

Virus Zapadnog Nila

Vladimir Savić



Uvod

Proteklih nekoliko mjeseci naša je javnost zabrinuta zbog pojave virusa Zapadnog Nila (VZN) u ljudi u našoj zemlji te zbog smrtnih slučajeva u regiji prouzročenih ovim virusom. Osim ljudi, u kontekstu virusa Zapadnog Nila spominju se i komarci, konji i ptice. U prirodnom su ciklusu ptice rezervoari u kojima se VZN umnožava, dok komarci imaju ulogu vektora. U takvom ciklusu ljudi, konji i drugi sisavci, ukoliko budu zaraženi, predstavljaju slijepu ulicu što znači da dalje ne mogu poslužiti kao izvor infekcije. O čemu se zapravo radi? Je li to novi virus? Zašto se pojavio upravo sada? Koliko je važan za veterinarsku struku i koliko je opasan za ljude? Na ta ćemo pitanja pokušati odgovoriti u ovom radu. Bolest prouzročena infekcijom virusom Zapadnog Nila u našoj se literaturi obično navodi kao „groznica Zapadnog Nila“, „vrućica Zapadnog Nila“ ili „encefalitis Zapadnog Nila“, ovisno o kliničkoj slici koju prouzroči u domaćina. Budući da infekcija može varirati od asimptomatske ili blage pa sve do fatalne bolesti, predlažemo da, dok se ne nađe konsenzus, u našoj struci koristimo izraz „bolest Zapadnog Nila.“

Etiologija

Virus je prvi put izdvojen 1937. iz krvi febrilne osobe u Ugandi u okrugu Zapadni Nil po kojem je i dobio naziv (Smithburn i sur., 1940.). VZN pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, a zbog uske serološke povezanosti s virusima

japanskog encefalitisa, Usutu, Murray Valley encefalitisa, St. Louis encefalitisa i još nekim manje važnim flavivirusima svrstan je u skupinu, odnosno serokompleks japanskog encefalitisa (Calisher i sur., 1989.). Virus je ikosahedralnog oblika, 50-ak nm u promjeru i sadrži jednolančanu, pozitivno orijentiranu RNK od približno 11.000 nukleotida koja kodira 10 bjelančevina, tri su strukturne (C, M i E), a sedam je nestrukturnih (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b i NS5). Najznačajnija među njima je glikoproteinski izdanak E koji je virusni hemaglutinin i potiče tvorbu specifičnih protutijela te je odgovoran za vezanje na stanicu domaćina (Deubel i sur., 2001.).

Temeljem genskih analiza postoji osam različitih loza (engl. lineage) VZN (Mackenzie i Williams, 2009., Vazquez i sur., 2010.) no loza 1 i loza 2 su danas daleko najrasprostranjenije (Savini i sur., 2012.).

Rasprostranjenost

VZN je proširen gotovo u cijelom svijetu, s tim da je na zapadnoj hemisferi prvi put dokazan tek 1999. (Nash i sur., 1999.). Virus koji je te godine dokazan u New Yorku (NY99) bio je izrazito virulentan, pripadao je lozi 1 i bio je vrlo srodan virusima koji su cirkulirali u Izraelu od 1997. do 2000. što upućuje na mogući utjecaj globalne trgovine i putovanja na globalno širenje VZN (Petersen i Roehrig, 2001.). Tako je loza 1 zabilježena u Sjevernoj Africi, Europi, Aziji, Australiji (podtip Kunjin), Sjevernoj i Južnoj Americi, dok se loza 2 tek nedavno proširila izvan svojih

Dr. sc. Vladimir SAVIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

povijesnih granica koje su dugo vremena bile ograničene između Južne Afrike i Madagaskara (Lanciotti i sur., 2000., Burt i sur., 2002.). U 2004. VZN loze 2 je zabilježen najprije u Mađarskoj (Bakonyi i sur., 2006.) gdje je poprimio i enzooski karakter (Erdelyi i sur., 2007.) nakon čega se loza 2 širi u Austriju tijekom 2008. i 2009. (Wodak i sur., 2011.). Godinu kasnije virus je dokazan u Grčkoj u pticama i komarcima s pojavom oboljenja u ljudi (Papa i sur., 2011.a, b). Sličan scenarij je zabilježen 2011. u Italiji kada su oboljeli ljudi, a virus loze 2 je potom dokazan i u lokalnim pticama (*Streptopelia decaocto*) i autohtonim komarcima (*Culex pipiens*) (Savini i sur., 2012.). Situacija je u Italiji kompliciranija budući da u toj zemlji u pticama i komarcima istodobno cirkulira i virus loze 1, što je možda slučaj i u drugim zemljama, ali nisu provedena sustavna istraživanja pa takvih podataka nema. VZN je u Hrvatskoj dokazan posredno, nalazom specifičnih protutijela u ljudi (Vesjenjak-Hirjan, 1980.), medvjeda (Madić i sur., 1993.) i konja (Madić i sur., 2007.). Novija istraživanja pokazuju da su tijekom 2010. i 2011. specifična protutijela nađena u 3,83% pretraženih konja i 0,11% pretraženih goveda. Najveća prevalencija je nađena u istočnoj Hrvatskoj, dok su u obalnom području seropozitivne jedinke nađene samo u najzapadnijem dijelu Hrvatske, uz slovensku i talijansku granicu (Barbić i sur., 2012.). Nedavno su zabilježeni humani slučajevi groznice Zapadnog Nila u Srbiji i potom u istočnoj Hrvatskoj i za očekivati je da se radi o lozi 2.

Epizootiologija

U prirodnom su ciklusu ptice rezervoari u kojima se VZN umnožava, dok komarci, poglavito iz rodova *Culex*, *Aedes* i *Ochlerotatus* imaju ulogu vektora. U takvom ciklusu ljudi, konji i drugi sisavci, ukoliko budu zaraženi, predstavljaju slijepu ulicu, što znači da ne mogu poslužiti kao izvor infekcije budući da je u njih viremija vrlo slaba (Komar, 2000.). Zabilježen je i transovarijalni prijenos virusa u komarcima, a vrste komaraca

koje prezime kao adulti mogu isto tako biti izvor zaraze u narednoj sezoni. Osim brojnih sisavaca virus može biti prenesen i na vodozemce i gmazove. Razina i trajanje viremije u pticama varira obzirom na vrstu. VZN se održava u enzooskim područjima u ciklusu između komaraca i ptica. Kada okolišni uvjeti pogoduju umnožavanju virusa u visokim titrima, vrste komaraca koji se hrane i na pticama i na sisavcima bivaju zaražene u kasno ljeto i ranu jesen te tada mogu prenijeti virus s ptica na ljude, konje i druge slučajne domaćine (Hubalek i Halouzka, 1999., Komar, 2000., Laperriere i sur., 2011.). Ptice selice mogu prenijeti VZN u nova područja, budući da u pojedinim vrstama viremija traje i duže od tri mjeseca što vjerojatno doprinosi i prezimljavanju ovog virusa (Malkinson i sur., 1998., Rappole i sur., 2000.).

Čini se da neke vrste vrana, šojki, svraka, galebova i drugih ptica mogu isto tako izlučivati VZN oralnim i fekalnim putem, što bi značilo da se virus može izravno prenijeti s jedne na drugu pticu. Ptice grabljivice i vrane vrlo se vjerojatno mogu zaraziti jedu li druge ptice, a insektivorne ptice jedu li komarce (McLean i sur., 2001., Komar i sur., 2003., Kipp i sur., 2006., Nemeth i sur., 2006.). Zabilježeni su i slučajevi izravne zaraze ljudi, primjerice laboratorijskog djelatnika slučajnim ubodom kontaminiranim iglom (Venter i sur., 2009.) te studenta veterine tijekom razudbe zaraženog konja (Venter i sur., 2010.).

Klinička i patoanatomska slika

Unos virulentnog VZN 1999. u Novi Svijet za posljedicu je u SAD-u i Kanadi imao stotine umrlih ljudi, ali i iznenadna uginuća desetaka tisuća ptica, poglavito američkih vrana (*Corvus brachyrhynchos*), iako je virus zabilježen u najmanje 208 ptičjih vrsta (Marra i sur., 2004.). Komar i sur. (2003.) su pokusno zarazili 25 sjevernoameričkih vrsta ptica lokalnim izolatom. Od 87 zaraženih jedinki simptomi su zapaženi u 28 ptica, osobito u vrsti iz porodice vrana (*Corvidae*) i u prstenokljunog galeba (*Larus delawarensis*). Znaci su bolesti uključivali generaliziranu

letargiju, nakostriješeno perje, neuobičajeno držanje (plava šojka - *Cyanocitta cristata*), nemogućnost zadržavanja glave uspravno i ataksiju (prstenokljuni galeb). U većini slučajeva smrt je nastupila u roku od 24 sata nakon pojave kliničkih znakova. Vanjska krvarenja, bilo iz usta ili iz kloake, zabilježena su u malom broju američkih vrana. Ovo istraživanje je, uz terenska iskustva, ukazivalo na ptice iz porodice vrana kao glavne indikatore prisuća virusa u Americi.

Istodobno u Europi su rijetko bilježeni slučajevi prirodne infekcije, kliničkih simptoma i ugibanja divljih ptica (Hubalek i Halouzka, 1999.). Prodor neuroinvasivnih sojeva loze 2 u Mađarsku 2004. ukazao je na veliku osjetljivost kobaca (*Accipiter nisus*) i jastreba (*Accipiter gentilis*) prema ovim virusima. Klinički su znaci naglo nastupili, a očitovali su se ataksijom, podrhtavanje glave i, u terminalnoj fazi, konvulzijama. U odraslih ptica klinički znaci su trajali nekoliko dana, nakon čega je došlo do uginuća ili postupnog oporavka. Patoanomske promjene su bile nespecifične uključujući kongestiju unutarnjih organa. Sivi sokol (*Falco peregrinus*), škanjac (*Buteo buteo*) i kokoš koji su kohabitirali sa zaraženim kobicima i jastrebima u istom utočištu za životinje, nisu pokazali nikakvih kliničkih znakova (Bakonyi i sur., 2006., Erdelyi i sur., 2007.). U Austriji je VZN loze 2 dokazan u jastreba i velikog sokola (*Falco rusticolus*) (Wodak i sur., 2011.). Slični su neobjavljeni nalazi zabilježeni i u drugim europskim zemljama. Iz navedenog se može zaključiti da su grabljivice, poglavito jastrebi, u Europi glavni indikatori prisuća VZN loze 2. Godinu prije prodora virusa loze 2 u Europu, u farmski držanih gusaka u Mađarskoj je zabilježena infekcija virusom loze 1. Zamijećena je ataksija, povremeni tortikolis i opistotonus, nekoordiniranost, ritmično njihanje glave u obje strane, svijeni vrat u obliku sinusoide i nenormalan položaj glave. Smrt je nastupila 4 do 5 dana nakon pojave kliničkih znakova. Tijekom 6 tjedana ukupno je uginulo 14% gusaka (Glávits i sur., 2005.).

U većine konja infekcija prolazi asimptomatski (Nielsen i sur., 2008.). Klinički slučajevi su dobro opisani i karakterizira ih: anoreksija, depresija i neurološki znaci, što može uključivati ataksiju, slabost ili paralizu jednog ili više udova, brušenje zubima, besciljno lutanje, konvulzije i kretanje u krug. Vrlo je čest tremor lica i vratnih mišića. Neke životinje imaju slabost ili paralizu lica i jezika što može dovesti do poteškoća u gutanju. Javljaju se promjene u ponašanju uključujući: pospanost, uznemirenost, preosjetljivost ili uzbuđenost. Jedinke s teškom depresijom i paralizom lica mogu objesiti glave, što može dovesti do ozbiljnog edema lica. Može se pojaviti: koma, oslabljen vid i guranje glavom. Febrilno stanje je prisutno u nekim, ali ne svim slučajevima. Klinički oblici bolesti u konja rezultiraju smrtnošću od 30 do 40%. Kao i u ptica, u uginulih konja nema specifičnih patoanatomskih promjena. Ukoliko se nađu, obično se radi o malim ograničenim multifokalnim diskoloracijama i krvarenjima u leđnoj moždini i mozgu (Schuler i sur., 2004., Ward i sur., 2004., 2006.).

I u ljudi većina infekcija prolazi asimptomatski. Ukoliko nastupi klinička bolest, dijeli se u dvije forme: groznica Zapadnog Nila koja je relativno blaga bolest i nalik je gripi te neuroinvasivna bolest Zapadnog Nila koja obuhvaća sve slučajeve s neurološkim znacima. Groznica je uobičajena te ukoliko nema komplikacija prolazi za dva do šest dana. Groznica se vrlo rijetko razvije u neuroinvasivnu bolest koja je teška i može ugroziti i život pacijenta. Neuroinvasivna bolest se može očitovati: encefalitisom, meningitisom ili flacidnom paralizom. Nakon oporavka mogu ostati trajni neurološki poremećaji. Bolest ima teži tijek u starijih osoba (Campbell i sur., 2002., Zeller i Schuffenecker, 2004., Davis i sur., 2006., Paddock i sur., 2006.).

Dijagnoza

Kliničku sumnju, uz izostanak specifičnih patoanatomskih promjena u uginulih životinja, treba laboratorijski potvrditi.

U konja se infekcija obično potvrđuje serološkim testovima, a infekciju je moguće potvrditi i dokazom VZN u mozgu i leđnoj moždini. U ptica se isto tako mogu koristiti serološki testovi i testovi za dokaz virusa. Virus je lakše dokazati u ptica nego u konja, budući da u pravilu imaju jaču viremiju (OIE, 2008.). Loša strana seroloških testova u dijagnostici VZN u ptica je križna reakcija s ostalim virusima iz kompleksa Japanskog encefalitisa, a za većinu njih rezervoari su upravo divlje ptice. U ptica VZN se dokazuje u srcu, mozgu ili jetrima, a ponekad i u drugim organima (npr. slezena, bubrezi ili crijeva). Virus je moguće izdvojiti u staničnim kulturama, primjerice u Vero stanicama, no postupak je dugotrajan i zahtijeva laboratorij visoke razine biosigurnosti (BSL-3). Virus se može uzgajati i u kokošjim embrijima (Crespo i sur., 2009.). Razvojem molekularnih tehnika koje se temelje na lančanoj reakciji polimerazom (PCR) moguće je brzo i točno dokazati VZN u kliničkom materijalu ili potvrditi virusne izolate u staničnim kulturama (Eiden i sur., 2010., Johnson i sur., 2010.).

Liječenje i specifična imunoprofilaksa

Specifičnog liječenja nema. Cjepiva se primjenjuju jedino u ekvida i čini se da pružaju dobru zaštitu (Dauphin i Zientara, 2007.).

Sažetak

Virus Zapadnog Nila (VZN) je ptičji virus koji može biti smrtonosan za sisavce, ptice i gmazove. Rezervoar virusa su divlje ptice, prenose ga komarci, a bolest se u kliničkom obliku najčešće pojavljuje u ljudi i konja koji dalje ne sudjeluju u širenju infekcije. Do 1994. klinički su oblici bolesti u ljudi i konja bili rijetki i ograničeni na epidemije u ruralnim područjima. Virus se 1999. proširio i na zapadnu hemisferu, a u novije su vrijeme sve češće pojave neuroloških oblika bolesti te je veća smrtnost u ljudi uslijed infekcije ovim virusom. Noviji sojevi VZN

mogu prouzročiti tešku kliničku bolest i uginuće ptica, uključujući i domaću perad. Stoga je VZN postao značajan javno zdravstveni i veterinarski problem u cijelom svijetu. U literaturi se infekcija virusom Zapadnog Nila obično spominje kao „groznica Zapadnog Nila,” „vrućica Zapadnog Nila” ili „encefalitis Zapadnog Nila”, ovisno o kliničkom očitovanju i domaćinu u kojeg se bolest pojavila. Budući da infekcija može varirati od asimptomatske ili blage pa sve do fatalne bolesti, predlažemo da, dok se nađe konsenzus, u našoj struci koristimo izraz „bolest Zapadnog Nila.”

Literatura

1. BAKONYI, T., E. IVANICS, K. ERDELY, K. URSU, E. FERENCZI, H. WEISSENBOCK and N. NOWOTNY (2006): Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 618-623.
2. BARBIĆ, L., E. LISTEŠ, S. KATIĆ, V. STEVANOVIĆ, J. MADIĆ, V. STAREŠINA, A. LABROVIĆ, A. DI GENNARO and G. SAVINI (2012): Spreading of West Nile virus infection in Croatia. *Vet. Microbiol.* 159, 504-508.
3. BURT, F. J., A. A. GROBBELAAR, P. A. LEMAN, F. S. ANTHONY, G. V. GIBSON and R. SWANEPOEL (2002): Phylogenetic relationships of southern African West Nile virus isolates. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 820-826.
4. CALISHER, C. H., N. KARABATSOS, J. M. DALRYMPLE, R. E. SHOPE, J. S. PORTERFIELD, E. G. WESTAWAY and W. E. BRANDT (1989): Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J. Gen. Virol.* 70, 37-43.
5. CAMPBELL, G. L., A. A. MARFIN, R. S. LANCIOTTI and D. J. GUBLER (2002): West Nile virus. *Lancet Infect. Dis.* 2, 519-529.
6. CRESPO, R., H. L. SHIVAPRASAD, M. FRANÇA and P. R. WOOLCOCK (2009): Isolation and distribution of West Nile virus in embryonated chicken eggs. *Avian Dis.* 53, 608-612.
7. DAUPHIN, G. and S. ZIENTARA (2007): West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development. *Vaccine* 25, 5563-5576.
8. DAVIS, L. E., R. DEBIASI, D. E. GOADE, K. Y. HAALAND, J. A. HARRINGTON, J. B. HARNAR, S. A. PERGAM, M. K. KING, B. K. DEMASTERS and K. L. TYLER (2006): West Nile virus neuroinvasive disease. *Ann. Neurol.* 60, 286-300.
9. DEUBEL, V., L. FIETTE, P. GOUNON, M. T. DROUET, H. KHUN, M. HUERRE, C. BANET, M. MALKINSON and P. DESPRÉS (2001): Variations in biological features of West Nile viruses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 951, 195-206.
10. EIDEN, M., A. VINA-RODRIGUEZ, B. HOFFMANN, U. ZIEGLER and M. H. GROSCUP (2010): Two new real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assays with unique target

- sites for the specific and sensitive detection of lineages 1 and 2 West Nile virus strains. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 748-753.
11. ERDELYI, K., K. URSU, E. FERENCZI, L. SZEREDI, F. RATZ, J. SKARE and T. BAKONYI (2007): Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 7, 181-188.
 12. GLÁVITS, R., E. FERENCZI, E. IVANICS, T. BAKONYI, T. MATÓ, P. ZARKA and V. PALYA (2005): Co-occurrence of West Nile Fever and circovirus infection in a goose flock in Hungary. *Avian Pathol.* 34, 408-414.
 13. HUBALEK, Z. and J. HALOUZKA (1999): West Nile fever – a reemerging mosquito borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 643-650.
 14. JOHNSON, N., P. R. WAKELEY, K. L. MANSFIELD, F. MCCracken, B. HAXTON, L. P. PHIPPS and A. R. FOOKS (2010): Assessment of a novel real-time pan-flavivirus RT-polymerase chain reaction. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10, 665-671.
 15. KIPP, A. M., J. A. LEHMAN, R. A. BOWEN, P. E. FOX, M. R. STEPHENS, K. KLENK, N. KOMAR and M. L. BUNNING (2006): West Nile virus quantification in feces of experimentally infected American and fish crows. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75, 688-690.
 16. KOMAR, N., S. LANGEVIN, S. HINTEN, N. NEMETH, E. EDWARDS, D. HETTLER, B. DAVIS, R. BOWEN and M. BUNNING (2003): Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 311-322.
 17. KOMAR, N. (2000): West Nile viral encephalitis. *Rev. Sci. Tech.* 19, 166-176.
 18. LANCIOTTI, R. S., A. J. KERST, R. S. NASCI, M. S. GODSEY, C. J. MITCHELL, H. M. SAVAGE, N. KOMAR, N. A. PANELLA, B. C. ALLEN, K. E. VOLPE, B. S. DAVIS and J. T. ROEHRIG (2000): Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 38, 4066-4071.
 19. LAPERRIERE, V., K. BRUGGER and F. RUBEL (2011): Simulation of the seasonal cycles of bird, equine and human West Nile virus cases. *Prev. Vet. Med.* 98, 99-110.
 20. MACKENZIE, J. S. and D. T. WILLIAMS (2009): The zoonotic flaviviruses of southern, south-eastern and eastern Asia, and Australasia: the potential for emergent viruses. *Zoonoses Public Health* 56, 338-356.
 21. MADIĆ, J., D. HUBER and B. LUGOVIĆ (1993): Serological survey for selected viral and rickettsial agents of brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia. *J. Wildl. Dis.* 29, 572-576.
 22. MADIĆ, J., G. SAVINI, A. DI GENNARO, F. MONACO, B. JUKIĆ, S. KOVAČ, N. RUDAN and E. LISTEŠ (2007): Serological evidence for West Nile Virus infection in horses in Croatia. *Vet. Rec.* 160, 772-773.
 23. MALKINSON, M., C. BANET and Y. WEISMAN (1998): Intercontinental spread of West Nile Virus by wild birds-recent epidemiological findings in Israeli livestock and birds. *Proceedings of the 2nd International Conference on Emerging Zoonoses*, (Strasbourg, November 5-9, 1998).
 24. MARRA, P. P., S. GRIFFING, C. L. CAFREY, A. M. KILPATRICK, R. MCLEAN, C. BRAND, E. SAITO, A. P. DUPUIS, L. KRAMER and R. NOVAK (2004): West Nile Virus and Wildlife. *Bioscience* 54, 393-402.
 25. MCLEAN, R. G., S. R. UBICO, D. E. DOCHERTY, W. R. HANSEN, L. SILEO and T. S. MCNAMARA (2001): West Nile virus transmission and ecology in birds. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 951, 54-57.
 26. NASH, D., F. MOSTASHARI, A. FINE, J. MILLER, D. O'LEARY, K. MURRAY, A. HUANG, A. ROSENBERG, A. GREENBERG, M. SHERMAN, S. WONG and M. LAYTON (1999): West Nile Outbreak Response Working Group. Outbreak of West Nile virus infection, New York City area, 1999. *N. Engl. J. Med.* 344, 1807-1814.
 27. NEMETH, N., E. EDWARDS, D. GOULD, R. BOWEN and N. KOMAR (2006): Natural and experimental West Nile virus infection in five raptor species. *J. Wildl. Dis.* 42, 1-13.
 28. NIELSEN, C. F., W. K. REISEN, M. V. ARMIJOS, N. J. MACLACHLAN and T. W. SCOTT (2008): High subclinical West Nile virus incidence among nonvaccinated horses in northern California associated with low vector abundance and infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78, 45-52.
 29. OIE (2008): West Nile fever. In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. Paris; (377-385).
 30. PADDOCK, C. D., W. L. NICHOLSON, J. BHATNAGAR, C. S. GOLDSMITH, P. W. GREER, E. B. HAYES, J. A. RISK, C. HENDERSON, C. G. BLACKMORE, R. S. LANCIOTTI, G. L. CAMPBELL and S. R. ZAKI (2006): Fatal hemorrhagic fever caused by West Nile virus in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 42, 1527-1535.
 31. PAPA, A., K. XANTHOPOULOU, S. GEWEHR and S. MOURELATOS (2011a): Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.* 17, 1176-1180.
 32. PAPA, A., T. BAKONYI, K. XANTHOPOULOU, A. VASQUEZ, A. TENORIO and N. NOWOTNY (2011b): Genetic characterization of West Nile virus lineage 2 Greece, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 920-922.
 33. PETERSEN, L. R. and J. T. ROEHRIG (2001): West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 611-614.
 34. RAPPOLE, J. H., S. R. DERRICKSON and Z. HUBALEK (2000): Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western hemisphere. *Emerg. Infect. Dis.* 6, 319-328.
 35. SAVINI, G., G. CAPELLI, F. MONACO, A. POLCI, F. RUSSO, A. DI GENNARO, V. MARINI, L. TEODORI, F. MONTARSI, C. PINONI, M. PISCIELLA, C. TERREGGIO, S. MARANGON, I. CAPUA and R. LELLI (2012): Evidence of West Nile virus lineage 2 circulation in Northern Italy. *Vet. Microbiol.* 158, 267-273.

36. SCHULER, L. A., M. L. KHAITSA, N. W. DYER and C. L. STOLTENOW (2002): Evaluation of an outbreak of West Nile virus infection in horses: 569 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 1084–1089.
37. SMITHBURN, K. C., T. P. HUGHES, A. W. BURKE and J. H. PAUL (1940): A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med.* 20, 471–492.
38. VAZQUEZ, A., M. P. SANCHEZ-SECO, S. RUIZ, F. MOLERO, L. HERNANDEZ, J. MORENO, A. MAGALLANES, C. G. TEJEDOR and A. TENORIO (2010): Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 549–552.
39. VENTER, M., F. J. BURT, L. BLUMBERG, H. FICKL, J. PAWESKA and R. SWANEPOEL (2009): Cytokine induction after laboratory-acquired West Nile virus infection. *N. Engl. J. Med.* 360, 1260–1262.
40. VENTER, M., J. STEYL, S. HUMAN, J. WEYER, D. ZAAYMAN, L. BLUMBERG, P. A. LEMAN, J. PAWESKA and R. SWANEPOEL (2010): Transmission of West Nile virus during horse autopsy. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 573–575.
41. VESENJAK-HIRJAN, J. (1980): Arboviruses in Yugoslavia. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. (Suppl. 9)*, 165–177.
42. WARD, M. P., M. LEVY, H. L. THACKER, M. ASH, S. K. NORMAN, G. E. MOORE and P. W. WEBB (2004): Investigation of an outbreak of encephalomyelitis caused by West Nile virus in 136 horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 84–89.
43. WARD, M. P., J. A. SCHUERMANN, L. D. HIGHFIELD and K. O. MURRAY (2006): Characteristics of an outbreak of West Nile virus encephalomyelitis in a previously uninfected population of horses. *Vet. Microbiol.* 118, 255–259.
44. WODAK, E., S. RICHTER, Z. BAGÓ, S. REVILLA-FERNÁNDEZ, H. WEISSENBOCK, N. NOWOTNY and P. WINTER (2011): Detection and molecular analysis of West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet. Microbiol.* 149, 358–366.
45. ZELLER, H. G. and I. SCHUFFENECKER (2004): West Nile Virus: An Overview of Its Spread in Europe and the Mediterranean Basin in Contrast to its Spread in the Americas. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 23, 147–156.

West Nile Virus

Vladimir SAVIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

West Nile virus (WNV) is an avian virus that can cause death in mammals, birds and reptiles. Reservoirs of the virus are wild birds and it is transmitted by mosquitoes. The clinical disease occurs in humans and horses, which are dead end hosts. Until 1994, the clinical form of the disease in humans and horses was rare and limited to epidemics in rural areas. In 1999, the virus spread to the Western Hemisphere, and recently there has been an increased incidence of neurological diseases and a higher case fatality rate associated with this virus. Recent WNV strains are capable of

causing severe clinical disease and mortality in birds, including poultry. Therefore, WNV has become a significant public health and veterinary problem worldwide. Infection with West Nile virus is usually referred as West Nile fever or West Nile encephalitis, depending on the clinical manifestations and the host affected. Since infection can range from asymptomatic or mild to fatal disease, we suggest that, until a consensus is reached, the term West Nile disease is used in veterinary medicine.

Bakterijski uzročnici, antimikrobna osjetljivost i terapija pioderme pasa i mačaka

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



Uvod

Riječ pioderma značila bi „gnoj na koži“ i može biti prouzročena infekcijom, upalom i/ili neoplazmom. Svako stanje koje rezultira nakupljanjem neutrofilnog eksudata na koži naziva se pioderma. Naravno, najčešći uzrok razvoja pioderme je bakterijska infekcija. Pioderma se najčešće javlja u pasa, a rjeđe u mačaka (Anonymus, 2010.).

Zbog relativno visokog pH kože, male količine intercelularnih lipida u *stratum corneum*-u i zbog tankog *stratum corneum*-a psi su naročito osjetljivi na bakterijske kožne infekcije (Vericelli, 2009.).

Za pojavu ili recidiv pioderme često su odgovorne i druge bolesti ili patološka stanja kože poput: alergijskih i parazitaranih bolesti, seboreje, autoimunih bolesti, imunodeficijencija i dr. Kod atopijskog dermatitisa razvoj infekcije stafilokokima ili gljivicom *Malassezia pachydermatis* olakšana je zbog nekoliko čimbenika (DeBoer i Marsella, 2001.). Stafilokoki općenito, a naročito *Staphylococcus* (S.) *pseudintermedius*

brojniji su i lakše se prihvaćaju na kožu kod atopijskog dermatitisa (Mason i Lloyd, 1989.), naročito u pasa s izraženim prurititom. Psi s atopijskim dermatitisom obično imaju manjak antimikrobnog peptida u koži (katecilidin, beta-defenzin) što olakšava bakterijsku kolonizaciju (van Damme i sur., 2009.).

Bakterijske se pioderme pasa mogu podijeliti prema dubini infekcije na: površinsku i duboku piodermu; prema etiologiji i tome je li primarna ili sekundarna. Površinska pioderma zahvaća epidermis i dlačne folikule, dok duboka pioderma zahvaća dermis (korij) ili prouzroči furunkulozu.

Primarna pioderma nastaje kada se bakterijska infekcija kože razvije u zdrave životinje. Sekundarna pioderma nastaje nakon primarnih bolesti koje smanjuju zaštitnu ulogu kože poput: alergija (atopijski dermatitis, alergija na hranu ili ugriz buhe), endokrinopatije (hipotireoidizam), seboreja, parazitske bolesti (demodikoza), gljivične bolesti kože (dermatofitoze), neoplazme,

Dr. sc. Boris HABRUN, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, docent, dr. sc. Gordan KOMPES, dr. med. vet., viši asistent, znanstveni suradnik, dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Ivana RAČIĆ, dipl. ing., znanstvena novakinja, dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, izvanredni profesor, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Barbara Sanja HRENAR, dr. vet. med., Veterinarska ambulanta „Buba“, Zagreb

automimune bolesti, imunodeficijencije i dr. Psi s naborima kože češće mogu oboljeti od pioderme (Vericelli, 2009., Anonymus, 2010.).

Najčešći uzročnik pioderme pasa je bakterija *S. pseudintermedius*. Ova se bakterija i u zdravih jedinki nalazi na sluznici usta i anusa te na perinealnoj regiji. Psi mogu postati preosjetljivi na bakterijske antigene stafilokoka pa se u atopičnih pasa s piodermom u krvnom serumu mogu naći i IgE protutijela za stafilokokne antigene (Vericelli, 2009.).

Iako rijetko, i drugi se pripadnici roda *Staphylococcus* mogu izdvojiti iz pasa s piodermom, ponajprije *S. aureus* i *S. schleiferi*.

Gram-negativne bakterije poput pripadnika roda *Proteus*, *Pseudomonas* i vrste *Escherichia coli* mogu biti sekundarni infekti kod dubokih piodermi. U praksi, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. i *E. coli* mogu biti i primarni uzročnici pioderme u pasa (Rosser, 2000., Vercelli, 2009.).

Svrha ovog rada je prikaz izdvajanja bakterijskih uzročnika kod pioderme pasa u Laboratoriju za opću bakteriologiju i mikologiju Hrvatskog veterinarskog instituta i prikaz antimikrobne osjetljivosti izdvojenih uzročnika.

Materijal i metode

U Laboratoriju za opću bakteriologiju i mikologiju Hrvatskog veterinarskog instituta tijekom 2010. i 2011. godine pretraženo je 29 obrisaka kože psa. Uzorci su potjecali iz veterinarskih ambulanti i klinika s područja Zagreba, a bili su dostavljeni radi bakteriološke pretrage.

Izdvajanje uzročnika

Obrisci kože naciepljivani su na krvni agar (blood agar base s 5% defibrinirane sterilne ovčje krvi), XLD agar i hranjivi agar. Ove hranjive podloge su dostatne za rast bakterija koje su najčešći uzročnici pioderme pasa i mačaka.

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

Ukoliko je bakterijska kultura bila miješana, kolonije različite morfologije su precijepljivane radi dobivanja 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 potvrđena 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 svojstva određena su 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, USA). Rezultati su interpretirani pomoću software-a BBL Crystal Microbiology Interactive database.

Određivanje osjetljivosti bakterija

Određivanje osjetljivosti napravljeno je disk difuzijskom metodom (CLSI, M31 A3, 2008.) za sljedeće antimikrobne lijekove: ampicilin (AM, 10 µg), amoksicilin s klavulanskom kiselinom (AMC 20/10 µg), ceftiofur (CTX, 30 µg), cefovecin (CVN 30 µg), enrofloksacin (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 (P 10 IU), oksacilin (OX, 1 µg), i eritromicin (E 15 µg).

Kao podloga je korišten Mueller-Hinton agar acc. to NCCLS (Merck

1.05435), Za kontrolu postupka korišten je soj *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

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

Rezultati

Od 29 pretraženih obrisaka kože, iz njih 26 (89,7%) izdvojena je bakterija *S. pseudintermedius*, iz dva uzorka *Proteus mirabilis* te iz jednog *Bacillus* spp.

Rezultati testiranja osjetljivosti izolata *S. pseudintermedius* prikazani su u tabeli 1.

Rasprava

Postotak osjetljivosti izolata bakterija *S. pseudintermedius* razlikuje se između pojedinih država. Izolati bakterije *S. pseudintermedius* najčešće su osjetljivi na: amoksicilin s klavulanskom kiselinom, gentamicin, oksacilin, cefalosporinske antibiotike i fluorkinolone, dok se rezistencija najčešće utvrđuje na:

penicilin, ampicilin, tetraciklin, eritromicin, linkomicin i sulfametoksazol s trimetoprimom (Vercelli, 2009.).

Naši se rezultati nisu u potpunosti podudarali s ovim podacima. Od sojeva bakterije *S. pseudintermedius* koje smo testirali, svi su bili osjetljivi na enrofloksacin i ciprofloksacin, 22 (84%) bilo je osjetljivo na: amoksicilin s klavulanskom kiselinom, cefovecin, neomicin, gentamicin, oksitetraciklin i sulfametoksazol s trimetoprimom (tabela 1). Dakle, u našim izolatima utvrđena je puno veća osjetljivost na oksitetraciklin i sulfametoksazol s trimetoprimom.

Najveći stupanj rezistencije utvrđen je na penicilin, na koji je bilo osjetljivo svega 2 (7,7%) izolata. Na ampicilin bilo je osjetljivo 10 (38%) izolata i na streptomycin 12 (46%) izolata (tabela 1).

