

Teško provedive, teško razumljive, opširne i neusklađene zakonske propise koji reguliraju veterinarsku djelatnost treba mijenjati



Petar Džaja

Duboko svjestan davno izrečene misli da „samo pametni zamjećuju”, u ovom slučaju, iako nastojim zamijetiti da nešto nije dobro, odnosno da bi nešto trebalo biti bolje, svjestan sam da za ovo ne treba posebna pamet, nego samo dobra volja da u struci neke stvari budu bolje nego što su sada. Što više pišem i govorim o gore navedenoj tematiki svjestan sam da sve više postajem *Don Quijote*.

Na trenutke se pitam jesam li u pravu kad o ovim stvarima pišem i govorim kao pojedinac, ne trebam li se priključiti većini koja vidi da bi neke stvari trebale biti bolje, ali iz različitih razloga šuti. No, jedina namjera mi je, bez prozivanja bilo koga, ukazati da nešto nije u redu, odnosno da je nešto teško razumljivo, teško primjenljivo i neusklađeno sa zakonom, da nas nema gdje bismo trebali biti, da smo iz nekih poslova neopravданo izbačeni, da smo u nekim poslovima maksimalno podcijenjeni i sl. Ako probleme ne uočimo, ako o njima ne pišemo i ne govorimo, ne možemo niti očekivati da ćemo ih riješiti.

A zbog ovih rješivilih problema, za koje smo svjesni da postoje ponekada postajemo glavna vijest dnevnih glasila na osnovi kojih se najčešće dobiva loš dojam o našoj

prelijepoj struci. Želim reći da dvosmisleni ili teško razumljivi članci pojedinih normativnih akata ponekad dovede kolege inspektore u zablude pa istu stvar tumače na različite načine, zbog čega se postavlja pitanje zašto se iz pojedinih članaka te dvosmislenosti i nejasnoće ne izbace ili poprave.

Nije rijetkost da se pojedini članci nekog pravilnika neopravdano različito tumače (ne zbog različite epizootiološke situacije), zbog čega se postavlja pitanje živimo li u državi na čijem teritoriju vrijede isti zakonski propisi koji reguliraju veterinarsku djelatnost. Davno smo učili i ako nismo znali da Ustav RH u čl. 5. st. 1 navodi: „U RH zakoni moraju biti u suglasnosti s Ustavom, a ostali propisi s Ustavom i zakonom”, redovito smo padali na ispit. Prostor ove rubrike ne dopušta kao ni njen naslov nabranjanje svih gore navedenih slučajeva, ali ipak ostavljamo jedan da usporedite je li to tako kako nalaže temeljni zakon naše države, Ustav.

Zakon o veterinarstvu (NN 41/07.) u čl. 111 st. 2 navodi: „Postavljanje dijagnoze, propisivanje lijeka, liječenje, kirurške, porodiljske i druge zahvate na životinjama, promet veterinarskih lijekova, veterinarski

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

pregled i kontrolu te druge poslove veterinarskog javnog zdravstva obavlja samo doktor veterinarske medicine”.

Pravilnik o uvjetima kojima moraju udovoljavati veterinarske organizacije, veterinarska praksa i veterinarska služba u sustavu provedbe veterinarske djelatnosti (NN 45/09., 80/10. i 153/11.) u čl. 43 st. 9 navodi: „Veterinarska organizacija, veterinarska praksa i veterinarska služba u kojima postoji potreba za obavljanje kirurških zahvata na otvorenim tjelesnim šupljinama, dubokom mišiću, kostima i zglobovima malih životinja, mora imati veterinara sa završenim poslijediplomskim studijem iz područja biomedicine i zdravstva, znanstveno polje veterinarske medicine, grana kliničke znanosti, specijalistički studij iz Kirurgije, ortopedije i oftalmologije s anestezijom ili specijalistički studij Patologije i uzgoj domaćih mesoždera, odnosno odgovarajuću stručnu kvalifikaciju u skladu s posebnim propisima o priznavanju inozemnih kvalifikacija. Napominjemo da isti pravilnik pod „malim životnjama“ podrazumijeva mesojede i životinje čije se meso ne koristi za prehranu ljudi (žirafa, nilski konj, krokodil, slon i sl.).

Uz ostavljenu mogućnost usporedbе prosuđivanja je li Pravilnik proistekao iz Zakona, postavlja se pitanje postoji li ovdje nekakav vid diskriminacije gdje pojedine kirurške zahvate na velikim životnjama mogu obavljati, nazovimo to grubo, obični veterinari, a na malim životnjama veterinari specijalisti, iako je definicija po navedenom pravilniku malih i velikih životinja u najmanju ruku smiješna. Znam da ćete reći da ste davno naučili iz sudskog veterinarstva da specijalističke zahvate ne moraju obavljati veterinari, ali ako se njih prihvate, moraju ih obaviti po svim pravilima struke, kao i da navedeni Pravilnik niti jednom rečenicom ne zabranjuje veterinarima specijalistima obavljanje navedenih kirurških zahvata na kravama, konjima i drugim velikim životnjama. No, temeljno je pitanje zašto je ozakonjeno da veterinari specijalisti nešto

rade samo na malim životnjama kada se u temeljnom Zakonu veterinarske djelatnosti (Zakon o veterinarstvu) tako ne navodi.

Ovakvih primjera ima još, npr.: pregled kod utovara i istovara, klanja životinja i sl. Veterinarska je medicina na našim prostorima u posljednje vrijeme strašno uznapredovala u liječenju malih životinja, u odnosu čovjeka prema životnjama, što je sve popraćeno zakonskom regulativom, ali postavlja se pitanje nisu li dosadašnje operacije koje su izvodili „obični veterinari“ na navedenim životnjama napravile nestručne osobe, iako je u Zakonu ovo bilo regulirano tada, kao i danas.

Na osnovi svega postavlja se logično pitanje: Zašto u Pravilniku nije navedeno da preglede životinja i lešina, patohistološku i druge pretrage za koje treba šire ili barem isto znanje mogu obavljati samo specijalisti? Kad bi odgovor bio potvrđan, a što bi bilo logično, postavilo bi se nadalje pitanje što bi veterinar mogao raditi nakon završenog Veterinarskog fakulteta te koliko bi uz već izgubljeni sjaj teško stečena diploma bila još manje sjajna?

Zaključak je jasan: Diplomi treba povratiti stari sjaj, ili uvesti da sve gore navedene poslove obavljaju samo specijalisti i to ne samo na malim već i na velikim životnjama kako bi se izbjegla spomenuta diskriminacija s obzirom na veličinu životinje te izbjegao interes pojedinaca, odnosno skupina.

Ima stavaka u pojedinim pravilnicima koji su stručno neopravdani, ponekad teško provedivi pa se postavlja pitanje zašto ih ne izbaciti kako ne bi dovodili veterinarske inspektore u situaciju da rade zakonom dopuštene poslove koji su suprotni pravilima struke koju ti zakoni reguliraju.

Duboko sam uvjeren da će ovo što pišem naići na plodno tlo, imajući potpuno razumijevanje za problematiku struke. U pregovorima smo bili prisiljeni neke akte donijeti na brzinu (nekada su se preveli postojeći pravilnici drugih država ne vodeći računa jesu li kod nas primjenljivi i

jesu li usklađeni s našim zakonom!), što ne znači da se oni danas ne trebaju mijenjati s ciljem lakšeg razumijevanja, provodljivosti i zakonske usklađenosti. Za ovu su situaciju u nekim segmentima objektivni razlozi zbog čega ne treba prozivati nikoga, ali nužno je i objektivno reći da smo za neke loše stvari u našoj struci sami mi krivi te se postavlja moralno pitanje: Imamo li pravo šutjeti, odnosno je li moralno ako se nešto zna da nije dobro, to ne izmijeniti, odnosno popraviti?

No, ne mogu ne napisati da zbog svega navedenoga ponekada za ovakvu situaciju plaćaju životinje - i to nekada neopravданo - glavom. Uz napomenu da smo neke poslove izgubili (stočarski inspektor, utovar istovar i dr.), da bismo u nekim trebali biti (sanitarni inspektor), da smo u nekim podcijenjeni (cijena inspektorskih pregleda životinja u klaonici), postoje i drugi mnogobrojni problemi pred kojima nemamo pravo šutjeti, kako zbog naših prethodnika koji su se i te kako "borili" da imamo ovo što imamo, tako i zbog nadolazećih generacija kojima u svakom pogledu trebamo ostaviti uređenu veterinarsku djelatnost.

Uvijek je lakše kritizirati negoli nešto dobro napraviti pa da ne budem isključivo i samo kritičan i kritizer, predlažem da se struka „ujedini“ iznoseći na stol sve probleme s namjerom da se oni riješe na dobrobit naše struke, vlasnika životinja, odnosno naše domovine. Probleme treba evidentirati ne obazirući se na nedodirljive pojedince (diranje u sukob interesa), već samo na opće dobro. Da bi se isti uočili, treba čuti glas s terena i njegovu problematiku (sve djelatnike veterinarske djelatnosti, vlasnike životinja), ali na način da se problematika s terena razradi po županijama, zatim glas fakulteta, instituta, uprave i dr.

Nakon evidentiranja navedenih problema kojih ima, treba napraviti

plan i program njihova rješavanja. Treba svakom problemu pristupiti ozbiljno sagledavajući njegovu etiologiju, to jest proizlazi ili on zbog toga što zakonski nije reguliran, što je akt koji ga regulira u kontradikciji s temeljnim Zakonom, što je nerazuman, neprovediv ili zbog nečega drugoga. U nastojanjima da se svi problemi evidentiraju očekivati je nove probleme, a osnovni će problem biti tko će biti taj koji će koordinirati cijeli posao, odnosno tko će imati snage, znanja, hrabrosti i volje da se prihvati ovog posla, iako je zakonski jasno tko bi to trebao biti.

U uočavanju i iznošenju problema ova upozorenja ne smiju upućivati da nešto nije dobro, već da li bi nešto trebalo biti bolje i potaknuti one koji se smatraju pogodjeni takvim konstatacijama na neke sankcije ili nešto slično. Na kongresima i skupovima ovo se ne može riješiti jer iz iskustva dobro znamo daje dvorana u kojoj se skup održava puna samo za vrijeme otvaranja. Nije bio malo broj veterinarskih skupova na kojima su se iznosili problemi iz veterinarske djelatnosti, ali na žalost ostalo je samo na tome. Nakon četiri godine na istom skupu nitko se nije zapitao jesu li uočeni problemi od prije četiri godine riješeni, kako i tko ih je riješio. Zbog svega predlažem osnivanje veterinarskog sindikata što sam predlagao i u Šibeniku 2008.

Brzina rješavanja ne smije ići na uštrb kvalitete, a dobiveni rezultati trebaju pomoći struci bez obzira na to odgovaraju li oni pojedincu, organizaciji i sl. I na koncu ovaj tekst završavam s napomenom „mali“ smo, ujedinjeni smo jači i samo tako možemo pokušati vratiti ono što smo nekada imali i radili, vratiti ugled i dostojanstvo te se naći tamo gdje nam je mjesto, odnosno tamo gdje ćemo posao obaviti najprofesionalnije.

XYLAZINE 2%

otopina injekcijska

živčani sustav

sedativ, analgetik i miorelaksans
stimulator α_2 -adrenergičnih receptora, ksilazin
za goveda, konje, pse i mačke



SASTAV

Jedan mL bistre bezbojne injekcijske otopine Xylazine 2%

sadrži:

Ksilazin u obliku ksilazin klorida.....20 mg

Pomoćne tvari: benzetonijev klorid, natrijev hidroksid, kloridna kiselina i voda za injekcije.

20 mg ksilazina = 23.32 mg ksilazin klorida.

INDIKACIJE

Xylazine 2% primjenjuje se za sedaciju, analgeziju i miorelaksaciju goveda, konja, pasa i mačaka, sam ili u kombinaciji s drugim sredstvima, ovisno o vrsti i intenzitetu željenog učinka pr.:

- pregled i prijevoz uzbudenih i nemirnih životinja;
- klinička, rendgenološka, ginekološka i rektalna pretraga; uklanjanje zavoja, pregled usne šupljine, penisa i dr.
- premedikacija pri manjim kirurškim zahvatima, te za anesteziju u kombinaciji s drugim analgeticima i/ili anesteticima.

OSNOVNA SVOJSTVA I DJELOVANJE

Ksilazin je nenarkotički sedativ koji ulazi u SŽS, potiče presinaptičke α_2 -adrenergične receptore (agonist), a time umanjuje otpuštanje dopamina i noradrenalina. U životinja uzrokuje sedativno, miorelaksantno i analgetsko djelovanje, čiji stupanj ovisi o apliciranoj dozi i životinjskoj vrsti. Analgestko i sedativno djelovanje ksilazina posljedica je depresivnog učinka na SŽS, dok se miorelaksantno djelovanje temelji na kočenju intraneuralnog prijenosa podražaja u SŽS-u.

Xylazine 2% može se primijeniti i.v., i.m. ili s.c. Nakon i.v. injekcije djelovanje nastupi u roku od 5 min., jače je izraženo no kraće traje. Nakon i.m. injekcije djelovanje se očituje unutar 5-15 min., a nakon s.c. aplikacije nastupi nešto kasnije. Ovisno o dozi i putu aplikacije učinak ksilazina traje od 0.5 do 5 sati. Intenzitet sedacije biti će slabiji u uzbudenih životinja. Pacijente se ne smije uznemiravati do nastupa pune sedacije.

KARENCIJA

Govedo i konj -

Meso i jestive iznutrice.....3 dana.

Mlijeko.....2 dana.

OPREMA

Kartonska kutija u kojoj je 1 smeđa staklena bočica (tip II) s 30 mL injekcijske otopine, zatvorena gumenim čepom i aluminijiskom kapicom.

NAČIN ČUVANJA

Na tamnome mjestu (kartonska kutija), pri temperaturi 15-25°C te izvan pogleda i doseg djece. Pripravak se ne smije smrznuti.

NAČIN PRIMJENE I DOZE

Govedo

Xylazine 2% primjenjuje se i.m. (djelovanje nastupa sporije i traje duže). Doza ksilazina je 0.05-0.3 mg/kg t.m. (Xylazine 2% 0.25-1.5 mL/100 kg t.m.), ovisno o stupnju sedacije koja se želi postići. Vrlo nemirnim i razdraženim životinjama ponekad je nužno aplicirati veću dozu, no ona ne smije prelaziti 0.3 mg ksilazina/kg t.m. (doza IV.)

Doza	Djelovanje	Ksilazin mg/kg	Xylazine 2% mL/50 kg
I.	blago	0.05	0.125
II.	srednje jako	0.10	0.25
III.	jako	0.20	0.5
IV.	vrlo jako	0.30	0.75

Konj

Kad god je moguće Xylazine 2% treba konjima primijeniti sporo i.v. (aplikacija mora trajati 1-2 min.). Ovisno o stupnju sedacije koja se želi postići i odgovoru životinje, doza Xylazine 2% iznosi 3-5 mL/100 kg t.m. (0.6-1 mg ksilazina/kg t.m., i.v.). U slučaju i.m. primjene aplicira se 4 mL/100 kg t.m.

Pas

Doza Xylazine 2% je 0.15 mL/kg t.m. (ksilazin 3 mg/kg) i.m. ili i.v. S tom se dozom postiže slaba do srednje jaka sedacija, tijekom 30-120 min., te različiti stupanj analgezije i dobra miorelaksacija. Ta doza prikladna je za premedikaciju opće anestezije i za postupke kod kojih nije prisutna bol u većoj mjeri. Za bolne postupke Xylazine 2% treba primijeniti u kombinaciji s lokalnim i/ili općim anesteticima te analgeticima.

Mačka

Doza Xylazine 2% je 0.15 mL/kg t.m. i.m. (3 mg/kg). S tom se dozom postiže blaga do izrazita sedacija (traje 30-120 min.), a prikladna je za premedikaciju opće anestezije i za postupke kod kojih nije prisutna bol. Ponekad je povoljno obaviti premedikaciju atropinom.

Zastupnik



CENTRALNA VETERINARSKA

AGENCIJA d.o.o.

Zagreb, Utinska 40

tel. 01/2304-334; -335

fax. 01/6604-031

99,00 kn/30 mL

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Proširenost virusnog rinitisa i adenovirusne infekcije konja u Republici Hrvatskoj

Lj. Barbić, Tina Raimann, Nataša Bodlović, V. Stevanović, V. Starešina, Snježana Kovač, T. Bedeković, Ivana Lojkic, Nina Lemo i J. Madić



Uvod

Respiratorne bolesti konja predstavljaju skupinu bolesti koja, zbog zdravstvenih poremećaja s mogućim dugoročnim posljedicama, ima izrazito značenje u konjičkom sportu i konjogradstvu općenito. Među respiratornim bolestima posebno mjesto zauzimaju zarazne bolesti zbog mogućnosti brzog širenja i oboljevanja velikog broja životinja.

Unutar skupine zaraznih respiratornih bolesti konja najveću važnost imaju virusne infekcije od kojih su najznačajnije influenca konja, virusni arteritis konja i rinopneumonitis konja (Wood i sur., 2007.). Klinički se sve navedene bolesti očituju, u različitom stupnju: izraženim povišenjem temperature, iscijedkom iz nosa, smanjenim apetitom te kašljem varijabilne učestalosti i intenziteta. Suzbijanju navedenih bolesti zbog izrazite kontagioznosti, odnosno drugih mogućih kliničkih manifestacija kao što su: pobačaji ili neurološki oblici s visokom smrtnošću, pristupa se u što kraćem vremenskom roku,

najčešće sukladno zakonski propisanim odrednicama. Zbog navedenoga, vrlo je važno pravovremeno postavljanje točne etiološke dijagnoze.

Diferencijalnu dijagnostiku respiratornih oblika bolesti prouzročenih navedenim virusima, dodatno otežava ovisnost kliničkih oblika o individualnoj dispoziciji, imunološkom statusu pojedine životinje kao i uzgoja u cijelosti, podtipu ili virusnom soju uzročnika te načinu korištenja kao i drugim čimbenicima rizika (Davis, 2007.).

S druge strane, dodatna poteškoća je i moguća infekcija drugim virusima, koji mogu prouzročiti klinički identične respiratorne znakove, od kojih su najznačajniji rinovirus konja A (ERAV) i rinovirus konja B (ERBV) te adenovirus konja tip 1 (EAdV-1) i adenovirus konja tip 2 (EadV-2) (Powell, 1991.).

Infekcija rinovirusima konja uzrokuje akutnu respiratornu bolest sa sistemskim manifestacijama, kod koje klinički znakovi mogu varirati, a u većem broju slučajeva dolazi i do subkliničkog oblika bolesti (Hofer i sur., 1973.). Ova je bolest znatno

Dr. sc. Ljubo BARBIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, Vladimir STEVANOVIĆ, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Vilim STAREŠINA, dr. med. vet., izvanredni profesor, mr. sc. Snježana KOVAČ, dr. med. vet., dr. sc. Josip MADIĆ, dr. med. vet., akademik, Veterinarski fakultet Zagreb; Tina RAIMANN, dr. med. vet., Nataša BODLOVIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Tomislav BEDEKOVIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, dr. sc. Ivana LOJKIĆ, dipl. biol., znanstvena savjetnica, Nina LEMO, dr. med. vet., asistentica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

proširena u uzgojima konja, a širenje je najčešće izravnim dodirom sa subklinički oboljelim životinjama. U širenju bolesti uz subklinički oboljele životinje, značajne su i rekonalcescentne klicnoše koji mogu prenosi i širiti virus putem urina i fecesa i do 4 tjedna poslije infekcije (Plummer, 1962., McCollum i Timoney, 1991.). Navedeno omogućava brzo i lako širenje bolesti te je u istraživanju načinjenom u Sjedinjenim Američkim Državama dokazano da je 73% konja mlađih od tri godine bilo serološki pozitivno na rino-virusu konja, dok je u konja u dobi preko četiri godine taj postotak bio i 90% (Holmes i sur., 1976.).

Adenovirusna se infekcija konja najčešće očituje akutnim oboljenjem gornjih dišnih prohoda uz pojavu nosnog iscjekta i otežanog disanja, konjunktivitisa, povišenja tjelesne temperature i anoreksije te u komplikiranim slučajevima bronhopneumonije. Drugi simptomi koji se još mogu pojaviti su: kašalj, pogotovo nakon napora te povećanje podviličnih limfnih čvorova (Powell i sur., 1974., Studdert, 1996.). Rjeđe, mogubiti zahvaćeni i drugi organski sustavi, prije svega probavni (Powell i sur., 1974., Studdert, 1978.). Izvor su infekcije bolesne životinje koje izlučuju virus te najčešće inficiraju druge životinje aerogeno kapljicom infekcijom. Značajan način širenja infekcije predstavljaju rekonalcescentni klicnoše i subklinički oboljele životinje. U njih je virus izoliran 68 dana nakon infekcije iz nosnog i ždrijelnog sekreta te kroz cijelo to vrijeme rekonalcescentni klicnoše i subklinički oboljele životinje predstavljaju izvor infekcije (Burrows i Goodridge, 1978.). Navedeno omogućava i znatnu proširenost infekcije u uzgojima koja varira od 2% do 100% ovisno o dijagnostičkoj metodi te o dobroj i pasminskoj strukturi, aktivnosti i veličini pretraživanih uzgoja (Studdert, 1996.).

U Republici Hrvatskoj u posljednjem desetljeću su zabilježene epizootije influence konja (Barbić i sur., 2009.a) i rinopneumonitisa konja (Barbić i sur., 2012.) te je dokazana znatna proširenost rinopneumonitisa (Barbić i sur., 2010., Perharić i sur., 2011.) i virusnog arteritisa konja (Barbić i sur., 2009.b) u različitim uzgojima. Uz to, klinički su učestalo zabilježene epizootije respiratornih bolesti konja bez postavljene etiološke dijagnoze.

Kako bi dobili potpuniji sliku o pojavnosti različitih uzročnika respiratornih bolesti konja, cilj je ovog istraživanja bio, po prvi puta, serološki istražiti proširenost virusnog rinitisa konja i adenovirusne infekcije konja na uzorku od po 100 konja iz dvije pasminski i prema načinu držanja i korištenja različite skupine. Pretraživane skupine odabrane su kao predstavnici dvaju tipičnih načina uzgoja konja u Republici Hrvatskoj kako bi uz seroprevalenciju istražili i različite utjecaje na proširenost virusnog rinitisa i adenovirusne infekcije konja.

Materijal i metode

U ovom istraživanju pretraženo je ukupno 200 uzoraka serumu konja s područja Republike Hrvatske. Od pretraženih serumu, 100 uzoraka uzeto je sportsko-rekreacijskim konjima s područja grada Zagreba kao tipičnih predstavnika toplokrvnih životinja uzgajanih za sport i rekreaciju koji su u učestalom kontaktu s životinjama iz drugih uzgoja iz zemlje i inozemstva. Drugih 100 uzoraka podrijetlom su od životinja s područja Lonjskog polja, skupine autohtonih hrvatskih hladnokrvnih pasmina konja koji se veći dio godine drže u slobodnim uvjetima i predstavljaju veliku, ali relativno zatvorenu uzgojnu skupinu. Uzorci serumu unutar navedenih skupina

odabrani su metodom slučajnog odabira.

Krv je uzorkovana punkcijom *v. jugularis* vakumskim sistemom s iglom u epruvete s aktivatorom grušanja. Po zaprimanju uzoraka u laboratorij, krv je centrifugirana pri 1200 okretaja u minuti tijekom 10 minuta te je 1,5 mL seruma odvojeno u eppendorf epruvete. Uzorci seruma pohranjeni su na -20° C do izvedbe seroloških pretraga.

Za određivanje seroprevalencije virusnog rinitisa konja dokazivana su specifična protutijela za rinovirus konja A (ERAV) i rinovirus konja B (ERBV) reakcijom vezanja komplementa (RVK). Metoda je načinjena prema ranije opisanom postupku (Thomson i sur., 1976., Wood i sur., 2005.), a pozitivnim se smatrao dokaz specifičnih protutijela za ERAV ili ERBV u titru $\geq 1:5$.

Za dokaz specifičnih protutijela za adenovirus konja tip 1 (EAdV-1) načinjena je serološka pretraga metodom inhibicije hemaglutinacije (IHA) prema ranije opisanom postupku (Berlin i sur., 1963., Wood i sur., 2005.). Pozitivnim se rezultatom smatrao dokaz specifičnih protutijela u titru $\geq 1:8$.

Postignuti rezultati statistički su obrađeni kako bi se ustanovila značajnost razlika rezultata između istraživanih skupina, kao i utjecaj kategorije i dobi na proširenost virusnog rinitisa i adenovirusne infekcije unutar pojedine istraživane skupine.

Za statističku obradu podataka korištene su klasične metode deskriptivne

statistike te, ovisno o broju podataka za pojedinu kategoriju ili dobnu skupinu, metoda hi-kvadrat testa ili Fisher-ov egzaktni test.

Rezultati

Metodom reakcije vezanja komplementa specifična protutijela za rinoviruse konja dokazana su u 80% pretraženih seruma sportsko-rekreacijskih konja, odnosno u 93% pretraženih seruma u ekstenzivno držanih konja (tabela 1). Seroprevalencija u svih pretraživanih konja iznosila je 86,5%.

Seroprevalencija prema kategorijama varirala je u sportsko-rekreacijskih konja od 75% u ždrjebadi i omadi do 84,4% u kobila. U skupini ekstenzivno držanih konja seroprevalencija u kobila iznosila je 88,4% te u ždrjebadi visokih 97,8% (tabela 2). Jedini pretraženi kastrat u ovoj skupini bio je pozitivan, a istraživanjem nije obuhvaćen niti jedan pastuh.

Prema dobnim skupinama u sportsko-rekreacijskih konja najniža je seroprevalencija od 73,1% ustanovljena u životinja u dobi od 10 do 14 godina, dok je najviša bila u životinja u dobi od pet do devet godina. U ekstenzivno držanih konja najniža seroprevalencija od 71,4% isto je tako ustanovljena u dobroj skupini od 10 do 14 godina, dok su u svih šest pretraženih životinja u dobi iznad 15 godina ustanovljena specifična protutijela za rinoviruse konja pa seroprevalencija u ovoj dobroj skupini iznosi 100% (tabela 3).

Tabela 1. Seroprevalencija virusnog rinitisa i adenovirusne infekcije konja u pretraživanim skupinama i ukupno

Istraživana skupina konja	Broj uzoraka	SEROPREVALENCIJA	
		Virusni rinitis konja	Adenovirusna infekcija
Sportsko-rekreacijski	100	80,0%	55,0%
Ekstenzivno držani	100	93,0%	66,0%
UKUPNO	200	86,5%	60,5%

Tabela 2. Seroprevalencija virusnog rinitisa konja ovisno o skupinama i kategorijama pretraživanih životinja

Kategorija životinja	Sportsko rekreativski konji			Ekstenzivno držani konji			UKUPNO
	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	
Ždrjebad i omad	8	6	75,0%	47	46	97,8%	94,5%
Kobile	32	27	84,4%	52	46	88,4%	86,9%
Kastrati	45	35	77,8%	1	1	100%	80,0%
Pastusi	15	12	80,0%	0	0	-	80,0%
UKUPNO	100	80	80,0%	100	93	93,0%	86,5%

Tabela 3. Seroprevalencija virusnog rinitisa konja ovisno o skupinama i dobi pretraživanih životinja

Dob životinja (godine)	Sportsko rekreativski konji			Ekstenzivno držani konji			UKUPNO
	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	
0-4	16	12	75,0%	53	51	96,2%	91,3%
5-9	46	39	84,8%	27	26	96,2%	89,0%
10-14	26	19	73,1%	14	10	71,4%	72,5%
≥15 godina	12	10	83,3%	6	6	100,0%	88,9%
UKUPNO	100	80	80,0%	100	93	93,0%	86,5%

Serološkim pretragama ustanovljeno je da je u obje istraživane skupine seroprevalencija adenovirusne infekcije konja iznosila 60,5%. Rezultati su se prema skupinama razlikovali te je ustanovljena seroprevalencija od 55% u skupini sportsko-rekreativskih konja te 66% u skupini ekstenzivno držanih konja (tabela 1).

Prema kategorijama pretraživanih životinja u skupini sportsko-rekreativskih konja, najniža seroprevalencija ustanovljena je u ždrjebadi i omadi (37,5%), a najviša u kobila (62,5%) (tabela 4).

U skupini ekstenzivno držanih konja pretražen je samo jedan kastrat koji je bio pozitivan te niti jedan pastuh. U kategorijama s većim brojem životinja, ustanovljena je seroprevalencija od 66,0%

u ždrjebadi i omadi, odnosno 65,4% u kobila (tabela 4).

Seroprevalencija adenovirusne infekcije prema dobnim skupinama varirala je od 41,7% do 65,4% u sportsko-rekreativskih konja, odnosno od 64,3% do 66,7% u ekstenzivno držanih konja (tabela 5).

Uspoređujući proširenost virusnog rinitisa konja i adenovirusne infekcije u različitim skupinama konja, ustanovljeno je da je virusni rinitis konja značajno prošireniji u skupini ekstenzivno držanih konja nego u skupini sportsko-rekreativskih konja ($p=0,0071456$) dok razlike u proširenosti adenovirusne infekcije nisu statistički značajne.

Vezano na utjecaj dobi pretraživanih životinja na proširenost istraživanih bolesti dokazano je samo da je proširenost

Tabela 4. Seroprevalencija adenovirusne infekcije konja ovisno o skupinama i kategorijama pretraživanih životinja

Kategorija životinja	Sportsko rekreacijski konji			Ekstenzivno držani konji			UKUPNO
	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	
Ždrjebad i omad	8	3	37,5%	47	31	66,0%	61,8%
Kobile	32	20	62,5%	52	34	65,4%	64,3%
Kastrati	45	26	57,8%	1	1	100,0%	58,7%
Pastusi	15	6	40,0%	0	0	-	40,0%
UKUPNO	100	55	55,0%	100	66	66,0%	60,5%

Tabela 5. Seroprevalencija adenovirusne infekcije konja ovisno o skupinama i dobi pretraživanih životinja

Dob životinja (godine)	Sportsko rekreacijski konji			Ekstenzivno držani konji			UKUPNO
	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	Broj pretraženih životinja	Broj pozitivnih životinja	Postotak pozitivnih životinja	
0-4	16	7	43,8%	53	35	66,0%	60,9%
5-9	46	26	56,5%	27	18	66,7%	60,3%
10-14	26	17	65,4%	14	9	64,3%	65,0%
≥15 godina	12	5	41,7%	6	4	66,7%	50,0%
UKUPNO	100	55	55,0%	100	66	66,0%	60,5%

virusnog rinitisa konja značajno manja unutar skupine ekstenzivno držanih konja u životinja u dobi od 10 do 14 godina ($p=0,029$).

Utjecaj kategorije na proširenost istraživanih bolesti nije dokazana niti u jednoj istraživanoj skupini.

Rasprava

Načinjenim istraživanjem dokazana je značajna proširenost virusnog rinitisa konja i adenovirusne infekcije konja u obje, uzgojno različite, pretraživane skupine konja s područja Republike Hrvatske.

Specifična su protutijela za virusni rinitis konja ustanovljena u 80% pretraženih seruma sportsko-rekreacijskih konja, odnosno u 93% pretraženih seruma ekstenzivno držanih konja.

Kako je virusni rinitis konja bolest s visokom seroprevalencijom, koja varira od 4 do preko 90% (Holmes i sur., 1976., Carman i sur., 1997., Dunowska i sur., 2002., Black i sur., 2007.) i pojavljuje se u različitim uzgojima konja širom svijeta, rezultati su našeg istraživanja u skladu s proširenošću bolesti opisanom u svijetu. Visoka seroprevalencija omogućena je izlučivanjem virusa iz oboljele životinje dišnim sekretima i urinom koje može trajati i dulje vrijeme (Plummer, 1962., McCollum i Timoney, 1991.) što omogućava jednostavno prenošenje uzročnika na prijempljive životinje kako izravnim dodirom s oboljelim životnjama tako i neizravno posredstvom kontaminiranih predmeta i prostora.

U istraživanju je dokazana značajno veća proširenost bolesti u skupini ekstenzivno držanih konja u odnosu

na sportsko-rekreacijske konje što je najvjerojatnije posljedica načina držanja s nekontroliranim stalnim kontaktom ekstenzivno držanih konja, kao i boravka svih životinja na istom prostoru u stalnoj kohabitaciji. Za razliku od njih sportsko-rekreacijski konji borave u različitim objektima i pojedine životinje nisu u stalnom dodiru s cjelokupnom skupinom.

Analizirajući seroprevalenciju prema kategorijama i dobnim skupinama nije uočena značajnija razlika s izuzetkom iznenađujuće manje seroprevalencije u skupini ekstenzivno držanih konja u dobi od 10 do 14 godina. Viša seroprevalencija u starijih dobnih skupina dokazana je u istraživanju drugih autora (Holmes i sur., 1976.) pa su naši rezultati s dokazanom nižom seroprevalencijom ustanovljenom u ekstenzivno držanih životinja u dobi od 10-14 godina u suprotnosti s njima. Ovaj rezultat ipak treba uzeti sa zadrškom zbog premalog i neujednačenog uzorka te bi za potvrdu rezultata bilo potrebno načiniti dodatna opsežnija istraživanja. Navedena uniformnost seroprevalencije u svim drugim dobnim skupinama i kategorijama u skladu je s visokom proširenošću bolesti kao i opisanim mogućnostima širenja. Uz to, dokazani titrovi protutijela na rinoviruse konja od 1:5 do 1:160 u sportsko-rekreacijskih konja, odnosno 1:5 do 1:80 u ekstenzivno držanih životinja (podatci titrova za pojedinačne životinje nisu prikazani) dokazuju različito vrijeme zaražavanja konja unutar istih uzgojnih skupina. Podjednaka učestalost seropozitivnih životinja po kategorijama i dobnim skupinama kao i dokazano različito vrijeme zaražavanja pojedinih životinja, ukazuju na enzootsko pojavljivanje virusnog rinitisa konja u različitim skupinama životinja s područja

Republike Hrvatske. Dokaz specifičnih protutijela u 11 životinja u dobi od šest mjeseci do jedne godine u skupini ekstenzivno držanih konja isto tako ukazuje na recentnu cirkulaciju virusa, što podupire tvrdnju o enzootskoj proširenosti bolesti.

Zaključno, virusni rinitis konja je bolest široko rasprostranjena u različitim uzgojima konja u Republici Hrvatskoj. Bolest je proširenja u uzgojima ekstenzivno držanih hladnokrvnih konja, a u obje istraživane pasminski i uzgojno različite skupine konja pojavljuje se enzootski.

S obzirom na navedeno i poteškoće u kliničkom razlikovanju od drugih, gospodarski značajnijih respiratornih bolesti konja, uvođenje objektivne dijagnostike virusnog rinitisa konja u rutinsku dijagnostiku znatno bi unaprijedilo kliničku praksu i diferencijalnu dijagnostiku te tako olakšalo provođenje pravovremenih i primjerenih mjera suzbijanja i kontrole različitih respiratornih bolesti konja.

U dosadašnjim istraživanjima adenovirusne infekcije konja seroprevalencija je varirala od 2 do 100%, ovisno o serološkoj metodi koja je korištena te o dobi životinja, pasmini, aktivnosti i veličini pretraživanih skupina (Studdert, 1996.). S druge strane, u nizu drugih istraživanja utjecaj pasmine, načina držanja, dobi ili kategorije nije dokazan (Harden i sur., 1974., Horner i Hunter, 1982., Studdert i Blackney, 1982., Giles i sur., 2009.).

Rezultati provedenog istraživanja dokazuju da se seroprevalencija u Republici Hrvatskoj kreće u svjetskim okvirima i iznosi 60,5%. U sportsko-rekreacijskih konja je nešto niža i iznosi 55%, u odnosu na seroprevalenciju u ekstenzivno držanih konja koja iznosi 66%. Razlika proširenosti

između uzgojno i pasminski različitih istraživanih skupina, statističkom obradom podataka, nije se pokazala značajnom.

U prikazanom istraživanju nije ustanovljen ni utjecaj dobne skupine ili kategorije na seroprevalenciju unutar pretraživanih skupina.

