako ženka nije spremna na parenje napast

će mužjaka, a može ga i ozlijediti pa je poželjno parenje nadzirati. Kad je ženka spremna i primljiva za parenje ulekne leđa (lordoza), ukoči se, podigne stražnji kraj tijela i podigne rep (Slika 4. a i b). Kopulacija se može ponoviti nekoliko puta u ukupnom trajanju od 20 do 60 minuta (Bunnell i sur., 1977.).

Ovulacija nastupi sljedeći dan ujutro (2. dan ciklusa) popraćena obilnim vaginalnim iscjetkom. Iscjedak je proziran, tanak, razvlači se te ima intenzivan miris.

Za razliku od postovulatornog iscjetka koji traje samo drugi dan spolnog ciklusa, kod piometre (gnojne upale maternice) je iscjedak žučkast i traje nekoliko dana. Drugi dan ciklusa počinje diestrus, razdoblje kad ženka ne pušta mužjaka kao i u iduća 2 dana do kraja spolnog ciklusa. Hrčci su sezonski poliestrične životinje kod kojih rasplodna sezona



Slika 3. Shematski prikaz spolnog ciklusa u sirijskog hrčka



Slika 4. a i b Parenje sirijskih hrčaka

na Sjevernoj polutki traje od travnja do listopada (Gibson i Brady, 2000., Chelini i sur., 2005.). Najkraće trajanje gravidnosti (16 dana) u pravih placentalnih sisavaca (*Eutheria*) imaju zlatni hrčci. Najčešća veličina legla iznosi od 8-10 mладунaca (Slika 5.), ali može ih okotiti i više od 20 (Soderwall i sur., 1960.). Sirijski ili zlatni hrčci žive kao samci, a samo u rasplodnoj sezoni traže družicu. Ako nije vrijeme parenja, a sretnu se pripadnici istog ili različitog spola nastat će borba, često i s težim posljedicama, čak i sa smrtnim ishodom. Mogu se okotiti 2 do 5 puta u jednoj rasplodnoj sezoni. Ženka u prisutnosti drugih jedinki, buke, stranih mirisa ili nekog drugog izvora stresa može ubiti i pojesti cijelo leglo (Takahashi i Lisk, 1984.).

Poznato je da su glodavci životinje koje nemaju nekih problema s rasplodivanjem, ali životinje u zatočeništvu mogu imati smanjenu rasplodnu sposobnost zbog raznih čimbenika: poodmakla dob mužjaka i/ili ženke (Cisneros i Franklin, 1985., Xi i sur., 2000.), loša hranidba (količinski i kakovostno) (Horton i sur., 2000.), nepravilan svjetlosni režim (Console i sur., 2002.), ekstremne temperature zraka (Grindeland i Folk, 1965.), nepodudaran par, neprikladan materijal za izradu gniazda (Lanteigne i Reeks, 2006.), anestrija. Zbog kratkoće generacijskog intervala, veličine i lakoće načina držanja, sirijski hrčak često služi kao laboratorijska životinja u svrhu istraživanja fiziologije, endokrinologije i utjecaja stresa na razmnožavanje.



Slika 5. Novorođena mладунčad sirijskog hrčka

Sažetak

Zlatni ili sirijski hrčak (*Mesocricetus auratus*), je najčešća vrsta hrčaka koja se koristi u istraživačke svrhe, ali i kao kućni ljubimac. Najkraće je trajanje gravidnosti u pravih sisavaca kod ove vrste (samo 16 dana). Ženka sirijskog hrčka je spolno zrela sa 4 do 6 tjedana, a rasplodno dozrela s 8 do 10 tjedana kad prvi put dopušta parenje. Ciklus u ove vrste hrčaka traje 4 dana. Za vrijeme prvog dana ciklusa počinje proestru koji traje 3 sata, zatim slijedi estrus koji traje 12 sati te metestrus sljedeća 4 sata. Ovulacija nastupi 18-19 sati od početka spolnog ciklusa. Vrhunac estrusa nastupi jedan sat prije početka tamne faze fotoperiода kad je ženka najprimljivija za mužjaka. Ženka tad ulekne leđa i podigne rep. Kopulacija se ponovi nekoliko puta u razdoblju od 20 do 60 minuta. Ako ženka nije spremna za parenje može ozlijediti mužjaka. Nakon ovulacije, sljedećeg jutra (drugog dana) nalazimo gust, bjelkast, tanak postovulatorni vaginalni iscijedak intenzivnog mirisa. Posljednja 3 dana ciklusa je diestrus.

Literatura

- ALEANDRI, V., V. SPINA and A. MORINI (1996): The pineal gland and reproduction. Human Reprod. Update 2, 225-235.
- BAE, H. H., R. A. MANGLES, B. S. CHO, J. DARK, S. M. YELLON and I. ZUCKER (1999): Ventromedial hypothalamic mediation of photoperiodic gonadal responses in male Syrian Hamsters. J. Biol. Rhythms 14, 391-401.
- BERRY, A. K., M. J. PAUL, D. M. ROUTMAN and I. ZUCKER (2008): Maternal photoperiodic history development in Syrian hamsters. J. Biol. Rhythms 23, 445-455.
- BUNNELL, B. N., B. D. BOLAND and D. A. DEWSBURY (1977): Copulatory behavior of golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). Behaviour 61, 180-206.
- CARMICHAEL, M. S., R. J. NELSON and I. ZUCKER (1981): Hamster activity and estrus cycles: Control by a single versus multiple circadian oscillator(s). Physiol. Sci. 78, 7830-7834.
- CHELINI, M. O. M., N. L. SOUZA, A. M. ROCHA, E. C. G. FELIPPE and C. A. OLIVEIRA (2005): Quantification of fecal estradiol and progesterone metabolites in Syrian Hamsters (*Mesocricetus auratus*). Braz. J. Med. Biol. Res. 38, 1711-1717.
- CIACCIO, L. A. and R. D. LISK (1973): Central control of estrus behavior in the female Golden hamster. Estrogen sensitivity within the hypothalamus. Neuroendocrinol. 13, 21-28.
- CISNEROS P. L. and L. E. FRANKLIN (1985): Influence of age on sperm concentration in the male golden hamster. Exp. Aging. Res. 11, 183-186.
- CONSOLE, G. M., S. B. JURADO, G. CAMIHORT, R. S. CALANDRA, K. ZITTA and C. L. A. G. DUMM (2002): Morphological and biochemical

- changes of pituitary gonadotropes in male golden hamster submitted to short and long photoperiods. Cells Tissues Organs 171, 177-187.
10. DEAMOND, S. F., L. G. PORTNOY, J. D. STRANDBERG and S. A. BRUCE (1990): Longevity and age-related pathology of LVG outbred golden syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). Exper. Gerontol. 25, 433-446.
 11. FLOODY, O. R. (1979): Behavioral and physiological analyzes of ultrasound production by female hamsters (*Mesocricetus auratus*). Am. Zool. 19, 443-455.
 12. FRITZSCHE, P., K. NEUMANN, K. NASDAL and R. GATTERMANN (2006): Differences in reproductive success between laboratory and wild-derived golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) as a consequence of inbreeding. Behav. Ecol. Sociobiol. 60, 220-226.
 13. GATTERMANN, R., P. FRITZSCHE, K. NEUMANN, I. AL-HUSSEIN, A. KAYSER, M. ABIAD and R. YAKITI (2001): Notes on the current distribution and the ecology of wild golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). J. Zool. 254, 359-365.
 14. GATTERMANN, R., R. E. JOHNSTON, N. YIGIT, P. FRITZSCHE, S. LARIMER, S. ÖZKURT, K. NEUMANN, Z. SONG, E. COLAK, J. JOHNSTON and M. E. MCPHEE (2008): Golden hamsters are nocturnal in captivity but diurnal in nature. Biol. Lett. 23, 253-255.
 15. GIBSON, S. V. and A. G. BRADY (2000): In: Laboratory animal medicine and science, Series II, Syrian hamsters: Biology. University of South Alabama, Mobile, Alabama.
 16. GRINDELAND, R. E. and G. E. FOLK (1962): Effects of cold exposure on the oestrus cycle of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). J. Reprod. Fertil. 4, 1-6.
 17. HEFFNER, R. S., G. KOAY and H. E. HEFFNER (2001): Audiograms of five species of rodents: implications for the evolution of hearing and the perception of pitch. Hearing Research 157, 138-152.
 18. HORTON, T. H., O. M. BUXTON, S. LOSEE-OLSON and F. W. TUREK (2000): Twenty-four-hour profiles of serum leptin in siberian and golden hamsters: photoperiodic and diurnal variations. Horm. Behav. 37, 388-398.
 19. JOHNSTON, R. E. and U. G. MUELLER (1990): Olfactory but not vomeronasal mediation of scent marking by male golden hamsters. Physiol. Behavior 48, 701-706.
 20. KARSCH, F. J., E. L. BITTMAN, D. L. FOSTER, R. L. GOODMAN, S. J. LEGAN and J. E. ROBINSON (1984): Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. Recent Prog. Horm. Res. 40, 185-232.
 21. LANTEIGNE, M. and S. G. REEBS (2006): Preference for bedding material in Syrian hamsters. Lab. Anim. 40, 410-418.
 22. LEITNER, C. and T. J. BARTNESS (2010): Distributed forebrain sites mediate melatonin-induced short-day responses in Siberian hamsters. Endocrinol. 151, 3133-3140.
 23. LEWIS, D., D. A. FREEMAN, J. DARK, K. E. WYNNE-EDWARDS and I. ZUCKER (2002): Photoperiodic control of oestrus cycles in Syrian hamsters: Mediation by mediobasal hypothalamus. J. Neuroendocrinol. 14, 294-299.
 24. MALPAUX, B., A. DEVEAU, F. MAURICE, V. GAYRARD and J. C. THIERY (1993): Short-day effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. Biol. Reprod. 48, 752-760.
 25. MAYWOOD, E. S., R. C. BUTTERY, G. H. S. VANCE, J. HERBERT and M. H. HASTINGS (1990): Gonadal responses of the male Syrian hamster to programmed infusions of melatonin to signal duration and frequency but not to signal phase nor to lesions of the suprachiasmatic nuclei. Biol. Reprod. 43, 174-182.
 26. MASON, A. O., S. DUFFY, S. ZHAO, T. UBUKA, G. E. BENTLEY, K. TSUTSUI, R. SILVER and L. J. KRIEGSFELD (2010): Photoperiod and reproductive condition are associated with changes in RFamide-related peptide (RFRP) expression in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). J. Biol. Rhythms 25, 176-185.
 27. MCBRIDE, D. S., C. BOISVERT, G. BLEAU and F. W. K. KAN (2004): Evidence for the regulation of glycosylation of Golden hamster (*Mesocricetus auratus*) oviductin during estrus cycle. Biol. Reprod. 70, 198-203.
 28. PLACE, N. J., C. R. TUTHILL, E. E. TRAMONTIN and A. D. ZUCKER (2004): Short day lengths delay reproductive aging. Biol. Reprod. 71, 987-992.
 29. REITER, R. J. (1975): Exogenous and endogenous control of annual reproductive cycle in the male Golden hamster: Participation of the pineal gland. J. Experim. Zoo. 191, 111-119.
 30. REITER, R. J., B. A. RICHARDSON, L. Y. JOHNSTON, B. N. FERGUSON and D. T. DINH (1980): Pineal melatonin rhythm: reduction in aging Syrian hamsters. Science 210, 1372-1373.
 31. SAGER, G. (1985): Approximations for growth in weight and length of the golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse). Anat Anz. 158, 181-191.
 32. SAMARDŽIJA, M., D. ĐURIĆIĆ, T. DOBRANIC, M. HERAK i S. VINCE (2010): Raspolođivanje ovaca i koza (M. SAMARDŽIJA i M. POLETO, ur.). Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 33. SAMARDŽIJA, M. i D. ĐURIĆIĆ (2011): Raspolođivanje kunića, hrčaka i zamorčića. (M. SAMARDŽIJA, ur.). Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 34. SCHULTZ, K. M. and C. L. SISK (2006): Pubertal hormones, the adolescent brain, and the maturation of social behaviors: Lessons from the Syrian hamster. Mol. Cell. Endocrinol. 254-255, 120-126.
 35. SONG, C. K., T. J. BARTNESS, S. L. PETERSEN and E. L. BITTMAN (2000): Co-expression of melatonin (*Mel1a*) receptor and arginine vasopressin mRNAs in the Siberian hamster suprachiasmatic nucleus. J. Neuroendocrinol. 12, 627-634.
 36. SODERWALL, A. L., H. A. KENT, C. L. TURBYFILL and A. L. BRITENBAKER (1960): Variation in Gestation Length and Litter Size of the Golden Hamster, *Mesocricetus auratus*. J. Gerontol. 15, 246-248.
 37. TAKAHASHI, L. K. and R. D. LISK (1984): Intra-sexual interactions among female golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) over the estrous cycle. J. Comp. Psychol. 98, 267-275.
 38. TAMARKIN, L., W. K. WESTROM, A. I. HAMIL and B. D. GOLDMAN (1976): Effect of melatonin on the reproductive system of male and female hamsters: a diurnal rhythm in sensitivity to melatonin. Endocrinol. 99, 1534-1541.
 39. WARREN, D. M. (2002): Hamsters. In: Small animal care and management. Thomson Learning, Albany, New York (181-190).

40. WESTBERRY, J. M. and M. MEREDITH (2003): Pre-exposure to female chemosignals or intracerebral GnRH restores mating behavior in naïve male hamsters with vomeronasal organ lesions. *Chem. Senses* 28, 191-196.
41. XI, S., H. SUZUKI and K. TOYOKAWA (2000) Pregnancy- and age-dependent changes in protein profiles of uterine luminal fluid in the hamster. *J. Reprod. Dev.* 46, 47-50.
42. YIGIT, N., E. COLAK, M. SOZEN, S. OZKURT and R VERIMLI (2000): The distribution, morphology, and karyology of the genus *Mesocricetus* (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Folia Zool.* 49, 167-174.

Characteristics of the oestrous cycle of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*, Waterhouse 1839.)

Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Veterinary practice Đurđevac; Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The golden or Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) is the most common hamster used in research and maintained as a pet. Its 16-day gestation is the shortest for any eutherian mammal. The female Syrian hamster can be sexually mature as young as 4 to 6 weeks, first breeding is allowed until 8 to 10 weeks. The hamster has a four day oestrous cycle. During the first day, the hamster goes through a brief proestrus (lasting three hours), the next 12 hours is oestrus, and then next four hours is metestrus. Ovulation occurs about 18-19

hours after the first day of the oestrous cycle. The peak of oestrus occurs about one hour prior to the start of the dark phase of the photoperiod, when the female is most receptive to the male, displaying lordosis and tail lift. Copulation is repeated over 20 to 60 minutes. If the female is unreceptive, she may injure the male. After ovulation, the next morning (day 2) there is a copious, white, thick and strongly odorous postovulatory vaginal discharge. The final three days of the oestrous cycle is diestrus.

FIZIOVET
Zvonimirova 72, Zagreb, 01 2301 021, 098 1616 477
info@fizovet.hr
ekskluzivni zastupnik i distributer za

VETERINARY INSTRUMENTATION

Opremanje veterinarskih ambulanti

Kompletna oprema i instrumentarij za:

- opću i muku kirurgiju
- ortopedске i neurokirurške zahvate
- oftalmološke zahvate i dijagnostiku
- stomatološke zahvate
- Monitoring
- Dijagnostička oprema

www.vetinst.com

NOVO !!! Matrx™ aparati za inhalacijsku anesteziju

Matrx
by MIDMARK

dizajnirani za jednostavnu i sigurnu anesteziju kod malih životinja



Laboratorijski glodavci kao modeli upalne reakcije

Vanesa Ivetić Tkalčević i Ivanka Pašalić



Uvod

Obzirom na velik broj upalnih stanja s kojima se klinička praksa današnjice redovito susreće, a za koje ne postoji odgovarajuća terapija, precizno osmišljeni i detaljno opisani životinjski upalni modeli od neprocjenjive su važnosti na putu otkrića supstancija s odgovarajućim protuupalnim djelovanjem. Danas se praktično primjenjuju brojni životinjski upalni modeli, od kojih su pojedini osmišljeni još početkom prošloga stoljeća. Dio modela dobro je opisan obzirom na vrstu, pojavnost i reakcije upalnih medijatora, dok je velik broj upalnih modela u smislu navedenih parametara još uvijek nedovoljno razvijen te nije uvijek primjereno za detaljna istraživanja protuupalnih osobina odgovarajuće supstancije.

Namjera ovog preglednog rada bila je prikazati niz pokusnih modela upalnih reakcija stimuliranih na laboratorijskim glodavcima.

Klasični modeli upale na laboratorijskim glodavcima

Klasični životinjski modeli upale osmišljeni su i opisani sredinom 20. stoljeća. Obzirom na relativnu jednostavnost izvođenja i površno ispitane biomarkere upalne reakcije primjenjuju se za testiranje većeg broja testnih supstancija u svrhu potvrde postojanja protuupalnih osobina. Prema vremenskom trajanju upalne reakcije dijele se na modele akutne upale i modele kroničnih upalnih procesa. Posebnu

skupinu čine modeli razvijeni u svrhu ispitivanja pojavnosti odgovarajućih upalnih medijatora.

Klasični modeli akutne upale

Najčešće izvođeni klasični modeli akutne upale navedeni su na slici 1. Model UV-eritema u zamorčića prvi je opisao Wilhelmi (1949.). Eksperimentalni dio modela uključuje ultraljubičasto zračenje prethodno obrijanih bokova i leđa albino zamorčića omotanih u kožne prekrivače na kojima je načinjena pukotina točno određene veličine kako bi se ozračio samo određeni dio tjelesne površine. Zračenje se obavlja odgovarajućom aparaturom smještenom na 20 cm udaljenosti od površine tijela tijekom dvije minute. Jačina eritema procjenjuje se vizualno 2 i 4 sata nakon zračenja te se boduje odgovarajućim ocjenama. Danas se koristi i ponešto izmijenjena metoda koja se sastoji od zračenja uški zamorčića i miševa pri čemu se procjenjuje temperatura i debljina uške, sadržaj vode u tkivu i propusnost krvnih žila (Selve, 1991., Talalay i sur., 2009.).

Model propusnosti krvnih žila koristi se za ispitivanje sposobnosti odgovarajućih supstancija da umanjuju pojačanu propusnost krvnih žila izazvanu odgovarajućim upalnim čimbenikom koji dovodi do oslobađanja upalnih medijatora poput histamina, prostaglandina i leukotriena koji izazivaju širenje krvnih žila. Model

Dr. sc. Vanesa Ivetić TKALČEVIĆ, dr. med. vet., Ivanka PAŠALIĆ, dr. med. vet., Zagreb

se sastoji od intravenoznog tretmana štakora Evanovim modrilom 90 minuta prije intrakutanog unosa supstancije 48/80 u kožu prethodno obrijanog abdominalnog područja koja izaziva oslobađanje histamina i serotonina iz granula mastocita (Stochla, 1980., Fahmy i sur., 2006.). Devedeset minuta nakon unosa supstancije 48/80 provodi se uzimanje uzoraka kože abdominalnog područja i mjerjenje obojene kožne površine izražene u milimetrima u dva okomita smjera.

Edem uške miševa izazvan oksazolonom prvi su opisali Evans i sur. (1971.) kao model odgodene kontaktne preosjetljivosti u kojem je moguće kvantitativnom procjenom ispitati lokalni i sustavni protuupalni učinak lokalno nanesene testne supstancije (Kemeny i sur., 2010.). Životinje se senzibiliziraju nanošenjem oksazolona na prethodno obrijanu kožu abdominalnog područja ili na unutrašnju površinu obje uške 8 dana prije provokacije nanošenjem oksazolona na unutrašnju površinu desne uške. Uzorkovanje tkiva uški i njihovo neposredno vaganje provodi se 24 sata nakon provokacije. Razlika u masi pokazatelj je upalnog edema.

Model edema uške miševa i štakora izazvan krotonskim uljem opisali su Tonelli i sur. (1965.). Krotonsko se ulje nanosi na obje površine desne uške koje se 4 sata nakon izazivanja edema uzorkuju i neposredno potom važu. Razlika u masi pokazatelj je upalnog edema. Ukoliko se mjeri masa timusa, životinje se eutanaziraju 48 sati nakon izazivanja edema. Osim krotonskog ulja, primjenjuju se i kantaridin, IL-1, arahidonska kiselina te forbolni ester (Vogel, 2007.).

Jedna od često korištenih metoda za ispitivanje protuupalnog djelovanja testnih supstancija je edem stražnje šape štakora izazvan različitim upalnim čimbenicima, poput karagenina, formaldehida, dekstrana, albumina, kaolina i mnogih drugih (Vogel, 2007.). Karagenin se intraplantarno injicira u stražnju lijevu šapu štakora nakon čega

se vodootpornom bojom označi razina postranog maleolusa te se do te razine šapa uroni u odgovarajuću otopinu. Volumen se šape mjeri pletizmografski neposredno nakon tretmana karageninom te nakon 3, 6 i 24 sata, a povećana vrijednost volumena označava nastanak upalnog edema. Mjerjenje volumena šape u različitim vremenskim razmacima daje uvid u trajanje mogućeg protuupalnog djelovanja testne supstancije. Osim volumena, moguće je mjeriti i površinske temperaturne promjene šape.

Upala poplućnice u eksperimentalnih životinja izaziva se: histaminom, bradikininom, prostaglandinom, uzročnicima degranulacije mastocita, dekstranom, enzimima, antigenom, mikroorganizmima i nespecifičnim iritansima poput turpentina i karagenina (Debrito, 1989.). Karageninom izazvan pleuritis u štakora izvodi se uvođenjem igle kroz obrijanu kožu i mišiće u području između sedmog i osmog rebra desne strane u pleuralnu šupljinu te injiciranjem karagenina. Uzorkovanje se izvodi 72 sata nakon injiciranja karagenina ispiranjem pleuralne šupljine s 1 mL heparinizirane Hankove otopine i sakupljanjem aspiriranog sadržaja u plastične epruvetice. Moguće je mjeriti i volumen eksudata nakupljenog u pleuralnoj šupljini, broj leukocita u eksudatu, aktivnost lizosomalnih enzima te nakupljanje fibronektina i prostaglandina (PG)E₂ (Vogel, 2007.).

Model kožnog granuloma (Zweifel i sur., 2008.) prvi je opisao Selye (1953.). Vrlo tankom igлом načini se zračni mjehurić u obrijanoj koži središnjeg dijela leđa štakora u koji se injicira krotonsko ulje ili karagenin te se 48 sati kasnije iz mjehura izvlači zrak. Četiri ili pet dana kasnije mjehurić se otvara te se nakupljeni eksudat sakuplja u staklene epruvetice. Jačina upalne reakcije procjenjuje se prema volumenu eksudata.