Ono što zabrinjava kod rezultata osjetljivosti pretraženih sojeva *S. pseudintermedius* je to što je 6 (23%) sojeva rezistentno na oksacilin. Sojevi koji su rezistentni na oksacilin vjerojatno pripadaju skupini meticilin rezistentnih

Tabela 1. Rezultati određivanja osjetljivosti 26 sojeva *Staphylococcus pseudintermedius*

Antimikrobni lijek	Osjetljiv	Umjereno osjetljiv	Neosjetljiv
penicilin	2		24
ampicilin	10		16
amoksicilin s klavulanskom kiselinom	22		4
ceftiofur	20		6
cefovecin	22		4
oksacilin	20		6
eritromicin	16		10
enrofloksacin	26		
ciprofloksacin	26		
fluorfenikol	24		2
streptomycin	12	2	12
neomicin	22		4
gentamicin	22		4
oksitetraciklin	22		4
sulfametoksazol i trimetoprim	22		4

sojeva *S. pseudintermedius*, što znači da im je promijenjeno ciljno mjesto za koje se vežu beta laktamski antibiotici i da ih treba proglasiti rezistentnim na sve beta-laktamske antibiotike (sve peniciline, cefalosporine i imipenem) bez obzira jesu li u testiranju osjetljivosti disk-difuzijskom metodom možda i prikazali osjetljivost na pojedinom betalaktamu. Veliki udio metilicilin rezistentnih sojeva *S. pseudintermedius* u Hrvatskoj opisao je Matanović (2011.). Osim toga, metilicilin rezistentni stafiloki često mogu biti rezistentni i na aminoglikozide, fluorkinolone i mupirocine.

Antimikrobna terapija se smatra najučinkovitijim načinom kontrole stafilokoknih infekcija kože. Kod donošenja odluke o terapiji važno je utvrditi je li riječ o površinskoj ili dubokoj piodermi. Površinska se pioderma u pasa može očitovati multifokalnim područjima alopecije, folikularnim papulama ili pustulama, a zahvaća epidermu i dlačne folikule (Anonymus, 2010.). Najčešće se javlja na koži glave, vrata i prednjih nogu (slika 1.). Duboka se pioderma u pasa očituje bolom, tvorbom krasti, neugodnim mirisom, tvorbom gnoja i krvarenjem, a zahvaća korij ili se razvija furunkuloza. Mogu se javiti ulceracije, krvave kraste i gubitak dlake.

U terapiji površinske pioderme preporuča se sistemska (parenteralna ili peroralna) terapija odgovarajućim antibiotikom koja traje najmanje 21 dan, a preporuča se u trajanju od 30 dana. Svi

klinički znaci (osim potpunog porasta dlake i rezolucije hiperpigmentiranih područja) morali bi se povući sedam dana prije kraja terapije. Kronična ili recidivirajuća pioderma mora se liječiti od 8 do 12 tjedana, ponekad i dulje do potpune rezolucije svih promjena na koži (Anonymus, 2010.).

Lokalna se terapija može provoditi kod površinske pioderme s 2%-tnim mupirocinom. Lokalna primjena neomicina može prouzročiti kontaktnu alergiju, dok su bacitracin i polimiksin B (kolistin) učinkoviti kod infekcija gram-negativnim bakterijama.

Uz adekvatnu terapiju svrbeža i boli, pse s površinskom piodermom trebalo bi 2-3 puta tjedno, a pse s dubokom piodermom, svakodnevno kupati koristeći medicinske šampone. Antibakterijski šamponi sadrže: benzoil peroksid, klorheksidin, klorheksidin-ketokonazol, etil laktat ili triklosan. Šamponi uklanjaju bakterije, kraste, smanjuju svrbež i neugodan miris.

U zaključku valja naglasiti da bi, kada je moguće, i površinske pioderme trebalo liječiti na osnovu laboratorijskih pretraga i testiranja osjetljivosti, jer gotovo više i nema lijeka za koji se unaprijed može tvrditi da je 100% učinkovit na bakteriju *S. pseudintermedius* i terapija mora trajati dugo. Recidivirajuće i duboke pioderme obvezno treba liječiti na osnovu određivanja osjetljivosti bakterijskih uzročnika.

Sažetak

Najčešći uzročnik pioderme pasa je bakterija *Staphylococcus pseudintermedius*. Tijekom 2010. i 2011. godine pretraženo je 29 obrisaka kože, od čega je iz 26 obrisaka izdvojena bakterija *S. pseudintermedius*. Od sojeva bakterije *S. pseudintermedius* koje smo testirali, svi su bili osjetljivi na enrofloksacin i ciprofloksacin, 22 (84%) bilo je osjetljivo na amoksicilin s klavulanskom kiselinom, cefovecin, neomicin, gentamicin,



Slika 1. Pioderma psa prouzročena bakterijom *Staphylococcus pseudintermedius*. Vide se promjene na koži glave psa.

oksitetraciklin i sulfametoksazol s trimetoprimom (tabela 1). Dakle, u našim izolatima utvrđena je puno veća osjetljivost na oksiteraciklin i sulfametoksazol s trimetoprimom. Najveći stupanj rezistencije utvrđen je na penicilin, na koji je bilo osjetljivo svega 2 (7,7%) izolata. Na ampicilin bilo je osjetljivo 10 (38%) izolata i na streptomycin 12 (46%) izolata (tabela 1). Ono što zabrinjava kod rezultata osjetljivosti pretraženih sojeva *S. pseudintermedius* je to što je 6 (23%) sojeva rezistentno na oksacilin. Sojevi koji su rezistentni na oksacilin vjerojatno pripadaju skupini meticilin rezistentnih sojeva *S. pseudintermedius*. Terapija površinskih piodermi mora trajati najmanje 21 dan, a dubokih ili recidivirajućih piodermi od 8 do 12 tjedana.

Literatura

1. Anon. (2010): Pyoderma. In: The Merck Veterinary Manual. 10th edition. Merck & C., Inc, Whitehouse Station, N. J., USA, pp. 787-789.
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. van DAMME, C. M., T. WILLEMSE, A. van DIJK, H. P. HAGSMANN and E. J. VELDTHUIZEN (2009): Altered cutaneous expression of beta-defensins in dogs with atopic dermatitis. *Mol. Immunol.* 46, 2449-2455.
4. DeBOER, D. J. and R. MARSELLA (2001): The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81, 239-249.
5. MATANOVIĆ, K. (2011): Genotipizacija i dokazivanje gena za rezistenciju meticilin rezistentnih sojeva bakterije *Staphylococcus pseudintermedius*. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
6. MASON, I. S. and D. H. LLOYD (1989): The role of allergy in the development of canine pyoderma. *J. Small. Anim. Pract.* 30, 216-218.
7. ROSSER, J. E. (2000): Pustules and papules. In: ETTINGER, S. J., E. C. FELDMAN: Textbook of Internal Veterinary Medicine. 5th ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, New York, St. Louis, Sydney, Toronto.
8. VERCELLI, A. (2009): Update on Clinical Management of Pyoderma. Proceedings of the 4th International Baytril® Symposium. Florence, Italy, 18. – 19. June 2009, pp. 16–23.

Bacterial Agents, Antimicrobial Sensitivity and Therapy of Pyoderma in Dogs and Cats

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

The most common cause of pyoderma in dogs is the bacterium *Staphylococcus pseudintermedius*. During 2010 and 2011, 29 skin swabs were examined and *S. pseudintermedius* was isolated in 26 swabs. All the tested strains of *S. pseudintermedius* were sensitive to enrofloxacin and ciprofloxacin, 22 (84%) were sensitive to amoxicillin-clavulanic acid, cefovecin, neomycin, gentamycin, oxytetracycline and sulfamethoxazole-trimethoprim. Therefore, the isolates in this study had a much greater sensitivity to oxytetracycline and sulfamethoxazole-

trimethoprim. The highest level of resistance was confirmed for penicillin, to which only 2 (7.7%) isolates showed sensitivity, while 10 (38%) isolates were sensitive to ampicillin and 12 (46%) isolates to streptomycin (Table 1). Six (23%) of the tested strains were resistant to oxycillin and these likely belong to the group of methicillin resistant strains of *S. pseudintermedius*. Therapy of surface pyoderma must continue at least 21 days, while deep or recurrent pyoderma is treated for 8 to 12 weeks.



NAPOKON U HRVATSKOJ!

JEDINSTVENI
4 U 1 POUR-ON
ANTIPARAZITIK
NA TRŽIŠTU!

Closamectin
Pour on

JEDNOSTAVNO RJEŠENJE
ZA LIJEČENJE ENDO I
EKTOPARAZITOZA U
GOVEDA.

DOSTUPAN U SVIM VELETRGOVINAMA.

Genera d.d.,
Svetonedeljska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok
Telefon: +385 1 33 88 888 / telefaks: +385 1 33 88 600
info@genera.hr / www.genera.hr

 **GENERA**
Vaš pouzdan partner

Biokemijske vrijednosti seruma pri subakutnoj acidozi buraga (SAB) u mliječnih krava



E. Shabani, V. Ceroni, L. Turmalaj, Blerta Mehmedi i N. Mazreku

Uvod

Učestalost subakutne acidoze buraga (SAB) visoka je, u mliječnim krava, osobito početkom laktacije. Ova patologija uzrokuje znatne izravne ekonomske gubitke, a isto tako i indirektno koji su uzrokovani smanjenjem apetita, mastitisima, dermatitisima, ruminitisima, endometritisima i drugim poremećajima reproduktivnog trakta (Dervis i sur., 2008.). SAB se često ne dijagnosticira prilikom obrade takovih krava jer one nemaju jasno izražene kliničke znakove. Dijagnosticirati SAB je veoma kompleksno i potrebna je kontrola hrane i hranidbe, kao i kontrola pH sadržaja buraga. Najbolja tehnika za uzimanje uzoraka iz unutrašnjosti buraga je ruminocenteza budući omogućava uvid u trenutno stanje sadržaja buraga. Iako je u literaturi referirano da je tehnika ruminocenteze učinkovita i nerizična, ipak je riječ o dijagnostičkoj metodi koja nije prihvaćena od vlasnika životinja. U današnjoj veterinarskoj praksi se nameće realan zahtjev za aplikaciju jednostavnijih i ekonomičnijih tehnika za što raniju dijagnozu SAB. Današnja veterinarska praksa je orijentirana na druge metode za rano dijagnosticiranje SAB u krava, kako bismo mogli na vrijeme provesti neophodne hranidbene korekcije

u svrhu izbjegavanja rizika progresije bolesti u akutno stanje. U ovom smjeru je orijentiran i naš rad koji naglašava značenje kontrole SAB, utvrđivanjem i uspoređivanjem vrijednosti biokemijskih parametara seruma i sadržaja buraga.

Materijal i metode

U razdoblju od siječnja 2010. do rujna 2011., analizirali smo utjecaj SAB na biokemijske vrijednosti seruma u 80 visoko mliječnih krava. Studija je provedena na 5 farmi mliječnih krava. Farme su imale krave s proizvodnjom od 6000-8000 litra mlijeka godišnje. Na svakoj farmi smo odabrali po 15 krava u prvoj fazi laktacije (u danima 35 ± 25 nakon porođaja), bez kliničkih znakova bolesti te u odgovarajućoj tjelesnoj kondiciji za tu fazu laktacije. Od krava smo uzeli uzorke buraga i krv iz perifernih vena. Ruminocenteza je odabrana kao najbolja tehnika za uzimanje buragovog sadržaja (Duffield i sur., 2004., Krause i sur., 2005.). Uzorke iz buraga smo uzeli 4-6 sati nakon što su krave uzele obrok brizgalicom od 20 mL i odmah potom smo mjerili pH s prijenosnim pH-metrom. Uzorke krvi smo uzeli od istih krava iz vene jugularis. Krv je uzeta u vakutainer koji je centrifugiran na 2.500 okretaja u minuti, tijekom 20 minuta da bismo dobili serum. Od biokemijskih

Emilian SHABANI, dr. med. vet., student poslijediplomskog studija, Vangjel CERONI, dr. med. vet., redoviti profesor, Luigi TURMALAJ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Tirana, Albanija; Blerta MEHMEDI, dr. med. vet., asistentica, Poljoprivredni i veterinarski fakultet, Priština, Kosovo; Nexhat MAZREKU, dr. med. vet., Kosovo

vrijednosti analizirali smo: koncentraciju glukoze, ukupnih bjelančevina, ukupnog kalcija, anorganskog fosfora, magnezija, ukupnog bilirubina i kreatinina uporabom standardnih laboratorijskih metoda.

Prema rezultatima koje smo dobili za pH sadržaja buraga, životinje na farmama koje smo uključili u istraživanje, odvojili smo u tri skupine: skupina A, krave sa srednjom vrijednosti pH unutrašnjosti buraga 6,0 do 6,3 (kontrolna skupina s pH buraga u fiziološkim granicama). Skupina B: životinje s pH unutrašnjosti buraga u intervalu između 5,6 i 5,9 (skupina životinja koje su rizične za SAB). Skupina C: životinje s pH unutrašnjosti buraga < 5,5 (skupina životinja sa SAB). (Tabela 1). Rezultati su statistički obrađeni analizom varijance (ANOVA) te smo utvrdili utjecaj SAB na biokemijske vrijednosti, kao i statistički značajne razlike za životinje svih triju skupina. Utvrdili smo i statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) za neke biokemijske vrijednosti između pojedinih skupina.

Rezultati

Od rezultata dobivenih za pH unutrašnjosti buraga ustanovili smo da velik broj krava (31 ili 38,7%) ima vrijednost pH unutrašnjosti buraga u fiziološkim granicama s obzirom na sastav obroka.

Sve tri skupine su bile skoro homogene u prosječnim danima laktacije (32 ± 14 , 38 ± 22 , 33 ± 16), a nijedna od životinja nije ispoljavala znakove bolesti.

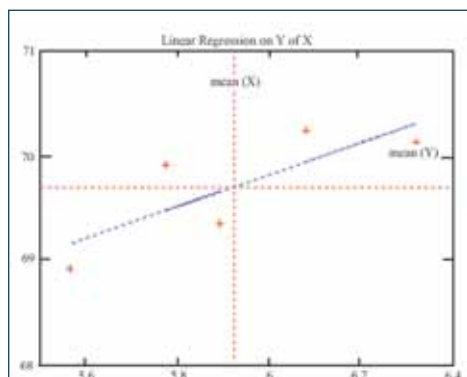
Vrijednosti biokemijskih nalaza krvnih seruma u krava svih triju skupina nalaze se u tabeli 2. Rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost s odmakom jedne standardne devijacije te su uspoređeni s referentnim vrijednostima (Radostits i sur., 2005.).

Označene su i statistički značajne razlike u koncentraciji pojedinih metabolita u različitim skupinama. Naši rezultati pokazuju da nema značajnih promjena u koncentraciji ukupnih bjelančevina, ukupnog kalcija i glukoze. Koncentracije magnezija, kreatinina i ukupnog bilirubina smanjene su kod životinja s acidozom buraga. Razina anorganskog fosfora je statistički značajno u porastu kod sve tri skupine krava koje smo istraživali.

Povezanost i značajne promjene u istraživanju su također prikazane u grafikonima linearne regresije.

Iz naših podataka vidljivo je da između viših vrijednosti pH buraga i više razine ukupnih bjelančevina u serumu (grafikon 1) postoji pozitivna korelacijska povezanost ($r = 0,628$). Pozitivni trend izražen je i između većih vrijednosti pH buraga i veće koncentracije glukoze ($r = 0,388$) (grafikon 2) i ukupnog kalcija ($r = 0,277$) (grafikon 3).

Značajna korelacijska povezanost, ali negativnog karaktera ($r = -0,650$) ustanovljena je između vrijednosti pH buraga i vrijednosti anorganskog fosfora, grafikon 4.



Grafikon 1. Povezanost između pH buraga i razine ukupnih bjelančevina - $r = 0,628$
Ukupne bjelančevine = $60,67 + [1,52 \times \text{pH buraga}]$

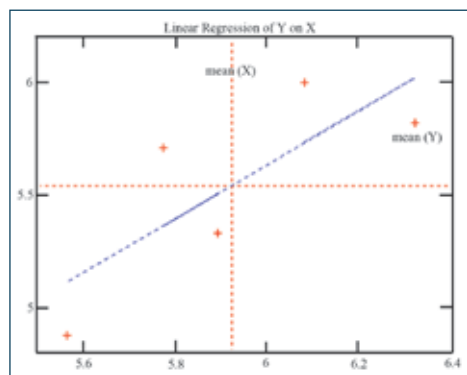
Tabela 1. Srednje vrijednosti pH buraga i srednji dani laktacije kod krava prema skupinama

Skupine	Krava	%	Dani laktacije	pH buraga
Kontrolna	31	38,7	32 ± 14	$6,14 \pm 0,07$
I. Pokusna; životinje rizične za SAB	21	26,2	38 ± 22	$5,64 \pm 0,12$
II. Pokusna; životinje sa SAB	28	35,0	33 ± 16	$5,40 \pm 0,09$

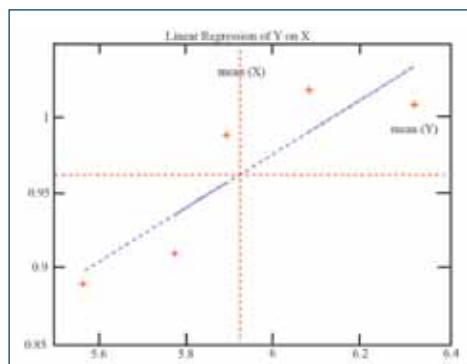
Tabela 2. Srednje vrijednosti biokemijskih parametara kod krava prema skupinama

Pokazatelji	Referentne vrijednosti	Skupina A	Skupina B	Skupina C
Ukupne bjelančevine (g/L)	67 – 75	70,34 ± 5,26	69,72 ± 6,36	68,12 ± 4,41
Glukoza (mmol/L)	2,47 – 4,12	3,22 ± 0,24	3,49 ± 0,26	2,97 ± 0,17
Ukupni kalcij (mmol/L)	2,43 – 3,10	2,44 ± 0,19	2,42 ± 0,24	2,40 ± 0,10
Anorganski fosfor (mmol/L)	1,08 – 2,76	1,26 ± 0,37	1,58 ± 0,32*	1,69 ± 0,21*
Magnezij (mmol/L)	0,74 – 1,10	1,02 ± 0,11	0,88 ± 0,22*	0,81 ± 0,11*
Kreatinin (μmol/L)	35 – 280	65,46 ± 7,13	61,91 ± 7,27	59,44 ± 6,32*
Ukupni bilirubin (μmol/L)	0,17 – 8,03	6,00 ± 1,58	5,73 ± 1,91	4,82 ± 1,11*

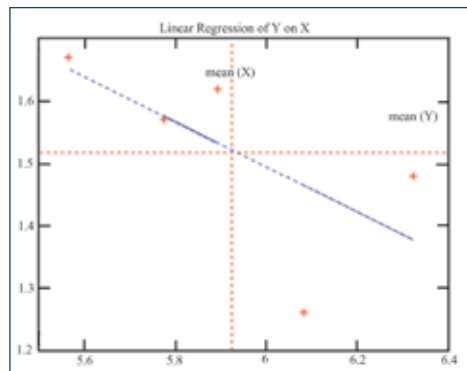
*statistički signifikantna razlika u usporedbi s kontrolnom skupinom ($p < 0,05$).



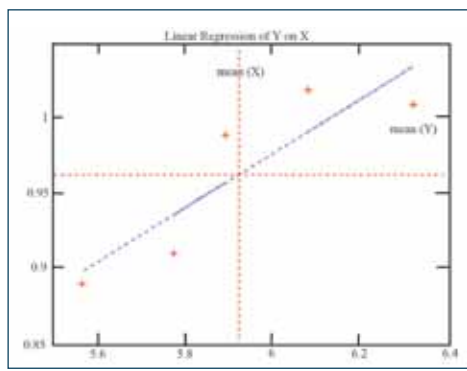
Grafikon 2. Povezanost između pH buraga i razine glukoze - $r = 0,388$
 $Glukoza = 0,715 + [0,359 \times pH \text{ buraga}]$



Grafikon 3. Povezanost između pH buraga i razine ukupnog kalcija - $r = 0,277$
 $Kalcij = 2,2 + [-0,042] \times pH \text{ buraga}$



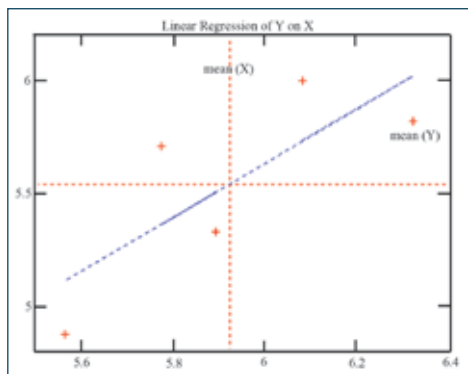
Grafikon 4. Povezanost između pH buraga i razine anorganskog fosfora - $r = -0,650$
 $Anorganski \text{ fosfor} = 3,65 + [-0,36 \times pH \text{ buraga}]$



Grafikon 5. Povezanost između pH buraga i razine magnezija - $r = 0,776$
 $Magnezij = -0,1 + [0,18 \times pH \text{ buraga}]$

Oprečno od razine anorganskog fosfora, vrijednosti razine magnezija rastu s povećanjem pH buraga, grafikon

5. Između ova dva nalaza postoji jaka korelacijska povezanost pozitivnog karaktera ($r = 0,776$).



Grafikon 6. Povezanost između pH buraga i razine ukupnog bilirubina - $r = 0,677$

Ukupni bilirubin = $-1,58 + (1,2 \times \text{pH buraga})$

Jaka korelacijska povezanost pozitivnog karaktera ($r = 0,677$) ustanovljena je između vrijednosti pH buraga i razine ukupnog bilirubina (grafikon 6).

Rasprava

Varijacije između skupina glede koncentracije biokemijskih parametara su povezane s drugčijim vrijednostima pH sadržaja buraga. Rezultati studije pokazuju da su varijacije pH sadržaja buraga važne za dijagnozu SAB kod mliječnih krava. U našem istraživanju SAB je utjecao na smanjenje razine ukupnih bjelančevina i glukoze. Makrominerali (ukupni kalcij, anorganski fosfor i magnezij) su kao što je dobro poznato povezani s patologijom puerperija poput puerperalne pareze i SAB (Dohme i sur., 2008.). Veći broj ovih minerala je striktno reguliran u organizmu nizom homeostatskih procesa. Njihova količina u krvnom serumu nije ogledalo hranidbenog statusa kad homeostatski sustavi pravilno funkcioniraju (Garrett i sur., 2003.). Koncentracija anorganskog fosfora i magnezija u serumu je ovisna o unosu hranom (Rause i sur., 2006., Plaizier i sur., 2008.). Zato se količina ovih makromineralu u serumu treba oprezno interpretirati. Ovo su vrlo interesantni nalazi koji sugeriraju da

količina makromineralu može pomoći u dijagnostici subakutne acidoze buraga i uputiti na bolest više nego što smo to prije smatrali. Linearni rast koncentracije anorganskog fosfora, kao pojedinačni znak za SAB, je važniji od smanjenja razine ukupnog kalcija i magnezija.

Zaključci

1. Kod krava sa subakutnom acidozom buraga (SAB) ustanovljen je porast anorganskog fosfora dok se vrijednosti ukupnih bjelančevina, glukoze, ukupnog kalcija, magnezija, kreatinina i ukupnog bilirubina smanjuju.
2. Smanjene vrijednosti pH sadržaja buraga u krava utječe na koncentraciju glukoze, ukupnog kalcija, anorganskog fosfora, magnezija, kreatinina i ukupnog bilirubina.
3. Promjene biokemijskih pokazatelja pod utjecajem smanjenja pH sadržaja buraga u krava mogu se statistički potvrditi.
4. Interpretacija biokemijskih parametara može se uporabiti za ranu dijagnozu subakutne acidoze buraga u mliječnih krava.

Sažetak

Prateći razdoblje od siječnja 2010. do rujna 2011., na 5 farmi intenzivnog uzgoja krava za proizvodnju mlijeka zaključili smo da subakutna acidoza buraga (SAB) utječe na neke biokemijske vrijednosti. Za studiju smo odabrali 80 krava u prvoj fazi laktacije (35 ± 25 dana nakon porođaja). Pratili smo razinu pH unutrašnjosti buraga i biokemijske vrijednosti. Od biokemijskih vrijednosti u krvnom serumu analizirali smo: glukozu, ukupne bjelančevine, ukupni kalcij, anorganski fosfor, magnezij, ukupni bilirubin i kreatinin. Na osnovi pH sadržaja buraga životinje su podijeljene u 3 skupine, kontrolnu i dvije pokusne skupine. Uzorci iz buraga su uzimani i prijenosnim pH-metrom mjeren je pH.

Rezultati dobiveni statističkom analizom pokazuju bitni utjecaj pH sadržaja buraga na koncentraciju nekih biokemijskih pokazatelja. Promjene u vrijednostima glukoze, ukupnog kalcija, ukupnog bilirubina i kreatinina su potvrđene statistički ($P < 0,05$). Linearni

rast koncentracije anorganskog fosfora, kao pojedinačni znak za SAB, je važniji od smanjenja razine ukupnog kalcija i magnezija.

Dobiveni rezultati upućuju da smo tijekom stanja SAB dobili značajne promjene u biokemijskim vrijednostima koje se mogu uporabiti u ranoj kliničkoj dijagnozi.

Literatura

1. DEVRIS, T. J., F. DOHME and K. A. BEAUCHEMIN (2008): Repeatet ruminal acidosis challenges in Lactating Dairy cows at Hight and Low risk for Developing acidosis: Feed Sorting. *J. Dairy Sci.* 91, 3958-3967.
2. DOHME, F., T. J. De VRIES and K. A. BEAUCHEMIN (2008): Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Ruminal pH. *J. Dairy Sci.* 91, 3554-3567.
3. DUFFIELD, T., J. C. PLAIZIER, A. FAIRFIELD et al. (2004): Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 59-66.
4. GARRETT, R. and G. OETZEL (2003): Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Cattle. *Advances Dairy Technol.* 15, 307-317.
5. KRAUSE, K. M. and G. R. OETZEL (2005): Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 3633-3639.
6. PLAIZIER, J. C., D. O. KRAUSE, G. N. GOZHO and B. W. McBRIDE (2008): Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.* 176, 21-31.
7. RADOSTITS, O. M., D. C. BLODD and C. C. GAY (2005): Acute carbohydrate engorgement of ruminants (rumen overload). *Veterinary Medicine. Philadelphia, PA.* Pp. 262-269.
8. RAUSE, K. M. and G. OETZEL (2006): Understanding and preventin subacute luminal acidosis in dairy herës: *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 215-236.

Biochemical Indicators in Sera Influenced by Subacute Ruminal Acidosis (SARA) in Dairy Cows

Emilian SHABANI, DVM, PhD student, Vangjel CERONI, DVM, PhD, Full Professor, Luigj TURMALAJ, DVM, PhD, Assistant Professor, Blerta MEHMEDI, DVM, Assistant, Faculty of Agriculture and Veterinary, Pristine, Kosovo; Nexhat MAZREKU, DVM, Kosovo

This study aims to assess the impact of ruminal subacute acidosis (SARA) in dairy cows on biochemical indicators. The study was conducted in the period from January 2010 to September 2011 at five dairy farms with an intensive breeding system. In 80 cows, ruminal pH levels and biochemical indicators were monitored in the first phase of lactation (35±25 days of lactation). Samples of ruminal fluid were taken and pH was measured using a portable pH meter. Blood samples were collected from the same cows via the jugular vein and serum extracted. Biochemical indicators in blood serum investigated were: glucose level, total protein, total calcium, inorganic phosphorus, magnesium, total bilirubin and creatinine.

Based on the ruminal pH values, the animals divided into three groups, the control group and two experimental groups. Biochemical indicators were statistically analysed and differences for dependence and correlation relations between the three groups of animals determined. Statistically significant differences ($P < 0.05$) were established for glucose, total calcium, total bilirubin and creatinine. Linear growth of inorganic phosphorus concentration as each character in SARA is more important than reducing the levels of total calcium and magnesium. The results obtained indicate that in the course of developing SARA, significant changes in biochemical indicators arise that could in early clinical examinations.



Za uporabu u veterinarskoj medicini

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

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

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

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



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

Protuupalni i imunomodulacijski učinci makrolidnih antibiotika u *in vitro* i *in vivo* sustavima

Vanesa Ivetić Tkalčević i Miroslava Dominis Kramarić



Uvod

Makrolidni antibiotici (makrolidi) su kemijski heterogena skupina spojeva s protubakterijskim učinkom. Prvi makrolidni antibiotik, eritromicin, izoliran je kao produkt fermentacije kulture *Saccharopolyspora erythraea*. Protubakterijski učinak makrolida temelji se na sprječavanju sinteze proteina. Eritromicin se veže na 50S podjedinicu ribosoma evolucijski starijih ribosoma organela kao što su mitohondriji i kloroplasti eukariotskih stanica, za V domenu 23S rRNK, blizu izlaznog kanala za peptidni lanac, ometajući pokretanje ishodišnog peptida. Primjenjuju se u liječenju infekcija gornjih i donjih dišnih puteva, blažih infekcija kože i mekih tkiva te spolno prenosivih bolesti izazvanih *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum* i *Chlamydia trachomatis*. Roksitromicin i azitromicin koriste se i u liječenju oportunističkih infekcija u pacijenata oboljelih od AIDS-a, izazvanih s *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium parvum* i *Pneumocystis carinii* (Schonfeld i Kirst, 2002.).

Pored protubakterijskih svojstava, makrolidi posjeduju i protuupalna i imunomodulacijska svojstva djelujući na imunološki sustav organizma. Njihova protuupalna svojstva posljedica su nakupljanja u upalnim stanicama, posebice u polimorfonuklearnim stanicama, u koncentracijama i do nekoliko stotina puta većim od onih u međustaničnoj tekućini (Labro, 2002.). Mehanizam unutarstaničnog nakupljanja

makrolida nije u potpunosti razjašnjen. Jedna od teorija zasniva se na pretpostavci da se radi o aktivnom procesu posredovanom proteinima. Citokini *in vitro* potiču nakupljanje makrolida u makrofagima pa na mjestu upale stanice nakupljaju znatno veću koncentraciju makrolida nego u fiziološkim uvjetima (Čulić i sur., 2001.).

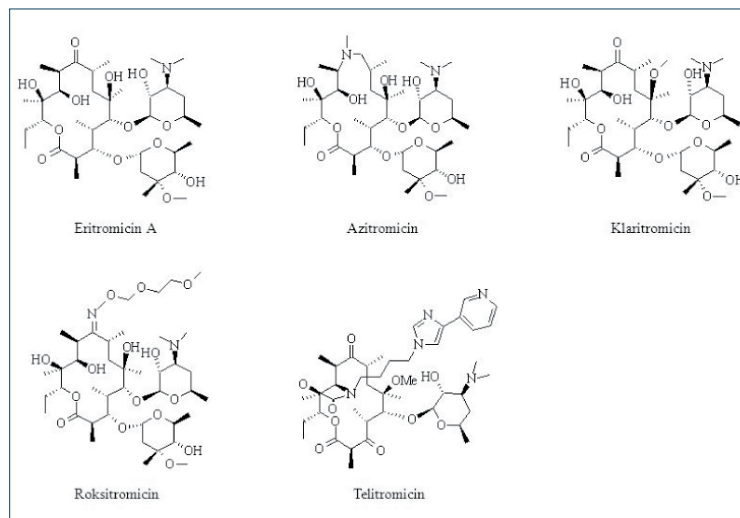
Namjera ovog preglednog rada bila je prikazati protuupalna i imunomodulacijska svojstva makrolidnih antibiotika (makrolida) u *in vitro* i *in vivo* sustavima.

Makrolidni antibiotici (makrolidi)

Struktura i podjela

Strukturu makrolida karakterizira visokosupstituiran makrociklički laktonski prsten, aglikonom, na čije su hidroksilne skupine glikozidno vezani jedan ili više šećernih supstituenata (Slika 1). Ovisno o veličini laktonskog prstena makrolidi se dijele u nekoliko skupina (Slika 2). Karakteristika prirodnih makrolida je prisustvo 12-, 14- ili 16 atoma u makrocikličkom laktonskom prstenu, na kojeg se može vezati nekoliko amino šećera. U kliničkoj praksi najučinkovitijim su se pokazali 14- i 16-člani makrolidi. Oleandomicin i eritromicin A predstavnici su prirodnih 14-članih makrolida, dok 16-članu skupinu predstavljaju linkomicin, josamicin, spiroomicin i midekamicin. 12-člani makrolidi, poput metimicina,

Dr. sc. Vanaša IVETIĆ TKALČEVIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Miroslava Dominis KRAMARIĆ, dr. med. vet., Zagreb



Slika 1. Kemijske strukture eritromicina A i njegovih derivata.

nemaju značajniju primjenu u liječenju bolesti. Azitromicin, kao predstavnik 15-članih azalida, nastao je iz eritromicina A umetanjem dušika u aglikonski prsten na koji je potom vezana metilna skupina (Schonfeld i Kirst, 2002.).

Farmakokinetiska svojstva i farmakovigilancija

Makrolide odlikuje dobar učinak nakon *per os* (p.o.) primjene te relativno visoka razina sigurnosti, čak i nakon uzimanja visokih doza supstancije. Bioraspoloživost prirodnih makrolida nakon p.o. primjene ovisi o prisutnosti hrane u probavnom sustavu, te o primijenjenoj formulaciji. Također, prirodni makrolidi, poput eritromicina, u kiselom se mediju brzo razgrađuje u neaktivne metabolite. Nasuprot tome, derivati eritromicina, poput azitromicina i klaritromicina, znatno su stabilniji u kiselom mediju te se dobro resorbiraju nakon p.o. unosa (McKenna i Evans, 2001.). Volumen raspodjele azitromicina i klaritromicina u organizmu znatno je veći od volumena raspodjele eritromicina. Za razliku od azitromicina koji se odlikuje naglašenom raspodjelom po tkivima u koncentracijama koje su 10-100 puta veće od koncentracija u plazmi, eritromicin se

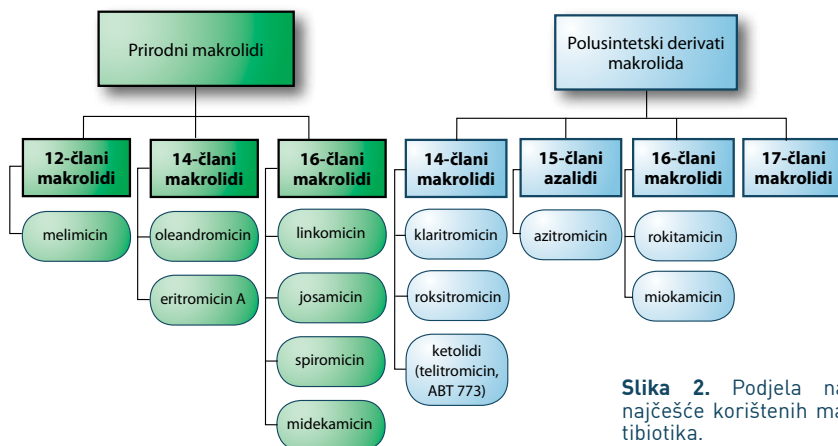
u tkivima nakuplja u koncentraciji svega 0,5-5 puta većoj u odnosu na plazmu. Klaritromicin se, naprotiv, po unosu u visokim koncentracijama nakuplja u serumu. Po p.o. unosu doze od 500 mg u ljudi, vrijeme poluživota eritromicina iznosi 2 sata, klaritromicina 4 sata, a azitromicina 68 sati.