Vezano uz dob pretraživanih životinja, značajno je istaknuti podatak, da je od 17 ždrjebadi iz skupine ekstenzivno držanih konja njih 12 bilo pozitivno što čini 70,6% (podatci nisu prikazani). Dokaz specifičnih protutijela u životinja u dobi od šest mjeseci do godine dana zasigurno dokazuje recentnu cirkulaciju adenovirusa konja u skupini ekstenzivno držanih životinja.

Visina titrova specifičnih protutijela varirala je u skupini sportsko-rekreacijskih konja od 1:8 do 1:512 dok je u ekstenzivno držanih konja iznosila od 1:8 do 1:256 (podatci nisu prikazani). Ustanovljene razlike u titrovim dokazuju različito vrijeme zaražavanja istraživanih životinja što ukazuje na enzootsko pojavljivanje adenovirusne infekcije konja u obje pretraživane skupine.

Sveukupno, rezultati prikazanog istraživanja adenovirusne infekcije, nedvojbeno dokazuju da je bolest široko proširena na području Republike Hrvatske u konja različitih skupina. Dokazana približno jednaka seroprevalencija u obje istraživane skupine, koje su predstavnici dvaju načina držanja i uporabe konja u Republici Hrvatskoj, potvrđuju značenje ove bolesti u svim uzgojima konja. Učestalost serološki pozitivnih konja, koja nije statistički značajno različita u odnosu na uzgojno i pasminski različite skupine, kategorije te dobne skupine životinja, očekivan je s obzirom na način širenja adenovirusne infekcije te prije svega s obzirom na mogućnost asimptomatskog kliconoštva. S obzirom da je adenovirusnu infekciju konja

praktično nemoguće klinički razlučiti od ostalih respiratornih zaraznih bolesti konja, a same mjere kontrole i suzbijanja su značajno različite u odnosu, na primjerice, influencu, neophodno je uvesti objektivnu dijagnostiku u svakodnevnu praksu.

Zaključno, u ovom je radu, po prvi put, opisana znatna proširenost virusnog rinitisa konja i adenovirusne infekcije konja u različitim skupinama životinja s područja Republike Hrvatske. Rezultati predstavljaju znatnu informaciju za vlasnike, uzgajivače i prije svega doktore veterinarske medicine radi potpunijeg sagledavanja diferencijalne dijagnostike respiratornih zaraznih bolesti konja. Prikazani rezultati sugeriraju potrebu za drugačijim pristupom u provođenju dijagnostičkih postupaka radi kompleksne etiologije respiratornih bolesti konja, kako bi se na objektivnoj osnovi pravovremeno načinila diferencijalna dijagnostika i provele odgovarajuće mjere suzbijanja i kontrole različitih respiratornih bolesti konja.

Uvođenje rutinske dijagnostike istraživanih bolesti omogućilo bi nastavak istraživanja na znatno većem broju uzoraka, neophodnom za pouzdano određivanje utjecaja pasmine, načina držanja, kategorija i dobi na epizootiologiju virusnog rinitisa konja i adenovirusne infekcije konja uvažavajući uzgojne i pasminske specifičnosti konjogojsvta u Republici Hrvatskoj.

Sažetak

U ovom su radu prikazani, po prvi put na području Republike Hrvatske, rezultati istraživanja proširenosti virusnog rinitisa i adenovirusne infekcije konja, dviju značajnih bolesti u diferencijalnoj dijagnostici respiratornih bolesti konja. Istraživanje je načinjeno na 200 konja od kojih je 100 bilo iz skupine sportsko-rekreacijskih konja s područja Grada Zagreba te 100 ekstenzivno držanih konja s područja Martinske

Vesi. Navedene skupine odabrane su kao predstavnici dva pasminski i uzgojno znatno različita načina držanja konja tipičnih za konjogostvo u Republici Hrvatskoj. U uzorcima seruma serološki su metodom reakcije vezanja komplementa dokazivana specifična protutijela za rinovirus konja te metodom inhibicije hemaglutinacije za adenovirusnu infekciju. Istraživanjem je dokazano da su obje bolesti značajno proširene u obje skupine pretraživanih životinja. Virusni rinitis konja proširen je u 80% sportsko-rekreacijskih konja te značajno više, sa seroprevalencijom od 93%, u ekstenzivno držanih konja. Adenovirusna infekcija je proširena u 55% sportsko-rekreacijskih konja te 66% ekstenzivno držanih životinja. Razlika u seroprevalenciji prema skupinama značajna je samo kod virusnog rinitisa konja. Znatno veća proširenost ove bolesti u skupini ekstenzivno držanih konja vjerojatno je posljedica specifičnog načina držanja. Visoke seroprevalencije te dokaz različitog vremena zaražavanja i recentne cirkulacije uzročnika, nedvojbeno dokazuju enzootsko pojavljivanje obje bolesti u obje skupine konja. Navedeno potvrđuje i izostanak utjecaja dobi i kategorije životinja na prošrenost istraživanih bolesti.

Dokaz visoke seroprevalencije virusnog rinitisa i adenovirusne infekcije konja na području Republike Hrvatske od iznimnog je značenja i naglašava potrebu za objektivnom dijagnostikom u kliničkim slučajevima respiratornih bolesti konja, jer etiološka dijagnoza omogućuje provođenje adekvatnog liječenja i profilakse. Još znatnije uvođenje rutinske dijagnostike navedenih bolesti omogućuje provođenje mjera suzbijanja i kontrole primjerenih pojedinoj bolesti iz kompleksa respiratornih zaraznih bolesti konja koje se prema gospodarskom i uzgojnom značenju te posljedično potrebним mjerama znatno razlikuju.

Literatura

1. BARBIĆ, LJ., J. MADIĆ, N. TURK and J. DALY (2009a): Vaccine failure caused an outbreak of equine influenza in Croatia. *Vet. Microbiol.* 133, 164-171.
2. BARBIĆ, LJ., N. TURK, Z. MILAS, V. STAREŠINA, Z. ŠTRITOF, J. HABUŠ, V. STEVANović and J. MADIĆ (2009b): Seroprevalence of equine viral arteritis in Croatia - variable specificity of immunoenzyme assay in different horse population. In: Programme & Proceedings: 20 years of ESVV: Integrating classical and molecular virology. Budapest, Hungary, 66.
3. BARBIĆ, LJ., N. TURK, Z. MILAS, V. STAREŠINA, V. STEVANović, K. MARTINKović, T. BEDEKOVić, I. LOJKIĆ, M. LOJKIĆ and J. MADIĆ (2010): Equine rhinopneumonitis in Croatia 2009 - introduced or unrecognized disease. In: Abstracts of the XVIth SIVE International Congress. Carrara, Italy, 282-283.
4. BARBIĆ, LJ., I. LOJKIĆ, V. STEVANović, T. BEDEKOVić, V. STAREŠINA, N. LEMO, M. LOJKIĆ and J. MADIĆ (2012): Two outbreaks of neuropathogenic equine herpesvirus type 1 with breed-dependent clinical signs. *Vet. Rec.* 170, 227.
5. BERLIN, B. S., J. L. MCQUEEN, E. MINUSE and F. M. DAVENPORT (1963): A method for increasing the sensitivity of the hemagglutination-inhibition test with equine influenza virus. *Virology* 21, 665-666.
6. BLACK, W. D., R. S. WILCOX, R. A. STEVENSON, C. A. HARTLEY, N. P. FICORILLI, J. R. GLIKERSON and M. J. STUDDERT (2007): Prevalence of serum neutralising antibody to equine rhinitis A virus (ERA), equine rhinitis B virus 1 (ERBV1) and ERBV2. *Vet. Microbiol.* 115, 65-71.
7. BURROWS, R. and D. GOODRIDGE (1978): Observations of picornavirus, adenovirus, and equine herpesvirus infections in the Pirbright pony herd. In: Proceedings of the Fourth International Conference on Equine Infectious Diseases. Veterinary Publications, Princeton, NJ, 155-164.
8. CARMAN, S., S. ROSENDAL, L. HUBER, C. GYLES, S. McKEE, R. A. WILLOUGHBY, E. DUBOVI, J. THORSEN and D. LEIN (1997): Infectious agents in acute respiratory disease in horses in Ontario. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 17-23.
9. DAVIS, E. G. (2007): Respiratory infection. In: SELDON, D. C. and LONG M. T.: *Equine Infectious Diseases*. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, SAD, pp. 1-20.
10. DUNOWSKA, M., C. R. WILKS, M. J. STUDDERT and J. MEERS (2002): Viruses associated with outbreaks of equine respiratory disease in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 50, 132-139.
11. GILES, C., H. A. M. CAVANAGH, G. NOBLE and T. VANNIASINKAM (2009): Prevalence of equine adenovirus antibodies in horses in New South Wales, Australia. *Vet. Microbiol.* 143, 401-404.
12. HARDEN, T. J., R. R. PASCOE, P. B. SPRADBROW and K. G. JOHNSTON (1974): The prevalence of antibodies to adenoviruses in horses from Queensland and New South Wales. *Aust. Vet. J.* 50, 477-482.
13. HOFER, B., F. STECK, H. GERBER, J. LOHRER and M. F. PACCAUD (1973): An investigation of the etiology of viral respiratory disease in a remount depot. In: Proceedings of the 3rd International Conference on Equine Infectious Diseases, Basel, 527-545.
14. HOLMES, D. F., M. J. KEMEN and L. COGGINS (1976): Equine rhinovirus infection - serologic evidence of infection in selected United States horse populations. In: Proc. Int. Conf. Equine Infect. Dis. 4, 315-319.
15. HORNER, G. W. and R. HUNTER (1982): Isolation of two serotypes of equine adenovirus from horses in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 30, 62-64.
16. McCOLLUM, W. H. and P. J. TIMONEY (1991): Studies on the seroprevalence and frequency of equine rhinovirus-I and -II infection in normal horse urine.

- In: Proceedings of Sixth International Conference on Equine Infectious Diseases, Newmarket, UK, 83-87.
17. PĒRHARIĆ, M., LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, V. STAREŠINA, K. MARTINKOVIĆ, J. HABUŠ, Z. MILAS and N. TURK (2011): Seroprevalence of equine rhinopneumonitis in Croatia. In: Book of Abstracts of The International Congress Veterinary Science and Profession. Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, 48.
 18. PLUMMER, G. (1962): An equine respiratory virus with enterovirus properties. *Nature* 195, 519-520.
 19. POWELL, D. G., R. BURROWS and D. GOODRIDGE (1974): Respiratory viral infections among Thoroughbred horses in training during 1972. *Equine Vet. J.* 6, 19-24.
 20. POWELL, D. G. (1991): Viral respiratory disease of the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 7, 27-57.
 21. STUDDERT, M. J. (1996): Equine adenoviruses. In: STUDDERT M. J.: Virus infections of equines. Elsevier, Amsterdam, 67-80.
 22. STUDDERT, M. J. (1978): Primary, severe, combined immunodeficiency disease of Arabian foals, Aust. *Vet. J.* 54, 411-417.
 23. STUDDERT, M. J. and M. H. BLACKNEY (1982): Isolation of an adenovirus antigenically distinct from equine adenovirus type 1 from diarrheic foal feces. *Am. J. Vet. Res.* 43, 543-544.
 24. THOMSON, G. R., J. A. MUMFORD, J. CAMPBELL, L. GRIFFITHS and P. CLAPHMAN (1976): Serological detection of equine herpesvirus 1 infections of the respiratory tract. *Equine Vet. J.* 25, 194-197.
 25. WOOD, J. L. N., J. R. NEWTON, N. CHANTER and J. A. MUMFORD (2005): Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in british racehorses. *J. Clin. Microbiol.* 43, 120-126.
 26. WOOD, J. L. N., C. SMITH, J. M. DALY and R. NEWTON (2007): Viral infection of the equine respiratory tract. In: McGORUM, B. C., P. M. DIXON, N. E. ROBINSON and J. SCHUMACHER: Equine Respiratory Medicine and Surgery. Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, pp. 287-326.

Spread of Equine Viral Rhinitis and Adenoviral Infection of Horses in Croatia

Ljubo BARBIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Vladimir STEVANOVIĆ, DVM, Assistant, Vilim STAREŠINA, DVM, PhD, Associate Professor, Snježana KOVAČ, DVM, MSc, Josip MADIĆ, DVM, PhD, Academician, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Tina RAIMANN, DVM, Nataša BODLOVIĆ, DVM, Tomislav BEDEKOVIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Ivana LOJKIĆ, BSc, Scientific Advisor, Nina LEMO, DVM, Assistant, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

In this paper, we present the results of an epidemiological study of equine viral rhinitis and adenoviral infection of horses in Croatia. These are two very important diseases in the differential diagnostics of horse respiratory diseases. The study was performed on a total of 200 horse sera obtained from two different populations. A total of 100 sera were obtained from sport and leisure horses and another 100 from free ranging horses, sampled randomly. These two groups were selected as representatives of two typical horse groups in Croatia with major differences in the breeding and use of the animals. Sera samples were tested for the presence of specific antibodies against horse rhinoviruses with the complement fixation test and the hemagglutination inhibition assay for specific antibodies against horse adenoviruses. The results showed that both diseases are highly present in both populations of horses. Seroprevalence for viral rhinitis was 80% in the sport and leisure horses and 93% in the free ranging horses. Adenoviral infection seroprevalence in sport and leisure horses was 55% and 66% in free ranging horses. The only

difference in the seroprevalence of viral rhinitis was statistically significant. The greater spread of viral rhinitis in free ranging horses is most probably the result of the specific management of these animals. The high seroprevalence in all populations as well as confirmation of the different times of infection and the recent circulation of viruses showed, without any doubt, the enzootic character of both diseases in both populations. There was no observed influence of age or gender, further confirming the enzootic nature of both diseases. The high seroprevalence of viral rhinitis and adenoviral infection of horses in Croatia highlights the importance of diagnostics in clinical cases of respiratory diseases. Etiological diagnosis allows the choosing of the best treatment for diseased animals and the best prophylaxis. There is a huge difference between the clinical and economic consequences of different infectious respiratory diseases. Routine diagnostics would also allow the implementation of specific control and eradication measures targeting each specific disease.

Ainil

Ainil je generički ketoprofen koji ima slijedeće indikacije:

Govedo

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 obveznu etiološku terapiju;
- Pomoć u liječenju poslijeporodajne 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



Hematološki profil konja s endotoksemijom

Željko Horvat, Marko Samardžija, Ljiljana Bedrica i Ante Svetina



Uvod

Gastrointestinalni poremećaji koji se manifestiraju kao količni sindrom događaju se mnogo češće u konja nego u drugih vrsta životinja. Ovi su poremećaji pretežito posljedica neadekvatnog hranjenja, tj. prevelike količine zrnja, a premalo voluminozne hrane (Hudson i sur., 2001.). Količina metaboličkih produkata nastalih adekvatnim djelovanjem bakterija u crijevu, premašuje dektosikacijske mogućnosti jetre pa nastaje crijevna intoksikacija organizma (Jacob i sur., 1977., Rulter i sur., 1981., Camara, 1982.). Takva se intoksikacija naziva intestinalna intoksikacija ili endotoksemija (Moore, 1991.). Vrlo su često uzročnici endotoksemije *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* i *Salmonella* spp. (Donaldson i Palmer, 1999., Jones, 2000.).

Endotoksemija je odgovorna za nekoliko teških bolesti konja koje imaju lošu prognozu. Oikawa i sur. (2006.) smatraju da je skleroza mezenterijalne arterije glavni patognomonični znak naturalne i eksperimentalne endotoksemije koja nastaje kao posljedica prolongiranog angiovazospazma. Rezultati najnovijih istraživanja pokazali su da bi infuzija emulzija koje vežu fosfolipide mogla biti korisna u liječenju endotoksemija (Norton i sur., 2007.).

Osim proizvodnje velike količine toksina, njihova apsorpcija kroz stijenku crijeva ima važnu ulogu u nastanku endotoksemije (Nelson i Meagher, 1972., King i Gerring, 1988.) Lipopolisaharidi (Green i Adams, 1992.). i histamin smatraju se najodgovornijim za endotoksemiju (Gustafsson, 2004.). Gubitak proteina i elektrolita vodi u dehidraciju i hipovolemiju, a redukcija tkrivne perfuzije vodi u smrt (Duncan i sur., 1985., Jarvis i Evans, 1994.).

U razvoju bolesti događaju se promjene u staničnim i kemijskim sastojcima krvi. Ove su promjene različite, ovisno o fazi bolesti i stupnju intoksikacije. Najveće su opisane promjene broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, koncentracije NH_3 (Forenbacher, 1983., Duncan i sur., 1985., Brown i Bertone, 2002.).

Prema Braun i sur. (2002.) većina kolika s hematokritom većim od 54% završi letalno. Broj leukocita očituje bifazično kretanje, počevši s leukopenijom koju slijedi neutrofilna leukocitoza s manje segmentiranih stanica (Carrol i sur., 1965., Duncan i sur., 1985., Lavoie i sur., 1990.). U razvoju bolesti događaju se promjene u staničnim i kemijskim sastojcima krvi. Ove su promjene različite, ovisno o fazi bolesti i stupnju intoksikacije. Najveće su opisane promjene broja eritrocita,

Željko HORVAT, dr. med. vet., stručni suradnik, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet, izvanredni profesor, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Ante SVETINA, profesor u mirovini, Zagreb

konzentracije hemoglobina, koncentracije NH₃ (Forenbacher, 1983., Duncan i sur., 1985., Brown i Bertone, 2002.). Prema Braun i sur. (2002.) većina kolika s hematokritom većim od 54% završi letalno. Broj leukocita očituje bifazično kretanje, počevši s leukopenijom koju slijedi neutrofilna leukocitoza s manje segmentiranih stanica (Carrol i sur., 1965., Duncan i sur., 1985., Lavoie i sur., 1990.).

Cilj je ovog rada bio prezentiranje patoloških promjena u krvi konja kojima je dijagnosticirana endotoksemija.

Materijal i metode

Analizirani su uzorci krvi 20 kobila (83,3%), jednog pastuha (4,1%), dva kastrata (8,3%) i jednog ždrjebeta (4,1%). Životinje su bile u dobi od 10 mjeseci do 12 godina, većinom od 4 do 9 godina (16 konja ili 67%).

Uzorci krvi uzeti su iz *v. jugularis* u epruvete od 5 mL uz dodatak EDTA. Broj eritrocita i leukocita, ostali su parametri hemograma i sedimentacija eritrocita učinjeni standardnim hematološkim tehnikama. Diferencijalna bijela krvna slika određena je na krvnim razmazima obojenim metodom po May-Grunwald-Giemsa.

Srednje vrijednosti hematoloških parametara dobivene od zdravih konja (kontrolna skupina) uzete su kao kontrolne vrijednosti. Studentov T-test primijenjen je za evaluaciju statističkih značajnih razlika između zdravih i konja oboljelih od endotoksemije.

Rezultati

Srednje vrijednosti broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i broja leukocita u zdravih i bolesnih konja prikazane su u tabeli 1; raspodjela bolesnih konja s obzirom na odstupanje njihovih hematoloških vrijednosti od normale prikazana je u tabeli 2; raspodjela bolesnih konja s obzirom na relativni diferencijalni broj leukocita prikazana

je u tabeli 3, a raspodjela prema brzini sedimentacije eritrocita nalazi se u tabeli 4.

Broj eritrocita

U 79,76% konja (19 slučajeva) broj eritrocita je bio u fiziološkim granicama, tj. kretao se između 5,3 i 7,9 × 10¹²/L (tabela 2). Povećan broj eritrocita zabilježen je u pet konja (20,83%), među kojima je jedan konj imao 9,2 × 10¹²/L eritrocita.

Konzentracija hemoglobina

Konzentracija hemoglobina bila je povećana u 17 bolesnih konja, od kojih je 45,83% imalo koncentraciju hemoglobina veću od 40% (tabela 2). U preostalih 7 konja hemoglobin je bio unutar fizioloških granica (87,2-130,8 g/L). Unatoč tako velikim razlikama individualne vrijednosti su minimalno varirale.

Sedimentacija eritrocita

Oko polovice obrađenih slučajeva imalo je normalnu sedimentaciju (tabela 4). Jedna četvrtina konja bolesnih od endotoksemije imala je povećanu, a preostala četvrtina smanjenu sedimentaciju.

Broj leukocita

Sedam je konja imalo broj leukocita u fiziološkim granicama, u četiri je konja broj leukocita bio povećan do 40%, dok je u osam konja bio iznad 40% (tabela 2). U pet je konja (20,8%), broj leukocita bio smanjen.

Diferencijalna bijela krvna slika

Diferencijalni je broj leukocita varirao neovisno o ukupnom broju. U 11 je konja (45,8%) uočeno skretanje ulijevo (tabela 3), dok je broj nezrelih neutrofilnih granulocita bio 4-40%. Relativni je diferencijalni broj neutrofilnih granulocita bio povećan u 10 konja (41,7%).

Promjene u broju limfocita bile su uglavnom recipročne promjenama

Tabela 1. Srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD) broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i broja leukocita u zdravih i bolesnih konja.

	N	Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	Hemoglobin (g/L)	Leukociti ($\times 10^9/L$)
Zdravi konji	15	6,61±1,20	109,1 ±15,13	8,64±2,73
Bolesni konji	24	7,30±1,50	148,6±24,06*	10,02±3,77

* Statistički značajna razlika ($P<0,05$) u zdravih konja.

Tabela 2. Postotak bolesnih konja s fiziološkom vrijednošću eritrocita, hemoglobina i leukocita i odstupanje (povećanje ili smanjenje) od normale. Odstupanja 20% od srednje vrijednosti smatraju se normalnim vrijednostima.

Varijabla*	Normalna vrijednost (aritm. sredina ± 20%)	Povećana vrijednost 20-40% > 40%	Smanjena vrijednost 20-40% > 40%
	n = 7	n = 6	n = 11
Eritrociti	79,76	12,5 8,33	0 0
Hemoglobin	29,17	25 45,83	0 0
Leukociti	29,17	16,67 33,33	12,5 8,33

* Normalne vrijednosti su slijedeće: eritrociti $6,6 \times 10^{12}/L$; hemoglobin 109 g/L; leukociti $8,6 \times 10^9/L$.

Tabela 3. Raspodjela konja s endotoksemijom s obzirom na diferencijalnu bijelu krvnu sliku

Stanice*	Omjer (%)	Broj konja	Postotak konja
Nesegmentirani neutrofili	0-3 (normalno)	13	54,16
	4-20	8	33,33
	> 20	3	12,5
Segmentirani neutrofili	<57	5	20,83
	57-75 (normalno)	9	37,5
	>75	10	41,67
Limfociti	<20	11	45,83
	20-32 (normalno)	8	33,33
	>32	5	20,83
Monociti	0-1	16	66,67
	2-4 (normalno)	6	25
	>4	2	8,33
Eozinofili	0-1	20	83,33
	2-6 (normalno)	4	16,67

*Relativni odnos pojedinih parametara stanica bijele krvne slike (u postotku) iznosi: nesegmentirani neutrofili 0-3, segmentirani neutrofili 57-75, limfociti 20-32, monociti 0-4 i eozinofili 2-6.

neutrofilnih leukocita. Broj je limfocita bio smanjen u 11 konja. S druge je strane jaka limfocitoza ustanovljena samo u jednog bolesnog konja, a blaga u dva konja.

Eozinofili nisu nađeni u krvi 16 bolesnih konja (66,7%), a u 10 konja nisu nađeni monociti. Inače, broj eozinofila i monocita nije bio veći od gornje fiziološke vrijednosti (tabela 3).

Rasprava

Najveća je promjena hematoloških parametara u krvi istraženih konja oboljelih od endotoksemije bila povećana koncentracija hemoglobina; ustanovljena je u jedne trećine konja (70,83%), iako je u većine tih konja broj eritrocita bio u fiziološkim granicama (79,7%). Povećana koncentracija hemoglobina u volumnoj

Tabela 4. Raspodjela bolesnih konja s obzirom na brzinu sedimentacije eritrocita

Vrijeme (min.)*	Brzina sedimentacije (mm)	Broj konja	Postotak konja
15	<15	6	25
	15-75	12	50
	>75	6	25
30	<75	11	45,83
	75-125	10	41,67
	>125	3	12,5
60	<90	5	20,83
	90-133	15	62,5
	>133	3	12,5

*Normalne vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita: nakon 15 minuta 15-75 mm; nakon 30 minuta 75-125 mm; nakon 60 minuta 90-133 mm.

jedinici krvi bez povećanja broja eritrocita upućuje na hemokoncentraciju koju prati hemoliza.

Naime, histamin i druge topive tvari prouzroče izlazak tekućine iz krvne žile u tkivne prostore (King i Gerring, 1988., Green i Adams, 1992.), što rezultira hemokoncentracijom. Isto tako, kao odgovor na stres, izbacivanje rezervnih eritrocita iz slezene rezultira povećanjem volumena hematokrita. Povećana koncentracija hemoglobina u naših istraživanih konja ne prati adekvatan porast broja eritrocita u volumnoj jedinici krvi. To upućuje da su eritrociti parcijalno hemolizirani. Međutim, smanjeni se broj eritrocita ne manifestira u volumnoj jedinici krvi zato jer je hemoliza maskirana s hemokoncentracijom. U našem je istraživanju ustanovljeno da se kod alimentarne i intestinalne intoksikacije hemoliza i hemokoncentracija podudaraju s zajedničkim kliničkim nalazom hemoglobinurije i ikterusa u konja s dijagnosticiranom endotoksemijom.

Glavna karakteristika bijele krvne slike u istraživanih konja su leukocitoza i neutrofilija sa skretanjem ulijevo (11 konja ili 45,8%). S druge strane, u nekih konja (20,84%) ustanovljen je pad broja leukocita, dok je u nekih pokusnih konja bio nepromijenjen (29,16%). Ovakvi nalazi su suglasni s pokusima dobivenim u eksperimentalno izazvane endotoksemije konja, kod kojih je leukopenija

karakteristična za početak bolesti, a zatim slijedi leukocitoza (Carrol i sur., 1965., Moore, 1991.). Inicijalno se smanjenje broja eritrocita događa na račun neutrofila, tako da slijedi neutrofilna leukocitoza (Duncan i sur., 1985., Lavoie i sur., 1990.). S obzirom na bifazni odgovor organizma na intoksikaciju, smanjeni, fiziološki te povećan broj leukocita može se pripisati pristizanju bolesnih konja na internu kliniku u različitoj fazi endotoksemije kao i različitim oblicima kolika (Werners i Bryant, 2012.).

Promjene u krvi ne ovise samo o fazi bolesti nego i o stupnju intoksikacije. Jake intoksikacije obilježava jaka leukopenija koju prati intravaskularna koagulacija (Duncan i sur., 1985., Jarvis i Evans, 1994.). Konji pozitivni samo na cirkulirajuće endotoksične tvari imaju dobru prognozu (Meyers i sur., 1982.), dok konji pozitivni na endotoksine s poremećenom koagulacijom (hiperkoagulacija) imaju lošu prognozu. Međutim, kod jakih intoksikacija toksini mogu nadvladati refrakternost (Keimer, 2009.).

Povećana brzina sedimentacije eritrocita, koja je nađena u četvrtine bolesnih konja posljedica je promjena u bijeloj krvnoj slici, jer je često povezana s leukocitom (50% slučajeva) pa često i s pojavom nezrelih neutrofila u krvnom razmazu (62%). S druge strane brzina sedimentacije često može biti povezana s hemokoncentracijom. Česti nalaz malog

broja (manje od 83,33%) ili čak odsutnost eozinofila preklapa se sa stresom ili općim adaptacijskim sindromom (Young, 2000.).

U istraživanju su dominirale kobile i temeljem toga ne možemo zaključiti da je intestinalna intoksikacija učestalija puno više u kobila nego u pastuha. Naime, u zagrebačkoj regiji kobile su držane u većem broju od pastuha. Glavni je razlog tome što se hladnokrvne pasmine konja uzgajaju radi proizvodnje mesa.

Zaključak

Temeljem analize dobivenih rezultata možemo zaključiti da su promjene u krvi konja s dijagnozom endotoksemija varirale od slučaja do slučaja. Značajne individualne razlike vjerojatno su posljedica intenziteta i trajanja intoksikacije. Unatoč tome, sljedeće nalaze možemo konzistentno postaviti: a) povećana koncentracija hemoglobina (71% slučajeva) s normalnim ili povećanim brojem eritrocita upućuje na hemokoncentraciju zajedno s hemolizom koja se klinički manifestira kao hemoglobinurija i ikterus; b) neutrofilija sa skretanjem ulijevo (46% slučajeva) bila je povezana s povećanom sedimentacijom eritrocita; c) jaka eozinofilija (83,33%) kao odgovor organizma prema stresu.

Sažetak

Hematološki profil 24 konja s endotoksemijom istraživanja na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu. Srednje su vrijednosti hematoloških pokazatelja dobivene u zdravim konja uzete kao kontrolne vrijednosti. Individualne vrijednosti u krvi bolesnih konja znatno su varirale, što je vjerojatno povezano s fazom bolesti te stupnjem intoksikacije. Međutim, ustanovljene su konstantne vrijednosti eritrocitnih i leukocitnih parametara u bolesnih konja. Najizraženiji je nalaz porast koncentracije hemoglobina u 71% bolesnih konja, iako je u 80% tih konja broj eritrocita bio u fiziološkim granicama. Činjenica da povećana koncentracija hemoglobina u volumnoj jedinici krvi nije

sukladna s brojem eritrocita, upućuje na parcijalnu hemolizu. Smanjen je broj eritrocita vjerojatno maskiran hemokoncentracijom pa se stoga pojavljuje povećan broj eritrocita. Hipotezu da se hemokoncentracija događa paralelno s hemolizom potkrepljuju česti klinički nalazi hemoglobinurije i ikterusa u konja s endotoksemijom. Najizraženiji nalaz u bijeloj krvnoj slici bila je neutrofilija sa skretanjem ulijevo (46,8%), koja nije uvijek praćena leukocitozom, ali se često događa istovremeno s ubrzanom sedimentacijom. Suprotno tome, smanjen broj leukocita nađen je u 21% konja, dok je u 29% konja broj leukocita bio u fiziološkim granicama. Sastav različite pa čak i kontradiktorne individualne promjene u ukupnom i diferencijalnom broju leukocita konzistentne su s bifazičnim odgovorom organizma na intoksikaciju, tj. inicijalnu leukopeniju slijedi neutrofilna leukocitoza. Sukladno tome, smanjen, fiziološki ili povećan broj leukocita može biti povezan s različitom fazom endotoksemije u kojoj su bolesni konji primljeni na Kliniku. Od svih nalaza, najznačajnija promjena u bolesnih konja s endotoksemijom bila je odsutnost i smanjenje broja eozinofilnih leukocita u krvnom razmazu (83%), što je sukladno s pojmom stresa i općim adaptacijskim sindromom.

Literatura

1. BRAUN, U., M. SCHÖBERL, V. BRACHER, H. GEYER and K. FEIGE (2002): Prognostic factors in equine colic. Tierarztl. Umsch. 57, 15-22.
2. BROWN, C. M., J. J. BERTONE (2002): The 5-minute veterinary consult Equine. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp. 546-547.
3. CÁMARA, B., F. BARDAT, A. SEYE, A. D. HARLINGUE and R. MONEGER (1982): Terpenoid Metabolism in Plastids: Localization of alpha-Tocopherol Synthesis in Capsicum Chromoplasts. Plant. Physiol. 18, 13-22.
4. CARROL, E. G., O. W. SCHALM and J. D. WHEAT (1965): Endotoxemia in horse. JAVMA 146, 1300-1303.
5. DONALDSON, M. T. and J. E. PALMER (1999): Prevalence of Clostridium perfringens enterotoxin and Clostridium difficile toxin A in feces of horses with diarrhoea and colic. JAVMA 215, 358-363.
6. DUNCAN, S. G., K. M. MEYERS, S. M. REED and B. GRANT (1985): Alterations in coagulation and haemograms of horses given endotoxins for 24 hours via hepatic portal infusion. Am. J. Vet. Res. 46, 1287-1291.
7. FORENBACHER, S. (1983): Clinical Pathology of Digestion and Metabolism. Volume I/2: Clinical Pathology of Digestion and Resorption (in Croatian). Croatian Academy of Science and Art and University Press Liber, pp. 58-88.

8. GREEN, E. G. and H. R. ADAMS (1992): New perspective in circulatory shock: Pathophysiological mediators of the mammalian response to endotoxemia and sepsis, JAVMA 200, 1834-1841.
9. GUSTAFSSON, A. (2004): Antibiotic associated diarrhoea in horses with special reference to Clostridium difficile. Uppsala: Swedish University and agricultural sciences. Doctoral Thesis.
10. HUDSON, J. M., N. D. COHEN, P. G. GIBBS and J. A. THOMPSON (2001): Feeding practices associated with colic in horses. JAVMA 219, 1419-1425.
11. JACOB, A. L., P. K. GOLDBERG and N. BLOOM (1977): Endotoxin and bacteria in portal blood. Gastroenterology 72, 1268-1290.
12. JARVIS, G. E. and R. J. EVANS (1994): Endotoxin-induced platelet aggregation in heparinised equine whole blood in vitro. Res. Vet. Sci. 57, 317-324.
13. JONES, R. L. (2000): Clostridial enterocolitis Veterinary clinics of North America. Eqine Pract., 16, 471-485.
14. KEIMER, G. (2009): Update on treatments for endotoxemia. Vet. Clin. North. Am. Equine Pract. 25, 259-270.
15. KING, J. N. and E. L. GERRING (1988): Detection of Endotoxin in Cases of Equine Colic. Vet. Rec., 123, 269-271.
16. LAVOILE, J. P., J. E. MADIGAN, J. S. CULLOR and W. E. POWELL (1990): Haemodynamic, pathological, haematological and behavioural changes during endotoxin infusion in equine neonates. Equine Vet. J. 22, 23-29.
17. MEYERS, K. M., S. M. REED and M. KECK (1982): Circulatory endotoxin-like substances and altered haemostasis in equine patients with gastrointestinal disorders. Am. J. Vet. Res. 43, 2233-2238.
18. MOORE, J. N. (1991): Rethinking endotoxemia in 1991. Equine Vet. J. 23, 3-4.
19. NELSON, A. W. and D. M. MEAGHER (1972): Septic shock in the horse. Proc. Am. Assoc. Equine Pract. 18, 531-547.
20. NORTON, J., G. DE ROQUEFEUIL, J. P. BOULENGER, K. RITCHIE, A. MANN and A. TYLLEE (2007): Use of the PRIME-MD Patient Health Questionnaire for estimating the prevalence of psychiatric disorders in French primary care: comparison with family practitioner estimates and relationship to psychotropic medication use. Gen. Hosp. Psychiatry 29, 285-293.
21. OIKAWA, M., N. MASAWA and H. YOSHIKAWA (2006): Mesenteric arterionecrosis in natural and experimental equine endotoxaemia. J. Comp. Pathol. 134, 47-55.
22. RULTER, D. J., J. VANDER-MAULEN and A. BOUWER (1981): Uptake by liver cells of endotoxin following its intravenous injection. Lab. Invest. 45, 38-45.
23. WERNERS, A. H. and C. E. BRYANT (2012): Pattern recognition receptors in equine endotoxaemia and sepsis. Equine Vet. J. 44, 490-498.
24. YOUNG, M. K. (2000): Eosinophils. In: FELDMAN, F. B., C. N. JAIN, eds. Schalm's Veterinary Haematology, pp. 297-307.

Haematological Profile in Endotoxaemia of Horses

Željko HORVAT, DVM, Expert Associate, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Associate Professor, Ljiljana BEDRICA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Ante SVETINA, DVM, PhD, Professor in retirement, Zagreb

The haematological profile of 24 horses with enterotoxaemia was examined at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. The mean haematological values obtained in healthy horses at the same Faculty were in the normal range. Individual values in the blood of diseased horses varied considerably, which is likely associated with the phase of the disease and the degree of intoxication. However, there are some consistent findings in most animals related to erythrocyte and leukocyte parameters. The most prominent finding was an increased haemoglobin concentration in 71% of diseased horses, although in 80% of animals, a normal erythrocyte count pointed to partial erythrocyte haemolysis. A decreased erythrocyte count is masked by haemoconcentration, therefore resulting in an increased haemoglobin concentration. The hypothesis that haemoconcentration occurs parallelly with haemolysis was confirmed with the frequent clinical findings of haemoglobinuria and icterus in these horses.