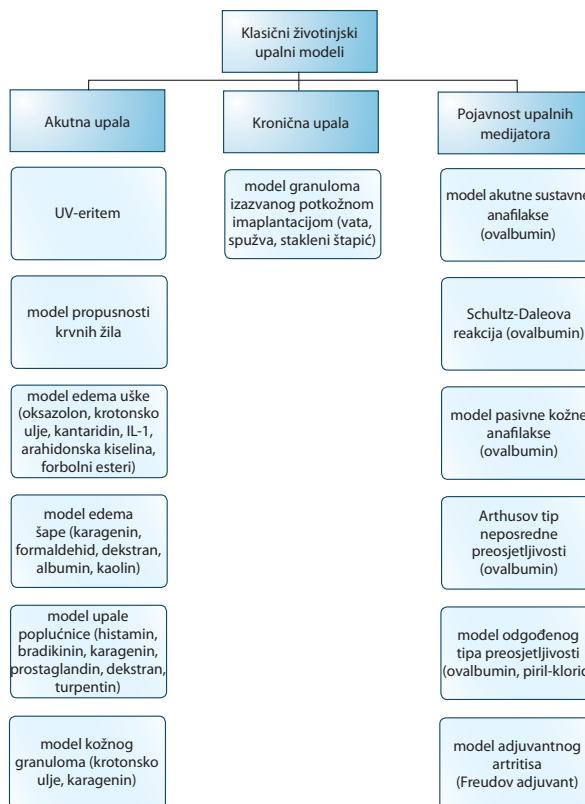
Klasični modeli kronične upale

U najpoznatije modele kronične upalne reakcije spadaju granulomi izazvani potkožnom implantacijom različitih materijala. (Slika 1).

Model nastanka granuloma tipa stranog tijela izazvanog potkožnom implantacijom vate u štakora prvi su opisali Meier i sur. (1950.). Na prethodno obrijanoj koži leđa načini se rez u oba lopatična područja te se u isprepariranom tkivu potkožja implantira sterilna kuglica vate određene mase. Nakon 7 dana vatene se kuglice uzorkuju i suše do postizanja stalne mase. Histološkom analizom moguće je uočiti pojavu divovskih stanica i nediferenciranog vezivnog tkiva te nakupljanje tekućine. Količina novostvorenog vezivnog tkiva određuje se vaganjem suhih kuglica vate. Jača se upalna reakcija može izazvati natapanjem vate karageninom ili formalinom. Uvedena je i metoda kvantitativne procjene novonastalog granulacijskog tkiva. Plastični prstenovi ugrađeni u ranama načinjenih na leđima štakora sprječavaju kontrakciju i

epitelizaciju rane i na taj način omogućuju mjerjenje nastanka granulacijskog tkiva (Vogel, 2007.).

Metodu potkožne implantacije spužvica u štakora prvi je opisao Saxena (1960.). Spužvice jednake veličine i mase steriliziraju se umakanjem u etanol i grijanjem na temperaturi od 80 °C. Prije implantacije natope se karageninom, zimozanom ili dekstranom. Na leđima štakora načini se oko 20 cm dugi rez te se u potkožnom tkivu prepariraju zasebne šupljine u koje se umeću spužvice (do 8 spužvica po životinji). Spužvice se uzorkuju 9 sati nakon implantacije kako bi se istražio sadržaj proteina, migracija leukocita i količina enzima i različitih bioloških medijatora u tekućem dijelu eksudata. U svrhu istraživanja kronične upalne faze, pored količine deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u suhoj spužvici koja upućuje



Slika 1. Podjela klasičnih upalnih modela u laboratorijskih glodavaca prema tijeku upalne reakcije i pojavnosti upalnih medijatora (IL-1 – interleukin 1)

na količinu stanica, mogu se ispitivati i heksozamin kao pokazatelj količine glikozaminoglikana te hidroksiprolin kao pokazatelj količine kolagena. Holm-Pedersen i Zederfeldt (1971.) implantirali su dvije spužvaste kocke međusobno povezane nerazgradivim kirurškim koncem. Uzorkovanje su provodili u različitim vremenskim razdobljima kako bi procijenili jačinu povezanosti dviju kocki. Bonta i sur. (1979.) su u spužvicu uveli i pričvrstili polietilensku kanilu čiji je slobodni kraj po implantaciji spužvice ostavljen izvan organizma, čime je omogućeno višekratno injiciranje različitih terapeutika ili upalnih čimbenika u spužvicu.

Eksperimentalni model nastanka granuloma u štakora izazvanog staklenim štapićem opisao je Vogel (2007.) kao model kronične proliferativne upale. Na novostvorenom vezivnom tkivu, pored vlažne i suhe mase, bilo je moguće istražiti i njegov kemijski sastav te mehanička svojstva. Sterilni stakleni štapići tupih krajeva, određena promjera i dužine implantiraju se u potkožno prepariran tunel kaudokranijalnog smjera na prethodno obrijanim leđima. Nakon 20-40 dana uzorkuju se štapići s okolnim novonastalim vezivnim tkivom te se izvuče štapić kako bi se dobilo čisto vezivno tkivo i odredila njegova vlažna masa. Mehanička se svojstva tkiva određuju posebnom aparaturom mjerjenjem snage koja je potrebna da bi se ono prekinulo. Tkivo se suši kako bi se odredila njegova suha masa. Moguće je u tkivu odrediti i količinu kolagena i glikozaminoglikana.

Klasični modeli uspostavljeni u svrhu istraživanja pojavnosti upalnih medijatora

Najpoznatiji životinjski modeli razvijeni u svrhu ispitivanja pojavnosti različitih upalnih medijatora prikazani su na slici 1. U modelu akutne sustavne anafilaksije štakori se imuniziraju intramuskularnim injiciranjem

ovalbumina i intraperitonealnim unosom suspenzije *Bordetella pertussis* kao adjuvantu (Davies i Evans, 1973.). Na taj način potiče se vezanje IgE protutijela za površinu mastocita i bazofila. Nakon 11 dana životinje se provočiraju intravenoznim unosom ovalbumina što rezultira stvaranjem antigen-protutijelo kompleksa na površini mastocita i bazofila u krvi i organima. To dovodi do oslobođanja histamina, serotonina i prostaglandina koji izazivaju anafilaktički šok s 80%-tnom smrtnošću. Kao konačni rezultat buduju se simptomi šoka i određuje postotak uginuća.

U modelu Schultz-Daleove reakcije (Dale, 1913.) zamorčići se senzibiliziraju ovalbuminom precipitiranim s alumom. Smjesa se istovremeno injicira u svaku šapu i potkožno. Nakon 4 tjedna uzorkuje se ileum koji se očisti i smjesti u posebno pripremljenu organsku kupku u kojoj je moguće poligrafom mjeriti njegovu kontraktilnost nakon dodavanja testne supstancije i ovalbumina.

Pasivna kožna anafilaksija (Trinh i sur., 2007.) je imunološka reakcija neposrednog tipa koja se sastoji od pasivne imunizacije štakora intradermalnom injekcijom anti-ovalbumina u prethodno obrijanu kožu leđa i intravenozne provokacije ovalbuminom 24 sata kasnije. Nastaju antigen-protutijelo kompleksi koji vezanjem za površinu mastocita izazivaju oslobođanje njihovih upalnih medijatora sa širenjem i povećanom propusnošću krvnih žila i izlaskom plazme. S ovalbuminom se injicira i Evansovo modrilo koje se veže za albumin plazme stvarajući plavu točku u koži na mjestu injiciranja anti-ovalbumina, koja upućuje na nastanak anafilaktičke reakcije. Jačina se boje mjeri kolorimetrijskom metodom.

Arthursov tip neposredne preosjetljivosti obuhvaća upalne medijatore koji su uključeni u akutni odgovor što se javlja u zglobovima ljudi oboljelih od reumatizma. Štakori se intramuskularno senzibiliziraju mješavinom ovalbumina i pertusis cjepiva 7 dana prije provokacije životinja injiciranjem ovalbumina u stražnju lijevu

šapu. Precipitirajući antigen-protutijelo kompleksi aktiviraju komplement i neutrofile dovodeći do upalne reakcije koja se nakon 2-8 sati očituje edemom šape i krvarenjem (Vogel, 2007.).

Odgodeni tip preosjetljivosti predstavlja stanični tip imunosne reakcije (Titus i Chiller, 1981.). Štakori se senzibiliziraju intramuskularnim injiciranjem ovalbumina 7 dana prije provokacije životinja injiciranjem ovalbumina u stražnju lijevu šapu. Debljina se šape mjeri odmah i 24 sata nakon provokacije.

Eksperimentalni model adjuvantnog artririsa u štakora ima puno sličnosti s humanim reumatoidnim artritisom (Pearson i Wood, 1959., Stofkova i sur., 2010.). U stražnju se lijevu šapu Wistar-Lewis štakora injicira kompletni Freudov adjuvant koji nakon 3-5 dana izaziva primarnu upalnu reakciju u obliku povećanog volumena injicirane šape. Nakon 21 dana nastaje sekundarna upalna reakcija na drugoj stražnjoj nozi, prednjim šapama, nosu, ušima i repu. Ujedno se smanjuje i tjelesna masa životinja i slabim imunološki odgovor. Zanimljivo je da protuupalne supstancije, za razliku od imunosuspresivnih, ne umanjuju nastanak sekundarnih reakcija.

Suvremeni modeli upale u laboratorijskih glodavaca

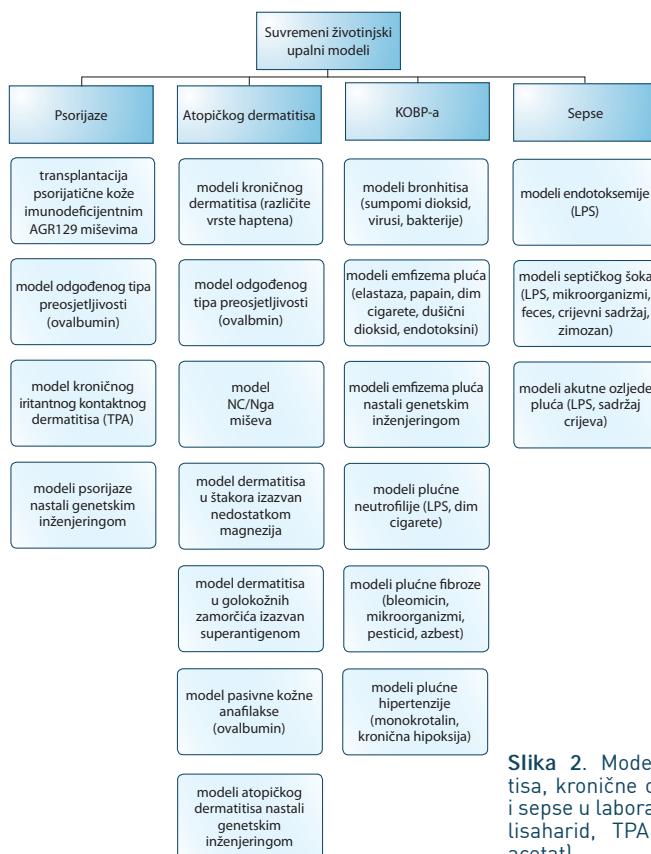
Životinjski se eksperimentalni modeli osmišljaju i profiliraju u skladu s problematikom iz kliničke prakse kako bi omogućili bolje razumijevanje molekularnih mehanizama i patofiziologije odgovarajućih bolesti te ubrzali postupak pronalaska djelotvornog i neškodljivog terapeutskog pripravka. Idealni životinjski model trebao bi izražavati sve karakteristike određene bolesti, uključujući njene kliničke, imunološke, stanične, molekularne i genetske osobine. Međutim, zbog razlika u imunološkom, ali i drugim organskim sustavima između laboratorijskih glodavaca i ljudi gotovo je nemoguće

osmisliti model koji bi savršeno odgovarao patološkom stanju u čovjeka. Stoga je uveden niz različitih modela od kojih svaki odražava određeni dio patofiziologije ili odgovarajući signalni put koji nalikuju onima u ljudi. (Slika 2).

Eksperimentalni modeli psorijaze i atopičkog dermatitisa

Psorijaza se javlja kao posljedica utjecaja genetskih i okolišnih čimbenika koji dovode do ljuštenja kože, rjenog zadebljanja, crvenila i pojave pustula. Bolest je karakterizirana porastom koncentracije Th1 citokina - interferona (IFN)- γ , interleukina (IL)-2, tumor nekrotizirajućeg faktora (TNF)- α i IL-8 te ubrzanim diferencijacijom i migracijom keratinocita. Budući da pojava psorijaze osim u ljudi nikada nije zabilježena u drugih vrsta, najidealniji eksperimentalni životinjski model psorijaze obuhvaća transplantaciju psorijatične kože imunodeficijentnim AGR129 miševima kojima je genetskom modifikacijom onemogućeno stvaranje T i B limfocita te osim što sadrže nezrele NK (engl. *natural killer*) stanice uklonjeni su im i tip I i tip II IFN receptori (Boyman i sur., 2004.). Na taj način nemaju sposobnost odbacivanja presatka humane kože. U miševa navedenog soja moguće je presaditi i pre-psorijatičnu kožu koja unutar 6-8 tjedana od presađivanja spontano razvija psorijatične simptome. Proliferacija lokalnih T-limfocita u pre-psorijatičnoj koži ovisi o stvaranju TNF- α , što u konačnici izaziva nastanak psorijatičnih lezija. Uslijed presađivanja isključivo kožnih stanica, u patofiziologiji bolesti ne sudjeluju periferne stanice i stanice koštane srži pa model nije pogodan za testiranje supstancija koje djeluju putem tih stanica.

Model kroničnog irritantnog kontaktog dermatitisa izaziva se nanošenjem 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetata (TPA) na površinu uške svakodnevno tijekom 10 dana. Nastaju eritem, edem i ljuštenje kože uške te



Slika 2. Modeli psorijaze, atopičkog dermatitisa, kronične opstruktivne bolesti pluća (KOBP-a) i sepsa u laboratorijskih glodavaca (LPS – lipopolisaharid, TPA – 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetat)

epidermalna hiperplazija i nakupljanje monocita i limfocita. U tkivu uške povišene su koncentracije IL-1 β , TNF- α , IL-2 i IL-4 (Skak-Nielsen i sur., 1999.).

Osnovna karakteristika životinjskih modela psorijaze nastalih genetskim inženeringom je očitovanje psorijatičnog fenotipa s nakupljanjem neutrofila i T-limfocita (Petersen, 2006.). Tu spadaju K14/VEGF transgenični miševi, Tie-2-transgenici, α - i β -integrin transgenične životinje, miševi koji ne očituju IL-1ra, TGF- β -1 transgenici, IL-20 transgenični miševi, K5.STAT3C miševi i miševi kojima nedostaje epidermalni Jun protein.

Atopički dermatitis je kronična upalna kožna bolest koja nastaje kao posljedica kožne preosjetljivosti na određene vanjske čimbenike koji aktiviraju sustavne i lokalne imunološke i upalne

signalne puteve i dovode do smanjene obrambene sposobnosti kože. Akutne lezije karakterizirane su nakupljanjem CD4 $^{+}$ aktiviranih pomoćničkih T-limfocita, Langerhansovih stanica, makrofaga i mastocita s protutijelima IgE razreda imunoglobulina (IgE) te povećanom koncentracijom Th1 citokina. U kroničnim je lezijama povećani broj antigen prezentirajućih (APC, engl. *antigen presenting cells*) stanica i makrofaga te povišena koncentracija IL-5, GM-CSF (engl. *granulocyte monocyte – colony stimulating factor*), IL-12 i IFN- γ (Petersen, 2006.).

Modeli dermatitisa izazvani haptenima provode se njihovim lokalnim nanošenjem na površinu kože svaki drugi dan tijekom 3-4 tjedna čime Th1 citokinski odgovor u početnom

odgođenom tipu preosjetljivosti prelazi u Th2 odgovor u kroničnom stadiju bolesti. U kroničnim lezijama nakupljaju se eozinofili, neutrofili i limfociti s pojmom fibroze, epidermalne hiperplazije i povišenom koncentracijom IgE protutijela (Webb i sur., 1998.).

NC/Nga soj miševa je ponajbolje opisan model atopičkog dermatitisa. Ovi miševi, držani u odgovarajućim konvencionalnim mikroklimatskim uvjetima, spontano razvijaju simptome atopičkog dermatitisa (Vestergaard i sur., 1999.). U starosti od 8 tjedana nastaju alopecije, svrbež, eritem, hemoragija, ljuštenje i suhoća kože. Histološki nalaz upućuje na povećan broj mastocita i njihovu pojačanu degranulaciju, nakupljanje eozinofila i mononuklearnih leukocita te zadebljanje epidermisa s hiperkeratozom i parakeratozom. Također, povećana je koncentracija IgE protutijela te Th2 citokina i kemokina.

Model atopičkog dermatitisa u štakora izazvan nedostatkom magnezija nastaje hranjenjem tek okoćenih životinja hranom siromašnom magnezijem (Bavandi i sur., 1992.). Unutar 3-4 dana razvijaju se klinički simptomi bolesti s akutnim eritematoznim makulopapularnim osipom i jakim svrabom. Lezije su histološki karakterizirane nakupljanjem makrofaga, eozinofila i limfocita te velikim brojem degranuliranih mastocita.

Model dermatitisa u golokožih zamorčića izazvan superantigenom razvijen je jer je više od 90% pacijenata oboljelih od atopičkog dermatitisa inficirano superantigen-stvarajućom bakterijom *Staphylococcus aureus* (Skov i sur., 2000.). Superantigeni aktiviraju T limfocite i makrofage te nastanak IgE protutijela što je izravno povezano s jačinom kožnih promjena. Intradermalna injekcija stafilokoknog enterotoksina B u golokožih zamorca unutar 24 sata izaziva jaku upalnu reakciju kože s eritemom, hiperemijom i edmom (Petersen i sur., 2003.).

Pasivna se kožna anafilaksia u miševa, karakterizirana degranulacijom mastocita s visokom koncentracijom IgE protutijela,

izvodi intradermalnim injiciranjem antiovalbumina u kožu uške 48 sati prije intravenoznog unošenja ovalbumina s Evansovim bojilom (Inagaki i sur., 1984.). Unutar 15-30 minuta aktiviraju se mastociti što je moguće izmjeriti količinom Evansova bojila izašlog iz krvnih žila te edemom uške i povišenom koncentracijom IL-1 β i TNF- α citokina.

Postoje i brojni životinjski modeli atopičkog dermatitisa nastali genetskim inženjeringom (Petersen, 2006.), poput transgeničnih miševa koji pojačano eksprimiraju IL-4, IL-5, IL-13, IL-18 i IL-31 te miševa kojima nedostaje transkripcijski faktor RelB ili MAIL, nuklearni I κ B protein.

Eksperimentalni modeli kronične opstruktivne bolesti pluća (KOBP)

KOBP nije jedna jedinstvena bolest, već predstavlja niz patoloških stanja nastalih uslijed smanjenog protoka zraka kao posljedice strukturalnih i upalnih promjena dišnih puteva i plućnog tkiva (Cosio i sur., 2009.). Karakterizirana je kroničnim bronhitisom, fibrozom i emfizemom. Glavni uzročnici bolesti su pušenje, okolišni čimbenici i genetska predispozicija.

Ne postoji jedinstveni životinjski model za KOBP, već niz modela od kojih svaki predstavlja određeni dio njene patofiziologije. Dijele se na modele koji predstavljaju kliničke simptome bolesti (bronhitis, emfizem) te na modele koji predstavljaju određenu patofiziologiju (fibroza, migracija upalnih stanica, kašalj, plućna hipertenzija).

Sимптоми pojačanog izlučivanja sluzi, epitelne promjene i upala dišnog sustava s opstrukcijom dišnih prohoda i pojmom kašla izazivaju se irritantnim čimbenicima poput plinova i sitnih čestica, raznim mikroorganizmima (virusnim i bakterijskim) i farmakološkim pripravcima (Underwood, 1999.). Kronično izlaganje životinja sumpornom dioksidu (2-6 sati dnevno, 5-7 dana tjedno, kroz 2-6 tjedana) dovodi do porasta broja sekretornih stanica

u epitelu dišnih prohoda, zadebljanja dišnog epitela, smanjenog protoka sluzi u dušniku te povećane ekspresije gena sluznice dišnih prohoda.

Emfizem pluća karakteriziran je stalnim značajnim povećanjem zračnih prohoda distalno od završetka bronhiola kao posljedice neujednačenog razaranja alveolarnih stijenki bez pojave fiboze. Modeli emfizema izazivaju se jednokratnim intratrahealnim uvođenjem elastaze ili papaina, dima cigarete, dušičnog dioksida ili endotokksina (Underwood, 1999.). Najčešće se primjenjuje model jednokratnog intratrahealnog uvođenja elastaze iz govede ili humane gušterice, ili neutrofilne elastaze u hrčaka. Elastaza izaziva akutni alveolitis s nakupljanjem neutrofila što dovodi do razgradnje elastina, razaranja alveolarnog epitela, edema pluća, hemoragije i povećanja zračnih prohoda. Akutni upalni odgovor završava nakon tjedan dana, a novonastali elastin i kolagen dovode do trajno poremećene alveolarne strukture. Postoje i genetskim inženjeringom dobiveni sojevi miševa s naslijednim nedostatkom α -1 antiproteaze, što tijekom vremena dovodi do potpunog gubitka plućnog elastina (de Santi i sur., 1995.). Uzgojen je i soj miševa u kojeg prehrana siromašna bakrom koji je neophodan za lizil-oksidazu, važan enzim vezivnog tkiva, rezultira nastankom panlobularnog emfizema (Ranga i sur., 1993.).

Nakupljanje upalnih stanica u plućima uključuje tri međusobno povezana stadija: a) aktivaciju upalnih stanica iz koštane srži ili slezene te njihov prolazak kroz endotel krvnih žila, b) proliferaciju i nakupljanje upalnih stanica na mjestu upale i c) rezoluciju upalne reakcije dijapedezem upalnih stanica u lumen dišnih prohoda, njihovu apoptozu i fagocitozu. Neutrofili čine glavninu populacije upalnih stanica u plućima kod KOBP-a. Iz njih se oslobođaju elastaza, citokini i kemokini. Najčešće izvođeni model s navedenim simptomima je plućna neutrofilija izazvana lipopolisaharidom (LPS). Životinje se intranasalno ili intratrahealno tretiraju LPS-om koji u plućnom tkivu primarno

izaziva nakupljanje neutrofila, a kasnije i monocita i limfocita te porast koncentracije TNF- α i IL-1 iz alveolarnih makrofaga (Szarka i sur., 1997.). Koristi se i model opetovanog izlaganja eksperimentalnih životinja dimu cigareta čime nastaje upalna reakcija dužeg tijeka (Underwood, 1999.).