Iako se eritromicin smatra jednim od sigurnijih antibiotika za uporabu, uočeno je da ponekad izaziva probavne smetnje ovisno o visini primijenjene doze (McKenna i Evans, 2001.). Eritromicin, u odnosu na klaritromicin i azitromicin, pokazuje znatno veći afinitet prema motilinskim receptorima probavnog sustava, zbog čega češće dolazi do probavnih smetnji u vidu mučnine, proljeva, bolova u trbuhu te povraćanja. Pojava flebitisa nakon parenteralne primjene znatno je češća kod eritromicina nego kod azitromicina. Glavobolja, poremećaji funkcije jetre, kožni osip te ototoksičnost javljaju se u manje od 2% slučajeva.

Protuupalni *in vitro* učinci makrolidnih antibiotika

Utjecaj na adheziju leukocita

Prianjanje leukocita za krvnu žilu potiče se djelovanjem adhezijskih molekula (selektini i integrini) koje



Slika 2. Podjela najpoznatijih i najčešće korištenih makrolidnih antibiotika.

aktiviraju lokalno oslobođeni upalni citokini. Eritromicin umanjuje ekspresiju CD11b/CD18 integrina u neutrofila stimuliranih lipopolisaharidom (LPS), spriječavajući njihovo prijanjanje (Lin i sur., 2000.). U istom je pokusu eritromicin inhibirao oksidativni stres i otpuštanje interleukina (IL)-8 iz stimuliranih granulocita. Khair i sur. (1995.) pokazali su utjecaj eritromicina na inhibiciju otpuštanja IL-6, IL-8 i sICAM-1 (engl. *soluble intercellular adhesion molecule-1*) u staničnim kulturama tretiranim LPS-om. Okubo (1997.) je utvrdio da tretman eritromicinom i midekamicinom, za razliku od roksitromicina, u trajanju od jednog do tri sata značajno smanjuje ekspresiju MAC-1 na površini neutrofila. Izlaganje stanica roksitromicinu kroz duže vremensko razdoblje, dovodi do smanjenja ekspresije MAC-1 u neutrofilima pacijenata oboljelih od difuznog panbronhialitisa (DPB) (Kusano i sur., 1995.). Klaritromicin je u stanicama sinovije umanjio ekspresiju ICAM-1, LFA-3 (engl. *lymphocyte function-associated antigen-3*) i VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) te IL-1 β , IL-6, IL-8, čimbenika stimulacije rasta kolonija granulocita (G-CSF) (engl. *granulocyte-colony stimulating factor*) i čimbenika stimulacije rasta kolonija granulocita i makrofaga (GM-CSF) (engl. *granulocyte macrophage – colony stimulating factor*) (Matsuoka i sur., 1996.).

Utjecaj na kemotaksiju upalnih stanica

Velik broj upalnih medijatora potiče kemokinezu ili neusmjereno kretanje upalnih stanica, dok je relativno mali broj medijatora (leukotrieni (LT)B₄, faktor komplementa 5a, IL-8, sFas) koji aktiviraju kemotaksiju ili usmjerenog gibanje neutrofila na mjesto upale. Tamaoki i sur. (1994.) uočili su da se nakon izlaganja neutrofila mediju s eritromicinom ili roksitromicinom značajno smanjuje kemotaksija neutrofila i njihova adhezija za endotelne stanice stimulirane endotoksinom. Osim toga, eritromicin, josamicin, miokamicin, roksitromicin i rokitamicin umanjili su proces kemotaksije neutrofila *in vitro* i *ex vivo* u stanicama dobrovoljaca tretiranih navedenim antibioticima (Torre i sur., 1991.).

Utjecaj na oslobađanje citokina i kemokina

Stanice imunološkog sustava međusobno komuniciraju putem međustaničnih signalnih polipeptida - citokina. Utjecaj makrolida na oslobađanje protuupalnih citokina je promjenjiv (Čulić i sur., 2001). Klaritromicin i azitromicin spriječili su oslobađanje IL-1 α , IL-6 i tumor nekrotizirajućeg faktora (TNF)- α u humanim monocitima. Nasuprot tomu, u drugom su pokusu eritromicin i spiramicin potaknuli oslobađanje IL-6 u humanim monocitima. Klaritromicinom potaknuto oslobađanje IL-6 uočeno je i u kulturi stanica adenokarcinoma mlječne žlijezde 13762NF.

Na razini RNK, eritromicin i klaritromicin su umanjili ekspresiju mRNA i oslobađanje IL-6 iz epitelnih stanica bronha.

Puno su jasniji učinci makrolida na upalne citokine i kemokine. Takeshita i sur. (1989.) pokazali su da klaritromicin u odnosu na eritromicin u većoj mjeri koči sintezu IL-1 u makrofagima, a sličan učinak uočen je kod spiramicina i diritromicina, kao posljedica smanjenja koncentracije protein kinaze C (Moutard i sur., 1999.). U *ex vivo* studiji provedenoj na punoj krvi dobrovoljaca eritromicin je značajno umanjio oslobađanje IL-8, ENA-78 (engl. *epithelial cell-derived neutrophil attractant-78*) i makrofagnog upalnog proteina (MIP)-1 (engl. *macrophage-inflammatory protein-1*) (Schultz i sur., 2000.). U staničnoj kulturi fibroblasta, podrijetlom iz ljudskih pluća, stimuliranoj TNF- α -om i interferonom (IFN)- γ , eritromicin je značajno umanjio oslobađanje eozinofilnih kemotaksijskih peptida kao što su RANTES (engl. *regulated upon activation, normal T expressed and presumably secreted*), eotaksin, G-CSF i GM-CSF te time umanjio kemotaksijsku sposobnost fibroblasta za nakupljanje eozinofila (Sato i sur., 2001.). Nadalje, 14-člani makrolidi kože oslobađanje IL-8 iz eozinofila humanog podrijetla i kulture humanih epitelnih stanica nosa (Kohyama i sur., 1999.).

Utjecaj na degranulaciju polimorfonukleara i fagocitozu

Degranulacija neutrofilnih granula u fagolizosome ili izvanstanični medij je ključan trenutak za uklanjanje stranih mikroorganizama. Makrolidi izravno potiču degranulaciju humanih neutrofila (Abdelghaffar i sur., 1996.). Xu i sur. (1996.) utvrdili su da makrolidni antibiotici potiču kemotaksiju makrofaga, fagocitozu i uklanjanje *Candida albicans*. Poticanjem obrambenih reakcija domaćina, makrolidi potpomažu svoje protubakterijsko djelovanje.

Utjecaj na slobodne kisikove radikale

U granulama zrelih neutrofila nalazi se velika količina oksidaze ovisne o nikotinamid dinukleotid fosfatu

(NADPH) koja razgrađuje fagocitirane mikroorganizme. Kisikovi spojevi koje stvaraju NADPH oksidaza i ostali enzimi štetni su ne samo za bakterije, već i za okolno tkivo ukoliko nastaju u suvišku kroz duži vremenski period. Ovisno o trajanju tretmana i visini doze, 14- i 15-člani makrolidi umanjuju oksidativni stres neutrofila (Čulić i sur., 2001.). U stimuliranim granulocitima eritromicin je umanjio oksidativni stres i oslobađanje IL-8, a azitromicin fagocitozu *Escherichia coli* i oksidativni stres. Osim toga, azitromicin i klaritromicin su umanjili stvaranje kisika i kemotaksiju neutrofila, pokazavši se uspješnim u liječenju difuznog panbronhiolitisa, za razliku od roksitromicina koji nije bio djelotvoran. Klindamicin, eritromicin i roksitromicin su, ovisno o visini doze umanjili stvaranje superoksida u stimuliranim i nestimuliranim neutrofilima.

Uloga NO, kojeg sintetizira endotelna NO sintaza (eNOS), je održavanje normalnih fizioloških procesa. Inducibilne NO sintaze (iNOS), utječu na povećanu sintezu NO, posebno u upalnim stanicama. Bakterijske infekcije izazivaju porast koncentracije NO poticanjem aktivnosti NO sintaza u neutrofilima i makrofagima. NO koči valjanje i prihvaćanje leukocita za endotelne stanice (Hickey, 2001.). Eritromicin stimulira eNOS na sintezu NO putem mehanizma ovisnog o protein kinazi A. Također, eritromicin potiče ekspresiju NOS-a, a time i oslobađanje NO iz endotelnih stanica (Čulić i sur., 2001.). Suprotno tome, Tamaoki i sur. (1999.) uočili su da klaritromicin *in vitro* umanjuje ekspresiju iNOS-a i oslobađanje NO u alveolarnim makrofagima stimuliranim LPS-om i IFN- γ te da eritromicin, roksitromicin i josamicin smanjuju aktivnost iNOS-a u alveolarnim makrofagima i koncentraciju IL-1 β i TNF- α . Eritromicin, klaritromicin i josamicin su umanjili ekspresiju iNOS mRNA i oslobađanje NO iz alveolarnih makrofaga (Kohri i sur., 2000.). Rezultati studije Sarne i sur. (2000.) pokazali su da eritromicin potiče oslobađanje NO iz

sinaptičkih neurona vjerojatno utjecajem na neuralnu NO sintazu.

Utjecaj na apoptozu stanica

Apoptoza ili programirana smrt stanice jedan je od ključnih faktora u rješavanju patoloških procesa kronične upale (Čulić i sur., 2001.). Ciklus života neutrofila iznosi 6-7 sati, što znači da dnevno odumre mnoštvo neutrofila, posebice tijekom upale. Apoptozom neutrofila slabe i funkcije oksidativnog stresa i degranulacije. Za razliku od nekrotičkih neutrofila čiji se sadržaj oslobađa u okolno tkivo oštećujući ga, apoptotičke neutrofile razgrađuju makrofagi. Oštećenja tkiva izazvana utjecajima granulocita i kronične upale, mogu biti i posljedica smanjene apoptoze. Eritromicin potiče apoptozu neutrofila mehanizmom djelomično ovisnim o cikličkom adenozin-monofosfatu (cAMP), kao i roksitromicin, na izoliranim humanim neutrofilima. Eritromicin djeluje proapoptotički i na izoliranim eozinofilima zamorca stimuliranih s IL-5. Apoptozu je u nekoliko različitih staničnih linija potaknuo i 17-člani derivat tilozina. Azitromicin izaziva apoptozu neutrofila, osim u prisustvu *Streptococcus pneumoniae*, čemu je vjerojatno uzrok utjecaj bakterije na navedeni proces. Također, azitromicin nije utjecao na oslobađanje IL-8, kao niti na oksidativni stres polimorfonuklearnih leukocita. Proapoptotička aktivnost azitromicina i klaritromicina dokazana je metodom protočne citometrije u modelu pune krvi. Tilmikozin je potaknuo apoptozu perifernih neutrofila, nakon inkubacije u trajanju od dva sata. Za razliku od azitromicina, tilmikozin je ispoljio proapoptotičko djelovanje neovisno o prisutnosti bakterija (*Pasteurella haemolytica*) te potaknuo makrofage na fagocitozu neutrofila.

Protuupalni *in vivo* učinci makrolidnih antibiotika

Prije nekoliko desetljeća uočeno je da eritromicin poboljšava zdravstveno stanje pacijenata oboljelih od astme. Uslijedila su

brojna istraživanja protuupalnih učinaka i mehanizma djelovanja makrolida u različitim *in vivo* modelima.

Protuupalno djelovanje u *in vivo* modelu ovalbuminom izazvane eozinofilije

U svrhu ispitivanja *in vivo* učinaka klaritromicina i josamicina na pojačanu aktivnost sluznice dišnih prohoda, Shimizu i sur. (2003.) izazvali su hipertrofične i metaplastične promjene stanica nosnog epitela intranazalnom (i.n.) primjenom ovalbumina (OVA) u štakora uz prethodnu senzibilizaciju s OVA. Za razliku od josamicina, p.o. predtretman klaritromicinom (5-10 mg/kg) tijekom 3 dana, umanjio je razinu hipertrofičnih i metaplastičnih promjena stanica, kao i izlučivanje sluzi. *In vitro* učinci klaritromicina i eritromicina na staničnoj kulturi NCI-H292 TNF- α potaknutoj i nepotaknutoj, očitovale se smanjenjem ekspresije mucina 5AC (MUC5AC) mRNA, upućujući na mogući mehanizam djelovanja 14-članih makrolida. Sarria i sur. (2004.) istraživali su djelotvornost eritromicinskog derivata Z104657A u modelu alergijske upale pluća izazvane s OVA u štakora. Nakon jednodnevnog predtretmana (40 μ mol/kg, p.o.), Z104657A je spriječio reakciju plućne preosjetljivosti prema 5-hidroksitreptaminu i nakupljanje eozinofila u plućima. Davanje eritromicina (180 mg/kg, p.o.) tijekom 7 dana, u modelu OVA izazvane alergijske upale dišnih puteva u štakora, rezultiralo je smanjenjem ukupnog broja stanica i transkripcije NF- κ B u plućima (He i sur., 2005.). Hrvačić i sur. (2009.) ispitivali su protuupalni učinak predtretmana klaritromicinom (200 mg/kg, intrapritonealno (i.p.)) u modelu astme izazvane s OVA i postigli smanjenje koncentracije IL-4, IL-5 i IL-13 te CCL-2 i CXCL-2 u bronhoalveolarnom ispirku (BAI) te nakupljanje eozinofila u plućima. Klaritromicin je, osim upalne reakcije, umanjio i preosjetljivost dišnih puteva. Tokuda i sur. (2010.) istražili

su učinke eritromicina, azitromicina i josamicina na refleks kašlja izazvanog udisanjem kapsaicina u modelu OVA izazvane alergijske upale dišnog sustava u zamorčica. Višestruki i.p. tretman tijekom 4 uzastopna dana, 12 sati nakon provokacije antigenom, pokazao je da eritromicin (5-50 mg/kg/dan) i azitromicin (50 mg/kg/dan), za razliku od josamicina (50 mg/kg/dan) značajno smanjuju učestalost kašlja i ukupan broj stanica u BAI-u. Eritromicin je, u ovisnosti o visini doze, inhibirao porast koncentracije supstancije P, prostaglandina (PG) E_2 i LTB $_4$ u BAI-u, ali nije utjecao na razinu histamina u BAI-u te na aktivnost endopeptidaze u dušniku. Navedeni rezultati pokazuju da 14- i 15-člani makrolidi, za razliku od 16-članih, umanjuju refleks kašlja izazvan s OVA inhibirajući oslobađanje senzibilizatora aferentnih živaca.

Protuupalno djelovanje u *in vivo* modelu neutrofilije

Kako bi odredili utjecaj jednotjednog predtretmana eritromicinom (10 mg/kg, p.o.) na propusnost krvnih žila u dušniku i plućima te na nakupljanje neutrofila, Tamaoki i sur. (1995.) su u štakora izazvali akutnu upalu pluća intratrahealnim (i.t.) unosom LPS-a. Eritromicin je umanjio propusnost krvnih žila u dušniku i plućima. Tamaoki i sur. (1996.) ispitivali su, pored eritromicina, utjecaj jednotjednog predtretmana roksitromicinom (1, 3, 5 i 10 mg/kg, p.o.) u modelu upale dušnika u zamorčica izazvane i.t. unosom IL-8 u obliku aerosola. Oba makrolida su u dozama od 5 i 10 mg/kg umanjila aktivnost sekretornih stanica i nakupljanje neutrofila u dušniku. U modelu upale pluća izazvane imunoglobulin (Ig)G imunološkim kompleksom (IgG-ICx) u štakora, predtretman eritromicinom i josamicinom (50 mg/kg, p.o.) umanjio je intraalveolarno nakupljanje neutrofila te koncentraciju NO u izdahnutom zraku, što je, vjerojatno, posljedica sprječavanja

oslobađanja citokina i smanjene ekspresije iNOS mRNA alveolarnih makrofaga (Tamaoki i sur., 1999.). Roksitromicin je umanjio oslobađanje IL-1 β i TNF- α u LPS-om stimuliranoj kulturi humanih monocita. Također, u modelu LPS-om izazvane plućne neutrofilije u miševa predtretman roksitromicinom (2,5 mg/kg, p.o.) kroz 7 do 12 tjedana je umanjio koncentraciju IL-1 β i TNF- α u plućima (Suzaki i sur., 1999.). Shimizu i sur. (2003.) pokazali su da trodnevni predtretman klaritromicinom (5-10 mg/kg, p.o.) umanjuje hipertrofične i metaplastične promjene u stanicama nosnog epitela prethodno podraženih LPS-om. U modelu plućne neutrofilije u miševa izazvane i.t. unosom kulture mrtve bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, tretman klaritromicinom (50 mg/kg, i.p.) tijekom 5 dana, započetog 2 dana prije izazivanja neutrofilije, nije umanjio broj neutrofila, ali je povećao broj limfocita u BAI-u i tako potaknuo urođeni stanični odgovor i rezoluciju upale dišnog sustava (Pinto i sur., 2004.). Eritromicinski derivat Z104657A (40 μ mol/kg, p.o.) je nakon jednotjednog predtretmana u životinjskom modelu plućne neutrofilije izazvane LPS-om u štakora umanjio nakupljanje neutrofila, koncentraciju MUC5AC i ekspresiju njegove mRNA u plućima (Sarria i sur., 2004.). Jednotjedni predtretman eritromicinom (30 mg/kg, p.o.) u modelu LPS-om izazvane plućne neutrofilije umanjio je broj neutrofila i aktivnost elastaze u BAI-u te aktivnost mijeloperoksidaze (MPO) u plućima, a nije imao utjecaja na smanjenje koncentracije TNF- α i MIP-2 u plućima. Navedeni učinak vjerojatno je posljedica utjecaja eritromicina na smanjenje ekspresije mRNA P-selektina, E-selektina, ICAM-1 i VCAM-1 u plućima (Sanz i sur., 2004.). Azitromicin i klaritromicin inhibiraju LPS-om izazvanu plućnu neutrofiliju u miševa djelujući na oslobađanje GM-CSF i IL-1 β iz alveolarnih makrofaga. Aplicirani p.o. (600 mg/kg) 4 sata prije izazivanja neutrofilije, umanjili su ukupan broj stanica i broj neutrofila u BAI-u, te koncentraciju MPO, CCL-2,

GM-CSF, IL-1 β , TNF- α i sE-selektina u plućima (Bosnar i sur., 2009.). U *in vitro* dijelu pokusa azitromicin i klaritromicin umanjili su oslobađanje navedenih citokina iz LPS-om stimuliranih monocita i makrofaga, ne pokazujući učinak na aktivnost epitelnih stanica.

Protuupalno djelovanje na životinjskom modelu plućne fibroze

Azuma i sur. (1998.), u modelu bleomicinom izazvane akutne ozljede pluća u štakora pokazali su da, za razliku od tretmana, predtretman eritromicinom (12 mg/kg, p.o.) smanjuje nakupljanje neutrofila i koncentraciju neutrofilne elastaze u plućima te nastanak edema pluća. U modelu bleomicinske fibroze u štakora u trajanju od 4 tjedna, azitromicin (80 mg/kg) primijenjen tijekom 3 uzastopna dana u tjednu je umanjio aktivnost NF- κ B u alveolarnim makrofagima tjedan dana nakon izazivanja fibroze te koncentraciju proteina i ekspresiju mRNA TNF- α i TGF- β u plućima i alveolarnim makrofagima (Chen i sur., 1999.). Svakodnevni tretman eritromicinom (100 mg/kg, p.o.) u modelu bleomicinske fibroze u štakora smanjio je aktivnost NF- κ B 4 dana nakon unosa bleomicina, dok je nakon 7 dana umanjio ekspresiju mRNA IL-1 β i TGF- β u plućima. To je smanjilo nakupljanje upalnih stanica i spriječilo nastanak akutne ozljede pluća (Li i sur., 1999.). Također, Li i sur. (2002.) pokazali su da p.o. predtretman eritromicinom (50 mg/kg), klaritromicinom (8,9 mg/kg) i roksitromicinom (10 mg/kg) u modelu bleomicinske fibroze u miševa umanjuje ekspresiju VCAM-1 mRNA i nakupljanje leukocita u plućima, dok u kasnijoj fibrotičnoj fazi smanjuje koncentraciju hidroksiprolina. Patohistološka analiza pokazala je smanjenje fibrotičnih područja u plućima životinja predtretiranih i tretiranih eritromicinom i klaritromicinom te predtretiranih roksitromicinom. Predtretman azitromicinom (10 mg/kg, p.o.) tijekom 4 tjedna, u modelima spontane i LPS-om izazvane upale pluća

u miševa soja Δ F508 mutiranih u svrhu izazivanja cistične fibroze, rezultirao je smanjenjem nakupljanja upalnih stanica te koncentracije TNF- α i MIP-2 (Legssyer i sur., 2006.). U modelu bleomicinske fibroze u miševa predtretman i tretman s EM703 (75 mg/kg, p.o.) umanjio je nakupljanje makrofaga i neutrofila u dišnim prohodima, te nastanak fibrotičnih područja i nakupljanje hidroksiprolina u plućima. Smanjena ekspresija mRNA Smad proteina 3 i 4 koji su nužni za aktivaciju TGF- β , bila je vraćena na početnu razinu. U *in vitro* studiji EM703 je u staničnoj kulturi plućnih fibroblasta miševa umanjio proliferaciju kolagena izazvanu s TGF- β (Li i sur., 2006.).

Protuupalno djelovanje na životinjskom modelu difuznog panbronhiolitisa

Kaneko i sur. (2003.) su u modelu DPB-a u miševa, izazvanog i.t. unosom *Pseudomonas aeruginosa* pokazali da tretman klaritromicinom (10 mg/kg, p.o.) tijekom 7 dana umanjuje ekspresiju MUC5AC na mRNA i proteinskoj razini djelujući na unutarstanične signalne puteve protein kinaza. Trodnevni tretman azitromicinom (20 mg/kg, potkožno (s.c.)) u modelu endobronhijalne infekcije izazvane *Pseudomonas aeruginosa* umanjio je nakupljanje upalnih stanica u plućima, neovisno o protubakterijskom djelovanju, što se povezuje s padom koncentracije TNF- α i KC (engl. *keratinocyte-derived chemokine*). *In vitro*, azitromicin je smanjio kemotaksiju neutrofila utječući na aktivnost vanstaničnog signalnog puta koji je pod utjecajem kinaze 1 i 2 (Tsai i sur., 2004.).

Protuupalno djelovanje na životinjskim modelima edema uške i šape

Tarayre i sur. (1987.) pokazali su da nakon jednokratne lokalne primjene nanošenjem na površinu uške, eritromicin (0,250-1 mg/uški) umanjuje edem uške izazvan krotonskim uljem, kantaridinom i pikril kloridom. Također, eritromicin (2,5 mg/uški) je umanjio edem uške u

modelima odgođenog tipa preosjetljivosti izazvane oksazolonom i pikril kloridom. Tretman roksitromicinom (5 i 20 mg/kg, p.o.) je u modelima edema šape izazvanog karageninom i poly-L-argininom te edema uške izazvanog krotonskim uljem umanjio nastali edem, ali nije utjecao na nastanak granuloma u modelu kronične proliferativne upale izazvane s.c. implantacijom spužvice (Agen i sur., 1993.). Scaglione i Rossoni (1998.) uspoređivali su protuupalne učinke roksitromicina, azitromicina i klaritromicina u karageninom izazvanom modelu edema šape u štakora. Jednokratni predtretman (20 mg/kg, p.o.) je umanjio edem šape, pri čemu je roksitromicin pokazao najjači protuupalni učinak. Iako su brojna istraživanja pokazala da makrolidi umanjuju edem uške i šape izazvane različitim upalnim agensima, molekularni i stanični mehanizam protuupalnog djelovanja makrolida u ovim modelima nije istražen. Hashimoto i sur. (2003.) pokazali su da klaritromicin (100 mg/kg, p.o., 3 puta tjedno kroz 9 tjedana) u modelu atopičkog dermatitisa u NC/Nga miševa inficiranih sa *Staphylococcus aureus*, između 5. i 6. tjedna umanjuje pojavnost crvenila, hemoragije, oteknuća, ljuštenja i suhoće kože. Navedeni se učinak do kraja pokusa (9. tjedna) smanjio. Kao mogući mehanizam djelovanja klaritromicina navode smanjeno nakupljanje degranuliranih mastocita i stanica MHC klase u koži miševa. Međutim, kako je klaritromicin ujedno u potpunosti uklonio nakupine bakterija s površine kože, upitno je da li je navedena učinkovitost posljedica njegova protubakterijskog ili protuupalnog učinka. Nedavno su Ivetić Tkalčević i sur. (2012.) proveli detaljno istraživanje mehanizma protuupalnog djelovanja azitromicina i klaritromicina na urođenu imunosnu reakciju u modelu forbol 12-miristat 13-acetatom (PMA) izazvane akutne upale uške u miševa te na Th2 potaknut upalni odgovor u modelu oksazolonom (OXA) izazvane akutne i kronične preosjetljivosti odgođenog tipa u miševa. Naneseni topikalno,

u dozi od 500 µg/uški, azitromicin i klaritromicin su inhibirali edem uške te nakupljanje leukocita i koncentraciju IL-1β, TNF-α i MPO u tkivu uške miševa tretiranih s PMA. Imunohistokemijska analiza pokazala je da su testirani makrolidi umanjili koncentraciju IL-1β i TNF-α sprječavanjem nakupljanja polimorfonuklearnih leukocita - osnovnog izvora navedenih citokina. U modelu akutne i kronične preosjetljivosti odgođenog tipa izazvane oksazolonom, azitromicin i klaritromicin su, nakon topikalne primjene u dozi od 1 mg/uški, prije svega utjecali na aktivnost Th2 limfocita. Umanjili su koncentraciju IL-4 i degranulaciju mastocita u tkivu uške, te koncentraciju IgE u serumu. U svjetlu navedene aktivnosti, mehanizam protuupalnih učinaka makrolidnih antibiotika razlikuje se od mehanizma protuupalnih učinaka deksametazona, predstavnika kortikosteroida.

Protuupalno djelovanje na životinjskim modelima seps

U modelu LPS-om izazvane endotoksemije u miševa, roksitromicin, klaritromicin i azitromicin su, za razliku od josamicina, nakon 4-tjednog predtretmana umanjili koncentraciju NO i ekspresiju mRNA NO sintaze te koncentraciju IL-1β, IL-6 i TNF-α u plazmi. Predtretman u trajanju od 2 tjedna nije pokazao istovjetni učinak (Terao i sur., 2003.). Giamarellos-Bourboulis i sur. (2005.) utvrdili su da se dvokratnim davanjem klaritromicina u dozama od 80 i 50 mg/kg, intravenozno (i.v.) (6 i 8 sati nakon infekcije) u modelu seps izazvane infekcijom bubrega s *Escherichia coli* ligacijom uretera izazvanog akutnog pijelonefritisa u zamorčica, produžuje preživljenje životinja i smanjuje koncentraciju LPS-a, TNF-α i malondialdehida u serumu, broj bakterija te nastanak plućnog edema.

Obzirom na problematiku odvajanja protuupalnog od protubakterijskog djelovanja makrolidnih antibiotika, Ivetić Tkalčević i sur. (2006., 2008.) istražili su protuupalne učinke azitromicina

u modelu septičkog šoka izazvanog senzibilizacijom i provokacijom životinja LPS-om, te protuupalne učinke klaritromicina u modelu septičkog šoka izazvanog jednokratnom primjenom visoke doze LPS-a. Predtretman azitromicinom prije senzibilizacije i provokacije (10 i 100 mg/kg, p.o.) te klaritromicinom (jednokratno, 100 mg/kg), povećao je preživljenje životinja, vjerojatno zbog smanjenja koncentracije TNF- α u plazmi. Također, azitromicin je nakon jednokratnog predtretmana (150 mg/kg, i.p.) u modelu LPS-om izazvane plućne neutrofilije značajno smanjio ukupni broj stanica, postotak neutrofila, te koncentraciju TNF- α , IL-6 i MIP-2 u plućima što upućuje na mogućnost njegovog protuupalnog djelovanja na sepsom izazvanu akutnu ozljedu pluća. Leiva i sur. (2007.) pokazali su da predtretman telitromicinom (20 mg/kg, i.p.) u modelu septičkog šoka izazvanog jednokratnom primjenom visoke doze LPS-a smanjuje koncentraciju IL-1 β , TNF- α i koncentraciju nitrita, a povećava koncentraciju IL-10 u plazmi i postotak preživljavanja.

Protuupalno djelovanje na ostalim životinjskim modelima

Tone i sur. (2005.) su u modelu streptozocinom izazvanog dijabetesa u štakora ispitivali protuupalne učinke eritromicina na dijabetesom izazvanu nefropatiju u čijoj patogenezi postoji upalna komponenta. Eritromicin (5 mg/kg, p.o. tijekom 8 tjedana) smanjio je aktivaciju NF- κ B u bubrežima i tako umanjio glomerularnu hipertrofiju, nakupljanje makrofaga, ekspresiju ICAM-1, TGF- β 1 i proteina odgovornog za nastanak kolagena tipa IV te koncentraciju albumina u mokraći ne utječući pri tom na razinu glukoze u krvi i krvni tlak.

U modelu ulcerativnog kolitisa u štakora izazvanog intrakolonijalnim unosom 3%-tne octene kiseline, azitromicin i klaritromicin (10, 20 i 40 mg/kg, p.o. tijekom 5 dana) umanjili su edem, nekrozu i nakupljanje upalnih stanica u stijenci crijeva te porast

koncentracije MPO, NOS i TNF- α u crijevnom tkivu (Mahgoub i sur., 2005.). Također, peroralni tretman azitromicinom u dozi od 50 mg/kg/dan tijekom 5 uzastopnih dana, je umanjio akutni kolitis u miševa izazvan dinitrofluorobenzenom. Azitromicin je umanjio oksidativni stres i oštećenje mukoze crijeva, ne pokazujući učinak na bakterijski sastav crijeva (Plesko i sur., 2010.).

Ianaro i sur. (2000.) ispitivali su protuupalne učinke makrolida u modelu karageninom izazvane upale poplućnice u štakora. Roksitromicin, klaritromicin i eritromicin (10, 20 i 40 mg/kg, p.o. predtretman), za razliku od azitromicina, ovisno o primijenjenoj dozi, značajno su umanjili nakupljanje pleuralnog eksudata i leukocita, te koncentraciju PGE₂, nitrata, nitrita i TNF- α u eksudatu. Najbolji protuupalni učinak uočen je kod roksitromicina.

Beigelman i sur. (2010.) istražili su protuupalni učinak azitromicina u mišjem modelu virusnog bronhiolitisa izazvanog sa Sendai virusom (parainfluenza tip 1). Supkutani tretman azitromicinom (50 mg/kg/dan, 1 h nakon inokulacije virusa) tijekom 7 dana umanjio je nakupljanje leukocita, ponajviše neutrofila, u plućima i njihov ukupni broj u BAI-u. Također, azitromicin je značajno smanjio koncentraciju G-CSF te je utjecao na smanjenje, iako ne statistički značajno, koncentracije CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, GM-CSF i IFN- γ u BAI-u. Na koncentraciju IL-17 i CXCL1 nije utjecao. Pored navedenog, tretman azitromicinom je ubrzao rezoluciju kronične upale dišnih puteva smanjujući koncentraciju G-CSF i CXCL1 u BAI-u 21. dana pokusa. Azitromicin nije utjecao na broj virusa u navedenom modelu.

Imunomodulacijski učinci makrolidnih antibiotika

Rezultati *in vitro*, *in vivo* i kliničkih studija ukazuju na činjenicu da makrolidi mogu mijenjati urođeni i stečeni imunosni

odgovor. Njihova imunomodulacijska svojstva očituju se učincima na imunosne medijatore u upalnim modelima, ali i u zdravom organizmu.

Tilozin je u dozi od 500 mg/kg povisio koncentraciju protuupalnog citokina IL-10 u serumu zdravih miševa, ali nije utjecao na koncentraciju protuupalnih citokina TNF- α i IL-1 β (Er i sur., 2010.). U istom je pokusu, u serumu miševa tretiranih LPS-om, tretman tilozinom (10 - 500 mg/kg) značajno umanjio koncentraciju TNF- α i IL-1 β te povisio koncentraciju IL-10. Slično tilozinu, tretman azitromicinom u dozi od 10 mg/kg tijekom 4 tjedna povisio je koncentraciju IL-10 u BAI-u zdravih miševa (Leggsy i sur., 2006.). U navedenom pokusu azitromicin nije utjecao na koncentraciju MIP-2 i TNF- α u BAI-u.

Osim učinka na protuupalne medijatore, literaturni podatci ukazuju da makrolidi u zdravom organizmu mogu utjecati i na proupalne medijatore. Sugiura i sur. (1997.) pokazali su da je 14-dnevni tretman roksitromicinom (5 i 50 mg/kg) potaknuo oslobađanje slobodnih kisikovih radikala iz neutrofila. Jednokratna p.o. primjena azitromicina u dozi od 200 mg/kg značajno je povisila koncentraciju proteina akutne faze SAA u serumu zdravih miševa (Ivetić Tkalčević i sur., 2011.). U serumu miševa tretiranih LPS-om azitromicin je snizio koncentraciju SAA.

In vivo studije pokazale su da kratkotrajni tretman makrolidima potiče imunosni odgovor, dok ga dugotrajni tretman umanjuje. Roksitromicin je, nakon p.o. primjene tijekom 14 dana, u miševa izazvao oslobađanje IL-1 i IL-2, dok je dugotrajni tretman kroz 42 dana smanjio njihovu ekspresiju (Gorrini i sur., 2001.). U drugoj je studiji dugotrajna primjena roksitromicina u miševa povećala sintezu upalnih citokina IFN- γ i IL-2, ali i protuupalnog citokina IL-4 (Kita i sur., 1993.). Slični rezultati dobiveni su i u *ex vivo* studijama. Kod životinja tretiranih eritromicinom (10 mg/kg, p.o.) tijekom 28 dana, izolirani makrofagi oslobađali su povišene koncentracije TNF- α i IL-1 β , a splenociti povišene koncentracije IL-4 i

IFN- γ (Kita i sur., 1990.). Sedmodnevnom primjenom nije dobiven jednak učinak na promatrane medijatore.

Ortega i sur. (2002.), u *ex vivo* studiji pokazali su da i primijenjena doza utječe na imunomodulacijsku aktivnost pojedinih makrolida. Sedmodnevni tretman eritromicinom (7, 14, 28, 57 mg/kg) pojačao je proliferaciju mišjih limfocita. Imunomodulacijski učinak azitromicina i josamicina ovisio je o visini primijenjene doze. Najviša doza je pojačala proliferaciju limfocita, dok su je niže doze umanjile.