The most prominent change in white cells parameters was neutrophilia with the left shift (46.8%) which was not always accompanied by leukocytosis, but was frequently associated with an increased sedimentation rate. On the contrary, a decreased leukocyte count was established in 21% of horses, while the leukocyte count was within physiological limits in 29% of horses. Quite diverse and even contradictory individual changes in total and differential leukocyte counts are consistent with the biphasic response of the organism to intoxication, i.e. initial leukopenia followed by neutrophilic leukocytosis. Consequently, decreased, normal, or increased leukocyte counts can be connected with different phases of endotoxaemia in which the diseased horses were admitted to the clinic. Among all findings, the most consistent haematological changes in horses with endotoxaemia was an absence or decreased number of eosinophilic leukocytes in blood smears (83%), which is consistent with stress and the general adaptation syndrome.

Usporedba brzine nastupa i vremena trajanja te kardiovaskularnih i pulmonarnih učinaka epiduralne anestezije s lidokain-adrenalinom i lidokainom u pasa

M. Pećin, D. Matičić, H. Borošak, P. Kostešić i Mirna Abaffy



Uvod

Epiduralna anestezija jedna je od najčešće korištenih regionalnih anestesijskih tehnika zbog svoje jednostavnosti, sigurnosti i efikasnosti za operativne zahvate kaudalno od područja pupka. Prvi puta je primijenjena u veterinarskoj praksi dvadesetih godina prošlog stoljeća (Bradley i sur. 1980.). Od tada se svakodnevno koristi u životinja kao preoperativna mjeru za smanjivanje boli tijekom operacije, smanjivanje mišićnog tonusa koštane muskulature i smanjivanje doze drugih anestetika korištenih u kombinaciji s epiduralnom anestezijom. Takav pristup omogućavao je obavljanje operacijskih zahvata u kritičnih pacijenata, pružao zadovoljavajuću anesteziju i analgeziju, lakši i brži oporavak te brže buđenje životinja nakon anestezije.

Manji kirurški zahvati na stražnjim četvrtima, perineumu, zdjelici, repu psa ili kratka postoperativna analgezija glavne su indikacije za primjenu epiduralne anestezije (Fossum i sur., 1997.). Njeno se analgetsko djelovanje koristi najčešće kod ortopedskih zahvata gdje u kombinaciji s intravenskim ili inhalacijskim

anesteticima daje zadovoljavajuću anesteziju (Thruman i sur., 1996., Hall i Clarke, 2001.). Često se koristi kod hitnog carskog reza zbog svoje neškodljivosti za plod te brzine i efikasnosti u smanjenju boli pri abdominalnim operacijama (Bradley i sur., 1980.).

Razvojem anestezije poboljšavaju se i tehnike epiduralne anestezije te uvode novi potentniji lokalni anestetici. Uporabom katetera za kontinuiranu epiduralnu anesteziju smanjuje se rizik pojave negativnih učinaka predoziranja lokalnim anesteticima (Hall i Clarke, 2001.).

Trajanje epiduralne anestezije ovisi o vrsti anestetika, njegovoj koncentraciji, dozi i prisutnosti, odnosno odsutnosti različitih tvari farmakološkog djelovanja u otopini anestetika. Epiduralna se anestezija može postići različitim lokalnim anesteticima te upravo takva sloboda odabira i raznolikost primjenjivih anestetika njezina je velika prednost.

Odabir lokalnog anestetika, samog ili u kombinaciji s drugim tvarima farmakološkog djelovanja (primjerice adrenalinom) te njegova koncentracija

Marko PEĆIN, dr. med. vet., asistent, Dražen MATIČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Hrvoje BOROŠAK, dr. med. vet., asistent, Mirna ABAFFY, dr. med. vet., Veterinarski fakultet Zagreb; Petar KOSTEŠIĆ, dr. med. vet., Sveučilište u Zagrebu

i volumen, odnosno količina ovisit će o veličini psa, željenoj ekspanziji anestetika i željenom vremenu nastupa, trajanja i djelovanja (Hall i Clarke, 2001.).

Iako postoji velika mogućnost kombiniranja anestetika i ostalih tvari farmakološkog djelovanja, a zbog skupoće tih preparata najčešće se u nas koriste otopine lokalnih anestetika ili kombinacija lokalnog anestetika i epinefrina. Epiduralna anestezija postignuta spomenutim tvarima uz primjenu općih anestetika dostačna je za većinu ortopedskih zahvata na zdjelicima i stražnjim udovima te isto tako za operacijske zahvate u abdomenu, odnosno kaudalno od diafragme (Thruman i sur., 1996.).

Lokalni anestetici injektirani epiduralno u pasa mogu prodrijeti u cerebrospinalnu tekućinu i epiduralne venozne pleksuse te limfni sustav ili biti djelomično raspodijeljeni u masnom tkivu epiduralnog prostora (Ward i sur., 1985.).

Selektivna epiduralna anestezija koja se proteže kranijalno do 3., odnosno 5. torakalnog kralježka (T3 –T5) ne utječe u većoj mjeri na kardiovaskularne funkcije organizma, broj udisaja, odnosno respiratorne funkcije iako su pluća inervirana simpatičkim vlaknima između T2-T7 (Veering i Cousin, 2000., Hall i Clarke, 2001.). Isto tako ne utječe bitno na arterijski pH, parcijalne tlakove kisika i ugljičnog dioksida u krvi (pO_2 i pCO_2) u pasa koji nisu sedirani ili u onih sediranih acepromazinom u dozi 0,3 mg/kg tjelesne težine (Hall i Clarke 2001.).

Sistemski učinci su značajniji ako je doza anestetika veća, koncentracija i potentnost veća te ako je korištena kombinacija anestetika s tvarima poznatog učinka na kardiovaskularni i respiratorni sustav, npr. dodatak adrenalina (Veering i Cousins, 2000.).

Predoziranje lokalnim anestetikom u epiduralnom prostoru može rezultirati promjenama u kardiovaskularnom sustavu izazivajući aritmije i

bradikardiju, djelujući negativno na miokard (Nolte i sur., 1983., Ward i sur., 1985.). Isto tako može se izazvati vazodilatacija s posljedičnom hipotenzijom te kardiovaskularni kolaps i arest kao posljedicu smanjene ventrikularne kontraktibilnosti, smanjene provodljivosti miokarda i gubitka perifernog vazomotornog tonusa (Veering i Cousins, 2000.).

Tijekom epiduralne anestezije moguće su promjene u smanjenoj ventilaciji kao posljedica paralize respiratornih mišića nakon širenja anestetika u vratni dio kralježnice, zatim hipotenzija, Hornerov sindrom i hipoglikemija prouzročena simpatičkim blokom, Shiff – Sherrington slični muskularni refleksi, mišićni trzaji, koma, konvulzije i cirkulatorna depresija zbog toksične razine anestetika u krvnoj plazmi (Veering i Cousins, 2000.).

Toksičnost na središnji živčani sustav rezultat je resorpcije velike doze anestetika preko pleksusa i njegovih krvnih žila, ako ne aspiriramo prije aplikacije (Hall i Clarke, 2001.). Tada se mogu javiti simptomi poput konvulzija i epileptoidnih napadaja, a nastupaju mnogo prije kardiovaskularnih i respiratornih simptoma.

Upravo zbog tih razloga u ovom radu uspoređeni su učinci i karakteristike otopine lidokaina te otopine lidokain-adrenalina. Doza 2% otopine lidokaina bila je 1 mL/6 kg tjelesne težine, a lidokain-adrenalin otopina dozi 1 mL/6kg tjelesne težine uz dodatak 0,0125 mg/mL epinefrina. Obje su anestezije u spomenutoj dozi bile dostačne za izvođenje pokusnog mjerjenja s prosječnim analgetskim djelovanjem od 36 minuta.

Predoziranje lokalnim anestetikom u epiduralnom prostoru može rezultirati promjenama u kardiovaskularnom sustavu izazivajući aritmije i bradikardiju djelujući negativno na miokard (Nolte i sur., 1983.). Isto tako se može izazvati vazodilatacija s posljedičnom hipotenzijom te kardiovaskularni

kolaps i arest kao posljedicu smanjene ventrikularne kontraktilnosti, smanjene provodljivosti miokarda i gubitka perifernog vazomotornog tonusa (Ward i sur., 1985., Veering i Cousins, 2000.).

Materijali i metode

Pokus je provođen u svrhu usporedbe brzine nastupa, vremena trajanja te utjecaja lumbosakralne epiduralne anestezije s lidokain-adrenalinom i lidokainom na kardiovaskularni i pulmonarni sustav u pasa. Parametri koji su mjereni bili su: tjelesna temperatura, bilo, disanje, pH krvi, parcijalni tlakovi kisika i ugljičnog dioksida (pO_2 , pCO_2), arterijski krvni tlak (u sistoli, dijastoli te srednji krvni arterijski tlak), zasićenost organizma kisikom (sO_2), srčani minutni volumen (engl. cardiac output, odnosno umnožak udarnog volumena srca i broja otkucaja srca u minuti, predstavlja totalni volumen krvi koji ventrikuli istisnu u jednoj minuti) te tlakove u arteriji pulmonalis (sistolički, dijastolički i srednji). Mjerena su izvođena na ukupno 8 pasa kroz 60 minuta.

Ukupno je bilo šest mjerena parametara po životinji unutar 60 minuta. Prvo mjereno parametara izvršeno je neposredno prije aplikacije epiduralne anestezije. Drugo se mjereno izvodilo 5 minuta nakon aplikacije, treće u 15. minuti, a svako sljedeće 15 minuta kasnije. Poslijednje mjereno bilo je u 60. minuti.

Osam je pasa bilo podijeljeno u dvije jednakе skupine po četiri psa (skupina A i skupina B). Skupinu A činila su četiri psa anestezirana s 2-postotnom otopinom lidokaina, a skupinu B četiri psa anestezirana 2-postotnom otopinom lidokaina s dodatkom adrenalina u dozi 0,0125 mg na mL otopine. Doza je obje skupine bila 1 mL otopine anestetika na 6 kilograma tjelesne težine.

Psi su bili starosti 3-4 godine, manjih pasmina, muškog spola, anamnistički i klinički bez prijašnjih poteškoća u

kardiovaskularnom i dišnom sustavu. Skupine su bile podjednake prosječne tjelesne težine tako da je prosjek skupine A iznosio 6,16 kg, a prosjek skupine B 6,31 kg (tabela 1). U obje skupine psi su bili sedirani pomoću intramuskularne injekcije acepromazina u dozi od 0,2 mg po kilogramu tjelesne težine pola sata prije aplikacije epiduralne anestezije. U ovoj dozi acepromazin nema većeg učinka na dišni i kardiovaskularni sustav zbog čega je pogodan za pokus (Hall i Clarke, 2001.). Lumbosakralna epiduralna anestezija aplicirana je pomoću jednokratnih hipodermičkih igala veličine 22G, duljine 3,5 cm.

Broj udisaja mjerjen je kroz jednu minutu podizanjem i spuštanjem grudnog koša životinje. Bilo je mjereno pomoću EKG monitora, a tjelesna temperatura rektalnim minutnim termometrom. Arterijski su tlakovi mjereni invazivnom metodom pomoću katetera unutar femoralne arterije spojenog na monitor. Parcijalni tlakovi kisika i ugljičnog dioksida te pH krvi mjereni su radiometrijski, a uzorci krvi uzeti su iz femoralne arterije. Zasićenost organizma kisikom mjerena je oksimetrom. Srčani minutni volumen i tlakovi u arteriji pulmonalis mjereni su invazivnom metodom pomoću SWAN-GANZ katetera postavljenog preko jugularne vene u arteriju pulmonalis (Neil i sur., 2001.).

Rezultati

Razlike u brzini nastupa i vremenu trajanja

Vrijeme nastupa anestezije mjerilo se kao vrijeme proteklo od trenutka aplikacije anestetika u epiduralni prostor do trenutka kad pas u stojecem položaju nije više mogao podupirati tijelo stražnjim nogama, a na pritisak hemostatom prema peanu između prstiju stražnjih nogu nije očitovao bolnu reakciju i nije pokušao pomaknuti nogu.

Trajanje epiduralne anestezije mjereno je od trenutka nastupa do trenutka

početka pomicanja nogu na pritisak između prstiju obje stražnje noge uz očitovanje bolnosti na podražaj. Pritisak je primjenjivan svakih 5 minuta do isteka 25. minute. Nakon toga pritisak hemostatom primjenjivan je svake minute. Mjereno je i vrijeme potrebno da se pas osloni na stražnje noge i njima podupire vlastitu tjelesnu težinu.

U pasa skupine A nastup anestezije, odnosno gubitak duboke boli i osjeta u stražnjim udovima u prosjeku je iznosio 1,7 minute, odnosno najkraće 0,8 minute (48 sekundi), a najdulje 2,5 minute.

Epiduralna je anestezija uz dodatak adrenalina nastupila prosječno nakon 2,215 minute, odnosno najkraće vrijeme nastupa bilo je za 1,5 minutu, a najdulje za 3 minute.

Trajanje je do pojave duboke boli, odnosno trajanje epiduralne anestezije u obje skupine u prosjeku iznosilo oko 36 minuta. U skupini pasa s lidokain + adrenalin anestezijom (skupina B), vrijeme nastupa duboke boli je u svih pasa bilo podjednako, u manjem rasponu od 35 do 39 minuta. U skupini A nastupi su bili različiti, od 30 do 45 minuta, ali prosječno vrijeme nastupa podudara se s prvom skupinom.

Najvećom se razlikom pokazalo mjerjenje vremena kada životinja počinje

opterećivati stražnje noge. Prosječno vrijeme potrebno da pas ustane kod pasa anesteziranih samo lidokainom (skupina A) bilo je 45,25 minute, s rasponom 38-59 minute. Skupina pasa anesteziranih s lidokainom uz dodatak adrenalina (skupina B) imala je nešto ujednačenje i prosječno duže vrijeme od 56,25 minute, odnosno u rasponu 45-65 minute. Iako je u obje skupine bilo pasa s istim vremenom potrebnim za ustajanje, u pasa skupine A tri psa ustala su prije isteka 45. minute dok su u skupini B svi psi ustali nakon isteka 45. minute s time da je jedan ustao u 45., a ostala 3 psa u razdoblju od 56. do 65. minute.

Razlike u kardiovaskularnim i pulmonalnim učincima

Rezultati pokusnog mjerjenja razlika u kardiovaskularnim i pulmonalnim učincima između epiduralne anestezije s lidokainom i lidokain-adrenalinom prikazani su u tabeli 2. (Prikazane su prosječne vrijednosti mjerjenja u 8 pasa).

Svi su mjereni parametri bili podjednakih prosječnih vrijednosti u obje skupine pasa prije aplikacije epiduralne anestezije. Prosječna tjelesna temperatura tijekom 60 minuta bila je konstantna u obje skupine s time što je prosječna temperatura pasa u skupini B bila $0,5^{\circ}\text{C}$ viša i tu vrijednost zadržavala je do kraja mjerjenja.

Tabela 1. Tjelesna težina izražena je u kilogramima, vrijeme nastupa anestezije, nastup duboke boli te vrijeme kad životinja stoji na nogama izraženo je u minutama

Epiduralna anestezija	Tjelesna težina	Vrijeme nastupa anestezije	Nastup duboke boli	Životinja stoji na nogama
LIDOKAIN 2%	6,85	1,5	45	59
	6,7	2,5	31	44
	5,4	2	30	38
	5,7	0,8	34	40
PROSJEK	6,62	1,7	35	45,25
LIDOKAIN 2% + ADRENALIN	5,6	2	39	56
0,0125 mg/ml	7,7	3	37	45
	6,7	2	38	65
	5,25	1,5	35	59
PROSJEK	6,32	2,20	37,25	56,25

Tabela 2. U prvom stupcu napisani su rezultati mjerjenja skupine A (2% lidokain), a u drugom stupcu rezultati skupine B (2% lidokain + 0,0125 mg/ml adrenalinal); tjal. temp. – tjelesna temperatura, sys art-sistolički arterijski tlak, dias art – dijastolički arterijski tlak, pO_2 -parcijalni tlak kisika u krvi, pCO_2 -parcijalni tlak ugljičnog dioksida u krvi, sO_2 -zasićenost organizma kisikom, CO – cardiac output (srčani minutni volumen), ap sys – sistolički tlak u a. pulmonalis, ap dias – dijastolički tlak u a. pulmonalis

PARAMETRI	prije		5. min		15. min		30. min		45. min		60. min		
Tjal.temp.	38,2	38,7	38,3	38,6	38,2	38,6	38,6	38,7	38,4	38,8	38,4	38,8	° C
Bilo	86	91	84	118	91	104	82	115	76	106	77	102	n/min
Disanje	16	15	15	16	15	15	14,5	14,5	15	14	13	14	n/min
sis art	165	170	167	160	167	161	144	162	152	164	154	161	mmHg
dias art	94	88	93	91	84	90	75,5	101	81	83	82	81	mmHg
srednji art	119	112	113	113,5	114	116	99	119	93	115	106	106	mmHg
pH krvi	7,4	7,42	7,41	7,41	7,4	7,41	7,42	7,42	7,42	7,43	7,42	7,4	
pO₂	89	89,5	85	83,5	81,5	83	82,5	79,8	83,3	84	85,5	87,8	mmHg
pCO₂	38	36,5	37,5	36	39,3	35	35,5	35,8	38,5	34,8	36,5	33,5	mmHg
sO₂	97	97	96	96	96	96	97	96	96	96	96	97	%
CO	2	2,2	2,2	2,4	2,2	2,6	1,7	2,5	1,9	2,1	2	2,4	L/min
ap sys	27	28	28	30	19	31	19	26	21	24	22	28	mmHg
ap dias	11	14	12	15	9	16	7	13	8	13	9	15	mmHg
ap srednji	17	20	19	22	14	22	10	18	13	17	14	20	mmHg

Značajnija razlika u broju otkucaja kod skupine anestezirane s 2% lidokainom dogodila između 30. i 45. minute mjerjenja kada je broj otkucaja pao za 11%. U pasa anesteziranih s 2% lidokainom uz dodatak adrenalina veća razlika u broju otkucaja uočena je znatno prije, odnosno u 5. minuti mjerjenja te je iznosila maksimalnih 30% povećanja broja otkucaja u minuti.

Disanje, odnosno prosječan broj udisaja u minuti nije se znatnije mijenjao od početnog broja u obje skupine pasa.

Možda je najveća razlika u parametrima uočena kod mjerjenja arterijskog tlaka. Naime, u svih pasa skupine A (2% lidokain) u 30. minuti mjerjenja dogodio se znatan pad sistoličkog, dijastoličkog te srednjeg arterijskog tlaka. Do kraja mjerjenja u 45. i 60. minuti tlakovi su lagano rasli, ali do kraja mjerjenja nisu dostigli prosječnu početnu vrijednost. Početne vrijednosti

tlakova u pasa skupine B bile su slične skupini A. Nisu se mijenjale u većim razmjerima te su se do kraja mjerjenja zadržale vrijednosti slične početnim: 161 – 88 – 106 mmHg. Dakle u obje skupine pasa zabilježena je hipertenzija s većim oscilacijama u skupini A.

Tijekom svih 60 minuta vrijednost pH ostala je nepromijenjena te iznosila oko 7,41.

Parcijalni tlak kisika (pO_2) u obje skupine lagano je padao od početne vrijednosti 89 mmHg. Najveći je pad uslijedio u obje skupine u vremenu između 15. i 30. minute, kad je u pasa skupine A iznosio 81,5–82,5 mmHg, a u skupini B 79,8 mmHg. Na kraju mjerjenja parcijalni tlak kisika je u obje skupine rastao te u skupini A prosječno iznosio 85,5, a u skupini B 87,8 mmHg.

Parcijalni se tlak ugljičnog dioksida (pCO_2) mijenjao u manjim razmjerima

od 39,25 do 35,5 u skupini A, odnosno od 36,5 do 33,5 mmHg u skupini B.

Zasićenost se organizma kisikom (sO_2) nije mijenjala izvan granica 96-97% tijekom svih 60 minuta mjerena u obje skupine pasa.

Srčani minutni volumen (CO-cardiac output) bio je osjetno veći u B skupini pasa te je konstantno iznosio preko dvije litre u minuti. Tako je već u početnom mjerenu prije aplikacije anestezije izmijeren 10% veći prosječni minutni volumen u odnosu na skupinu A. U 15. je minuti izmijeren najveći srčani minutni volumen, prosječno oko 2,6 L/min.

U pasa skupine A srčani minutni volumen je od početnih 2 L/min rastao do 2,2 L/min između 15. i 30. minute. U 30. minuti pao je na 1,7 L/min i do isteka 60 minuta vratio se na početnu vrijednost od 2 L/min.

Tlakovi u arteriji pulmonalis u pasa skupine A nisu se bitno mijenjali do 15. minute kad su počeli padati, a u 30. minuti pali su na najniže vrijednosti od 19-7-10 mmHg. Do isteka 60 minuta tlakovi su rasli, ali nisu dostigli vrijednosti prije pada.

Skupina B imala je osjetno veće tlakove u arteriji pulmonalis koji su od početnih 28-14-20 mmHg nakon aplikacije otopine anestetika i adrenalina dosegli maksimalne vrijednosti od 31-16-22 mmHg u 30. minuti te zadržavali prosječne vrijednosti do kraja mjerena. Vrijednosti u 60. minuti bila je gotovo jednaka vrijednosti na početku mjerena, odnosno 28-15-20 mmHg.

Raspis

Pokusno je mjereno pokazalo neke razlike između dviju vrsta epiduralne anestezije. Epiduralna anestezija s 2% otopinom lidokaina uz dodatak adrenalina u dozi od 0,0125 miligrama po mililitru otopine rezultirala je s relativno duljim prosječnim vremenom nastupa anestezije, dvije minute duljim trajanjem te čak jedanaest minuta duljim prosječnim vremenom potrebnim da se psi oslo-

na stražnje noge. Razlika u prosječnom vremenu nastupa anestezije iznosila je 0,425 minuta (25,5 sekundi). Ako uzmemo u obzir činjenicu da su u obje skupine pasa dobiveni vrlo slični rezultati uz čak 2 identična (u obje su skupine 2 psa imala ista vremena nastupa, 2 i 1,5 minuta) ovakva mala razlika ne može biti siguran dokaz da je adrenalin bitno utjecao na sporiju resorpciju otopine anestetika i produljio prosječno vrijeme nastupa.

Trajanje osjeta duboke боли u pasa skupine A (2% lidokain) bilo je u 3 psa ispod 34 minute, a u skupini B (lidokain+adrenalin) trajanje je u svih pasa bilo preko 35 minuta mjerena. Iz tih je rezultata vidljiv utjecaj adrenalina na duljinu trajanja neosjetljivosti stražnjih udova, ali se mala razlika od nekoliko minuta ne može smatrati značajnom.

Razlika u vremenu početka oslanjanja pasa na stražnje noge ide u korist skupine A gdje je to vrijeme kraće. Kraće vrijeme u ovom slučaju znači brži oporavak pacijenta, odnosno njegovo vraćanje u prvobitno stanje. Epiduralna je anestezija s dodatkom adrenalina rezultirala prosječno duljim vremenom početka korištenja stražnjih udova. Budući da su se 3 psa skupine B kasnije počela oslanjati na noge (jedan je pas imao jednak vrijeme kao pas u skupini A, odnosno 59 minuta), nego psi skupine A, može se smatrati da je adrenalin usporio otklanjanje lidokaina iz moždine i produljio vrijeme početka oslanjanja životinja na stražnje noge.

Sistemski učinci epiduralne anestezije na kardiovaskularni sustav izraženiji su kod skupine pasa anesteziranih s dodatkom adrenalina (skupina B). Naime, u sva 4 psa kroz 60 minuta mjerena izmijerena je tahikardija u odnosu na početno stanje prije anestezije. Iz svih podataka dobivenih mjerenjem parametara u obje skupine pasa može se zaključiti da je dodatak adrenalina od 0,0125 mg/mL otopine 2% lidokaina imao učinke na kardiovaskularni sustav povećavajući bilo tijekom cijelog mjerena. Pritom prosječna frekvencija bila nikada

nije prešla fiziološku granicu od 120 otkucaja u minuti, koliko ona iznosi za manje pse (Ramadan i Harapin, 1998.). Također srčani minutni volumen te tlakovi u arteriji pulmonalis bili su veći u odnosu na skupinu pasa anesteziranih samo lidokainom u kojih su uz niže vrijednosti uočena i variranja u rezultatima. Arterijski tlakovi bili su konstantni te zadržavali jednakе vrijednosti tijekom 60 minuta.

Psi anestezirani samo lidokainom (skupina A) imali su konstantno niže vrijednosti bila u odnosu na skupinu B. Pad u broju otkucaja nastupio je u razdoblju između 30. i 60. minute mjerjenja uz nagli pad krvnog tlaka u 30. minuti mjerjenja. Bradikardija u odnosu na početno stanje može biti posljedica utjecaja lidokaina na srčani mišić. Točan uzrok pada arterijskog krvnog tlaka u 30. minuti mjerjenja nije poznat pa je teško zaključiti je li nastupio zbog učinka lidokaina.

Budući da epiduralna anestezija s lidokainom u dozi od 1 mL/kg bitno ne utječe na arterijske krvne tlakove i srčani minutni volumen, razlika u mjerjenjima među skupinama pasa mogla bi se pripisati utjecaju adrenalina na srce. Ako znamo da su broj otkucaja i srčani minutni volumen u proporcionalnom odnosu, utjecaj adrenalina na povećanje broja otkucaja srca mogao je rezultirati povećanjem srčanog minutnog volumena.

U svih osam pasa disanje se nije znatnije mijenjalo, odnosno broj udihaja u minuti ostao je jednak (+/- 2 udihaja), a zasićenost kisikom i parcijalni tlakovi kisika i ugljičnog dioksida gotovo su bili identični što upućuje na neznatne razlike u učincima adrenalina prema „čiste“ otopine lidokaina na respiratorne funkcije u pasa. Manja razlika uočena je u pasa skupine B u 30. minuti mjerjenja kad je parcijalni tlak kisika u sva 4 psa pao na najnižu vrijednost, čime je prosječna vrijednost skupine pala ispod 80 mmHg (79,8). Točan uzrok pada parcijalnog tlaka kisika nije poznat pa se teško može pripisati učinku adrenalina.

Iz rezultata pokusa može se zaključiti da obje anestezije u dozi od 1 mL na 6 kg tjelesne težine nisu imale većeg utjecaja na respiratorne funkcije.

Uporabom otopine 2% lidokaina i 2% lidokaina uz dodatak 0,0125 mg/mL adrenalina apliciranih u lumbosakralni epiduralni prostor u svih 8 pasa tijekom 60 minuta mjerjenja nije uočena nikakva nepravilnost u radu srca i disanja koja bi upućivala na škodljivo djelovanje anestezije s posljedičnim ugrožavanjem zdravstvenog stanja i života životinja. Iako je izmјeren nagli pad krvnih tlakova u 4 pasa anesteziranih lidokainom od 20 mmHg, visoke vrijednosti krvnih tlakova tijekom cijelog mjerjenja dopuštale su i veće razlike u padu tlakova bez vidljivih posljedica za životinje.

Isto tako u svih 8 pasa tijekom cijelog mjerjenja nisu bili uočeni ranije spomenuti znaci koji bi ukazivali na toksično djelovanje anestezije na središnji živčani sustav.

Dodatak adrenalina otopini lokalnog anestetika već u manjim dozama apliciran lokalno produljuje vrijeme nastupa i trajanje anestezije. Unatoč toj činjenici dodatak adrenalina u 2% otopini lidokaina kod lumbosakralne epiduralne anestezije nije imao većeg utjecaja na vrijeme nastupa i trajanje anestezije. Manje su razlike bile mjerljive, ali se ne mogu smatrati značajnima.

Učinak adrenalina resorbiranog iz epiduralnog prostora na krvožilni sustav bio je vidljiv u povećanom broju otkucaja srca s posljedično povećanim srčanim minutnim volumenom, konstantno povišenom krvnom tlaku te povišenim tlakovima u plućnoj arteriji. Vidljivih i mjerljivih pulmonalnih učinaka nije bilo kod obje anestezije.

Uzveši u obzir navedene činjenice i rezultate pokusnih mjerjenja razlika epiduralnih anestezija te veću cijenu otopine anestetika s adrenalinom, u našim uvjetima prednost bi dali otopini 2% lidokaina za postizanje lumbosakralne epiduralne anestezije u pasa.

Sažetak

U radu su prikazane razlike lumbosakralne epiduralne anestezije s 2% lidokainom i epiduralne anestezije s 2% lidokainom uz dodatak adrenalina u dozi od 0,0125 mg/mL otopine u 8 pasa. U obje je anestezije doza bila 1 mL otopine anestetika na 6 kg tjelesne težine. Mjerila se razlika u brzini nastupa, vremena trajanja te vremena potrebnog za opterećivanje stražnjih udova u anesteziranih pasa. Prikazane su i razlike u utjecaju spomenutih anestezija na kardiovaskularni i dišni sustav. Mjerenja su izvođena tijekom 60 minuta pri čemu su mjereni sljedeći parametri: tjelesna rektalna temperatura, bilo, disanje, arterijski krvni tlakovi, pH krvi, parcijalni tlakovi kisika i ugljičnog dioksida, krvni tlakovi u arteriji pulmonalis, zasićenost organizma kisikom te srčani minutni volumen. Učinak anestezije s dodatkom adrenalina na kardiovaskularni sustav bio je mjerljiv, dok na dišni sustav nije bilo mjerljivog učinka. Isto su tako postojale razlike u brzini nastupa i vremenu trajanja epiduralnih anestezija te vremenu početka opterećivanja stražnjih udova.

Literatura

- BRADLEY, R. L., S. J. WITHROW and R. B. HEATH (1980): Epidural analgesia in the dog. *Vet. Surg.* 9, 153-156.
- FOSSUM, THERESA WELCH et. al. (1997): *Small Animal Surgery*, Mosby, St. Louis, USA.
- HALL, L. W. and K. W. CLARKE (2001): *Veterinary Anaesthesia*, 10th ed., Balliere Tindal, London, U.K.
- NEIL, S., J. WELCH et al. (2001): *Invasive Haemodynamic Monitoring*, Becton Dickinson U.K. Ltd., Oxford, England.
- NOLTE, I., G. C. G. WATNEY and L. W. HALL (1983): Cardiovascular effects of epidural blocks in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 24, 17-29.
- RAMADAN, P. i I. HARAPIN (1998): Interna klinička propedevтика domaćih životinja, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- THRUMAN, J. C., W. J. TRANQUILLI and G. J. BENSON (1996): *Lumb and Jones Veterinary Anesthesia*, 3rd ed. Lippincot, Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.
- VEERING, B. T. and M. J. COUSINS (2000): Cardiovascular and pulmonary effects of epidural anaesthesia. *Anaesthesia Intensive Care* 28, 620-635.
- WARD, R. J., J. J. BONICA, F. G. FREUND, T. AKAMATSU, F. DANZINGER and S. ENGELSSON (1985): Epidural and subarachnoid anesthesia:cardiovascular and respiratory effects. *JAMA* 1985, 191-275.

Comparison of the Time of Onset, Duration and Cardiovascular and Pulmonary Effects of Epidural Anaesthesia Between Lidocaine and Lidocaine-Adrenaline Solution in Dogs

Marko PEĆIN, DVM, Assistant, Dražen MATIČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Hrvoje BOROŠAK, DVM, Assistant, Mirna ABAFFY, DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Petar KOSTEŠIĆ, DVM, Researcher, University of Zagreb.

This paper presents differences between lumbosacral epidural anaesthesia with 2% lidocaine and epidural anaesthesia with 2% lidocaine with 0.0125 mg/ml adrenaline in a total of eight dogs. In both cases, the dose was 1 mL of solution per 6 kg of body weight. Differences between the time of onset, duration of anaesthesia, and time needed for dogs to start to support their body weight were measured. Over a 60-minute period, parameters such as rectal body temperature, pulse, breathing, arterial blood pressure, blood pH, pO₂, pCO₂,

a.pulmonalis blood pressure, oxygenation and cardiac output were measured to determine the cardiovascular and pulmonary effects of epidural anaesthesia. The effects of adrenaline added to the anaesthetic solution were more visible on the cardiovascular system than on the respiratory system. There were also certain differences between the two anaesthesia protocols in the time of onset, duration, and time needed to support body weight with hind legs.

Diklazuril - primjena, farmakokinetika i toksikologija

Đurđica Božić, Nina Bilandžić, Ivana Varenina
i Božica Solomun Kolanović



Uvod

Kokcidioza je bolest probavnoga sustava domaćih životinja, peradi, pura, zečeva, goveda i drugih. Uglavnom utječe na mlade životinje, dok starije razviju imunitet. Prouzročena je protozoarnim parazitom iz roda *Eimeria* spp., koji se isto tako naziva i *Coccidia* spp., jednostaničnim mikroorganizmom koji se prirodno nalazi u tlu. Učinci kokcidioze su u rasponu od blage upale crijeva, smanjeni unos hrane uz gubitak apetita i težine, do proljeva i smrti. Kokcidije su visoko specifične za domaćina, a invazija nastaje gutanjem sporuliranih oocista kontaminiranom hranom ili vodom. Nakon što se proguta oocista prodire u stanice koje pokrivaju sluznicu crijeva, gdje prolaze kroz nekoliko faza razvoja i prouzroče upale i uništavanje crijevnih stanica. Dobro gospodarenje i pravilne higijenske mjere, čišćenje i dezinfekcija pomažu održavanju rizika od pojave bolesti na minimumu, iako je poznato da su kokcidije otporne na većinu dezinficijensa (EMEA, 2004.). Sporulirani su oblici vrlo otporni na obične dezinficijense, pogoduju im vлага

i tople temperature, dok im je izravno sunčevvo svjetlo najbolji dezinficijens. Stoga je poželjeno suho stanište izloženo sunčevoj svjetlosti.

Za sprječavanje i liječenje kokcidioze životinja te smanjenje izlučivanja infekcijskih oocista u uzgojima u kojima je potvrđena kokcidioza preporuča se primjena antikokcidijskih sredstava koja djeluju protiv brojnih vrsta kokcidija iz roda *Eimeria*. Ova sredstva koče rast i umnažanje intracelularnih razvojnih stadija kokcidija u tijeku nespolne (merogonija) i spolne diobe, a istovremeno ne djeluju na izvanstanične stadije kokcidija (merozoit) pa time omogućavaju razvoj prirodnog imuniteta (Bayer, 2012.)

U Europskoj se Uniji, kao dodatci hrani za sprječavanje kokcidioze koristi 11 kokcidiosistika, što je određeno Uredbom 1831/2003 (EC, 2003.). Vrsta i količina kokcidiosistika koja se dodaje u hrani za životinje u Republici Hrvatskoj propisana je Pravilnikom o dodacima hrani za životinje (N. N. br. 9/2007.). Pri

Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

tome se uglavnom koriste kao dodatci hrani za perad i zečeve, a u hrani za kokoši nesilice nisu dopušteni. Prema njihovoj kemijskoj prirodi i glavnim biološkim aktivnostima mogu se podijeliti u dvije skupine: prirodno proizvedeni polieterski ionofori (monenzin, lasalocid, salinomicin, narazin, maduramicin i semduramicin) i ne-ionoforni tj. kemijski spojevi, koji pokrivaju struktorno različite tvari (robenidin, dekokvinat, nikarbazin, diklazuril i halofuginon). Od 40,7 milijuna tona hrane koja se godišnje proizvede za piliće za tov, purane i kuniće, približno se 18,3 milijuna tona proizvodi s dodatkom kokcidiostatika (McEvoy, 2002., Dorne i sur., 2011.).

Diklazuril je sintetski spoj, derivat tiazinona, a primjenjuje se kao dodatak u hrani za liječenje kokcidioze u tovnih pilića, kokoši nesilica (može se davati do 16 tjedna njihove starosti), pura za tov (može se davati do 12 tjedna starosti) (EFSA, 2008.a).