Plućna fibroza predstavlja proliferativni odgovor plućnog tkiva na određenu ozljedu, a odlikuje se promijenjenom strukturon i funkcijom pluća zbog pretjeranog nakupljanja makromolekula plućnog matriksa i alveolarne upalne reakcije. U svrhu izazivanja fiboze, koriste se bleomicin, mikroorganizmi, zračenja, pesticidi ili azbest. Najbolje je proučen model plućne fiboze izazvane jednokratnom sustavnom ili intratrahealnom primjenom bleomicina koja nakon 2 tjedna dovodi do nastanka plućne fiboze. Fibroza se procjenjuje morfološki i porastom koncentracije hidroksiprolina koja upućuje na pojačano odlaganje kolagena (Moeller, 2006.).

Plućna hipertenzija nastaje kao posljedica povećanog otpora u krvnim žilama pluća. Osnovne značajke plućne hipertenzije su hipertrofija desne srčane klijetke, pojačani otpor u krvnim žilama te hiperplazija i hipertrofija miokarda. Uvedena su dva životinska modela plućne hipertenzije. U prvom modelu jednokratna parenteralna injekcija monokrotalina dovodi do ozljede endotela krvnih žila pluća, hipertenzije i hipertrofije desne srčane klijetke te upalne reakcije koja rezultira ozljedom alveola (Meyrick, 1991.). U drugom modelu primjenjuje se kronična hipoksija koja izaziva niz kardiopulmonarnih reakcija što rezultira plućnom hipertenzijom (Rabinovitch, 1991.).

Eksperimentalni modeli sepsе

Patogeneza sepsе uključuje nekoliko međusobno povezanih patoloških stanja izazvanih bakterijskom infekcijom (Lever i Mackenzie, 2007.). Odlikuje se oslobođanjem brojnih upalnih medijatora koji dovode do sindroma sustavne upalne reakcije (SIRS, engl.

systemic inflammatory response syndrome) koja rezultira aktivacijom i migracijom leukocita u različite organe, uključujući i plućno tkivo čime nastaje akutna ozljeda pluća (ALI, engl. *acute lung injury*), karakterizirana infiltracijom aktiviranih neutrofila u plućno tkivo. Nakupljeni neutrofili oslobođaju proteolitičke enzime, proupatne citokine i slobodne kisikove radikale (ROS, engl. *reactive oxygen species*) oštećujući plućno tkivo. Konačni stupanj sepse je septički šok sa sindromom poremećaja funkcije višestrukih organskih sustava (MODS, engl. *multiple organ dysfunction syndrome*) i smrtnim ishodom.

Životinjski modeli sepse dijele se na modele izazvane endotoksinom i one izazvane bakterijskom infekcijom. Izbor odgovarajućeg modela ovisi o vrsti testirane supstancije. Ukoliko se ispituju protuupalni učinci antibiotika, model izbora trebao bi biti sepsa izazvana endotoksinom kako bi se jasno odvojili protuupalni od protubakterijskih učinaka (Ivetić Tkalčević i sur., 2006., 2008.). Obzirom na složenost patološkog procesa sepse, eksperimentalni modeli osmišljeni su na način da oponašaju pojedine dijelove njene patofiziologije.

Endotoksemija se izaziva sustavnim unošenjem subletalnih doza endotoksina ili odgovarajućeg mikroorganizma pri čemu su klinička obilježja sepse posljedica snažnog imunološkog odgovora domaćina. Intravenozna ili intraperitonealna primjena LPS-a izaziva prolaznu limfopeniju i porast koncentracije TNF- α , IL-1, CXC kemokina KC (engl. *keratinocyte-derived chemokine*) i MIP-2 (Copeland i sur., 2005.) u serumu. Primijenjen u letalnoj dozi, LPS izaziva septički šok sa smrtnim ishodom.

U svrhu izazivanja akutne ozljede pluća pokušne životinje se tretiraju LPS-om ili mikroorganizmima koji dovode do plućne neutrofilije. Primjena LPS-a može biti lokalna – intranasalna ili intrahealna koja dovodi do nakupljanja neutrofila u plućnom tkivu kao što je prethodno opisano u životinjskim modelima KOBP-a. Isto tako i intravenozna injekcija LPS-a u

štakora izaziva nakupljanje neutrofila u plućnom tkivu te porast koncentracije bronhoalveolarnog MPO, TNF- α i IL-6 (Hofstra i sur., 2010.). Calkins i sur. (2001.) su intraperitonealnom injekcijom LPS-a izazvali akutnu ozljedu pluća s povišenom koncentracijom TNF- α , KC i MIP-2 u plućnom tkivu i pojačanim nakupljanjem neutrofila. Nadalje, ligacijom crijeva ispod ileocekalnog zališka te bušenjem slijepog crijeva mikroorganizmi izašli iz crijevnog sadržaja izazivaju peritonitis i sepsu s akutnom ozljedom pluća (Chopra i sur., 2009.). Chopra i sur. (2009.) inficirali su štakore intraperitonealnom injekcijom sadržaja slijepog crijeva iz zdrave životinje i na taj način izazvali peritonitis čija je jačina bila izravno povezana s dužinom trajanja sepse. Intraperitonealna infekcija dovela je do nastanka plućnog edema s nakupljanjem neutrofila u plućnom tkivu što je upućivalo na akutnu ozljedu pluća.

Septički šok je moguće izazvati intraperitonealnim unosom fecesa koji izazivajući peritonitis najčešće dovodi do uginuća pokusnih životinja. Umjesto fecesa češće se primjenjuje intraperitonealni bakterijski inokulum (*Escherichia coli* ili *Bacteroides fragilis*). Postotak uginuća osim o vrsti i soju pokusnih životinja ovisi i o broju unesenih bakterija što čini ovaj model jednostavnijim u smislu njegova uvođenja i ponovljivosti od modela septičkog šoka izazvanog fecesom (Deitch, 2005.). Često korišteni model septičkog šoka u miševa uključuje i prodror crijevnog sadržaja prirodno inficiranog bakterijama u trbušnu šupljinu. Model se zasniva na operativnom zahvalu kojim se na uzlazni dio kolona umeće prstenasta proteza koja predstavlja septično žarište. Postotak smrtnosti moguće je mijenjati promjenom veličine prstena. Ovaj postupak, između ostalog, rezultira i nastankom akutne upale pluća, zatajenjem bubrega te funkcionalnim promjenama stanica koštane srži. Od upalnih medijatora, glavnu ulogu u navedenom modelu imaju proupatni citokini IL-1 i IFN- γ (Zantl i sur., 1998.). Na sličan je način sepsu moguće izazvati i ligacijom crijeva ispod ileocekalnog zališka te bušenjem slijepog crijeva uporabom

tanke igle čime nastaje sustavna upalna reakcija sa septičkim šokom. Model se odlikuje povišenom koncentracijom IL-6 i TNF- α te anafilaksina C5a i njegova receptora C5aR (Rittirsch i sur., 2007.). Postotak smrtnosti te koncentracija navedenih citokina u serumu raste s porastom dužine ligiranog dijela slijepog crijeva. Od ostalih parametara značajni su debljina igle kojom se buši slijepo crijevo i broj izazvanih pukotina.

Zaključak

Svaki doprinos boljem razumijevanju patofiziologije upalnih bolesti, koja je u velikom opsegu i dalje nepoznata, doprinos je putu do bolje terapije. Klasični životinjski modeli, kao i klasična medicina, često se zasnivaju na biomarkerima s relativno površnim pristupom proučavanju i razumijevanju osnovnih patofizioloških događanja koji dovode do uočenih pojava. Uz pomoć suvremenih znanstvenih tehnika i spoznaja o patofiziologiji humanih upalnih bolesti, važno je prije svega pravilno definirati molekularne mehanizme koje dolični životinjski model bolesti predstavlja. Samo tada će oni moći poslužiti boljem razumijevanju učinka nekog lijeka i pružiti osnovu za predviđanja njegovog mogućeg učinka na ljude.

Sažetak

Namjera ovog preglednog rada bila je prikazati niz pokusnih modela upalnih reakcija stimuliranih na laboratorijskim glodavcima. Obzirom na složenost etiologije i simptoma upalnog procesa, upalni modeli uspostavljeni na laboratorijskim glodavcima najčešće se dijele prema trajanju upalne reakcije na modele koji predstavljaju akutnu upalu i modele koji se bave kroničnim upalnim procesima. Klasični modeli upalne reakcije na laboratorijskim glodavcima (UV-eritem, model propusnosti krvnih žila, model edema uške i šape, model upale poplućnice, model kožnog i potkožnog granuloma, model akutne sustavne anafilaksije, Schultz-Daleova reakcija, model pasivne kožne anafilaksije, Arthursov tip neposredne preosjetljivosti, model odgođenog tipa preosjetljivosti, model adjuvantnog

artritisa) se uslijed relativne jednostavnosti izvođenja i površno ispitanih biomarkera upale najčešće primjenjuju za testiranje većeg broja supstancija u svrhu potvrde postojanja protuupalnih osobina. Pored navedenih, danas postoji i niz suvremenijih modela upale poput eksperimentalnih modela psorijaze, atopičkog dermatitisa, kronične opstruktivne bolesti pluća i sepse, a sve je češća primjena i laboratorijskih glodavaca nastalih genetskim inženjeringom koji omogućuju uvid u mehanizam djelovanja testne supstancije.

Naši podatci o protuupalnim učincima makrolijdnih antibiotika na modelu miša raspravljeni su u kontekstu pokusnog dizajna sepsizazvane bakterijskim lipopolisaharidom radi nedvojbenog odvajanja protuupalnih od protubakterijskih učinaka.

Literatura

- BAVANDI, A., J. G. MEINGASSNER and S. BECKER (1992): Diet-induced dermatitis response of hairless rats to systemic treatment with cyclosporin A (Sandimmune), cyclosporin H and FK506. *Exp. Dermatol.* 1, 199-205.
- BONTA, I. L., M. J. P. ADOLFS and M. J. PARNHAM (1979): Cannulated sponge implants in rats for the study of time-dependent pharmacological influences on inflammatory granulomata. *J. Pharmacol. Meth.* 2, 1-11.
- BOYMAN, O., H. P. HEFTI, C. CONRAD, B. J. NICKOLOFF, M. SUTER and F. O. NESTLE (2004): Spontaneous development of psoriasis in a new animal model shows an essential role for resident T cells and tumor necrosis factor- α . *J. Exp. Med.* 199, 731-736.
- CALKINS, C. M., D. D. BENSARD, J. K. HEIMBACH, X. MENG, B. D. SHAMES, E. J. PULIDO and R. C. Jr. MCINTYRE (2001): L-Arginine attenuates lipopolysaccharide-induced lung chemokine production. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 280, 400-408.
- CHOPRA, M., J. S. REUBEN and A. C. SHARMA (2009): Acute lung injury: apoptosis and signaling mechanisms. *Exp. Biol. Med.* 234, 361-371.
- COPELAND, S., H. S. WARREN, S. F. LOWRY, S. E. CALVANO and D. REMICK (2005): Acute inflammatory response to endotoxin in mice and humans. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12, 60-67.
- COSIO, M. G., M. SAETTA and A. AGUSTÍ (2009): Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 360, 2445-2454.
- DALE, H. H. (1913): The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea-pig. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 4, 167-223.
- DAVIES, G. E. and P. D. EVANS (1973): Studies with two new phosphodiesterase inhibitors (ICI 58,301 and ICI 63,197) on anaphylaxis in guinea pigs, mice and rats. *Int. Arch. Allergy* 45, 467-478.

10. DEBRITO, F. B. (1989): Pleurisy and pouch models of acute inflammation. In: ALAN, R.: Pharmacological Methods in the Control of Inflammation. Liss, Inc. (173-194).
11. DEITCH, E. A. (2005): Rodent models of intra-abdominal infection. Shock 24, 19-23.
12. DE SANTI, M. M., P. A. MARTORANA, E. CAVARRA and G. LUNGARELLA (1995): Pallid mice with genetic emphysema. Neutrophil elastase burden and elastin loss occur without alteration in the bronchoalveolar lavage cell population. Lab. Invest. 73, 40-47.
13. EVANS, P. D., M. HOSSACK and D. S. THOMSON (1971): Inhibition of contact sensitivity in the mouse by topical application of corticosteroids. Br. J. Pharmacol. 43, 403.
14. FAHMY, R. G., A. WALDMAN, G. ZHANG, A. MITCHELL, N. TEDLA, H. CAI, C. R. GECZY, C. N. CHESTERMAN, M. PERRY and L. M. KHACHIGIAN (2006): Suppression of vascular permeability and inflammation by targeting of the transcription factor c-Jun. Nat. Biotechnol. 24, 856-863.
15. HOFSTRA, J. J., A. P. VLAAR, A. D. CORNET, B. DIXON, J. J. ROELOFS, G. CHOI, T. VAN DER POLL, M. LEVI and M. J. SCHULTZ (2010): Nebulized anticoagulants limit pulmonary coagulopathy, but not inflammation, in a model of experimental lung injury. J. Aerosol Med. Pulmon. Drug Deliv. 23, 105-111.
16. HOLM-PEDERSEN, P. and B. ZEDERFELDT (1971): Granulation tissue formation in subcutaneously implanted cellulose sponges in young and adult rats. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 5, 13-16.
17. INAGAKI, N., S. GOTO, H. NAGAI and A. KODA (1984): Mouse ear PCA as model for evaluating antianaphylactic agents. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 74, 91-92.
18. IVETIĆ TKALČEVIĆ, V., B. BOŠNJAK, B. HRVĀČIĆ, M. BOSNAR, N. MARJANOVIĆ, Ž. FERENČIĆ, K. ŠITUM, O. ČULIĆ, M. J. PARNHAM and V. ERAKOVIĆ (2006): Anti-inflammatory activity of azithromycin attenuates the effects of lipopolysaccharide administration in mice. Eur. J. Pharmacol. 539, 131-138.
19. IVETIĆ TKALČEVIĆ, V., B. BOŠNJAK, I. PAŠALIĆ, B. HRVĀČIĆ, K. ŠITUM, M. DOMINIS KRAMARIĆ, I. GLOJNARIĆ and V. ERAKOVIĆ HABER (2008): The anti-inflammatory activity of clarithromycin inhibits TNF α production and prolongs survival following lipopolysaccharide administration in mice. Int. J. Antimicrob. Agents 32, 195-196.
20. KEMENY, A., D. REGLODI, R. CSEHAROVSKY, H. HASHIMOTO, A. BABA, J. SZOLCSANYI, E. PINTER and Z. HELYES (2010): Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide Deficiency Enhances Oxazolone-Induced Allergic Contact Dermatitis in Mice. J. Mol. Neurosci. 42, 443-449.
21. LEVER, A. and I. MACKENZIE (2007): Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. BMJ 335, doi: 10.1136/bmj.39346.495880.AE.
22. MEIER, R., W. SCHULER und P. DESAULLES (1950): Zur frage des mechanismus der hemmung des bindegewebswachstums durch cortisone. Experientia 6, 469-471.
23. MEYRICK, B. (1991): Structure function correlates in the pulmonary vasculature during acute lung injury and chronic pulmonary hypertension. Toxicol. Pathol. 19, 447-457.
24. MOELLER, A., J. C. RODRIGUEZ-LECOMPTÉ, L. WANG, J. GAULDIE and M. KOLB (2006): Models of pulmonary fibrosis. Drug Discovery Today: Disease Models 3, 243-249.
25. PEARSON, C. M. and F. D. WOOD (1959): Studies on polyarthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterium adjuvant. I. General clinic and pathological characteristics and some modifying factors. Arthr. Rheum. 2, 440-459.
26. PETERSEN, T. K., A. FULLERTON, H. AAES, E. BRAMM and L. BINDERUP (2003): Studies of selected anti-inflammatory compounds in superantigen induced dermatitis in hairless guinea pigs as determined by clinical scoring and multiparametric non-invasive measuring techniques. Inflamm. Res. 52, 106.
27. PETERSEN, T. K. (2006): *In vivo* pharmacological disease models for psoriasis and atopic dermatitis in drug discovery. Bas. Clin. Pharmacol. Tox. 99, 104-115.
28. RABINOVITCH, M. (1991): Investigational approaches to pulmonary hypertension. Toxicol. Pathol. 19, 458-469.
29. RANGA, V., D. GRAHN and T. M. JOURNEY (1993): Morphologic and phenotypic analysis of an outcross line of blotchy mouse. Exp. Lung. Res. 4, 269-279.
30. RITTIRSCH, D., L. M. HOESEL and P. A. WARD (2007): The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. J. Leukoc. Biol. 81, 137-143.
31. SAXENA, P. N. (1960): Effects of drugs on early inflammation reaction. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 126, 228-237.
32. SELVE, N. (1991): EM 405: a new substance with an uncommon profile of anti-inflammatory activity. Agents Actions 32, 59-61.
33. SELYE, H. (1953): On the mechanism through which hydrocortisone affects the resistance of tissues to injury. An experimental study with the granuloma pouch technique. J. Am. Med. Ass. 152, 1207-1213.
34. SKAK-NIELSEN, T., H. AAES, L. JENSEN, J. R. HANSEN and L. BINDERUP (1999): The cytokine profile in three murine inflammatory skin models. Mediators of Inflammation 8, 79.
35. SKOV, L., J. V. OLSEN, R. GIORNO, P. M. SCHLIEVERT, O. BAADSGAARD and D. Y. LEUNG (2000): Application of Staphylococcal enterotoxin B on normal and atopic skin induces upregulation of T cells by a superantigen-mediated mechanism. J. Allergy Clin. Immunol. 105, 820-826.
36. STOCHLA, K. (1980): Substance 48/80 and experimental inflammation. Acta Physiol. Pol. 31, 535-543.
37. STOJKOVA, A., B. ZELEZNA, M. ROMZOVA, O. ULICNA, A. KISS, M. SKURLOVA and J. JURCOVICOVA (2010): Effect of feeding status

- on adjuvant arthritis severity, cachexia, and insulin sensitivity in male Lewis rats. *Mediators of Inflammation* 2010, doi:10.1155/2010/398026.
38. SZARKA, R. J., N. WANG, L. GORDON, P. N. NATION and R. H. SMITH (1997): A murine model of pulmonary damage induced by lipopolysaccharide via intranasal instillation. *J. Immunol. Methods* 202, 49-57.
 39. TALALAY, P., J. W. FAHEY, Z. R. HEALY, S. L. WEHAGE, A. L. BENEDICT, C. MIN and A. T. DINKOVA-KOSTOVA (2009): Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation. *PNAS* 104, 17500-17505.
 40. TITUS, R. G. and J. M. CHILLER (1981): A simple and effective method to assess murine delayed type hypersensitivity to proteins. *J. Immunol. Meth.* 45, 65-78.
 41. TONELLI, G., L. THIBAULT and I. RINGLER (1965): A bio-assay for the concomitant assessment of the antiphlogistic and thymolitic activities of topically applied steroids. *Endocrinology* 77, 625-630.
 42. TRINH, H. T., E. A. BAE, M. J. HAN, Y. W. SHIN and D. H. KIM (2007): Inhibitory effects of red ginseng on passive cutaneous anaphylaxis and scratching behavior reactions in mice. *J. Ginseng. Res.* 31, 137-141.
 43. UNDERWOOD, D. C. (1999): Chronic obstructive pulmonary disease. In: MORGAN, D. W. and L. A. MARSHALL: *In vivo models of inflammation*. Birkhauser Verlag, Basel (159-177).
 44. VESTERGAARD, C., H. YONEYAMA, M. MURAI, K. NAKAMURA, K. TAMAKI, Y. TERASHIMA, T. IMAI, O. YOSHIE, T. IRIMURA, H. MIZUTANI and K. MATSUSHIMA (1999): Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis - like lesions. *J. Clin. Invest.* 104, 1097-1105.
 45. VOGEL, H. G. (ed.) (2007): *Drug discovery and evaluation: pharmacological assays*. Springer, New York.
 46. WEBB, E. F., M. N. TZIMAS, S. J. NEWSHOLME, and D. E. GRISWOLD (1998): Intraleisional cytokines in chronic oxazolone-induced contact sensitivity suggest role for tumor necrosis factor α and interleukin-4. *J. Invest. Dermatol.* 111, 86-92.
 47. WILHELMI, G. (1949): Ueber die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreiche. *Schweiz Med. Wschr.* 79, 577-582.
 48. ZANTL, N., A. UEBE, B. NEUMANN, H. WAGNER, J. R. SIEWERT, B. HOLZMANN, C. D. HEIDECKE and K. PFEFFER (1998): Essential role of γ interferon in survival of colon ascendens stent peritonitis, a novel murine model of abdominal sepsis. *Infect. Immun.* 66, 2300-2309.
 49. ZWEIFEL, B. S., M. M. HARDY, G. D. ANDERSON, D. R. DUFIELD, R. A. PUFAHL and J. L. MASFERRE (2008): A rat air pouch model for evaluating the efficacy and selectivity of 5-lipoxygenase inhibitors. *Eur. J. Pharmacol.* 584, 166-174.

Rodent models of inflammation

Vanesa Ivetić TKALČEVIĆ, DVM, PhD, Ivanka PAŠALIĆ, DVM, Zagreb

The aim of this review was to present rodent experimental models of inflammation. Due to the complex etiology and symptoms of the inflammatory reaction, rodent models of inflammation are divided according to the duration of the inflammatory reaction, into models representing acute inflammation and those representing chronic inflammatory processes. Classic rodent models of inflammation (UV-erythema, model of vascular permeability, ear and paw edema model, model of pleuritis, models of cutaneous and subcutaneous granuloma, acute systemic anaphylaxis model, Schultz-Dale reaction, model of passive cutaneous anaphylaxis, Arthus type of immediate hypersensitivity, delayed hypersensitivity models, adjuvant arthritis) are relatively simple with superficially examined inflammatory markers

and are therefore used only to confirm the anti-inflammatory activity of the test compound. This makes them suitable for testing large numbers of novel chemical entities. In addition to the classic models, a broad array of contemporary rodent models of inflammation has been developed, such as experimental models of psoriasis, atopic dermatitis, chronic obstructive pulmonary disease and sepsis, and many genetically modified animals that allow for the investigation of the mechanism of action of test substances. Our experimental data indicating the anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics are discussed in the context of experimental sepsis induced by a bacterial lipopolysaccharide employed to undoubtedly detach anti-inflammatory activity from their anti-bacterial properties.

Sulfonamidi - sintetičke farmakološki aktivne tvari

Mario Cazar, Branimir Šimić, Nina Bilandžić i Ivana Varenina



Uvod

Farmakološki aktivne tvari stimuliraju fiziološki odgovor na ljude, životinje, bakterije i druge organizme. Njihova se proizvodnja i promet diljem svijeta za potrebe humane i veterinarske medicine kreće između 100.000 i 200.000 tona godišnje (Wise, 2002., Sukul i Spiteller, 2006.). Usljed velike primjene te neodgovarajućeg odlaganja u posljednjim desetljećima povećane su potencijalne popratne pojave na zdravlje ljudi te ekosustav (Kümmerer, 2003.). Ostatci tvari mogući su u hrani životinskog podrijetla te se nakupljaju u okolišu, odnosno tlu, površinskim i podzemnim vodama (Sukul i Spitter, 2006.). Ulaskom u hranidbeni lanac posljedično mogu izazivati i poticati alergijske reakcije u ljudi (Wang i sur., 2006.). Također, njihovo korištenje može dovesti do pojave rezistencije pojedinih patogenih bakterija, što može rezultirati ozbiljnijim zdravstvenim problemima (Choma i sur., 1999., Wise, 2002.).