Neki makrolidi potiču kemotaksiju fagocita, diferencijaciju monocita u makrofage te fagocitozu makrofagima, dok drugi utječu na proliferaciju makrofaga. Eritromicin, azitromicin i roksitromicin potiču LPS-om izazvanu kemotaksiju makrofaga (Xu i sur., 1996.). Klaritromicin, midekamin i josamicin umanjuju proliferaciju monocita stimuliranu mitogenima (Morikawa i sur., 1994.). Nadalje, makrolidi pojačavaju aktivnost cAMP u LPS-om stimuliranim monocitima humanog podrijetla, što nije uočeno kod nestimuliranih monocita (Abeyama i sur., 2003.). Klaritromicin umanjuje ekspresiju TNF- α i IL-6 u LPS-om stimuliranim humanim neutrofilima, dok ih prisustvo bakterije *Klebsiella pneumoniae* pojačava, što ukazuje da makrolidi umanjuju aktivnost stanica stimuliranih LPS-om, a time i oštećenje tkiva (Reato i sur., 2004.). Makrolidi pokazuju i poticajne i suprimirajuće učinka na aktivnost neutrofila. Eritromicin i roksitromicin potiču aktivnost i migraciju neutrofila, a, s druge strane, poticanjem apoptoze smanjuju njihovo preživljavanje (Inamura i sur., 2000.). Azitromicin potiče baktericidni učinak humanih polimorfonuklearnih stanica (Silvestri i sur., 1995.). Roksitromicin smanjuje oksidativni stres i kemotaksiju humanih neutrofila (Labro i sur., 1989.). Tretman eritromicinom (p.o.) u zdravih je dragovoljaca pojačao pokretljivost i protubakterijsku aktivnost neutrofila (Fernandes i sur., 1984.), dok je primjena azitromicina akutno pojačani oksidativni

stres kasnije zamijenila njegovim smanjenjem i povećanom apoptozom neutrofila (Čulić i sur., 2002.). Eritromicin i midekamicin smanjuju ekspresiju MAC-1 na perifernim neutrofilima pacijenata oboljelih od DPB-a (Okubo, 1997.). Makrolidi pokazuju imunomodulacijski utjecaj i na aktivnost limfocita. Eritromicin smanjuje proliferaciju T-limfocita i njihov odgovor na stimulaciju s IL-2 (Keicho i sur., 1993.). Azitromicin je u zdravih dragovoljaca smanjio aktivnost limfocita, a povećao aktivnost IL-2 receptora (Suzuki i sur., 1997.). Ishida i sur. (2007.) tretirali su antigen-prezentirajuće dendritičke stanice klaritromicinom i roksitromicinom. Makrolidi su umanjili proliferaciju CD4⁺ T-limfocita stimuliranih s P6 te stvaranje IFN- γ , IL-5 i IL-8, a povišili koncentraciju IL-4.

Za razliku od brojnih dokaza o imunomodulacijskim učincima makrolida na urođeni imunosni odgovor, podataka o njihovom učinku na stečeni odgovor znatno je manje. Woo i sur. (2004) cijepili su miševe tetanus toksoidom (inaktivirani toksin ovisan o T-limfocitima), zatim pneumokoknim polisaharidnim cjepivom (neovisno o T-limfocitima), cjepivom površinskog antigena virusa hepatitisa B (HBsAg, engl. *hepatitis B virus surface antigen*, rekombinantni protein) te živim atenuiranim cjepivom *Salmonella typhi* (Ty21a). Tretman klaritromicinom (50 mg/kg, i.p.) provodio se svakodnevno počevši 24 h prije cijepljenja do 27. dana poslije cijepljenja, odnosno 20. dana nakon cijepljenja u slučaju Ty21a cjepiva. Klaritromicin je smanjio stvaranje protutijela na antigene ovisne i neovisne o T-limfocitima, dok je u životinja cijepljenih s Ty21a pojačao je stvaranje protutijela. Jednokratni pretretman azitromicinom (50 mg/kg, i.p.), sat vremena prije cijepljenja miševa inficiranih i.n. s *Streptococcus pneumoniae* serotip 14s, s 7-valentnim cjepivom polisaharidnog pneumokoknog konjugata (PCV7), umanjuje imunosni odgovor smanjenim stvaranjem protutijela i usporenim uklanjanjem bakterija iz nosnih šupljina (Fernandez i sur., 2004.).

Zaključak

U kliničkoj praksi danas postoji značajan broj upalnih bolesti ili stanja, poput septičkog šoka, kronične opstruktivne bolesti pluća, psorijaze i atopičkog dermatitisa, s oštećenjem tkiva kao posljedicom neprekidnog imunosnog odgovora, a za koje ne postoji primjerena terapija. Protuupalna terapija najvećim se dijelom zasniva na učincima steroidnih protuupalnih lijekova koji, pored protuupalnog djelovanja, posjeduju i dosta izražene neželjene popratne pojave. Također, nesteroidni protuupalni lijekovi sa selektivnim učincima, poput anti-TNF- α terapeutika u stanju septičkog šoka nisu pokazali očekivanu djelotvornost. Svaki doprinos boljoj protuupalnoj terapiji je više nego poželjan. Rezultati *in vitro* i *in vivo* studija, ali i primjeri iz kliničke prakse, ukazuju na postojanje protuupalnih i imunomodulacijskih svojstava makrolida koji nisu vezani uz njihovo protubakterijsko djelovanje. Brojni *in vitro* pokusi provedeni posljednjih desetljeća ukazali su na utjecaj makrolida na adheziju, kemotaksiju, stvaranje citokina i kemokina, degranulaciju polimorfonukleara i fagocitozu, oksidativni učinak i staničnu apoptozu. *In vivo* i kliničke studije upućuju na njihovo protuupalno djelovanje u smislu nakupljanja upalnih stanica i oslobađanja upalnih čimbenika – citokina, kemokina, adhezijskih molekula i slobodnih kisikovih radikala. Također, proupalni učinci makrolidnih antibiotika na urođeni i stečeni imunosni odgovor ukazuju i na njihove imunomodulacijske učinke. Zbog relativno slabe toksičnosti, neselektivnosti i relativno velikog volumena raspodjele, makrolidi bez protubakterijskog djelovanja predstavljaju poželjnu skupinu mogućih protuupalnih lijekova. Međutim, unatoč objavljenim rezultatima, mehanizam njihovog protuupalnog i imunomodulacijskog djelovanja i dalje je nepoznat.

Sažetak

Svrha ovog preglednog rada bila je prikazati protuupalna i imunomodulacijska svojstva makrolidnih antibiotika (makrolida). Tijekom godina istraživanja makrolida u *in vitro* i *in vivo* sustavima te praćenja rezultata njihove kliničke uporabe, uočeno je da, pored protubakterijskih učinaka, pokazuju protuupalna i imunomodulacijska svojstva. U *in vitro* uvjetima uočeno je djelovanje makrolida na različite upalne procese, primjerice adheziju, kemotaksiju, izlučivanje citokina i kemokina. Protuupalni učinci makrolida *in vivo*, u smislu nakupljanja upalnih stanica i oslobađanja različitih upalnih čimbenika – citokina, kemokina, adhezijskih molekula i slobodnih kisikovih radikala, većinom su proučavani na upalnim procesima dišnog sustava. Brojnim istraživanjima dokazan je utjecaj makrolida na patofiziološke procese koji se javljaju tijekom upalnih stanja, poput difuznog panbronholitisa, cistične fibroze, astme i sepse, kao i činjenica da protuupalni učinak nije vezan za njihovo protubakterijsko djelovanje. Osim protuupalnog, makrolidi pokazuju i imunomodulacijsko djelovanje poticanjem imunološkog odgovora. Mehanizam protuupalnog i imunomodulacijskog djelovanja makrolida, unatoč brojnim istraživanjima, za sada još uvijek predstavlja nepoznanicu.

Naši podaci o mogućem molekularnom i staničnom mehanizmu protuupalnih učinaka makrolidnih antibiotika raspravljeni su u kontekstu pokusnog razvoja lokalne upale i sepse izazvane lipopolisaharidom bakterijskog podrijetla.

Literatura

- ABDELGHAFAR, H., D. VAZIFEH and M. T. LABRO (1996): Comparison of various macrolides for stimulation of human neutrophil degranulation. *J. Antimicrob. Chemother.* 38, 81-93.
- ABEYAMA, K., K. KAWAHARA, S. LINO, T. HAMADA, S. ARIMURA, K. MATSUSHITA, T. NAKAJIMA and I. MARUYAMA (2003): Antibiotic cyclic AMP signalling by «primed» leukocytes confers anti-inflammatory cytoprotection. *J. Leukoc. Biol.* 74, 908-915.
- AGEN, C., R. DANESI, C. BLANDIZZI, M. COSTA, B. STACCHINI, P. FAVINI and M. DEL TACCA (1993): Macrolide antibiotics as anti-inflammatory agents: roxythromycin in unexpected role. *Agents Actions* 38, 85-90.
- AZUMA, A., T. FURUTA, T. ENOMOTO, Y. HASHIMOTO, K. UEMATSU, N. NUKARIYA, A. MURATA and S. KUDOH (1998): Preventive effect of erythromycin on experimental bleomycin-induced acute lung injury in rats. *Thorax* 53, 186-189.
- BEIGELMAN, A., C. L. MIKOLS, S. P. GUNSTEN, C. L. CANNON, S. L. BRODY and M. J. WALTER (2010): Azithromycin attenuates airway inflammation in a mouse model of viral bronchiolitis. *Respir. Res.* 11, 90.
- BOSNAR, M., B. BOŠNJAK, S. ČUŽIĆ, B. HRVAČIĆ, N. MARJANOVIĆ, I. GLOJNARIĆ, O. ČULIĆ, M. J. PARNHAM, and V. ERAKOVIĆ HABER (2009): Azithromycin and clarithromycin inhibit lipopolysaccharide-induced murine pulmonary neutrophilia mainly through effects on macrophage-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-1β. *JPET* 331, 104-113.
- CHEN, J., B. HE, Y. LI, G. WANG and W. ZHANG (1999): An experimental study on the effect of azithromycin treatment in bleomycin-induced pulmonary fibrosis of rats. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 38, 677-680.
- ČULIĆ, O., V. ERAKOVIĆ and M. J. PARNHAM (2001): Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *Eur. J. Pharmacol.* 429, 209-229.
- ČULIĆ, O., V. ERAKOVIĆ, I. ČEPELAK, K. BARIŠIĆ, K. BRAJŠA, Ž. FERENČIĆ, R. GALOVIĆ, I. GLOJNARIĆ, Z. MANOJLOVIĆ, V. MUNIĆ, R. NOVAK-MIRČETIĆ, V. PAVIČIĆ-BELJAK, M. SUČIĆ, M. VELJAČA, T. ŽANIĆ-GRUBIŠIĆ and M. J. PARNHAM (2002): Azithromycin modulates neutrophil function and circulating inflammatory mediators in healthy human subjects. *Eur. J. Pharmacol.* 450, 277-289.
- ER, A., E. YAZAR, K. UNEY, M. ELMAS, F. ALTAN and G. CETIN (2010): Effects of tylosin on serum cytokine levels in healthy and lipopolysaccharide-treated mice. *Acta Vet. Hung.* 58, 75-81.
- FERNANDES, A. C., R. ANDERSON, A. J. THERON, G. JOONE and C. E. VAN RENSBURG (1984): Enhancement of human polymorphonuclear leucocyte motility by erythromycin in vitro and in vivo. *S. Afr. Med. J.* 66, 173-177.
- FERNANDEZ, A. D., M. K. ELMORE and D. W. METZGER (2004): Azithromycin modulates murine immune responses to pneumococcal conjugate vaccine and inhibits nasal clearance of bacteria. *JID* 190, 1762-1766.
- GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E. J., F. BAZIAKA, A. ANTONOPOULOU, P. KOUTOUKAS, V. KOUSOULAS, L. SABRACOS, C. PANAGOULI, D. PERREA and H. GIAMARELLOU (2005): Clarithromycin co-administered with amikacin attenuates systemic inflammation in experimental sepsis with *Escherichia coli*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 25, 168-172.
- GORRINI, M., A. LUPI, S. VIGLIO, F. PAMPARANA, G. CETTA, P. IADAROLA, J. C. POWERS and M. LUISETTI (2001): Inhibition of human neutrophil elastase by erythromycin and flurythromycin, two macrolide antibiotics. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 25, 492-499.
- HASHIMOTO, Y., Y. KANEDA, N. TAKAHASHI, S. AKASHI, I. ARAI and S. NAKAIKE (2003): Clarithromycin inhibits the development of dermatitis in NC/Nga mice. *Chemotherapy* 49, 222-228.
- HE, J. X., S. Y. ZHAO and Z. F. JIANG (2005):

- Demonstration of a mechanism of anti-inflammatory effects of erythromycin on allergic airway inflammation in rat. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 43, 196-198.
17. HICKEY, M. J. (2001): Role of inducible nitric oxide synthesis in the regulation of leukocyte recruitment. *Clin. Sci.* 100, 1-12.
18. HRVAČIĆ, B., B. BOŠNJAK, M. BOSNAR, Ž. FERENČIĆ, I. GLOJNARIĆ and V. ERAKOVIĆ HABER (2009): Clarithromycin suppresses airway hyperresponsiveness and inflammation in mouse models of asthma. *Eur. J. Pharmacol.* 616, 236-243.
19. IANARO, A., A. IALENTI, P. MAFFIA, L. SAUTEBIN, L. ROMBOLA, R. CARNUCCIO, T. IUVONE, F. D'ACQUISTO and M. DI ROSA (2000): Anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics. *JPET* 292, 156-163.
20. INAMURA, K., N. OHTA, S. FUKASE, N. KASAJIMA and M. AOYAGI (2000): The effect of erythromycin on human peripheral neutrophil apoptosis. *Rhinology* 38, 124-129.
21. ISHIDA, Y., Y. ABE and Y. HARABUCHI (2007): Effects of macrolides on antigen presentation and cytokine production by dendritic cells and T lymphocytes. *Int. J. Ped. Otorhinolary.* 71, 297-305.
22. IVETIĆ TKALČEVIĆ, V., B. BOŠNJAK, B. HRVAČIĆ, 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.
23. IVETIĆ TKALČEVIĆ, V., B. BOŠNJAK, I. PAŠALIĆ, B. HRVAČIĆ, 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.
24. IVETIĆ TKALČEVIĆ, V., B. HRVAČIĆ, I. PAŠALIĆ, V. ERAKOVIĆ HABER and I. GLOJNARIĆ (2011) Immunomodulatory effects of azithromycin on serum amyloid A production in lipopolysaccharide induced endotoxemia in mice. *J. Antibiot.* 64, 515-517.
25. IVETIĆ TKALČEVIĆ, V., S. ČUŽIĆ, M. DOMINIS KRAMARIĆ, M. J. PARNHAM and V. ERAKOVIĆ HABER (2012): Topical azithromycin and clarithromycin inhibit acute and chronic skin inflammation in sensitized mice, with apparent selectivity for Th2-mediated processes in delayed type hypersensitivity. *Inflammation* 35, 192-205.
26. IKANEKO, Y., K. YANAGIHARA, M. SEKI, M. KUROKI, Y. MIYAZAKI, Y. HIRAKATA, H. MUKAE, K. TOMONO, J. KADOTA and S. KOHNO (2003): Clarithromycin inhibits overproduction of muc5ac core protein in murine model of diffuse panbronchiolitis. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 285, 847-853.
27. KEICHO, N., S. KUDOH, H. YOTSUMOTO and K. S. AKAGAWA (1993): Antilymphocytic activity of erythromycin distinct from that of FK506 or cyclosporin A. *J. Antibiot (Tokyo)* 46, 1406-1413.
28. KHAIR, O. A., J. L. DEVALIA, M. M. ABDELAZIZ, R. J. SAPSFORD and R. J. DAVIS (1995): Effects of erythromycin on *Haemophilus influenzae* endotoxin-induced release of IL-6, IL-8 and sICAM-1 by cultured human bronchial epithelial cells. *Eur. Respir. J.* 8, 1451-1457.
29. KITA, E., M. SAWAKI, K. MIKASA, K. HAMADA, S. TAKEUCHI, K. MAEDA and N. NARITA (1993): Alterations of host response by a long-term treatment of roxithromycin. *J. Antimicrob. Chemother.* 32, 285-294.
30. KITA, E., M. SAWAKI, F. NISHIKAWA, K. MIKASA, Y. YAGYU, S. TAKEUCHI, K. YASUI, N. NARITA and S. KASHIBA (1990): Enhanced interleukin production after long-term administration of erythromycin stearate. *Pharmacology* 41, 177-183.
31. KOHRI, K., J. TAMAOKI, M. KONDO, K. AOSHIBA, E. TAGAYA and A. NAGAI (2000): Macrolide antibiotics inhibit nitric oxide generation by rat pulmonary alveolar macrophages. *Eur. Respir. J.* 15, 62-67.
32. KOHYAMA, T., H. TAKIZAWA, S. KAWASAKI, N. AKIYAMA, M. SATO and K. ITO (1999): Fourteen-member macrolides inhibit interleukin-8 release by human eosinophils from atopic donors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 907-911.
33. KUSANO, S., J. KADOTA, S. KOHNO, K. IIDA, K. KAWAKAMI, T. MORIKAWA and K. HARA (1995): Effect of roxithromycin on peripheral neutrophil adhesion molecules in patients with chronic lower respiratory tract disease. *Respiration* 62, 217-222.
34. LABRO, M. T., J. EL BENNA and C. BABIN-CHEVAYE (1989): Comparison of the in-vitro effect of several macrolides on the oxidative burst of human neutrophils. *J. Antimicrob. Chemother.* 24, 561-572.
35. LABRO, M. T. (2002): Cellular accumulation of macrolide antibiotics. Intracellular bioactivity. In: SCHONFELD, W., H. A. KIRST: Macrolide antibiotics. Basel, Birkhauser Verlag, 37-52.
36. LEGSSYER, R., F. HUAUX, J. LEBACQ, M. DELOS, E. MARBAIX, P. LEBECQUE, D. LISON, B. J. SCHOLTE, P. WALLEMACQ and T. LEAL (2006): Azithromycin reduces spontaneous and induced inflammation in $\Delta F508$ cystic fibrosis mice. *Respirat. Res.* 7, 134-146.
37. LEIVA, M., A. RUIZ-BRAVO, E. MORENO and M. JIMENEZ-VALERA (2007): The anti-inflammatory activity of telithromycin in a mouse model of septic shock. *Int. J. Antimicrob. Agents* 29, 364-365.
38. LI, Y., B. HE and H. WANG (1999): The effects of erythromycin on NF-kappa B activation and cytokines mRNA expression in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 22, 725-727.
39. LI, Y., A. AZUMA, S. TAKAHASHI, J. USUJI, K. MATSUDA, A. AOYAMA and S. KUDOH (2002): Fourteen-membered macrolides inhibit vascular cell adhesion molecule 1 messenger RNA induction and leukocyte migration: role in preventing lung injury and fibrosis in bleomycin-challenged mice. *Chest* 122, 2137-2145.
40. LI, Y., A. AZUMA, J. USUKI, S. ABE, K. MATSUDA, T. SUNAZUKA, T. SHIMIZU, Y. HIRATA, H. INAGAKI, T. KAWADA, S. TAKAHASHI, S. KUDOH and S. OMURA (2006): EM703 improves bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by the inhibition of TGF- β signaling in lung fibroblasts. *Respirat. Res.* 7, 16-28.
41. LIN, H. C., C. H. WANG, C. J. LIU, C. T. YU and

- H. P. KUO (2000): Erythromycin inhibits beta-2-integrins (CD11b/CD18) expression, interleukin-8 release and intracellular oxidative metabolism in neutrophils. *Respir. Med.* 94, 654-660.
42. MAHGOUB, A., A. EL-MEDANY, A. MUSTAFA, M. ARAFAH and M. MOURSI (2005): Azithromycin and erythromycin ameliorate the extent of colonic damage induced by acetic acid in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 205, 43-52.
 43. MATSUOKA, N., K. EGUCHI, A. KAWAKAMI, M. TSUBOI, Y. KAWABE, T. AOYAGI and S. NAGATAKI (1996): Inhibitory effect of clarithromycin on costimulatory molecule expression and cytokine production by synovial fibroblast-like cells. *Clin. Exp. Immunol.* 104, 501-508.
 44. McKENNA, S. and G. A. EVANS (2001): Macrolides: A Canadian infectious disease society position paper. *Can. J. Infect. Dis.* 12, 218-231.
 45. MORIKAWA, K., F. OSEKO, S. MORIKAWA and K. IWAMOTO (1994): Immunomodulatory effects of three macrolides, midecamycin acetate, josamycin, and clarithromycin, on human T-lymphocyte function in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 2643-2647.
 46. MOUTARD, I., B. GRESSIER, F. BONTE, T. DINE, C. BRUNET, M. LUYCKX, L. BALLESTER, M. CAZIN and J. C. CAZIN (1999): In vitro effects of spiramycin on IL-1 beta production by human LPS-stimulated mononuclear cells. *Therapie* 54, 512-607.
 47. OKUBO, J. (1997): Macrolides reduce the expression of surface Mac-1 molecule on neutrophil. *Kurume Med. J.* 44, 115-123.
 48. ORTEGA, E., M. A. ESCOBAR and G. A. de CIENFUEGOS (2002): In vitro and ex vivo effects of erythromycin A, azithromycin and josamycin on the splenic response to specific antigens and mitogens. *J. Antimicrob. Chemother.* 49, 1031-1034.
 49. PINTO, L. A., C. CAMOZZATO, M. AVOZANI, D. CANTARELLI MACHADO, M. H. JONES, R. TETELBOM STEIN and P. M. CONDESSA PITREZ (2004): Effect of Clarithromycin on the cell profile of bronchoalveolar lavage fluid in mice with neutrophil-predominant lung disease. *Rev. Hosp. Clin., Fac. Med. Univ. Sao Paulo* 59, 99-103.
 50. PLESKO, S., M. BANIĆ, V. PLECKO, B. ANIĆ, T. BRKIĆ, H. RENATA and I. ROTKVIĆ (2010): Effect of azithromycin on acute inflammatory lesions and colonic bacterial load in a murine model of experimental colitis. *Dig. Dis. Sci.* 55, 2211-2218.
 51. REATO, G., A. M. CUFFINI, V. TULLIO, N. MANDRAS, J. ROANA, G. BANCHE, R. FOA and N. A. CARLONE (2004): Immunomodulating effect of antimicrobial agents on cytokine production by human polymorphonuclear neutrophils. *Int. J. Antimicrob. Agents* 23, 150-154.
 52. SANZ, M. J., Y. N. A. NABAH, M. CERDA-NICOLAS, J. E. O'CONNOR, A. C. ISSEKUTZ, J. CORTIJO and E. J. MORCILLO (2004): Erythromycin exerts *in vivo* anti-inflammatory activity downregulating cell adhesion molecule expression. *Br. J. Pharmacol.* 144, 190-201.
 1. SARNA, S. K., A. GONZALES and R. P. RYAN (2000): Enteric locus of action of prokinetics: ABT-229, motilin, and erythromycin. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 278, 744-752.
 2. SARRIA, B., M. MATA, M. MARTINEZ-LOSA, J. CORTIJO, E. J. MORCILLO, G. MORAZZONI and F. MARCHINI (2004): Effects of a new anti-inflammatory macrolide, Z104657A, on in vivo models of lung neutrophilia and eosinophil inflammation in rats. *Drugs Fut* 29 (Suppl. A): XVIIIth Int. Symp. on Medicinal Chemistry.
 4. SATO, E., D. K. NELSON, S. KOYAMA, J. C. HOYT and R. A. ROBBINS (2001): Erythromycin modulates eosinophil chemotactic cytokine production by human lung fibroblasts in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 401-406.
 5. SCAGLIONE, F. and G. ROSSONI (1998): Comparative anti-inflammatory effects of roxithromycin, azithromycin and clarithromycin. *J. Antimicrob. Chemother.* 41, 47-50.
 6. SCHONFELD, W. and KIRST, H. A. (2002): Macrolide antibiotics. In: PARNHAM, M. J. and BRUINVELS, J.: *Milestones in drug therapy*. Basel: Birkhauser Verlag.
 7. SCHULTZ, M. J., P. SPEELMAN, C. E. HACK, W. A. BUURMAN, S. J. H. VAN DEVENTER and T. VAN DER POLL (2000): Intravenous infusion of erythromycin inhibits CXC chemokine production, but augments neutrophil degranulation in whole blood stimulated with *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 46, 235-240.
 8. SHIMIZU, T., S. SHIMIZU, R. HATTORI, E. C. GABAZZA and Y. MAJIMA (2003): In vivo and in vitro effects of macrolide antibiotics on mucus secretion in airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 168, 581-587.
 9. SILVESTRI, M., S. ODDERA, C. EFTIMIADI and G. A. ROSSI (1995): Azithromycin induces *in vitro* a time-dependant increase in the intracellular killing of *Staphylococcus aureus* by human polymorphonuclear leucocytes without damaging phagocytes. *J. Antimicrob. Chemother.* 36, 941-950.
 10. SUGIURA, Y., Y. OHASHI and Y. NAKAI (1997): Roxithromycin stimulates the mucociliary activity of the Eustachian tube and modulates neutrophil activity in the healthy guinea pig. *Acta Otolaryngol. (Suppl.)* 531, 34-38.
 11. SUZAKI, H., K. ASANO, S. OHKI, K. KANAI, T. MIZUTANI and T. HISAMITSU (1999): Suppressive activity of a macrolide antibiotic, roxithromycin, on pro-inflammatory cytokine production in vitro and in vivo. *Mediators Inflamm.* 8, 199-204.
 12. SUZUKI, H., A. SHIMOMURA, K. IKEDA, M. FURUKAWA, T. OSHIMA and T. TAKASAKA (1997): Inhibitory effect of macrolides on interleukin-8 secretion from cultured human nasal epithelial cells. *Laryngoscope* 107, 1661-1666.
 13. TAKESHITA, K., I. YAMAGISHI, M. HARADA, S. OTUMO, T. NAKAGAWA and Y. MIZUSHIMA (1989): Immunological and anti-inflammatory effects of clarithromycin: inhibition of interleukin 1 production of murine peritoneal macrophages. *Drugs Exp. Clin. Res.* 15, 527-533.

14. TAMAOKI, J., N. SAKAI, E. TAGAYA and K. KONNO (1994): Macrolide antibiotics protect against endotoxin-induced vascular leakage and neutrophil accumulation in rat trachea. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 1641-1643.
15. TAMAOKI, J., E. TAGAYA, I. YAMAWAKI, N. SAKAI, A. NAGAI and K. KONNO (1995): Effect of erythromycin on endotoxin-induced microvascular leakage in the rat trachea and lungs. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 151, 1582-1588.
16. TAMAOKI, J., J. NAKATA, E. TAGAYA and K. KONNO (1996): Effects of roxithromycin and erythromycin in interleukin 8-induced neutrophil recruitment and goblet cell secretion in guinea pig tracheas. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40, 1726-1728.
17. TAMAOKI, J., M. KONDO, K. KOHRI, K. AOSHIBA, E. TAGAYA and A. NAGAI (1999): Macrolide antibiotics protect against immune complex-induced lung injury in rats: role of nitric oxide from alveolar macrophages. *J. Immunol.* 163, 2909-2915.
18. TARAYRE, J. P., M. ALIAGA, M. BARBARA, G. VILLANOVA, R. BALLESTER, J. TISNE-VERSAILLES and J. P. COUZINIER (1987): Cutaneously applied erythromycin base reduces various types of inflammatory reactions in mouse ear. *Int. J. Tissue React.* 9, 77-78.
19. TERAOKA, H., K. ASANO, K. KANAI, Y. KYO, S. WATANABE, T. HISAMITSU and H. SUZAKI (2003): Suppressive activity of macrolide antibiotics on nitric oxide production by lipopolysaccharide stimulation in mice. *Mediators Inflamm.* 12, 195-202.
20. TOKUDA, A., N. OHKURA, M. FUJIMURA, S. FURUSHO, M. ABO and N. KATAYAMA (2010): Effects of macrolides on antigen-induced increases in cough reflex sensitivity in guinea pigs. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 23, 55-61.
21. TONE, A., K. SHIKATA, M. SASAKI, S. OHGA, K. YOZAI, S. NISHISHITA, H. USUI, R. NAGASE, D. OGAWA, S. OKADA, Y. SHIKATA, J. WADA and H. MAKINO (2005): Erythromycin ameliorates renal injury via anti-inflammatory effects in experimental diabetic rats. *Diabetologia* 48, 2402-2411.
22. TORRE, D., M. BROGGINI, C. SAMPIETRO, R. BUSARELLO and G. GARBERI (1991): In vitro and ex vivo effects on recent and new macrolide antibiotics on chemotaxis of human polymorphonuclear leukocytes. *J. Chemother.* 3, 236-239.
23. TSAI, W. C., M. L. RODRIGUEZ, K. S. YOUNG, J. C. DENG, V. J. THANNICKAL, K. TATEDA, M. B. HERSHENSON and T. J. STANDIFORD (2004): Azithromycin blocks neutrophil recruitment in *Pseudomonas* endobronchial infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 170, 1331-1339.
24. WOO, P. C. Y., S. K. P. LAU and K. YUEN (2004): Macrolides as immunomodulatory agents: review and future directions. *Medicinal Chemistry Reviews - Online* 1, 151-161.
25. XU, G., J. FUJITA, K. NEGAYAMA, K. YUUBE, S. HOJO, Y. YAMAJI, K. KAWANISHI and J. TAKAHARA (1996): Effects of macrolide antibiotics on macrophage functions. *Microbiol. Immunol.* 40, 473-479.

Anti-inflammatory and Immunomodulatory Effects of Macrolide Antibiotics in the In Vitro and In Vivo Experimental Models

Vanessa IVETIĆ TKALČEVIĆ, DVM, PhD, Miroslava DOMINIS KRAMARIĆ, DVM, MSc, Zagreb

The aim of this review article was to present the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of macrolide antibiotics (macrolides). During the years of investigation of macrolides in the *in vitro* and *in vivo* experimental models, and monitoring the results of their clinical use, it was observed that they exhibit anti-inflammatory and immunomodulatory properties. *In vitro*, macrolides affect various inflammatory processes, such as the adhesion, chemotaxis, and secretion of cytokines and chemokines. The anti-inflammatory effects of macrolides *in vivo*, in terms of accumulation of inflammatory cells and release of various inflammatory mediators - cytokines, chemokines, adhesion molecules and free oxygen species, have mostly been studied in inflammatory processes of the respiratory system. These studies

demonstrated the effect of macrolides on the inflammatory pathophysiological processes that occur in diffuse panbronchiolitis, cystic fibrosis, asthma and sepsis, showing that macrolide anti-inflammatory effects are unrelated to their antibacterial activity. Besides anti-inflammatory effects, macrolides exert immunomodulatory activity as well, by induction of the immune responses. The mechanism of anti-inflammatory and immunomodulatory activity of macrolides is still unknown.

Our experimental data indicating the possible molecular and cellular mechanism of macrolide anti-inflammatory and immunomodulatory effects have been discussed in the context of experimental sepsis induced by bacterial lipopolysaccharide and topical inflammation.

Ecoacid® S

SIGURAN I DJELOTVORAN

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



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

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



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

Detajnije informacije možete dobiti od firme:

KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/II, p.p. 205, Zagreb 10002, Telefon 01/63 12 100, 63 12 101, Faks 01/61 70 739, E-mail: krka-farma@zcg.hinet.hr, www.krka-farma.hr

Cink - biološke funkcije i bioraspoloživost u hrani

Nina Bilandžić, Maja Đokić, Ivana Varenina, Božica Solomun Kolanović,
Marija Sedak i Đurđica Božić



Uvod

Cink (Zn) spada u grupu mikroelementa, odnosno „elemenata u tragovima“ (uz vanadij, krom, mangan, željezo, kobalt, bakar, molibden, selen, fluor i jod) potrebnih životinjskom i ljudskom organizmu u vrlo malim količinama (obično manje od 100 mg / dan) te je bitna komponenta bioloških struktura. U isto vrijeme može biti toksičan u koncentracijama koje su izvan potrebnih za obavljanje bioloških funkcija.

Slobodni radikali (reaktivni metaboliti kisika, radikali kisika, oksidansi) sudjeluju u nizu bioloških procesa i patoloških stanja. Metali (slobodni ili vezani na proteine) djeluju kao pro-oksidansi ili antioksidansi u većini slobodnih radikala. Uloga metala ovisi o kemijskoj strukturi kao i o strukturi molekule koja veže metal. Željezo može djelovati kao pro-oksidans i antioksidans, a selen je obično antioksidans. Cink nema nesporen elektron u stanju Zn^{2+} čime je spriječeno sudjelovanje u redoks reakcijama. Međutim, Zn djeluje kao antioksidans zamjenom metala koji su aktivni u kataliziranju slobodnih radikala, kao što je željezo (Zago i Oteiza, 2001., Oteiza i sur., 2004.).

Višak kao i nedostatak Zn može dovesti do oksidativnog stresa te

aktivirati, odnosno inhibirati na oksidaciju osjetljive transkripcijske faktore koji mogu utjecati na funkciju stanica, umnažanje i preživljavanje stanica što dovodi do bolesti (Oteiza i sur., 2004.).

Cink u biološkim sustavima

Cink je važan element u tragovima u ljudskoj prehrani i ispunjava mnoge biokemijske funkcije u ljudskom metabolizmu. Ima višestruke važne funkcije u biološkim sustavima i prisutan je u velikom broju proteina u kojima može imati strukturnu funkciju ili sudjeluje u katalizi. Ima katalitičku i strukturnu ulogu u više od 300 metaloenzima, kao i regulatorne uloge u različitim staničnim procesima kao što su signalne pretvorbe i ekspresije gena. Zn je potreban i za održavanje normalne strukture citoskeleta i ima važnu ulogu u staničnoj signalizaciji. Može biti fiziološki sastavni dio sustava obrane, a vezan na membranu ima strukturnu, regulacijsku i funkciju antioksidansa (Parat i sur., 1997.). Mnoge su studije pokazale da Zn ima važnu ulogu u regulaciji gena u odgovoru na oksidativni stres utječući na transkripcijske faktore tzv. Zn-prste (Wilcox i sur., 2001., Baldwin i Benz, 2002.).

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

Cink-vezni proteini čine gotovo polovicu transkripcijskih regulatornih proteina u ljudskom genomu, kao faktori aktivacije nekoliko enzima (npr. karboanhidraze, alkalne fosfataze i nekoliko enzima u sintezi nukleinskih kiselina), kromatin-modificirajući i enzimi pregradnje, DNK-vezujući transkripcijski faktori te sudjeluju u procesu transkripcije i dio su multi jedinice RNK polimeraze (Roth i Kirchgaessner, 1991., Tupler i sur., 2001.). Zn utječe i na metabolizam hormona, kao na primjer inzulina ili gonadotropina (Roth i Kirchgaessner, 1991.).

Regulacija homeostaze Zn-a u stanici se odnosi na male tiolom bogate proteine metalotioneine (MT). MT sisavaca sastavljena je od 20 cisteina među 61 aminokiselina. Visok sadržaj cisteina omogućuje znatno vezanje Zn-a i drugih metala (Romero-Isart i Vasak, 2002.). Vezanje Zn-a ili drugih dvovalentnih metala na MT se odvija na dvije domene stanice: N-terminalna β -domena veže obično tri metala, a C-terminalna α -domena obično veže četiri metala. U fiziološkim uvjetima MT se ponajprije veže na Zn. *In vitro* su istraživanja pokazala da interakcija između MT i dušikovih oksida potiče otpuštanje tri metala s β -domene, dok α -domena ostaje nepromijenjena (Zangger i sur., 2001.). Utvrđeno je da je MT predominantno uključen u mobilizaciju Zn-a od strane dušikovih oksida u kulturama stanica (Maret, 2004.).