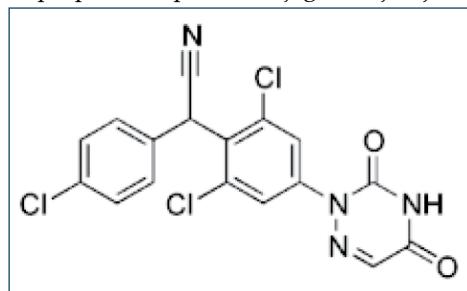
Primjena diklazurila

Kemijski naziv diklazurila je (2,6-diklor- α -(4-klorofenil)-4-(4,5-dihidro-3,5-diokso-1,2,4-triazin-2(3H)-il)benzenacetonitril), derivat je benzenacetonitrila, širokog je spektra djelovanja (slika 1.). Kod peradi djeluje kao kokcidostatik protiv *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. brunetti* i *E. tenella* (Mortier i sur., 2005.a). Iako mehanizam djelovanja diklazurila nije u potpunosti poznat, njegov utjecaj na

seksualnu ili aseksualnu fazu blokira izlučivanje oocista te prekida životni ciklus parazita. Diklazuril karakterizira široka rasprostranjenost u tkivima, dugo poluvrijeme eliminacije kao i eliminacija preko izmeta, kako u ptica tako i u sisavaca (EMEA, 1996., 1998.b).

Komercijalno je dostupan pod trgovackim imenom Vecoxan® kao oralna suspenzija za janjad te pod trgovackim imenom Clinacox kao 0,5% premiks koji se dodaje u hranu peradi u koncentraciji od 1 mg/kg. Najmanja i najviša dopuštena koncentracija diklazurila je 1 mg/kg hrane, period karenkcije prije klanja je 5 dana, osim za kokoši nesilice gdje period karenkcije nije potreban (EFSA, 2008.a). Diklazuril je na popisu u Aneksa II Uredbe 2377/90 kao veterinarski lijek za oralnu uporabu kod svih preživača i svinja (EC, 2010.). Preporučena doza je 1 mg/kg tjelesne težine za janjad te 5 mg/kg tjelesne težine za goveda i svinje, primijenjena kao oralna suspenzija u jednoj dozi (EFSA, 2008.a). U Republici Hrvatskoj diklazuril je dostupan kao ljekoviti premiks naziva Diklavet 0,5% proizvođača Krka d.d., Novo Mesto, Slovenija.

Prema antikokidijskom djelovanju triazinona, diklazuril djeluje protiv intracelularne faze razvoja kokcidija, odnosno tijekom shizogonije i gametogenije. Nakon tretmana s diklazurilom, prva- i druga-shizonti generacija ukazuju na velike degenerativne promjene koje karakteriziraju gubitak unutarnje strukture, pojava mnogih intracitoplazmatskih vakuola te nepotpuna merogonija. To dovodi do potpune degeneracije shizonta i gamonta (EFSA, 2007.). *In vitro* studije utjecaja na rast u ograničenom rasponu mikroorganizama, pokazale su da je diklazuril zapravo lišen antibakterijskih i antimikotskih djelovanja u koncentracijama do 100 µg/mL (EFSA, 2007.).



Slika 1. Strukturalna formula diklazurila.

Farmakokinetika diklazurila

Nekoliko je studija objavljeno u vezi učinkovitosti diklazurila u različitim životinjskim vrstama, kao što su: pilići, pure, ovce, telad i konji te malo informacija o farmakokinetici diklazurila u ovaca. Samo je nekoliko podataka o farmakokinetici diklazurila koji pokazuju specifične razlike u vrsta. Diklazuril je pokazao maksimalno vrijeme (sati) apsorpcije u plazmi od: 6 za piliće i pure, 8 za štakore, 12 za telad i 24 za svinje, janjad i konje (Giorgi i sur., 2010.).

a) Kinetika diklazurila ciljnih životinjskih vrsta

Oralno primjenjivan diklazuril se minimalno metabolizira, a većina roditeljske molekule (parent drug) izlučuje se izmetom (EMEA, 1996.). Pri ponavljanoj primjeni oralne doze diklazurila kod kokoši nesilica rezultati ukazuju na postojane ostatke u tkivima i jajima, osobito u žumanjku (EMEA, 1996., Mortier i sur., 2005.a).

Provedeno je istraživanje koncentracije u kojima se primjenjivao ^{14}C -označeni diklazuril u tovnih pilića kao laktozna smjesa u dozi od 1 mg/kg tjelesne težine. Maksimalna koncentracija radioaktivnosti od 1,5 do 2,0 μg diklazuril ekvivalenta (ukupni radioaktivni ostaci)/mL dostignuta je u plazmi 6 sati nakon primjene. Poluvrijeme eliminacije iz plazme je oko 50 sati. Ravnoteža između plazme i razine tkiva brzo je postignuta. Koncentracije u tkivu bile su 2-10 puta niže od odgovarajućih koncentracija u plazmi. Maksimalne koncentracije postignute su nakon 6 sati i iznosile su (μg diklazuril ekvivalent/kg): 1260 u jetri, 1070 u bubregu, 170 u mišiću te 140 u koži/mast. U jetri i bubrežima zabilježene su najviše koncentracije pri svim vremenskim točkama. Poluvrijeme eliminacije je otprilike 50 sati, što je slično onome u plazmi. Roditeljska je molekula diklazurila iznosila više od 90% ukupne

radioaktivnosti u jetri unutar 24 sata, a metaboliti nisu bili detektibilni. Oko polovice doze izlučuje se unutar 24 sata, gotovo isključivo kao nepromijenjeni diklazuril. Nakon 10 dana, kumulativno izlučivanje je preko 95%. Degradacijski produkt, označen kao DM5, iznosio je 5,3% doze u 0-96 sati izlučenja. Ostali metaboliti iznosili su svaki <2%. DM5 nije definitivno identificiran (EFSA, 2008.a).

Pokazano je da je derivat 4-amino-2,6-diklor-a-(4-klorofenil)benzenacetonitril, oblikovan cijepanjem i naknadnom degradacijom triazin-dion prstena (FAO / WHO, 1996.). Dvadeset i četiri sata nakon jedne primjene od 1 mg ^{14}C -obilježenog diklazurila/kg tjelesne težine u pilića, izmjereni je 100 μg ekvivalent/kg u masti i mišiću, 920 μg ekvivalent/kg u jetri te 720 μg ekvivalent/kg u bubregu. Do smanjenja radioaktivnosti došlo je 72 h nakon primijenjene doze te iznosi redom: 50 μg ekvivalent/kg u masti i mišićima te 420 mg ekvivalent/kg u jetri i bubregu (EFSA, 2008.a).

Dvadeset i četiri sata nakon ponovljene primjene od 0,090 mg ^{14}C -obilježenog diklazurila/kg tjelesne težine/dnevno u pilića tijekom 14 dana, izmjereni je: 40 μg ekvivalent/kg u mišiću, 110 μg ekvivalent/kg u masti i 240 μg ekvivalent/kg u jetri. Ove razine smanjuju se 72 sata nakon tretmana otprilike do (μg ekvivalent/kg): 20 u mišiću, 800 u masti i 200 u jetri (EMEA, 1996.).

Slično je istraživanje provedeno i u pura kod kojih je maksimalna koncentracija radioaktivnosti od $1,78 \pm 0,19 \mu\text{g}$ ekvivalent/mL dostignuta u plazmi 6 sati nakon primjene. Poluvrijeme eliminacije je oko 38 sati. Koncentracije u tkivu su usporedive s onima dobivenim u tovnih pilića te su malo do izrazito niže od odgovarajućih koncentracija u plazmi. Brzina smanjivanja bila je slična u svim tkivima s poluvremenom eliminacije u rasponu od 34 do 36 sati. Nepromijenjeni je diklazuril iznosio 98% radioaktivnosti

uzorka za jetru prouzročenu nakon 6 h te 85% nakon 48 i 72 h. Nijedan metabolit nije iznosio više od 10% radioaktivnosti u jetri. U 24 sata nakon tretiranja, izlučuje se 55% doze. Kumulativno izlučivanje iznosi 88% nakon 5 dana i 94,8% nakon 10 dana. U izlučenju je identificirano najmanje 8 metabolita. Međutim, roditeljska molekula diklazurila iznosi glavni dio izlučene radioaktivnosti, što predstavlja 55,8% doze. Produkt cijepanja triazin-dion prstena, DM5, prethodno opažen kod tovnih pilića iznosi 6,3% doze u 0-96 sati izlučivanja. Neidentificirani su metaboliti iznosili oko 2,4%, a ostali metaboliti < 2% (FAO/WHO, 1996., EC, 1997.a).

Pure su hranjene tijekom cijelog perioda uzgoja (4 mjeseca) hranom sadržaja diklazurila na 1 mg/kg tjelesne težine. Pri praktično nultoj karenčiji (6 sati) razine ostataka su ($\mu\text{g}/\text{kg}$): 570 u jetri, 300 u bubrežima, 160 u koži/masnoća i < 50 u mišićima. Smanjivanje diklazurila je monofazno i poluvrijeme eliminacije je otprilike 3 dana u jetri i koži/masnoća te 2 dana u bubrežima (EC, 1997.a).

b) Kinetika diklazurila ne-ciljnih životinjskih vrsta

Istraživanja su obuhvaćala tretman kokoši nesilica kroz 32 dana s hranom koja sadrži diklazuril: 0 (kontrolna skupina), 1,0 i 5,0 mg/kg (5 puta ovlaštene razine za ciljne životinje). Životinje se zatim 20 dana održavalo na prehrani bez diklazurila. Jajima prikupljenim tijekom cijelog razdoblja (32 + 20 dana) određen je sadržaj ostataka diklazurila plinskom kromatografijom s granicom određivanja (LOD) od 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Zbog ograničenog metabolizma diklazurila u pilića (od 7,6 na 10,3% doze) dobiveni podatci odnose se na nepromijenjeni diklazuril i u žumanjku i bjelanjku (EC, 1997.b).

Tijekom primjene takve prehrane od 1 mg/kg ostaci diklazurila postali su mjerljivi 9. dan u žumanjku i 11. dan

u bjelanjku. Od ove točke otkrivene su stabilne koncentracije sve do 2.-3. dana nakon prekida liječenja. Maksimalna koncentracija diklazurila od 322 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određena je 3. dan karenčije u žumanjku te 82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u bjelanjku na 14. i 29. dan liječenja. Prekid je liječenja pratio brzi pad diklazurila u bjelanjku ispod granice određivanja na 4. dan karenčije i dulji pad u žumanjku ispod granice određivanja na 15. dan karenčije. Stabilna koncentracija diklazurila u jajima kokoši nesilica na prehrani od 5 mg/kg bila je vrlo blizu onoj od 1 mg/kg prehrani (10-11 dana) iako su ostaci bili mjerljivi i ranije odnosno na 3. dan u bjelanjku i 4. dan u žumanjku. Prisutnost je ostataka diklazurila bila veća u jajima onih kokoši nesilica tretiranih većom dozom, maksimalne vrijednosti postignute su 4. dan karenčije u žumanjku i na 26. dan liječenja u bjelanjku. Te su vrijednosti iznosile 1280 $\mu\text{g}/\text{kg}$ odnosno 325 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Smanjivanje je koncentracije ostataka bilo sporije u jajima životinja tretiranih većom dozom, u trajanju i to 10. dana karenčije u bjelanjku i još duže u žumanjku gdje su ostaci bili mjerljivi i nakon 20. dana karenčije. Uzimajući u obzir maksimalne vrijednosti ostataka u žumanjku i bjelanjku eksperimenta s 5 mg/kg, a uz pretpostavku da se jaje sastoji od 35 g bjelanjka i 20 g žumanjka. Ukupna koncentracija ostataka jaja bit će najviše 37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ili 673 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (EC, 1997.b).

Linearnom ekstrapolacijom, očekivana koncentracija bila bi 2,7, 6,7, i 13,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u jajima, ako bi se kokošima nesilicama dala hrana unakrsno kontaminirana pri razinama od 2, 5 i 10% maksimalno dozvoljene koncentracije za ciljne životinje (EFSA, 2008.a).

Provedeno je istraživanje tretmanom kroz 14 dana na dvije koncentracijske razine: dopuštena koncentracija za tovne piliće od 1 mg/kg hrane i koncentracija 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hrane koja odgovara 5% unakrsnom prijenosu tijekom priprema

hrane (Mortier i sur., 2005.b). Jaja su uzorkovana tijekom tretmana i tijekom perioda karenčije od 30 dana. Diklazuril je određen od 2. dana u jajima životinja koje su hranjene visokom dozom dok je u jajima životinja tretiranih niskom dozom zabilježen od 3. dana. Dana 10. određena je koncentracija od $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ za grupu koja je primala $1 \text{ mg}/\text{kg}$ hrane te $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ za grupu tretiranu s $50 \mu\text{g}/\text{kg}$. Koncentracije su održavane sve do 16. dana za $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ grupu, odnosno 18. dana za $1 \text{ mg}/\text{kg}$ grupu. Nakon toga koncentracije su počele opadati sve dok više nisu mogli biti pronađeni ostaci 22. dan nakon tretmana za $1 \text{ mg}/\text{kg}$ grupu, odnosno 11. dan nakon završetka tretmana za $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ grupu. Rezultati ukazuju i da je većina ostataka prisutna u žumanjku. Iz ovih se rezultata linearnom ekstrapolacijom može prepostaviti koncentracija diklazurila u hrani i jajima te je izračunato da bi se mogla očekivati koncentracija od $2,5$ i $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ u jajima, ako je kokošima nesilicama dana hrana unakrsno kontaminirana pri razini od $2,5$ i 10% od maksimalno dozvoljene koncentracije za ciljne životinje (EFSA 2008.a).

U kunića, koncentracije diklazurila u plazmi bile su niže od $1 \text{ mg}/\text{L}$ tijekom 14-dnevнog liječenja diklazurilom izmiješanog u hranjivu u dozi od $1 \text{ mg}/\text{kg}$ (što odgovara $0,067 \text{ mg}/\text{kg}$ tjelesne težine/dnevno). Nakon završetka tretmana, koncentracije se polagano smanjuju i postižu $0,2 \text{ mg}$ diklazurila/L 7 dana kasnije. U janjadi je nakon dvije oralne primjene od $1 \text{ mg}/\text{kg}$ tjelesne težine u razmaku od 3 tjedna, maksimalna razina plazme iznosila $0,150 \text{ mg}/\text{L}$, 24 sata nakon prve doze, odnosno $0,080 \text{ mg}/\text{L}$, 24 sata nakon druge doze, ukazujući pritom na nisku oralnu raspoloživost (EMEA, 1996.). U prasadi je nakon jedne oralne primjene diklazurila od $5 \text{ mg}/\text{kg}$ tjelesne težine, maksimalna koncentracija plazme $0,035 \text{ mg}/\text{L}$ zabilježena 24 sata nakon

primjene. U teladi je nakon jedne oralne primjene diklazurila od $5 \text{ mg}/\text{kg}$ tjelesne težine, srednja maksimalna koncentracija plazme $0,039 \text{ mg}/\text{L}$ zabilježena 12 sati nakon primjene (EMEA, 2004.).

U svinja je 24 sata nakon jedne oralne primjene diklazurila od $5 \text{ mg}/\text{kg}$ tjelesne težine kod 4-5 dana stare prasadi, zabilježeno $33,8 \mu\text{g}/\text{kg}$ u mišiću, $162 \mu\text{g}/\text{kg}$ u masti zajedno s kožom u prirodnom omjeru, $45,2 \mu\text{g}/\text{kg}$ u jetri te $43,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ u bubregu. Razine ostatka diklazurila bile su ispod granice kvantifikacije analitičke metode, odnosno $25 \mu\text{g}/\text{kg}$ u mišiću, jetri i bubregu nakon 3 dana te nakon 5 dana u masti+koža (EMEA, 2004.).

U goveda je 24 sata nakon jedne oralne primjene diklazurila od $5 \text{ mg}/\text{kg}$ tjelesne težine kod 3-5 dana stare teladi, zabilježeno ($\mu\text{g}/\text{kg}$): $25,8$ u mišiću, 361 u masti, 108 u jetri te $75,2$ u bubregu. Razine ostatka diklazurila bile su ispod granice kvantifikacije analitičke metode, odnosno $25 \mu\text{g}/\text{kg}$ u mišiću i bubregu nakon 3 dana, u jetri nakon 5 dana i nakon 7 dana u masti (EMEA, 2004.).

Kinetika diklazurila u kunića evaluirana je te je utvrđeno da se diklazuril apsorbira u vrlo ograničenoj mjeri (EFSA, 2007.). Uglavnom se izlučuje u izmetu kao nepromijenjen spoj. Razine su u plazmi veoma niske i ostaci u tkivima prate opadajući redoslijed: jetra, bubreg, mast i mišić. Metaboliti izolirani iz izmeta i urina, predstavljaju svaki manje od 2% primijenjene doze. Izolirani su i metaboliti iz tkiva i uvjetno identificirani, svaki predstavlja manje od 10% ukupnih rezidua, s izuzetkom masti gdje jedan metabolit diklazurila koji odgovara gubitku triazinonske polovine diklazurila predstavlja oko 35% od ukupne količine rezidua. Nakon 14 dana uzastopne primjene hrane s dodatkom ^{14}C -označenog diklazurila od $1 \text{ mg}/\text{kg}$, izmjerene su koncentracije ukupnih ostataka u tkivima nakon 1 dana karenčije ($\mu\text{g ekvivalent}/\text{kg tkiva}$): 1640 u jetri, 710

u bubregu, 70 u mišiću i 200 u masti. Nakon 5. dana karenčije, ukupna količina ostataka izmjerena u istom tkivu iznosila je gore navedenim redom (μg ekvivalent/kg tkiva): 1320, 420, 40 i 130. Za roditeljsku molekulu, izmjerene razine ostataka nakon 1. dana karenčije su (μg ekvivalent/kg tkiva): 1450 u jetri, 440 u bubregu, 50 u mišiću i < granice kvantifikacije (LOQ) u masti. Nakon 10 dana, razine ostataka diklazurila bile su $270 \mu\text{g}/\text{kg}$ u jetri i < LOQ za druga tkiva (LOQ=0,05mg/kg za jetru, bubrege i mišiće, a za mast LOQ=0,1 mg/kg). Nema podataka o razinama ostataka za 0. dan karenčije. Ukupna radioaktivnost ostataka uzeta je u obzir za procjenu ljudske izloženosti (EFSA, 2007.). Linearnom ekstrapolacijom za kuniće ako bi bili hranjeni hranom koja je kontaminirana diklazurilom na razini od 10% predviđena je koncentracija od (μg ekvivalent/kg tkiva): 164 u jetri, 71 u bubregu, 7 u mišiću i 20 u masti. Odgovarajuće brojke za unakrsnu kontaminaciju od 5, odnosno 2% će biti 82, 35, 3,5, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ te 33, 14, 1,4 i 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (EFSA, 2008.a).

Slaba apsorpcija diklazurila zabilježena je u ovaca nakon oralne primjene od 1 mg/kg tjelesne težine. Maksimalna koncentracija u plazmi od 12 do 16 $\mu\text{g}/\text{L}$ postignuta je 24-48 sati nakon doziranja i bila je manja od granice kvantifikacije (< 10 $\mu\text{g}/\text{L}$) pri svim drugim uzorkovanjima (FAO/WHO, 1996.). Primjenom jedne doze od 1 mg/kg tjelesne težine u 3 tjedna starih janjadi nakon 24 sata određene su koncentracije ($\mu\text{g}/\text{kg}$): 28 u mišiću, 84 u masti, 298 u jetri i 92 u bubregu (EMEA, 2004.).

Provedeno je istraživanje farmakokinetike diklazurila natrijeve soli u konja na četiri različite oralne formulacije kao dodatka hrani za životinje: 5 mg/kg, 2,2 mg/kg natrija sol, 2,2 mg/kg diklazurila u dimetil sulfoksidu i 2,2 mg/kg natrijeva sol (Dirikolu i sur., 2006.). Analiza uzorka plazme pokazala

je različite stope apsorpcije diklazurila i eliminacije ovisno o primjenjenoj formulaciji. Prosječno je poluvrijeme eliminacije u rasponu od 43 do 87 sati. Apsorpcije natrijeve soli diklazurila kao dodatak hrani za životinje varira od konja do konja, dosegnuvši vrhunac koncentracije u plazmi unutar 4 do 24 sata uz prosječno poluvrijeme eliminacije od 54 sata. Srednja oralna biodostupnost diklazurila je 9,5% izračunata koristeći oralnu primjenu natrijeve soli diklazurila kao referencu. Diklazuril u metil sulfoksidu i natrijeva sol diklazurila u hranjivu je 50% i 45% manje biodostupna nego natrijeva sol diklazurila (EFSA, 2008.a).

Toksičnost diklazurila

Toksičnost diklazurila je vrlo niska. U studijima akutne toksičnosti, oralne doze do 5000 mg/kg tjelesne težine nisu uzrokovale smrtnost kod miševa i štakora. Međutim, intraperitonealni LD₅₀ u mužjaka štakora je 5000 mg/kg tjelesne težine diklazurila dobro je podnesen do 2240 mg/m³ udisanjem kod štakora i do 4000 mg/kg tjelesne težine nakon dermalnog nanošenja na kuniće (EMEA, 1996.). U janjadi, diklazuril pokazuje nisku toksičnost i primjena doze diklazurila i do 60 puta terapijske doze ne izaziva nikakve nuspojave u toj životinjskoj vrsti (Giorgi i sur., 2010.).

Sub-kronična toksičnost diklazurila dobro je istražena u miševa, štakora i pasa. U dva tromjesečna istraživanja miševi su tretirani hranom u kojoj se doza diklazurila kretala u rasponu od 200 do 3000 mg/kg. Oticanje centrilobularnih hepatocita primjećeno je za doze veće od 400 mg/kg kod mužjaka, a pri dozi od 1600 mg/kg kod ženki. Toksični učinci nisu prijavljeni za doze od 200 mg/kg (otprilike 50 mg/kg tjelesne težine/dnevno) za muške, a 800 mg/kg (što odgovara 200 mg/kg tjelesne težine) za ženke (EFSA, 2008.a).

U štakora se diklazuril primjenjivao u prehrani kroz 3 mjeseca pri dozi u rasponu od 50 do 3000 mg/kg. U dvije najvišim dozama od 2000 i 3000 mg/kg tretiranim grupama, izviješteno je o hepatocitičkoj citoplazmatskoj vakuolizaciji i povećanoj incidenciji eozinofilnih citoplazmatskih kondenzata. Histopatološki pregled pokazao je oticanje centrilobularnih hepatocita i u mužjaka i u ženki. Doze pri kojima nisu uočeni nikakvi utjecaji, odnosno nisu uočene nikakve jetrene lezije (engl. NOEL; no-observed-effect level) su 50 mg/kg (4,38 mg/kg tjelesne težine/dnevno) za muške i 200 mg/kg (20,8 mg/kg tjelesne težine/dnevno) za ženke.

Psi su tretirani diklazurilom u obliku želatinozne kapsule od 5, 20 i 80 mg/kg tjelesne težine/dnevno tijekom 3 mjeseca. Pri najvišoj dozi, u oba spola, zabilježen je značajan porast od fino žučkasto zrnatog do smeđeg pigmenta na citoplazmi hepatocita. Doza pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj od 20 mg/kg tjelesne težine/dnevno je zadržana, na temelju odsutnosti jetrenih lezija. Nakon jednomjesečnog razdoblja oporavka, gore navedene varijacije i promjene na jetri nisu više uočene, što ukazuje da su reverzibilne (EMEA, 1996.).

Na štakorima i psima provedena su dva dvanaestomjesečna istraživanja. U štakora, primjenjivao se diklazuril preko hranjiva u dozama od 16, 63, 250 i 1000 mg/kg. Osim ranije izviještenih nalaza, promatrane su kod ženki histocitne nakupine u mezenterijalnim limfnim čvorovima te pjenaste stanice u plućima, što dovodi do doza pri kojima nisu uočeni nikakvi utjecaji od 63 mg/kg (5,76 mg/kg tjelesne težine/dnevno) za ženke.

U pasa, nakon oralne primjene diklazurila pri dozama od 5, 20 i 80 mg/kg tjelesne težine/dnevno tijekom 12 mjeseci, toksični učinci bili su slični onima izvještenim za tromjesečno

istraživanje toksičnosti i doza pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj je 20 mg/kg tjelesne težine/dnevno (EMEA, 1996.).

U istraživanjima o toleranciji na lijek, nisu zabilježena ni abnormalna klinička opažanja vezana uz lijek niti nuspojave u ovaca nakon tretmana s 1, 3 ili 5 puta od predložene terapijske doze (EMEA, 1996.).

Proučavane su dvije generacije razmnožavanja štakora s 2 legla po generaciji, primjena diklazurila bila je kroz hranjivo u dozama od 5, 20, i 80 mg/kg tjelesne težine/dnevno. Maternalna toksičnost, koju karakterizira smanjenje tjelesne težine i potrošnje hrane, pojavila se pri dozama većim od 20 mg/kg tjelesne težine/dnevno. Embriotoksični učinci, poput smanjenja težine štenaca pri odbijanju od dojenja te smanjenje u stopi preživljavanja u 3. tjednu starosti, zabilježeni su pri dvjema najvišim dozama. Teratogeni učinci nisu zabilježeni. Doza od 5 mg/kg tjelesne težine/dnevno smatra se dozom pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj (EMEA, 1996.).

U teratogenim studijama na štakorima primjenom doza u rasponu od 1,25 do 160 mg/kg tjelesne težine/dnevno nisu uočeni nepovoljni učinci na štence za doze do 5 mg/kg tjelesne težine/dnevno. Teratogeni učinci nisu zabilježeni. Doza od 5 mg/kg tjelesne težine/dnevno smatra se dozom pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj, a ni u studijama provedenim na kunićima hranjenim putem sonde u dozama od 5 do 160 mg/kg tjelesne težine/dnevno nisu uočene nuspojave na leglima (EMEA, 1996.).

Mutageni potencijal diklazurila ispitani je u 5 *in vitro* testova (Ames test, L5178Y/TK analiza miš limfoma, test aberacije kromosoma, USD test na hepatocitima štakora u primarnoj kulturi, SOS kromotest u *E. coli*) te u tri *in vivo* testa (spolno povezan recesivan letalni test u *Drosophila*,

mikronukleus test u miševa, dominantan letalni test u mužjaka miša). Dobiveni negativni rezultati ukazuju da diklazuril nije genotoksičan (EMEA, 1996.).

U 25. mjesecnom istraživanju karcinogenosti u miševa, diklazuril je primijenjen u prehrani primjenom koncentracija od 16, 63, 250 i 1000 mg/kg. Zabilježene su iste nuspojave i kod sub-kroničnih istraživanja. Doza pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj je 63 mg/kg za ženke (14,1 mg/kg tjelesne težine/dnevno) te 16 mg/kg (2,9 mg/kg tjelesne težine/dnevno) za mužjake. Nije uočen karcinogeni potencijal diklazurila (EMEA, 1996.).

Privremeno zaokružena dnevna doza unosa (engl. ADI, acceptable daily intake) od 0,020 mg/kg tjelesne težine utvrđena je na temelju doze pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj od 3 mg/kg tjelesne težine/dnevno iz kronično/karcinogenskih studija u miševa, primjenom faktora od 200, zbog odsutnosti označene maternalne toksičnosti u teratogenim studijama kunića.

Mehanizam toksičnosti diklazurila nije još potpuno razjašnjen. Međutim, primjećeno je da diklazuril kao i halofuginon smanjuje veličinu testisa u pasa. Za diklazuril dnevna doza unosa (ADI) od 0,029 mg/kg tjelesne težine izvedena je primjenom faktora nesigurnosti od 100 na najnižu dozu pri kojoj nije uočen nikakav utjecaj (NOEL) od 2,9 mg/kg tjelesne težine/dnevno.

Zaključno, diklazuril ima vrlo nisku akutnu toksičnost te nije mutagen, genotoksičan, karcinogen, embriotoksičan ili teratogen (EFSA 2007., 2008.a,b). Prema ostalim procjenama EMEA-e (1996.) i JECFA-e (FAO/WHO, 1999.) izvedena je dnevna doza unosa (ADI) od 0,030 mg/kg tjelesne težine, koja se temelji na istim podatcima te se radi o zaokruženoj vrijednosti (Dorne i sur., 2011.).

Rizik primjene diklazurila na ljudsko zdravlje

Na temelju ostataka diklazurila u jestivim tkivima kunića te kokoših jaja procijenjen je rizik njegove primjene na ljudsko zdravlje. Dnevne vrijednosti za ljudsku konzumaciju tkiva kunića su: 100 g jetre, 300 g mišića, 50 g masti, 50 g bubrega i 100 g jaja. Na ekstrapoliranoj koncentraciji diklazuril ekvivalent u jetri kunića proizlazi iz 10%-tne unakrsne kontaminacije maksimalno dopuštene za ciljne životinje (164 µg ekvivalent /kg jetre). Takva bi potrošnja trebala dovesti do izlaganja 16,4 µg dnevno po osobi. Odgovarajući doprinos za 300 g mišića, 50 g bubrega i 50 g masti bio bi 2,1, 3,5 i 1 µg dnevno po osobi. Ukupan dnevni unos takve jetre, mišića, bubrega i kože/masti bio bi 23 µg po osobi što odgovara 0,38 µg/kg tjelesne težine dnevno za osobu od 60 kg, a koji predstavlja 1,4% dnevne doze unosa (ADI) od 29 µg/kg tjelesne težine (EFSA, 2008.a).

Kada su kokoši nesilice izložene unakrsno kontaminiranoj hrani na razini do 10% maksimalno dopuštene razine za tovne piliće, procjenjuje se da jaja sadrže 13,5 µg/kg. Pod pretpostavkom da je potrošnja jaja 100 g jaja na dan, dobivena izloženost bila bi 1,35 µg po osobi što odgovara 0,023 µg/kg tjelesne težine dnevno za osobu od 60 kg. Ova izloženost predstavlja 1,4% dnevne doze unosa (ADI) od 29 µg/kg tjelesne težine.

Podatci o ostacima diklazurila u mlijeku nisu dostupni, ali s obzirom na metabolički, toksikološki profil te profil ostataka diklazurila, ne očekuje se da će unakrsna kontaminacija hrane za životinje izazvati štetne razine kontaminacije mliječnih proizvoda. Stoga je zaključeno kako raspoloživi podatci nisu davali nikakve naznake za znatan rizik za zdravlje potrošača od unošenja ostataka diklazurila u proizvodima životinja izloženih unakrsno kontaminiranoj hrani

do hipotetske razine od 10% dopuštene razine od 1 mg/kg (EFSA, 2008.a).

Određivanje ostatka diklazurila u proizvodima životinjskog podrijetla

Formiranje programa koji kombinira strategije gospodarenja, higijenske mjere na farmi i stratešku primjenu kemoterapeutika vrlo je važno za smanjenje količine parazita i ograničavanje posljedica bolesti na životinje. Naime, kao i kod većine drugih veterinarskih lijekova tako i kod diklazurila postoji mogućnost od unosa u prehrambeni lanac ljudi. Smatra se da se ostaci diklazurila u tkivima životinja u kojih se ne primjenjuje te jajima nađu kao posljedica slučajne unakrsne kontaminacije u pripremi hrane ili kao posljedica njihove nepravilne uporabe na farmama (McEvoy, 2002.). Najveće dopuštene količine ostataka diklazurila u hrani životinjskoga podrijetla za sve životinske vrste, osim za piliće za tov, purane za tov, kuniće za tov i rasplod, preživače i svinje određene su Uredbom Vijeća 124/2009 (EC, 2009.), odnosno u Republici Hrvatskoj Pravilnikom (N. N. br. 82/2010.) su: 2 µg/kg za jaja, 40 µg/kg za jetru i bubreg te 5 µg/kg za ostalu hranu.

U 2004. i 2005. godini u zemljama EU u ukupno 3511 uzorku tkiva različitih životinja utvrđeno je 19 nesukladnih uzoraka od čega se 13 odnosilo na tkiva peradi (5 od 659 u mišićima, 8 od 418 u jetri), te 6 na jaja od ukupno 274 uzorka (EFSA, 2008.a). Tako su na primjer u Belgiji, u 2002. i 2003. godini utvrđene koncentracije diklazurila u 4 uzorku jaja između 3 i 197 µg/kg (Mortier i sur., 2005.c). U 2005. i 2006. u Belgiji su od ukupno 972 uzorka u 6 uzorka mišića peradi utvrđene koncentracije veće od 10 µg/kg (belgijska granica za nesukladne rezultate) te u uzorku mišića peradi i

mišića divljači iz uzgoja utvrđena je koncentracija između granica detekcije metode od 5 µg/kg te 10 µg/kg (EFSA, 2008.a).

U istraživanju provedenom 2005. godine ostaci diklazurila u ukupno 320 uzoraka jaja utvrđeni su u 26 uzoraka te su 92% uzoraka koncentracije diklazurila bile <1 µg/kg. Najviša koncentracija iznosila je 3,1 µg/kg (CC α 0,5 µg/kg) (Mortier i sur., 2005.b).

Monitoringom u Francuskoj u 100 uzoraka jaja u 7 su utvrđene povišene koncentracije diklazurila (Dubreil-Chéneau i sur., 2009.). U Velikoj Britaniji su 2010. godine u 3 uzorka jetre brojlera utvrđene koncentracije diklazurila od 9, 10 i 340 µg/kg (VRC, 2010.).

Koncentracije jednog ili više kokcidiostatika u različitim vrstama uzoraka određuju se primjenom nekoliko različitih osjetljivih analitičkih metoda, najčešće tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) s UV detekcijom (Johnston i sur., 2001., Dowling i sur., 2005., Mulder i sur., 2005.) kao i imunoenzimskim metodama (Hagren i sur., 2004., Huet i sur., 2005.). U posljednjem desetljeću primjenjuje se metoda tekućinske kromatografije sa spektrometrijom masa, obično u kombinaciji s dvojnom (tandem) masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) za detekciju te potvrdu kokcidiostatika na vrlo niskim granicama određivanja (Matabudul i sur., 2002., Mortier i sur., 2003., Dubois i sur., 2004., Heller i sur., 2004., Bohm i sur., 2005., Mortier i sur., 2005.a, Rokka i sur., 2006., Dubreil-Chéneau i sur., 2009., Galarini i sur., 2011.) uključujući i do četrnaest kokcidiostatika u hrani i hrani za životinje (Olejnik i sur., 2009., Delahaut i sur., 2010.). Prema tome, države članice Europske Unije koriste različite orijentacijske i potvrđne metode s različitim graničnim koncentracijama određivanja diklazurila (decision limit, CC α). Postupci pročišćavanja uzorka

uglavnom se baziraju na metodi ekstrakcije u acetonitrilu nakon čega slijedi pročišćavanje na kolonicama (ekstrakcija čvrste faze, SPE) (Mortier i sur., 2003., Daeseleire i sur., 2005., Mortier i sur., 2005.b).

Sažetak

Za sprječavanje i liječenje kokcidioze životinja primjenjuju se antikokcidistička sredstva. U Europskoj Uniji se kao dodaci hrani za sprječavanje kokcidioze koristi 11 kokcidiostatika: monenzin, lasalocid, salinomicin, narazin, maduramicin, semduramicin, robenidin, dekokvinat, nikarbazin, dikalzuril i halofuginon. Dikalzuril je sintetski spoj, derivat trazinona te se primjenjuje kao dodatak u hrani za liječenje kokcidioze u tovnih pilića, kokoši nesilica te pura za tov. Dikalzuril karakterizira široka rasprostranjenost u tkivima, dugo poluvrijeme eliminacije kao i eliminacija preko izmeta kako u ptica tako i u sisavaca. Mehanizam toksičnosti dikalzurila nije još potpuno razjašnjen. Toksičnost ove tvari je vrlo niska, s vrlo niskom akutnom toksičnosti te je utvrđeno da nije mutagen, genotoksičan, karcinogen, embriotoksičan ili teratogen. Smatra se da je mogućnost unosa u ljudski prehrambeni lanac, odnosno ostaci dikalzurila u tkivima životinja u kojih se ne primjenjuje te jajima, posljedica slučajne unakrsne kontaminacije u pripremi hrane ili njihova nepravilna uporaba na farmama. Na temelju ostataka dikalzurila u jestivim tkivima kunića te kokošjih jaja procijenjen je rizik njegove primjene na ljudsko zdravlje te je zaključeno da nema naznake za znatan rizik od unošenja ostataka dikalzurila u proizvodima životinja izloženih unakrsno kontaminiranoj hrani do hipotetske razine od 10% maksimalno dozvoljene razine ovlaštene za ciljne životinje. Koncentracije dikalzurila, odnosno kokcidiostatika u različitim vrstama uzorka određuju se primjenom različitih osjetljivih analitičkih metoda, najčešće tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti s UV detekcijom te imunoenzimskim metodama. Danas je najviše u primjeni metoda tekućinske kromatografije sa spektrometrijom masa, obično u kombinaciji s dvojnom (tandem) masenom spektrometrijom

(LC-MS/MS) za detekciju te potvrdu kokcidiostatika na vrlo niskim granicama određivanja.