Sulfonamidi su desetljećima bili primjenjivani u humanoj medicini u tretmanu različitih vrsta infekcija. Ove se sintetičke kemijske tvari danas primjenjuju u razmjerno velikim količinama za liječenje i prevenciju infekcijskih oboljenja u domaćih životinja, npr. kod gastrointestinalnih te respiratornih infekcija (Hormazabal i sur., 1993., Wise, 2002.), a imaju

i široki spektar djelovanja protiv većine gram-pozitivnih i mnogih gram-negativnih organizama. Prednost je njihove primjene i u njihovoj niskoj cijeni, a naširoko se koriste kao promotori rasta i antimikrobiološki agensi u stočarstvu (Hela i sur., 2003.).

Sulfonamidi - povijesni pregled

Sulfonamidi su prve kemijske tvari koje su se zbog antimikrobnih svojstava na veliko koristile u medicini i započele eru proizvodnje antibiotika. Često se kao početak „ere antibiotika“ podrazumijeva Flemingovo otkriće penicilina. Međutim, iskorištavanje anti-stafilocoknog djelovanja *Penicillium notatum* koje je Fleming otkrio 1928. godine započelo je tek 1944. godine, uvođenjem penicilina u kliničku praksu (Wainwright i Kristiansen, 2011.). U međuvremenu su se sulfonamidi, kemijske tvari iz porodice azo boja, pokazali kao korisni antimikrobni lijekovi. U svom je razvoju farmaceutska industrija ranih godina 20-og stoljeća, bila usko povezana s proizvodnjom sintetičkih boja. Njemački konglomerat IG Farben, uspješno je nastavio rad u istraživanju boja kao antimikrobnih agensa te su proizvedeni prvi antimalarići (Wainwright, 2008.).

Istraživanja u laboratorijima Bayera AG tijekom 20-tih i 30-tih godina

Mario CAZAR, student, dr. sc. Branimir ŠIMIĆ, redovni profesor, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb; dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

dvadesetog stoljeća ustvrdila su da je prisutnost sulfonamido grupe ($-\text{SO}_2\text{N}-$) u strukturi boje važan indikator za potencijalnu antimikrobnu aktivnost (Wainwright i Kristiansen, 2011.). Eksperimenti s prvim sulfonamidom trgovackog imena Prontozil poznatog i kao Prontosil rubrum zbog tamno crvene boje, započeli su 1932. u laboratoriju Bayer AG. Nakon višegodišnjih napora i ispitivanja stotina boja, tim je Bayera konačno pronašao crvenu boju koja je pokazivala željena djelovanja u zaustavljanju nekih bakterijskih infekcija u miševa. Prvi službeni izvještaj o ovom otkriću publiciran je tek 1935. godine, više od dvije godine nakon njenog patentiranja (Thomson i Rhodes, 2011.). Prontozil je bio prvi ikad otkriveni lijek koji učinkovito može djelovati u velikom spektru bakterijskih infekcija. Pokazao se učinkovit i protiv infekcija uzrokovanih streptokokima, uključujući krvne infekcije, perinatalne groznice i streptokokne kožne infekcije. Međutim, nikakav učinak nije pokazivao *in vitro*, a antibiotički učinak je imao isključivo u živim organizmima. Tek je kasnije francuski istraživački tim na Pasteurovom institutu slučajno otkrio da lijek podliježe biotransformaciji u dva metabolita, oslobođajući time iz inaktivne boje manju, bezbojnu komponentu nazvanu sulfanilamid. Ovo otkriće je ujedno doprinijelo uspostavi i objašnjenju koncepta „bioaktivacije“ (Thomson i Rhodes, 2011.).

Tijekom kasnih 1930-ih godina stotine proizvođača proizveli su na desetke tisuća tona različitih oblika sulfanilamida. Tolika proizvodnja i distribucija uz nepostojeće propise o provođenju odgovarajućih testiranja finalnih farmaceutskih pripravaka doveli su do katastrofe u jesen 1937. godine u SAD kada je nepravilno proizveden sulfanilamidni pripravak *Elixir sulfanilamide* izazvao fatalne

posljedice za više od 100 ljudi. Uzrok trovanja bio je dietilen glikol korišten kao otapalo u pripravi tekućeg proizvoda (Wax, 1995.). Kako je to bio prvi i jedini učinkoviti antibiotik godinama prije pojave penicilina, lijekovi na bazi sulfanilamida su se nastavili koristiti u ranim godinama Drugog svjetskog rata, a zaslužni su za spašavanje desetaka tisuća života i imali su najznačajniju ulogu u prevenciji infekcija rana tijekom rata. Oprema prve pomoći američkih vojnika, sadržavala je kao obvezatan sastavni dio, tablete sulfanilamida i prah uz upute o posipanju na bilo koju otvorenu ranu. Tijekom 1942. i 1943. godine nacistički su liječnici u koncentracijskim logorima provodili na zatvorenicima eksperimente sa sulfanilamidom (Thomson i Rhodes, 2011.). Budući da je topljivost ovog lijeka bila vrlo niska i u određenim slučajevima se kristalizirao u bubrežima, za pacijente je to bilo vrlo bolno iskustvo.

Tisuće molekula strukture sulfanilamida kreirano je i proizvedeno od njegovog otkrića (preko 5.400 oblika od 1945. godine) te su postignuta poboljšanja s većom učinkovitosti i manjom toksičnošću spojeva. Sulfonamidni lijekovi se i dalje u velikoj mjeri koriste u tretmanu akni ili infekcija urinarnog trakta te se ponovo primjenjuju u slučajevima infekcija izazvanih bakterijama rezistentnim na druge antibiotike.

Kemijska struktura i mehanizmi djelovanja sulfonamida

Sulfonamidi su derivati *p*-aminobenzensulfonamida (sulfanilamid). Amidna (NH_2) skupina u para-položaju (Slika 1a.) je esencijalna i može biti zamijenjena jedino radikalima koji se *in vitro* mogu konvertirati u slobodnu amino skupinu. Zamjene u amidnoj skupini mogu imati različite učinke na antibakterijsku aktivnost te one s heterocikličkom aro-

matskom jezgrom na ovom mjestu imaju veću učinkovitost (Campbell, 1999.).

Sulfonamidi su strukturni analozi i kompetitivni antagonisti para-aminobenzojeve kiseline (PABK) i onemogućuju korištenje PABK-e u sintezi folne kiseline. Strukturnom sličnošću PABK (Slika 1b) kompetitivno inhibiraju aktivnost dihidropteroat sintaze, enzima prisutnog u bakterijama ključnog za ugradnju PABK u dihidropteroinsku kiselinu, Campbell, 1999.). Bakterije osjetljive na sulfonamide su one koje ne koriste već formiranu folnu kiselinu, nego moraju sintetizirati svoju. Stanice sisavaca zahtijevaju takav izveden, već formran oblik pa na njihov metabolizam antagonisti PABK nemaju utjecaj (Campbell, 1999., Burkhardt i Burkhardt, 2009.).

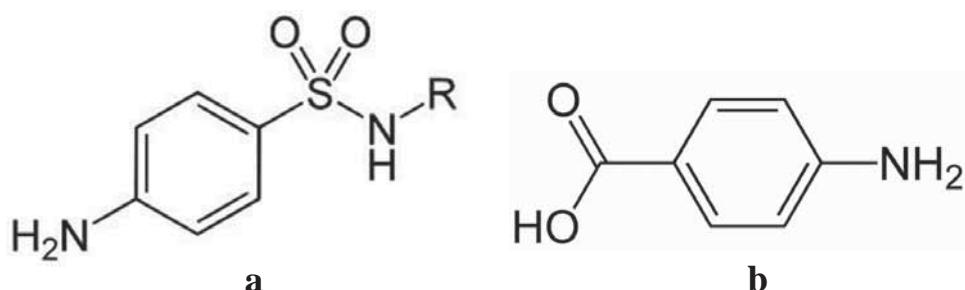
Ako se u ciljnim organizmima javi otpornost na jedan derivat, unakrižna će se otpornost manifestirati i na duge sulfonamide. Slično tome, ukoliko se u pacijenta pojavi preosjetljivost na jednu vrstu sulfonamida, niti jedan oblik sulfonamida se ne može smatrati sigurnim zbog pojave unakrižne osjetljivosti (Finegold i Ziment, 1968.).

Podjela sulfonamida prema djelovanju

Prema farmakokinetici i farmakondamici sulfonamidi se klasificiraju na one koji se brzo apsorbiraju i brzo izlu-

čuju (npr. sulfametoksazol, sulfametazin, sulfadiazin, sulfamerazin i sulfakloropiridazin), brzo apsorbiraju uz umjerenu brzinu izlučivanja (npr. sulfadimetoksin i sulfasoksazol), brzo apsorbiraju, ali sporo izlučuju te zbog toga i duže djeluju (npr. sulfadioksin), sporo apsorbiraju iz gastrointestinalnog trakta i koriste se za djelovanje u crijevnom lumenu (npr. sulfasalazin). Isto tako postoje sulfonamidi koji se koriste lokalno kao što su npr. sulfacetamid i srebro sulfadiazin te potencirani sulfonamidi (npr. sulfonamid u kombinaciji s diaminopiridinom) (Campbell, 1999.).

Najčešće su primjenjivani sulfonamidi oni koji pripadaju grupi brzo apsorbirajućih i brzo eliminirajućih. Ovisno o lijeku, maksimalne koncentracije u plazmi dostižu se za 2 do 6 sati od primjene. Glavno mjesto apsorpcije ovih sulfonamida je tanko crijevo. Nakon apsorpcije svi se sulfonamidi vežu za proteine plazme, posebno albumin. Raspodjeljuju se u cijelom organizmu i ulaze u pleuralnu, peritonealnu, sinovijalnu, okularnu i cerebrospinalnu tekućinu. Također, prolaze kroz placentu i pokazuju povećanu koncentraciju u fetusu, što može uzrokovati toksične učinke. U čovjeka prolaskom placentalne barijere sulfonamidi mogu ispoljiti antibakterijsku aktivnost u tkivima fetusa, ali ne i u nekim drugim vrstama sisavaca poput pasa (Campbell, 1999.). Sulfonamidi se biotransformiraju u jetri reakcijama acetiliranja ili glukuro-



Slika 1. Opća struktura sulfonamida (a) i para-aminobenzojeve kiseline (b).

nizacije te se odmah izlučuju (Finegold i Ziment, 1968.). Međutim, u pasa nedostaje enzimski sustav koji acetilira sulfonamide te se primarno izlučuju urinom, a u manjim količinama fecesom, putem žuči, mlijekom i drugim tjelesnim izlučevinama (Campbell, 1999.).

Mnogi od sulfonamida koji se brzo apsorbiraju u gastrointestinalnom traktu vežu se na proteine plazme i time imaju i slabiju brzinu izlučivanja, u usporedbi sa sulfonamidima kratkog djelovanja (Campbell, 1999.). Slabo apsorbirajući sulfonamidi se koriste kod liječenja crijevnih infekcija poput ulcerativnog i idiopatskog kolitisa. Primjer slabo apsorbirajućeg sulfonamida je sulfaguanidin koji je teško topljivi sulfonamid te se nakon peroralne primjene vrlo ograničeno resorbira i koristi za bakterijske infekcije probavnih organa teladi, ždrjebadi, janjadi, prasadi i pasa. Njegova 50%-tna biodostupnost terapijski je povoljna jer se izvrstan antimikrobnii učinak očituje u crijevnoj sluznici u kojoj je često velik broj patogenih mikroorganizama (Veterina, 2011.).

Sulfonamidi dugog djelovanja imaju poluvrijeme života 7 do 9 dana, poput sulfadioksina te sulfamonometoksina. Sulfadioksin se koristi kod tretmana kroničnog bronhitisa i urinarnih infekcija u ljudi. Sulfamonometoksin se primjenjuje kod kašlja, traheitisa, faringitisa i otitisa.

Sulfonamidi se za lokalnu uporabu primjenjuju se direktno na mjesto infekcije, oštećenog tkiva ili opeklina. Srebro sulfadiazin ima široki spektar djelovanja inhibirajući rast gotovo svih patogenih bakterija i gljivica. Iz pripravaka se u obliku krema polako apsorbira u koncentracijama koje su toksične za mikroorganizam. Sulfacetamid se koristi u obliku vodenih otopina kod tretmana očnih infekcija. Mafenid acetat se koristi lokalno kod prevencije bakterijskih infekcija, npr. kod opeklina (Campbell, 1999.).

Primjer potenciranog sulfonamida je sinergistička aktivnost s diaminopirimidinima od kojih se najčešće koristi trimetoprim. Kombinacija sulfonamida s diaminopirimidinima uzrokuje inhibiciju dva sekvenčjalna koraka u sintezi dihidrofolne kiseline. Posljedica toga je veća antibakterijska aktivnost i smanjena pojavnost rezistencije (Campbell, 1999.).

Otpornost na sulfonamide

Bakterije mogu razviti rezistenciju na sulfonamide te onemogućiti njihov antimikrobnii učinak. Postoji više mehanizama bakterijske rezistencije na sulfonamide koji uključuju: razvoj oblika dihidropteroat sintaze koja je visoko selektivna za PABK te smanjene mogućnosti vezanja sulfonamida, promjena recikliranja ili korištenja dihidropteroinske kiseline unutar stanice tako da je potrebno manje kiseline, povećanje sinteze PABK te razgradnja sulfonamida. Bakterija ove mehanizme može steći transferom plazmida ili genetskom mutacijom (Campbell, 1999., Šeol i sur., 2010.). Neki rezistentni stafilococi sintetiziraju i do 70 puta više PABK nego osjetljivi sojevi. Otpornost na sulfonamide je uglavnom postojana i ireverzibilna te se otpornost na sulfonamide ne mijesha u otpornost na kemoterapeutske agenze drugih vrsta (Campbell, 1999.).

Indikacije kod upotrebe sulfonamida

Sulfonamidi se koriste u veterinarskoj medicini kod tretmana brojnih bolesti. Indicirani su npr. kod diareja uzrokovanih *E. coli* te u tretmanu kolibaciloza i meningokoknog meningitisa. Uspješna primjena pojedinih sulfonamida potvrđena je u tretmanu širokog spektra respiratornih infekcija, infekcija genitalo-urinarnog trakta, infekcija trbušnog i mekog tkiva, uključujući razne sistemske infekcije te difterije u nekim životinja (Campbell, 1999.). Sulfonamidi

u kombinaciji s diaminopirimidinima potrebni su za liječenje širokog spektra (bakterije, kokcidije i dr. protozoe) i mogućnost uporabe kod velikog broja životinjskih vrsta (Šeol i sur., 2010.). U veterinarskoj dermatologiji, sulfonamidi se koriste lokalno kod tretmana upale vanjskog uha, infekcija stopala i za prevenciju infekcija kod opekotina.

Toksičnost sulfonamida

Uporaba sulfonamida nosi rizik brojnih toksičnih učinaka, koji naročito mogu nastati u slučaju korištenja sulfonamida dugog djelovanja. Sulfonamidi imaju potencijal izazivanja različitih neželjenih učinaka, uključujući poremećaje urinarnog trakta, hemopoetske poremećaje, porfiriju i reakcije preosjetljivosti. U većim dozama mogu izazvati jake alergijske reakcije. Problem kristalurije, s mogućom posljedicom hematurije i oligurije bio je izraženiji kod starijih pripravaka te još uvjek predstavlja rizik u primjeni sulfadiazina i sulfametoksazola. Sulfonamidi oštećuju i homeopatski sustav, odnosno izazivaju trombocitopeniju, anemiju, leukopeniju i različite promjene na koži (Šeol i sur., 2010.). Terapija sulfonamidima bi se trebala koristiti uz veliku pažnju, ili izbjegavati kod umanjenje bubrežne funkcije (Finegold i Ziment, 1968.).

Tabela 1. Najveće dopuštene količine ostataka sulfonamida u hrani životinjskog podrijetla [N. N. br. 21/2011.]

Farmakološki aktivna tvar	Vrsta životinje	Najveće dopuštene količine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Ciljno tkivo	Napomena
Sulfonamidi (sve tvari iz skupine sulfonamida)	Sve vrste životinja koje se koriste za proizvodnju hrane	100 100 100 100	Mišić Masno tkivo Jetra Bubreg	Ukupne rezidue svih tvari iz skupine sulfonamida ne smiju prijeći 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
	Goveda, ovce, koze	100	Mlijeko	

Bez obzira na toksikološke aspekte primjene sulfonamida, u svijetu se nisu prestali proizvoditi te se zbog njihove antibiotske učinkovitosti primjenjuju i dalje u tretmanu životinja važnih u čovjekovoj prehrani. Zbog toga bi trebalo davati prednost uporabi sulfonamidima kratkog djelovanja i brzog izlučivanja iz organizma, čime bi se smanjila eventualna izloženost njihovim toksičnim učincima.

Sažetak

Sulfonamidi su antibiotici upotrijebljavani često u veterinarskoj praksi, najviše zbog širokog spektra antimikrobnog djelovanja te svoje niske cijene. Više od 10 različitih vrsta ovih sintetičkih komponenti primjenjuju se u veterinarskim lijekovima kod tretmana raznih bakterijskih i protozoalnih infekcija u goveda, svinja i peradi. Sulfonamidi kompetitivno inhibiraju pregradnju *p*-aminobenzojeve kiseline u dihidropteroat, bakterijama neophodan u sintezi folne kiseline, čime dovode do smanjene aktivnosti u sustavu nukleinskih kiselina. Sulfonamidi mogu izazvati alergijske reakcije preosjetljivosti, odnosno terapeutsku neučinkovitost u čovjeka. Stoga je određivanje ostataka sulfonamida u hrani važno s toksikološkog stanovišta u svoj hrani životinjskog podrijetla namijenjenoj prehrani. Za određivanje sulfonamida prisutnih i u najmanjim koncentracijama potrebne su izuzetno osjetljive metode.

Literatura

- BIAŁK-BIELINSKA, A., J. KUMIŃSKA, R. PALAVINSKAS and P. STEPNOWSKI (2009): Optimization of multiple reaction monitoring mode for the trace analysis of veterinary sulfonamides by LC-MS/MS. *Talanta* 80, 947-953.
- BOGIALLI, S., R. CURINI, A. DI CORCIA, M. NAZZARI and M. SERGI (2003): Confirmatory analysis of sulfonamide antibacterials in bovine liver and kidney: extraction with hot water and liquid chromatography coupled to a single- or triple-quadrupole mass spectrometer. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 17, 1146-1156.
- BURKHART, C. G. and C. N. BURKHART (2009): Overview of sulfonamides and related medications: query if mesalamine should be preferred over dapsone and sulfasalazine. *Open Dermatol. J.* 3, 65-67.
- CAMPBELL, K. L. (1999): Sulphonamides: updates on use in veterinary medicine. *Vet. Dermatol.* 10, 205-215.
- CHOMA, I., D. GRENDÁ, I. MALINOWSKA and Z. SUPRYNOWICZ (1999): Determination of flumequine and doxycycline in milk by a simple thin-layer chromatographic method. *J. Chromatogr. B* 734, 7-14.
- CLIQUET, P., E. COX, W. HAASNOOT, F. SCHACHT, and B. M. GODDERIS (2003): Extraction procedure for sulfachloropyridazine in porcine tissues and detection in a sulfonamide-specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Anal. Chim. Acta* 494, 21-28.
- EC (2010): Council Regulation 37/2010/EU of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off. J. Eur. Commun.*, L 15, 1-72.
- FINEGOLD, S. M. and I. ZIMENT (1968): Sulfonamides, nitrofurans, and nalidixic acid. In: *The Pediatric Clinic of North America: Antimicrobial Therapy*, Vol. 15. (KAGAN, B. M., Ed.), W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- GARCÍA-GALÁN, M. J., M. S. DÍAZ-CRUZ and D. BARCELÓ (2010): Determination of 19 sulfonamides in environmental water samples by automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-LC-MS/MS). *Talanta* 81, 355-366.
- GAUDIN, V., P. MARIS, R. FUSELIER, J.-L. RIBOUCHON, N. CADIEU and A. RAULT (2004): Validation of a microbiological method: The STAR protocol, a five-plate test, for the screening of antibiotic residues in milk. *Food Addit. Contam.* 21, 422-433.
- HELA, W., M. BRANDTNER, R. WIDEK and R. SCHUH (2003): Determination of sulfonamides in animal tissues using cation exchange reversed phase sorbent for sample cleanup and HPLC-DAD for detection. *Food Chem.* 83, 601-608.
- HORMAZABAL, V., I. STEFFENAK and M. YNDESTAD (1993): Simultaneous determination of residues of florfenicol and the metabolite florfenicol amine in fish tissues by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B* 616, 161-165.
- JANOŠOVÁ, J., I. KOŽÁROVÁ, D. MÁTÉ and M. KOVALIKOVÁ (2007): A comparison of the sensitivity of antibiotic residue screening methods – four plate test (FPT), the screening test for antibiotics residues (STAR), and Premi test to sulphonamide standards. *Meso IX*, 37-43.
- KÜMMERER, K. (2003): Significance of antibiotics in the environment. *J. Antimicrob. Chemoth.* 52, 5-7.
- MARCINČEK, S., K. HUSSEIN, N. ZDOLEC and J. JANOŠOVA (2006): Premi Test – fast screening test for detection of sulphonamide residues in poultry tissues. *Meso VII*, 276-279.
- Pravilnik o farmakološki djelatnim tvarima i njihovoj klasifikaciji u odnosu na najveće

- dopuštene količine rezidua u hrani životinjskog podrijetla (Narodne novine broj 21/2011).
- 17. SUKUL, P. and M. SPITELLER (2006): Sulfonamides in the environment as veterinary drugs. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 187, 67-101.
 - 18. ŠEOL, B., K. MATANOVIĆ i S. TERZIĆ (2010): Antimikrobnna terapija u veterinarskoj medicini. Ur. HERAK-PERKOVIĆ, V., Medicinska naklada, Zagreb.
 - 19. THOMSON, W. A. R. and P. RHODES (2011): History of medicine. In: Encyclopaedia Britannica [online]. <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/372460/history-of-medicine/35670/Sulfonamide-drugs>>
 - 20. VETERINA (2011): [online]. <<http://www.veterina.hr/default.aspx?id=30&pid=47>>
 - 21. WAINWRIGHT, M. (2008): Dyes in the development of drugs and pharmaceuticals. *Dyes Pigments* 76, 582-589.
 - 22. WAINWRIGHT, M. and J. E. KRISTIANSEN (2011): On the 75th anniversary of Prontosil. *Dyes Pigments* 88, 231-234.
 - 23. WANG, J., D. LEUNG and S. P. LENZ (2006): Determination of five macrolide antibiotic residues in raw milk using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.* 54, 2873-2880.
 - 24. WAX, P.M. (1995): Elixirs, Diluents, and the Passage of the 1938 Federal Food, Drug and Cosmetic Act. *Ann. Intern. Med.* 122, 456-461.
 - 25. WISE, R. (2002): Antimicrobial resistance: priorities for action. *J. Antimicrob. Chemoth.* 49, 585-586.
 - 26. WON, S. Y., C. H. LEE, H. S. CHANG, S. O. KIM, S. H. LEE and D. S. KIM (2011): Monitoring of 14 sulfonamide antibiotic residues in marine products using HPLC-PDA and LC-MS/MS. *Food Contr.* 22, 1101-1107.
 - 27. ZHANG, W. and S. WANG (2009): Review on enzyme-linked immunosorbent assays for sulphonamide residues in edible animal products. *J. Immunol. Meth.* 350, 1-13.