Smatra se da u stanici nema slobodnog Zn-a (Outten i O'Halloran, 2001.). Međutim, dinamičke aktivnosti stanice zahtijevaju stalnu mobilizaciju Zn-a i prijenos s jednog Zn-veznog mjesta na drugo. U stanici se oksidacijom oslobađa Zn s MT te veže na Zn-vezujuće proteine uključujući ugljikove anhidraze, alkalne fosfataze, termolizin, piridoksal kinaze, estrogen receptor te peptide tzv. Zn-prsti (Kang i Zhou, 2005.). Ovi proteini

i peptidi su uključeni u širokom spektru staničnih funkcija, uključujući pretvorbu signala, drugi glasnik metabolizam, ekspresiju gena i fosforilaciju proteina.

Nedostatak cinka i ljudsko zdravlje

Na temelju brojnih fizioloških funkcija nedostatak Zn-a dovodi do više simptoma koji ovise o težini nedostatka i drugim povezanim čimbenicima (King i Keen, 1999.). Teži nedostatak Zn-a je povezan s genetskim poremećajem akrodermatitis enteropatika te u bolesnika koji su hranjeni parenteralno hranom bez Zn-a. Znatno češće nastaje blagi do granični nedostatak Zn bez očitih simptoma na što posebno utječu povećana potreba vezana za rast i reprodukciju ili promjena apsorpcije Zn-a. To su slučajevi djece s akutnim ili stalnim proljevima, poremećaji apsorpcije, Crohnova bolest, sindrom kratke utrobe, celijakija, bolesnici s operacijom crijeva te starije osobe, povećan gubitak Zn-a (dijabetes, alkoholizam) te liječenje određenim lijekovima (Oteiza and Mackenzie, 2005.).

Rana manifestacija nedostatka Zn-a je gubitak apetita. Kad nedostatak postane kronično stanje, javljaju se drugi simptomi, kao što su zaostajanje u rastu, dermatitis, oslabljena imunosna funkcija, kašnjenje spolnog sazrijevanja, komplikacije u trudnoći, sporo zacjeljivanje rana, abnormalno ponašanje i lezije oka (Roth i Kirchgaessner, 1991.). Nedostatak Zn-a koji izaziva proljev i dermatitis prouzroči promjene u barijeri elemenata te utječe na urođeni imunosni odgovor i oštećuje stanice posredovane imunosti, čime pojačava osjetljivost na brojne uzročnike. U tom slučaju unos Zn-a može poboljšati imunosni status ili patološke promjene crijeva te smanjiti učestalost i trajanje proljeva u djece. To su dokazala i istraživanja te

je dodatkom Zn-a u hranu postignuta značajno niža incidencija dijareje djece u odnosu na kontrolnu skupinu (Black, 2003.). Ispitivanja u zemljama u razvoju u žena koje su primile Zn tijekom trudnoće pokazala su blagotvoran učinak na neonatalni imunosni status, rani neonatalni morbiditet te dojenačke infekcije (Osendarp i sur., 2003.).

Nedostatak Zn-a može predstavljati čimbenik rizika za bolesti poput raka i ateroskleroze. Stoga su danas u fazi ispitivanja postupci dodatka Zn-a kao potencijalnog terapijskog postupka protiv različitih patoloških stanja kao što su: alkoholna bolest jetre, rak, ateroskleroza i protuupalni procesi (Oteiza and Mackenzie, 2005.).

Prekomjeran unos Zn-a dovodi do akutnih nuspojava kao što su: proljev, povraćanje, grčevi u trbuhu i glavobolja. Toksičnost Zn-a se odražava i na kronične nuspojave kao što su: funkcijski poremećaj imunosnog odgovora, smanjene statusa bakra, utjecaj na funkciju željeza i metabolizam kolesterola (Institute of Medicine, 2001.).

Nedostatak cinka i oksidativni stres

Suvremena istraživanja pokazuju da niski status Zn-a dovodi do stanja oksidativnog stresa (Oteiza i sur., 2000., Ho i sur., 2003.). Pri tome se mijenja aktivnost i koncentracija enzima i drugih komponenti sustava oksidans obrane. Istraživanja u životinja i životinjskim stanicama pokazuju povećanje aktivnosti Cu-Zn superoksid dismutaze i aktivnosti Mn superoksid dismutaze (Mackenzie i sur., 2004.).

Nedostatak Zn-a dovodi do oksidativnog oštećenja tkiva, uključujući i povećanje koncentracija masti, proteina te DNK oksidacije (Oteiza i Mackenzie, 2005.). Istraživanja u štakora primjenom hrane s nedovoljnom količinom Zn-a

tijekom 14 dana pokazala su poremećaj u razvoju muških štakora, odnosno smanjenje rasta testisa praćeno oksidacijom lipida, oksidacijom proteina i oksidacijom DNK. Nedostatak Zn-a dovodi do naglog porasta stanične oksidacije te povećanja koncentracija osnovnih oksidans, reaktivnih kisikovih spojeva i reaktivnih metabolita dušika (Ho i Ames, 2002.).

Izazivanje stanja oksidativnog stresa nedostatkom Zn-a može uključivati kratkoročne i dugoročne mehanizme. Uzrok ubrzanog rasta stanica kod smanjenja Zn-a u stanicama ostaje nepoznat, iako preliminarni dokazi sugeriraju da enzim NADPH oksidaza može biti uključena (Zago i sur., 2005.). U dugoročnom složenom mehanizmu zajednički mogu djelovati: potreba za Zn kao fiziološkim antioksidansom, promijenjena mitohondrijska funkcija što dovodi do povećanog stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva, bilo od strane oslabljenog nastanka komponenata respiratornog lanca ili drugih mehanizama te promijenjena aktivnost ili nastajanje enzima uključenih u metabolizam reaktivni metaboliti dušika / reaktivni kisikovi spojevi (Oteiza i sur., 2000., Beckman i sur., 2001.).

Iako nema redoks kapacitet Zn je fiziološka komponenta sustava oksidativne obrane. Može imati antioksidativna svojstva kroz različite mehanizme uključujući sulfidrilnu zaštitu od oksidacije, indukciju metalotioneina proteina bogatog cisteinom sa sposobnošću pročistiti oksidans i veže redoks aktivne metale te kao sastavni dio unutarstaničnog i izvanstaničnog antioksidativnog enzima Cu-Zn superoksid dismutaze. Nadalje, Zn može zamijeniti redoks aktivne metale (bakar i željezo) na membranskim veznim mjestima. U tom smislu, Zn inhibira oksidaciju lipida u liposome spriječavanjem vezivanja željeza i bakra

negativno nabijenih fosfolipida (Zago i Oteiza, 2001.). Zn djeluje zajednički i s drugim antioksidansima topljivim u mastima (α -tokoferol) i vodi (epikatehin), u prevenciji oksidacije lipida induciranoj s Fe^{2+} (Zago i Oteiza, 2001.).

Uloga u prevenciji i liječenju alkoholnog oboljenja jetre

Alkoholna bolest jetre (ALD) je čest zdravstveni problem, kojemu je na primjer u Sjedinjenim Državama izloženo oko 7,4% stanovništva prema dijagnostičkim kriterijima za zlouporabu alkohola i alkoholizam (Kang i Zhou, 2005.). Istraživanja metabolizma Zn-a u alkoholičara su pokazala da konzumacija etanola dovodi do povećanja izlučivanja Zn-a mokraćom i smanjuje apsorpciju Zn-a iz crijeva (Dinsmore i sur., 1985.).

Etanol se uglavnom metabolizira u jetri kroz tri glavna puta na različitim mjestima u stani: alkohol dehidrogenaza (ADH) u citosolu, aldehid dehidrogenaze (ALDH) u mitohondrijima te mikrosomalni etanol-oksidirajući sustav u endoplazmatskom retikulumu (Lieber, 1997.). U sva tri puta nastaju reaktivni kisikovi spojevi. Mikrosomalni etanol-oksidirajući sustav, posebno citokrom P450 2E1 (CYP2E1) ima važnu ulogu u etanol potaknutom oksidativnom stresu. Dugotrajna kronična izloženost etanolu značajno povećava ekspresiju i aktivnost CYP2E1 te dolazi do oštećenja jetre (Morgan i sur., 2002.). S druge strane, kronična izloženost etanolu ima malo utjecaja na aktivnosti jetrenih ADH iako je ADH uključen u glavni put metabolizma etanola u jetri u normalnim fiziološkim uvjetima. Stoga se smatra da je glavni patogeni faktor razvoja ALD promjena metabolizma etanola iz ADH u CYP2E1 zbog dugotrajne izloženosti etanolu i akumulacije reaktivnih kisikovih spojeva u jetri (Kessova i Cederbaum, 2003.). Za prevenciju etanol-induciranog oštećenja jetre potrebno je ostvariti inhibiciju nakupljanja reaktivnih kisikovih spojeva.

Kronična izloženost etanolu prouzroči značajno smanjenje koncentracija Zn-a u jetri. Dodatak Zn-a hranom ne podiže bazalnu koncentraciju Zn-a, no sprječava etanolom inducirano smanjenje koncentracije Zn-a u jetri (Zhou i sur., 2005.), a znatno smanjuje koncentracije MT u jetri. Utvrđene su teške ultrastrukturalne promjene jetre u miševa hranjenih etanolom, uključujući i kapljice lipida, proširenje i degeneracije u mitohondrijima, neorganiziranost endoplazmatskog retikuluma i kondenzaciju kromatina. Značajno je povišena aktivnost alanin aminotransferaze (ALT) u serumu, a dodatak Zn-a u hrani znatno inhibira povećanje. Povećanje tumor nekroza faktora- α (TNF- α) u krvi uslijed kronične izloženosti također se smanjuje unosom Zn-a (Zhou i sur., 2005.).

Glutation (GSH) je najvažnija molekula uključena u antioksidacijski stanični odgovor te sprječava oštećenje važnih staničnih komponenti prouzročenih reaktivnim kisikovim spojevima poput slobodnih radikala i peroksida. U životinja kronično izloženih etanolu utvrđeno je selektivno smanjenje GSH u mitohondrijima (Hoek i sur., 2002.). Unos S-adenozil-L-metionina hranom utjecao je na povećanje mitohondrijske koncentracije GSH čime je smanjena mitohondrijska disfunkcija i spriječeno etanol-inducirano oštećenje jetre (Lieber, 2002.). Utvrđena je pozitivna korelacija između Zn-a i GSH, odnosno da je koncentracija GSH u krvi i jetri u korelaciji s prehrambenim statusom Zn-a (Ozturk i sur., 2003.). Unos Zn-a učinkovito sprječava pad koncentracija GSH u citosolu i mitohondriju (Zhou i sur., 2005.).

Cink i hrana

U ljudi se Zn učinkovitije apsorbira kada je dijetetska koncentracija Zn-a niska što je djelomično neposredni odgovor s obzirom na dozu, a dijelom posljedica biološke adaptacije (Taylor i

sur., 1991., Lee i sur., 1993., Hunt i sur., 2008.). Metaloenzimi za Zn mogu biti pod utjecajem teškog nedostatka Zn-a što su pokazale studije u životinja. Međutim, tako jasan indeks osjetljivosti nije utvrđen u ljudi (Hunt i sur., 2008.). Raskorak se između istraživanja u životinja i ljudi isto tako odnosi na razlike između potencijalnih indeksa biokemijske funkcije (O'Dell i sur., 1987.).

Istraživanja pokazuju minimalnu mogućnost adaptivnog povećanja apsorpcije Zn-a u ljudi iz hrane s visokim sadržajem fitinske kiseline. Većina se istraživanja o apsorpciji Zn-a bazirala na nižem omjeru fitati: Zn i nisu mjerene apsorpcije Zn-a prije i poslije uravnoteženja hrane. Tako je na primjer utvrđeno da žene apsorbiraju 30% od 6,7 mg Zn iz hrane s niskim sadržajem mesa s omjerom fitati:Zn od 15 (Hunt i sur., 1995.) te 26% od 9,1 mg Zn iz vegetarijanske prehrane s omjerom fitati: Zn od 18 (Hunt i sur., 1998.). Utvrđeno je da pri omjeru fitati: Zn većem od 15-20, nezvani raspoloživi Zn za apsorpciju nije dovoljan za biološku nadogradnju povećanja Zn-a (Hunt i sur., 2008.).

Još do danas nije razjašnjeno koji su to Zn-vezujući spojevi te njihove strukture u biljnim i životinjskim namirnicama. Ekstrakcijom mišića govedine, svinjetine, janjetine i pileline s destiliranom vodom utvrđeno je da je samo 30% Zn-spojeva topivo u vodi. Separacijom pomoću gel kromatografije utvrđeno je da je glavni dio Zn-vezujućih spojeva (70%) molarnih masa (MM) između 35.000 i 65.000 daltona (Da) te je samo 0,2 do 4% Zn-a bio vezan na frakcije s visokom molekularnom masom (130.000 Da) i oko 10% imalo je MM manju od 12.000 Da. Pretpostavlja se da su ioni Zn-a u frakcijama s MM između 35.000 i 65.000 vezani na nekoliko enzima i albumin (Hazell, 1982.).

U slučaju biljnih vrsta kao što su špinat, poriluk, celer-korjen, ili koraba, utvrđen je visok postotak (60-85%) Zn-vezujućih spojeva topivih u vodi. Gel kromatografsko odvajanje pokazalo je

da je 80-90% Zn iona smješteno u spojeve malih MM oko 4.500 Da, a samo 10-20% u spojeve visoke MM veće od 30.000 Da (Günther i Steffes, 1996.).

Koncentracije cinka u hrani

Sadržaj Zn-a u hrani određen je na temelju vrjednovanja znanstvene literature, odnosno najveći broj podataka iz kojih je izračunat dnevni unos Zn-a dobiven je izravnom analizom uzoraka hrane iz javne uporabe. Za tu svrhu su nasumično odabrani prehrambeni proizvodi u stalnoj uporabi kao što su: sir i kruh, osnovne sirovine te konzervirana i suha hrana (Scherz i Kirchoff, 2006.). Objavljene referentne vrijednosti Zn-a temelje su na znanstvenim podatcima koji su često oskudni te su često utvrđeni uz određena ograničenja.

Vrijednosti esencijalnih elemenata određuju se tako da se uzmu u obzir i njihovi različiti aspekti u metabolizmu, kao što su: interakcija među hranjivim tvarima, na primjer interakcije između željeza i drugih metala; prisutnost u prehrani određenih spojeva koji mogu utjecati na apsorpciju metala, na primjer fitati koji vežu Zn te sprječavaju apsorpciju (Lestienne i sur., 2005.); genetski poremećaji, apsorpcija Zn-a smanjena je pri metaboličkom poremećaju akrodermatitis enteropatika (Wang i sur, 2004.); interakcije lijek-hrana kao na primjer za penicilamin, koji se koristi u liječenju Wilsonove bolesti te prouzroči nedostatak Zn-a (Schilsky, 2001.).

Procijenjena prosječna potreba (Estimated Average Requirement, EAR) određena kao nutritivni unos Zn-a koji zadovoljava polovinu zdravih osoba je 9,4 mg/dan za muškarce te 6,8 mg/dan za žene (Fraga, 2005.). Zatim, preporuka za dnevni unos Zn-a u prevenciji bolesti, kao dostatni preporučeni dijetetski dodatak (Adequate intake, AI) je 11 mg/dan za muškarce (>19 god.) i 8 mg/dan za žene (>19 god.). Određena je i podnošljiva gornja granica unosa (Tolerable Upper

Tabela 1. Sadržaj cinka u proizvodima životinjskog podrijetla ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$ jestivog svježeg proizvoda) europskih država, SAD-a i zemalja afričkog kontinenta.

Hrana	Francuska	Njemačka	Španjolska	Švedska	SAD	Afrika
Mlijeko	506 a3		580 c2		370 f 380 g	
Jaja	1330 a1 1007 a3		4730 c2			6870 i
Meso						
Govedina	3620 a1 3676 a3	5650 b1		4900 d	4550 g 3450 h	2350 i 1050 j
Svinjetina		3330 b1		2400 d	2420 g 2670 h	3020 i
Piletina	1440 a1 1623 a3		1000 c1		1540 g	
Iznutrice						
Govedina, jetra		4120 b1		4000 d	4000 g	3350 i
Svinja, jetra		6533 b1	7100 c1	7400 d	5760 g	
Govedo, bubreg		2020 b1		1600 d	1920 g	1950 i
Svinja, bubreg		2720 b1	3050 c1	2200 d	2750 g	
Morska riba						
List	435 a2 507 a2	345 b2	420 c1		450 g	
Bakalar	426 a2	325 b2		340 d	450 g	
Haringa		320 b2			990 g	
Skuša	874 a2	320 b2		520 d	630 g	
Slatkovodna riba						
Jegulja	2510 a2				1620 g	
Smuđ				380 d		
Pastrva				510 d	660 g	
Mekušci rakovi						
Dagnja	2120 a2		420 c1		1600 g	
Škampi	1510 a2				1110 g	
Kamenica	12,400 a2				16,600 g 90,810 g	

a1 Noël i sur. (2012); a2 Guerin i sur. (2011); a3 Leblanc i sur. 2005; b1 German Monitor Program (1988–1993); b2 Oehlenschläger (1996); c1 Terres i sur. (2001); c2 Nardi i sur. (2009); d Jorhem i Sundström; (1993); f Pennington i Young (1990); g US Department of Agriculture and Agricultural Research Service (2004); h Sims i sur. (1990); i Onianwa i sur. (2001) – Nigeria; j Hussein i Brüggemann (1997) – Egipat

Intake Level, UL) kao najviša razina unosa hranjivih tvari za koju je vjerojatno da ne predstavlja nikakvu opasnost od štetnih učinaka na zdravlje za gotovo sve pojedince u općoj populaciji: 40 mg/dan (Institute of Medicine, 2001.). Prosječni unos Zn-a u Sjedinjenim Američkim Državama i Europi je u rasponu od 8 do 14 mg/dan te zemljama u razvoju od 5 do 11 mg/dan. Svjetska

zdravstvena organizacija procijenila je da je 48% svjetske populacije u opasnosti od nedostatka Zn-a (Caulfield i sur., 1998.). U Tabeli 1 prikazan je sadržaj u različitim prehrambenim proizvodima različitih europskih država, SAD-a i zemalja afričkog kontinenta. S obzirom na zajedničko svjetsko tržište i primjenu hrane podrijetlom iz svih dijelova svijeta u europskim zemljama, može se govoriti

Tabela 2. Sadržaj cinka u različitim prehrambenim proizvodima ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ jestivog svježeg proizvoda) životinjskog i biljnog podrijetla sa svih kontinenata (Schertz i Kirchhoff, 2006).

Vrsta hrane	Srednje vrijednosti ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	Raspon koncentracija ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)
Mlijeko	384	310 – 445
Meso i iznutrice		
Govedina, mišić	4010	1050 – 5650
Svinjetina, mišić	2520	1490 – 3600
Piletina, mišić	1130	800 – 1540
Govedina, jetra	3970	3630 – 4550
Svinja, jetra	6730	4340 – 9000
Govedo, bubreg	1870	1600 – 2100
Svinja, bubreg	2640	2200 – 3050
Ribe i mekušci		
Bakalar	395	325 – 450
Haringa	718	320 – 990
Skuša	466	100 – 700
Jegulja	2160	1620 – 2700
Pastrva	524	440 – 660
Dagnja	2070	420 – 3400
Škampi	1680	1110 – 2700
Kamenice	49,100	2300 – 120,000

o skupu podataka čije razlike, ovisno o njihovu zemljopisnom podrijetlu, odražavaju trenutnu situaciju.

Razlike u koncentracijama Zn-a s obzirom na vrstu hrane životinjskog podrijetla sa svih kontinenata prikazane su u Tabeli 2. Koncentracije Zn-a u kravljem mlijeku u prijašnjim studijama određivane su u malom rasponu od 310 do 445 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (Schertz i Kirchhoff, 2006.).

Meso i iznutrice, posebno jetra, dobri su izvori Zn-a u ljudskoj prehrani. U različitim vrstama svježeg mesa određen je sadržaj Zn-a u rasponu ($\mu\text{g}/100\text{ g}$): govedina 1050 – 5650, svinjetina 1490 – 3600, piletina 800

– 1540. Koncentracije Zn-a u iznutricama pokazale su razlike između vrsta te je u jetri svinja određen sadržaj od 4340 do 9000 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ dok je u jetri goveda raspon od 3630 do 4550 $\mu\text{g}/100\text{ g}$. Slične razlike utvrđene su i u bubrežnom tkivu ($\mu\text{g}/100\text{ g}$): u svinja 2200-3050, u goveda 1600-2100 (Schertz i Kirchhoff, 2006.).

Koncentracije Zn-a u hrani iz mora su znatno niže, osim većih koncentracija u školjaka i rakova. Što se tiče varijacija koncentracija Zn-a u skupini hrane ribe, mekušci i rakovi, pretpostavlja se da sadržaj ovisi o zagađenju morske vode. Koncentracije Zn-a u školjaka i rakova su oko četiri puta više nego u morskoj

Tabela 3. Sadržaj cinka u različitim biljnim vrstama ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ jestivog svježeg proizvoda) sa svih kontinenata [Schertz i Kirchhoff, 2006.].

Vrsta hrane	Srednje vrijednosti ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	Raspon koncentracija ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)
ŽITARICE		
Pšenica	2870	2190 – 4160
Raž	3340	2660 – 4470
Ječam	2890	2340 – 3380
Zob	3390	2880 – 3970
KORJENASTO POVRĆE I GOMOLJ		
Mrkva	270	150 – 400
Celer	344	100 – 520
Cikla	451	245 – 730
Rotkvica	241	40 – 463
Krumpir	329	270 – 504
STABLIKA I LIŠĆE		
Zelena salata	264	59 – 510
Špinat	636	310 – 1100
Kupus	235	98 – 300
Cvjetača	321	130 – 600
Luk	209	110 – 396
POVRTNO VOĆE		
Zeleni grah	358	130 – 810
Grašak	944	577 – 1300
Rajčica	132	60 – 220
Krastavac	170	90 – 273
SJEME		
Soja	3110	800 – 4890
Leća	3700	2960 – 5000
VOĆE		
Jabuka	38	10 – 120
Šljiva	104	30 – 190
Jagoda	130	85 – 170
Malina	337	280 – 420
Crni ribizl	283	230 – 353
Grožđe	49	7 – 300
Banana	164	100 – 640
Naranča	117	60 – 490

ribi. Izrazito visoke koncentracije, čak do 120000 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, određene su u kamenicama koje su pod snažnim utjecajem staništa te bi njihova potrošnja iz zagađenih morskih sustava mogla dovesti do prekoračenja podnošljive gornje razine unosa (US Department of Agriculture and Agricultural Research Service, 2004., Guerin i sur., 2011.).

Sadržaj Zn-a u žitaricama iz neonečišćenih tala, podrijetlom iz europskih i sjevernoameričkih zemalja je u rasponu od 2200-4500 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (Tabela 3.). U povrću i voću zastupljen je široki raspon koncentracija Zn-a koje se mogu podijeliti u četiri skupine s obzirom na distribuciju Zn-a (Schertz i Kirchhoff, 2006.):

1. skupina: raspon 100-200 $\mu\text{g}/100\text{ g}$: plodovi jabuka, šljiva, jagoda, agrumi poput grejpa te biljne vrste poput rajčice, krastavca i kupus sorti kao što su koraba s relativno niskim koncentracijama. U ovoj skupini jabuke pokazuju određene regionalne razlike u koncentracijama, kao npr. Skandinavija: 15-50 μg , SAD: 20-30 μg , Njemačka: 60-75 μg .
2. skupina: 200-500 $\mu\text{g}/100\text{ g}$: korjenasto i gomoljasto povrće kao što su mrkva, krumpir, rotkvica i korijen celera, lisnato povrće poput salate i kupusa, bijeli kupus i cvjetača te bobičasto voće poput maline, crni ribiz.
3. skupina: 500-1000 $\mu\text{g}/100\text{ g}$: šparoge, lisnato povrće poput špinata te grašak i zeleni grah.
4. skupina: više od 1000 $\mu\text{g}/100\text{ g}$: sjemenke mahunarki poput soje, orasi, lješnjaci ili bademi.

U biljnih se vrsta žitarice i mahunarke mogu smatrati dobrim izvorom Zn-a, jednak mesu i iznutricama s manjom biodostupnosti u biljnom materijalu za vezanje iona metala prouzročenu fitinskom kiselinom (Brüggemann i Kumpulainen, 1995.).

Hrana iz područja s dominantnom metalnom industrijom, posebno industrijom ne-željeznih metala i ljevaonica, čije je tlo, voda i zrak onečišćena ima povišene koncentracije

Zn-a kao i ostalih metala. Tako su određena povećanja prosječne količine Zn-a u hrani u dva različita primjera u Njemačkoj (Pfeilsticker i Markard, 1975., Auermann i sur., 1980.). Stupanj koncentracije Zn-a ovisi o stupnju onečišćenja okoliša. Utvrđena su značajna povećanja koncentracija Zn-a za 2 do 3 puta u odnosu na normalnu razinu, npr. u salati, korabi, luku i crnom ribizlu. Za usporedbu, u žitaricama podrijetlom iz gustih urbanih određene su 12 do 15% veće koncentracije Zn, dok su proizvodi iz područja s metalnom industrijom pokazala i do 40 do 60% povećane koncentracije (Schertz i Kirchhoff, 2006.).

U zaključku, koncentracije Zn-a ovise o vrstama namirnica i prehrambenim skupinama. Onečišćenja okoliša imaju značajan utjecaj na koncentracije Zn-a u biljnih i životinjskih namirnica, posebno u slučaju mekušaca.

Sažetak

Cink (Zn) je jedan od najvažnijih esencijalnih elemenata u tragovima u ljudskoj prehrani. Ima višestruke važne funkcije u biološkim sustavima te je prisutan u velikom broju proteina u kojima može imati strukturnu funkciju ili sudjeluje u katalizi. Ima katalitičku i strukturnu ulogu u više od 300 metaloenzima, kao i regulatorne uloge u različitim staničnim procesima kao što su: signalne pretvorbe i ekspresije gena. U stanici nema slobodnog Zn-a, jer dinamičke aktivnosti stanice zahtijevaju stalnu mobilizaciju Zn-a i prijenos s jednog mjesta na drugo. Suvremena istraživanja pokazuju da niski status Zn-a dovodi do stanja oksidativnog stresa pri čemu se mijenja aktivnost i koncentracija enzima i drugih komponenti sustava oksidans obrane. Nedostatak Zn-a u ljudskom tijelu dovodi do brojnih poremećaja, ali i prekomjerno uzimanje Zn-a može potaknuti akutne i kronične nuspojave.

Istraživanja metabolizma Zn-a u alkoholičara su pokazala da konzumacija etanola dovodi do povećanja izlučivanja Zn-a mokraćom i smanjuje apsorpciju Zn-a iz crijeva. U životinja kronično izloženih etanolu utvrđeno je selektivno smanjenje GSH u mitohondrijima. Ustanovljeno je da

unos Zn-a hranom učinkovito sprječava pad koncentracija GSH u citosolu i mitohondriju. U ljudi se Zn učinkovitije apsorbira kada je djetetska koncentracija Zn-a niska. Na temelju znanstvenih istraživanja utvrđene su prosječne potrebe, preporučeni djetetski dodatak te podnošljiva gornja granica unosa Zn-a. Koncentracije Zn-a ovise o vrstama namirnica biljnih i životinjskih vrsta. Meso i iznutrice, posebno jetra, dobri su izvori Zn-a u ljudskoj prehrani. U biljnih se vrsta žitarice i mahunarke mogu smatrati dobrim izvorom Zn-a, jednakom mesu i iznutricama, međutim manje su biodostupne zbog fitinske kiseline koja blokira vezanje na ione metala. Onečišćenja okoliša imaju značajan utjecaj na koncentracije Zn-a u biljnih i životinjskih namirnica, posebno u slučaju mekušaca.

Literatura

1. AUERMANN, E., H. G. DÄSSLER, J. JACOBI, J. CUMBROWSKI and U. MECKEL (1980): Untersuchungen zum Schwermetallgehalt von Getreide und Kartoffeln. *Nahrung* 24, 925–937.
2. BALDWIN, M. A. and C. C. BENZ (2002): Redox control of zinc finger proteins. *Methods Enzymol.* 353, 54–69.
3. BECKMAN, J. S., A. G. ESTEVEZ, J. P. CROW and L. BARBEITO (2001): Superoxide dismutase and the death of motoneurons in ALS. *Trends Neurosci.* 24, S15–S20.
4. BLACK, R. E. (2003): Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. *J. Nutr.* 133, 1485S–1489S.
5. BRÜGGEMANN, J., H. DORFNER, H. HECHT, J. KUMPULAINEN and T. WESTERMAIR (1995): Status of trace elements in staple foods from Germany 1990–1994. *Proceedings of the Technical Workshop on Trace Elements Natural Antioxidants and Contaminants*, Helsinki-Espo, August 25–26, 1995. The Food and Agriculture Organization of the United States, Rome.
6. CAULFIELD, L. E., N. ZAVALETA, A. H. SHANKAR and M. MERIALDI (1998): Potential contribution of maternal zinc supplementation during pregnancy to maternal and child survival. *Am. J. Clin. Nutr.* 68, 499S–508S.
7. DINSMORE, W., M. E. CALLENDER, D. MCMASTER, S. J. TODD and A. H. LOVE (1985): Zinc absorption in alcoholics using zinc-65. *Digestion* 32, 238–242.
8. FRAGA, C. G. (2005): Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol. Aspects Med.* 26, 235–244.
9. GERMAN MONITOR PROGRAM, 1988–1993. In: ARNOLD, D. (Ed.), *Zentrale Erfassungs- und Bewertungsstelle für Umweltchemikalien (ZEBS)*. BGVV, Berlin.
10. GUÉRIN, T., R. CHEKRI, C. ASTEL, V. SIROT, J. L. VOLATIER, J. C. LEBLANC and L. NOËL (2011): Determination of 20 trace elements in fish and other sea food from the French market. *Food Chem.* 127, 934–942.
11. GÜNTHER, K. and H. J. STEFFES (1996): Speziesanalytik von Zink und Cadmium in Biomatrizen der Umweltprobenbank der Bundesrepublik Deutschland: Eine Pilot-Studie. *Lebensmittelchemie* 50, 12–13.
12. HAZELL, T. (1982): Iron and zinc compounds in the muscle of beef, lamb, porc and chicken. *J. Sci. Food Agric.* 33, 1049–1056.
13. HO, E. and B. N. AMES (2002): Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFκappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 16770–16775.
14. HO, E., C. COURTEMANCHE and B. N. AMES (2003): Zinc deficiency induces oxidative DNA damage and increases p53 expression in human lung fibroblasts. *J. Nutr.* 133, 2543–2548.
15. HOEK, J. B., A. CAHILL and J. G. PASTORINO (2002): Alcohol and mitochondria: a dysfunctional relationship. *Gastroenterology* 122, 2049–2063.
16. HUNT, J. R., S. K. GALLAGHER, L. K. JOHNSON and G. I. LYKKEN (1995): High- versus low-meat diets: effects on zinc absorption, iron status, and calcium, copper, iron, magnesium, manganese, nitrogen, phosphorus, and zinc balance in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 621–632.
17. HUNT, J. R., L. A. MATTHYS and L. K. JOHNSON (1998): Zinc absorption, mineral balance, and blood lipids in women consuming controlled lactoovovegetarian and omnivorous diets for 8 wk. *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 421–430.
18. HUNT, J. R., J. M. BEISEIGEL and L. K. JOHNSON (2008): Adaptation in human zinc absorption as influenced by dietary zinc and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 1336–1345.
19. HUSSEIN, L. and J. BRÜGGEMANN (1997): Zinc analysis of Egyptian foods and estimated daily intakes among an urban population group. *Food Chem.* 58, 391–398.
20. INSTITUTE OF MEDICINE AND FOOD AND NUTRITION BOARD (2001): Dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. National Academy Press, Washington, DC.
21. JORHEM, L. and B. SUNDSTRÖM (1993): Levels of lead, cadmium and cobalt in foods on the Swedish market 1983–1990. *J. Food Comp. Anal.* 6, 223–241.
22. KANG, Y. J. and Z. ZHOU (2005): Zinc prevention and treatment of alcoholic liver disease. *Mol. Aspects Med.* 26, 391–404.
23. KESSOVA, I. and A. I. CEDERBAUM (2003): CYP2E1: biochemistry, toxicology, regulation and function in ethanol-induced liver injury. *Curr. Mol. Med.* 3, 509–518.
24. KING, J. C. and C. L. KEEN (1999): Zinc. M. SHILS, J. OLSON, M. SHIKE, A. ROSS (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease*, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 223–239.
25. LEBLANC, J. C., T. GUÉRIN, L. NOËL, G. CALAMASSI-TRAN, J. L. VOLATIER and P. VERGER (2005): Dietary exposure estimates of 18 elements from the 1st French total diet study. *Food Addit. Contam.* 22, 624–641.
26. LEE, D. Y., A. S. PRASAD, C. HYDRICKADAIR, G. BREWER, and P. E. JOHNSON (1993): Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency - Role of absorption and endogenous excretion of zinc. *J. Lab. Clin. Med.* 122, 549–556.