Literatura

1. BAYER(2012):http://bayerveterina.hr/scripts/pages/hr/farmske_zivotinje/goveda/bolesti/kokcidioza/index.php, pristupljeno 02.08.2012.
2. BOHM, D., K. HAHN and P. GOWIK (2005): List of the screening and confirmatory analytical test methods used in the NRLs of the European Union for the substance groups A5, B2a, B2b, B2e and in the German routine field laboratories for all substance groups of Annex I, Council Directive 96/23/EC. BVL, Berlin.
3. DAESELEIRE, E., L. MORTIER, P. DELAHAUT, A.-C. HUET, and G. HUYGHEBAERT (2005): Integrated approach for the control on residues of coccidiostats in eggs. PSD2.
4. DIRIKOLU, L., W. KARPIESIUK, A. E. LEHNER, C. HUGUES, W. E. WOODS, J. D. HARKINS, J. BOYLES, A. ATKINSON, D. E. GRANSTROM and T. TOBIN (2006): New therapeutic approaches for equine protozoal myeloencephalitis: pharmacokinetics of diclazuril sodium salts in horses. Vet. Therap. 7, 52-61.
5. DELAHAUT, H., G. PIERRET, N. RALET, M. DUBOIS and N. GILLARD (2010): Multi-residue method for detecting coccidiostats at carry-over level in feed by HPLC-MS/MS. Food Addit. Contam. 27, 801-809.
6. DORNE, J. L. C. M., M. L. FERNÁNDEZ-CRUZ, U. BERTELSEN, D. W. RENSHAW, K. PELTONEN, A. ANADON, A. FEIL, P. SANDERS, P. WESTER and J. FINK-GREMMELS (2011): Risk assessment of coccidiostatics during feed cross-contamination: Animal and human health aspects. Toxicol. Appl. Pharmacol. in press.
7. DOWLING, G., M. O'KEEFE and M. R. SMYTH (2005): Determination of robenidine in eggs by liquid chromatography with UV spectrophotometric detection. Anal. Chim. Acta 539, 31-34.
8. DUBOIS, M., G. PIERRET and Ph. DELAHAUT (2004): Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B 813, 181-189.
9. DUBREUIL-CHÉNEAU, E., M. BESSIRAL, B. ROUDAUT, E. VERDON and P. SANDERS (2009): Validation of a multi-residue liquid chromatography-tandem mass spectrometry confirmatory method for 10 anticoccidials in eggs according to Commission Decision 2002/657/EC. J. Chromatogr. B. 1216, 8149-8157.
10. EC (1997a): Report of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the Extension of use of diclazuril (E-771) in the feedingstuffs for chickens reared for laying. Expressed, 26 September 1997; text consolidated 5 November 1997.

11. EC (1997b): Report of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the extension of use of diclazuril (E-771) in the feedingstuffs for turkeys. Expressed, 26 September 1997; text consolidated 24 October 1997.
12. EC (2003): Commission Decision 1831/2003 of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. Off. J. Eur. Commun. L268, 29-43.
13. EC (2009): Commission Decision 124/2009 of 10 February 2009 on setting maximum levels for the presence of coccidiostats or histomonostats in food resulting from the unavoidable carry-over of these substances in non-target feed. Off. J. Eur. Commun. L 40, 7-11.
14. EC (2010): Council Regulation 37/2010/EU of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Off. J. Eur. Commun. L15, 1-72.
15. EFSA (2007): Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a Request from the European Commission on the safety and efficacy of 'Clinacox 0,5%' based on diclazuril for rabbits for fattening and breeding. EFSA J. 506, 1-32.
16. EFSA (2008a): Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by diclazuril authorised for use as a feed additive. EFSA J. 716, 1-31.
17. EFSA (2008b): Updated scientific opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a Request from the European Commission on the safety and efficacy of 'Clinacox 0,5%' based on diclazuril for rabbits for fattening and breeding. EFSA J. 697, 1-9.
18. EMEA (1996): Diclazuril - summary report (1). Report of the Committee for Veterinary Medicinal Products. EMEA/MRL/086/96-FINAL.
19. EMEA (2004): Diclazuril (extension to all ruminants and procine species)- Summary report (2). Summary report of the Committee for Veterinary Medicinal Products. EMEA/MRL/895/04-FINAL.
20. FAO/WHO (1996): Diclazuril 859. Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues In Food. The forty-fifth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), World Health Organization, Geneva 1996. WHO Food Additives Series 36.
21. FAO/WHO (1999): Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Fiftieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series 888.
22. GALARINI, R., L. FIORINI, S. MORETTI, L. PETTINACCI and G. DUSI (2011): Development and validation of a multi-residue liquid chromatography-tandem mass spectrometry confirmatory method for eleven coccidiostats in eggs. Anal. Chem. Acta 700, 167-176.
23. GIORGI, M., A. NICCOLINI, G. SOLDANI and F. MARTELLI (2010): Pharmacokinetic study of diclazuril in pre-ruminant and ruminant lambs. Israel J. Vet. Med. 65, 62-67.
24. HAGREN, V., S. R. H. CROOKS, C. T. ELLIOTT, T. LÖVGREN and M. TUOMOLA (2004): An all-in-one dry chemistry immunoassay for the screening of coccidiostat nicarbazin in poultry eggs and liver. J. Agric. Food Chem. 52, 2429-2433.
25. HELLER, D. N. and C. B. NOCHETTO (2004): Development of multiclass methods for drug residues in eggs: silica SPE cleanup and LC-MS/MS analysis of ionophore and macrolide residues. J. Agric. Food Chem. 52, 6848-6856.
26. HUET, A.-C., L. MORTIER, E. DAESELEIRE, T. FODEY, C. ELLIOTT and P. DELAHAUT (2005): Screening for the coccidiostats halofuginone and nicarbazin in egg and chicken muscle: development of an ELISA. Food Addit. Contam. 22, 128-134.
27. JOHNSTON, J. J., W. M. BRITTON, A. MACDONALD, T. M. PRIMUS, M. J. GOODAL and C. A. YODER (2001): Quantification of plasma and egg 4,4'-dinitrocarbanalide (DNC) residues for the efficient development of a nicarbazin based contraceptive for pest waterfowl. Pest. Manag. Sci. 58, 197-202.
28. MATABUDUL, D. K., I. D. LUMLEY and J. S. POINTS (2002): The determination of 5 anticoccidial drugs (nicarbazin, lasalocid, monensin, salinomycin and narasin) in animal livers and eggs by liquid chromatography linked with tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Analyst 127, 760-768.
29. McEVOY, J. D. G. (2002): Contamination of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control. Anal. Chim. Acta 473, 3-26.
30. MORTIER, L., E. DAESELEIRE and P. DELAHAUT (2003): Simultaneous detection of five coccidiostats in eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Anal. Chim. Acta 483, 27-37.
31. MORTIER, L., A. C. HUET, C. CHARLIER, E. DAESELAIRE, P. DELAHAUT, and C. VAN PETEGHEM (2005b): Incidence of residues of nine anticoccidials in eggs. Food Addit. Contam. 22, 1120-1125.
32. MORTIER, L., A. C. HUET, E. DAESELEIRE, G. HUYGHEBAERT, T. FODEY, and C. ELLIOT (2005c): Deposition and depletion of five anticoccidials in eggs. J. Agric. Food Chem. 53, 7142-7149.
33. MULDER, P. P. J., P. BALZER-RUTGERS, E. M. BRINKE, Y. J. C. BOLCK, B. J. A. BERENDSE, H. GERCEK, B. SCHAT and J. A. van RHijn (2005) Deposition and depletion of the coccidiostats toltrazuril and halofuginone in eggs. Anal. Chim. Acta 525, 331-337.
34. OLEJNIK, M., T. SZPRENGIER-JUSZKIEWICZA and P. JEDZINIAKA (2009): Multi-residue confirmatory method for the determination of twelve coccidiostats in chicken liver using liquid chromatography tandem mass spectrometry. J. Chrom. A 1216, 8141-8148.
35. Pravilnik o dodacima hrani za životinje. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva (Narodne novine broj 9/2007.).

36. Pravilnik koji određuje najviše dopuštene količine kokcidiostatika ili histomonostatika u hrani, koji su posljedica neizbjježnog onečišćenja hrane za životinje tim tvarima za one vrste/kategorije životinja za koje njihovo dodavanje u hrani nije namijenjeno. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (Narodne novine broj 82/2010.).
37. ROKKA, M. and K. PELTONEN (2006): Simultaneous determination of four coccidiostats in eggs and broiler meat: validation of an LC-MS/MS method. *Food Addit. Contam.* 23, 470-478.
38. VRC (2010): Veterinary Residues Committee's Annual Report on surveillance for Veterinary Residues in Food in UK for 2001 to 2010. Dostupno na: <http://www.vmd.defra.gov.uk/vrc/Reports/annual.htm>.

Diclazuril - Application, Pharmacokinetics and Toxicology

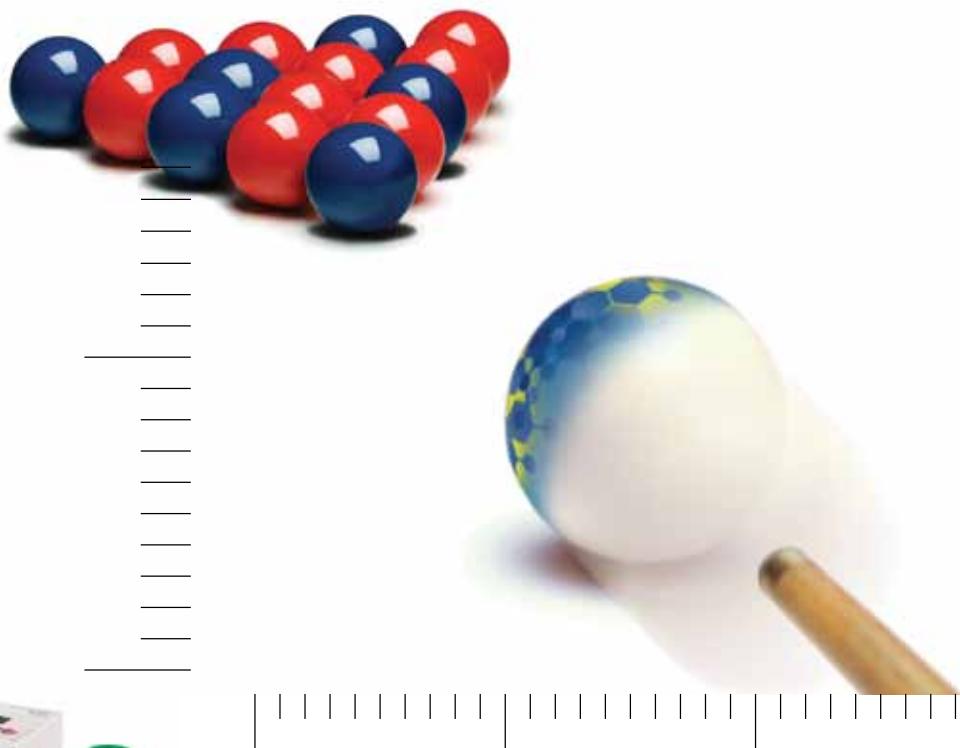
Đurđica BOŽIĆ, BSc, Nina BILANDŽIĆ, BSc, PhD, Scientific Advisor, Ivana VARENINA BSc, Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, BSc, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Coccidiostats are used for the prevention and treatment of coccidiosis agents. In the EU, 11 coccidiostats are used as feed additives to prevent coccidiosis: monensin, lasalocid, salinomycin, narasin, maduramycin, semduramycin, robenidine, decoquinate, nicarbazin, halofuginone and diclazuril. Diclazuril is a synthetic compound, a derivative of trazinone, and is used as a food supplement in the treatment of coccidiosis in broiler chickens, laying hens and turkeys for fattening. Diclazuril is characterized by its wide distribution to tissues, a long elimination half-life and elimination via faeces in both birds and mammals. Its mechanism of toxicity is not yet fully understood, though its toxicity is very low and it is not mutagenic, genotoxic, carcinogenic, embryotoxic or teratogenic. It is believed that the possibility of entering the human food chain, via diclazuril residues in non-target animal tissue and eggs, is the result of accidental cross-contami-

nation in food preparation, or their improper use on farms. Based on diclazuril residues in the edible tissues of rabbits and eggs, the risk of its application to human health was estimated and the conclusion was that there was no indication of a significant risk of ingesting diclazuril residues in products from animals exposed to cross-contaminated food, to a hypothetical level of 10% of the maximum allowable level in the authorized target animals.

Concentrations of diclazuril or other coccidiostats in different samples are determined using a variety of sensitive analytical methods, usually by HPLC with UV detection and immunoenzyme methods. Today, the most widely used is liquid chromatography with mass spectrometry, usually in combination with dual (tandem) mass spectrometry (LC-MS/MS) for the detection and confirmation of coccidiostats at very low limits of quantification.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil® Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

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

Ecocid.® S

SIGURAN I DJELOTVORAN

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



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

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



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

Detaljnije informacije možete dobiti od firme:

KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 4B/H, p.p. 205, Zagreb 10002, Telefon 01/63 12 100, 63 12 101, Faks 01/61 76 739, E-mail: krka-farma@zg.hinet.hr, www.krka-farma.hr

Okratoksin A - Kontaminant hrane i hrane za životinje

Nina Perši, Jelka Pleadin i Dragan Kovačević



Uvod

Prirodni toksini u hrani i hrani za životinje predstavljaju važna pitanja za sigurnost hrane, a znatnu grupu pritom čine mikotoksini koji su kao kontaminanti hrane i hrane za životinje prisutni svugdje u svijetu. Intenzivnije proučavanje toksičnih učinaka mikotoksina započelo je 1960. godine, a najtoksičniji predstavnik skupine okratoksina, okratoksin A (OTA), izoliran je 1965. godine u Južnoj Africi iz pljesni *Aspergillus ochraceus* (van der Merwe, 1965.).

Stupanj kontaminacije ovim mikotoksinom značajno ovisi o prirodnim uvjetima (sadržaju vlage, relativnoj vlažnosti zraka, temperaturi, pH vrijednosti i hranjivom supstratu) koji pogoduju rastu pljesni i produkciji mikotoksina (Betina, 1989., Jay, 1992., Janssen i sur., 1997., Sweeney i Dobson, 1999., Hussein i Brasel, 2001.). Čimbenici, kao što su vlažnost tla i oštećenje zrna žitarica, isto tako povećavaju mogućnost razvoja pljesni i posljedično tvorbu mikotoksina (Celik i sur., 2005.). Literaturni podaci navode i sezonske varijacije u distribuciji, učestalosti pojavljivanja i koncentracijama OTA tijekom zadnjih tridesetak godina u Republici Hrvatskoj, a tijekom vlažnih godina, s većim temperaturnim oscilacijama, utvrđene su vrlo značajne koncentracije ovog mikotoksina (Pepelnjak i sur., 2008.).

Žitarice i proizvodi od žitarica u ljudskoj su prehrani, kao i u hranidbi životinja, najzastupljenija komponenta, a ujedno su i vrlo pogodna sirovina za razvoj pljesni i tvorbu OTA. Sama kontaminacija usjeva javlja se još u polju, tijekom berbe, a zatim i transporta te skladištenja. U ljudski organizam OTA ulazi putem hrane direktnom konzumacijom kontaminiranih žitarica i proizvoda na bazi žitarica, a često i putem mlijeka, jaja te mesa i mesnih proizvoda proizvedenih iz kontaminiranih sirovina. Upravo zbog moguće prirodne kontaminacije žitarica i krmnih smjesa namijenjenih hranidbi životinja za proizvodnju mesa te mogućeg izravnog unošenja u organizam čovjeka putem kontaminirane hrane, OTA predstavlja rizik za zdravlje ljudi i životinja. U okviru Državnog programa monitoringa rezidua i Državnog plana službenih kontrola i monitoringa hrane za životinje Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja provodi se nadzor kontaminacije mikotoksinima uključujući i OTA. Međutim, u našem zakonodavstvu nije propisana najveća dopuštena količina (NDK) OTA u pojedinim namirnicama, kao što su meso i proizvodi od mesa, za razliku od pojedinih zemalja Europske Unije koje za navedenu kategoriju hrane te količine imaju propisane. Isto tako,

Dr. sc. Nina PERŠI, dipl. ing. preh. tehnol., znanstvena novakinja, dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., docentica, znanstvena savjetnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Dragan KOVAČEVIĆ, dipl. ing. preh. tehnol., redoviti profesor, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek

u Hrvatskoj nisu propisane ni NDK ovog kontaminanta u hrani za životinje. Rezultati brojnih autora pokazuju da su u cilju zaštite zdravlja ljudi i životinja nužna daljnja ispitivanja kumulacije ostataka OTA te njegov sustavni nadzor u svim fazama proizvodnje hrane i hrane za životinje, uz definiranje dopuštenih količina u različitim proizvodima namijenjenih ljudskoj prehrani i hranidbi životinja.

Fizikalno-kemijska svojstva i sinteza okratoksin-a

Kemijski naziv za okratoksin A je L-fenilalanin-N-[(5-kloro-3,4-dihidro-8hidroksi-3-metil-1-okso-1H-2-benzopiran-7-il)karbonil]-(R)-izokumarin, a čini slabu organsku kiselinu s vrijednošću konstante disocijacije (pKa) 7,1 (AFSSA, 2006.). OTA je bijeli prah kristalične strukture s temperaturom taljenja od oko 90 °C. Pod UV svjetлом pokazuje intenzivnu zelenu fluorescenciju u kiselom mediju te plavu fluorescenciju u alkalnim uvjetima. U kiselom i neutralnom pH području topljiv je u organskim otapalima (alkoholi, ketoni, kloroform), slabo je topljiv u vodi i nije topljiv ni u petroleteru. U alkalnim uvjetima topljiv je u vodenoj otopini natrijevog hidrogen-bikarbonata (Abrunhosa i sur., 2010., Khoury i Atoui, 2010.). U etanolnoj otopini pohranjenoj na 4 – 8 °C, zaštićenoj od svjetla, stabilan je preko godinu dana, dok je u metanolnoj otopini pohranjenoj na -20 °C stabilan i nekoliko godina (Neeley i West, 1972., Valenta, 1998.). Jedna od značajnih karakteristika OTA jest i njegova stabilnost pri visokim temperaturama te utjecaju kiselina, što ukazuje na to da ga je jednom, kada su namirnice kontaminirane s OTA, vrlo teško ukloniti (Khoury i Atoui, 2010.). Zbog same strukture, industrijski procesi u proizvodnji ne utječu na smanjenje koncentracije OTA u konačnom proizvodu. Međutim, degradacija OTA

uočena je kod izloženosti fluorescentnom svjetlu te kod niskog sadržaja vlage i tretmana natrijevim hipokloritom (NaOCl) (Khoury i Atoui, 2010.).

Optimalna temperatura za sintezu OTA iz *Aspergillus ochraceus* je 28 °C, dok je kod 15 °C, odnosno 37 °C produkcija ovog mikotoksina vrlo niska. S druge strane *Penicillium viridicatum* sintetizira OTA u širem temperaturnom rasponu od 4 do 30 °C. Sukladno tome u hladnjim regijama OTA sintetiziraju uglavnom pljesni rodova *Penicillium*, dok su rodovi *Aspergillus* karakteristični za sintezu OTA u toplijim zemljopisnim regijama (Marin i sur., 2009.).

Apsorpcija, distribucija i eliminacija okratoksin-a

OTA se apsorbira u gastrointestinalnom traktu, a važnu ulogu u apsorpciji imaju karboksilne (kisele) skupine u molekuli OTA. Pri fiziološkim pH vrijednostima dvanaesnika prisutna su dva oblika: monoanion (OTA) i dianion (OTA²⁻), a u potpunosti protonirani oblik prisutan je u kiselom mediju, kao što su gornji dijelovi gastrointestinalnog trakta. Kod većine se životinjskih vrsta OTA pasivno apsorbira u neioniziranom i monoioniziranom obliku u želudcu. Pasivnoj apsorpciji pogoduje visok afinitet vezivanja OTA na proteine plazme. Postotak apsorpcije OTA razlikuje se ovisno o vrsti, kod svinja iznosi 66%, kod štakora i kunića 56%, a kod pilića 40%. Bioraspoloživost varira i u ovisnosti o hranjivim sastojcima koji mogu imati inhibitorno, odnosno stimulativno djelovanje (Walker i Larsen, 2005., Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007.). Sergent i sur. (2005.) pokazali su da neki flavonoidi povećavaju apsorpciju OTA i njegovu staničnu kumulaciju.

Kod živih organizama koncentracija OTA i njegovih metabolita u tkivima i krvi ovisi o vrsti životinje, primijenjenoj dozi, obliku OTA (sintetski ili prirodno sintetiziran) te zdravstvenom stanju

organizma. Općenito, OTA se duže zadržava u krvi nego u tkivima što se pripisuje većem afinitetu vezivanja toksina za krvne proteine. Pretpostavlja se da se nakon što uđe u krv, u udjelu od 99% OTA veže za proteine serum-a (najčešće albumine) što olakšava pasivnu apsorpciju u neioniziranom obliku. Pfohl-Leszkoic i Manderville (2007.) navode da kumuliranje OTA u živim sustavima ovisi o prisutnosti serumskih albumina i da je vezivanje specifično ovisno o spolu. Pretpostavljeno je da vezivanje albumina odgada eliminaciju OTA, ograničavajući prijenos iz krvi u stanice jetre i bubrega. Il'ichev i sur. (2002.) navode da se OTA veže na HSA (engl. *Human Serum Albumin*) kao dianion na dva mesta koji stabilizira elektrostatskim interakcijama kationske ostatke (His 242, Lys 199 i vjerojatno Arg 257). HSA veže OTA kod nižih pK_a vrijednosti fenolnih grupa. Stojković i sur. (1984.) su pojasnili mehanizam vezivanja serumskih proteina (20 000 Da) za OTA specifičnije od albumina te smatraju da tako male molekule nesmetano prolaze kroz glomerularne membrane i time utječu na nefrotoksično djelovanje OTA kod sisavaca. Istraživanja ukazuju da frakcije OTA vezane uz HSA i druge serumske makromolekule predstavljaju mobilni rezervoar toksina koji se može oslobođati u tkiva (Pfohl-Leszkoic i Manderville, 2007.).

Literaturni podatci pokazuju da su, među farmskim životinjama, svinje posebno osjetljive na OTA, s najvećom kumulacijom ovog toksina u bubregu, jetri, mišićnom tkivu te najmanjom kumulacijom u masnom tkivu (Lusky i sur., 1993., Gareis i Scheuer, 2000., Pietri i sur., 2006.). Kane i sur. (1986.) su uočili nešto drugačiju raspodjelu u tkivu štakora i to s najvećom kumulacijom u plućima, jetri, bubregu, srcu, masnom tkivu, mišiću i slezeni. Dokazano je da raspodjela OTA u tkivima ovisi o dobi i spolu pa tako mužjaci štakora kumuliraju veće koncentracije u jetri, bubrežima i plućima nego ženke štakora. OTA se također prenosi putem posteljice s majke

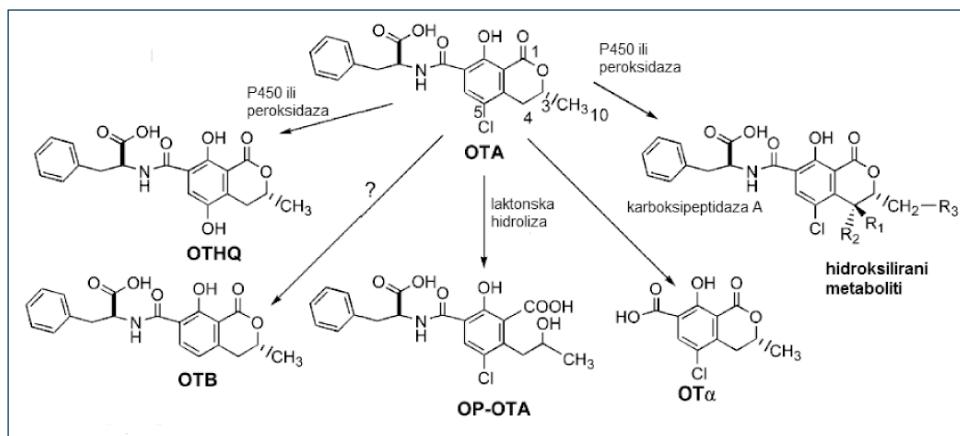
na potomke. Podatci navode i da je kod ljudi koncentracija OTA u fetalnoj krvi dvostruka u odnosu na koncentraciju OTA u serumu majki, što ukazuje na aktivni placentalni transport (Walker i Larsen, 2005., Pfohl-Leszkoic i Manderville, 2007.).

Izlučivanje OTA se kod miševa i štakora odvija putem žuči i bubrega, dok se kod ljudi OTA izlučuje uglavnom putem bubrega. Doprinos svakog puta izlučivanja (putem žuči ili bubrega) ovisi o načinu primjene OTA, dozi, stupnju vezanosti s krvnim proteinima i enterojetrenoj cirkulaciji. Budući da OTA karakterizira visok potencijal vezivanja za proteine plazme, njegova glomerularna filtracija je ograničena. OTA se posredstvom prijenosnika (transportnih proteina) prenosi kroz tubularne membrane i eliminira putem urina. Reapsorpcija filtriranog OTA usporava njegovo izlučivanje i može dovesti do kumulacije toksina u tkivu bubrega i time doprinijeti njegovoj toksičnosti. Ovaj toksikološki učinak ima za posljedicu nakupljanje OTA u bubrežnom tkivu gdje su i detektirane najviše koncentracije (Pfohl-Leszkoic i Manderville, 2007.). Osim urinom, u manjem postotku se izlučuje fecesom kao okratoksin alfa (Ota) i nepromijenjeni OTA, a također i putem mlijeka (Gareis i Scheuer, 2000.).

Eliminacijsko vrijeme poluživota oralno primjenjenog OTA kraće je nego intravenoznog, zbog njegove djelomične eliminacije putem žuči prije ulaska u sistemsku cirkulaciju. Nakon intravenozne primjene OTA se eliminira iz organizma s vremenom poluživota od 3 dana kod štakora, 3-5 dana kod svinja, 19-21 kod majmuna i 35 dana kod ljudi (Galtier i sur., 1981., Hagelberg i sur., 1989.).

Metabolizam i mehanizam djelovanja okratoksina A

Metabolizam OTA proučavan je u *in vivo* i *in vitro* sustavima. Glavne metabolite,

**Slika 1.** Metabolizam okratoksina A

prikazane na slici 1., čine hidroksilirani derivati 4(R)-, 4(S)- i 10-OH-OTA i OT α . Biotransformacija okratoksina A odvija se putem citokroma P 450 (CAST, 2003.). OTA se djelovanjem karboksipeptidaze A i kimotripsina u buragu preživača, odnosno debelom crijevu ostalih vrsta, metabolizira u netoksičan OT α . U jetri OTA metabolizira u manje metabolite poput 4(R)-, 4(S)- hidroksiokratoksin i 10 hidroksiokratoksin A (Marin i sur., 2009.).

Literaturni podatci navode da zbog sličnosti s fenilalaninom, OTA inhibira sintezu proteina (Dirheimer i Creppy, 1991., Marin i sur., 2009.), a samim time i sintezu DNK i RNK. Može utjecati na druge enzime koji koriste fenilalanin kao supstrat (npr. fenilalanin hidroksilaza), smanjiti koncentracije fosfoenolpiruvat karboksilaze, kao ključnog enzima u glukoneogenezi te ometati metabolizam glukoze (Meissner i Meissner, 1981., Petrik i sur., 2003.). Ujedno, sudjeluje u staničnoj oksidaciji te stimulira sintezu malondialdehida (MDA), a MDA nadalje reagira s gvanidinom tvoreći DNK adukte. OTA fragmentira DNK u jetri, bubrežima i slezeni, povećava lipidnu peroksidaciju na način da veže Fe³⁺ ione, čime olakšava redukciju u Fe²⁺, a oni u prisutnosti kisika stvaraju aktivni kisik koji započinje lipidnu peroksidaciju (Marin i sur., 2009.). Prepostavlja se

da su ti procesi izraženi u stanicama mitohodrija, rezultirajući oštećenjem mitohondrija (Wallace, 1997.). Dokazan je i negativni učinak OTA na homeostazu kalcija u biološkim sustavima (Petrik i sur., 2003.).

Toksičnost okratoksina A

Toksično djelovanje OTA i njegovih metabolita ovisi o brojnim čimbenicima, a najznačajniji su doza, vrijeme izlaganja, način primjene te dob i spol životinja (Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007.). Temeljem pokazatelja karcinogenog učinka ovog mikotoksina na pokusnim životnjama, 1993. godine od strane International Agency for Research on Cancer (IARC) svrstan je u skupinu 2B tj. skupinu spojeva mogućih ljudskih karcinogena. Istraživanja toksičnosti OTA nakon akutnog, subkroničnog i kroničnog tretmana životinja ukazuju na njegovu toksičnost. Rezultati široko variraju, a toksični učinak dokazan je u svim životinjskim vrstama, posebno u organizma kao što su bubreži, jetra i krvоžilni sustav (Elling i Møller, 1973., Mally i Dekant, 2005., Abrunhosa i sur., 2010.). Do akutnih trovanja kod ljudi može doći i udisanjem plijesni *Aspergillus ochraceus*. Životinje pokazuju različitu osjetljivost na OTA ovisno

o genetskim čimbenicima (vrsta i pasmina), fiziološkim čimbenicima (dob, spol, hranidba, opće stanje organizma) te okolišnim čimbenicima (klimatski uvjeti). OTA je toksin koji prouzroči oštećenje mitohondrija, lipidnu peroksidaciju, ometa oksidativnu fosforilaciju, a pripisuje mu se nefrotoksično, neurotoksično, mutageno, karcinogeno, teratogeno i imunosupresijsko djelovanje (Krogh i sur., 1979., Jackson i Al-Taher, 2008., Khoury i Atoui, 2010.). Prepostavlja se da je na području Europe dnevna izloženost ljudi OTA u rasponu od 0,7 do 4,7 ng/kg tjelesne mase, dok prihvatljiva dnevna doza OTA prema WHO iznosi 5 ng/kg tjelesne mase (Zepnik i sur., 2003., Abrunhosa i sur., 2010.).

OTA je nefrotoksin i smatrao se jedinim uzročnikom odgovornim za bolest Balkanske endemske nefropatiјe (BEN), teške kronične, obostrane bolesti bubrega i tumora urinarnog trakta, čija se pojavnost prati u nekim područjima Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Bugarske, Rumunjske i Srbije (CAST, 2003., Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007.). Međutim, novija istraživanja navode kao uzročnika BEN-a i fitotoksin aristolohičnu kiselinu koja se nalazi u stabljici i sjemenkama biljaka iz roda *Aristolochia* (vučja stopa), a može kontaminirati sjemenke pšenice prilikom žetve te ima dokazano kancerogeno i nefrotoksično djelovanje. Osim OTA hrana često sadrži i druge nefrotoksine (citrinin, fumonizin) koji pokazuju sinergističko djelovanje te mogu imati ulogu u razvoju bubrežnih kroničnih bolesti (Pohland i sur., 1992., Pepelnjak i sur., 2008.). Nefrotoksični je učinak OTA rezultat poremećaja transportnog sustava organskih aniona koji se nalaze u bazolateralnoj membrani proksimalnih tubula (AFSSA, 2006., Ringot i Chango, 2010.), a dokazan je kod ptica i sisavaca, ali ne i kod odraslih preživača (Richard, 2007.). Znaci nefrotoksičnosti očituju se bolovima u bubrežima, konzumiranjem prekomjerne količine vode s učestalom

mokrenjem te smanjenim unosom hrane. Oslabljena funkcija bubrega rezultira glukozurijom i proteinurijom, a uočene su i tubularne degeneracije, atrofija i fibroza tkiva bubrega (CAST, 2003.).

Dokazano je da OTA kod štakora izaziva karcinome bubrega, jetre i testisa, ovisno o načinu primjene, dozi i spolu (Boorman, 1989.). Literaturni podatci navode i da su doze OTA koje prouzroče karcinogenost veće od doza koja prouzroči nefrotoksičnost (Risk Assessment Studies, 2006.). Zbog nedovoljno relevantnih dokaza i bez odgovarajućih istraživanja ne može se sa sigurnošću smatrati ljudskim karcinogenom, iako je smrtnost od tumora mokraćnog sustava u korelaciji s geografskim područjem pojavljivanja Balkanske endemske nefropatiјe (Marin i sur., 2009., Khoury i Atoui, 2010.). Creppy i sur. (1985.) su dokazali da nakon injektiranja visokih doza OTA u miševa uzrokuje oštećenja DNK u stanicama slezene, jetre i bubrega. Ujedno, izaziva promjene sestrinskih kromatida i tvorbu DNK adukata te kromosomske aberacije (Pohland i sur., 1992., O'Brien i sur., 2001., Mally i Dekant, 2005.). Još uvijek ne postoje relevantni dokazi o direktnom utjecaju OTA na nukleinske kiseline ili su posrijedi neki indirektni mehanizmi koji rezultiraju oštećenjem DNK.

OTA se pripisuje snažno teratogeno djelovanje kod štakora, pilića i svinja (Hayes i sur., 1974., Brown i sur., 1976. i Milićević i sur., 2009.), a izaziva i malformacije kostura, udova, vrata i očiju te usporava rast embrija (Pohland i sur., 1992., Ringot i Chango, 2010.). Budući da OTA može proći kroz placentu i kumulirati se u fetalnim tkivima, istraživanja navode da u razdoblju gestacije kod štakora inducira malformacije središnjeg živčanog sustava te se prepostavlja da je visokotoksičan za tkiva živčanog sustava, naročito mozak (Leszkowicz i Manderville, 2007., Khoury i Atoui, 2010.). Ujedno, OTA djeluje na imunosna tkiva probavnog sustava putem limfoidnih stanica u

Pajerovim pločama, drastično smanjuje broj leukocita i time utječe na oslabljenu funkciju prsne žlijezde (timusa) te slezene i jetre (Pohland i sur., 1992.), a prouzroči i smanjenje razine IgG-, IgA- i IgM-imunoglobulina i sinteze protutijela, kao i oslabljenu sposobnost fagocitoze makrofaga (Ringot i Chango, 2010.).

Kontaminacija hrane i hrane za životinje okratoksinom A

Razina kontaminacije hrane i hrane za životinje s OTA varira ovisno o klimatskim uvjetima, a povećane koncentracije ovog mikotoksina zabilježene su tijekom vlažnih i hladnih godina s većim temperaturnim oscilacijama. FAO (*The Food and Agriculture Organization*) (1997.) ističe da je oko 25% svjetske proizvodnje žitarica kontaminirano mikotoksinima. Pepelnjak i sur. (2008.) navode da su u Hrvatskoj, tijekom vlažne 1978. godine, maksimalne koncentracije OTA u žitaricama i krmnim smjesama iznosile 68900 µg/kg, a tijekom 1980. godine 4700 µg/kg. Visoke koncentracije OTA od 3200 µg/kg zabilježene su u razdoblju od 1992. do 1995., a tijekom ostalih godina koncentracija OTA se kretala u rasponu od 0,26 do 220 µg/kg. Analize uzoraka žitarica s područja endemske nefropatijske u Hrvatskoj ukazale su na kontaminaciju istih s OTA (Pavlović i sur., 1979., Šegvić-Klarić i sur., 2009.). Isto tako, istraživanje na području Hrvatske koje su proveli Domijan i sur. (1999.) na uzorcima krvi, ukazuje da se učestalost pozitivnih uzoraka krvi s područja Zagreba (>0,2 µg/L) ne razlikuje značajno od drugih gradova (Split, Rijeka, Varaždin) osim u Osijeku gdje su svi analizirani uzorci bili pozitivni sa srednjom koncentracijom OTA od 0,68 µg/L. Autori pretpostavljaju da su te varijacije posljedica specifičnih prehrambenih navika s ovih prostora, osobito stanovnika s područja istočne Hrvatske kod kojih u prehrani prednjači sveže i sušeno svinjsko meso.