Sulfonamides – synthetic pharmacologically active substances

Mario CAZAR, Student, Branimir ŠIMIĆ, PhD, Full Professor, Faculty for Technology and Biotechnology, Zagreb; Nina BILANDŽIĆ, BSc, PhD, Scientific Advisor, Ivana VARENINA, BSc, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Sulfonamides are the most commonly used antibiotics in veterinary practice due to their wide-spectrum antimicrobial activity and cost effectiveness. There are more than ten different sorts of these synthetic compounds that are routinely used in veterinary medicines to treat a variety of bacterial and protozoan infections in cattle, swine and poultry. Sulfonamides competitively inhibit the conversion of p-amino benzoic acid to dihydropteroate,

which bacteria need for folic acid synthesis. This leads to a decreased activity in the nucleic acid system. Sulfonamides may cause allergic hypersensitivity reactions and therapeutic ineffectiveness in humans. Therefore, determination of sulfonamide residues is of toxicological concern in all food types of animal origin destined for human consumption. Sensitive methods are needed for the detection of sulfonamides in the smallest concentrations.



PO PRVI PUT U HRVATSKOJ PREDSTAVLJA

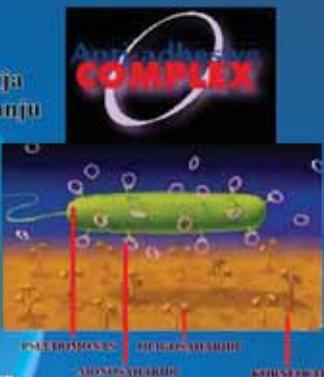
EPI-OTIC®

EKSKLUSIVNI ANTI-ADHEZIVNI KOMPLEKS
SPRJEČAVA PRIJANJANJE BAKTERIJA NA KOŽU
I SLUZNICU UHA

Monosaharidi sprječavaju prijanjanje bakterija na kožu i sluznicu. Bakterija koja nije u kontaktu sa kožom ili sluznicom ne može proliferirati. U tom stanju je osjetljiva na djelovanje antiseptika ili antibiotika.

Modalitet djelovanja: *Pseudomonas aeruginosa* je čest uzročnik otitisa. Kombinacija 3 monosaharida zaliđeći bakterijske pile zbog čega se sama bakterija ne može spojiti sa oligosaharidima korneocita.

Nova generacija EPI-OTIC® -a ima antimikotičko i široko antibakterijsko djelovanje (protiv najčešćih psećih G+ i G- patogena uključujući i *Malassezii pachydermitis*).



Prijanjanje Pseudomonasa izoliranih sa korneocita kod otitisa u pasa



Slika 1 - kontrola nakon inkubacije bez upotrebe monosaharida



Slika 2 - istilazorak nakon inkubacije uz upotrebu kombinacije 3 monosaharida

Čisti bez iritacije - otkljenja kruste, prljavštinu i višak cerumena zahvaljujući keratolitočkim osobinama salicilne i mlječne kiseline. Ne sadrži alkohol i ne iritira ušni kanal.

Ostavlja suh ušni kanal - propilen glikol topiv je u mastima + Na dokuzat (nema rizika od maceracije).

SPHERULIT™ tehnologija - produženo djelovanje čak i u manjim dozama aktivne supstanice.

Indikacije: Redovito čišćenje uha (1-2 x/tjedno)

Čišćenje prije aplikacije kapi za terapiju uha

Sastav: salicilna kiselina, PCMX, EDTA, monosaharidi (ramunoza, galaktoza, manoza), Na dokuzat i neionski sulfaktant.

pH 7

CIJENE:

Epi-Otic (nova formula) - 30,00kn/60 ml

Epi-Otic (nova formula) - 60,00 kn/125 ml



CVA
CENTRALNA VETERINARSKA
AGENCIJA d.o.o.
tel. 01/2304-334; -335
fax. 01/6604-031

U SURADNJI SA

medical intertrade
SLUŽBA VETERINE
tel. 01/3374-022
fax. 01/3325-772

Načini liječenja displazije kukova u pasa



Mario Kreszinger, Iris Karaselimović, Lea Rok i Ozren Smolec

Uvod

Displazija kukova zajedno s displazijom laktova i rupturom prednjeg križnog ligamenta koljena čini trijadu najčešćih i po mnogo čemu najzanimljivijih ortopedskih bolesti u pasa. Unazad nekoliko desetljeća displazija kukova predmet je neiscrpnih rasprava, novih spoznaja i pristupa u dijagnostici i liječenju. Njeno značenje u okviru veterinarske ortopedije danas je iznimno veliko i važno. Etiologija, dijagnostika i liječenje je složeno, stoga zaslužuje posebnu pozornost. Displazija kukova je kompleksna, multifaktorijska, progresivna i k tomu najčešća ortopedска bolest nasljednog karaktera u pasa. Predstavlja razvojnu anomaliju u gradi kukova koja je genetski uzrokovana, a vanjskim tzv. predisponirajućim čimbenicima uvjetovana. Od vanjskih čimbenika najvažniji su prehrana bogata kalorijama, nagli rast štenadi velikih pasmina pasa kao i neodgovarajući način kretanja (Morgan i sur., 2000.). Predispoziciju za nastanak displazije imaju velike i gigantske pasmine, no važno je istaknuti da od te bolesti nisu pošteđene manje pasmine pasa, kao ni mačke (Brinker i sur., 1997., Todhunter i sur., 1999.). Displazija kukova najčešće se javlja obostrano (Todhunter i sur., 2005.a). Dvije su dobne skupine pasa koje pokazuju kliničke znakove

displazije, pacijenti starosti od 4-12 mjeseci sa znakovima nestabilnosti kukova te pacijenti stariji od 15 mjeseci sa znakovima kronične degenerativne bolesti tj. osteoartritisa (Brinker i sur., 1997.). Pojava i razvoj bolesti započinje s nestabilnošću kukova u štenadi. Labavost kukova odgovorna je za rane kliničke znakove kao i kasnije nastupajuće promjene na zglobovima (Henricson i sur., 1966.). Abnormalna pokretljivost kukova isteže fibroznu kapsulu zgloba i okrugli ligament (lat. *lig. teres, lig. foveae capitidis*). Hod stražnjim ekstremitetima adspekcijom doima se nestabilan. Uslijed sudaranja glave femura o dorzalni svod acetabuluma pojavljaju se mikrofrakture što uzrokuje pojavu boli i hromosti životinje. U dalnjem slijedu javljaju se reaktivne, degenerativne promjene na acetabulumu, glavi i vratu femura. Fiziološka reakcija organizma na labavost zgloba pojavljuje se kao proliferativna fibroplazija ili zadebljanje zglobne kapsule. Naime, kako pas dobiva na tjelesnoj masi zglobna čahura i ligamenti se s vremenom istežu te više ne mogu održati glavu femura unutar acetabuluma što ima za posljedicu subluxaciju zgloba. Istezanje zglobne čahure pokreće periostalnu reakciju koja dovodi do formiranja osteofita. Popratna pojava osteoartritisa je promjena u metabolizmu

Dr. sc. Mario KRESZINGER, dr. med. vet, izvanredni profesor, Iris KARASELIMOVIĆ, studentica 6. godine, Lea ROK, apsolventica, dr. sc. Ozren SMOLEC, dr. med. vet., viši asistent- znanstveni novak, Veterinarski fakultet, Zagreb

zglobne hrskavice i posljedično njen trošenje i odumiranje što je najizrazitije na dorzalnom svodu acetabuluma i glavi femura (Brinker i sur., 1997., Morgan i sur., 2000., Todhunter i Lust, 2003.).

Dijagnoza

Bolesni psi mogu pokazivati različite kliničke znakove koji se mogu manifestirati pojedinačno ili u kombinaciji. Klinički znakovi zbog kojih vlasnik traži intervenciju veterinara su nepravilan hod, primjetna bol, nevoljnost pri vježbanju, poteškoće pri skakanju ili penjanju uz stepenice ili krepitacija prilikom hoda. Klinički simptomi sami za sebe ne znače da se radi o displaziji kukova, no mogu poslužiti kao smjernica dalnjim pretragama (Morgan i sur., 2000.). U okviru ortopedskog pregleda palpacijom utvrđujemo prisutnost značajnije labavosti kukova. Test kojim se utvrđuje labavost kukova preuzet je iz pedijatrijske dijagnostike u ljudi i naziva se prema autoru ove metode „Ortolanijev znak“ (Ortolani, 1937.) izvodi se na budnoj životinji, ali zbog pouzdanosti testa češće i na anesteziranoj ili duboko sediranoj životinji. Ukoliko je prilikom palpacije prisutna labavost kukova, pasivna abdukcija kuka uzrokovat će pozitivan Ortolanijev znak, odnosno karakterističan mukli zvuk koji nastaje u momentu vraćanja glave femura u acetabulum. Addukcija kuka će se u okviru iste pretrage, ukoliko izazovemo subluksaciju glave femura, manifestirati čujnom i palpatornom pojmom što nazivamo pozitivan Barlow-ov znak (Vezzoni, 2007.).

Drugi dio dijagnostike podrazumjeva rengensko snimanje kukova. Prilikom snimanja kukova neophodno je da životinja bude anestezirana ili sedirana zbog opuštanja muskulature. Pod okriljem svjetske kinološke organizacije (FCI) provodi se rengenska dijagnostika i procjena displazije kukova izvođenjem standardne ventrodorzalne projekcije pri ekstenziji kukova. Ova se metoda koristi kako bi se ustanovili građa, podudarnost

(kongruentnost) kukova i sekundarne degenerativne promjene (Fluckiger, 2007.).

Penn HIP rengenska metoda omogućuje objektivno utvrđivanje labavosti kukova mjeranjem maksimalne pasivne lateralne labavosti kuka (Smith i sur., 1990.). Ova, danas u svijetu sve više korištena metoda, nudi mogućnost vrlo rane procjene kukova u štenadi i mlađih pasa obzirom na pojavu displazije kukova. Labavost se kukova određuje „Indeksom distrikcije“ (ID), a izračunava se dijeljenjem mjera udaljenosti između centra glave femura i centra acetabuluma. Ovisno o težini promjena DI se označava rasponom od 0-1. Ukoliko DI iznosi manje od 0,3 tada je kuk pravilno tj. stabilno postavljen u svom fiziološkom obliku, a ukoliko DI iznosi više i kreće se ka vrijednosti 1, tada glava femura nema dostatnu pokrivenost acetabulom (Smith, 1997.). Izvođenje ove metode daje najvjrijednije i najpreciznije rezultate na početku rasta i razvoja životinje obično između četvrtog mjeseca i godinu dana starosti (Todhunter i sur., 2005.b).



Slika 1. Pas, njemački ptičar, 8 mjeseci star. Rengenogram zdjelice u ventro-dorzalnoj projekciji dobiven digitalnom rengengrafijom. Vidljiva obostrana displazija kukova sa subluksacijom jače izražena lijevo.

Liječenje displazije kukova

Načine liječenja displazije kukova dijelimo na konzervativne i operacijske. Konzervativne metode liječenja displazije kukova uključuju terapiju lijekovima i fizikalnu terapiju.

Terapija lijekovima

Terapija se lijekovima provodi samostalno kao prvi korak ili u kombinaciji s operacijskim liječenjem. Obuhvaća veći broj različitih lijekova na tržištu koji umanjuju simptome upale i osteoartritisa nastalog u sklopu displazije kukova ili su usmjereni na kondicioniranje zglobova. Oni će smanjiti bolnost i hromost kod pacijenata s displazijom kukova, no neće ukloniti patološke promjene koje su nastale u sklopu patogeneze ove bolesti. Dijelimo ih u tri glavne skupine:

- A) Nesteroidni protuupalni lijekovi
 - B) Hondroprotectivi
 - C) Dodatci prehrani.
- A) **Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSPUL)** djeluju na principu inhibicije otpuštanja prostaglandina kao medijatora upale. Koriste se u kontroli akutne ili kronične boli. NSPUL omogućuju analgeziju, ali i potencijalne toksične nuspojave inhibicijom ključnog enzima koji sudjeluje u nastajanju arahidonske kiseline (ciklooksigenaza-COX), a u dalnjem slijedu inhibicijom nastanka zaštitnih prostaglandina (najznačajni je prostaglandin E₂) (Bergh i Budsberg, 2005.). Stoga je neophodan oprez i znanje u korištenju ovih lijekova poglavito obzirom na primjenjenu dozu, način i period davanja. NSPUL koji selektivno inhibiraju COX 2 bez utjecaja na COX 1 uzrokovat će analgeziju, uz znatno manji rizik nuspojava koje bi uzrokovala inhibicija COX 1. Neki od danas najzastupljenijih lijekova ove skupine su carprofen (Rimadyl™), meloxicam (Metacam™), firocoxib (Previcox™). Nuspojave se očituju

kao simptomi poremećene funkcije gastrointestinalnog sustava, bubrega kao i poremećaji u funkciji trombocita (Budsberg, 2008., Mastbergen i sur., 2005.). Terapija NSPUL lijekovima može se kombinirati s opioidnim analgeticima (npr. Tramadol™). Mechanizam djelovanja očituje se kao slaba inhibicija opioidnih receptora.

- B) **Hondroprotectivi ili u novije vrijeme zvani DMOAD** (engl. Disease-modifying osteoarthritis drugs) su lijekovi čije se djelovanje odnosi na prevenciju, smanjenje ili uklanjanje osteoartritičnih lezija (Budsberg, 2008.). Osnovni mehanizam djelovanja im je putem povećavanja sinteze glikosaminoglikana i hijaluronata koje bolesni zglob ne može sam proizvesti u dostačnoj mjeri. Ove su molekule važne u nastanku proteoglikana, makromolekula koje čine važan sastavni dio hijaline hrskavice. Pripisuje im se i protuupalno djelovanje. Mogu se primjenjivati peroralno ili parenteralno injeciranjem direktno u zglob, mišić ili intravenski (Sanderson, 2009.). U ovu skupinu uključujemo glukosamin, hondroitin sulfat, polisulfatne glikosaminoglikane, pentosan polisulfat te hijaluronsku kiselinu (Budsberg, 2008.).

Polisulfat glikosaminoglikan (PSGAG) - Specifični mehanizam PSGAG još nije u potpunosti poznat. Najčešće korišteni PSGAG je Adequan™. Poznato je da Adequan ima inhibitorno djelovanje na kataboličke enzime koji ubrzavaju upalne procese na zglobovima. Istovremeno povećava aktivnost anaboličkih enzima. Zabilježeno je da inhibira serinsku proteinazu koja ima veliku ulogu u degradaciji hrskavičnog kolagena i proteoglikana. Također ima veliku ulogu i u inhibiciji prostaglandina E₂ koji uvelike povećava gubitak proteoglikana. Aplikacija se vrši intramuskularno (Huber i Bill, 1991., Anonymus, 2005.).

Adequan je heparinski analog te bi se kod pasa s poremećajima zgrušavanja krvi terapija istim trebala izbjegavati. Također istovremena uporaba s NSPUL koji imaju jaki utjecaj na tromboksan (COX-1) kontraindicirana je kod svih pacijenata (Budsberg, 2008.).

Pentosan polisulfat - Pentosan polisulfat odobren je primarno u humanoj medicini za liječenje intersticijalnog cistitisa. Posjeduje i antitrombocitno djelovanje (Budsberg, 2008.). Utvrđeno je da potiče hondrocite na stvaranje hrskavičnog matriksa. Stimulira biosintezu hijaluronske kiseline od strane sinoviocita. Inhibira aktivnost enzima odgovornih za degradaciju komponenti hrskavičnog matriksa i otpuštanje medijatora upale. Inhibicijom metabolizma arahidonske kiseline ima i protuupalno djelovanje. Mobilizira trombocite i fibrin iz sinovijalnog tkiva i subhondralnih krvnih žila s poboljšanjem prehranjivanja hrskavice. Mobilizira i lipide i kolesterol u sinovijalne i subhondralne krvne žile (Gosh, 1999., Shannon, 2000.). Preparat Cartrophen™ ušao je nedavno u veterinarsku uporabu kao najpoznatiji pripravak koji sadrži Pentosan polisulfat.

Hijaluronska kiselina - Hijaluronska kiselina je polisaharidni lanac građen od disaharida koji se sastoje od podjedinica glukuronata-acetylglukosamina. Ona čini fiziološki sastav hrskavične i sinovijalne tekućine (Altman i Moskowitz, 1998.). U procesima osteoartritisa dolazi do smanjenja koncentracije hijaluronske kiseline. Mehanizam djelovanja hijaluronske kiseline (Suplasyn™, Hyalgan™) još nije poznat. Zapaženo je da povećava koncentraciju hijaluronske kiseline u zglobu, odnosno povećava viskoznost sinovijalne tekućine. Time se poboljšava podmazivanje oštećene zglobne hrskavice. Hijaluronska kiselina pokreće biosintezu hijaluronske kiseline i ekstracelularnih komponenti matriksa. Reducira gubitak proteoglikana hrskavice te apoptozu hondrocita.

Smanjuje aktivnost upalnih stanica kao i indukciju medijatora boli. Hijaluronska se kiselina može primjenjivati *per os* ili učinkovitije intraartikularno (Altman i Moskowitz, 1998., Anonymus, 2010.).

C) **Dodaci prehrani** (engl. Nutraceuticals). U ovu skupinu ubrajamo omega 3 masne kiseline, vitamin D, vitamin E, pripravke zelenousne dagnje (lat. *Perna canaliculus*). Poznato je da zelenousne dagnje sadrže protuupalne komponente. Meso zelenousnih dagnji sadrži glikosaminoglikane, omega 3 masne kiseline, aminokiseline, vitamine i minerale. Vjerojatno je da ti nutrijenti djeluju sinergistički na redukciju upale, smanjenje daljnje degeneracije hrskavice kao i na potencijalnu regeneraciju oštećene zglobne hrskavice i sinovijalne tekućine (Budsberg, 2008., Lihn i Biere, 2001.).

Fizikalna terapija

Fizikalna terapija usmjerenja je ponajprije na jačanje muskulature čime se povećava stabilnost i funkcija zglobova. Dodatno, ovim načinom liječenja smanjuje se bolnost uzrokovana upalnim procesima povezanim s osteoartritism, a povećava se pokretljivost zglobova. Hidroterapija u okviru fizikalne terapije displazije kukova zauzima ključno mjesto. Rasterećenjem tjelesne mase u vodi smanjuje se opterećenje kralješnice i ekstremiteta što omogućava veću pokretljivost tj. povećan opseg kretnji zglobova tijekom vježbanja. Terapeutske vježbe čine osnovu rehabilitacije, kako u poslije operacijskom tretmanu tako i pri kroničnim stanjima. Koriste se u cilju poboljšanja fleksije i ekstenzije kukova, za poboljšanje rastezljivosti mišića, ligamenata i tetiva te za poboljšanje neuromuskularnih funkcija. Pasivne vježbe uključuju izvođenje pasivnih kretnji zgloba i istezanja. Potpomognute vježbe sastoje se od vježbi prebacivanja

težine, vježbi ravnoteže i vježbi s fizio loptom. Aktivne vježbe obično uključuju vježbe sjedni/ustani i hod preko prepreka. Terapija ultrazvukom lokalno povećava toplinu tkiva čime se smanjuje spazam mišića i poboljšava regeneracija tkiva. Elektroterapija srednjefrekventnim ili interferentnim strujama koristi se s ciljem smanjenja boli (Bochstahler i sur., 2004.).

Operacijsko liječenje

Operacijski se načini liječenja mogu podijeliti na preventivne, koji se izvode na psima do 10 mjeseci starosti, na korektivne zahvate kojima se ispravljaju već patološki promijenjeni kukovi zbog degenerativnih promjena uzrokovanih osteartrozom te na palijativne metode koje se odnose na smanjenje boli. Kronološki, s obzirom na dob životinje u koje se pojedine kiruške tehnike izvode, navodimo danas najučestalije i dokazano najučinkovitije operacijske tehnike.

1. Juvenilna simfiziodeza je rekonstrukcijska metoda koja podrazumijeva kiruško spajljivanje pubične simfize kod psa u razvoju. Smanjivanje rasta zdjeličnog kanala tijekom rasta i razvoja jedinke rezultirat će bilateralnom acetabularnom rotacijom što će poboljšati koksofemoralnu pokrivenost (Vezzoni, 2008.). Opisano je korištenje elektrokautera kako bi se trajno oštetio rast hrskavice na pubičnoj simfizi (Mathews i sur., 1996.). Juvenilna se simfiziodeza izvodi na mladim psima, a najpovoljniji rezultati pokazali su se na psima starosti od 3,5-4 mjeseca (Vezzoni, 2008.). Indikacije su za ovu operaciju znakovi rane nestabilnosti kukova u štenadi, koji ukazuju na mogući razvoj displazije kukova u kasnijoj fazi života psa. Sumnja na mogući razvoj bolesti postavlja se temeljem pozitivnog Ortolanijevog znaka. Juvenilna simfiziodeza nije učinkovita u štenadi s ozbiljnim kliničkim znakovima ili utvrđenim osteoartritičnim promjenama. U pasa kojima je operacija pravilno

indicirana i pravovremeno izvedena ovaj zahvat učinkovito prevenira razvoj displazije kukova (Vezzoni, 2007.).

2. Trostruka osteotomija zdjelice je najčešće izvođena operacija kod pasa mlađih od 1 godine (najbolje od 5-8 mjeseci starosti). Najboljim kandidatima za ovaj način kiruškog liječenja smatraju se mladi psi koji ne pokazuju osteoartritične promjene vidljive na rentgenskim snimkama, kao ni znakove subluxacije (Brinker i sur., 1997., Vezzoni, 2007.). Svrha zahvata jest da se acetabularni segment zdjelice zarotira uzduž svoje uzdužne osi što dovodi do bolje acetabularne pokrivenosti glave femura. Rez se na zdjelici radi na točno određena tri mesta, na stidnoj, sjednoj i iliačnoj kosti (Slocum i Devine, 1986.). Promijenjena se pozicija rotiranog segmenta zdjelice učvršćuje specifično građenom metalnom pločom koja je tvornički zarotirana obično 25 ili 30 stupnjeva. Ukoliko je operacija pravilno indicirana, kao i ispravno izvedena sprječit će se daljnji razvoj displazije, usporiti će se daljnji razvoj osteoartritisa te će se sačuvati stabilnost zgloba. Kod pasa kod kojih se razvio osteoarthritis trostruka osteotomija zdjelice neće usporiti, odnosno zaustaviti njegov daljnji razvoj. S obzirom na tu činjenicu u takvim slučajevima zahvat trostrukog osteotomije zdjelice je kontraindiciran (Vezzoni, 2007.).