27. LIEBER, C. S. (1997): Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin. Chim. Acta* 257, 59–84.
28. LIEBER, C. S. (2002): S-Adenosyl-L-methionine and alcoholic liver disease in animal models: implications for early intervention in human beings. *Alcohol* 27, 173–177.
29. LESTIENNE, I., P. BESANCON, B. CAPORICCIO, V. LULLIEN-PELLERIN and S. TRECHE (2005): Iron and zinc in vitro availability in pearl millet flours (*pennisetum glaucum*) with varying phytate, tannin, and fiber contents. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3240–3247.
30. MACKENZIE, G. G., M. P. ZAGO, A. G. ERLEJMAN, L. AIMO, C. L. KEEN and P. I. OTEIZA (2004): A decrease in neuronal zinc triggers the oxidant-mediated activation of NF- κ B and AP-1 in neuroblastoma cells. *Free Rad. Biol. Med.* 36, S87.
31. MARET, W. (2004): Zinc and sulfur: a critical biological partnership. *Biochemistry* 43, 3301–3309.
32. MORGAN, K., S. W. FRENCH and T. R. MORGAN (2002): Production of a cytochrome P450 2E1 transgenic mouse and initial evaluation of alcoholic liver damage. *Hepatology* 36, 122–134.
33. NARDI, E. P., F. S. EVANGELISTA, L. TORMEN, T. D. SAINT-PIERRE, A. J. CURTIUS, S. S. DE SOUZA and F. BARBAROSA (2009): The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chem.* 112, 727–732.
34. NOËL, L., R. CHEKRI, S. MILLOUR, C. VASTEL, A. KADAR, V. SIROT, J.-C. LEBLANC and T. GUÉRIN (2012): Li, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se and Mo levels in foodstuffs from the 2nd French TDS. *Food Chem.* 132, 1502–1513.
35. O'DELL, B. L., J. D. BROWNING and P. G. REEVES (1987): Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. *J. Nutr.* 117, 1883–1889.
36. OEHELENSCHLÄGER, J. (1996): Content of zinc and copper in fish. Private communication, Federal Institute for Fish Research, Hamburg.
37. ONIANWA, P. C., A. O. ADEYEMO, O. E. IDOWU and E. E. OGABIELA (2001): Copper and zinc contents of Nigerian foods and estimates of the adult dietary intakes. *Food Chem.* 72, 89–95.
38. OSENDARP, S. J., C. E. WEST and R. E. BLACK (2003): The need for maternal zinc supplementation in developing countries: an unresolved issue. *J. Nutr.* 133, 817S–827S.
39. OTEIZA, P. I., M. S. CLEGG, M. P. ZAGO and C. L. KEEN (2000): Zinc deficiency induces oxidative stress and AP-1 activation in 3T3 cells. *Free Radic. Biol. Med.* 28, 1091–1099.
40. OTEIZA, P. I., G. G. MACKENZIE and S. V. VERSTRAETEN (2004): Metals in neurodegeneration: involvement of oxidants and oxidant-sensitive transcription factors. *Mol. Aspects Med.* 25, 103–115.
41. OTEIZA, P. I. and G. G. MACKENZIE (2005): Zinc, oxidant-triggered cell signaling, and human health. *Mol. Aspects Med.* 26, 245–255.
42. OUTTEN, C. E. and T. V. O'HALLORAN (2001): Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis. *Science* 292, 2488–2492.
43. OZTURK, A., A. K. BALTAÇI, R. MOGULKOC, E. OZTEKIN, A. SIVRIKAYA, E. KURTOGLU and A. KUL (2003): Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissues of rats performing swimming exercise. *Biol. Trace Elem. Res.* 94, 157–166.
44. PARAT, M. O., M. J. RICHARD, J. C. BEANI and A. FAVIER (1997): Involvement of zinc in intracellular oxidant/antioxidant balance. *Biol. Trace Elem. Res.* 60, 187–204.
45. PENNINGTON, J. A. T. and B. YOUNG (1990): Zinc, copper, manganese, selenium and iodine in foods from the United States. Total diet study. *J. Food Comp. Anal.* 3, 166–184.
46. PFEILSTICKER, K. and C. MARKARD (1975): Cadmium, blei und zinkgehalte pflanzlicher lebensmittel aus kleingärten eines industriegebietes. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 158, 129–136.
47. ROMERO-ISART, N. and M. VASAK (2002): Advances in the structure and chemistry of metallothioneins. *J. Inorg. Biochem.* 88, 388–396.
48. ROTH, H., and M. KIRCHGAESSNER (1991): Zink, biochemie, physiologie, pathophysiologie und klinik des stoffwechsels des menschen. Roth, H. M. Kirchgassner H. J. Holtmeier, J. Kruse-Jarres, Editors, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, pp. 67–101.
49. SCHERZ, H. and E. KIRCHHOFF (2006): Trace elements in foods: Zinc contents of raw foods—A comparison of data originating from different geographical regions of the world. *J. Food Comp. Anal.* 19, 420–433.
50. SCHILSKY, M. L. (2001): Treatment of Wilson's disease: what are the relative roles of penicillamine, trientine, and zinc supplementation? *Curr. Gastroenterol. Rep.* 3, 54–59.
51. SIMS, R. L., L. M. MULLEN and D. B. MILNE (1990): Application of inductively coupled plasmaemission spectroscopy to multielement analysis of foodstuffs used in metabolic studies. *J. Food Comp. Anal.* 3, 27–37.
52. TAYLOR, C. M., J. R. BACON, P. J. AGGETT and I. BREMNER (1991): Homeostatic regulation of zinc absorption and endogenous losses in zinc-deprived men. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 755–763.
53. TERRES, C., M. NAVARRO, F. MARTIN-LAGOS, R. GIMENEZ, H. LOPEZ and C. M. LOPEZ (2001): Zinc levels in foods from southeastern Spain: relation to dairy intake. *Food Addit. Contam.* 18, 687–695.
54. TUPLER, R., G. PERINI and M. R. GREEN (2001): Expressing the human genome. *Nature*, 409, 832–833.
55. US DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE (2004): US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2004. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 16–1. Retrieved January 28, 2004 from the Nutrient Data Laboratory Home Page on the World Wide Web: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.
56. WANG, F., B. E. KIM, J. DUFNER-BEATTIE, M. J. PETRIS, G. ANDREWS and D. J. EIDE (2004): Acrodermatitis enteropathica mutations affect transport activity, localization and zinc-responsive trafficking of the mouse zip4 zinc transporter. *Hum. Mol. Genet.* 13, 563–571.
57. WILCOX, D. E., A. D. SCHENK, B. M. FELDMAN and Y. XU (2001): Oxidation of zinc-binding cysteine residues in transcription factor proteins. *Antioxid. Redox Signal.* 3, 549–564.
58. ZAGO, M. P. and P. I. OTEIZA (2001): The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 266–274.
59. ZAGO, M. P., G. G. MACKENZIE, A. M. ADAMO, C. L. KEEN and P. I. OTEIZA (2005): Differential modulation of MAP kinases by zinc deficiency in IMR-32 cells: role of H₂O₂. *Antioxid. Redox Signal.* 7, 773–782.

60. ZANGGER, K., G. OZ, E. HASLINGER, O. KUNERT and I. M. ARMITAGE (2001): Nitric oxide selectively releases metals from the amino-terminal domain of metallothioneins: potential role at inflammatory sites. *FASEB J.* 15, 1303–1305.
61. ZHOU, Z., L. WANG, Z. SONG, J. T. SAARI, C. J. MCCLAIN and Y. J. KANG (2005): Zinc supplementation prevents alcoholic liver injury in mice through attenuation of oxidative stress. *Am. J. Pathol.* 166, 1681–1690.

Zinc - Biological Function and Bioavailability in Food

Nina BILANDŽIĆ, BSc, PhD, Scientific Advisor, Maja ĐOKIĆ, BSc, Ivana VARENINA, BSc, Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, BSc, Marija SEDAK, BSc, Đurđica BOŽIĆ, BSc, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Zinc (Zn) is one of the essential trace element in human nutrition. It has multiple important functions in biological systems and is present in a number of proteins which may have a structural function or participate in catalysis. There are structural and catalytic roles in more than 300 metalloenzymes, and regulatory roles in various cellular processes such as signal conversion and gene expression. The cell has no free Zn, because the dynamic activity of the cells requires constant mobilization of Zn, and transferral from one place to another. Recent research has shown that the low Zn levels lead to oxidative stress which changes the activity and concentration of enzymes and other components of the oxidant defence system. Zn deficiency in the human body leads to many disorders, while excessive Zn intake may cause acute and chronic side effects.

Studies of Zn metabolism in alcoholics have shown that ethanol consumption leads to increased urinary excretion of Zn and

reduces the absorption of Zn from the intestine. Animals chronically exposed to ethanol showed a selective reduction of glutathione in the mitochondria. Zn supplementation prevents a decrease of glutathione in the cytosol and mitochondria. Humans more efficiently absorb Zn when dietary Zn concentrations are low. Based on scientific research, the average needs, recommended dietary allowance and tolerable upper limit intake of Zn have been determined. Zn concentrations depend on the types of foods and food groups, animal and plant species. Meat and offal, especially liver, are good sources of Zn in human nutrition. Cereals and pulses can be considered a good source of Zn, though this is less bioavailable than from meat and offal due to the presence of phytic acid which blocks the binding of metal ions. Environmental pollution has a significant impact on the concentration of Zn in plant and animal foods, especially in the case of molluscs.

SVAŠTICE

(BOLNICA ZA KONJE.) Njeki bogataš u Kentuky-u ostavio je oporukom 200.000 dolarah za utemeljenje bolnice za konje, u kojoj bi imalo mjesta 50 konjeh. Primat će se nuter stari, bolestui i tekovi konji, koji su se dugotrajnom službom odlikovali. Uz bolnicu dodana je posebna zaklada, iz koje će se odkupljivati oni konji, koji su već deraču namijenjeni, - 1 kod nas je umrle nedavno jedna vlastelinka, koja je svojim mačkam oporukom mirovinu osigurala,

„Gospodarski list“ (Zagreb), 31, 132, 1869 (god. 17) (5. kolovoza 1869.).

Anestezija za carski rez kuje i mačke

N. Maćešić, Melanija Čelica, T. Karadjole, G. Bačić, Martina Karadjole, Nikica Prvanović Babić i I. Folnožić



Uvod

Carski je rez hitni postupak u veterinarskoj ginekološkoj kirurgiji. Anestezija gravidnih kuja zahtijeva pažljivo razmatranje mnogih čimbenika koji se mogu previdjeti zbog hitnosti operacije. Spoznaje o fiziološkim učincima anestetika i odgovarajuća anesteziološka tehnika važni su kako bi se povećala stopa preživljavanja životinja i novorođenčadi te omogućio uspješan ishod operacije carskog reza. Važni čimbenici u periporodajnoj anesteziji su izmijenjena fiziologija kuja tijekom gravidnosti i fiziologija ploda. Teški porođaj koji traje duže vrijeme može imati za posljedicu komplikacije poput: dehidracije, hipovolemije, hipotenzije, iscrpljenosti, hipotermije, toksemije, hipoksije, krvarenja i šoka (Ryan i Wagner, 2006.b). Sve će ovo rezultirati promjenama u farmakokinetici i farmakodinamici anestetika koji će se primjeniti u anesteziološkom protokolu za carski rez. Kada planiramo anesteziološki protokol za carski rez trebamo imati u vidu sljedeće ciljeve:

- Porođaj novorođenčadi s minimalnom depresijom
- Smanjiti postoperativnu depresiju majke na minimum

- Osigurati anesteziju, analgeziju i miorelaksaciju kako bi se operacija izvela
- Povratak majke i novorođenčadi u vlastitu okolinu što je prije moguće.

Kako bi se postigli ti ciljevi potrebno je poznavati/shvatiti i upoznati se s posebnim potrebama gravidnih životinja i novorođenčadi za anestheticima.

Fiziološke promjene gravidnosti

Tijekom gravidnosti sustavi organizma prolaze adaptaciju, a mnoge od tih promjena imaju utjecaj na tijek anestezije. Promjene vezane na kardiovaskularni sustav gravidne majke su smanjenje krvnog tlaka, povećanje srčanog ritma i ukupnog volumena krvi (Pascoe i Moon, 2001.). Tijekom gravidnosti javlja se relativna anemija, jer se broj eritrocita ne povećava usporedno s povećanjem plazme. Plod je osjetljiv na promjene kardiovaskularnog sustava majke, jer krvotok ploda nije autoreguliran.

Strah, stres, uzbuđenje i bol uzrokuju povećanu aktivnost simpatičkog živčanog sustava što dovodi do vazokonstrikcije i ima nepovoljan utjecaj na plod (Robertson, 2009.).

Dr. sc. Nino MAĆEŠIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Tugomir KARADJOLE, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Martina KARADJOLE, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., docentica, Ivan FOLNOŽIĆ, dr. med. vet., asistent-znanstveni novak, Veterinarski fakultet, Zagreb; Melanija ČELICA, dr. med. vet.

Gravidnost ima znatan utjecaj na mehanizam ventilacije. Prohodnost dišnih puteva povećana je zbog opuštanja glatke muskulature pod utjecajem progesterona. Funkcionalni rezidualni kapacitet pluća (FRK) smanjen je zbog pritiska trbušnih organa na ošit kao posljedica njihovog izmještanja zbog gravidne maternice. Nadalje, FRK se smanjuje zbog povećanog volumena krvi u plućnom krvotoku za vrijeme kontrakcija maternice. Ukupni i vitalni kapacitet pluća znatno su izmijenjeni tijekom gravidnosti. Hipoksemija i hiperkapnija javljaju se češće kod gravidnih životinja zbog smanjene ventilacije pluća (Raffe i Carpenter, 2007.a).

Minimalna alveolarna koncentracija (MAK) udahnutog anestetika kod gravidnih životinja smanjena je za 25% (halotan) do 40% (izofluran) zbog povišene koncentracije progesterona i endorfina (Chan i sur., 1996.).

Izmještanje trbušnih organa zbog gravidne maternice dovodi do smanjene peristaltike, a zbog povišene koncentracije progesterona u serumu do sporijeg pražnjenja želuca. U želučanom se sadržaju nalazi povišena koncentracija kiseline, klorida i enzima. Povećani je i rizik od regurgitacije (aktivna i pasivna) i aspiracije želučanog sadržaja zbog poremećene funkcije želuca (Dresner i Freeman, 2001.).

Perinatalna farmakokinetika i kliničke implikacije

Brojne su fiziološke razlike kod štenadi i mačica u odnosu na odrasle životinje što treba uzeti u obzir prilikom odabira anesteziološkog protokola za carski rez. Najznačajnije funkcionalne razlike uočljive su u kardiovaskularnom, respiratornom, metaboličkom i termoregulacijskom sustavu (Hosgood, 2001.). Fiziološke promjene tijekom gravidnosti različito će utjecati na unos, raspodjelu i konačnu dispoziciju na anestetike (Hosgood, 2001.). Lijekovi

topljivi u lipidima teže prolaze biološke membrane (krvno-moždana barijera i posteljica). Neionizirani oblici lijekova su lipofilni i zbog toga lakše prolaze kroz membrane (Meyer, 2007.), ali zbog razlike u pH krvi majke i ploda dolazi do ionizacije istih u plodu. U plazmi se ploda nalaze više koncentracije opioidnih i lokalnih anestetika zbog ionizacije istih u krvi ploda. Koncentracija anestetika u krvi ploda ovisi o pasivnoj difuziji kroz posteljicu, a mijenja se distribucijom, metabolizmom, i vezanjem na proteine istog u plodu. Metabolizam ploda nije razvijen u potpunosti u odnosu na odraslu jedinku, a osobito enzimski sustavi jetre (Ryan i Wagner, 2006.b, Raffe i Carpenter, 2007.a).

Novorođenčad ima nedostatnu hemodinamičku stabilnost, odnosno sposobnost održavanja perfuzije i funkcije organa uz odgovarajući krvni tlak. Srčani volumen ovisi o broju otkucaja što dovodi do smanjenog kapaciteta, odnosno kardiovaskularni sustav nije u mogućnosti kompenzirati znatnije promjene u krvnom tlaku (Dugdale, 2010.). Preporuka je izbjegavati uporabu anestetika koji uzrokuju znatnu depresiju kardiovaskularnog sustava (Littleford, 2004.).

Carski rez

Pri operaciji carskog reza iz maternice uklanjamo plodove zaobilazeći porođajni kanal. Operaciju carskog reza najčešće poduzimamo zbog velikih plodova, slabih porođajnih trudova, uske zdjelice, maternične torzije. Carski rez, u načelu, obavljamo na dva načina, kao konzervativni carski rez (ako želimo očuvati maternicu) i radikalni carski rez (uklanjamo maternicu zajedno s plodovima). Kuje i mačke operiramo u bijeloj liniji (između pupka i posljednjeg para trbušnih sisa). Kroz ranu izvučemo čitavu maternicu, zatim je otvorimo iznad ploda koji je najbliži materničnom trupu. Plodove iz oba roga uklanjamo kroz jedan otvor. Maternicu šivamo

modificiranim Lambertovim šavom u jednoj ili dvije etaže, a zatim šivamo peritoneum, mišićje i fasciju u jednoj etaži (produžni ili čvorasti šav), potkožje u drugoj etaži, a kožu pojedinačnim čvorastim ili produžnim šavom sa zaključavanjem (Danova i sur., 2005.).

Anestezijske tehnike za carski rez

Anesteziju postizemo izborom odgovarajućih anestezijskih tehnika (inhalacijska, injekcijska, lokalna i regionalna) te odgovarajućim anestetikom. Izbor anestezijskih tehnika i anestetika nazivamo anestezijski protokol. Izbor anestezijskog protokola radi se za svaku životinju posebno, a ovisi o kliničkom statusu pacijenta, planiranom kirurškom zahvatu, cijeni, dostupnosti pojedinih anestetika ili opremi za anesteziju (Matičić i Vnuk, 2010.).

Lokalne tehnike anestezije

Epiduralna ili spinalna anestezija primjenom lokalnih anestetika s ili bez opioda može se koristiti kao tehnika izbora koja ima minimalan učinak na plod. Epiduralna lokalna anestezija osigurat će dostatnu analgeziju, ali sama aplikacija može produžiti trajanje anestezije (Dugdale, 2010.). Lokalni ne opioidni anestetici aplicirani u epiduralni ili subarahnoidalni prostor dovode do sustavne vazodilatacije i hipotenzije (Chan, 1997.). Primjenom opioidnih lokalnih anestetika izbjeći će se pojava hipotenzije u majke kao i prolazne paraplegije, no kada se primjenjuju samostalno ne osiguravaju dostatnu intraoperativnu analgeziju (Dugdale, 2010.).

Opća anestezija

Premedikacija

Premedikacija kod pacijenata za carski rez može smanjiti razinu kortizola i katekolamina što je povezano sa

stresom majke uzrokovanim kirurškim zahvatom, što preventivno djeluje na sužavanje krvnih žila maternice i pomaže perfuziji maternice (Pascoe i Moon, 2001.). Za sedaciju i analgeziju savjetuju se reverzibilni anestetici s kratkim djelovanjem poput opioda i benzodiazepina koji imaju minimalni učinak na srčani i respiratorni sustav (Ryan i Wagner, 2006.b). Benzodiazepine (diazepam, midazolam) treba koristiti s oprezom, jer su lipofilni i prolaze brzo kroz posteljicu te se sporo izlučuju iz novorođenčadi uzrokujući sedaciju, hipotoniju i apneju (Meyer, 2007.). Kada se primijenjuju u kombinaciji s opoidima učinci benzodiazepina su pojačani. Midazolam je poželjniji od diazepama zbog kraćeg učinka. Pri izboru opioda u obzir dolaze morfin, fentanil i oksimorfin zbog svojih dobrih sedativnih i analgetskih svojstva uz minimalni učinak na kardiovaskularni sustav majke i ploda (Meyer, 2007., Muir i sur., 2007.).

Acepromazin treba izbjegavati zbog dugotrajnog djelovanja. Metabolizira se u jetri novorođenčadi koja je nezrela, a ima negativan učinak na termoregulaciju i respiraciju novorođenčadi (Ryan i Wagner, 2006.a).

Alfa-2-agoniste (ksilazin i medetomidin) treba izbjegavati budući se otkrilo da povećavaju neonatalni mortalitet, a što je vjerovatno posljedica smanjene perfuzije maternice što dovodi do hipoksije i acidoze plodova (Meyer, 2007.).

Indukcija

Indukcijom postizemo brzo nesvjesno stanje što olakšava intubaciju. Postavljanjem trahealnog tubusa osiguravamo zaštitu dišnih prohoda i omogućavamo ventilaciju u slučaju regurgitacije ili induksijske apneje.

Poželjna je oksigenacija kuja sa 100% kisika protokom 4-6 L/minuti najmanje 5 minuta prije indukcije u svrhu sprječavanja apneje nakon uvida

u anesteziju (Pascoe i Moon, 2001., Ryan i Wagner, 2006.a, Raffe i Carpenter, 2007.b, Robertson, 2009.).

Propofol i tiobarbiturati se odlikuju brzim početkom djelovanja i kratkim trajanjem uz minimalni učinak na kardiovaskularni i respiratorni sustav ploda, ali mogu uzrokovati depresiju kardiovaskularnog sustava majke i smanjenje protoka krvi kroz maternicu.

Doze svih korištenih indukcijskih anestetika (propofol i tiobarbiturati) i njihovih nuspojava mogu se smanjiti davanjem najprije intravenozno lidokaina (0,25 do 0,5 mg/kg), diazepama (0,1 do 0,4 mg/kg), ili midazolama (0,1 do 0,3 mg/kg).

Ketamin je (4 do 6 mg/kg i/v.) zajedno s diazepamom (0,1 do 0,4 mg/kg i/v), ili midazolamom (0,1 do 0,3 mg/kg) alternativna tehnika koja osigurava dobru kardiovaskularnu potporu (Raffe i Carpenter, 2007.b). Za ketamin se smatra da uzrokuje fetalnu hipoksiju zbog povećanog tonusa i smanjene perfuzije maternice (Muir i sur., 2007.), a pokazalo se i da povećava mortalitet novorođenčadi, kada se koristi zajedno s midazolamom (Moon, 2000.), stoga se njegova uporaba ne preporuča za carski rez.

Inhalaciona indukcija pomoću maske ima manji depresivni učinak na novorođenčad i brže djelovanje u predporođajnom periodu kuja. Nedostaci inhalacione indukcije su stres, koji rezultira izlučivanjem katekolamina, hipoksijom i acidozom u novorođenčadi. Produljuje vrijeme u kojem su dišni prohodni nezaštićeni, čime se povećava rizik od aspiracije i nemogućnost pružanja ventilacijske potpore (Ryan i Wagner, 2006.a).

Održavanje

Inhalacijski anestetici isoflurane i sevofluran, koji se obično koriste u veterinarskoj medicini, imaju relativno nisku molekularnu masu i visoku topljivost u lipidima te prolaze vrlo

lako kroz posteljicu. Učinak na dišni sustav ploda može se smanjiti uporabom manje doze inhalacijskih anestetika kroz kraći vremenski period (Muir i sur., 2007.). Istovremena će primjena fentanila omogućiti smanjenje količine inhalacijskog anestetika koji se koristi i na taj način pomoći u održavanju krvnog tlaka i kardiovaskularnih funkcija (Robertson, 2009.). Isofluran ima znatno nižu topljivost od halotana te se eliminira brže iz tijela, što je prednost za majku i novorođenčad.

Predloženi anestezijski protokol

Premedikacija s fentanilom (3 µg/kg iv) ili morfijem (0,1-0,5 mg/kg im/iv) trebala bi osigurati relaksaciju kuje, nakon čega je moguće učiniti preoksigenaciju u trajanju od 5 minuta i opću pripremu pacijenta za operaciju carskog reza. Naloxon (0,04 mg/kg iv/im) se koristi kao antagonist kod depresije respiratornog sustava majke i ploda. Opioidi se mogu kombinirati s niskim dozama midazolama koje titriramo do učinka. Zbog moguće primjene antagonista Flumazenila (0,01-0,02 mg/kg iv) te kraćeg djelovanja od diazepama koristimo midazolam umjesto diazepama. Benzodiazepini su manje učinkoviti kod životinja pod stresom (Monsey, 2008.).

Uvod u anesteziju treba učiniti intravenoznom primjenom propofola. Osobitu pažnju treba obratiti na pojavnost indukcijske apneje i povremeno primijeniti mehaničku ventilaciju pluća kako bi se spriječila hipoksija majke i ploda. Održavanje anestezije treba osigurati isofluranom i kisikom vodeći računa da je MAC smanjen za 28 do 40% za isofluran kod gravidnih kuja.

Cilj je anestezijskog protokola trebao biti da se majka što je prije moguće oporavi od primijenjene anestezije te da ista ima najmanji negativni učinak na plodove.

Kako bi se povećala stopa preživljavanja plodova nakon carskog reza poželjna je primjena epiduralne anestezije. Epiduralna anestezija ima najmanji učinak na središnji živčani sustav i uzrokuje najmanju depresiju kardiorespiratornog sustava ploda. Ako je kuja dovoljno mirna, a anesteziolog dovoljno iskusan, epiduralna se anestezija može primijeniti s 2% lidokainom ili morfijem u dozi od 0,3 mL/kg ili 0,2 mg/kg tjelesne težine, odnosno, do najviše 6 ml/kg (Muir i sur., 2007.).

Tijekom anestezijskog postupka treba činiti nadzor kardiovaskularnih i respiratornih parametara korištenjem stetoscopa, kapnografa, pulslog oksimetra, elektrokardiografa i bilježiti promjene krvnog tlaka (Robertson, 2009.).

Sažetak

Anesteziju gravidne životinje treba obavljati s osobitom pažnjom uzimajući u obzir fiziološke promjene povezane s gravidnošću te moguće učinke pojedinih anestetika na gravidnu životinju i plodove. Gravidnim životinjama treba primjenjivati niže doze anestetika zbog osjetljivosti na iste. Potrebno je titirati anestetike do učinka i životinju pomno pratiti tijekom anestezije kako bi se na vrijeme uočili znakovi predoziranja. Životinje su sklone povraćanju, što predstavlja povećan rizik za razvoj komplikacija kao što je aspiracijska upala pluća. Epiduralna bi anestezija bila najbolja opcija i za majku i novorođenčad, međutim, to zahtijeva iskusnog anesteziologa i mirnu životinju. Poželjni su anestetici s kratkim vremenom djelovanja, koji se brzo metaboliziraju i imaju minimalni učinak na jetru novorođenčadi.

Reverzibilni anestetici su poželjni u anestezijskom protokolu kako bi se mogli poništiti neželjeni učinci tijekom anestezije primjenom njihovih antagonista. Vrijeme trajanja anestezije i doze inhalacijskih anestetika treba svesti na minimum. Na kraju možemo zaključiti da je primjena opioda i benzodiazepina u premedikaciji, propofola u indukciji i održavanje s isofluranom idealna kombinacija za carski rez.

Literatura

1. CHAN, M. T., P. MAINLAND and T. GIN (1996): Minimum alveolar concentration of halothane and enflurane are decreased in early pregnancy. *Anesth.* 85, 782-786.
2. CHAN, W. S. (1997): Prevention of hypotension during spinal anaesthesia for caesarean section: ephedrine infusion versus fluid preload. *Anaesth.* 52, 908-913.
3. DANOVA, N. A., C. SCHMIEDT and D. BJORLING (2005): The female reproductive system. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Abdominal Surgery.* (WILLIAMS, J. M., J., J. D. NIELS, Eds.). British Small Animal Veterinary Association. Gloucester. Pp. 315-316.
4. DRESNER, M. R. and J. M. FREEMAN (2001): Anaesthesia for caesarean section. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 15, 127-143.
5. DUGDALE, A. (2010): Neonates/Paediatrics. In: *Veterinary Anaesthesia: Principles to practice.* (DUNGDALE, A., Ed.). Blackwell Publishing. Oxford. Pp. 312-314.
6. HOSGOOD, G. (2001): Anesthesia and Surgery. In: *Veterinary Pediatrics: Dogs and Cats from Birth to Six Months.* (HOSKINS, J. D., Ed.). Saunders, Philadelphia. Pp. 525-528.
7. LITTLEFORD, J. (2004): Effects on the Foetus and Newborn of Maternal Analgesia and Anaesthesia: A Review. *Can. J. Anaesth.* 51, 586-609.
8. MATIČIĆ, D. i D. VNUK (2010): Veterinarska kirurgija i anesteziologija. Medicinska naklada. Zagreb, Hrvatska. Pp. 231-269.
9. MEYER, R. E. (2007): Caesarean Section. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia* (SEYMOUR, C. T. DUKE-NOVAKOVSKI, Eds.). British Small Animal Veterinary Association. Gloucester, England. Pp. 355-375.
10. MONSEY, L. (2008): Nurse Care of the Caesarean Section. *Proceedings of SEVC Southern European Veterinary Conference.* 17-19 October, Barcelona, Spain. Pp. 250-255.
11. MOON, P. F. (2000): Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 36, 359-368.
12. MUIR, W. W., J. A. E. HUBBELL, R. M. BEDNARSKI and R. T. SKARDA (2007): Anaesthesia for Caesarean Section. In: *Handbook of Veterinary Anaesthesia* (MUIR, W. W., J. A. E. HUBBELL, R. M. BEDNARSKI, R. T. SKARDA, Eds.). Mosby, St. Louis, Missouri. Pp. 359-371.
13. PASCOE, P. J. and P. F. MOON (2001): Periparturient and neonatal anesthesia. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 31, 315-340.
14. RAFFE, M. R. and R. E. CARPENTER (2007a): Anesthetic Management of Cesarean Section Patients. In: *Lumb & Jones Veterinary anesthesia.* (THURMON, J. C., W. J. TRANQUILLI, K. A. GRIMM, Eds.). Blackwell Publishing. Iowa. Pp. 955-969.
15. RAFFE, M. R. and R. E. CARPENTER (2007b): Anaesthetic Management of Caesarean Section Patients. In: *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* (TRANQUILLI W. J., J. C. THURMON, Eds.). Saunders. London, England. Pp. 487-490.
16. ROBERTSON, S. A. (2009): Physiology of Pregnancy and Anaesthesia for Caesarean Section

- in Dogs. Proceedings of SEVC Southern European Veterinary Conference. 17-19 October, Barcelona, Spain. Pp. 265-270.
17. RYAN, S. D. and A. E. WAGNER (2006a): Caesarean Section in Dogs: Anaesthetic Management. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 28, 42-48.
 18. RYAN, S. D. and A. E. WAGNER (2006b): Caesarean Section in Dogs: Physiology and Perioperative Considerations. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 28, 34-42.

Anaesthesia for Caesarean Section in Dogs and Cats

Nino MAČEŠIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Tugomir KARADJOLE, DVM, PhD, Associate Professor, Goran BAČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Martina KARADJOLE, DVM, PhD, Assistant Professor, Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Ivan FOLNOŽIĆ, DVM, Assistant-Junior Researcher, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Melanija ČELICA, DVM

Caesarean section is a common emergency procedure. Anaesthesia for all parturients should be based on safety to the mother and foetus. The choice of an anaesthetic protocol must be based upon knowledge of the physiologic alterations induced by pregnancy and labour, the pharmacology of the drugs administered in the perinatal period and their direct and indirect effects on the foetus. Caesarean section can be accomplished either by regional or general anaesthesia. General anaesthesia provides optimum operating conditions with a relaxed, immobile patient.

Tracheal intubation ensures control of the maternal airway, preventing aspiration of vomitus. Spinal anaesthesia has the advantage of technique simplicity and minimal exposure of the foetus to drugs. Reversible anaesthetics are preferred in the anaesthetic protocol. The duration of anaesthesia and doses of inhalant anaesthetics should be minimised. In conclusion, opioids and benzodiazepines in premedication, propofol in induction and isoflurane maintenance are an ideal combination for caesarean section.



FIZIOVET

ekskluzivni zastupnik i distributer za

**VETERINARY
INSTRUMENTATION**

Opremanje veterinarskih ambulanti

Kompletna oprema i instrumentarij za:

- opću i meku kirurgiju
- ortopedske i neurokirurške zahvate
- oftalmološke zahvate i dijagnostiku
- stomatološke zahvate

Anestezija i monitoring
Dijagnostička oprema

www.vetinst.com



FIZIOVET, Zvonimirova 72, Zagreb, 01 2301 021, 098 1616 477 info@fiziovet.hr

Urolitijaza kod pasa – vrste urolita, dijagnostika i liječenje

Jelena Bijelić



Uvod

Mokraćni sustav iz organizma uklanja otpadne tvari u tekućem obliku. Međutim, pojedine su mineralne otpadne tvari tek neznatno topive i mogu se taložiti tvoreći kristale. Ako je vrijeme prolaska kristala kroz mokraćni sustav produženo, kristali mogu međusobno djelujući narasti do makroskopske veličine, kada su poznati kao uroliti.

Urolitijaza je opći naziv koji se odnosi na kamence (urolite) smještene u bilo kojem dijelu mokraćnog sustava pa se o njima, govori kao o nefrolitima, ureterolitima, urocistolitima i uretrolitima.

Nastanak urolita iniciran je taloženjem submikroskopske kristalne jezgre u obliku mineralne rešetke. Ako se kristal stvara iz čiste otopine, govorimo o *homogenoj nukleaciji*. Međutim, u urinu češće dolazi do heterogene nukleacije, pri čemu se kristalni nukleus stvara na postojećim površinama (poput staničnog debrisa ili drugih kristala), jer ovo zahtijeva manji stupanj supersaturacije (Forenbacher i sur., 1966., Nelson i Couto, 1998.).

Posljednji važan faktor u razvoju urolita je retencija kristala ili kristalnih nakupina unutar mokraćnog trakta. Kristalurija je normalna pojava u pasa; da bi se razvili uroliti mora biti produžen izlazak kristala iz mokraćnog trakta.

Vrste urolita

Oksalatni uroliti se uglavnom sastoje od 100% kalcijevog oksalata, iako neki sadrže i promjenjive količine kalcijevog fosfata. Kalcijev se oksalat javlja u dva kristalna oblika: 1) kalcijev oksalat monohidrat (whewellit) i 2) kalcijev oksalat dihidrat (wedellit). Kalcijev oksalat monohidrat je mnogo češći od kalcij oksalat dihidrata u psećim urolitima. Neki psi imaju oba oblika u različitim slojevima istog urolita. Jedina klinički bitna razlika između ovih oblika je u tome što je urolite od kalcijev oksalat dihidrata lakše fragmentirati udarnim valovima nego urolite od kalcijev oksalat monohidrata. Uroliti od kalcijevog oksalata su nepropusni za rendgenske zrake i često se javljaju kao multipli manji uroliti u donjim mokraćnim putevima. Površinske karakteristike variraju. Uroliti mogu biti oblika duda, glatki, ili imati oštre izbočine. Oksalatni uroliti nisu uzrokovani infekcijom, ali mogu biti povezani sa sekundarnim infekcijama mokraćnog sustava, zbog toga što prisutnost urolita može smetati domaćinovo obrani od infekcije i doprinijeti opetovanim infekcijama (Freudiger i sur., 1986., Ettinger i Feldman, 2000.).

Oksalatni uroliti su drugi najčešći oblik urolita u pasa. Njihova se sveukupna prevlast znatno u posljednjih

Jelena BIJEIĆ, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta, „Zoo-Vet“ d.o.o., Zadar

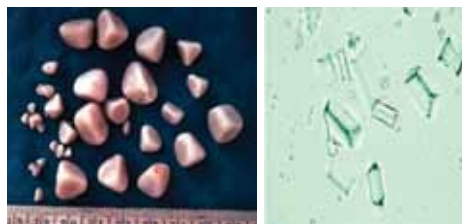
10-15 godina povećala zbog povećane uporabe pseće hrane namijenjene zakiseljavanju mokraće. Postoje mnogi predisponirajući faktori na nastanak ovih urolita kao npr.: pasmina, dob, debljina, spol, kastracija i neke bolesti (Schaer, 2003., Gisselman i sur., 2009.).

Nelson i Couto (1998.) isto tako navode spolnu predispoziciju. Oni su ustvrdili da se oksalatni uroliti češće javljaju u mužjaka (68-71% slučajeva) nego u ženki (26-32% slučajeva), što bi moglo biti u vezi s povećanom proizvodnjom oksalata u jetri posredstvom testosterona. Isto tako navode i da su kastrirani psi izloženi većem riziku od oksalatnih urolita u usporedbi s intaktnim psima i da je veća mogućnost kod pretilih pasa da razviju oksalatne urolite. Najčešće pogođene pasmine uključuju: patuljastog šnaučera, lhasa apso, jorkširskog terijera, bichon frisé, njemačkog patuljastog špica (pomoranac), shih tzu-a, kern terijera, maltežera, patuljastu pudlu i čivavu.



Slika 1. Oksalatni uroliti (lijevo) i kristali kalcijevog oksalata (desno)
(Izvor: American College of Veterinary Surgeons, www.acvs.org)

Struvit (triplfosfat) je najčešći tip urolita u pasa, koji se češće nalazi u donjim (95%) nego u gornjim mokraćnim putevima. Struvitni se uroliti češće javljaju u kuja (71-85%) nego u pasa (15-29%), vjerojatno zato što kraća uretra u kuja olakšava ascedentno kretanje bakterija uretrom do mokraćnog mjehura gdje izazivaju infekciju. Pasmine najčešće zahvaćene struvitnim urolitima uključuju: patuljaste šnaučere, shih tzu-e, bichon frisé, patuljaste pudle, koker španjele, lhasa apso i križane pasmine.