Znatne koncentracije OTA u hrani biljnog podrijetla pronađene su uglavnom u istočnoj Europi, i to u pšenici, riži, kukuruzu, raženom brašnu, heljadi i žitaricama za doručak (Pohland i sur., 1992.) te u mesu i mesnim proizvodima kao rezultat sekundarne kontaminacije (Petzinger i Weidenbach 2002., Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007., Amezqueta i sur., 2009.). OTA može biti prisutan u mesu i iznutricama farmskih životinja, posebno u bubregu i jetri svinja te nadalje i proizvodima životinjskog podrijetla proizvedenim iz kontaminiranih sirovina kao rezultat prirodne kontaminacije krmnih smjesa namijenjenih hranidbi životinja za proizvodnju mesa (Madsen i sur., 1982., Bauer i Gareis, 1987., Boorman, 1989., Gareis, 1996., Jørgensen, 1998., Creppy, 1999., Peraica i sur., 1999., Gareis i Scheuer 2000., Gareis i Wolff, 2000., Walker i Larsen, 2005.) Rezultati pokazuju da među proizvodima od mesa najviše OTA sadrže mesni proizvodi na bazi iznutrica, kao što su krvavice i jetrenjače (Petzinger i Weidenbach 2002.). Dall'Asta i sur. (2010.) spominju dimljene mesne proizvode, a Leszkowicz i Manderville (2007.) i druge proizvode životinjskog podrijetla u kojima su detektirane značajne razine OTA. Industrijski procesi proizvodnje mesnih proizvoda poput: zagrijavanja, soljenja, sušenja i skladištenja nemaju utjecaja na smanjenje koncentracije OTA u konačnom mesnom proizvodu. Jedino prženje nekih mesnih proizvoda može rezultirati gubitkom oko 20% OTA (Amezqueta i sur., 2009.).

Zakonski propisi i analitičke metode u nadzoru kontaminacije

U Republici Hrvatskoj, Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (N. N. 154/08.), odnosno Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o najvećim

dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (N. N. 78/11.) propisuju najveće dopuštene količine (NDK) OTA u pojedinim vrstama hrane. U okviru Državnog programa monitoringa rezidua i Državnog plana službenih kontrola i monitoringa hrane za životinje Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja provodi se nadzor kontaminacije OTA na različitim matriksima.

Međutim, navedeni Pravilnik ne propisuje NDK OTA u mesu i proizvodima od mesa, za razliku od pojedinih zemalja Europske Unije, npr. susjedne Italije koja za tu skupinu proizvoda ima propisanu NDK vrijednost od 1 µg/kg. Ni Pravilnik o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje (N. N. 80/2010.) ne propisuje NDK vrijednosti za OTA u hrani za životinje, dok su prema preporukama Europske Unije (2006/576/EC) najveće preporučene količine OTA u hrani za životinje: 0,25 mg/kg za žitarice i proizvode na bazi žitarica, 0,05 mg/kg u hrani za svinje te 0,1 mg/kg u hrani za pure.

U određivanju koncentracije ostataka mikotoksina općenito, a time i OTA, koriste se analitičke metode koje se mogu podijeliti na kvalitativne i kvantitativne metode te nadalje na orijentacijske (*screening*) i potvrđne metode (Pascale i Visconti, 2008.). Orijentacijske metode uključuju analitičke postupke za koje se može na dokumentirani sljedivi način pokazati da su vrjednovane te da im je na razini koncentracije od interesa postotak lažno negativnih rezultata manji od 5%. Od *screening* metoda u određivanju ostataka mikotoksina najčešće se koristi imunoenzimska (ELISA) metoda. Pri korištenju komercijalno dostupnih imunoenzimskih kitova za imunoenzimsku metodu u kvantitativnim analizama mikotoksina postižu se vrlo niski limiti detekcije, odnosno visoka osjetljivost metode, brza i jednostavna analiza uzorka te niska cijena analize. Kvaliteta kitova može

varirati od proizvođača do proizvođača, a postoje razlike i u različitim serijama kitova istog proizvođača. Stoga je kvalitetu određivanja koncentracije mikotoksina u matriksu ELISA metodom potrebno ispitati prethodnom validacijom analitičke metode.

U slučaju sumnje na pozitivni rezultat, takav se rezultat mora dokazati jednom od validiranih potvrđnih metoda. Prikladna potvrđna metoda koja udovoljava zadanim kriterijima i omogućava selektivno određivanje ostataka OTA jest tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti s fluorescentnom detekcijom (HPLC-FD). Prema Pravilniku o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N. N. 02/05.) prikladne potvrđne metode za određivanje mikotoksina su i: LC i GC uz dokazivanje IR spektrometrijskom detekcijom, LC-full-scan DAD, 2-D TLC-full scan UV/VIS, LC-UV/VIS te GC-elektron apsorpcijska detekcija.

Sažetak

Okratoksin A (OTA) je sekundarni toksični metabolit kojeg proizvode pljesni rodova *Aspergillus* i *Penicillium*. OTA kontaminira poljoprivredne usjeve i može biti prisutan u žitaricama te proizvodima životinskog podrijetla proizvedenim iz kontaminiranih sirovina. Uvršten je u skupinu mogućih ljudskih karcinogena (skupina 2B) s nefrotoksičnim, neurotoksičnim, mutageničnim, karcinogenim, teratogenim i imunosupresijskim djelovanjem. Upravo zbog moguće prirodne kontaminacije žitarica i krmenih smjesa namijenjenih hranidbi životinja za proizvodnju mesa te mogućeg izravnog unošenja u organizam čovjeka putem kontaminirane hrane, OTA predstavlja rizik za zdravlje ljudi i životinja. U okviru Državnog programa monitoringa rezidua i Državnog plana službenih kontrola i monitoringa hrane za životinje provodi se nadzor kontaminacije mikotoksinima, uključujući i OTA. Međutim, u našem zakonodavstvu nije propisana najveća dopuštena količina (NDK) OTA u mesu i proizvodima od mesa, za razliku od pojedinih zemalja Europske Unije koje za

navedenu kategoriju hrane te količine imaju propisane, a nije propisana ni NDK u hrani za životinje. U cilju zaštite zdravlja potrošača, nužna su daljnja ispitivanja kumulacije OTA u različitim vrstama hrane i hrane za životinje te provođenje sustavnog nadzora ovog kontaminanta uz definirane dopuštene količine i primjenu kvantitativnih analitičkih metoda u određivanju ostataka.

Literatura

- ABRUNHOSA, L., R. R. M. PATERSON and A. VENÂNCIO (2010): Review: Biodegradation of Ochratoxin A for Food and Feed Decontamination. *Toxins* 2, 1078-1099.
- AFSSA – Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (2006): Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Report Synthétique.
- AMEZQUETA, S., G. E. PENAS, M. M. ARBIZU and A. L. DE CERTAIN (2009): Ochratoxin A decontamination: A review. *Food Control* 20, 326-333.
- BAUER, J. and M. GAREIS (1987): Ochratoxin A in the food chain. *Anim. Res. Develop.* 33, 80-97.
- BETINA, V. (1989): Mycotoxins: Chemical biological and environmental aspects. Elsevier, Amsterdam.
- BOORMAN, G. (1989): NTP Technical Report No. 358. Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A. USA National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, Washington.
- BROWN, M. H., G. M. SZCZECK and B. P. PURMALIS (1976): Teratogenic and toxic effects of ochratoxin A in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 37, 331-338.
- CAST – Council for Agricultural Science and Technology (2003): Mycotoxins: Risk in Plant, Animal and Human Systems. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA.
- CELIK, T. H., B. SARMEHMETOGLU and Ö. KÜPLÜLÜ (2005): Aflatoxin M1 contamination in pasteurised milk. *Vet. arhiv* 75, 57-65.
- Commission recommendation on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding, 2006/576/EC.
- CREPPY, E. E. (1999): Human ochratoxicosis. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 18, 277-293.
- CREPPY, E. E., A. KANE, G. DIRHEIMER, C. LAFARGE-FRAYSSINET, S. MOUSSET and C. FRAYSSINET (1985): Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand breaks evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicol. Lett.* 28, 29-35.
- DALL'ASTRA, C., G. GALAVERNA, T. BERTUZZI, A. MOSERITI, A. PIETRI, A. DOSSENA and R. MARCHELLI (2010): Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet. *Food Chem.* 120, 978-983.
- DIRHEIMER, G. and E. E. CREPPY (1991): Mechanism of action of ochratoxin A. IARC, Sci. Publ. 115, 171-175.
- DOMIJAN, A. M., M. PERAICA, R. FUCHS, A. LUCIĆ, B. RADIC, M. BALIJA, I. BOSANAC and D. GRGIĆEVIĆ (1999): Ochratoxin A in blood of healthy population in Zagreb. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 50, 263-271.
- ELLING, F. and T. MØLLER (1973): Mycotoxic nephropathy in pigs. *Bull. W.H.O.* 49, 411-418.
- FAO – Food and Nutrition Paper (1997): Animal feeding and food safety, report of an FaO Expert Consultation, Rome.
- GALTIER, P., M. ALVINERIE and J. L. CHARPENTEAU (1981): The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens. *Food Cosmet. Toxicol.* 19, 735-742.
- GAREIS, M. (1996): Fate of ochratoxin A on processing of meat products. *Food Addit. Contam.* 13, 35-37.
- GAREIS, M. and J. WOLFF (2000): Relevance of mycotoxin contaminated feed for farming animals and carry over of mycotoxins in food of animal origin. *Mycoses* 43, 79-83.
- GAREIS, M. and R. SCHEUER (2000): Ochratoxin A in meat and meat products. *Arch. Lebensmittelhyg.* 51, 102-104.
- HAGELBERG, S., K. HULK and R. FUCHS (1989): Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. *J. Appl. Toxicol.* 9, 91-96.
- HAYES, A. W., R. D. HOOD and H. L. LEE (1974): Teratogenic effects of ochratoxin A in mice. *Teratology* 9, 93-98.
- HUSSEIN, S. H. and J. M. BRASEL (2001): Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicol.* 167, 101-134.
- IL'ICHEV, Y. V., J. L. PERRY and J. D. SIMON (2002): Interaction of ochratoxin A with human serum albumine. Preferential binding of the dianion and pH effect. *J. Phys. Chem. B* 106, 452-459.
- JACKSON, L. S. and F. AL-TAHER (2008): Factors Affecting Mycotoxin Production in Fruits. In: BARKAI-GOLAN R. and N. PASTER: Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Elsevier, San Diego (75-105).
- JANSSEN, M. M. T., H. M. C. PUT and M. J. R. NOUT (1997): Natural toxins. In: DE VRIES, J.: Food Safety and Toxicity. CRC Press LCC, Florida (16-46).
- JAY, J. M. (1992): Modern Food Microbiology, 4th Edition, Chapman & Hall, New York.
- JØRGENSEN, K. (1998): Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for ochratoxin A. *Food Add. Contam.* 15, 550-554.
- KANE, A., E. E. CREPPY, A. ROTH, R. RÖSCENTHALER and G. DIRHEIMER (1986): Distribution of (3H)-label from low doses of radioactive ochratoxin A ingested by rats, and evidence for single-strand breakes caused in liver and kidnays. *Arch. Toxicol.* 58, 219-224.
- KHOURY, E. A. and A. ATOUI (2010): Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status. *Toxins* 2, 461-493.
- KROGH, P., F. ELLING, C. H. R. FRIIS, B. HALD, A. E. LARENSEN, E. B. LILLEHØJ, A. MADSEN,

- H. P. MORTENSEN, F. RASMUSSEN and U. RAVNSKOV (1979): Porcine Nephropathy Induced by long-term ingestion of ochratoxin A. *J. Vet. Pathol.* 16, 466-475.
33. LUSKY, K., D. TESCH and R. GOBEL (1993): Influence of the mycotoxin ochratoxin A on animal health and formation of residues in pigs and different types of sausages derived from these animals. *Arch. Lebensmittelhyg.* 44, 131-134.
34. MADSEN, A., H. P. MORTENSEN and B. HALD (1992): Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs- Part 2. *Acta Agric. Scand.* 32, 369-372.
35. MALLY, A. and W. DEKANT (2005): DNA adduct formation by ochratoxin A: Review of available evidence. *Food Addit. Contam. Suppl.* 1, 65-74.
36. MARIN, D. E., I. TĂRANU, C. TABUC and M. BURGEHELEA (2009): Ochratoxin: nature, origin, metabolism and toxic effects in pigs. *Arch. Zootech.* 12, 5-17.
37. MEISSNER, H. and P. MEISSNER (1981): Ochratoxin A in vivo inhibitor of renal phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Arch. Biochem. Biophys.* 208, 146-153.
38. MILIĆEVIĆ, D. R., V. B. JURIĆ, D. Z. VUKOVIĆ, M. M. MANDIĆ and T. M. BALTIĆ (2009): Residue of ochratoxin A in Swine tissues – risk assessment. *Arch. Oncol.* 17, 56-60.
39. NEELY, W. C. and A. D. WEST (1972): Spectroanalytical parameters of fungal metabolites. Ochratoxin A. *J. AOAC Internat.* 55, 1305-1309.
40. O'BRIEN, E. and D. R. DIETRICH (2005): Ochratoxin A: The Continuing Enigma. *Crit. Rev. Toxicol.* 35, 33-60.
41. PASCALE, M. and A. VISCONTI (2008): Overview of Detection Methods for Mycotoxins. In: LESLIE, J. F., R. BANDYOPADHYAY and A. VISCONTI: Mycotoxins - Detectin Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade, Cromwell Press, Trowbridge (171-183).
42. PAVLOVIĆ, M., R. PLESTINA and P. KROGH (1979): Ochratoxin A Contamination of Foodstuffs in Area With Balkan (Endemic) Nephropathy. *Acta Path. Micro. IM. B* 87B, 243-246.
43. PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ and M. ŠEGVIĆ KLARIĆ (2008): Okratoksin A i zearalenon: Kontaminacija žitarica i krmiva u Hrvatskoj (1977-2007) i utjecaj na zdravljie životinja i ljudi. *Krmiva* 50, 147-159.
44. PERAICA, M., B. RADÍĆ, A. LUCIĆ and M. PAVLOVIĆ (1999): Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull. W.H.O.* 77, 754-766.
45. PETRIK, J., T. ŽANIĆ-GRUBIŠIĆ, S. BARIŠIĆ, S. PEPELJNJAK, B. RADÍĆ, Ž. FERENČIĆ and I. ČEPELAK (2003): Apoptosis and oxidative stress induced by ochratoxin A in rat kidney. *Arch. Toxicol.* 77, 685-693.
46. PETZINGER, E. and A. WEIDENBACH (2002): Mycotoxin in feed chain: the role of ochratoxin. *Livest. Prod. Sci.* 76, 245-250.
47. PFOHL-LESZKOWICZ, A. and A. R. MANDERVILLE (2007): Review Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol. Nutr. & Food Res.* 51, 61-99.
48. PIETRI, A., T. BERTUZZI, A. GUALLA and G. PIVA (2006): Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscles and in pork products from Northern Italy. *Ital. J. Food Sci.* 18, 99-106.
49. POHLAND, A. E., S. NESHEIM and L. FRIEDMAN (1992): Ochratoxin A: A review. *Pure Appl. Chem.* 64, 1029-1046.
50. Pravilnik o izmjenama i dopunama pravilnika o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrb (N.N.78/2011.).
51. Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani Ministarstvo zdravstva i socijalne skrb (N.N. 154/2008.).
52. Pravilnik o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (N.N. 80/2010.).
53. Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstava (N.N. 2/2005.).
54. RICHARD, J. L. (2007): Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – An overview. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 3-10.
55. RINGOT, D. and A. CHANGO (2010): Risk Assessment of Ochratoxin A (OTA). In: MAHENDRA, R. and V. AJIT: Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons, Springer, Berlin (307-329).
56. Risk Assessment Studies (2006): Repor No. 23. Centre for Food Safety, Food and Environmental Hygiene Department, The Goverment of the Hong Kong Special Administrative Region.
57. SERGENT, T., S. GARSOU, A. SCHAUT and S. D. SEAGER (2005): Differential modulation of ochratoxin A absorption across Caco-2 cells by dietary polyphenols, used a realistic intestinal concentrations. *Toxicol. Lett.* 159, 60-70.
58. STOJKOVIĆ, R., S. HULT, R. GAMULIN and R. PLESTINA (1984): High affinity binding of ochratoxin A to plasma constituents. *Biochemistry International* 9, 33-38.
59. SWEENEY, M. J. and A. D. W. DOBSON (1999): Molecular biology of mycotoxin production. *FEMS Microbiology Letter* 175, 149-163.
60. ŠEGVIĆ-KLARIĆ, M., Z. CVETNIĆ, S. PEPELJNJAK and I. KOSALEC (2009): Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, and zearalenone in cereals and feed, determined by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and thin-layer chromatography. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 60, 427-434.
61. VALENTE, H. (1998): Chromatographic methods for determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. *J. Chromatogr.* 815, 75-92.
62. VAN DER MERWE, K. J., P. S. STEYN, L. FOURIE, D. B. SCOOT and J. J. THERON (1965): Ochratoxin A a toxic metabolite produced by Aspergillus ochraceus. *Nature* 205, 112-113.
63. WALKER, R. and J. C. LARSEN (2005): Ochratoxin A: Previous risk assessments and issues arising. *Food Addit. Contam. Suppl.* 1, 6-9.
64. WALLACE, D. C. (1997): Mitochondrial DNA in aging and disease. *Sci. Am.* 277, 40-47.
65. ZEPNIK, H., W. VÖLKEL and W. DEKANT (2003): Toxicokinetics of mycotoxin ochratoxin A in F 344 rats after oral administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 192, 34-44.

Ochratoxin A – A Contaminant of Food and Feed

Nina PERŠI, BSc, PhD, Junior Researcher, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Assistant Professor, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Dragan KOVAČEVIĆ, BSc, PhD, Full Professor, Faculty of Food Technology, Osijek

Ochratoxin A (OTA) is a secondary toxic metabolite produced by fungi of the Aspergillus and Penicilium species. It can contaminate agricultural crops and may be present in animal products produced from contaminated raw materials. This contaminant was included in the group of potential human carcinogens (group 2B) having nephrotoxic, neurotoxic, mutagenic, carcinogenic, teratogenic and immunosuppressive activity. Due to the possibility of natural contamination of cereals and feed used in animals for meat production, and also because it could direct entry into the human body through contaminated food, OTA poses a risk to human health. OTA control is included in the National Residue Programme and in the

National Plan of Control and Monitoring of Feed, though the Croatian legislation does not stipulate a maximum allowed level (MRL) for OTA in meat and meat products, unlike several European Union countries which have defined maximum levels for that category of food. Croatia also does not stipulate the MRL for OTA in feed. With the aim of achieving food safety and protecting consumer health, further studies of OTA accumulation in different types of food and feed are necessary to provide effective systematic monitoring of this contaminant, with defined concentration limits and application of quantitative analytical methods in the determination of OTA residues.

FIZIOVET
ekskluzivni zastupnik i distributer za

VETERINARY INSTRUMENTATION

Opremanje veterinarskih ambulanti

Kompletna oprema i instrumentarij za:

- opću i meku kirurgiju
- ortopedске 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@fizovet.hr

Novije spoznaje o babeziozi pasa

Jelena Selanec, M. Torti, Iva Šmit, Iva Mayer,
Josipa Kuleš, Ines Jović i V. Mrljak



Uvod

Babezioza je česta hemopiroplazmska bolest pasa, široke geografske rasprostranjenosti i svjetskog značenja (Boozer i Macintire, 2003.). Iako se naziv babezioza ponajprije odnosi na bolest prouzročenu parazitima iz roda *Babesia*, isti naziv koristi se i za parazitemiju prouzročenu parazitima iz roda *Theileria*. Intraeritrocitni paraziti oba roda, zbog karakterističnog kruškolikog oblika vidljivog pod svjetlosnim mikroskopom, nazivaju se piroplazme. Nekadašnja podjela vrste *Babesia canis* u tri biološke i imunološke podgrupe, naime na *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli* i *Babesia canis rossi* u novije vrijeme je napuštena (Uilenberg i sur., 1989.). Danas je prihvaćena podjela na velike piroplazme: *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Babesia rossi* i *Babesia spp.* (Coco) te male piroplazme: *Babesia microti*-slične piroplazme (*Theileria annae*), *Babesia gibsoni* i *Babesia conradae*. Ova se podjela temelji na molekularnim metodama koje dokazuju da navedene babezije ne pripadaju istom rodu te da nisu podvrste (Schetters i sur., 1997., Carret i sur., 1999., Passos i sur., 2005., Uilenberg, 2006.). Iako sve male piroplazme pripadaju rodu *Babesia*, velike piroplazme (roda *Babesia* i *Theileria*) nije moguće razlikovati

mikroskopskim pregledom krvi već uporabom molekularnih metoda dijagnostike (Irwin, 2010.).

Epidemiologija

Na području središnje i istočne Europe i sjeverne Afrike dominiraju piroplazme vrste *B. canis*, na području Mediterana *B. vogeli* i *B. microti*-slične piroplazme na području Španjolske (Camacho i sur., 2001., Solano-Gallego i sur., 2008.). *B. rossi* pojavljuje se u pasa na području južne Afrike (Uilenberg i sur., 1989.), a *B. gibsoni* na području Azije, Sjeverne Amerike te sjevera i istoka Afrike (Taboada, 1998.). Međutim, trend putovanja s kućnim ljubimcima omogućio je širenje uzročnika babezioze i u sjevernije predjеле Europe, atipične za pojavu na tom području (Trotz i Trees, 2003.). Danas su dokazane piroplazme u pasa prikazane u tabelama 1. i 2. Babeziozu je prvi puta opisao Hutton u Južnoafričkoj Republici 1885. godine, a u Hrvatskoj je prvi puta utvrđena 1929. godine u selu Lupoglav kod Dugog sela (Zaharija i sur., 1973.).

Babezioza u pasa uzrokovana *B. canis* vrlo je čest uzrok oboljenja i smrtnosti pasa u Hrvatskoj, osobito u području grada Zagreba (Caccio i sur., 2002., Matijatko

Jelena SELANEC, dr. med. vet., asistentica-znanstvena novakinja, Marin TORTI, dr. med. vet., asistent-znanstveni novak, Iva ŠMIT, dr. med. vet., asistentica-znanstvena novakinja, dr. sc. Iva MAYER, dr. med. vet., viša asistentica-znanstvena novakinja, Josipa KULEŠ, dr. med. vet., asistentica-znanstvena novakinja, Ines JOVIĆ, dr. med. vet., stručna suradnica, Vladimir MRLJAK, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

Tabela 1. Geografska rasprostranjenost morfološki dokazanih piroplazmi u pasa (prema Irwin, 2010.)

Vrsta	Vektor	Geografska distribucija	Komentar
<i>Babesia gibsoni</i>	<i>Haemaphysalis longiformis</i> <i>Haemaphysalis bispinosa</i> <i>Rhipicephalus sanguineus?</i>	Azija	Izvan Azije <i>B.gibsoni</i> veže se uz pitbul terijere i druge pse za borbe
<i>Babesia conradi</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus?</i>	Kalifornija	U vezi s prioplamzama kopitara i ljudi
<i>Babesia microti</i> -slične sp. (<i>Theileria annae</i>)	<i>Ixodes hexagonus?</i>	Španjolska, istočna Kanada, SAD	Nedavno identificirana u lisica u SAD-u i Hrvatskoj
<i>Babesia vogeli</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Diljem svijeta, tropska i subtropska područja	Sve češća u sjevernoj i istočnoj Europi
<i>Babesia canis</i> <i>Babesia rossi</i>	<i>Dermatocenor spp.</i> <i>Haemaphysalis leachi</i>	Europa, subsaharska Afrika	-----
<i>Babesia</i> spp. (Coco)	Nepoznat	Istočni i jugoistočni dio SAD-a, VB	Identificirani u imunosuprimiranih pasa

Tabela 2. Piroplazme detektirane molekularnim metodama dijagnostike u pasa, nepoznatog kliničkog značaja

Vrsta	Domaćin	Lokacija	Autori
<i>Theileria</i> spp.	-----	Južnoafrička Republika	(Matjila i sur., 2008.)
<i>Theileria annulata</i>	goveda	Španjolska	(Criado-Fornelio i sur., 2003.)
<i>Theileria equi</i>	konji	Španjolska, Hrvatska	(Criado-Fornelio i sur., 2003., Beck i sur., 2009.)
<i>Babesia caballi</i>	konji	Hrvatska	(Beck i sur., 2009.)

i sur., 2007., Beck i sur., 2009., Brkljačić i sur., 2010.). Uzročnici se babezioze prenose krpeljima *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermatocentor reticulatus* i *Haemaphysalis leachi*. Babezioza se javlja u pasa svih dobnih skupina iako je učestalost bolesti veća u mladih pasa. Sezonska pojava bolesti vezana je uz aktivnost krpelja (Lobetti, 2000.). Iako je prirodni prijenos babezioze putem krpelja i dalje najčešći, novijim istraživanjima dokazan je i transplacentarni prijenos s majke na mladunčad (Taboada, 1998.), prijenos putem transfuzije krvi (Stegeman i sur., 2003.) ili izravno

kontaktom krvi oboljelih pasa s otvorenom ranom domaćina (Guitian i sur., 2003., Jeffries i sur., 2007.). Dokaz ovih načina prijenosa babezioze pretpostavlja da je svaki pas inficiran babezijama potencijalni prenositelj bolesti (Irwin, 2010.).

Patogeneza

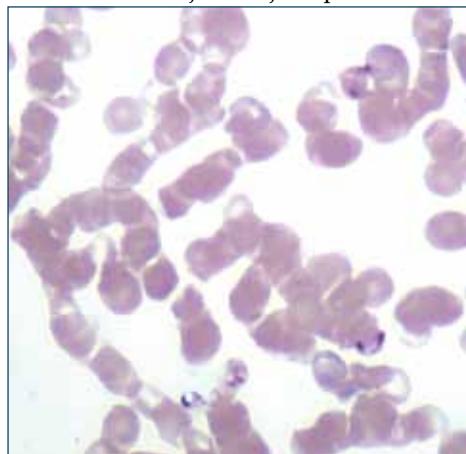
Životni je ciklus babezija u oboljelih pasa dobro poznat. Shizogonti uzročnika putem žlijezda slinovnica krpelja dolaze u potkožno tkivo domaćina i ulaze u krvotok. Vrijeme potrebno za prelazak uzročnika iz

krpelja u psa iznosi od 24 sata do nekoliko dana. Kada se nađu u krvotoku domaćina babezije ulaze u eritrocite gdje se potom hrane, umnažaju i invadiraju nove eritrocite (Slika 1.). Krpelji se invadiraju uzimajući krvni obrok s oboljelog psa. Babezije unutar krpelja nastavljaju umnažanje i sazrijevaju, a prenose se na domaćina horizontalnim ili vertikalnim putem (Irwin, 2010.).

Babezioza se u pasa klinički manifestira u dva oblika: komplikiranom i nekomplikiranom. Nekomplikirani se oblik babezioze smatra posljedicom hemolize (Jacobson i Clark, 1994.), dok se komplikirani oblik javlja kao posljedica razvoja sindroma sustavnog upalnog odgovora (engl. *systemic inflammatory response syndrome*, SIRS) i sindroma višestrukog zatajivanja organa (engl. *multiple organ dysfunction syndrome*, MODS). Težina bolesti varira od subkliničke do perakutne infekcije sa sistemskim manifestacijama i uginućem. Jedan od patofizioloških mehanizama je hemolitička bolest, koja rezultira jakom anemijom i posljedičnom hipoksijom tkiva i organa (osobito jetre), tzv. anemičnom hipoksijom. Zbog navedenog dolazi do anaerobnog metabolizma i metaboličke acidoze, sniženja hematokrita, pojave leukocitoze sa skretanjem u lijevo te ponekad blagog povišenja serumske koncentracije ureje bez porasta serumske koncentracije kreatinina (Harapin i sur., 1993.). Do sniženja hematokrita dolazi zbog hemolize, pada tlaka, učinka proupačnih citokina te sekvestracije parazitiranih eritrocita u mikrocirkulaciji (Schetters i sur., 1997., Taboada, 1998.). Posljedice hemolize su regenerativna anemija, hemoglobinemija, hemoglobinurija i bilirubinurija (Lobetti, 1998.). Jačina anemije kod babezioze nije proporcionalna stupnju parazitemije, koja i u akutnom stadiju infekcije ostaje razmjerno niska (Irwin, 2010.). Osim izravne hemolize do koje dolazi zbog prisustva parazita u eritrocitima i neinficirani eritrociti bivaju hemolizirani. Navedeno se objašnjava oksidativnim

ozljedama prouzročenim hemolitičkim toksinima te imunosnopravodovanim mehanizmima koji dovode do intra- i ekstravaskularne hemolize (Jacobson i Clark, 1994., Otsuka i sur., 2002., Crnogaj i sur., 2010.). Do pojave ovakvog oblika babezioze dolazi zbog razvoja SIRS-a i posljedičnog MODS-a. Ovaj patofiziološki mehanizam babezioze karakteriziran je blago sniženim, normalnim ili čak povišenim hematokritom, leukopenijom, limfopenijom, poremećajima u zgrušavanju krvi, povišenom koncentracijom ureje, kreatinina i proteina akutne faze u serumu (Kiš, 2007., Matijatko i sur., 2010.). Okano i sur. (2002.) predložili su sljedeće kriterije za postavljanje dijagnoze SIRS-a: tjelesna temperatura viša od $39,7^{\circ}\text{C}$ ili niža od $37,8^{\circ}\text{C}$, frekvencija bila viša od 160 otkucaja u minuti, frekvencija disanja više od 40 udisaja u minuti te broj leukocita manji od $4 \times 10^9/\text{L}$ ili više od $12 \times 10^9/\text{L}$ ili više od 10% nesegmentiranih neutrofila. Najmanje dva od četiri kriterija moraju biti zadovoljena da bi se neko stanje proglašilo SIRS-om. Usporedno s brojem zadovoljenih kriterija SIRS-a, raste i rizik nepovoljnog ishoda bolesti (Matijatko, 2003.).

Povišenje tjelesne temperature prati oba oblika bolesti, a posljedica je oslobođanja endogenih pirogena eritolizom, djelovanja parazita te



Slika 1. *B. canis* u krvnom ramazu obojenom po Giemsi (ljubaznošću prof. dr. sc. R. Barić-Rafaj)

aktiviranja proupalnih medijatora (Lobetti, 1998., Matijatko, 2003.).

Klinički znaci

Babezioza se u pasa javlja u perakutnom, akutnom ili kroničnom obliku, a klinički znaci uključuju letargiju, slabost, anoreksiju i febru. Blijede sluznice, ikterus, (Slika 2.) splenomegalija te tamno obojena mokraća (Slika 3.) specifični su znakovi koji upućuju na hemolitički proces u organizmu tj. na nekomplikirani oblik babezioze (Taboada, 1998., Lobetti, 2000.). Ovisno o stupnju anemije, nekomplikirani oblik babezioze nadalje se dijeli na blagi (hematokrit, HTC, $> 35\%$), umjereni ($16\% \leq \text{HCT} < 35\%$) i teški oblik ($\text{HCT} < 16\%$) (Jacobson i Clark, 1994.). Komplikirani se oblik babezioze očituje znakovima zatajivanja jednog ili više organskih sustava. Naime, poremećajem funkcije SŽS-a, pojavom diseminirane intravaskularne koagulacije, hemokoncentracije, imunosnopsredovane hemolitičke anemije, akutnog respiratornog distres sindroma i akutnog oštećenja jetre i bubrega (Lobetti, 1998., Nel i sur., 2004., Kiš, 2007., Matijatko i sur., 2007.). Komplikirani oblik babezioze rezultira visokom smrtnošću (Kiš, 2007., Matijatko, 2010.). Kronični oblik babezioze, poznat kao i stanje premunice, javlja se bez obzira je li životinja liječena. Nije točno poznato koliko dugo inficirani pas ostaje potencijalni prenositelj, no pretpostavlja se da ostaju inficirani mjesecima pa čak i doživotno. Kronične su infekcije uglavnom asimptomatske, no pas ostaje inficiran pa se bolest ponovo javlja kod izloženosti stresu ili imunosupresiji (Irwin, 2010.).

Regenerativna anemija, umjerena do jaka trombocitopenija te promjenjivi nalaz broja leukocita (leukopenija, leukocitoza ili normalan broj leukocita) karakteristična je krvna slika kod babezioze. Kod pasa u akutnoj fazi bolesti moguć je nalaz preregenerativne

anemije. Pojava autoaglutinacije i sferocitoze javljaju se slično kao i kod imunosnopsredovane hemolitičke anemije (Potočnjak, 1995., Reyers i sur., 1998.). Trombocitopenija je najčešći hematološki pokazatelj babezioze, a ne javlja se u svega 1% slučajeva (Kettner i sur., 2003.). Koagulopatijske se u oboljelih pasa javljaju rijetko. Biokemijske pretrage općenito su



Slika 2. Blijede i ikterične sluznice usta u psa



Slika 3. Urin psa oboljelog od babezioze

Tabela 3. Diferencijalne dijagnoze hemolitičke anemije u pasa

Dob životinje	Poremećaji
Štenad i mladi psi	Babezioza Neonatalna izoeritroliza Prirođeni eritrocitni defekti Transfuzijske reakcije
Odrasli psi	Imunosnopsredovana hemolitička anemija Babezioza Transfuzijska reakcija Anemija Heinzovih tjelešaca (trovanje lukom, trovanja lijekovima) Dirofilarioza Akutno trovanje cinkom i bakrom Neoplazije

nespecifične, a uglavnom su promjene vezane na opću hipoksemiju i hemolizu. Najčešće promjene uključuju povišenje koncentracije alanin aminotransferaze, aspartat aminotransferaze, alkalne fosfataze i bilirubina te azotemiju koja može biti prerenalnog ili renalnog podrijetla (Kiš, 2007., Matijatko i sur., 2009.).

Dijagnoza

Navedeni klinički znaci uz anemiju i trombocitopeniju dovoljan su razlog za sumnju na babeziozu (Tabela 3.). Anamnestički podatci o invaziji krpeljima te boravak u području u kojem su prisutni krpelji, nedavna transfuzija krvi ili sukobi s drugim psima zahtijevaju specifičnu dijagnostiku babezioze. Sezonsko se povećanje broja krpelja u okolišu javlja u proljetnim i jesenskim mjesecima. Kod postavljene kliničke sumnje na babeziozu mikroskopska pretraga krvnog razmaza najjednostavnija je metoda i najprihvatljivija većini veterinara. Kod procjene krvnog razmaza bitno je babezije razlikovati od artefakata, staničnog debrija ili boje u samom razmazu. Nalaz babezija u krvnom razmazu dovoljan je za postavljanje dijagnoze. Kod kroničnih i subkliničkih slučajeva mikroskopske metode nisu dostatne za ciljnu dijagnostiku te se koriste molekularne metode,

ponajprije lančana reakcija polimerazom, kojom se ujedno točno određuje vrsta i rod babezije (Irwin, 2010.).

Kod postavljene dijagnoze babezioze opravdana je sumnja i na istovremenu infekciju uzrokovanoj drugim mikroorganizama koje prenose krpelji i drugi vektori, uključujući *Erlchia* spp., *Anaplasma* spp., *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. ili *Leishmania* spp. (Yabsley i sur., 2008.).

Unatoč razvijenoj laboratorijskoj dijagnostici, niti jedan dijagnostički postupak sam nije 100% siguran kod detekcije babezija. Kombinacija seroloških metoda te lančane reakcije polimerazom smatra se najspecifičnijom metodom dijagnostike babezioze.

Liječenje

Primarni cilj liječenja babezioze je eliminacija ili supresija parazita specifičnim antibabezijskim lijekovima te liječenje životno opasne anemije putem transfuzija.