3. Dartoplastika je kirurški zahvat jačanja dorzalnog svoda acetabuluma



Slika 2. Nakon izvedene osteotomije crivne kosti prikaz postavljene TPO ploče 30° rotacije, učvršćene s po 3 vijke promjera 3,5 mm

koštanim presadkom. Izvodi se kada trostruka osteotomija zdjelice nije indicirana zbog dobi pacijenta ili već prisutnih degenerativnih promjena kukova, a s druge strane još nisu uznapredovale u smjeru destrukcije zgloba kada pacijent postaje kandidat za ugradnju umjetnog kuka. Ovu tehniku su opisali Slocum i Devine 1998. godine. Dartroplastika ima za cilj povećati površinu dorzalnog acetabularnog ruba presađivanjem dijela kosti sa krila ileuma. Time se može povećati stabilnost luksiranog kuka. Koštani graft podupire zglobnu kapsulu i glavu femura čime omogućava podnošenje većeg opterećenja (Slocum i Devine, 1998.).

4. Osteotomija glave i vrata bedrene kosti (engl. Femoral head osteotomy, FHO) uključuje uklanjanje femoralnog dijela zgloba kuka, odnosno glave i vrata femura. Nakon zahvata uklonjen je kontakt između površinskih djelova degenerirane hrskavice i subhondralne kosti kuka (Rawson i sur., 2005.). Tada ostatak femura u položaju održava jaka muskulatura koja se nalazi u njegovoj okolini. Nakon operacije stvara se fibrozna pseudoartroza sa sinovijalnom membranom. Lošiji rezultati pojavit će se kod gigantskih i velikih pasmina pasa, kao i onih starijih sa siromašnom mišićnom muskulaturom. Općenito, bolji se oporavak očekuje kod manjih pasmina pasa ispod 30 kg tjelesne mase. Psi s jačom muskulaturom kao i aktivniji psi imaju veće šanse za brzim i potpunim oporavkom. FHO je indiciran kada konzervativni načini liječenja više ne daju rezultate, a ugradnja endoproteze nije moguća (Vasseur, 1990.).

5. Proteze kuka dijelimo na cementne i bescementne. Idealni kandidati za ovaj tip zahvata su psi u dobi nakon faze intenzivnog rasta i razvoja, obično stariji od 10 mjeseci, koji nisu pretili i slobodni su od infekcija (Gutbrod i Festl, 1995.).

Cementne se endoproteze koriste kod pasa od 1970. godine. Kompanija Biomedtrix proizvodi cementnu protezu kuka za pse pod nazivom CFX™ (engl. Cemented fixation), najviše je testirana

i najbolje razvijena za uporabu u pasa. Nakon uklanjanja degenerirane acetabularne hrskavice i kosti specijalnim glodalicama u tako pripremljeno ulegnuće postavlja se odgovarajuća polietilenska prostetička čašica visoke molekularne težine. Proteza se osigura u poziciji polimetilmetakrilatom, odnosno koštanim cementom. Zatim se uklanja glava i dio vrata femura, kao i područje medularne šupljine femura kako bi se omogućilo postavljanje kobaltnog femoralnog klina koji nosi vrat i glavu, također učvršćen koštanim cementom (Hoefle, 1974.).

Zbog relativno čestih postoperacijskih komplikacija, ponajprije aseptičnog otpuštanja proteze uslijed odvajanja cementa od koštane supstance, pojavljuje se rješenje koje izbjegava korištenje cementa. Novijom tehnologijom proizvodnje, posebice obradom kontaktne površine proteza, kao i materijalima (titан) proizvode se proteze koje omogućuju saživljavanje implantata s kosti tzv. osteointegraciju. Biomedtrixov tip proteze pod nazivom BFX™ (engl. Biologic fixation) predstavlja jednu od prvih proteza ove skupine. Učvršćenje se implantata izvodi snažnim nabijanjem i pritiskom proteze o kost, tzv. press-fit spajanjem s kosti (Olmstead, 1995.).

Svicarska tvrtka Kyon je 1999. godine komercijalizirala bescementne endoproteze novije generacije. Kyonove endoproteze se sastoje od titanskih komponenti, a osnovna karakteristika ove proteze je koštano uraštavanje acetabularne čašice i učvršćenje femoralnog klina kortikalnim vijcima. Ovaj sustav kombinacijom različitih komponenti glave i vrata prilagođava se kako velikim, tako i malim pasminama pasa. Prosječna stopa komplikacija je oko 10%. Od tih 10% njih 90% uspješno se rješava revizijom dok samo 1% pokazuje neuspjeh (Tepic, 2008.).

Tvrtka Helica je prije nekoliko godina predstavila alternativu u izboru proteza kukova. Način ugradnje proteze razlikuje se spram ostalih utoliko što se čašica, kao i glava s vratom povezuju s kosti

vijčanjem, tj. oba se implantata učvšćuju u kost zahvaljujući vijčanom navoju. Procedura ugradnje bescementne Helica proteze zahtjeva minimalnu resekciju kosti tako da medularni kanal femura te dio vrata femura ostaju očuvani. Glavna prednost Helica endoproteza kuka je relativno jednostavno izvođenje, smanjena invazivnost te kraće trajanje zahvata (Hach i Delfs, 2009., Andreoni i sur., 2010.).

6. Denervacija zglobne čahure je palijativan kiruški zahvat s ciljem trenutnog uklanjanja boli te povratka aktivnosti zgloba. Zahvat se izvodi uklanjanjem periosta na kraniolateralnom acetabularnom rubu. Time se uništavaju artikularni okrajci glutealnog živca i dorzalni artikularni okrajci bedrenog živca (Kinzel i sur., 2002.). Kandidati su za ovu operaciju starije životinje čiji vlasnici odbijaju složenije operacijske zahvate, kao i stariji i kronično bolesni psi u kojih bi se trebala izbjegavati dugotrajna anestezija te dugotrajni postoperativni oporavak. Potencijalna prednost pred drugim načinima operacijskog liječenja displazije kukova je jednostavnost u izvođenju te minimalna invazivnost (Kinzel i sur., 2009.).

Sažetak

Displazija kukova je kompleksna, multifaktorijska, progresivna i najčešća ortopedска bolest nasljednog karaktera u pasa. Razlikujemo konzervativne i operacijske načine liječenja. Konzervativne metode liječenja uključuju terapiju lijekovima i fizikalnu terapiju. Terapija lijekovima obuhvaća tri skupine: nesteroidni protuupalni lijekovi, hondroprotективni i dodaci prehrani. Fizikalna terapija usmjerena je ponajprije na jačanje muskulature. Operacijski način liječenja dijelimo na preventivne, izvode se na psima do 10 mjeseci starosti, na korektivne zahvate odnose se na ispravljanje patološki promijenjenih kukova te na palijativne metode koje se odnose na smanjenje boli.

Literatura

1. ALTMAN, R. P. and R. MOSKOWITZ (1998): Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial. *Hyalgan Study Group*. *J. Rheumatol.* 25, 2203-2212.
2. ANDREONI, A. A., T. G. GUERRERO, K. HURTER and P. M. MONTAVON (2010): Revision of an unstable HELICA endoprosthesis with a Zurich cementless total hip replacement. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 23, 177-181.
3. Anon. (2005): Adequan Canine, Polysulfated Glycosaminoglycan, www.adequancanine.us.
4. Anon. (2010): Hyalgan, Sodium hyaluronat, Mechanism of action, www.hyalgan.com.
5. BERGH, M. S. and S. C. BUDSBERG (2005): The coxib NSAIDs: potential clinical and pharmacologic importance in veterinary medicine. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 633-643.
6. BOCHSTAHLER, B., D. LEVINE and D. MILLIS (2004): Methods of physiotherapy, In: Essential facts of physiotherapy in dogs and cats. Rehabilitation and pain management. VET VERLAG. Babenhausen. Pp. 46-110.
7. BRINKER, W. O., D. L. PIERMATTEI and G. L. FLO (1997): Hip Dysplasia. In: Handbook of Small animal Orthopedics and fracture repair. W. B. SAUNDERS. Philadelphia. Pp. 433-468.
8. BUDSBERG, S. (2008): Multimodal management of canine osteoarthritis, 14th ESVOT Congress, Munich, 26-29.
9. FLUCKIGER, M. (2007): Scoring radiographs for canine hip dysplasia. *EJCAP* 17, 135-139.
10. GOSH, P. (1999): The pathobiology of osteoarthritis and the rationale for the use of pentosan polysulfate for its treatment. *Semin. Arthritis. Rheum.* 28, 211-267.
11. GUTBROD, F. and D. FESTL (1995): Practische Anwendung und klinische Ergebnisse der Hüftgelenk- Totalendoprothese für Hunde Modell Aesculap. *Kleintierpraxis* 40, 793-804.
12. HACH, V. and G. DELFS (2009): Initial experience with a newly developed cementless hip endoprosthesis, *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 22, 153-158.
13. HENRICSON, B., I. NORBERG and S. E. OLSSON (1966): On the etiology and pathogenesis of hip dysplasia: a comparative review. *J. Small Anim. Pract.* 7, 673-688.
14. HOEFLE, W. D. (1974): A surgical procedure for prosthesis total hip replacement in the dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 10, 269-276.
15. HUBER, M. L. and R. L. BILL (1991): The use of polysulphated glycosaminoglycan in dogs. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 16, 501-506.
16. KINZEL, S., M. SCHNEIDER and G. KROMBACH (2009): Denervation of hip joint capsule: a minimally invasive alternative to other palliative and reconstructive techniques for treatment of canine hip joint dysplasia and arthrosis. *Der Praktische Tierarzt*, 90, 2.
17. KINZEL, S., S. HEIN, C. VON SCHEVEN and W. KUPPER (2002): Femoral joint capsule denervation. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 115, 53-56.
18. LIHN, M. and T. L. BIERE (2001): Influence of Greenlip Mussels (*Perna canaliculi*) in

- Alleviating Sings of Arthritis in dogs. Veterinary Therapeutics 2, 2-4.
19. MASTBERGEN, S. C., A. C. MARIJNISSEN, M. E. VIANEN, B. ZOER, P. M. VAN ROERMUND, J. W. BIJLSMA and F. P. LAFEBER (2005): Inhibition of COX-2 by celecoxib in the canine groove model of osteoarthritis. *Rheumatology* 45, 405-413.
 20. MATHEWS, D. G., S. M. STOVER and P. H. KASS (1996): Effect of pubic symphysiodesis on acetabular rotation and pelvic development in guinea pigs. *Am. J. Vet. Res.* 57, 1427-1433.
 21. MORGAN, J., A. WIND and A. P. DAVIDSON (2000): Hip Dysplasia, In: Hereditary bone and joint diseases in the dog. SCHLUETERSCHE VERLAG. Hannover. Pp 109-129.
 22. OLMSTEAD, M. L. (1995): The canine cemented modular total hip prosthesis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 31, 109-124.
 23. ORTOLANI, M. (1937): Un segno poco noto e sua importanza per la diagnosi proce-ce de prelussazione congenital dell'anca. *Pediatria (Napoli)* 45, 129.
 24. RAWSON, E., M. G. ARONSOHN and R. L. BURK (2005): Simultaneous Bilateral Femoral Head and Neck Osteotomy for the Treatment of Canine Hip Dysplasia. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 41, 166-170.
 25. SANDERSON, R. O., C. BEATA, R. M. FLIPO, J. P. GENEVOIS, C. MACIAS, S. TACKE, A. VEZZONI and J. F. INNES (2009): Systematic review of the management of canine osteoarthritis. *Vet. Rec.* 164, 418-424.
 26. SHANNON, E. MUNTEANU, Z. ILIĆ and C. HANDLEY (2000): Calcium pentosan polysulphate inhibits the catabolism of aggrecan in articular cartilage explant cultures. *Arthritis & Rheumatism* 43, 2211-2218.
 27. SMITH, G., D. N. BIERY and T. P. GREGOR (1990): New concepts of coxofemoral joint stability and the development of a clinical stress-radiographic method for quantitating hip joint laxity in the dog. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 196, 59-70.
 28. SMITH, G. (1997): Advances in diagnosing canine hip dysplasia. *JAVMA* 210, 1451-1457.
 29. SLOCUM, B. and T. DEVINE (1986): Pelvic osteotomy technique for axial rotation of the acetabular segment in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 22, 331-338.
 30. SLOCUM, B. and T. DEVINE (1998): Darthroplasty. In: Current technique in small animal surgery. 4th edition Williams & Wilkins. Baltimore. Pp 1168-1170.
 31. TEPIC, S. (2008): Kyon THR: results and complications, 14th ESVOT Congress, Munich, 178-179.
 32. TODHUNTER, R. J., G. M. ACLAND and M. OLIVIER (1999): An out crossed canine pedigree for linkage analysis of hip dysplasia. *J. Hered.* 90, 83-92.
 33. TODHUNTER, R. J. and G. LUST (2003): Pathogenesis of canine hip dysplasia. In: SLATTER, D., ed. Textbook of Small Animal Surgery, W. B. Saunders Co, Philadelphia 2009-2019.
 34. TODHUNTER, R. J., R. MATEESCU, G. LUST, N. J. BURTON-WURSTER, N. L. DYKES, S. P. BLISS, A. J. WILLIAMS, M. VERNIER-SINGER, E. COREY, C. HARJES, R. L. QUAAS, Z. ZHANG, R. O. GILBERT, D. VOLKMANN, G. CASELLA, R. WU and G. M. ACLAND (2005a): Quantitative trait loci for hip dysplasia in a crossbreed pedigree. *Mamm. Genome* 16, 720-730.
 35. TODHUNTER, R. J., R. G. MATEESCU, Z. ZHANG, N. L. DYKES, N. I. BURTON-WURSTER and G. LUST (2005b): Diagnosis and genetic loci mapping for canine hip dysplasia. *Vet. Forum* 22, 39-44.
 36. VASSEUR, P. B. (1990): Femoral head and neck osteotomy. In: BOJRAB, M. J. (ed.): Current techniques in small animal surgery, Lea & Febinger, Philadelphia. Pp. 674-682.
 37. VEZZONI, A. (2007): Definition and clinical diagnosis of Canine Hip Dysplasia; early diagnosis and treatment options. *Europ. J. Comp. Anim. Pract.* 17, 126-131.
 38. VEZZONI, A. (2008): Juvenile pubic symphysiodesis. 14th ESVOT Congress, Munich, 197-198.

Current therapy modalities in canine hip dysplasia

Mario KRESZINGER, PhD, DVM, Associate Professor, Iris KARASELIMOVIĆ, Student of sixth year, Lea ROK, Graduate, Ozren SMOLEC, PhD, DVM, Senior Assistant - Junior Researcher, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Canine hip dysplasia (CHD) is a complex, multifactorial, progressive and most frequent orthopaedic heritable disease in dogs. Treatment options are divided into conservative and surgical. Conservative options include medical treatment and physical therapy. Medical therapies encompass three main groups of

medicaments: non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAID), chondroprotectants and nutraceuticals. Surgical treatments are divided in preventative procedures, conducted on patients younger than 10 months, in corrective procedures aimed to correct deformed hips due to degenerative changes, and in palliative procedures, aimed to eliminate or reduce pain.

Postavljanje ezofagostomalnog tubusa u kornjača



Maja Lukač, Danijela Horvatek i Estella Prukner-Radovčić

Uvod

Bolesti kornjača često je vrlo teško uočiti, jer prve znakove najčešće pokazuju tek kad je bolest već znatno uznapredovala. Jedan od prvih simptoma bolesti kornjača je anoreksija. Nakon postavljanja ispravne dijagnoze i početka liječenja specifične bolesti, životinji je potrebno osigurati pravilnu prehranu. Prvo pravilo pri hranjenju bolesnih kornjača je svakodnevno poticanje samostalnog hranjenja, stavljanjem hrane pred životinju. U biljojednih je vrsta hranu uputno natrgati, da životinja bolje osjeti miris, ili pomiješati razne vrste voća i povrća kako bi životinja potaknuta bojom počela jesti. Životinju se može hrabriti da jede i stavljanjem komadića hrane u usta pincetom, čime se isto tako potiče samostalno hranjenje.

Ako životinja ne počne sama jesti treba ju početi hraniti na umjetan način. Umjetno hranjenje kornjača, često za bolesnu životinju može biti vrlo stresno, što dodatno može pojačati znakove bolesti.

Ovisno o tome je li riječ o biljojednoj, mesojednoj ili svejednoj vrsti kornjača, na tržištu postoje već gotovi pripravci za umjetno hranjenje, a mogu se hraniti i pripravcima za umjetno hranjenje pasa, mačaka i glodavaca.

Od svih gmazova, najteže je peroralno umjetno hraniti i davati terapiju

kornjačama. Kada kornjača uvuče glavu u oklop, pristup usnoj šupljini je vrlo težak. Pokušaj izvlačenja glave iz oklopa mora se obaviti s velikim oprezom. Vratni kralješi kornjače spojeni su s karapaksom pa agresivna manipulacija glavom i vratom kornjače može dovesti do ozljede vratnih kralješaka. Takav je postupak u nekih kornjača i vrlo težak zbog specifične građe oklopa (*Centrochelys sulcata*, *Geoche lone elegans*, *Geoche lone pardalis*), pri čemu životinja nogama tako zatvori pristup glavi da je do nje nemoguće doći, a da se životinji ne nanese bol (Mitchell, 2006.). (Slika 1). Prema navodima iz literature (Shingleton, 2007.), i našem osobnom iskustvu na klinici, bolesne



Slika 1. Indijska zvjezdasta kornjača (*Geoche lone elegans*), glava uvučena duboko u oklop i zaštićena prednjim nogama

Maja LUKAČ, dr. med. vet, znanstvena novakinja, dr. sc. Danijela HORVATEK, viša asistentica-znanstvena novakinja, dr. sc. Estella PRUKNER- RADOVČIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb

kornjače je najbolje hraniti metalnom ili gumenom sondom, unoseći hranu duboko u jednjak ili izravno u želudac. Da bi se olakšalo davanje lijekova i hrane kronično bolesnim kornjačama, čije liječenje traje vrlo dugo, dobro je rješenje postavljanje ezofagostomalnog tubusa (Mitchell, 2006., Stahl, 2006.). U vrlo velikih i snažnih kornjača manipulacija je također otežana te su i takvi pacijenti kandidati za postavljanje permanentnog tubusa. Neke su kornjače i vrlo opasne te mogu ozbiljno ozlijediti veterinara ili pomoćno osoblje, a svim kornjačama takav postupak, ako se izvodi svaki ili svaki drugi dan, predstavlja veliki stres, koji još više može pogoršati postojeću bolest.

U ovom je radu opisan postupak postavljanja ezofagostomalnog (ES) tubusa u juvenilne Afričke ostrugaste kornjače (*Centochelys sulcata*) koju vlasnici dovode u Ambulantu za ptice i egzotične kućne ljubimce Zavoda za bolesti peradi radi lošeg općeg stanja i anoreksije. Zbog veličine životinje i specifične građe oklopa, radi lakšeg hranjenja, davanja terapije te smanjenja stresa prouzrokovanih svakodnevnim injekcijama i otvaranjem usta radi hranjenja kornjači smo postavili ezofagostomalni tubus.

Postupak postavljanja ezofagostomalnog (ES) tubusa

Prije postavljanja ES tubusa, životinjama boljeg općeg stanja uputno je dati blagu opću anesteziju kratkog trajanja (Propofol 5 mg/kg i.v.) (McArthur, 2006.), ili kombinaciju ketamina (2,5-10 mg/kg i.m.) i medetomidina (0,15 mg/kg i.m.) (Mitchell, 2006.). U kornjača koje su u vrlo lošem općem stanju te je upitno bi li podnijele anesteziju, ES tubus se postavlja pod lokalnom anestezijom i sistemnom analgezijom, manualnom manipulacijom životinje.

Kao ES tubus koristi se meki gumeni kateter odgovarajućeg promjera koji

omogućava prolaz hrane. Najprije na kateteru treba izmjeriti i označiti dio od buduće incizije do visine želudca, a inciziju raditi na spoju vrata i oklopa, što je kaudalnije moguće, kako bi se kornjači onemogućilo izvlačenje ES tubusa nogom. Treba izmjeriti dužinu katetera od kranijalnog ulaza u plastron do spoja



Slika 2. Fiksiranje ezofagostomalnog (ES) tubusa dvama kožnim šavovima



Slika 3. Profilni prikaz kornjače s postavljenim ES-tubusom [Foto.: Aleksandar Gavrilović]



Slika 4. Frontalni prikaz kornjače s postavljenim ES-tubusom



Slika 5. Hranjenje bolesne kornjače putem ES-tubusa

pektoralne i abdominalne pločice plastrona, i označiti ju trajnim markerom. Držeći kornjaču u lijevom ili desnom lateralnom položaju, potrebno je zavinuti hemostat umetnuti kroz usnu šupljinu u jednjak, sve do kaudolateralnog dijela vrata, odnosno što je niže moguće, do prijelaza vrata u oklop. Vrhovi hemostata okrenu se tako da postanu vidljivi s vanjske strane vrata kroz kožu. Na prethodno dezinficiranom mjestu, između krakova hemostata načini se što manja incizija tako da se sami vrhovi hemostata, kada su mu zatvoreni krakovi, mogu izvući van. Nužan je oprez da se ne zarežu dorzolateralna jugularna vena ni ventrolateralna karotidna arterija. Ako se zarežu treba napraviti adekvatnu kompresiju ili ligaturu. Tada se hemostatom uhvati kraj mekanog gumenog katetera uvuče u lumen jednjaka i hemostatom usmjeri u želudac. Kateter se uvuče do oznake načinjene markerom. Oko mjesta ulaska katetera u jednjak, s vanjske strane, postavlja se tanki komad flastera koji se zaliđe oko katetera te se slobodnim rubovima flastera kateter zašije za kožu. (Slika 2). Čvrstim flasterom ili cijanoakrilnim ljepilom, ostatak ES tubusa zaliđe se s unutarnje strane plastrona i na tri mesta na oklpu (Jessop i Bennett, 2010.). (Slike 3 i 4).

Nakon postavljanja o tubusu treba voditi brigu, kako bi ga se moglo što duže koristiti (McArthur i sur., 2004.). Nakon svake terapije treba ga ispirati vodom, ili

čak ostaviti napunjeno vodom do idućeg korištenja. Kornjače najbolje podnose ES tubus 3 - 6 tjedana, no uz dobru njegu može se ostaviti na mjestu i do tri mjeseca (McArthur, 2006.). Ezofagostomalni tubus je najbolje ostaviti još jedan do dva tjedna nakon što kornjača ozdravi i počne samostalno jesti (Mitchell, 2006.). Prilikom vađenja, odrežu se šavovi kojima je ES tubus zašiven te se životinji nekoliko dana daje antibiotik. Ako je životinja za vrijeme liječenja antibiotik dobivala duži period, tada nema potrebe za primjenom antibiotske terapije.