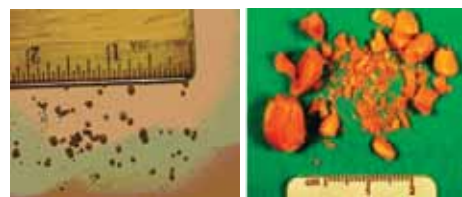


Slika 2. Struvitni uroliti (lijevo) i kristali (desno)
(Izvor: International Veterinary Information Service, www.ivis.org)

Purinski uroliti, koji se prirodno javljaju u pasa sastoje se od mokraćne kiseline (i različitih soli, odnosno urata) i ksantina, uzastopnih biorazgradnih produkata u metabolizmu purina.

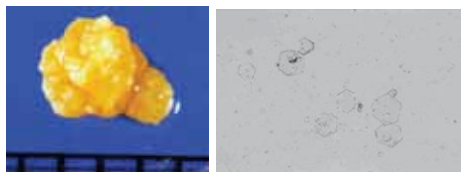
Od uratnih urolita najčešće se susreće amonijev urat (86%). Uratni uroliti su maleni, okrugli ili ovalni, zelenkasto-smeđe boje. Veličina i glatkoća purinskih urolita objašnjava zašto relativno često uzrokuju uretralnu opstrukciju (Nelson i Couto, 1998.).

Purinski se uroliti, kao treći najčešći tip urolita u pasa, mogu naći u pasa bilo koje dobi, ali se najčešće nađu u mladim do pasa srednje dobi (prosječna dob za uratne urolite je 4 godine). Uratna se urolitijaza najčešće javlja u dalmatinera zbog oslabljene pretvorbe mokraćne kiseline u allantoin i zbog povećane resorpcije mokraćne kiseline u bubrežnim tubulima. Osim kod dalmatinera, povećana pojavnost uratnih urolita zabilježena je kod: engleskih buldoga, patuljastih šnaučera, shih tzu-a, jorkširskih terijera i pekinezera (Ettinger i Feldman, 2000., McCue i sur., 2009.).



Slika 3. Uratni (lijevo) i ksantinski (desno) uroliti
(Izvor: American College of Veterinary Surgeons, www.acvs.org)

Cistinski uroliti su tipično jajoliki i glatki, svjetložute do crvenkasto-smeđe boje. Cistinska se urolitijaza javlja pretežno u mužjaka (98%), iako se može javiti u pasa oba spola. Tipična dob u kojoj se cistinski kamenci prvi put dijagnosticiraju je 3-8 godina. Zabilježeni su u mnogih pasmina, a najčešće su zahvaćeni: mastifi, rotvajleri, engleski buldozi, čivave, newfaundlanderi, pitbul terijeri, baseti i jazavčari (Nelson i Couto, 1998.).



Slika 4. Cistinski uroliti (lijevo) i kristali (desno)
(Izvor: American College of Veterinary Surgeons, www.acvs.org)

Čisti *fosfatni uroliti* nisu uobičajeni u pasa. U većini slučajeva kalcijev fosfat (hidroksiapatit) dolazi kao komponenta drugih urolita, pretežito sastavljenih od struvita ili kalcijevog oksalata. Najčešće pogođene pasmine uključuju: jorkširskog terijera, patuljastog šnaučera, bichon frisé, shih tzu-a, springer španijela, pomeranca, patuljastu pudlu i koker španijela.



Slika 5. Fosfatni uroliti (lijevo) i kristali (desno)
(Izvor: American College of Veterinary Surgeons, www.acvs.org)

Silikatni uroliti (silicijev dioksid) razmjerno se rijetko dijagnosticiraju i često su povezani s drugim tipovima minerala. Češće se javljaju u mužjaka, a prosječna dob pasa sa silikatnim urolitima je 5-8 godina. Pasmine pod

povećanim rizikom za nastanak silikatne urolitijaze uključuju: njemačkog ovčara, staroengleskog ovčara, patuljastog šnaučera, shih tzu-a, lhasa apso, jorkširskog terijera, zlatnog retrievera i labrador retrievera (Nelson i Couto, 1998.).

Nastanak silikatnih urolita je vjerojatno povezan s unosom silikata, silicijske kiseline ili magnezijevog silikata hranom biljnog podrijetla poput riže, sojinih ljuski ili kukuruznog glutena, koji se mogu dodati u hranu za povećanje volumena ili kao jeftin izvor proteina (Ettinger i Feldman, 2000.).



Slika 6. Tipična „jackstone“ konfiguracija silikatnih urolita
(Izvor: International Veterinary Information Service, www.iris.org)

Dijagnostika

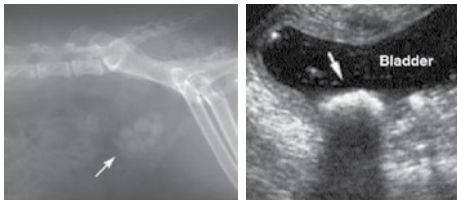
Urolitijaza se kod pasa obično dijagnosticira na temelju kombinacije anamneze, kliničkog pregleda i rengenografskog i ultrazvučnog nalaza. Jednom kad se utvrde broj i lokacija urolita potrebno je utvrditi tip, odnosno mineralni sastav prisutnog urolita (Merck, 1998., Nelson i Couto, 1998., Ettinger i Feldman, 2000., Morgan, 2008.). Za određivanje mineralnog sastava urolita mogu se primijeniti pojedine metode kvantitativne analize: optička kristalografija, difrakcija rengenjskih zraka i infracrvena spektroskopija (Merck, 1998.).

Nalazi urinoanalize u pasa s urolitijazom često ukazuju na prisutnost

upale mokraćnog trakta (hematurija, piurija, povećan broj epitelnih stanica i proteinurija) (Shaw i Ihle, 1997.).

Urinokultura može biti pozitivna s bilo kojim urolitom zbog toga što uroliti služe kao nidus za infekciju i oštećuju sluznicu mokraćnog mjehura povećavajući rizik od bakterijske infekcije mokraćnog trakta (Birchard i Sherding, 2006.).

Rengenografski se mogu otkriti optički gusti, odnosno za rendgenske zrake nepropusni uroliti (struvit, kalcijev oksalat i kalcijev fosfat), ako su odgovarajuće veličine ($> 3\text{mm}$). Za precizno utvrđivanje lokacije, prisutnosti ili odsutnosti urolita potrebno je primijeniti ultrazvuk ili kontrastnu rengenografiju (Ettinger i Feldman, 2000.).



Slika 7. Rengenografski (lijevo) i ultrazvučni (desno) nalaz urolita
(Izvor: American College of Veterinary Surgeons, www.acvs.org)

Liječenje

Opća načela za liječenje urolitijaze uključuju uklanjanje bilo kakve uretralne opstrukcije i dekompresiju mokraćnog mjehura, ukoliko je potrebno. Ovo se može postići postavljanjem katetera malog promjera, cistocentezom, uklanjanjem uretralnih kamenaca hidropropulzijom ili hitnom uretrotomijom.

Medicinsko otapanje struvitnih, uratnih i cistinskih urolita pokazalo se učinkovitim, međutim, izbor između operativnog uklanjanja i medicinskog otapanja nije uvijek jasan. Nedostatci operacije uključuju potrebu za anestezijom, invazivnost postupka, moguć-

nost nepotpunog uklanjanja urolita i postojanost pozadinskih uzroka. Prednosti operacije uključuju činjenicu da se tip urolita može točno dijagnosticirati, bilo kakve istovremene ili predisponirajuće anatomske abnormalnosti mogu se ispraviti i mogu se uzeti uzorci sluznice mokraćnog mjehura za bakteriološku kulturu, ako urinokultura nije dala rezultata. Medicinski tretman (dijetalna terapija, lijekovi) smanjuje koncentraciju kalkulogenih soli u urinu, povećava topljivost soli u urinu i povećava volumen urina, što proizvodi urin s manjom koncentracijom kalkulogenih soli. Glavni nedostatak je da je potrebno znatno pokoravanje vlasnika kroz nekoliko tjedana do mjeseci (Niemand i Suter, 1994., Nelson i Couto, 1998.).

Opće preventivne mjere kao dodatok kirurškom ili medicinskom upravljanju urolitima obuhvaćaju indukciju diureze i eradikaciju infekcija mokraćnih puteva. Diureza je važna jer smanjuje specifičnu težinu mokraće i koncentraciju kalkulogenih soli u urinu. Obično se preporuča dodatak od 0,5-1 g soli hrani dnevno; preventivno liječenje ili liječenje otapanjem oksalatnih i cistinskih urolita ne bi trebalo uključivati sol u hrani, jer rezultirajuće izlučivanje natrija može povećati izlučivanje kalcija i cistina urinom. Općenito, održavanje specifične težine urina manje od 1,020 je idealno i psima bi trebalo omogućiti češće prilike za pražnjenje mjehura. Sediment urina i pH bi trebalo rutinski kontrolirati, a infekcije mokraćnih puteva bi trebalo bez odlaganja ispravno liječiti na bazi rezultata bakterijske kulture i testa osjetljivosti (Nelson i Couto, 1998., Schaer, 2003.).

Indikacije za kiruršku intervenciju uključuju: nekontrolirani rast urolita, razvoj hidronefroze, nekontrolirana infekcija mokraćnih puteva, razvoj azotemije i razvoj ureterolita (Shaw i Ihle, 1997.).

Sažetak

Pojavljivanje klinički važnih urolita kod pasa je u porastu. Na stvaranje i sastav urolita mogu utjecati raznoliki činitelji, uključujući vrstu, pasminu, spol, dob, prehranu, anatomske abnormalnosti, infekciju mokraćnih puteva, lijekove i pH urina. Potvrđivanje dijagnoze može zahtijevati urinoanalizu, kvantitativnu kulturu urina te ultrazvučnu i rengenografsku pretragu. Nespecifično liječenje obuhvaća povećanje konzumacije vode, dok se specifično liječenje bazira na sastavu urolita. Nefroliti se uglavnom sastoje od kalcijevog oksalata, a ovi kamenci uglavnom zahtijevaju kirurško uklanjanje. Struvit je jedan od minerala koji se najčešće mogu naći u psećim urolitima, a preduvjet za njihovo nastajanje je prezasićenost mokraće magnezij amonij fosfatom. Oksalatni uroliti (kalcijev oksalat), najučestalija vrsta urolita kod ljudi, postaju sve nadmoćniji u pasa. Cistinurija je urođena metabolička bolest karakterizirana prekomjernim izlučivanjem cistina i dvobazičnih aminokiselina lizina, arginina i ornitina, ali točan mehanizam stvaranja cistinskih urolita je nepoznat. Uratni uroliti, koji su relativno rijetki u pasa, tipično se sastoje od urata amonijeve kiseline (poznat i kao amonijev urat), iako se neki mogu sastojati i od urata natrijeve kiseline i mokraćne kiseline.

Literatura

1. BIRCHARD, S. J. and R. G. SHERDING (2006): Saunders Manual of Small Animal Practice, Saunders, Elsevier Inc., USA.
2. ETTINGER, S. and E. FELDMAN (2000): Textbook of veterinary internal medicine.
3. FORENBACHER, S., J. GORINŠEK i V. SERTIĆ (1966): Unutrašnje bolesti domaćih životinja, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
4. FREUDIGER, U., E. G. GRÜNBAUM and E. SCHIMKE (1986): Hundekrankheiten. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
5. GISSELMAN, K., C. LANGSTON, D. PALMA and J. MCCUE (2009): Calcium oxalate urolithiasis. Comp. Contin. Educ. Vet. 31, 496-502.
6. MCCUE, J., C. LANGSTON, D. PALMA and K. GISSELMAN (2009): Urate urolithiasis. Domp. Contin. Educ. Vet. 31, 468-475.
7. Merck Veterinary Manual (1998): Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, N. J., USA.
8. MORGAN, R. V. (2008): Handbook of Small Animal Practice, 5th ed., W. B. Saunders, Company, USA.
9. NELSON, R. W. and C. G. COUTO (1998): Small Animal Internal Medicine, Mosby, Inc., St. Louis.
10. NIEMAND, H. G. and P. F. SUTER (1994): Praktikum der Hundeklinik, Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg.
11. SCHAEER, M. (2003): Clinical Medicine of the Dog and Cat, Manson Publishing Ltd, London, UK.
12. SHAW, D. H. and S. L. IHLE (1997): Small Animal Internal Medicine, Williams & Wilkins, USA/Canada W. B. Saunders Company, USA.

Urolithiasis in Dogs – Types of Uroliths, Diagnostics and Treatment

Jelena BIJELIĆ, DVM, Veterinary Practice „Zoo-Vet“ d.o.o., Zadar

The incidence of clinically significant uroliths is increasing in dogs. The formation and composition of uroliths may be influenced by a variety of factors, including species, breed, sex, age, diet, anatomical abnormalities, urinary tract infection, medication, and urine pH. Confirmation of the diagnosis may require urinalysis, quantitative urine culture, ultrasonography, and radiography. Nonspecific therapy includes augmentation of water consumption, while specific therapy is based on urolith composition. Nephroliths are commonly composed of calcium oxalate and these stones usually require surgical removal. Struvite is one of the most common minerals found in

canine uroliths and a prerequisite for their formation is the oversaturation of urine with magnesium ammonium phosphate. Calcium oxalate uroliths, the most common type in humans, are becoming increasingly prevalent in dogs. Cystinuria is an inborn metabolic disease characterized by excessive urinary excretion of cystine and the dibasic amino acids lysine, arginine, and ornithine, though the exact mechanism of cystine urolith formation remains unknown. Urate uroliths, which are relatively uncommon in dogs, are typically comprised of ammonium acid urate (also known as ammonium urate), although some may be composed of sodium acid urate and uric acid.

Ainil je generički ketoprofen koji ima slijedeće indikacije:

Protuupalno, analgetsko i antipiretsko liječenje sljedećih patoloških stanja:

- Upalni procesi pridruženi infekcijama dišnog sustava (obavezno antibiotsko liječenje);
- Akutni mastitis i edem vimena (obavezna primjena antibiotika);
- Akutni poremećaji mišićno-koštanog sustava (ozljede, hromost, upale zglobova i dr.) uz obaveznu etiološku terapiju;
- Pomoć u liječenju poslijeporođajne pareze pridružene teljenju.

Osim što mu je cijena **99,99 kn/50 ml**, **Ainil** ima
karencu za mlijeko 0 dana.

Da. 0 dana.

Vitamina AD3E

Vitamina AD3E su visokokoncentrirani liposolubilni vitamini AD3E

Doza za npr. kravu je 5 ml

Da, 5 ml.



Za više informacija kontaktirati uvoznika:
Centralna veterinarska agencija d.o.o. Zagreb
091 46 55 112
091 46 55 113



Naziv, izgled i značenje svjedodžbe o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje kroz povijest



P. Džaja, K. Severin, D. Agičić, I. Vranješ i Ž. Grabarević

Uvod

Čitajući povijest veterinarstva u Hrvatskoj zastali smo kod jedne isprave koja je toliko dobra učinila u sprječavanju širenja zaraznih bolesti domaćih životinja pa zaslužuje da se o njoj nešto više kaže. To zaslužuje iz razloga što je odigrala veliku ulogu i mjerama suzbijanja pojave i širenja zaraznih bolesti životinja te što isto značenje ima i danas, a imat će i sutra. Malo je isprava koje su proživjele toliko državnih uređenja (Austroougarska monarhija, kraljevina SHS, NDH, SFRJ i RH) iako s čestim izmjenama imena koje je ovisilo o državnom uređenju, a čija upitnost postojanja i značenje nikada nije došlo u pitanje. Kroz svoju povijest uz ime mijenjala je i svoje značenje, izdavatelje i cijenu koštanja. Svakako nije teško zaključiti da se radi o ispravi pod današnjim nazivom Svjedodžba o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje, u daljnjem tekstu Svjedodžba. Iz rečenog proizlazi da je malo koji dokument kroz povijest reguliran s toliko zakonskih propisa kao Svjedodžba koja se mijenjala, nadopunjavala s ciljem očvršćivanja njene važnosti u transportu životinja (za koje je tražena), identiteta i vlasništva te „zdravlja“ životinja. Njeno

se značenje i potrebitost od osnutka pa do današnjih dana mijenjalo kao što se mijenjao i broj životinjskih vrsta za koje se tražila ova isprava. Uz sve kasnije navedeno značenje dodamo li ovome i broj životinja za koje ova isprava u transportu, u kupoprodaji i klanju treba te isti pomnožimo s visinom takse za izdavanje ove isprave, dobije se veliki iznos novaca koji je služio za suzbijanje pojave i sprječavanje širenja neke zarazne bolesti. Od kada se izdaju isprave ove vrste teško je reći, ali se čini da je ozbiljna potreba za njihovim postojanjem i uporabom bila od 1711. g. kada se goveđa kuga prenijela iz Turske u Francusku, Italiju i Englesku, a kasnije i u druge zemlje (broj je uginulih goveda bio oko 20 milijuna). Kada se uvidjelo da se iglom i brizgalicom ne može ništa riješiti, uz primjenu karantenskih mjera uvodi se i kontrola prometa kada se prvi put uvodi i stočna putnica. Simović i Popović (1964.) navode da se stočna putnica kod nas spominje krajem 18. stoljeća u Vinkovcima i Novoj Gradiški kao isprava kojom se tvrdi da je stoka zdrava i da potječe iz kraja koji nije zaražen. Cilj ovog rada nije prikazati sve oblike Svjedodžbe

Dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Krešimir SEVERIN, dr. med. vet., docent, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; Damir AGIČIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Slavonski Brod; mr. Ivo VRANJEŠ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Križevci

o zdravstvenom stanju i podrijetlu životinja kao i sve zakonske propise koji reguliraju njen izgled od njena postojanja do današnjeg dana, način njena izdavanja te visinu takse pri njenu izdavanju, već je cilj rada ukazati na vječnu potrebitost i njeno značenje u suzbijanju zaraznih bolesti domaćih životinja. Kroz povijest je mijenjala ime i izgled. Mnogim se podzakonskim aktima mijenjala visina takse koja se plaćala za izdavanje ovog dokumenta, zatim se mijenjala njena zadaća kao i ovlaštene osobe koje su je izdavale. Od tih dana pa preko Zakona o uređenju veterinarstva u Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji od 27. kolovoza 1888. g. (Anonymus, 1888.) do današnjeg Zakona o veterinarstvu ovaj dokument je imao različita imena. Tako, se najprije zvala Marvinska putnica (1888. i prije), Stočni pasoš (1951.), Stočna putnica (1907., 1954.), Uvjerenje o zdravstvenom stanju stoke (1965.), Svjedodžba o zdravstvenom stanju životinja (1978.), Svjedodžba o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje (2008.). Tekst „marvinskoj putnici“ iz Zakona o uređenju veterinarstva u Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji (za koji Winterhalter (1972.) navodi da je na ovim prostorima vrijedio do kraja Prvog svjetskog rata) donosimo u izvornom obliku, a njene su izmjene nadopunjene kako su kroz povijest nastajale.

Konji, goveda, ovce, koze i svinje valja providjeti marvinskim putnicami i za promet u samoj zemlji, kam im se vlasnik promieni, i kad se drugamo odpremaju. Netreba pako marvinskih putnicah za marvu, kad se njom obavlja vlastit poljski rad, niti kad se marva tjera na pašu ili splav. Marvinske putnice izdaje ona občina, iz koje se marva odprema. Po jedna se marvinska putnica može izdati bud za ciele čopore marve, koji se odpremaju, bud onoliko glavah, koliko ih označi stranka, no uvijek za jednu te istu vrstu živine, te za životinje jednoga te istoga vlasnika (ako je marva obilježena). Na marvinskoj putnici

valja da občina potvrdi, da niti u području občine, niti u koliko je općini poznato, u susjednih občinah nevlada nikakva kužna bolest, pogibeljna za dotičnu vrst marve.

U Naredbi od 20. prosinca 1888. g. broj 46063 “ navodi se da je Marvinska putnica javna isprava koja dokazuje pravo vlasništva nad životinjama, u njoj ubilježeno, ona posvjedočuje zdravlje životinje, te služi u prometu sa životinjama kao dokaz, da je dotični slučaj propisana kontrola obavljena. Ova isprava valjan je dokaz prava vlasništva godinu dana, računajući od dana izdavanja. Njima se mora provoditi konje, goveda, ovce, koze i svinje (i njihov pomladak) kada god vlasnik želi: pravo vlasništva na ovakvu životinju prenijeti na drugoga; kada kani ovakvu životinju iz stalnog obivališta drugamo odganuti ili dopremiti. U takvim slučajevima dužan je vlasnik iskazati se marvinskom putnicom za dotičnu životinju, onaj tko je pravo vlasništva na dotičnu životinju steko, može životinju kući dotjerati sa takvom a mrvinskom putnicom, na kojoj je pravo vlasništva na leđnoj strani na njega prepisano. Ne treba marvinska putnica kada se marva goni na pašu ili na vodu, kada je u kiriji ili kada se njome obavlja vlastiti gospodarski posao, nu to samo u području iste županije. Nadalje će se na ovim prostorima različitim uredbama, naredbama, pravilnicima i okružnicama regulirati izgled, visina takse, način i uvojeti izdavanja, značenje kao i rješenja eventualnih problema koji su se znali pojaviti u svezi s marvinskom putnicom.

Tako će se narediti da Marvinske putnice izdaje ona općina iz koje se „marva“ tjera ili otprema, odnosno ona općina u kojoj se obavlja prijenos vlasništva. Organ koji „marvinsku putnicu“ izdaje mora se osvjedočiti je li „marva“ vlasništvo one osobe koja „marvinsku putnicu“ traži, također o zdravlju „marve“, za koju se putnica izdaje. Ako izdavatelj „marvinske putnice“ hotimice ili uslijed zanemarivanja svoje dužnosti unese u

Marvinska putnica prema vrsti bjelice	Ornamentat biljegovane slike	Grb i vrijednosni broj biljegovane slike
Komadi po 4 filira	U modroj boji	U crnoj boji
Komadi po 12 filira	U smeđoj boji	U brončano smeđoj boji
Komadi po 20 filira	U brončano-crnoj boji	U modroj boji

„marvinske putnice“ netočne podatke, ima se strogo kazniti. Putnica se može izdati za jednu ili više životinja iste vrste, jednako bilježene ili žigosane koja je istoga vlasnika. „Marvinska putnica“ je valjan dokaz vlasništva godinu dana, računajući od dana kada je izdana te služi podlogom za izdavanje nove putnice. Svjedodžba o zdravlju „marve“, na putnici od dana izdavanja vrijedi 10 dana. Produljenje o zdravlju „marve“ produžuje se na 10 dana i to u onoj općini iz koje se dotična „marva“ tjera. Ako se putnica izgubi stranka je dužna gubitak prijaviti općinskom poglavarstvu koje to prijavljuje kotarskoj oblasti koja to zatim prijavljuje kraljevskoj zemaljskoj vladi, odjelu za unutarnje poslove da se putnica pod tim brojem proglasi izgubljenom te se izdaje općinskom poglavarstvu za izdavanje putnica nalog da izda duplikat putnice, nakon što prođe rok od najmanje mjesec dana, a to u slučaju, da stranka vjerodostojno dokaže da je „marvinska putnica“ izgubljena. Vuković i Kern (1906.) navode Naredbu Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 18. prosinca 1890. g. (Anonymus, 1890.) u kojoj se navodi da se u promet stavljaju nove bjelice erarskih „marvinskih putnica“ novog oblika, a isto tako se vidi da je izdavač putnica od naplaćene takse odbijao za proviziju 1,5% te Naredbu Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. od 25. veljače od 1895. g. brojem 59582 (Anonymus, 1895.) u kojoj se zbog čestih pogriješaka nalaže da se na željezničkim kolodvorima vodi stroga evidencija i ispravnosti putnica, a u slučaju neispravnog ispunjenja putnica izdavatelja je odmah trebao prijaviti. Isti ističu Okružnicu bana Kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 23.

prosinca 1900. g. broj 88645 od 1. siječnja 1901. g. po kojoj se od 1. siječnja 1901. g. (Anonymus, 1900.) u promet stavlja bjelica „marvinske putnice“ novog obrazca i nove vrijednosne kategorije. Pogriješke se u pogledu biljegovanja putnica kažnjavaju globom od 50 novč. do 2 filira za svaki komad rogate stoke i konja, onda za svakih 10 komada svinja, ovaca i koza.

Schulz (1917.) te Vuković i Kern (1906.) navode Naredbu bana Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 3. ožujka 1907. g. (Anonymus, 1907.a) za područje županije Srijemske kojom se nalaže da su: „životinje vlasništvo one osobe kojoj se putnica izdaje, se potvrđuje od općinskog bilježnika i općinskog načelnika vlastoručnim potpisom. Sve životinje se trebaju izvesti pred izdavatelja putnice kako bi ih detaljno opisao, a u ostalim mjestima pred mjesnog starješinu koji će točne podatke unijeti u iskaznicu koju potpisuju seoski starješina i dva vjerodostojna svjedoka. Na osnovu ove iskaznice upisuju se podatci u putnicu, a ona se pohranjuje pod određenim brojem u općinskom poglavarstvu.“ Općinski bilježnici provjeravaju izdavanje „marvinskih putnica“ koje su se izdavale samo jedan dan. Isti autori navode Naredbu Kraljevine bana Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 16. travnja 1907. g. (Anonymus, 1907.b) kojom se naređuje da se na tom području za vrijeme velikih godišnjih sajмова može označiti još jedan dan za izdavanje putnica te Naredbu bana Kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 6. listopada 1909. g. (Anonymus, 1909.) kojom se nalaže da provizija od 1,5% od izdanih putovnica pripada općinskoj veterinarskoj zakladi.

Naredba Kraljevine Hrvatske, Slavonije i Dalmacije zemaljske vlade od 18. rujna 1912. g. (Anonymus, 1912.) će naložiti da općinsko poglavarstvo izdaje nove „marvinske putnice“: na osnovu stare putnice koju vlasnik podnese kao dokaz prava vlasništva, ako nema isprave na osnovu obrasca o podrijetlu stoke kojega je izdao seoski starješina (knez). Isto je tako općinsko gradsko poglavarstvo pisanom odlukom ovlastilo seoskog starješinu (kneza) za izdavanje svjedodžbi o podrijetlu stoke za što se plaćalo 4 filira. Svjedodžba je uz gore navedene slučajeve trebala i u slučajevima kad se stoka tjerala na područje drugog narodnog odbora zbog promjene mjesta stalnog boravišta, kad vlasnik nema stalno boravište i svoje životinje tjera od mjesta do mjesta, kad je namjena za klanje za javnu potrošnju ili ako je meso namijenjeno za privatnu potrošnju samo kad se životinje kolju u klaonici. Stočni pasoš se dobivao na osnovu potvrde koju izdaje mjesni narodni odbor. Pravilnikom za izvršenje uredbe o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza iz 1949. g. (Anonymus, 1949.) uz novo ime: stočni pasoš, ova isprava ostaje javna isprava koju vlasnik dobiva na osnovu potvrde kojom mjesni odbor potvrđuje da je životinja iz vlastitog uzgoja. Puhač (1951.) citirajući Pravilnik o stočnim pasošima iz 1951. g. navodi da što se tiče zdravstvenog stanja on vrijedi 10 dana, a što se tiče dokaza vlasništva vrijedi 1 godinu. Pod zdravljem se podrazumijeva da životinja ne boluje te se ne sumnja ni na jednu zaraznu bolest, a pod podrijetlom se podrazumijeva područje općinskog, odnosno gradskog narodnog odbora na kojem je životinja boravila zadnjih 40 dana. Štampanje stočnih pasošâ vrši se zelenim (goveda, bivoli, konji, mazge, mule i magarci) ili crvenim (ovce, koze i svinje) slovima. Izdavanje pasošâ vrše općinski, odnosno gradski narodni odbori za stoku koja je podrijetlom s njihova područja ili za

stranu stoku koja je boravila 40 dana na njihovom području. Nadležni za izdavanje pasošâ može izdati novi pasoš za stoku koja na njegovu području nije boravila manje od 40 dana, ako se pasoš izdaje na temelju skupnog ili pojedinačnog pasošâ, ako na istom nema više mjesta za prijenos, kao i na temelju potvrde veterinarskog stručnjaka. Stočni se pasoš izdaje na zahtjev vlasnika, na temelju jednog od sljedećih dokumenata:

1. pisane potvrde o podrijetlu i zdravlju životinje
2. starog stočnog pasošâ (pojedinačnog, skupnog, domaćeg, inozemnog)
3. potvrde veterinarskog stručnjaka
4. potvrde općinskog, odnosno gradskog narodnog odbora, vojne jedinice ili ustanove, odnosno državnog organa, koji je osobi, koja traži pasoš, predao životinju u vlasništvo.

Za prasad, janjad ili jarad do 6 tjedana starosti, koja se prodaje na trgovima kao namirnice za potrošnju, prodavatelji moraju imati stočni pasoš, koji se ne mora prenositi na kupca. Pri ispunjavanju stočnog pasošâ morali su se svi identifikacijski podatci unijeti u pasoš. Svaka promjena vlasnika životinje mora se evidentirati u pasošu na čijoj se poledini upisivao novi vlasnik. Na poledini pasošâ vršilo se produljenje na 10 dana. U slučaju da gravidna životinja u putu rodi, u stočni pasoš majke unosi se mladunče, a taj se posao obavlja u mjestu u koje je životinja upućena. Ovlaštena osoba za pregled stoke za klanje i mesa vrši otpisivanje iz skupnog stočnog pasošâ životinja zaklanih na klaonici za javnu potrošnju. Kontrolu nad radom izdavanja, prenošenja stočnih pasošâ i produživanja valjanosti potvrda o zdravstvenom stanju stoke, vrši povjerenstvo za poljoprivredu izvršnog odbora kotarskog, odnosno gradskog narodnog odbora. Rezultati su se kontrole unosili u posebnu knjigu. Neispravan se stočni pasoš oduzimao i vraćao vlasniku ako se mogao ispraviti.

Vlasnik stoke se kažnjavao:

- ako tjera ili otprema stoku iz mjesta stalnog boravka u druga mjesta bez ispravnog stočnog pasoša,
- ako organu nadležnom za izdavanje stočnih pasoša ne podnese stočni pasoš radi unošenja ispravaka za slučaj da su nastupile promjene zbog kojih se životinje teže raspoznaju
- ako u stočnom pasošu ne izvrši promjenu vlasništva nad kupljenom stokom
- ako otuđi stoku, koja kod njega nije boravila 40 dana.