U blagim do umjerenim nekomplikiranim slučajevima dovoljno je antibabezijsko liječenje, dok je u teškim nekomplikiranim slučajevima uz antibabezijsko liječenje potrebna i transfuzija pune krvi. Teški komplikirani slučajevi uz već navedeno zahtijevaju i potporno liječenje ovisno o sekundarnim komplikacijama (Tabela 4.). U blagim i

umjerenim nekomplikiranim slučajevima znatno poboljšanje kliničkih znakova obično je uočljivo već 24 sata od početka liječenja (Lobetti, 2000.). Antibabezijsko liječenje podrazumijeva primjenu jednog od pripravaka: imidokarb dipropironata, diminazen aceturata ili tripanskog modrila (Lobetti, 2000., Matijatko,

2003., Beck, 2009.). Lobetti (2000.) preporuča jednokratnu supkutanu ili intramuskularnu aplikaciju imidokarb dipropironata 12%-tne otopine (Imizol®, Shering-Plough, Essex Animal Health, Friesoythe, Njemačka) u dozi od 6 mg/kg tjelesne mase (tm). Diminazen aceturat (Berenil® Hoeschst Roussel Ve,

Tabela 4. Klinička manifestacija babezioze i terapijska načela

Klasifikacija babezioze	Klinički znakovi	Terapijska načela
NEKOMPLICIRANA		
Blaga do umjerenog	Akutna hemoliza Blaga/umjerenog anemija	Antibabezijski lijek
Teška	Akutna hemolitička kriza Životno opasna anemija	Antibabezijski lijek Transfuzija pune krvi
KOMPLICIRANA		
Akutno zatajenje bubrega	Oligurija, anurija ili poliurijsa	Antibabezijski lijek Tkućinska terapija Diuretici Dopamin
Cerebralna babezija	Kolaps Nistagmus Napadi Koma	Antibabezijski lijek Nadoknada kisika Sedacija barbituratima Diuretici Podizanje glave
Koagulopatije	Klinički neprimjetne Krvarenje Šok, zatajenje organa	Antibabezijski lijek Sveže smrznuta plazma Heparin
Ikterus i hepatopatije	Bilirubinemija, bilirubinurija Žutilo sluznica	Antibabezijski lijek Transfuzija krvi Tkućinska terapija s kalijem i glukozom
Imunosnopsredovana hemolitička anemija	Perzistentna aglutinacija Progredirajuća anemija unatoč eliminaciji parazita	Antibabezijska lijek Transfuzija krvi Kortikosteroidi Azatioprin Ciklofosfamidi Humani gamaglobulin
Akutni respiratorni distres sindrom	Nagla tahipneja Teška dispneja Kašalj Krvavi nosni iscijedak	Antibabezijski lijek Nadoknada kisikom Diuretici Koloidi
Hemokoncentracija	Perakutni nastanak bolesti Kolaps Intravaskularna hemoliza	Antibabezijski Tkućinska terapija Koloidi
Hipotenzija	„Netipični“ šok Kongestije	Antibabezijski lijek Transfuzija pune krvi Tkućinska terapija Koloidi

Unterschleisheim, München, Njemačka) preporuča aplicirati jednokratno intramuskularno u dozi od 3,5 mg/kg tm, no treba imati na umu njegovo toksično djelovanje zbog kojeg se preporuča koristiti samo uz prethodnu suglasnost vlasnika životinje. Tripansko se modrilo koristi u endemskim područjima babezioze, jer dovodi do premunicije, a Lobetti (2000.) ga preporuča u dozi od 10 mg/kg tm, aplicirano isključivo intravenski. Ostali lijekovi koji su nekoć služili kao antibabezijski lijekovi poput amikarbalida, euflavina, fenamidina, kvinoronijevog sulfata i klorokina, danas više nisu u redovitoj uporabi zbog slabe učinkovitosti i učestalih nuspojava. Niti jedan od antibabezijskih pripravaka nije u potpunosti učinkovit i djelotvoran iz čega proizlazi da navedeno liječenje ne isključuje u potpunosti invaziju babezijama. Jednom oboljeli pas zauvijek ostaje potencijalo inficiran babezijama, unatoč specifičnoj terapiji i remisiji kliničkih znakova (Irwin, 2010.).

Profilaksa

Profilaksa se babezioze zasniva na raznim metodama kontrole krpelja te prekidanju lanca prenošenja babezija u prirodi. Dnevno kontroliranje pasa uz izbjegavanje područja u kojima žive invadirani krpelji, najčešća je profilaktička metoda. Sigurniji način prevencije je i tretiranje pasa akaricidnim sredstvima (ogrlica, prašci, otopine). Smatra se da kombinacija akaricida i pregleda pruža relativno visok postotak zaštite (Taboada, 1998.). Neka se od prethodno navedenih terapijskih sredstava mogu koristiti u profilaksi babezioze.

Cijepljenje je pasa protiv babezioze jedan od značajnih načina profilakse. Idealno bi cijepivo trebalo stvarati dugotrajni imunitet, dok većina cijepiva protiv babezija ima prilično kratko razdoblje zaštitnog imuniteta

i titar protutijela postepeno pada već u razdoblju tri do pet mjeseci nakon cijepljenja (Uielenberg i sur., 1989.). Cijepljenjem protiv jedne vrste babezija ne postiže se unakrižna imunost i na ostale sojeve. U Europi je dostupno cijepivo za prevenciju babezioze u pasa (Pirodog®, Rhone Merieux) čija je učinkovitost između 70 i 100% jer se ponekad javljaju i klinički oblici bolesti, ali su većinom izrazito blagi (Moreau i sur., 1988.). Brown (2001.) smatra da za mnoge protozoarne parazite, a osobito pripadnike roda *Theileria* i *Babesia* koji se prenose krpeljima cijepljenje i imunološka kontrola dovode da stanja perzistentne infekcije za vrijeme koje paraziti mogu cirkulirati organizmom, a bez popratne kliničke slike. U prevenciji babezioze u pasa pažnju treba usmjeriti i na kontrolu pasa donora krvi za transfuzije (Stegeman i sur., 2003.).

Sažetak

Babezioza u pasa česta je hemopprotozojska bolest pasa prouzročena parazitima iz roda *Babesia*, široke geografske rasprostranjenosti i svjetskog značenja. Na području Europe dominiraju *Babesia canis*, *Babesia vogeli* i *Theileria annae*, a prenose ih krpelji *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor reticulatus*, *Haemophysalis leachi* i *Ixodes hexagonus*. Najčešći način prijenosa babezioze je putem krpelja, iako je bolest moguće prenijeti i putem transfuzije krvi, kontaminacije opreme ili transplacentarno. Patofiziološki mehanizmi bolesti objašnjeni su hemolizom i sistemskim upalnim odgovorom organizma koji dovodi do sindroma višestrukog zatajivanja organa. Blijede sluznice, ikterus, splenomegalija te tamno obojena mokraća specifični su klinički znakovi nekomplikiranog oblika dok se komplikirani oblik babezioze očituje poremećajem funkcije SŽS-a, pojavom diseminirane vaskularne koagulacije, hemokoncentracije, imunosno posredovane anemije, akutnog respiratornog distres sindroma, akutnog oštećenja jetre i bubrega. Mikroskopska pretraga krvnog razmaza najjednostavnija

je i najprihvativija dijagnostička pretraga, no kombinacija seroloških metoda i reakcije lančane polimeraze smatra se najspecifičnijom metodom dijagnostike. Liječenje se babezioze temelji na primjeni antibabezijskih pripravaka uz potpornu terapiju ovisno o vrsti nastalih komplikacija. Klinički znaci babezioze uglavnom se uklanjanju liječenjem, no hemoparaziti su rijetko uništeni u potpunosti što pri pojavi imunosupresije omogućuje ponovni nastanak bolesti. Prevencija babezioze ističe značaj kontrole infestacija krpeljima te prekidanje lanca prenošenja babezija u prirodi.

Literatura

- BECK, R., L. VOJTA, V. MRLJAK, A. MARINCULIĆ, A. BECK, T. ŽIVIĆNJAK and M. S. CACCIO (2009): Diversity of Babesia and Theileria species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. *Int. J. Parasitol.* 39, 843-848.
- BOOZER, A. L. and D. K. MACINTIRE (2003): Canine babesiosis. *Vet. Clin. Am. Small. Anim. Pract.* 33, 885-904.
- BROWN, V. C. (2001): Molecular approaches to elucidating innate and acquired immune response to Babesia bovis, a protozoan parasite that causes persistent infection. *Vet. Parasitol.* 101, 233-248.
- BRKLJAČIĆ, M., V. MATIJATKO, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, R. BARIĆ RAFAJ, D. GRDEN, M. TORTI, I. MAYER and V. MRLJAK (2010): Molecular evidence of natural infection with Babesia canis canis in Croatia. *Act. Vet. Hung.* 58, 39-46.
- CACCIO, S. M., B. ANTUNOVIC, A. MORETTI, V. MANGILI, A. MARINCULIĆ, R. BARIĆ-RAFAJ, S. B. SLEMENDA and N. J. PIENIAZEK (2002): Molecular characterisation of Babesia canis canis and Babesia canis vogeli from naturally infected European dogs. *Vet. Parasitol.* 106, 285-292.
- CAMACHO, A. T., E. PALLAS, J. J. GESTAL, F. J. GUITIAN, A. S. OLMEDA and H. K. GOERTHERT (2001): Infection of dogs in north-west Spain with a Babesia microti-like agent. *Vet. Rec.* 149, 552-555.
- CARRET, C., F. WALAS, B. CAREY, N. GRANDE, E. PRECIGOUT, K. MOUBRÉ, T. P. SCHETTERS and A. GORENFLOT (1999): Babesia canis canis, Babesia canis vogeli, Babesia canis rossi: differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46, 298-303.
- CRIAZO-FORNELIO, A., A. MARTINEZ-MARCOS, A. BULING-SARANA and J. C. BARBA-CARRETERO (2003): Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe: Part I. Epizootiological aspects. *Vet. Parasitol.* 113, 189-201.
- CRNOGAJ, M., R. PETLEVSKI, V. MRLJAK, I. KIŠ, M. TORTI, N. KUČER, V. MATIJATKO, I. SACER and I. ŠTOKOVIC (2010): Malondialdehyde levels in serum of dogs infected with Babesia canis. *Vet. Med.* 55, 163-171.
- GUITIAN, F. J., A. T. CAMACHO and S. R. STEFORD (2003): Case-control study of canine infection by a newly recognised Babesia microti-like piroplasm. *Prev. Vet. Med.* 61, 137-145.
- HARAPIN, I., P. RAMADAN, LJ. BEDRICA, M. TADIĆ and A. ALEGRO (1993): Clinical picture and the blood urea nitrogen (BUN) and creatinine content in the blood serum of piroplasmosis-affected dogs. *Vet. arhiv* 63, 11-17.
- IRWIN, P. J. (2010): Canine Babesiosis. *Vet. Clin. Small. Anim.* 40, 1141-1156.
- JACOBSON, L. S. and I. CLARK (1994): The pathophysiology of canine babesiosis: New approaches to an old puzzle. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 65, 134-145.
- JEFFERIES, R., U. M. RYAN, J. JARDINE, D. K. BROUGHTON, I. D. ROBERTSON and P. J. IRWIN (2007): Blood, Bull Terriers and Babesiosis: further evidence for direct transmission of Babesia gibsoni in dogs. *Aust. Vet. J.* 85, 459-463.
- KETTNER, F., F. REYERS and D. MILLER (2003): Thrombocytopaenia in canine babesiosis and its clinical usefulness. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 74, 63-68.
- KIŠ, I. (2007): Primjena kliničkog sustava bodovanja u procjeni prognoze ishoda babezioze u pasa. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- LOBETTI, R. G. (1998): Canine babesiosis. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 20, 418-431.
- LOBETTI, R. G. (2000): Canine babesiosis. In: DAY, M., MACKIN, A., LITTLEWOOD, J. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. Brit. Small Anim. Vet. Assoc, Gloucester, 85-91.
- MATIJATKO, V. (2003): Reaktanti akutne faze u pasa invadiranih protozoonom *Babesia canis* liječenih imidokarb dipropionatom. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- MATIJATKO, V., V. MRLJAK, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, T. ŽIVIĆNJAK, Z. ROMIĆ, Z. ŠIMEĆ and J. J. CERON (2007): Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with Babesia canis. *Vet. Parasitol.* 144, 242-250.
- MATIJATKO, V., I. KIŠ, M. TORTI, M. BRKLJAČIĆ, N. KUČER, R. BARIĆ RAFAJ, D. GRDEN, T. ŽIVIĆNJAK and V. MRLJAK (2009): Septic shock in canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 162, 263-270.
- MATIJATKO, V., I. KIŠ, M. TORTI, M. BRKLJAČIĆ, R. BARIĆ RAFAJ, Z. ŽVORC and V. MRLJAK, (2010): Systemic inflammatory response syndrome and multiple organ dysfunction syndrome in canine babesiosis. *Vet. arhiv* 80, 611-626.
- MATJILA, P. T., A. L. LEISEWITZ, M. C. OOSTUIZEN, F. JONGEJAN and B. L. PENZHORN (2008): Detection of *Theileria* species in dogs in South Africa. *Vet. Parasitol.* 157, 34-40.
- MOREAU, Y., S. MARTINOD and G. FAYET (1988): Epidemiologic and immunoprophylactic aspects of canine babesiosis in France. In: RISTIC M.: Babesiosis of Domestic Animals and Man. Boca Raton, Florida (191-196).
- NEL, M., R. G. LOBETTI, N. KELLER and P. N. THOMPSON (2004): Prognostic value of blood lactate, blood glucose and hematocrit in canine babesiosis. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 471-476.
- OKANO, S., M. YOSHIDA, U. FUKUSHIMA, S.

- HIGUCHI, K., TAKASE and M. HAGIO (2002): Usefulness of systemic inflammatory response syndrome criteria as an index for prognosis judgement. *Vet. Rec.* 150, 245–246.
27. OSTUKA, Y., M. YAMASAKI, O. YAMATO and Y. MAEDE (2002): The effect of macrophages on the erythrocyte oxidative damage and the pathogenesis of anemia in Babesia gibsoni-infected dogs with low parasitemia. *J. Vet. Med. Sci.* 64, 221–226.
28. PASSOS, L. M. F., S. M. GEIGER, M. F. B. RIBEIRO, K. PFISTER and M. ZAHLER-RINDER (2005): First molecular detection of Babesia vogeli in dogs from Brasil. *Vet. Parasitol.* 127, 81–85.
29. POTOČNIJAK, D. (1995): Neki biokemijski parametri i krvna slika kod babezioze pasa. Magistarska rasprava. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
30. REYERS, F., A. L. LEISEWITZ, R. G. LOBETTI, R. J. MILNER and L. S. JACOBSON (1998): Canine babesiosis in South Africa - more than one disease. Does this serve as a model for falciparum malaria? *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 92, 503–511.
31. SCHETTERS, T. P., K. MOUBRI, E. PRECIGOUT, J. KLEUSKENS, N. C. SCHOLTES and A. GORENFLOT (1997): Different Babesia canis isolates, different diseases. *Parasitol.* 115, 485–493.
32. SOLANO-GALLEGRO, L., M. TROTTA, E. CARLI, B. CARCY, M. CALDIN and T. FURLANELLO (2008): Babesia canis canis and Babesia canis vogeli clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Vet. Parasitol.* 157, 211–221.
33. STEGEMAN, J. R., A. J. BIRKENHEUER, J. M. KRUGER and E. B. BREITSCHWERDT (2003): Transfusion-associated Babesia gibsoni infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222, 959–963.
34. TABOADA, J. (1998): Babesiosis. In: GREENE, C. E.: Infectious diseases of the dog and cat. Philadelphia (473–482).
35. TROTZ, W. L. A. and A. J. TREES (2003): Systematic review of the distribution of the major vector-borne parasitic infections in dogs and cats in Europe. *Vet. Rec.* 152, 97–105.
36. UILENBERG, G., F. F. J. FRANSSEN and N. M. PERRIE (1989): Three groups of Babesia canis distinguished and a proposal for nomenclature. *Vet. Q.* 11, 33–40.
37. UILENBERG, G. (2006): Babesia – A historical overview. *Vet. Parasitol.* 138, 3–10.
38. YABSLEY, M. J., J. MCKIBBEN, C. N. MACPHERSON, P. F. CATTAN, N. A. CHERRY, B. C. HEGARTY, E. B. BREITSCHWERDT, T. O'CONNOR, R. CHANDRASHEKAR, T. PATERSON, M. L. PEREA, G. BALL, S. FRIESEN, J. GOEDDE, B. HENDERSON and W. SYLVESTER (2008): Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, Babesia canis vogeli, Hepatozoon canis, Bartonella vinsonii berkhoffi and Rickettsia spp. in dogs from Grenada. *Vet. Parasitol.* 151, 279–285.
39. ZAHARIJA, I., Z. MODRIĆ i M. HERCEG (1973): Prinos poznавanju piroplazmoze psa. *Praxis vet.* 21, 139–144.

New Knowledge on Canine Babesiosis

Jelena SELANEC, DVM, Assistant-Junior Researcher, Marin TORTI, DVM, Assistant-Junior Researcher, Iva ŠMIT, DVM, Assistant-Junior Researcher, Iva MAYER, PhD, DVM, Assistant-Junior Researcher, Josipa KULEŠ, DVM, Assistant, Ines JOVIĆ, DVM, Expert Associate, Vladimir MRLJAK, PhD, DVM, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Canine babesiosis is a clinically significant and geographically widespread hemoprotozoan disease. The predominant piroplasm species in Europe are Babesia canis, B. vogeli and Theileria annae, which are transmitted by *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor reticulatus*, *Haemophysalis leachi* and *Ixodes hexagonus* ticks. Although vector-borne transmission is the natural means by which most pets develop babesiosis, infection has also been reported as a result of transplacental transmission from the dam, by transfusion or by infected equipment. Babesiosis is classified as complicated or uncomplicated in terms of its pathogenesis. Uncomplicated babesiosis is generally associated with mild to moderate anaemia, causing pallor, weakness, icterus, fever and

varying degrees of pigmenturia. Complicated babesiosis is characterized by dysfunction of one or more organs and refers to pathologic manifestations including neurologic dysfunction, bleeding diatheses, respiratory failure, refractory hypotension and acute renal failure. Microscopy is reasonably sensitive for detecting intraerythrocytic piroplasms, although the current diagnostic recommendation offering the greatest sensitivity is a combination of serologic testing and PCR. Current treatment strategies for babesiosis often ameliorate the clinical signs of infection, but these hemoparasites are seldom completely eliminated, and when immunocompromised, recrudescence may occur. Vector tick control is the primary means of disease prevention.

Mite-Stop

NOVO!

koncentrirana otopina za suzbijanje tekuti
(Dermanyssus gallinae), krpelji, buha, uši i
pauši na domaćoj peradi



- KONCENTRIRANI AKARICID REGISTRIRAN U EU KAO BIOCID 18.
- AKARICID NA PRIRODNOJ BILJNOJ OSNOVI.
- VISOKA UČINKOVITOST NA TEKUTI I DRUGE EKTOPARAZITE U DOMAĆE PERADI.
- DJELOVANJE NA ODRASLE I RAZVOJNE STADIJE TEKUTI.
- NE OSTAVLJA REZIDUE U JAJIMA I MESU PERADI, KARENCIJA NULA DANA.
- NE STVARA REZISTENCIJU.
- EKONOMIČNA PRIMJENA PRSKANJEM ZIDOVA, PODOVA, OPREME I KAVEZA PERADNJAKA U ILI BEZ PRISUTNOSTI PERADI.



 **GENERA**
Vaš pouzdan partner

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



Dijagnostika i liječenje bolesti prostate u pasa

Hrvoje Capak, Ljiljana Bedrica, Zoran Vrbanac i Ivica Harapin



Uvod

Prostata je jedina akcesorna spolna žlijezda muških pasa, nalazi se retroperitonealno i samo njezina kraniodorzalna površina je prekrivena peritoneumom (Evans i Christensen, 1990.).

Prostata se nalazi između rektuma dorzalno i simfize zdjelice ventralno, a kroz njezinu sredinu prolazi uretra i vrat mokraćnog mjehura. Okružena je fibromuskularnom kapsulom i podijeljena u dva lobusa medijalnom pregradom koja se palpira na dorzalnoj površini rektalno (Rogers, 1986., Evans i Christensen, 1990.). Njezina pozicija je abdominalna tako dugo dok urahus ne retrahira s dva mjeseca starosti. Ona je nakon toga u zdjelici, te se postupno povećava s godinama ili bolešću, tako da u to vrijeme može biti mokraćnim mjehurom pomaknuta kranijalno i palpirana abdominalno (Evans i Christensen, 1990., Dorfman i Barsanti, 1995.).

Smještaj prostate varira. Obično ovisi o pasmini, veličini prostate, starosti i punoći mokraćnog mjehura (Post, 2000.). Kad je mokraćni mjehur prazan i skupljen, žlijezda se nalazi potpuno u zdjeličnoj šupljini i može biti 2,5 cm ili više iza prednjeg ruba preponske kosti (*os pubis*). Kad je mokraćni mjehur pun, prostate je često velikim dijelom ili potpuno ispred preponske kosti (Ellenport, 1975.).

Rast prostate i njezina sekrecija ovise o androgenim hormonima (Rogers, 1986.). Kastracija dovodi do smanjenja volumena prostate, atrofije žlezdanih i vezivno tkivnih elemenata i smanjuje

mogućnost proizvodnje i metaboliziranja androgena. Glavni androgen koji regulira rast prostate je 5α -dihydrotestosterone (5α -DHT), koji se formira od testosterona 5α -reduktazom.

Prostata izlučuje seminalnu plazmu kroz hormonalnu i živčanu kontrolu. Ubacivanje tekućine iz prostate u uretru je stimulirano simpatičkim živčanim sustavom. Prostatična tekućina čini prvu i treću frakciju psećeg ejakulata i odgovorna je za volumen ejakulata time što ga povećava te pomaže u transportu sperme. Prostatična tekućina se izlučuje konstantno i normalno se nalazi u prostatičnoj uretri odakle se može proširiti u mokraćni mjehur i uretru penisa. Sekret prostate ima mlječan izgled i karakterističan miris.

U kliničkoj praksi treba imati na umu da je kod škotskih terijera prostate fiziološki četiri puta veća nego kod ostalih pasa podjednake veličine (Post, 2000.).

Klinički simptomi bolesti prostate

Bolesti su prostate česte u pasa, a jako rijetke u mačaka. One uključuju benignu hiperplaziju prostate, skvamoznu metaplaziju, bakterijski prostatitis, apses prostate, prostatične i paraprostatične ciste i neoplazije prostate.

Klinički simptomi bolesti prostate su vrlo slični zato što svи prouzročuju neke stupnjeve povećanja prostate i upalu. Najčešći klinički znaci uključuju tenezam,

Hrvoje CAPAK, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. med. vet., redovita profesorica, Zoran VRBANAC, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Ivica HARAPIN, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

krvavi iscijedak iz penisa neovisno o mokrenju, hematuriju i recidivirajuće infekcije mokraćnog sustava.

Naknadno, nespecifični simptomi kao povišena tjelesna temperatura, nemir i bol u kaudalnom dijelu abdomena su često prisutni u životinja s bakterijskom infekcijom i neoplazijama prostate. Adenokarcinom prostate može prouzročiti nepravilan stav životinje kao posljedica metastatskih lezija zdjelice i lumbalne kralježnice. Ostali nespecifični simptomi povećanja prostate mogu potjecati od mehaničkih problema koji su isprepleteni s ostalim trbušnim organima. Ne tako često, bolesti prostate mogu prouzročiti neplodnost, inkontinenciju mokraće ili opstrukciju uretre (Krawiec, 1994.).

Dijagnostika bolesti prostate

Bolesti prostate obično su praćene simptomima kroničnih bolesti, koje obuhvaćaju recidivirajuće bolesti urinarnog trakta, disuriju, teškoće u lokomociji ili defekaciji, krvavi uretralni iscijedak i trbušnu bol. Pireksija, anoreksija, povraćanje i septikemija javljaju se u životinja s akutnim tijekom bolesti (Buckrell, 1988.).

Palpacijom prostate kroz rektum i abdomen utvrđuju se veličina, simetričnost, položaj, površina i bolnost. Testisi se pregledavaju zbog razvoja tumora, a prepucij zbog balanopostitisa.

Nativna i kontrastna radiografija te pravovremena ultrazvučna dijagnostika pokazuju veličinu, položaj i gustoću tkiva prostate (npr. cista). Mokraća se dobiva cistocentezom da bi se zaobišao bolesni urinarni trakt. Tekućina se iz prostate dobiva ejakulacijom ili uretralnim ispiranjem. Analiza je tekućine neophodna da bi se postavila dijagnoza, za liječenje i prognozu. U obzir se uzimaju: boja, volumen, pH, epitelne stanice, broj leukocita i eritrocita i bakterije (normalno ih ima više od 100 na mililitar tekućine). Rade se bakteriološke i mikoplazmatske kulture i antibiogram tekućine prostate, a u slučaju akutnog prostatitisa, kada

je tekućina teško dobiti, koristi se urin. U slučaju povećanja prostate, nalazom neutrofilije razlikuju se akutni tijek i prostatične ciste od neoplazija.

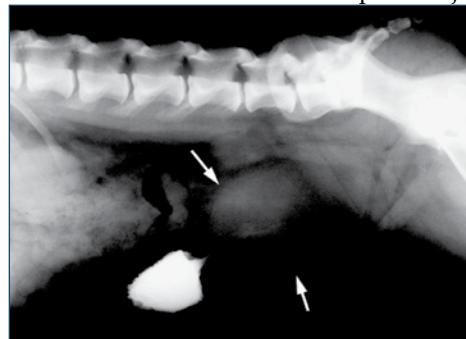
Rektalnom ili transabdominalnom aspiracijom tankom iglom razlikuje se apses od neoplazije, no postoji opasnost nastanka jatrogenog peritonitisa. Za pregled i biopsiju je sigurnija laparotomija.

Benigna hiperplazija prostate

Benigna hiperplazija prostate (BHP) je vrlo česta bolest prostate u pasa, možemo je naći u većine muških pasa starijih od šest godina. Nastaje kao rezultat stimulacije androgenim hormonima, specijalno hormonom 5α -dihydrotestosteron. Zašto neki mužaci obolijevaju, a drugi ne još uvijek je nepoznanica. BHP može biti subklinička ili se može javiti kao tenezam, hematurija i krvarenje iz prostate (Barsanti i Finco, 1995.a).

Dijagnoza

Na dijagnozu BHP upućuje tenezam ili kapanje krvi iz uretre, ili hematurija ili kombinacija navedenog u zdravim pasa sa simetričnim povećanjem prostate koji su u srednjim godinama ili stariji. U pasa može biti nađena BHP i kod nalaza krvi u spermii. Prostata nije bolna na palpaciju. Rengenološki nalazimo povećanje prostate. Ultrazvučno nalazimo difuzno relativno simetrično povećanje



Slika 1. Izrazito povećana prostata (strelici), kontrastom ispunjen, dislociran mokračni mjeđur (Šehić, 2002.).

obujma prostate. Male multiple difuzne cistične strukture mogu se često naći na ultrazvučnim pretragama u pasa s BHP-om. Citološkom pretragom ejakulata ili aspirata nalazimo krvne elemente ili elemente koji govore o upali, ali nema znakova sepse ili neoplazije. Dijagnoza može biti postavljena i histopatološkom pretragom biopsata u kojeg hiperplastične promjene često uključuju mikroskopske ciste. No, biopsija se rijetko provodi (Rogers, 1986.).

Liječenje

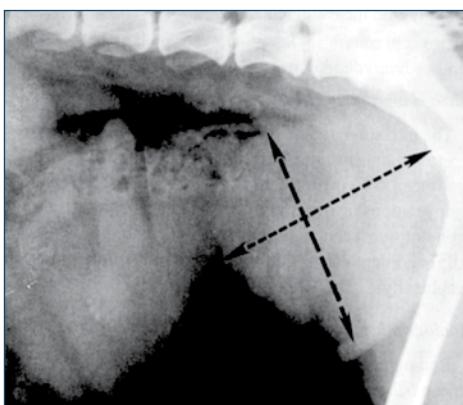
Liječenje nije potrebno kod BHP bez simptoma, ali kastracija je lijek izbora kod pasa koji pokazuju kliničke znakove bolesti. Atrofija prostate je obično evidentna nekoliko tjedana nakon kastracije, a kompletne je 12 tjedana nakon što smo uklonili izvor androgena. Kastracija možda nije preporučljiva za pse koje koristimo u rasplodu, takve životinje mogu biti liječene antiandrogenima ali to liječenje nije djelotvorno kao kastracija zbog toga jer će remisija benigne hiperplazije prostate biti samo privremena. Bolest se ponovno vraća nakon što prekinemo davati hormonsku terapiju. Terapija će estrogenima smanjiti hiperplaziju prostate te, iako može inicijalno biti efektivna, ne preporučuje se zbog toga što ponavljanjem malih i velikih doza, estrogen inducira skvamoznu metaplaziju prostate koja kasnije može prouzročiti povećanje prostate i kliničke znakove koji su puno izraženiji nego oni kod benigne hiperplazije prostate. Osim toga, estrogeni mogu uzrokovati cistične promjene i infekcije prostate kao i smanjenje spermogeneze inhibicijom sekrecije gonadotropina. Isto je tako poznato da ovisno o dozi estrogeni mogu prouzročiti probleme i u koštanoj srži pasa (Bamberg-Thelen i Linde-Forsberg, 1993.).

Progesteron isto tako ima antiandrogenske efekte. U visokim dozama on smanjuje spermogenezu i motilitet spermija, povećava defekte u spermijima, smanjuje razinu testosterona



Slika 2. Nativni postrani prikaz rengenološki povećane prostate, kontrastom ispunjen mokračni mjeđur (Šehić, 2002.).

u serumu. Megestrolacetat u dozi od 0,5 mg/kg p/o koji se daje dnevno 10 dana do četiri tjedna može prouzročiti smanjenje kliničkih znakova benigne hiperplazije prostate bez negativnih efekata na plodnost. Dugotrajno djelovanje spomenute terapije nije istraženo. Jednostavna subkutalna injekcija 3 mg/kg medroxyprogesteron acetata (MPA) je uklonila kliničke znakove benigne hiperplazije prostate u većine liječenih pasa (84%). Liječeni psi su pregledavani kroz 27 tjedana i cijelo vrijeme nije bila narušena kakvoća sjemena. Koncentracija se testosterona u serumu smanjila poslije pet tjedana, ali to nije prouzročilo probleme sa spermom ili libidom. Klinički znaci benigne hiperplazije prostate ponovili su se nakon deset do dvadeset četiri mjeseca poslije terapije MPA-om.



Slika 3. Povećana prostata (dijametri prostate) (Šehić i sur., 2006.).

Dugotrajna terapija ovim lijekom nije istraživana (Barsanti i Finco, 1995.a).

Skvamozna metaplazija prostate

Estrogen, bilo iz tumora Sertolijevih stanica ili nakon terapije spomenutim hormonom prouzroči skvamoznu metaplaziju epitelja prostate i izlazak prostaticne tekućine bez obzira na prostaticne duktuse. Konačni efekt je povećanje prostate i mogućnost skupljanja ili izlaska tekućine bez obzira na žlijezdu. Klinički znaci i rezultati kliničkog pregleda mogu biti identični onima kod benigne hiperplazije prostate. Uz to može biti prisutan i znak hiperestrogenizma. Pri kliničkom pregledu možemo pronaći kriptorhidni testis (Barsanti i Finco, 1995.a).

Dijagnoza

Skvamozna se metaplazija dijagnosticira na osnovu anamneze i kliničkog nalaza. Smanjeni broj skvamoznih epitelnih stanica često je nađen u ejakulatu ili u aspiratu prostate. Ako je potrebno, dijagnoza se može upotpuniti nalazom aspiracione biopsije prostate (Johanson, 1998.).

Liječenje

Skvamozna metaplazija se liječi uklanjanjem izvora estrogena. To se postiže kastracijom životinja s tumorom testisa ili prekidanjem terapije estrogenima. Estrogeni mogu utjecati na koštanu srž, međutim kastracijom će se taj utjecaj smanjiti (Bamberg-Thelen i Linde-Forsberg, 1993.).

Bakterijski prostatitis i apses prostate

Bakterijska infekcija prostate može biti akutna ili kronična, a u takvih se životinja može razviti apses prostate. Normalno prostata je zaštićena protiv kolonizacije

bakterija lokalnom produkcijom IgA i IgB, produkcijom prostaticnog antibakterijskog faktora i uklanjanjem bakterija kroz često mokrenje. Međutim, bolesna prostata (cistična hiperplazija, skvamozna metaplazija) je skljona tome da potpomogne infekciju žlijezde. Najčešći put infekcije je ascedentno iz uretralne flore. Hematogeni put infekcije je također moguć. Najčešće izolirani organizmi iz inficirane prostate su: *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* i *Proteus* spp. Ponekad se mogu naći mikoplazme ili anaerobni mikroorganizmi (Barsanti i Finco, 1995.b).

Klinički znaci

Anamnestički podatci životinja s akutnim bakterijskim prostatitom ili apsesom prostate ukazuju na jaku bolnost abdomena s mogućim hemoragičnim prepucijalnim iscjetkom. Obično su prisutni povišena tjelesna temperatura, dehidracija i bolnost na palpaciju prostate su obično prisutni. Može nastati septikemija i endotoksemija (Barsanti i Finco, 1995.b).

Dijagnoza

Bakterijski prostatitis i prostaticni apses se dijagnosticiraju na temelju kliničkog pregleda kulture tekućine prostate ili urina i citološke pretrage materijala dobivenog masažom prostate i aspiracijom. Veličina se prostate ne mora promijeniti kod prostatitisa. Kod apsesa prostate možemo obično palpacijom naći asimetriju, povećanje prostate i mjesta na žlijezdi koja fluktuiraju. Ultrazvučnim pregledom prostate nalazimo intraparenhimalne tekućinom ispunjene prostore koji su ustvari apsesi. Tekućina prostate dobivena ejakulacijom je dobar materijal za bakteriološku pretragu i antibiogram. Nažalost, psi s akutnim prostatitism ili apsesom vrlo rijetko mogu ejakulirati budući da je to za njih izrazito bolno. Alternativa

uključuje kulturu urina, jer normalno nešto tekućine iz prostate odlazi u mjeđur. Analiza urina obično pokazuje hematuriju, piuriju i bakterijuriju. Ako je nalaz urina nefiziološki moramo ga pretražiti bakteriološki i antibiogramom. Često kulture urina i materijala prostate izrastu same. Ako analiza urina pokazuje da u njemu nema bakterija, prostatu moramo punktirati tankom iglom i aspirirati sadržaj (masažom prostate pod kontrolom ultrazvuka). Međutim, u tim slučajevima moramo biti svjesni rizika da masažom prostate načinimo rupturu apsesa što može dovesti do još većih problema. Trebala bi biti načinjena citološka pretraga materijala prostate trebala biti načinjena. Ona obično pokazuje upalu s prisustvom septičnih ili krvnih sadržaja, a kod kronične infekcije nalazimo mnoštvo makrofaga (Dorfman i Barsanti, 1995.).

Liječenje

Antibiotici su jedini pravi izbor liječenja za bakterijski prostatitis. Krvna je barijera prostate vrlo učinkovita u prevenciji prodiranja mnogih lijekova u parenhim prostate. Razlog za to je pH tekućine koji sadrži antibiotske efekte i koji lijekove neutralizira ionizacijom. Stupanj ionizacije određuje liposolubilnost lijeka, što je glavni čimbenik koji određuje prodiranje lijeka

kroz barijeru krv – prostata. Prostatična tekućina je često veoma kisela, međutim, antibiotici trebaju lužnatu bazu i puno lakše penetriraju u parenhim ţljezde. Eritromicin, klindamicin, trimetoprim-sulfanomid, klorapfenicol, enrofloksacin i ciprofloksacin su lijekovi koji mogu postići terapeutsku koncentraciju u prostati.

Akutni bakterijski prostatitis i apses prostate su ozbiljne, po život opasne bolesti. Liječenje mora biti promptno i agresivno. Zajedno s antibioticima treba primijeniti tekućinsku terapiju da bismo korigirali dehidraciju i šok. Usprkos agresivnoj terapiji mortalitet kod apsesa prostate je visok. Veliki se prostatični apsesi najdjelotvornije liječe kirurškom drenažom. Apses isto tako može biti dreniran aspiracijom pomoću tanke igle uz kontrolu ultrazvuka. Liječenje antibioticima za akutni prostatitis i apses prostate mora trajati dva do tri tjedna. Mokraća i tekućina prostate moraju biti kontrolirani nakon nekoliko dana da bi se potvrdila ispravnost antibiotske terapije. Isto tako može se primjeniti kastracija, međutim potrebno je pričekati da se normalizira hemodinamski i metabolički status pacijenta kako bi on bio stabilan za primjenu opće anestezije. Prostatični apses se vraća u šest (10,5%) od 57 liječenih pasa (Johnson, 1998.).