Rasprava i zaključak

Ezofagostomalni (ES) tubusi su idealni za kornjače kao pacijente, osobito kada zbog dužine liječenja životinju treba neprestano hraniti, ili kada je kornjača vrlo plaha ili vrlo jaka pa je često izvlačenje glave iz oklopa vrlo komplikirano, stresno za životinju i opasno za kliničara (McArthur i sur., 2004.). Bonner (2000.) tvrdi da ES-tubus ne podnose vrlo male i poluvodene kornjače. No, iskustvo McArthura (2006.) u tom je smislu pozitivno. On drži da tubus dobro prihvaca i vrlo male i poluvodene kornjače. Upravo je tim životnjama uputno postavljati tubus, jer je kornjačama koje teže manje od 100 grama vrlo teško ili nemoguće doći do glave i otvarati usta, kako bi ih se nahranilo. Poluvodene kornjače ne jedu dok su na suhom pa kada zbog određenih patologija neko vrijeme moraju boraviti na suhom, tada je najbolje postaviti ES-tubus i tim ih putem hraniti (McArthur, 2006.). Prema našim iskustvima malene kornjače ispod 100 grama dobro podnose ES-tubus, njegovo postavljanje olakšava davanje lijekova i hrane te smanjuje stres svakodnevног davanja injekcija.

Postupak postavljanja je razmjerno jednostavan i brz, a jednom postavljeni ES-tubus omogućava nesmetano parenteralno davanje lijekova, hrane i tekućina kroz duži vremenski period.

Sažetak

Prvo pravilo pri hranjenju bolesnih gmazova je svakodnevno poticanje samostalnog hranjenja, stavljanjem hrane pred životinju. Ako životinja ne počne sama jesti, treba ju početi hraniti na umjetan način. Gmazove je najbolje hraniti metalnom ili gumenom sondom, unoseći hrana duboko u jednjak ili izravno u želudac. Od svih gmazova najteže je umjetno hraniti i davati terapiju *per os* kornjačama. Kada kornjača uvuče glavu u oklop, pristup usnoj šupljini je vrlo težak. Glava se iz oklopa mora izvlačiti vrlo oprezno jer su vratni kralješti kornjače spojeni s karapaksom pa se agresivnom manipulacijom mogu ozlijediti. Da bi se olakšalo davanje lijekova i hrane kronično bolesnim kornjačama, čije liječenje traje vrlo dugo, najbolje je postaviti ezofagostomalni (ES) tubus. Odabere se meki gumeni kateter, markerom označi njegov dio do visine želudca životinje, zavinutim se hemostatom uđe kroz usnu šupljinu i jednjak do kaudolateralnog dijela vrata, vrhovi se hemostata okrenu tako da postanu vidljivi s vanjske strane vrata i između krakova hemostata načini incizija. Hemostatom se uhvati kraj mekanog katetera, uvuče u lumen jednjaka i usmjeri u želudac te uvuče do oznake. Oko mjesta ulaska katetera postavi se flaster u obliku leptira i pomoću njega kateter zašije za

kožu, a ostatak tubusa se zalijepi s unutarnje strane plastrona i na oklop. Tubus može na svom mjestu ostati i do tri mjeseca. Pri vađenju odrežu se šavovi kojima je tubus zašiven, a životinja se nekoliko dana stavlja na antibiotik.

Literatura

1. BONNER, B. B. (2000): Chelonian therapeutics. *Vet. Clin. North Am. Exotic Animal Pract.* 3, 257-332.
2. JEESOP, M. and T. D. BENNETT (2010): Tortoises and turtles. In: MEREDIH, A. and JOHNSON-DELANEY C. (eds.): BSAVA Manual of Exotic Pets, BSAVA, England (249 - 272).
3. MCARTHUR, S., L. MCLELLAN and S. BROWN (2004): Gastrointestinal system. In: GIRLING, S. R. and RAITI, P. (eds.): BSAVA Manual of Reptiles, BSAVA, England (210 - 229).
4. MCARTHUR, S. (2006): Feeding techniques and fluids. In: MCARTHUR, S., WILKINSON, R. and MEYER, R. (eds.): Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles, Blackwell, England (257 - 271).
5. MITCHELL, M. A. (2006): Therapeutics. In: MADER, D. R. (ed.): Reptile Medicine and Surgery, Saunders Elsevier, Missouri (631 - 664).
6. SHINGLETON, B. (2007): Chelonia. In: GOSDEN, C. (ed.): Exotics and Wildlife: A manual of veterinary nursing care, Butterworth-Heinemann, England (87-113).
7. STAHL, S. J. (2006): Reptile emergency care. The North American Veterinary Conference (Orlando, 7-11. January 2006). Proceedings of the North American Veterinary Conference (1677 - 1679).

Placement of esophageal tube in turtles

Maja LUKAČ, DVM, Junior Researcher, Danijela HORVATEK, DVM, PhD, Senior Assistant-Junior Researcher, Estella PRUKNER- RADOVČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The first rule of feeding diseased reptiles is their everyday stimulation of independent feeding. If the animal does not eat independently, artificial feeding should be introduced. Applying food deeply into the oesophagus or directly into the stomach is the best way to feed reptiles. Turtles/tortoises are the reptiles that are most difficult to feed artificially or to administer medication orally. When the animal retracts its head into the carapace, access to its oral cavity is very difficult. The head should be pulled out of the carapace very carefully, as the cervical vertebrae are associated with the carapace and injury may ensue with aggressive manipulation. To facilitate the administration of food and medication to chronically ill turtles/tortoises requiring prolonged treatment, it is best to insert a oesophagostomal tube. Choose a soft

rubber catheter, mark its part to the level of animal's stomach, insert the curved haemostat through oral cavity and oesophagus to until the caudolateral part of the cervix, orient the haemostat tips so they are visible on the outer side of the cervix and make an incision between the two haemostat tips. Grip the end of the soft catheter with a haemostat, pull it into oesophageal lumen direct it to the stomach and pull to the mark. Place a butterfly patch around the catheter insertion area, use it to fix the catheter by stitches to surrounding skin and stick the remaining part of the tube to the inner plastron side and to the carapace. The tube can be left in place for up to three months. Upon removal, the stitches should be cut and the animal placed on antibiotic treatment for several days.

Popis izraza kod opisivanja vanjštine domaćih životinja prema Naredbi iz 1893. g.

Petar Džaja i Krešimir Severin



Naredba Kr. Hrv.-slav.-dalm. Zemaljske vlade, odjel za unutarnje poslove, od 13. veljače 1893., broj 47959 ex 1892. glede naziva, koji se imaju rabiti za opis marve prigodom izdavanja marvinskih putnika. Ova Naredba izdana je radi uniformnosti pojedinih oznaka domaćih životinja, a u njoj se posebno navodi da je u prometu marve posebno u pograničnim područjima vladaju razna narječja kod opisa domaćih životinja u izdavanju marvinskih putnbicah, što uzrokuje mnoge probleme u identifikaciji, odnosno transportu marve. Ipak ova Naredba dozvoljava uz obvezno dolje navedene opise da se rabe i lokalni nazivi. Izrazi koji se navedeni na hrvatskom jeziku navedeni su u zagradi na mađarskom i njemačkom jeziku). Popis izraza koji se rabi kod opisa vanjštine domaćih životinja:

njuška	
jagodice	
podbradak	
grlište	
ovnoglavac (grbonos)	
vrat	
šija	
podvratak	
griva	
grljan	
greben	
hrbat	
bok	
sedlast hrbat	
gurav, grbav hrbat	
prsa	
rebra	
boćine, slabine, taštine	
križa, krsta	
kukovi	
rep	
kita, kičica repna,	
trbuh	
puzdrište	
puzdra	
muda	
vime	
sise	
plodva, plodnica	
prkno	
pleća	
rame	
pregib	
lakat	
gnjat	
prednje koljeno	
golien	
gležanj	
kičica	
putište	

1. Imena pojedinih dijelova tijela:

glava	
trup	
noge	
rogovi	
ušesa (uha)	
počelica (čupa-kika)	
slipe oči	
oči	
nos	
nozdrve	
usta	
gubica	
zubi	

Dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Krešimir Severin, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet, Zagreb

kruna
kopito
papak
paponjak
iver
bedra
ključi
peta
mekača.

- **žaboust**-kad se oko usana (odnosno i nozdrvah), izmjenjuju ružičaste sa tamnim pjegama,
- **sadno-** ako ima bijelih dlana na grebenu, hrbtnu od sedla,
- **žulj od hama-** kad ima po boku biele dlake na žulju od hama,
- **žulj od ostruge-** biele dlake na mjestu, koje se kod jahanja ostrugom izbode,
- **bjelonog**-ako su noge do povrh lakatnoga sgloba, odnosno do povrh stražnjega koljena biele,
- **obuven-**noge do prednjeg koljena, odnosno do ključa biele,
- **putonog-** do pol cieví biel,
- **biele kićice-**
- **putast, putalj**-ako je putište bielo,
- **poluputast-** putište do polovice bielo,
- **biele krune**
- **biele mekuši-**
- **pjegave krune,**
- **kopita žuta,**
- **kopita prugasta**
- **kopita pjegava.**

2. Znakovi

2.1. Umjetna obilježja konja

- žig
- izbockani znak
- naušnice
- zarez, rovaš
- znak po obrazcu
- znak ostrižen
- znak oličen.

2.2. Naravna obilježja konja

- **grušak na čelu**- na zagasitu čelu nekoliko bijelih dlaka
- **cvjetkast**- na čelu mala bijela pjega nepravilna oblika
- **cvjetast**- ako ima na čelu oveću pjegu-cvjet
- **zvjezdast**- oveća bijela pjega donekle pravilna oblika
- **šiljato-zvjezdast-duguljaste zvijezde**- ako je pjega prema nosnom hrptu zašiljena
- **probijeno zvjezdast-pjegaste zvijezde**- ako u sredini pjegi ima tamnije dlake,
- **lisast**-ako se pjega proteže i preko nosnog hrbita,
- **lisina, obrisač**-ako se pjega proteže i na gornju usnu,
- **lampast**- ako se lisa sa strane i preko očiju proteže, budi na desnoj ili lijevoj strani ili na obiju stranah,
- **bjeloglav**- glava ponajviše ili sasvim bijela, a trup je ine jednolične dlake
- **brnjast**- na gornjoj usni duguljasta biela ili ružičasta pjega, razna oblika i veličine
- **bjeloust**-kad su obje ustne na okolo bijele,

2.3. Izrazi za opisivanje dlaka

A. kod konja

Jedne boje

- **svjetli bielac**-svijetle bijele dlake, ružičaste kože, žućkastih kopita,
- **bielac**-biele dlake bez sjaja, crne kože i crnih kopita,
- **vranac**-svjetlo crne dlake, crne grive i crna repa
- **galin, crnko**-crne dlake, nu bez sjaja,
- **jasno smeđ**-jasno smeđe malko žućkaste dlake, grive i repa crna, od prednjeg koljena i od ključnih dolje noge su žućkaste ili smeđe crne, rijedko kada crne,
- **gnjedast**- tamno-riđe dlake, griva, rep i noge ozdol crne,
- **žutosmeđ**- dlake je žutosmeđe, malko ridjaste, sjajne smeđe-crne grive i repa a noguh crnih,
- **višnjast**- dlake zagasito crvene, gotovo kao i višnja, griva rep i noge crne,
- **izabel**- sinajve u žutobiele dlake, jasnom- žuto smeđom rijdom

- grivom, repom i slične dlake na nogama, koje ne smiju da budu crna, koža je ružičasta, kopita žućkasta,
- **žućko-žutko, žuti plavac-** dlake kao prašnji, samo što je koža tamnija kao što i dlaka na nogama, koja može biti čak i crna,
 - **pšeničast plavac-** dlaka jasno smeđe ili crvenkasta, griva, rep i noge ozdol su tamne,
 - **zlatozut-** dlaka jasno zlato žuta, griva i rep svjetli, a dlaka je sjajna poput kovina,
 - **plavac-** dlaka jasno smeđe žuta, imade uzduž hrbta tamniju prugu,
 - **jasnoridj, jasni ridjan-** dlake jasne ridjo-žute, isto takve su i noge, griva i rep,
 - **tammoridj, tamni ridjan-** smedjeridje dlake, griva i rep je prljavo smeđe ridj,
 - **zlatko, zlatoridj-** žuto ridjaste sjajne dlake, griva i rep znadu biti zagasitiji,
 - **sinjavoridj, sinjavi ridjan-** dlake crvenkaste poput ilovače, bez sjaja, isto takova griva i rep, nu mogu biti i malko jasniji i zagasitiji,

Izpremiešane boje:

- **čilaš-** izpremiešane biele i sive sjajne dlake
- **žerav-** isto takve dlake bez sjaja
- **mrki žerav-** više sive i crne, amanje biele dlake,
- **jabučilo-okruglasta** jasna mjesta tamnjom sivom dlakom obrubljena
- **zelenko-** sivo-crne, a manje biele dlake,
- **crnoglav-** ako je uz to crne glave,
- **rosast, sivkast-** jest zelenko u koga nadmašuje biela dlaka,
- **sivac-** može biti jasnije i zagasitije dlake, i to sive, crne i biele, vršci repa strune su jasni,
- **ridji sivac-ridje** glave, dlake crvene, izpremiešane sa bijelom i sivom, nege su ozdol više-manje ridjaste, nipošto crne, griva i rep izpremiešane ridje, biele i sive dlake),
- **surkać-smedja** glava, dlaka je smeđa, izpremiešana sa sivom, griva i rep zagasitiji, noge od ozdol crne.
- **žućkasti sivac-dlaka** žućkasto smeđa, sive i biele izpremiešane,
- **pastrvasti žerav-pastrvnjak-** imade na bijeloj ili sivoj dlaci okruglaste jasno crveno smeđe ili crvenkaste, gusto poredane piknjice,
- **piknjadi zelenko-muško** na svoj dlaci tamnije i crne piknjice,
- **škvorčak-pomiešane biele, žute i crne dlake,**
- **kestenjaste dlake-** ako je ista boja zrelih divljih kestenah, potprsje i potrbušje je jasnije, griva, rep i noge ozdol su crne,
- **jasno kestenjast-**
- **grošasto-kestenjast-na** gornjoj dlaci okrugljasta mjesta, obrubljena tamnjom dlakom.
- **mrkov-crnkasto** smeđe svjetle dlake, griva, rep i noge crne.
- **tamno-smedj-tamno** smeđa dlaka, crna griva i rep isto tako noge ozdol.
- **srnko-** ako je ova tamno žuto smeđa, dlaka prednej strane glave, podprsa i potrbušja je malko jasnija, griva, rep i noge ozdol su crne.
- **žuti izabel-** žuto sive svjetle dlake i isto takove grive i repa, nu griva i rep mogi biti i nešto zagasiti.
- **ridji plavac-** tamno žutu ili ridjo žutu dlaku koja je često puta grošasta, struna repa i grive pomiešano sivo žuta.
- **sieri plavac-** je smeđe žut, glave je malko tamnije i trak uzduž hrbta je tamniji, noge ozdol, griva i rep mrki, kopita crna.
- **mišasti plavac-** sive poput miša dlake, glava malko zagasitije boje, kao i trak uzduž hrbta, često po tijelu tamno prugast, griva, rep i noge dolje mrke i crne, kopita crna
- **pepeljasti plavac-** pomiešane sive i ridjasto žute dlake, tamna dlaka na hrbtu i smeđijih kopita.
- **crvenko-tamno smeđje, ridje, ne svijetle dlake, griva i rep zagasiti ili jasno ridji.**

- **jetrast ridjan**-crvenkasto siv-kaste smedje ridje dlake sa sivim vrhom i tamno sivom strunom izpreiešane grive i repa.
- **smedji ridjan**-svjetlo žućkaste, smedje ridje dlake, griva i rep zagasitiji ili sivi.
- **kličav ridjan**-jasne, smedje i crvenkaste dlake, griva i rep bieli ili sivi,
- **mrki ridjan**- imade tamnu dlaku sa svjetlo sivom grivom i repom
- **crni ridjan**-dlake su crne u ridjo smedje, tamnije ili posve crne grive i repa.

Šarci

- **plavi šarac**-na površini se izmjenjuju velika nepravilna mjesta bielom dlakom sa mjestima žućkastom ili plavkastom dlakom.
- **ridji šarac**-mjesta sa bielom dlakom se izmjenjuju sa mjestima ridje dlake.
- **gnjedi šarac**-isto kao i biela mjesta sa svjetlijim ili zagasitijim ridjo-smedjima.
- **crni šarac**-isto kao i biela mjesta sa crnim.
- **porculanast šarac**-žuto sive ili plavo sive velike pjegе, ili su tamnija mjesta plavo sivom dlakom obrubljena.
- **agast šarac**-tamnija miesta ridjaste dlake, smedje i sivkaste izpremieštane.
- **žutotigrast**-na ružičastoj koži sa bielom dlakom nalaze se veće žute pjegе okrugla oblika obrubljene svjetlijom dlakom.
- **ridjotigrast**-kao gornji samo su pjegе ridje dlake.

3. Goveda

- **biela**-bezbojna koža, ružičasta a dlaka biela.
- **zekasta**-biele svjetle dlake i manjaste kože,
- **siva**-sive dlake i manjaste kože,
- **sura**-tamnije sive dlake i manjaste kože,
- **mrkulja**-jošte zagasitije, po gotovo crne dlake,

- **sivo-crnja**-kao prvašnja, oko gubice ima svjeli kolobar,
- **jazavčasta**-na korjenu i i vrški jasno siva dlaka, a u sredini tamno siva,
- **gala**-crne dlake bez sjaja,
- **vranka**-crne sjajne dlake,
- **crlja**-crvene dlake a sive kože,
- **ridja**-jasno crvene dlake a sive kože,
- **žutica**-žute dlake i sive kože
- **medova**-poiešane žute i sive dlake.
- **ruma**- tamno crne dlake, a mrko sive kože.
- **srnava**-smedje-crvene dlake.
- **čadova**-tamno-smedje dlake, amanjaste kože,
- **plava**-među zagasitom puno biele dlake,
- **dikava**-bielih, žutih ili plavih pjega o tielu,
- **ridjošara**-bielih i ridjih pjega po tielu,
- **perova**-crnih i bielih pjega po tielu,
- **prutulja, šibova**-po tielu dulje pruge ine dlake,
- **risava**-crne dlake, a po njoj biele pjegе,
- **lozica**-žute dlake, a po njoj bile pruge,
- **pojasna**-kao opisana inom dlakom,
- **krilava**- tamnija dlaka s bielim potrbušjem,
- **grahorasto**-ako na jasnoj dlaci ima zagasitih pjega kolik grah,
- **vezulja**- rosulja-ima na jasnijem dnu zagasite piknje,
- **povezano**-ako po ramenu, podramenu ili stegnu nalaze kolobari jasnije dlake.
- gubica crna
- gubica žućkasta ili ružičasta
- gubica sura
- gubica pjegava
- gubica prugava.

Bilješka o 15. EAFP međunarodnoj konferenciji o bolestima riba i školjkaša održanoj u Splitu

Snježana Zrnčić



Od 12. do 16. rujna 2011. u splitskom hotelu Radisson Blu održana je 15. međunarodna konferencija o bolestima riba i školjkaša u organizaciji Europskog udruženja ihtiopatologa (EAFP). Organizaciju skupa je realizirao nacionalni ogrank udruženja na čelu s prof. dr. sc. Ivonom Mladineo, dr. med. vet. iz Instituta za oceanografiju i ribarstvo u Splitu, a uz suradnju djelatnika Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu; dr. sc. Snježana Zrnčić, dr. med. vet. i dr. sc. Dražen Oraić, dr. med. vet. Za hrvatske je ihtiopatologe organizacija ove konferencije imala posebno značenje jer su temelji EAFP-a postavljeni u Zagrebu davne 1975. godine.

Naime, sudionici prvog EIFAC/OIE kooperativnog programa za istraživanja u akvakulturi održanog na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu, Zavodu za patologiju riba i pčela, u organizaciji doajena svjetske i hrvatske ihtiopatologije, našeg dragog učitelja, prof. dr. Nikole Fijana prepoznali su nužnost neposredne suradnje između znanstvenika navedenog područja radi brze izmjene informacija. Odlučili su, a njihovu su odluku kasnije podržali gotovo svi vodeći europski stručnjaci za bolesti riba, organizirati Europsko udruženje ihtiopatologa. Prva zadaća

organizacijskog odbora bila je popisati sve aktivne znanstvenike ihtiopatologe u Europi. Donijeli su Statut organizacije i održali inauguralni sastanak u Mü nchenu u listopadu 1979.

Ciljevi novoosnovanog udruženja definirani su kao promocija izmjene znanja i koordinacija istraživanja u području patologije riba i školjkaša. Zbog toga je odlučeno da se kreće s izdavanjem publikacije i 1981. godine izdan je prvi broj Bulletin of EAFP. Već godinama časopis izlazi 6 puta godišnje i citiran je u CC, publicira kratke članke o najnovijim saznanjima u ihtiopatologiji, a arhiva se nalazi na web stranici udruženja <http://eafp.org/bulletin-archive/>. Danas udruženje broji više od 1000 članova iz 57 zemalja, ne samo Europe već cijelog svijeta. Članstvo je otvoreno za sve stručnjake ihtiopatologe, studente kao i organizacije, agencije i druge zainteresirane.

Popularnosti udruženja doprinosi i velik uspjeh Međunarodnih konferencija koje se održavaju svake 2 godine u nekoj od europskih zemalja.

Ovogodišnja konferencija u Splitu, pod pokroviteljstvom OIE-a, okupila je 450 sudionika iz 34 zemlje Europe, Sjeverne i Južne Amerike, Australije i Azije. Kroz četverodnevni rad

Dr. sc. Snježana ZRNČIĆ, dr. med. vet., viša znanstvena suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

prezentirano je 150 usmenih priopćenja i 293 posteru organiziranih kroz 12 sekcija: Imunologija u riba i školjkaša, Interakcija domaćina i parazita, Bolesti školjkaša i rakova, Okolišne i bolesti uzrokovane trovanjima, Epizootiologija akvatičnih životinja, Virusi i virusne bolesti, Bolesti nepoznate etiologije, Bakterijske bolesti, Parazitarne bolesti, Dijagnostika, profilaksu i liječenje, Hranidba i zdravlje riba te Bolesti tune i divljih riba. Hrvatski su znanstvenici participirali s 19 kongresnih priopćenja. Četiri su plenarna predavanja obuhvatila različita područja ihtiopatologije i informirala nas o trenutačno najaktualnijim temama istraživanja u svijetu. Temu „Što smo naučili o antivirusnom odgovoru i interferonu kod riba“ izložio je prof. Chris Secombes, poznati imunolog sa Sveučilišta u Aberdeenu, Škotska. Profesorica Barbara Nowak iz Australskog koledža za marikulturu, Univerziteta Tasmanije je izložila predavanje pod nazivom „Uzročnik epiteliocistisa – patogen ili bezazleni promatrač?“. Dr. sc. Alex Obach, Španjolac podrijetlom, a na dužnosti direktora istraživačkog centra za akvakulturu u Stavangeru pri jednom od svjetski vodećeg proizvođača riblje hrane, Skretting, Norveška održao je predavanje s naslovom „Primjena imunostimulansa u ribljoj hrani – industrijska perspektiva“. Posljednje plenarno predavanje održala je dr. sc. Sarah L. Poynton, profesorica molekularne i komparativne patobiologije na Medicinskoj školi Johns Hopkins Univerziteta u Baltimoru, MD, SAD pod naslovom „*Spironucleus* spp: univerzalni patogen riba, jedinstven flagelat“.