Huđber i sur. (1957.) navode da po Zakonu o zaštiti stoke od stočnih zaraza iz 1954. g. (Anonymus, 1954.) stočne pasoše izdaje narodni odbor općine, a Pravilnikom o stočnim pasošima (Anonymus, 1963.a) i Uputstva o popunjavanju obrasca za izdavanje stočnog pasoša i obrasca stočnog pasoša, kao i o vođenju evidencije o stočnim pasošima iz 1963. g. (Anonymus, 1963.b) naređuje se da stočni pasoš izdaje općinski organ nadležan za poslove veterinarstva, odnosno mjesna kancelarija na čijem se području nalazi podrijetlo stoke. Obrazac za izdavanje stočnog pasoša popunjava vlasnik ili na njegovo usmeno traženje organ nadležan za izdavanje stočnog pasoša. Organ nadležan za izdavanje pasoša ne smije izdati pasoš: ako stoka nije zdrava, ako potječe s područja na kome je zabranjen ili ograničen promet stokom ili ako se stoka otprema u takvo područje. Izuzetno se sumnjivoj i oboljeloj stoci od zarazne bolesti uz potvrdu veterinarskog inspektora može dozvoliti odstupanje. Prema Zakonu o veterinarskoj službi (Anonymus, 1965.a) i Pravilnika o uvjerenju o zdravstvenom stanju stoke iz 1965. g. (Anonymus, 1965.b) vlasnik je dužan prilikom prometa papkara i kopitara imati uvjerenje o zdravstvenom stanju stoke koje se izdaje na vlastiti zahtjev vlasnika stoke koji je dužan prilikom podnošenja

zahtjeva, nadležnom organu za izdavanje uvjerenja, pokazati prethodno uvjerenje, kao i svaku drugu ispravu izdanu od organa veterinarske službe, za stoku za koju se traži uvjerenje, raspolaže li takvim ispravama. Vlasnik odgovara za točnost danih podataka. Vlasnik životinje je dužan nadležnom organu na vrijeme podnijeti zahtjev za unošenje novih promjena. Otpisivanje grla iz skupnog uvjerenja može se obaviti ako je grlo otuđeno, (poklon, prodaja), zaklano, uginulo, ubijeno ili nestalo. Andrić (1968.) citira Zakon o mjerama zaštite stoke od stočnih zaraza (Anonymus, 1967.a) i Uputstvo o izdavanju i evidenciji uvjerenja o zdravstvenom stanju stoke iz 1967. g. (Anonymus, 1967.b) po kojima se uvjerenjem o zdravstvenom stanju stoke dokazuje da područje s kojeg stoka potječe nije zaražena stočnom zarazom koju može prenijeti dotična vrsta stoke. Ovo uvjerenje izdaju veterinarske stanice koje su dužne organizirati takav način izdavanja uvjerenja da ga vlasnici mogu dobiti na što jednostavniji način te obavijestiti zainteresirane o mjestu i vremenu izdavanja uvjerenja, a posebno iskazivati naplaćene iznose za izdavanja uvjerenja te svakog 1. i 15. u mjesecu uplatiti u Republički fond 80% naplaćenog iznosa. Veterinarski je inspektor u klaonici dužan izdati uvjerenja poništiti i čuvati. U slučaju da životinja ne posjeduje uvjerenje vlasnik plaća pregled na osnovu kojega izdaje uvjerenje. Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti iz 1979. g. (Anonymus, 1979.) propisao je da se u slučaju potvrde neke zarazne bolesti zabranjuje izdavanje Svjedodžbe o zdravstvenom stanju. Prema ovom zakonu prikupljena sredstva od naplaćene takse za izdavanje svjedodžbi mogla su se koristiti za:

1. isplatu naknade za ubijene životinje ili uginule te uništene predmete
2. podmirenje troškova za suzbijanja SIŠ,

Tabela 1. Visina naknade za izdavanje svjedodžbe o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje kroz povijest

Izvor	Anonymus, 1888.	Anonymus, 1951.
Valuta	Krajcar	Dinar
KOPITARI		
konj		200,00
konj iznad 2 g.	5	
konj ispod 2 g.	3	
ždrijebe		80,00
ždrijebe do 3 mj. starosti		
magarac, mazga i mula		200,00
PAPKARI		
govedo		200,00
govedo iznad 2 g.	5	
govedo ispod 2 g.	3	
tele		80,00
tele do 6 mj. starosti		
tele do 3 mj. starosti		
bivol		200,00
bivolče		80,00
manje od 10 svinja, ovaca i koza	5	
svinja		
svinja preko 80 kg		150,00
svinja od 25 do 80 kg		80,00
svinja do 25 kg		30,00
prase do 2 mj. starosti		30,00
ovca i koza		30,00
janje i jare do 2 mj. starosti		30,00

Anonymus, 1965.a i b	Anonymus, 1988.	Anonymus, 1992.	Anonymus, 1993.	Anonymus, 1998.	Anonymus, 2004.	Anonymus, 2008.
Dinar		Hrvatski dinar		Hrvatska kuna		
8,00	50,00	500,00	1350,00	17,00	18,70	14,00
3,00	25,00	200,00	500,00	10,00	11,00	8,50
3,00	25,00	50,00	200,00	3,00	3,30	5,00
6,00	50,00	500,00	1350,00	17,00	18,70	14,00
						8,50
3,00	25,00	200,00	500,00	10,00	11,00	
2,00	15,00	70,00	200,00	2,00	2,20	1,65
1,00	5,00	20,00	50,00	0,80	0,88	0,65
2,00	12,00	50,00	130,00	1,50	1,65	1,30
1,00	10,00	25,00	70,00	0,80	0,88	0,65

Izvor	Anonymus, 1888.	Anonymus, 1951.
PERAD		
jednodnevnu perad, za svakih započelih deset komada		
perad do 10 dana starosti		
brojlere do deset komada		
brojler		
noj		
ostala perad		
rasplodna jaja		
PAS		
MAČKA		
KUNIĆI		
kunić za rasplod		
kunić mladi		
PČELE PO KOŠNICI		
RIBE IZ UZGAJALIŠTA PO kg *		
ŽIVI ŠKOLJKAŠI PO kg		
PUŽEVI PO kg		
DIVLJAČ		
krupna divljač dlakava		
krupna divljač pernata		
sitna divljač dlakava		
sitna divljač do 10 dana starosti		
jednodnevna pernata, za svakih započelih deset komada		
ostala pernata divljač		

* Od 2008. g. vrsta životinje mijena ime u „RIBA/RIBLJA MLAĐ IZ RIBNJAKA I UZGAJALIŠTA PO kg“

Anonymus, 1965.a i b	Anonymus, 1988.	Anonymus, 1992.	Anonymus, 1993.	Anonymus, 1998.	Anonymus, 2004.	Anonymus, 2008.
	0,04	3,00				
			1,00	0,01	0,01	0,01
		7,00				
	1,00		2,00	0,02	0,02	0,02
					11,00	8,00
	2,00	2,00	5,00	0,05	0,06	0,05
						0,01
		200,00	600,00	6,00	6,60	4,50
		100,00	300,00	3,00	3,30	3,00
		7,00	20,00	0,20	0,22	0,20
		2,00	5,00	0,05	0,06	0,05
	20,00	50,00	150,00	1,50	1,65	1,30
		1,00	3,00	0,03	0,03	0,02
						0,02
		1,00	3,00	0,03	0,03	0,02
		200,00	500,00	10,00	11,00	8,50
		100,00	250,00	3,00	3,30	2,60
		100,00	200,00	2,50	2,75	2,20
				1,00	0,01	0,01
		1,00				
		1,00	5,00	0,50	0,06	0,05

kuge, plućne zaraze goveda, durine, afričke kuge konja, afričke kuge svinja i ovčjih boginja i to za:

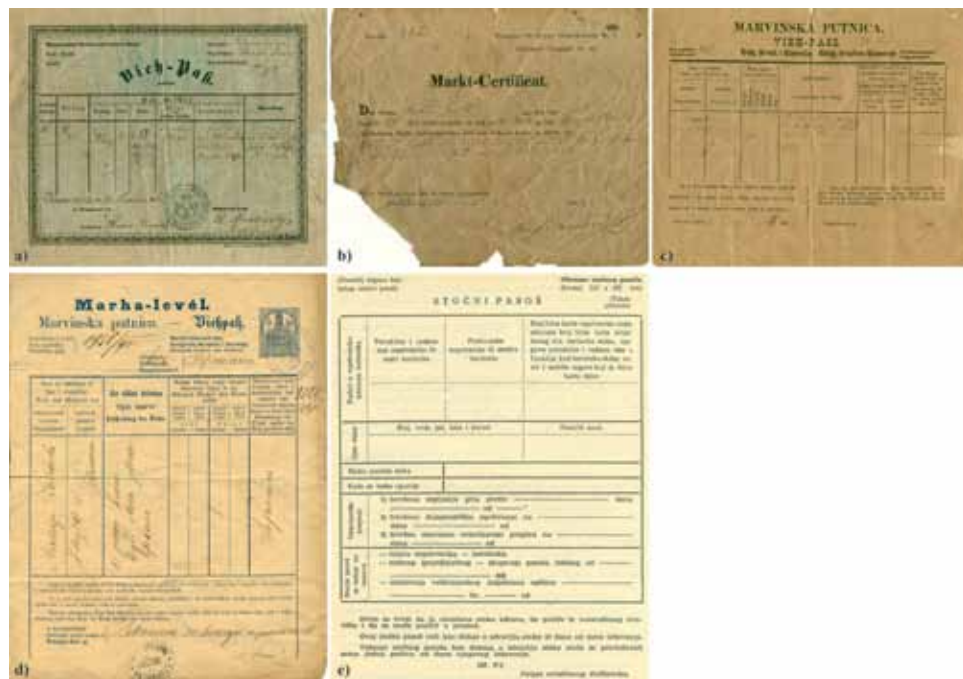
- a. blokiranje zaraženog i ugroženog dvorišta
- b. DDD i nabavu opreme za to potrebnog materijala
- c. troškove ekipa veterinara i drugih veterinarskih radnika
- d. uklanjanje leševa ubijenih životinja
3. osiguravanje rezerve veterinarskih cjepiva
4. utvrđivanje zaraznih bolesti te njihovo istraživanje i unaprijeđivanje istraživanja
5. laboratorijsku dijagnostiku ispitivanja zaraznih bolesti
6. troškove stručne službe Republičke zajednice.

Pravilnikom o obrascu Svjedodžbe o zdravstvenom stanju životinja iz 1988. g. (Anonymus, 1988.a i b) navodi se da se svjedodžba izdaje za kopitare, papkare, perad, kuniće i ribe iz uzgajališta, pčele i divljač, pse i mačke na tiskanom obrascu, a Zakonom o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti 1991. g. (Anonymus, 1991.) propisuje da je u unutarnjem prometu držatelj životinja dužan za kopitare, papkare, perad, kuniće, ribe i puževe iz uzgajališta, pčele, divljač, pse i mačke imati i na zahtjev ovlaštene osobe pokazati svjedodžbu o zdravstvenom stanju. Svjedodžbu izdaje veterinarska stanica. Svjedodžba se izdaje samo na osnovu dokaza o izvršenim naređenim mjerama, dijagnostičkim i drugim ispitivanjima, a svinje ako su i označene. Kupac je obavezan prenijeti svjedodžbu na svoje ime, osim maloprodaje peradi i ribe. Pravilnik o svjedodžbama o zdravstvenom stanju životinja i pošiljaka životinjskog podrijetla u unutarnjem prometu i međunarodnom prometu od 1998. g. (Anonymus, 1998.) navodi da je svjedodžba javna isprava koja sadrži podatke o: posjedniku životinje,

o identitetu životinje, podrijetlu i zdravstvenom stanju životinje, da su na životinjama provedene naređene mjere, da su životinje za klanje obuhvaćene pretragom na rezidue te da u propisanom roku karencije nisu tretirane lijekovima. Izdavanje svjedodžbi obavlja ovlaštenu veterinar. Ovlaštena veterinarska organizacija za izdavanje svjedodžbi dužna je organizirati izdavanje svjedodžbi na način da je vlasnik može dobiti svaki dan u uredovno radno vrijeme, osim praznika i neradnih dana. Pravilnikom o veterinarskim pregledima živih životinja u unutarnjem prometu i svjedodžbi o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje iz 2008. g. (Anonymus, 2008.) propisuje se da veterinarski pregled na mjestu otpreme pošiljke životinje i izdavanje svjedodžbe u unutarnjem prometu sastoji od dokumentacijskog, identifikacijskog i fizičkog pregleda. Fizički se pregled obavlja adspekcijom radi utvrđivanja vidljivih kliničkih znakova bolesti životinja koje se otpremaju te drugih životinja iz toga stada. Veterinarski pregled pošiljaka životinja nije obavezan u slučajevima:

- a. otpreme goveda
- b. premještanja registriranih kopitara u športske ili rekreacijske svrhe ili zbog privremene ispaše ili rada
- c. otpreme pčela radi ispaše ili prodaje
- d. otpreme rasplodnih jaja do odobrenih objekata za valjenje i otpremu jednodnevne peradi i jednodnevne pernate divljači
- e. otpreme školjkaša, žive ribe radi daljnjeg uzgoja
- f. otpreme peradi i kunića izravno na klanje
- g. otpreme puževa.

U ovim slučajevima prije otpreme životinja posjednik je dužan ishoditi obrazac svjedodžbe koju izdaje ovlaštenu veterinar na temelju evidencije o provedenim propisanim naređenim mjerama koje su uvijek za izdavanje



Slika 1. Izgled svjedodžbe o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje kroz povijest: a) 1861. g., b) 1867. g., c) 1886. g., d) 1890. g. i e) 1963. g. (Ljubaznošću prof. dr. sc. Vesne Vučevac Bajt, Zavod za povijest i etiku veterinarstva, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu)

svjedodžbe i povoljne epizootiološke situacije, a bez prethodno obavljenog veterinarskog pregleda.

Na gospodarstvu na kojemu se drže svinje, ovce, koze i kopitari veterinarski pregled prije izdavanja svjedodžbe nije obavezan, ako od prethodnog veterinarskog pregleda na temelju kojeg je izdana svjedodžba nije prošlo više od 30 dana. Vlasnik životinja kopitara, papkara, peradi, kunića, riba, mladi iz ribnjaka i uzgajališta, živih školjki, puževa, pčela i divljači dužan je u unutarnjem prometu posjedovati svjedodžbu. Ona se izdaje na posjed vlasnika životinje. Kada se izdaje nakon obavljenog veterinarskog pregleda, izdaje se na mjestu otpreme, a u slučaju kada se izdaje bez prethodno obavljenog pregleda, može se izdati u ovlaštenoj veterinarskoj organizaciji. Ona je javna isprava koja sadrži podatke o posjedniku, identitetu, podrijetlu

i zdravstvenom stanju te dobrobiti životinje kojom se jamči da:

- su na životinjama provedene naređene mjere,
- da životinje za klanje nisu liječene ili ako su liječene da je istekla propisana karenција
- nisu liječene zabranjenim veterinarsko-medicinskim proizvodima
- da se sa životinjom postupa u skladu s propisima o zaštiti životinja.

Ona potvrđuje da u mjestu boravka ne vlada nikakva zarazna bolest koja se može tim životinjama prenijeti. Svjedodžbom se ne potvrđuje i ne dokazuje pravo vlasništva nad životinjama.

Ovlašteni veterinar svjedodžbu izdaje na temelju veterinarskog pregleda, dokaza o provođenju naređenih mjera, dijagnostičkim i drugim pretragama te evidenciji koje vode posjednici, a koje

potpisuje ovlaštenu veterinar. Kada se svjedodžba izdaje bez veterinarskog pregleda posjednik je odgovoran i jamči za identitet životinja, kao i da sve životinje s gospodarstva ili sabirnog centra ne pokazuju poremećaj zdravstvenog stanja te da se s njima postupa prema propisima. Podatke da životinja nije liječena ili ako je liječena da je prošla karencija potvrđuje posjednik svojim potpisom. Životinje se izražavaju brojčano, pčele u košnicama, a ribe u kg. Svjedodžba vrijedi 72 sata od dana izdavanja, iznimno za pčele 90 dana od dana izdavanja. Ako protekne rok valjanosti svjedodžbe ovlaštenu veterinar na osnovu izdane svjedodžbe izdaje novu svjedodžbu.

Sažetak

Iako se pojavljivala pod različitim imenima: marvinska putnica, stočna putnica, stočni pasoš, uvjerenje o zdravstvenom stanju stoke, svjedodžba o zdravstvenom stanju životinja, svjedodžba o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje, uvijek je imala snagu javne isprave bez obzira što je vlasnik životinje svjedočio za istinitost podataka u njoj. U početku svojega postojanja primarna joj je zadaća bila sprječavanje pojave i širenja zaraznih bolesti životinja u smislu kontrole unutarnjeg i međunarodnog transporta, zdravlja životinja (da u mjestu boravka vlasnika ne vlada nikakva zarazna bolest /da su zdrave/ koja se može prenijeti životinjama u transportu ili kupoprodaji i klanju), uz točnost podataka o vlasniku i identifikaciji životinja služila je kao potvrda o vlasništvu godinu dana. Kasnije će svjedodžba jamčiti da su na životinjama provedene sve naređene mjere, da životinje za klanje nisu tretirane nikakvim sredstvima koja mogu ugroziti zdravlje i život ljudi ili ako su tretirane da je prošlo vrijeme karencije za ta sredstva kao i da životinjama nije ugrožena dobrobit. Ovo je nekada jamčio veterinar, a danas ovo potpisuje vlasnik životinje. Svjedodžbom se danas ne dokazuje vlasništvo životinje. Kroz povijest se taksa za izdavanje ove isprave naplaćivala u forintima, starim dinarima, kunama, dinarima, hrdima i današnjim kunama. Skupljanjem novca od prikupljenih taksi za izdavanje svjedodžbi

prilijevala se su prilična sredstva koja su se koristila za sprječavanja pojave i širenja neke zarazne bolesti. Kroz povijest su ih izdavali općinski bilježnici i općinski načelnici, općinski, odnosno gradski narodni odbor, odbor općine, veterinarska stanica i ovlaštenu veterinar. Nekada je u smislu zdravstvenog stanja vrijedila 10 dana, a danas 72 sata, osim za pčele 90 dana. Kao potvrda vlasništva vrijedila je godinu dana. Danas se njome ne dokazuje vlasništvo.

Literatura

1. ANDRIĆ, M. (1968): Zbirka Saveznih i republičkih propisa o stočarstvu i veterinarstvu. Beograd. Beograd: Privredni pregled.
2. Anon. (1888): Zakona o uređenju veterinarstva u Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji od 27. kolovoza 1888. g. Tiskarski zavod "Narodnih novina" Zagreb 1888.
3. Anon. (1890): Naredbom Kraljevine Hrvatske, Slavonije i Dalmacije Zemaljske vlade od 18. prosinca 1890., broj 49160.
4. Anon. (1895): Naredbom Kraljevine Hrvatske, Slavonije i Dalmacije Zemaljske vlade od 25. veljače od 1895., broj. 59582.
5. Anon. (1900): Okružnicom bana Kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 23. prosinca 1900., broj 88645.
6. Anon. (1907a): Naredba bana Kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 16. travnja 1907.
7. Anon. (1907b): Naredba bana Kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 3. ožujka 1907.
8. Anon. (1909): Naredba bana Kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 6. listopada 1909.
9. Anon. (1912): Naredbom Kraljevine Hrvatske, Slavonije i Dalmacije Zemaljske vlade od 18. rujna 1912.
10. Anon. (1949): Pravilniku za izvršenje uredbe o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza. Službeni list FNRJ 51/1949.
11. Anon. (1951): Pravilnik o stočnim pasošima. Službeni list FNRJ 7/1951. i 56/1951.
12. Anon. (1954): Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza. Službeni list FNRJ 26/1954.
13. Anon. (1963a): Pravilnikom o stočnim pasošima. Službeni list FNRJ 19/1963.
14. Anon. (1963b): Uputstvo o popunjavanju obrasca za izdavanje stočnog pasoa i obrasca stočnog pasoa, kao i o vođenju evidencije o stočnim pasošima. Službeni list SFRJ 50/1963.
15. Anon. (1965a): Pravilnik o uvjerenju o zdravstvenom stanju stoke. Službeni list SFRJ 43/1965.
16. Anon. (1965b): Zakon o veterinarskoj službi. Narodne novine 10/1965.
17. Anon. (1967a): Uputstvo o izdavanju i evidenciji uvjerenja o zdravstvenom stanju stoke Narodne novine 19/1967.
18. Anon. (1967b): Zakon o mjerama za zaštitu stoke od stočnih zaraza. Narodne novine 15/1967.
19. Anon. (1979): Zakon o zdravstvenoj zaštiti

- životinja i veterinarskoj djelatnosti. Narodne novine 11/1979.
20. Anon. (1988a): Odluka o naknadi za svjedodžbu o zdravstvenom stanju životinja. Narodne novine 5/1988.
21. Anon. (1988b): Pravilnik o obrascu svjedodžbe o zdravstvenom stanju životinja. Narodne novine 39/1988.
22. Anon. (1991): Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti. Narodne novine 52/1991.
23. Anon. (1992): Pravilnik o visini naknade za obvezne veterinarsko-sanitarne preglede i kontrole. Narodne novine 81/1992.
24. Anon. (1993): Pravilnik o visini naknade za obvezne veterinarsko-sanitarne preglede i kontrole. Narodne novine 62/1993.
25. Anon. (1998): Pravilnik o svjedodžbama o zdravstvenom stanju životinja i pošiljaka životinjskog podrijetla u unutarnjem prometu i međunarodnom prometu. Narodne novine 54/1998.
26. Anon. (2004): Naredba o visini naknade za svjedodžbu o zdravstvenom stanju životinja. Narodne novine 26/2004.
27. Anon. (2008): Pravilnik o veterinarskim pregledima živih životinja u unutarnjem prometu i svjedodžbi o zdravstvenom stanju i mjestu podrijetla životinje. Narodne novine 87/2008.
28. HUDBER, N., K. FILIPČIĆ i J. KUCEL (1957): Zbirka Veterinarskih stočarskih propisa. Zagreb: Narodne novine.
29. PUHAČ, I. (1951): Upravno veterinarstvo. Beograd: Naučna knjiga Beograd.
30. SCHULZ, F. (1917): Zbirka zakona i naredba tičući se veterinarstva na području Kraljevina Hrvatske i Slavonije izdanih za vrijeme od 1906. do 1919.g. Zagreb: Tisak Kr. Zemaljske tiskare.
31. SIMOVIĆ, M. i M. POPOVIĆ (1964): Priručnik za pripremu propisa o stočnim pasošima i veterinarskoj kontroli u unutrašnjem prometu. Beograd: Savremena administracija.
32. VUKOVIĆ, V. i L. KERN (1906): Zbirka zakona, naredbi i propisa valjanih za Kraljevine Hrvatske i Slavonije što se odnose na veterinarstvo. Zagreb: Vilima Eisenstadtera.
33. WINTERHALTER, M. (1972): Upravno veterinarstvo. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

The Name, Appearance and Significance of the Certificate of Animal Health Condition and Place of Origin Through History

Petar DŽAJA, PhD, DVM, Full Professor, Krešimir SEVERIN, DVM, PhD, Assistant Professor, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Damir AGIČIĆ, DVM, Veterinary Office, Slavonski Brod; Ivo VRANJEŠ, DVM, Master, Veterinary Practice, Križevci

The livestock passport has had many names (marvinska putnica, stočna putnica, stočni pasoš – all with the same meaning), such as the certificate of health condition of livestock, certificate of animal health condition, and certificate of animal health condition and place of origin. This document has always had the power of a public document, regardless of the fact that it was the animal owner testifying to the truthfulness of the data. Early on, its primary purpose was to prevent the occurrence and spread of infectious animal diseases by controlling internal and international transport and animal health, i.e. that the existence of an infectious disease transmittable by the animal species through the purchase, transport or slaughter was not confirmed at the place of origin or stay of the animal). The accuracy of owner data and identification of animals was used as proof of ownership and the document was valid for one year. Later, the certificate guaranteed that all measures stipulated by law were conducted on animals;

that animals for slaughter were not treated with agents endangering human health and life or, in case of medical treatment, that the stipulated withdrawal period had expired for these agents, and that animal welfare was not endangered. This was formerly guaranteed by a veterinarian and today is signed by the animal owner. The certificate nowadays does not prove ownership of animals. In the past, the issuance of this document was charged in forints, old dinars, Croatian kunas, Yugoslav dinars, Croatian dinars and the present currency, Croatian kunas. The revenues collected from the issuance of certificates were used to prevent the occurrence and spread of infectious animal diseases. They were issued by municipal notaries and municipal mayors, municipal or city committees, veterinary stations and approved veterinarians. Formerly, in terms of health status, they were valid for 10 days though nowadays they are valid for 72 hours, with the exception of bees, for which the document is valid for 90 days.

Prekursor glukoze za mliječne krave

Mješavina dodataka hrani za životinje za posebne hranidbene namjene

Prirodan, ekološki odabir za prevenciju ketoze, za smanjenje reproduktivnih problema i za povećanje mliječnosti

ReproMix

CILJEVI

Kontrola i prevencije ketoze (kliničke i subkliničke)

Kontrola i prevencija reproduktivnih problema u mliječnim krava

Povećanje proizvodnje mlijeka

ŠTO JE ReproMix?

Mješavina sastojaka koji djeluju u stvaranju glukoze:

Monopropilen glikol (E 490)

Kalcijev propionat (E 282)

Glicerol (farmaceutska kvaliteta) (E 422)

KAKO DJELUJE ReproMix?

Povećanje razine glukoze u krvi

Ograničeno stvaranje ketonskih komponenti

Smanjenje pojave subkliničke acidoze

Poboljšana plodnost i stopa fertiliteta

Povećana proizvodnja mlijeka

Preporuka: 300 grama ReproMix-a po kravi dnevno kroz 3 tjedna prije i 3 tjedna nakon teljenja.

Ukupni tretman: 42 dana uz utrošak od 12,6 kg ReproMix-a po kravi.

Cijena: 21,27 kn/kg. Pakiranje: vreća od 25 kg.

Proizvodi:

Zastupa i distribuira u Hrvatskoj:

and

Animal Nutrition Development
Madrid: Španjolska

CVA

Centralna veterinarska agencija d.o.o.
Utinjska 40; 10 000 Zagreb
tel. 01/ 6571-661; fax. 01/ 6604-031
www.cva.hr; cva@cva.hr

U Splitu po prvi put održana Međunarodna ljetna škola „Reprodukcija preživača“ od 09. do 18. srpnja 2012.

Nikica Prvanović Babić



Međunarodna ljetna škola „Reprodukcija preživača“ u organizaciji Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Europskog društva za reprodukciju domaćih životinja (ESDAR) i Europskog College-a za reprodukciju domaćih životinja (ECAR) s uspjehom je ove godine po prvi put održana u Splitu u prostorijama Mediteranskog instituta za istraživanje života (bivša vila Dalmacija) od 09. do 18. srpnja 2012. U radu škole sudjelovalo je 20 polaznika i 10 predavača s prestižnih europskih fakulteta pri čemu su polaznici uglavnom uključeni u program međunarodno priznatih specijalizacija (residency ECAR diplomates) ili pak izrađuju doktorate na međunarodnim

projektima koji istražuju različite aspekte reprodukcije domaćih životinja, a dolaze iz: Švedske, Švicarske, Njemačke, Grčke, Francuske, Irana, Austrije, Slovenije, Srbije, Makedonije, Češke i Hrvatske. Predavači ljetne škole su pozivani na osnovi preporuka Europskog društva za reprodukciju domaćih životinja (ESDAR) koje je stipendiralo dio polaznika i svi su redom renomirani stručnjaci iz različitih područja reprodukcije preživača. Prof. Hilary Dobson s Veterinarskog fakulteta u Liverpoolu, Velika Britanija održala je radionicu o utjecaju kliničkih bolesti na reprodukciju krava, prof. Geert Opsomer s Veterinarskog fakulteta u Ghentu, Belgija održao je dvije radionice o neplodnosti i smanjenoj plodnosti krava,



Polaznici škole s predavačima ispred Mediteranskog instituta i na predavanjima

Dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet Zagreb



Polaznici škole s predavačima na farmi na kojoj je održan praktični dio škole

prvu na razini pojedine životinje, a drugu na razini zdravlja stada. Prof. Urban Besenfelder s Veterinarskog fakulteta u Beču, Austrija održao je radionicu o primjeni asistirane reprodukcije goveda u svrhu poboljšanja plodnosti i očuvanju biološke raznolikosti, a prof. Detlef Rath iz Veterinarskog instituta u Neustadtu i predavač Veterinarskog fakulteta u Hannoveru, Njemačka o primijenjenoj veterinarskoj andrologiji i mogućnostima poboljšanja plodnosti bikova. Prof. Otto Szenczi s Veterinarskog fakulteta u Budimpešti, Mađarska održao je radionicu o embrionalnoj, fetalnoj i neonatalnoj smrtnosti goveda i pobačajima, dok je profesorica Margit Kulcsar Huszenicza s istog fakulteta, održala radionicu o primjeni endokrinoloških testova u dijagnostici i terapiji različitih fizioloških i patoloških stanja u reprodukciji preživaca. Doc. dr. sc. Nikica Prvanović Babić uključila se u rad radionice o embrionalnoj smrtnosti te radionice o veterinarskoj andrologiji te ukratko predstavila naše rezultate iz tog područja. Pročelnica Odjela Klinika Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i voditeljica Laboratorija za asistiranu reprodukciju pri Klinici za porodništvo i reprodukciju prof. dr. sc. Iva Getz kao i njena zamjenica doc. dr. sc. Martina Karadjole koje su moderirale radionicu o asistiranju reprodukciji

zajedno s prof. Urbanom Besenfelderom iz Beča te predstavile rezultate našeg Laboratorija za asistiranu reprodukciju u posljednjih 10-ak godina. Uz navedene teoretske i konverzijske radionice održane u Mediteranskom institutu u Splitu, u sklopu škole održana je i praktična radionica na farmi mliječnih krava u Karakašici pored Sinja koju su zajedno vodili prof. Geert Opsomer i prof. Goran Bačić s Veterinarskog fakulteta u Zagrebu uz pomoć Ljubice Erceg dr. med. vet. iz Veterinarske ambulante Likomed d.o.o. iz Sinja gdje su polaznicima pružili priliku da primjene novostečeno znanje na konkretnim kliničkim kazusima te sprovedu kompletnu analitiku reprodukcije, zdravlja i proizvodnje na farmi. Uz formalni, stručni dio, škola je organizirala i izlet u Sinj s posjetom Alkarskoj ergeli i muzeju koje je vodio direktor alkarske ergele i dugogodišnji alkar Stjepan Šimundža dr. med. vet. te večeru na rijeci Cetini i obilazak Splita, odnosno stare gradske jezgre.

U rad ljetne škole nakratko se uključio prodekan za znanost i međunarodnu suradnju Veterinarskog fakulteta prof. dr. sc. Alen Slavica koji je s organizatorima, predavačima i sudionicima izmijenio iskustva vezano na tijek i funkcioniranje same škole i njen međunarodni odjek. Rad škole koordinirali su članovi tehničkog organizacijskog odbora doc. dr. sc. Nikica



Zajednički izlet u Sinj i posjet muzeju i pripremama za Sinjsku Alku

Prvanović Babić, prof. dr. sc. Goran Bačić i doc. dr. sc. Nino Maćešić, dok su u samoj pripremi aktivno sudjelovali i članovi međunarodnog znanstvenog odbora: dekan Veterinarskog fakulteta prof. dr. sc. Tomislav Dobranić, potom prodekan za kontrolu kvalitete Veterinarskog fakulteta prof. dr. sc. Josip Kos, prof. dr. sc. Goran Bačić, prof. dr. sc. Tugomir Karadjole, prof. dr. sc. Iva Getz, doc. dr. sc. Nikica Prvanović Babić te svi predavači škole. Opći je zaključak na kraju da je škola uspješno održana te da bi je trebalo ponoviti, za što već postoji i međunarodni interes. Unatoč tome, smatram da je velika šteta što se u rad škole nije uključio veći broj polaznika iz Hrvatske, a osobito mladih stručnjaka i doktoranata iz područja reprodukcije domaćih životinja, jer je to bila izvrsna prilika za produbljivanje postojećih znanja u direktnom kontaktu s ponajboljim svjetskim stručnjacima iz tog područja i stjecanje novih kontakata te dobivanje informacija iz prve ruke o mogućnostima

stjecanja i dobivanja međunarodno priznatih specijalizacija (ECAR residency diplomate program). Nadalje, iako je postojao program stipendiranja preko ESDAR-a i CEEPUS-a, a i sponzori škole Pfizer Animal Health i LEDO su isto tako pokazali interes za stipendiranjem polaznika, nitko se iz Hrvatske nije prijavio, za razliku od mladih ljudi iz drugih zemalja koji su obleručke prihvatili takve mogućnosti te je čak 8 polaznika (40%) došlo na ljetnu školu zahvaljujući nekoj od stipendija. Stoga ovim putem želimo potaknuti mlade doktore veterinarske medicine, a osobito studente poslijediplomskih i doktorskih studija da se ubuduće agilnije uključe u ovakve i slične programe financiranja i obrazovanja. S obzirom na pohvale koje su nam uputili polaznici i predavači nadamo se da je ovo tek prva u nizu uspješnih međunarodnih ljetnih škola za koje očigledno postoji i širi interes.



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

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

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

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

Laboratorij za određivanje rezidua je zadužen za kontrolu ostataka zabranjenih tvari, veterinarskih lijekova i kontaminanata u hrani životinjskog podrijetla te hrani za životinje. U svome radu primijenjuje orijentacijske analize te 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, kokcidostatike, kontaminante (kemijske elemente: arsen, olovo, kadmij, živa, bakar, selen i cink), organoklorirane i organofosforne pesticide, piretroide i karbamate, bezno(a)piren te aflatoksin M1, boje (malahitno i leukomalhitno zelenilo) te vrstu mesa.

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

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

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

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

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

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

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

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

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

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

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

Apsolventska putovanje 1953. godine

Slavko Cvetnić



Apsolventi Veterinarskog fakulteta u Zagrebu 1953. godine dogovorili su se za jednu od najduljih, možda i najdulju stručnu ekskurziju. Na put smo krenuli 1. srpnja iz Zagreba, nastavili preko Bjelovara, Velikih Zdenaca (Sirana Zdenka), Osijeka, Beograda, Prahova (na Dunavu), Niša, Skoplja, Bitolja, Ohrida (boravak 6 dana), Kosova polja, planine Čakor, Titograda (Podgorice), Bara, Virpazara (Skadarsko jezero), Kotora, Dubrovnika, Korčule, Splita, Rijeke i vratili se u Zagreb 23. srpnja 1953. Putovali smo

vlakom (3. razred putničkog vlaka; drvene klupe), autobusom, brodom (Dunavom, Prespanskim jezerom, i Jadranom), a dijelom puta uskotračnim vlakovima pa i kamionom. U većini spomenutih gradova upoznali smo rad nekih veterinarskih ili poljoprivrednih organizacija, razgledali kulturne znamenitosti i ponešto doznali o lokalnoj povijesti. Put je organizirao kolega Dušan Rogošić, a vođitelj je bio prof. dr. Milan Šlezić, internist-bujatričar (legendarni Medek). Ukupno nas je bilo oko 30.



Na slici snimljenoj 12. 07. 1953. na brodu kojim smo iz Ohrida posjetili manastir sv. Nauma nalaze se u prvom redu odozdo s desna na lijevo sjede: Milan VULINEC (naočale; profesor, internist), Zvonko HORVAT (veterinar, PIK, Belje), Bela DEŽE (bijela kapa; veterinar, praktičar), Darko MANDIĆ (igleda u kameru i smije se; veterinar, praktičar), nepoznat (sjedi iza stupa), Zlatko WIETHE (tamne naočale; veterinar, Agrokombinat, Zagreb), Miroslav PAVLOVIĆ (mr. sc. OZ Croatia). U srednjem redu stoje: Ivica BEDENKO (u trenirci; veterinar u Klačnici Sljeme, Zagreb), Mijo KOPLJAR (profesor, porođiljstvo), Franc SAMOJLENKO (u kratkom kaputu; veterinar, praktičar?), Milka BELA (veterinarka, Mljekara, Bjelovar), Zdravko BELA (tamne naočale; veterinar Mljekara, Bjelovar), nepoznat (vidi se samo glava), Dušan ROGOŠIĆ (naočale; veterinar MI Gavrilović), Slavko CVETNIĆ (profesor, zarazne bolesti), Tomo MARTINČIĆ (profesor, patofiziologija), Zdenko LUČINGER (bijela kapa; veterinar, praktičar), Dragan ČATOVIĆ (zaogrnut kaputićem; veterinar, praktičar). U gornjem redu stoje: Romeo ČERNE (podbočio lijevu ruku; veterinar, praktičar?), Branka VITAŠ (veterinarka, PIK, Belje), Mladen MOLAN (veterinar, praktičar), Alojz FEUŠ (veterinar, praktičar) i Vinko GEČEK (u majici; veterinar, praktičar).

Slavko CVETNIĆ, akademik, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti

In memoriam - dr. sc. Vlatko Ivoš, dr. med. vet.

Dana 27. travnja ove godine nakon duge i teške bolesti u Christchurchu na Novom Zelandu umro je naš kolega dr. sc. Vlatko Ivoš. Bio je dobar čovjek, iskreni prijatelj, vrsni stručnjak enciklopedijskog znanja i ogromnog iskustva, doktor znanosti, načitan i obrazovan, nikada sebičan

Dr. sc. Vlatko Ivoš se rodio 12. listopada 1934. godine u Kusanovcu u općini Lonjica. Osnovnu školu je završio u Brckovljanima, a gimnaziju u Kušlanovoj ulici u Zagrebu. Na Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao se 1954., a diplomirao je na sam Božić 1959. godine. Dana 21. siječnja 1960. godine počinje raditi u Veterinarskoj

stanici Petrijanec u Petrijancu, a zatim u Jalžabetu i svinjogojskoj zadruzi Severin kraj Bjelovara. Tijekom rada u zadruzi, godine 1964. na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu stječe zvanje doktora znanosti. U prosincu, nakon položenih testiranja, odlazi s obitelji u Novi Zeland gdje je radio u veterinarskoj praksi brinući se za zdravlje životinja na farmama na području koje mu je bilo dodijeljeno. Kasnije, godinama je radio kao glavni nadzorni veterinar u velikim izvoznim klaonicama papkara.

Godine 1985. se vraća u Zagreb i do sredine 1989. radi kao ovlašteni veterinarski inspektor Veterinarske stanice grada Zagreba u Mesnoj industriji „Zagrepčanka“ u Heinzelovoj ulici u Zagrebu. Nakon ponovnog odlaska u Novi Zeland vraća se u Ministarstvo poljoprivrede i ribarstva te do umirovljenja, a i desetak godina nakon toga, ponovno radi kao glavni nadzorni veterinar u izvoznim klaonicama papkara.

Izuzetno sam ponosan i zadovoljan što sam imao sreću raditi i družiti se s vrijednim i plemenitim čovjekom, dr. sc. Vlatkom Ivošem, koji je uvijek pomagao drugima, a da za sebe nikada ništa nije tražio. Nakon jednogodišnje borbe, prerano je završio život pun dobrih i plemenitih djela.

Đuro MAJURDŽIĆ

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

U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.
- 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
 1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959):

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

Predaja rukopisa:

Jednu kopiju rukopisa zajedno s računalnim zapisom u Microsoft Word programu na disketi 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 elektroničkom poštom na e-mail: smarko@vef.hr bez tiskanog primjerka.

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu.

Pozivaju se svi čitatelji „Veterinarske stanice“ da pošalju fotografiju (poštom, e-mailom ili po dogovoru, glavnom uredniku - kontakt: 091/2390-157; smarko@vef.hr), s fakulteta, s terenske nastave, iz prakse, kongresa, simpozija, skupa ili iz neke druge prigode vezane uz veterinarsku djelatnost. Uz fotografiju treba poslati naslov, kratki opis zbivanja vezanih uz fotografiju, mjesto i vrijeme nastanka te osobe s fotografije s punim imenom i prezimenom i titulom. Fotografije će nakon selekcije biti vraćene pošiljatelju.