Uz mnogobrojna, nadasve zanimljiva predavanja održano je nekoliko tematskih radionica kao što je radionica o Myxozoima, Bolestima jegulja, Noda virozama i Imunostimulansima. Dan nakon završetka konferencije održana

je tradicionalna radionica na temu histopatologije. Ove se godine govorilo o histopatologiji limfoidnih organa.

Uz aktivnosti izuzetno interesantne za svjetsku znanstvenu zajednicu Laboratorij za patologiju riba Hrvatskog veterinarskog instituta iskoristio je boravak vrhunskih stručnjaka u području bolesti mediteranskih vrsta u Splitu te je dan prije kongresa u suradnji s „Klasterom Marikultura“ organizirao radionicu za uzgajivače bijele morske ribe (lubina i komarče) pod nazivom „Zdravstveni menadžment“ kao prepostavka uspješnog uzgoja mediteranskih vrsta riba“. Tijekom cijelodnevne radionice kojoj je nazočilo više od 50 sudionika o virusnim bolestima lubina i komarče predavao je prof. dr. Giuseppe Bovo, voditelj OIE referentnog laboratoriјa za noda viroze u Padovi, Italija; o bakterijskim bolestima i načinu njihovog sprječavanja i liječenja dr. Carlos Zarza iz Španjolske, mjerama imunoprofilakse dr. sc. Panos Christofilianis, Grčka, o parazitarnim bolestima od profesorice Marialetizia Fioravanti sa Sveučilišta u Bologni; o higijenskim mjerama kao važnom čimbeniku sprječavanja pojave bolesti dr. Alain le Breton iz Francuske te o ishrani i zdravlju riba dr. sc. Umberto Luzzana iz Italije. Skup je otvorio dr. sc. Dražen Oraić kronološkim pregledom najznačajnijih bolesti u hrvatskoj marikulturi, a prof. dr. Ivona Mladineo je govorila o problemima u hrvatskom uzgoju tuna. Sve su prezentacije pohranjene na CD-u koji je naknadno distribuiran sudionicima radionice. Nekoliko je primjeraka preostalo u Laboratoriju za patologiju riba HVI te čemo ih rado prepustiti zainteresiranim kolegama veterinarima koji se u svojoj praksi susreću s tom tematikom.

Nakon Konferencije organizirana su dva stručna izleta; na uzgajalište tuna na Braču i na uzgajališta školjkaša u ušću rijeke Krke. Naravno da je zadnji

izlet iskorišten i za turističku promociju naše obale pa su znanstvenici uz uzgoj dagnji imali priliku razgledati Šibensku katedralu Sv. Jakova, Skradin i Nacionalni park Krka.

Konferencija je doživjela veliki uspjeh, a bila je i medijski popraćena te su o njoj prikazane reportaže u emisiji More HRT-a i Agrosvijet TV Jadrana. Aktualni predsjednik EAFF-a dr. sc.



Slika 1. Radionica „Zdravstveni menadžment kao prepostavka uspješnog uzgoja mediteranskih vrsta riba“ organizirana za uzgajivače bijele morske ribe



Slika 3. Stručni izlet na uzgajališta školjkaša u ušću rijeke Krke

Steven Feist iz CEFAS-a, Engleska je na kraju konferencije izjavio da je izuzetno zadovoljan održanom konferencijom i da je došlo više sudionika nego je očekivano. Nadalje, dr. sc. Steven Feist smatra da je znanstveni sadržaj bio na višem nivou nego proteklih godina te zaključuje da znanstvenici u cijelom svijetu marljivo rade na razvoju akvakulture. Izrazio je zadovoljstvo organizacijom i zaključio da je Hrvatska krasna zemlja i veoma pogodno mjesto za održavanje takve konferencije.



Slika 2. Prof. dr. sc. Ivona Mladineo, dr. med. vet. otvara skup



PO PRVI PUT U HRVATSKOJ PREDSTAVLJA

DERMATOLOŠKI ŠAMPONI ZA PSE I MAČKE

Formulirani na bazi SPHERULIT® tehnologije

SPHERULIT® tehnologija omogućava bolju efikasnost i produženje djelovanja aktivnih supstanci. Istraživanja potvrđuju superiornost formulacija baziranih na SPHERULIT® tehnologiji u odnosu na klasične tretmane, čak i u manjim dozama.

ALLERMYL šampon

Lokalna upala i svrbež

- * Kontrola reakcije kože nezavisno od uzroka (primarno alergijski dermatitisi)
- * Obnavljanje integriteta kožne barijere i zaštitne funkcije epidermisa
- * Obnavljanje normalne mikrobiološke ravnoteže površine kože

Sastav

Mono i oligosaharidi, vitamin E, linoleinska kiselina (Omega 6), pirokton olamin

CIJENA: 65,00 kn / 200 ml

PYODERM šampon

Kožne infekcije

- * Kontrola kožnih infekcija
- * Obnavljanje integriteta kože i dlake
- * Primjena površinskog tretmana kože koji se odlično podnosi

Sastav

Klorheksidin 3%, urea, glicerin, hitosanid, anionski sferulit

CIJENA: 60,00 kn / 200 ml

SEBOMILD šampon

Keratoseboreični sindrom u pasa i mačaka

- * Uklanjanje prekomjerne peruti
- * Regulacija deskyamacije i uzrijevanje keratocita
- * Normalizacija sekrecije lojnih žljjezda
- * Kontrola normalne biološke ravnoteže površine kože

Sastav

Salicilna kis., linoleinska kis., gama linoleinska kis., Zn glukonat, vitamin B6, pirokton olamin, esencijalna ulja biljke *melaleuca alternifolia* (čajevac), anionski sferulit

CIJENA: 65,00 kn / 200 ml

FIZIOLOŠKI šampon - Shampooing Physiologique

CIJENA: 45,00 kn / 200 ml



CENTRALNA VETERINARSKA
AGENCIJA d.o.o.

tel. 01/2304-334; -335

fax. 01/6604-031

U SURADNJIŠTA



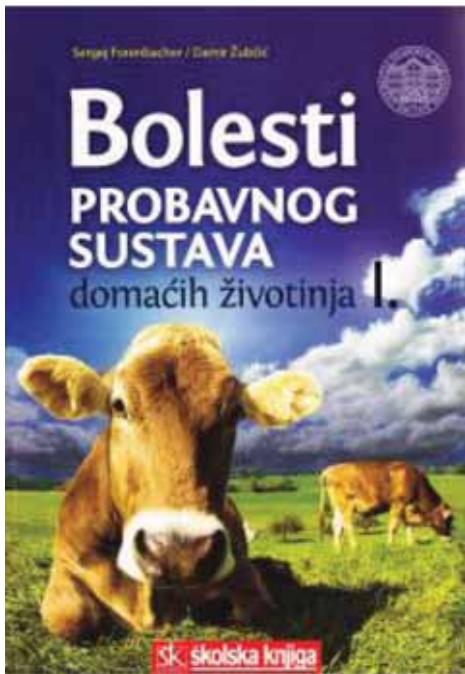
medical intertrade

SLUŽBA VETERINE

tel. 01/3374-022

fax. 01/3325-772





Bolesti probavnog sustava domaćih životinja I. / Sergej FORENBACHER, Damir ŽUBČIĆ; [crteže je izradio Siniša Kovačić, a fotografije Sergej Forenbacher, Mensur Šehić i Zoran Jelača].

Izdavač: Školska knjiga, Zagreb 2010. - 503 str. : ilustr. ; 24 cm.

(Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu = Manualia Universitatis studiorum Zagrebiensis)

Bibliografija: str. 468-499. - Kazalo.

ISBN 978-953-0-31147-3

Knjiga predstavlja udžbenik iz dijela gradiva nastavnog predmeta Unutarnje bolesti domaćih životinja, kako za studente u dodiplomskoj, tako i za one na specijalističkoj poslijediplomskoj nastavi, a zbog obilja izvrsno selezioniranih literaturnih podataka i za studente na doktorskom studiju. Terenski veterinari, poglavito oni koji sudjeluju u farmskom uzgoju preživača, naći će u toj knjizi mnoga rješenja zdravstvenih i proizvodnih problema s kojima se svakodnevno susreću.

Ukupna materija je minuciozno obrađena, izrazito pregledno iznesena, uz strogo pridržavanje redoslijeda zbivanja po medicinskoj logici te stoga vrlo pristupačna i razumljiva.

Knjiga je podijeljena u 2 dijela:

A. Bolesti usta, ždrijela i jednjaka sa 6 poglavlja i svako od njih s 1 do 2 podnaslova te 100 citiranih literaturnih podataka - referenci

i

B. Bolesti predželudaca i sirišta u preživača s 12 poglavlja i svako od njih s 1 do 3 podnaslova te 421 citirani literaturni podatak - referencia. Dok je u prvom dijelu Bolesti usta, ždrijela i jednjaka obrađena patologija tih organa u svih domaćih životinja, dотле u dijelu udžbenika B Bolesti predželudaca i sirišta, kako to već iz samog naslova proizlazi, autori obrađuju preživače, pretežito goveda, što knjizi daje posebnu vrijednost za veterinare praktičare, poglavito one koji se brinu o proizvodnom zdravlju industrijski uzgajane stoke, dajući im najnovije podatke o mogućim patološkim zbivanjima, njihovoj dijagnostici i liječenju, ali i o prevenciji mogućih patoloških stanja, što je u farmskom uzgoju stoke i ekonomici proizvodnje, njihov osnovni zadatak. Preglednost materije kao i izvrsnost napisanog teksta, omogućuju čitatelju shvaćanje i memoriranje iznesenog gradiva te njime ovladaju tako da postaju sposobni pratiti buduća nova saznanja, kako u dijagnostici, tako i u liječenju i preventivi.

Stoga smatram da je djelo zaista vrijedno, korisno i izuzetno dobro došlo u veterinarskoj strukovnoj literaturi.

Mario BAUER



Hrvatski veterinarski institut
10000 Zagreb, Savska cesta 143
tel.: (01) 6123 -600
www.veinst.hr



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

Laboratorij za mikrobiologiju hrane bilježi početak rada od samog osnutka Hrvatskog veterinarskog instituta 1933. godine. Laboratorij za svoju temeljnu djelatnost ima provjeru usklađenosti mikrobiološke ispravnosti hrane životinjskog podrijetla sa zakonskim propisima, te nadzor nad uzročnicima bolesti koje se prenose hranom u svrhu zaštite zdravlja ljudi. S ciljem usklađivanja rada s međunarodnim zahtjevima, uvođenje standardiziranih metoda ispitivanja uspješno je dovršen dobivanjem akreditacije prema normi 17025 s dvadeset i dvije ISO i AOAC akreditirane ispitne metode. Laboratorij sudjeluje u projektima s tematikom zdravstvene ispravnosti hrane, analize rizika; suradnjom s institucijama kao što su Ministarstvo poljoprivrede, Hrvatska agencija za hranu, Hrvatski zavod za norme, Hrvatska akreditacijska agencija; te provodi edukaciju subjekata u poslovanju s hranom.

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

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

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

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

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

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

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

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

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

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

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

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

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

Studenti veterine u Domovinskom ratu

Goran Juričić



Pripadnici Veterinarskog voda pri Glavnem Stožeru Saniteta RH na terenu početkom 1992. godine u okolici Daruvara na obroncima Papuka prilikom

sakupljanja odbjegle stoke nakon ratnih djelovanja. Tom prigodom zabilježena je priložena fotografija.



Na slici slijeva na desno: Zoran BOŠNJAK, Dalibor WOLF, Nenad POLIĆ (zapovjednik jedinice), Siniša MAGLAIĆ, Dražen ČULJAK, Mario MARENČIĆ, Goran JURIČIĆ i

neprepoznati pripadnik Civilne Zaštite. Svi pripadnici Veterinarskog voda su u to doba bili studenti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Goran JURIČIĆ, dr. med. vet., Centralna veterinarska agencija d.o.o., Zagreb

In memoriam - prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić (1940.-2010.)

Dana 1. kolovoza 2010. godine, nakon kratke i teške bolesti, preminuo je prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić, redoviti profesor Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, vrsni nastavnik, stručnjak enciklopedijskog znanja i plodni znanstvenik.

Prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić rođen je 4. siječnja 1940. godine u Zagrebu. Osnovnu školu i II. realnu gimnaziju završio je u Zagrebu, a godine 1959. upisao je Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zainteresiran i marljiv, već se tijekom studentskih dana uključio u rad Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju, prvo kao demonstrator, a kasnije i kao pomoći asistent. Učestvovao je i u znanstvenom radu Zavoda te izradio tri nagrađena studentska znanstvena rada. Profesor Hrvoje Gomerčić je na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao 22. siječnja 1965. i iste je godine izabran za asistenta. Stupanj magistra znanosti stekao je godine 1969., a akademski naslov doktora znanosti

stekao je 1976. godine. Godine 1979. je izabran u zvanje docenta iz predmeta Anatomija, histologija i embriologija, u zvanje izvanrednog profesora izabran je godine 1983. te 1987. u zvanje redovitog profesora. Godine 1999. profesor Hrvoje Gomerčić je potvrđen u trajno zvanje redovitog profesora.

Cijeli svoj radni vijek prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić proveo je u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U dodiplomskom studiju predavao je predmet Anatomija, histologija i embriologija, a kasnije, prelaskom na integrirani preddiplomski i diplomski studij, predmete Anatomija s organogenезом domaćih životinja I, II i III. Izradio je programe i uveo u nastavni proces nekoliko izbornih predmeta: Anatomija laboratorijskih životinja, Osobitosti lokomocijskog aparat konja, Osnove anatomije dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), Osnove biologije s osnovama fiziologije morskih sisavaca, Osnove sistematike i evolucije morskih sisavaca. Na doktorskom studiju veterinarske medicine predavao je anatomske predmete, ali je uveo i predavao predmete proizašle iz znanja stečenih dugogodišnjim proučavanjem sisavaca Jadranskog mora. Osim toga, profesor Gomerčić predavao je obvezatni predmet Anatomija čovjeka na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta te predmet Plastična anatomija na Akademiji likovnih umjetnosti. Bio je mentor mnogim studentima u izradi diplomskih radova, magistarskih radova i disertacija. Mnogi su studenti izradili nagrađene studentske radove pod mentorstvom prof. dr. sc. Hrvoja Gomerčića.

Profesor Hrvoje Gomerčić znanstveno se usavršavao na Veterinarskom fakultetu u Kopenhagenu (Danska) i Götheovom institutu u Njemačkoj, a posjetio je i veterinarske fakultete u Sarajevu,

Budimpešti, Beču, Bologni, Parizu - Alfortu, Tuluzu, Petrogradu, Ankari te Anatomski institut Medicinskog fakultetu u Bazelu.

Svojim bogatim znanstvenim opusom prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić bio je prepoznat u znanstvenim i stručnim krugovima. Sveukupno je objavio 312 bibliografskih jedinica, a nekoliko radova je upravo u postupku objavljanja. Neki od njegovih znanstvenih radova citirani su u najpoznatijem veterinarskom anatomskom udžbeniku, u: Nickel, R., A. Schummer, E. Seiferle: „Lehrbuch der Anatomie der Haustiere“. Kao autor, koautor ili urednik objavio je sljedeće knjige: „Bibliography of Veterinarski arhiv“ 1-60 (1931.-1990.) (izdavač Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1994.), „Veterinarski priručnik, četvrti, obnovljeno i dopunjeno izdanje“ (izdavač Jugoslavenska medicinska naklada, 1989.), „Veterinarski priručnik, peto, izmjenjeno izdanje“ (izdavač Medicinska naklada, 1996.), „Etika u odnosu čovjeka i životinja“ (izdavač Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, 1998.), „Zaslužni hrvatski veterinar, II.“ (izdavač Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2003.), „Peradarstvo“ (izdavač Nakladni zavod Globus, 1995.), „Hrvatsko-češki rječnik za ribarsku struku (Česko-chorvatsky slovník z oboru rybářství)“ (izdavač Intergrafika, 2002.), „Enciklopedijski rječnik humanog i veterinarskog medicinskog nazivlja“ (izdavači Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti i Leksikografski zavod „Miroslav Krleža“, 2006. i „CT- und MRT-Atlas, Transversalanatomie des Hundes“ (izdavač Parey Medizinverlag, Stuttgart, 2009.). Bio je recenzent većeg broja knjiga, znanstvenih članaka, prijedloga sveučilišnih studija i inozemnih znanstvenih projekata te stalni stručni konzultant za morske sisavce u časopisu National Geographic Hrvatska. Objavio je i veći broj prikaza različitih znanstvenih,

odnosno stručnih knjiga i članaka u časopisima Veterinarski arhiv, Stočarstvo i Veterinarstvo. Objavio je veći broj članaka u „Hrvatskom općem leksikonu: A-Ž“ (izdavač Leksikografski zavod „Miroslav Krleža“, 1996.) te je izradio preko tisuću riječi iz područja veterine za „Rječnik hrvatskog jezika“ (izdavači Leksikografski zavod „Miroslav Krleža“ i Školska knjiga, 2000.) i nekoliko tisuća natuknica, pretežno iz komparativne morfologije za „Enciklopedijski rječnik humanog i veterinarskog medicinskog nazivlja“ (izdavači Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti i Leksikografski zavod „Miroslav Krleža“, 2006.).

Profesor Gomerčić je sudjelovao na brojnim domaćim i međunarodnim znanstvenim skupovima. Bio je član znanstvenog i programskog odbora nekoliko znanstvenih skupova: nekoliko Kongresa biologa Hrvatske, Skupa anatoma Alpe-Jadran i 5. godišnjeg sastanka Sekcije za elektronsku mikroskopiju Hrvatskog prirodoslovnog društva. Bio je voditelj dva međunarodna znanstvena projekta i voditelj hrvatskog dijela istraživačkog tima na projektu EU, INTRERREG III., Adria Watch. Bio je voditelj i brojnih domaćih znanstvenih projekata. Predmet njegovog znanstvenog interesa bile su zdravstvene i biološke osobitosti populacije morskih sisavaca u Jadranu. U tom se području profesor Gomerčić nametnuo kao autoritet i njegovim postignućima Republika Hrvatska se ubrojila u rijetke europske države u kojima se sustavno prate populacije morskih sisavaca i to već gotovo 20 godina. Na tu je temu održao brojna javna predavanja te izlaganja na televiziji i radiju u Hrvatskoj i Europi. Svojim je stručnim i javnim djelovanjem pridonio prepoznatljivosti Veterinarskog fakulteta i izvan granica Hrvatske. Osobno je kao svoj najveći uspjeh doživljavao uvrštavanje dupina i ostalih vrsta kitova u Pravilnik o zaštiti

nekih vrsta sisavaca (*Mammalia*) iz 1995. godine.

Osim znanstvenog, nastavnog i stručnog rada prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić bio je aktivан i u obavljanju brojnih dužnosti. Bio je član Međunarodnog odbora Sindikata visokoškolskih nastavnika, Društva sveučilišnih nastavnika i suradnika Sveučilišta, član brojnih povjerenstava Vijeća i Savjeta Veterinarskog fakulteta te Rektorata Sveučilišta u Zagrebu. Bio je tajnik i u dva mandata predsjednik Hrvatskog biološkog društva te potpredsjednik Hrvatskog društva anatoma, histologa i embriologa. Dugo je godina bio tehnički urednik, a kasnije glavni i odgovorni urednik znanstvenog časopisa Veterinarski arhiv i Hrvatski veterinarski vjesnik te član Uredničkog odbora Sveučilišnih izdanja i član Savjetodavnog odbora časopisa Veterinarski arhiv. Bio je član brojnih međunarodnih i nacionalnih znanstvenih udruženja (Društva veterinara i veterinarskih tehničara Hrvatske, Udrženja anatoma Jugoslavije, Sekcije za normalnu morfologiju Zbora liječnika Hrvatske, Sekcije za ultrazvučnu dijagnostiku Zbora liječnika Hrvatske, Hrvatskog biološkog društva, Hrvatskog

veterinarskog društva, Hrvatskog društva anatoma, histologa i embriologa, Sekcije za elektronsku mikroskopiju Hrvatskog prirodoslovnog društva, član suradnik Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti, redovni član Akademije medicinskih znanosti Hrvatske, World Association for Buiatrics, European Association of Veterinary Anatomists, New York Academy of Sciences, National Geographic Society, American Biographical Institute, član osnivač Society for Marine Mammology, Group for Marine Mammals of Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la mer Méditerranée.

Profesor Hrvoje Gomerčić dobitnik je nagrade Zasluznog profesora Sveučilišta u Zagrebu, Medalje „Zdravko Lorković“ Hrvatskog biološkog društva te nekoliko priznanja Veterinarskog fakulteta i Hrvatskog veterinarskog društva.

Izuzetno sam ponosna što sam imala sreću i privilegij biti bliska suradnica profesora Gomerčića. Za sve što me naučio veliko mu hvala.

Neka je vječna hvala i slava prof. dr. sc. Hrvoju Gomerčiću.

Snježana VUKOVIĆ

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

- A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959): African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).
- 3. disertacija:** KRSNIK, B. (1972): Utjecaj buke na ponašanje svinja u industrijskoj proizvodnji, napose s obzirom na lako oksidirajuće tvari kao biokemijskom parametru. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- 4. zbornik referata:** SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
- 5. zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezskoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).
- 6. časopis:** LANCASTER, M. B. (1973): The occurrence of *Streptocara* sp. in Ducks in Britain. Vet. Rec. 92, 261 - 262.
- 7. časopis u kojem svaki broj počinje sa stranicom 1:** PAVUNA, H. i R. ŠIC (1983): Utjecaj genetskih čimbenika na plodnost goveda. Vet. 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. Tieheilk. 118, 105 - 125, 1976).
- 9. sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe Vet. J. 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

Jednu kopiju rukopisa zajedno s računalnim zapisom u Microsoft Word programu na disketu od 3,5 inča ili CD disku molimo poslati na adresu glavnog urednika:

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

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

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljivani u časopisu.