Kronični bakterijski prostatitis

Kronični bakterijski prostatitis može biti asimptomatičan, osim što se javljaju povratne urinarne infekcije. Klinički znaci su ograničeni na urinarni trakt. Veličina će prostate biti normalna, ali ona može biti asimetrična i puno više podražljiva, nego normalno. Ona može, a i ne mora biti bolna na palpaciju. Psi s kroničnim bakterijskim prostatitisom su obično nevoljni za ejakulaciju. Tekućinu prostate i urin treba citološki i mikrobiološki pregledati. Ovu je bolest teško dokazati i izlječiti. Antibiotkska terapija mora biti produžena na najmanje četiri tjedna. Kultura mora biti ponovljena nakon nekoliko mjeseci poslije prestanka antibiotske terapije da bismo ustanovili postoji li i dalje infekcija. Kastracija je



Slika 4. Apses prostate (kontrast označen strelicama) (Šehić, 2002.).

metoda izbora u liječenju kroničnog bakterijskog prostatitisa (Krawiec, 1994.).

Paraprostatične ciste

Paraprostatične ciste nastaju od Mülerovog duktusa ili kao rezultat vanjskog povećanja postojećih cista (prostatične retencione ciste). U spomenutoj je situaciji ostatak prostate fiziološki dok u kasnijem tijeku može postojati cistična benigna hiperplazija. Kako često će ciste nastati nije utvrđeno (Barsanti i Finco, 1995.b). Paraprostatične ciste su locirane izvan parenhima prostate, ali su povezane s prostatom kanalom ili priraslicama. Ove ciste mogu postati ekstremno velike i prouzročiti znakove smetnji, zbog mehaničkog utjecaja na ostale organe trbuha što uključuje tenezam (Dorfman i Barsanti, 1995.).

Dijagnoza

Paraprostatične ciste nastaju u pasa s velikim tvorbama u kaudalnom dijelu abdomena. Te tvorbe je teško diferencirati od mokraćnog mjehura tako dugo dok se ne načini cistografija. Aspiracijom paraprostatičnih cista obično dobijemo sterilni žuti do serohemoragični tekući sadržaj koji sadrži minimalne znakove upale (Hedlund, 2002.).

Liječenje

Metoda izbora u liječenju je kirurško uklanjanje cista i kastracija. Marsupializacija daje slabe rezultate u odnosu na ekstirpaciju, zbog toga, jer ostaje permanentna fistula koja se može i inficirati (Hedlund, 2002.).

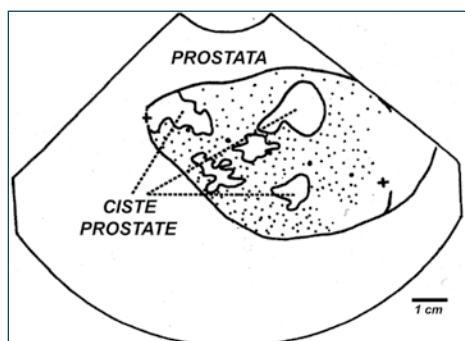
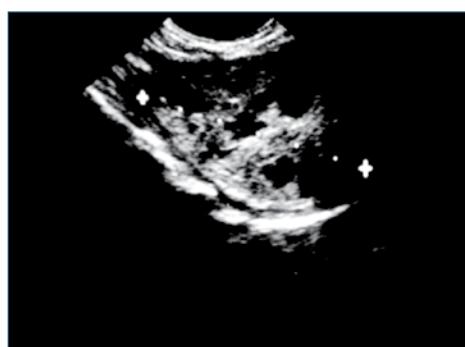
Neoplazije prostate

Adenokarcinom prostate je najčešći tumor prostate u pasa. Nastaje u starijih pasa što znači da je njihova srednja dob u vrijeme dijagnoze deset godina. Karcinom tranzicijalnih stanica koji kreće iz urinarnog trakta može isto tako invadirati prostatu. Klinički znaci

i biološke karakteristike oba tumora u prostate su slični. Adenokarcinom je lokalno invazivan i metastazira u sublumbalne limfne čvorove, kosti zdjelice i lumbalne kralješke (Bell, 1991.). Povezanost između prethodne kastracije i nastanka adenokarcinom prostate je nepoznat, ali 45% od oboljelih pasa su bili prethodno kastrirani, što je više nego postotak kastriranih pasa u generalnoj populaciji. Neoplazije prostate su jedine bolesti prostate nađene u kastriranim pasa u populaciji od 177 pasa s bolestima prostate. Benigni adenom prostate je dosada nađen samo u jednog muškog psa (Johnson, 1998.).

Klinički znaci

Klinički znaci uključuju tenezam, bolno mokrenje, bolnost i šepavost prouzročenu koštanim metastazama i gubitak tjelesne težine. Palpacijom prostate je bolna. Žlijezda obično nije dramatično



Slika 5. Intraprostatične ciste, UVZ i shematski prikaz (Šehić i sur., 2006.).

povećana, ali je njezin oblik u većini slučajeva nepravilan. Urinarna opstukcija rijetko nastaje u pasa kao rezultat ostalih prostatičnih bolesti, osim neoplazije prostate (Barsanti i Finco, 1995.b).

Dijagnoza

Dijagnoza neoplazije prostate temelji se na anamnezi, kliničkom i rengenološkom nalazu. Adenokarcinom prostate je obično rengenološki transparentniji u odnosu na normalnu prostatu, ali to ne mora biti patognomonično. Nalaz invazije uretre demonstriran radiološkim kontrastom ili ultrasonografijom sugerira neoplaziju. Dijagnoza se potvrđuje aspiracijom ili biopsijom. Neoplastične stanice mogu naći u aspiratu kroz uretralni kateter, posebno u tumora koji su zahvatili i uretru. Obično, se, neoplastične stanice ne nađu u tekućini prostate ili ejakulatu. Koncentracija kisele fosfataze i prostate specifičnog antiga u serumu i spermij nije različita između zdravih pasa i pasa s bolestima prostate. Međutim, prostate specifična esteraza može biti viša u pasa s bolestima prostate nego u zdravih pasa, ali taj nalaz nije specifičan za bolesti prostate (Roger, 1986., Dorfman i Barsanti, 1995.).

Liječenje

Prognoza je za životinje s adenokarcinomom prostate loša. Prostatektomija, kemoterapija, hormonalna terapija i zračenje nisu uspješni u produljenju niti kvaliteti života pasa.

Rasprava i zaključci

Bolesti prostate u pasa su relativno česte i postaju sve češće u kliničkoj praksi. Cilj je kliničke pretrage i pregleda ustanoviti o kojoj se bolesti radi, a po mogućnosti i utvrditi uzrok, jer o tome ovisi liječenje i prognoza. Ozbiljne bolesti prostate su: cista, apsces i karcinom

(Barsanti i Finco, 1995.b, Johnson, 1998.).

Sve se bolesti, osim karcinoma, mogu sprječiti kastracijom tijekom prve godine života psa. Kada se bolest razvije kastracija je indicirana za sve pacijente, osim za one s karcinomom (Barsanti i Finco, 1995.b, Johnson, 1998., Hedlund, 2002.).

Liječenje, posebice kirurško, je zahtjevno i često komplikirano recidivima, inkontinenjom, infekcijama, sepsom i smrću.

Konačno, o bolestima prostate u pasa možemo zaključiti:

1. Bolesti su česte i predstavljaju velik problem.
2. Sigurna se dijagnoza postavlja na temelju radiografije, ultrazvuka, biopsije, pregleda uretralnog iscijedka, urina ili ejakulata.
3. Sve se bolesti, osim karcinoma mogu sprječiti kastracijom tijekom prve godine života.
4. Vlasnike treba prije kirurškog liječenja upozoriti na težinu operacije i mogućnost komplikacija.

Sažetak

Prostata je jedina akcesorna spolna žlijezda muških pasa. Njezina je funkcija u tvorbi prve i treće frakcije ejakulata i pomoći u transportu sperme. Bolesti su prostate vrlo česte, posebno u starijih pasa. Dijagnosticiraju se na temelju kliničkog nalaza, radiografije, ultrazvuka, biopsije, pregleda uretralnog iscijedka, urina ili ejakulata. Bolesti koje se javljaju su: benigna hipertrofija prostate, skvamozna metaplazija, bakterijski prostatitis, apses prostate, prostatične i paraprostatične ciste i neoplazije prostate. Uzroci bolesti mogu biti različiti mikroorganizmi, androgena, androgenom potpomognuta i estrogena stimulacija. Klinički simptomi su: tenezam, krvavi iscijedak iz penisa neovisno o mokrenju, hematurija i recidivirajuće infekcije mokraćnog sustava. Često su prisutni simptomi kroničnih bolesti. Ozbiljnost bolesti, prognoza i terapija ovise o pravovremenoj dijagnozi. Odluka za liječenje pasa antibioticima, hormonalnom terapijom ili kirurškom tehnikom, sa ili bez kastracije, ovise

o dijagnozi. Prisutni klinički simptomi variraju ovisno o jačini i tipu bolesti. Kod kirurškog liječenja apsesa česti su recidivi te ostale komplikacije. Kod utvrđenih neoplazija vrlo je teško davati prognozu i ona svakako nije dobra.

Literatura

1. BAMBERG-THELEN, B. and C. LINDE-FORSBERG (1993): Treatment of canine benign prostatic hyperplasia. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 29, 321-233.
2. BARSANTI, J. and D. FINCO (1995a): Medical management of canine prostatic hypoplasia. In *Current Veterinary Therapy XII* (BONAGURA, J., R. KIRK, eds.). Philadelphia. W. B. Saunders. Pp. 1033-1042.
3. BARSANTI, J. and D. FINCO (1995b): Prostatic diseases. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th ed. (ETTINGER, S., E. FELDMAN, eds.). Philadelphia. W. B. Saunders. Pp. 1662-1681.
4. BELL, F. W. (1991): Clinical and pathological features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs. 31 cases (1970-1987). *J. Am. Vet. Med. Ass.* 199, 1623-1629.
5. BUCKRELL, b. C. (1998): Decision making in small animal soft tissue surgery. (BINNINGTON, a. G., J. C. COCKSHUTT, ed.), Toronto, b. C. Decker inc. Pp. 134-135.
6. DORFMAN, M. and J. BARSANTI (1995): Diseases of the canine prostate gland. *Compend. Conti. Ed.* 17, 791-803.
7. ELLENPORT, C. R. (1975): Carnivore Male Genital Organs. U Sisson and Grossman *The Anatomy of the Domestic Animals*. Fifth Edition. (GETTY, R. Ed.). Philadelphia. W. B. Saunders. Pp. 1580-1584.
8. EVANS, H. and G. CHRISTENSEN (1990): The urogenital system. In: *Millers Anatomy of the Dog*. (EVANS, H. Ed.). Philadelphia. W. B. Saunders. Pp. 494-558.
9. HEDLUND, C. S. (2002): Surgery of the Reproductive and Genital System. In: *Small Animal Surgery*, second ed. (FOSSUM, T. W. ed.) London, Mosby, pp. 610-674.
10. JOHNSON, C. A. (1998): Reproductive Disorders. In: *Small Animal Internal Medicine*, Second ed., (NELSON, R. W., C. G. COUTO, ed.), London, Mosby, pp. 838-939.
11. KRAWIEC, D. R. (1994): Canine prostatic disease. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 204, 1561-1573.
12. POST, K. (2000): Clinical Examination of the Reproductive System. In *Veterinary Clinical Examination and Diagnosis* (RADOSTITS, O. M., I. G. MAYHEW, D. M. HOUSTON). London. W. B. Saunders. Pp. 661-674.
13. ROGERS, K. (1986): Diagnostic evaluation of the canine prostate. *Compend. Contin. Ed. Pract.* 8, 799-813.
14. ŠEHIC, M. (2002): Klinička rendgenologija u veterinarskoj medicini. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
15. ŠEHIC, M., D. STANIN i V. BUTKOVIĆ (2006): Ultrasonografija abdomena i toraksa psa i mačke. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Diagnostics and Treatment of Prostatic Disease in Dogs

Hrvoje CAPAK, DVM, Assistant, Ljiljana BEDRICA, DVM, PhD, Full Professor, Zoran VRBANAC, DVM, Assistant, Ivica HARAPIN, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The prostate is the only accessory sex gland of male dogs. Its function is to make up the first and third fractions of the canine ejaculate and aid in sperm transport. Prostatic diseases are very common in older dogs. They are determined through clinical examination, radiography, ultrasonography, biopsy, tests of urethral discharge, urine or ejaculate. Disorders of the prostate gland include benign prostatic hyperplasia, squamous metaplasia, bacterial prostatitis, prostatic abscess, prostatic and paraprostatic cysts, and prostatic neoplasia. Prostatic diseases are induced with different microorganisms, androgen and oestrogen stimulation or androgen supported. Clinical signs include tenesmus, blood drip-

ping from the penis independent of urination, haematuria, and recurrent urinary tract infections. Clinical signs are also often observed in chronic forms of the disease. The severity of the disease, prognosis and therapy depends on early diagnosis. The decision to treat dogs with antibiotics, hormone therapy or surgery techniques (with or without castration) depends on the diagnosis. Some clinical signs vary with the type and degree of disease. In surgical treatment of abscesses, relapses and other complications are very common. With a diagnosis of neoplasia, it is very difficult to give a prognosis, which is poor in all situations.

Organizacija veterinarske inspekcije u Hrvatskoj kroz povijest



P. Džaja, K. Severin, Ž. Grabarević, D. Agićić i M. Kajganić

Uvod

Od davnih se dana došlo do spoznaje da bez veterinara nema profesionalno obavljena posla ne samo u liječenju životinja i svih poslova koji tome prethode, već i u suzbijanju pojave i sprječavanja širenja zaraznih bolesti sa životinje na životinju, odnosno sa životinje na ljude. Zato će veterinari postati glavni i odgovorni u obavljanju poslova vezanih za životinje i životinjske proizvode, sirovine i dr. te za provođenje naredjenih mjera od strane države, odnosno u obavljanju javnih ovlasti čiji su poslovi od interesa za svaku državu. Veterinari obavljajući poslove veterinarskih inspektora pregledavaju životinje, proizvode životinjskog podrijetla, hranu za životinje i ljude, objekte za životinje i proizvodnju i sl. te bez njihovih pregleda i kontrola, navedene pošiljke nisu mogle ići u promet. Iako smo u zadnje vrijeme potisnuti iz mnogih inspekcijskih poslova koje smo nekada obavljali, to jest da nam se posao u nekim segmentima smanjio ili u potpunosti ugasio, ovaj kratki povjesni pregled organizacije veterinarske inspekcije u Hrvatskoj donosimo da se podsjetimo vrsta, obveza i organizacije veterinarske inspekcije kroz povijest te ujedno izrazimo mišljenje da zbog interesa

zaštite pučanstva treba veterinarskog inspektora vratiti tamo gdje je bio te ga uvrstiti u obavljanje poslova sanitarnog inspektora. Naredbom Kr. Hrvat-Slav.-Dalm. Zemalj. vlade kojom je izdan naputak za podžupanijske i gradske veterinare (Anonymus, 1879.) bila je propisana dužnost veterinara bez obzira je li on bio podžupanijski ili gradski veterinar, da u svome području pazi na sve što se tiče timarenja marve prema zdravlju, a o svim opaženim manama je trebao izvjestiti nadležnu oblast uz navođenje prijedloga kako bi se sprječila pojавa i širenje neke bolesti. Zakon o uređenju veterinarstva u „Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji“ (Anonymus, 1888.) je propisivao da veterinarskim redarstvom upravlja Kraljevska Hrvatsko-Slavonsko-Dalmatinska vlada, odjel za unutarnje poslove. Prvi samostalni nadzornik veterinarske službe bio je dr. Radoslav Krištof kojeg je imenovalo 27 kotarskih veterinara (Vučevac-Bajt, 2012.). Oblasnom nadzoru i oblasnim odredbama bilo je predmetom sve što služi uzdržavanju, zaštićivanju i promicanju zdravlja domaćih životinja, liječenju običnih životinjskih bolesti, zaprečivanju i uništavanju kužnih bolesti

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 AGIĆIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Slavonski Brod; Miroslav KAJGANIĆ, dr. med. vet., Agro-vet, Križevci

i marvinskih pošasti. Oblasti su vršile svoj nadzor periodičkim pregledavanjem i istraživanjem ne čekajući prituže i prijave. U veterinarsko-zdravstvenu službu bile su uključene sljedeće oblasti:

- političke općine
- kotarske oblasti
- gradskog poglavarstva (oblast I)
- županijske oblasti (oblast II)
- Žemaljska vlada, odjel za unutarnje poslove

Političke općine obavljale su sljedeće poslove:

- „prijavljuju višoj oblasti, ako u području općine koje blašče oboli od koje bolesti, ili ako od nje skapa;
- izdaje marvinske putnice;
- vrši veterinarsko zdravstveni nadzor glede marve, koja se sieče za trošnju;
- vrši redarstveni nadzor na marvinskim sajmovima;
- pazi da mesari, trgovci marvom i tovitelji marve točno vrše dužnosti, koje im nameće ovaj zakon;
- drže u evidenciji općinske pastire, te ih upućuju o njihovih dužnosti obzirom na veterinarsko redarstvo;
- nadziru ceste i putove, koji su određeni za otpremanje marve;
- nadziru gostione i čarde glede čistoće i raskuživanja stajah;
- opredjeljuju prikladna mrcilišta te se brinu, da se valjano uzdržavaju;
- poslove ovog djelokruga obavljaju u seoskim općina općinska poglavarstva, u gradskih občina gradska poglavarstva.“

Općinski veterinar

Gradovi i trgovиšća s uređenim magistratom bili su dužni u pravilu držati veterinara, a pojedine seoske općine ili više njih zajedno bile su dužne držati posebna veterinara, ako za to imaju sredstva. Služba općinskog (gradskog) veterinara izabirala se nakon raspisivanja natječaja općinskog (gradskog) zastupstva. Služba općinskog (gradskog) veterinara bila je stalna. O visini plaće i o sjedištu su određivale županijske oblasti

sporazumno s općinskim zastupstvom i kotarskim oblastima. Plaću gradskih veterinara ustanovljivalo je gradsko zastupstvo. Protiv odluke županijske oblasti žalba se mogla uputiti Žemaljskoj vladu. Općinskog (gradskog) veterinara se izabiralo nakon raspisana natječaja općinskog zastupstva. Općinski (gradski) veterinar obavlja mjesne veterinarsko-redarstvene poslove u općini, odnosno u općinama svoga područja:

- „lijeci domaću životinju uz nagradu, utanačenu unaprijed ugovorom;
- vidira marvinske putnice, kada zavlada koja pošast;
- pregledava marvu za klanje i meso za javni potrošak i vodi dotični zapisnik, drži u evidenciji korisne domaće životinje svog područja i nadzire im zdravlje;
- ustanovljuje značaj bolesti kad se koje blašče razboli i kada skapa pa ako se to dade ustanoviti samo razudbom, obavlja razudbu i sastavlja zapisnik o njoj;
- sudjeluje kod provođenja veterinarskog redarstva na marvinskim sajmovima;
- predlaže kako da se zapriječe marvinske bolesti;
- motri pomnivo marvogojstvo te izvješće o svojim opažanjima;
- sudjeluje kod pregledavanja domobranskih konja, razmještenih kod privatnika;
- sastavlja četverogodišnja veterinarska izvješća.“

Veterinarska služba u kotarima i kotarski veterinar

Kotarskim je oblastima (gradskim poglavarstvom) kao oblastima djelokruga I stupnja spadalo:

- „motrenje svih okolnosti koje uplivaju na veterinarstvo njihova područja te izdavanje na temelju postignutih iskustava odredbe, ukoliko je to moguće, u vlastitom djelokrugu. Ukoliko su poslovi veterinarstva

prestizali njihov djelokrug, izvještavali su oblast više molbe te su stavljali svoje primjedbe;

- nadziranje na svom području provođanje poslova veterinarstva (glede putnica, veterinarstva, pastira, skupnih paša, putova za otpremu marve životdernicama, pregledavanje marve za klanje te su određivali da se opsežne mane uklone;
- nadziranje marvinskih sajmova na svom području;
- kotarske oblasti slale su svoje organe u općine, da se osobno upoznaju s mjesnim okolnostima u odnošajima u obziru veterinarstva te su postupale uopće u svih poslova po ovom zakonu i naredbama izdanim na temelju ovoga zakona, a spadaju u njihov djelokrug;
- protiv odluka kotarskih oblasti i proti odluka gradskih poglavarstva osim u Zagrebu i Osijeku, mogla se uputiti žalba županijskoj oblasti, a protiv odluka gradskog poglavarstva Zagreba i Osijeka Zemaljskoj vladici.”

Kotarski veterinar bio je strukovni organ za sve veterinarske poslove u kotaru, a u gradu te poslove obavljali su gradski veterinari. Kotarski veterinari obavljali su i poslove općinskih veterinara u općinama gdje nije bilo posebnih općinskih veterinara. S toga se u zemlji namještalo toliko kotarskih veterinara koliko ih je bilo potrebno. Kotarske veterinarne imenovao je ban na prijedlog velikog župana te nakon što je saslušao mišljenje zemaljskog zdravstvenog vijeća. 2/5 redovite plaće i stanarine kotarskih veterinara namirivao se iz zemaljskoga budžeta ostale 3/5 namirivale su općine (gradovi) koje nemaju vlastitih općinskih (gradskih) veterinara. Kotarskim veterinarom mogla se imenovati osoba koja je mogla ispravom dokazati da je diplomirani veterinar, a osim toga trebao je imati dvogodišnju ili jednogodišnju praksu na nekom veterinarskom zavodu ili na nekoj državnoj ergeli te položeni ispit prema naputku, što ga je izdala Kraljevska Zemaljska vlada- odjel za

unutarnje poslove, s čime je dokazivao sposobnost za poslove veterinarskoga redarstva. Gradovi koji su morali držati gradskog veterinara bili su: Zagreb, Osijek, Karlovac, Varaždin, Sisak, Petrinja, Križevci, Bjelovar, Koprivnica, Požega, Brod, Mitrovica, Zemun, Karlovci i Petrovaradin te trgovište Ruma.

Djelokrug kotarskih veterinaru:

- „bdili su nad veterinarskim redarstvom, izvještivali kotarskim oblastima o nađenim nedostacima te predlagali kako da se isti uklone;
- nadzirali su sve veterinarsko redarstvene uredbe u svom području;
- prijavljivali su zarazne bolesti prepostavljenoj oblasti te ako su izaslani išli su u odnosna mjesta;
- obavljali su pojedine veterinarske poslove u općinama (gradovima) gdje nema posebnih općinskih veterinara;
- podnosili su četverogodišnja izvješća o svom radu;”

Djelokrug županijskih oblasti:

- „županijska oblast bdila je nad tim da se točno vrše veterinarsko-redarstveni propisi u cijelom području županije;
- nadzirala je da li su zarazne bolesti i bolesti stoke pravilno dijagnosticirane i da li su prestale, te su nadzirali veterinarsko-zdravstvene odredbe za obranu i tamanjenje što ih je izdavala oblast I. molbe;
- izvještavali su zemaljsku vladu čim se pojavi koji slučaj marvinskih zaraznih bolesti i kad koje živinče ugine od zarazne bolesti;
- imenovali su članove povjerenstva za pregledavanje marve na željezničkim postajama;
- nadzirali su sve veterinarske uredbe u području cijele županije;
- određivali su o sjedištu, plaći i izboru općinskih veterinaru;
- ako se pojavila goveda kuga ili je nastala sumnja na goveđu kugu, slao je veterinara u dotično mjesto županije, ispitivao bolest i učinjene

- odredbe te otklanjao nedostatke;
- objavljivao je diplome veterinara, koji su se nastanili u području županije, zabranjivao je veterinarsku praksu u županiji, ako dotični nije imao dostačnih veterinarskih isprava;
- protiv odluka županijske oblasti podnosila se žalba (utok) zemaljskoj vladici.“

Poslovi županijskog veterinara bili su sljedeći:

- „bio je dužan ako mu naloži županijska oblast, poći u dotično mjesto da ispita sumnjive slučajeve te je izvještavao županijsku oblast;
- izvještavao je županijsku oblast ako je našao mana i zloporaba;
- predlagao je županijskoj oblasti kako da zapriječe mjesne pošasti i zarazne bolesti;
- ako se pojavila zarazna bolest te je slučaj prešan, bio je vlasan poći u odnosno mjesto i bez posebnoga naloga izdati prema ovome zakonu i naredbama izdanim na temelju ovoga zakona, sve odredbe potrebite za zaštitu te da se bolest zaprijeći. Što je našao i učinio izvještavao je županijsku oblast;
- predlagao je županijskoj oblasti kako da se poprave, odnosno osuše pašnjaci, koji su štetni za marvu te prouzrokuju marvinske bolesti;
- provjeravali su isprave veterinara koji se dosele ili nastane u područje županije, vidirali, ubilježavali i priopćavali ih županiji te predlagali potrebit postupak;
- predlagali kako da se iskorijene nadrilječništva i odstranjivali su pogibeljne običaje i presude;
- dostavljeni su četverogodišnje izvješće o svojem radu.“

Zemaljska je vlada određivala da kotarski veterinarian namješten u sjedištu županije obavlja pojedine poslove županijskog veterinara i obratno.

Veterinarska služba kod Kr. Zemaljske vlade- Vrhovni nadzor i vrhovna uprava

cijelog veterinarstva spadala je u djelokrug zemaljske vlade odjela za unutarnje poslove. Za to je bio namješten nadzornik za veterinarstvo, što ga je imenovao ban. On je morao biti diplomirani veterinarian, a ako je bilo moguće doktor liječništva. Kraljevsko zemaljski nadzornik za veterinarstvo spadao je u sedmi čin čija je plaća iznosila 1800, stanašina 300, a za uredovna putovanja pripadala mu je kilometraža i dnevničica. Kraljevski županijski veterinarian, spadao je u 9. čin, čija je plaća 800, stanašina 200, kotarski veterinarian spadao je u 10. čin, čija je plaća bila 600, stanašina 150 te 4 kvinkvenija po 50 forinti. Naredbom Kralj. Hrvat.-Slavon.-Dalm. Zemalj. vlade kojom je izdan naputak o obavljanju službe marvogojskih nadzornika (Anonymus, 1900.) marvogojski su nadzornici obavljali nadzor nad provođenjem veterinarskih i marvogojskih propisa na temelju pisanih ili dobivenih naloga te su svake godine trebali propuštanje područje zemlje. Marvogojski nadzornici imali su zemaljskog veterinarskog nadzornika u svakom slučaju gdje je to Kraljevska Zemaljska vlada odredila. Oni su nadzirali provođenje svih marvogojskih propisa, naročito u pogledu licenciranja pastuha i bikova. Nadzirali su i svinjogojsvo, ovčarstvo i peradarstvo te su davali prijedloge za rješavanje uočenih problema. Naredbom Kralj. Hrvat.-Slavon.-Dalm. Zemalj. vlade (Anonymus, 1900.) uz bok nadzorniku veterinarstva stavljeni su se dva veterinarska činovnika koji su mu bili direktno potčinjeni. Oni su trebali nadzirati provođenje svih propisa iz veterinarstva i voditi nadzor nad rasplodnom stokom, naročito onom koja je nabavljena iz javnih sredstava ili uz zemaljsku pomoć. Zakon o suzbijanju i ugušivanju stočnih zaraza (Anonymus, 1928.) je propisivao da pregled stoke za klanje, mesa kao i svih životnih namirnica animalnog podrijetla vrši veterinarian, a gdje nije bilo veterinara taj posao obavlja je naročito za to osposobljeni pregledavač.

Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza (Anonymus, 1954.) propisivao je da veterinarsku inspekciju vrše inspektori koji su službenici odgovarajućih organa državne uprave, narodnih odbora kotara (gradova), autonomnih jedinica, republičkih i saveznih organa nadležnih za poslove veterinarstva. Graničnu veterinarsku inspekciju vršili su inspektori Savezne uprave za poslove veterinarstva. Veterinarsku inspekciju mogli su vršiti i honorarni inspektori iz reda osoba koje raspolažu propisanom stručnom spremom i koje su zaposlene u nekoj veterinarskoj ustanovi, a vršenje pojedinih inspekcijskih poslova moglo se povjeriti i pojedinim veterinarima. Veterinarsku inspekciju obavljali su kotarski (gradski), republički i državni veterinarski inspektori. Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza (Anonymus, 1955.) propisivao je da kotarskog veterinarskog inspektora postavlja i razrješava narodni odbor kotara. Kotarski veterinarski inspektor uz poslove iz osnovnog zakona obavljao je i neposredno nadziranje izvršenja propisa i veterinarsko-sanitarnih mjera te je predlagao Narodnom odboru provođenje preventivnih mjera. Narodni odbor kotara mogao je pojedinim veterinarima povjeriti poslove iz nadležnosti kotarskog veterinaru i to vršenja nadzora nad suzbijanjem stočnih zaraznih bolesti i nadzora nad prometom stoke. Republički veterinarski inspektor bio je ovlašten nad provođenjem veterinarsko-sanitarnih mjera, davanja kotarskim veterinarskim inspektorma uputa i smjernica za obavljanje veterinarske inspekcije i vršenje nadzora nad njihovim radom. Po saveznom Zakonu postojao je i honorarni veterinarski inspektor. Po Uputstvu o sprovodenju poslova veterinarske inspekcije (Anonymus, 1955.) s obzirom na odgovornost i važnost poslova veterinarske inspekcije za veterinarske inspektore trebalo je postavljati što iskusnije stručnjake, ponajprije one s dugogodišnjim stažom i

primjereno ih nagraditi, to jest izjednačiti plaće veterinarskih inspektora s plaćama sanitarnih inspektora. Kotarski veterinarski inspektori neposredno su kontrolirali izvršenje propisa i veterinarsko-sanitarnih mjera, predviđene propisima kod stočnih bolesti, kada se one pojave na području kotara ili kada prijeti njihovo širenje. Osim toga on je bio odgovoran referent narodnog odbora kotara za sve poslove veterinarstva. Kontrolirao je pakiranje, promet i uporabu veterinarskih cjepiva i lijekova, poslove osnovnog zakona o zaštiti stoke od stočnih zaraza, suzbijanje i sprječavanje širenja zaraznih bolesti, dezinfekciju sirove kože, izdavanje stočnih pasoša i dr. Narodni odbor općine ovlastio je za vršenje veterinarskih poslova upravne prirode iz nadležnosti upravnog organa Narodnog odbora općine pojedine veterinarne iz reda službenika svoje ili, ako još nema, teritorijalno najbliže veterinarske stanice, ishodivši prethodnu suglasnost nadležnog organa općine i te veterinarske stanice. Ovlašteni veterinari su vršili poslove u ime nadležnog Upravnog odbora općine u okviru veterinarske stanice. Oni su putem veterinarskih stanica izvještavali sve zainteresirane organe o pojavi i prestanku stočnih zaraza, vodili su evidenciju na mjestu rada i propisane izvještaje o tome i to dostavljali veterinarskoj stanici. Nacrte naredbe o mjerama pripremali su ovlašteni veterinari i predlagali ogovarajućem Savjetu Narodnog odbora općine bez posredovanja stanice, a sami su donosili u ime odgovarajućeg Upravnog odbora općine rješenje koje se odnosilo na mjeru koje pojedine pravne i fizičke osobe trebaju poduzeti u slučaju sprječavanja i suzbijanja zaraza. Osnovni Zakon o zdravstvenom nadzoru nad živežnim namirnicama (Anonymus, 1956.) nalagao je da se u svrhu zdrave prehrane i zdravstvene zaštite stanovništva, vrši nadzor nad proizvodnjom i prometom živežnih namirnica. Za zdravstveni nadzor nad proizvodnjom i prometom

živežnih namirnica životinjskog podrijetla provodili su i za njega bili odgovorni nadležni organi sanitарne inspekциje i organi veterinarske inspekciјe. Organi sanitарne inspekciјe obavljali su pregledе propisane kakvoće namirnica, higijenske ispravnosti namirnica i sirovina za proizvodnju namirnica, u pogledu izvršenja osnovnih odredbi Zakona, a organi veterinarske inspekciјe vršili su pregled kakvoće i higijenske ispravnosti namirnica. Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza (Anonymus, 1967.) propisivao je da poslove veterinarske inspekciјe vrše organi općinske uprave nadležne za poslove veterinarstva, osim poslova, koji su prema odredbama vršile druge društveno političke zajednice nadležne za poslove veterinarske inspekciјe i veterinarske stanice. U obavljanju veterinarske inspekciјe, veterinarska stanica bila je ovlaštena vršiti zdravstveni pregled:

- „stoke za klanje i pregled mesa, stočnih proizvoda, sirovina i otpadaka na mjestu proizvodnje i uskladištenja, na tržnicama i trgovima;
- pošiljaka stoke, stočnih proizvoda i sirovina u prometu i izdavanja uvjerenja o zdravstvenom stanju;
- muških priplodnih grla koja se koriste za u.o. i za prirodni pripust;
- stoke na stočnim sajmovima i izložbama;
- registrirati pojave i kretanja stočnih zaraza i o tome obavijestiti općinski i republički organ nadležan za poslove veterinarstva;
- uzimati uzorke stočne hrane, dijagnostičkog materijala i sredstava za zaštitu stoke i dostavljati ih određenoj ustanovi.“

Republički organ uprave nadležan za veterinarstvo vršio je:

- „kontrolu valjanosti sredstava za zaštitu stoke u prometu i mogao je zabraniti uporabu i promet one količine sredstava za zaštitu za koju

ustanovi da ne odgovara propisanim uvjetima;

- obavljao je vet. inspekciјu u odnosu na veterinarske zavode, institute, centre, kafilerije i dr.;
- organizirao je i rukovodio zdravstvenom kontrolom stoke, stočnih proizvoda i sirovina i dr.;
- pratilo kretanje stoke, zaraznih i parazitarnih bolesti stoke.“

Poslove veterinarske inspekciјe obavljali su i veterinarski inspektorji koji su morali imati završen veterinarski fakultet, položen stručni ispit i potrebno radno iskustvo na poslovima u oblasti veterinarstva. Zakon o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju cijelu zemlju (Anonymus, 1976.) propisivao je da veterinarsko-sanitarne inspekcijske pregledе i kontrolu životinja, životinjskih proizvoda, životinjskih sirovina i životinjskih otpadaka koji su se obvezno vršili, osim graničnih veterinarsko-sanitarnih pregledа i kontrole vrše nadležni organi u Republici, odnosno autonomnoj pokrajini. Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti (Anonymus, 1979.) propisivao je da poslove veterinarske inspekciјe obavljaju veterinarski inspektorji, a to su diplomirani veterinari koji su morali položiti stručni ispit za veterinarskog inspektora. Veterinarsko sanitарne pregledе i veterinarsko inspekcijske pregledе životinja i životinjskih sirovina, proizvoda i otpadaka i druge veterinarsko sanitарne pregledе obavljali su ovlašteni radnici veterinarskih stanica (ovlašteni veterinarski inspektorji). Veterinarsko sanitарne pregledе životinja, sirovina, životinjskih proizvoda i otpadaka te druge veterinarsko sanitарne pregledе veterinarskih stanica obavljali su općinski veterinarski inspektorji. Općinski organi veterinarske inspekciјe provodili su veterinarsko sanitarni nadzor nad objektima za neškodljivo uklanjanje, kontrolu životinja na sajmovima i dr., kontrolu vode za napajanje, hrane

za životinje, vet. sanitarnu kontrolu nad organizacijama koje se bave otkupom i prometom sirovih koža, i dr. poslove. Općinska skupština mogla je veterinarskoj stanici povjeriti obavljanje pojedinih poslova iz nadležnosti općinskog organa veterinarske inspekcije. Organ veterinarske inspekcije zajednice općina organizirao je i usklađivao provođenje veterinarsko sanitarnih mjera kad se pojavi ili posumnja na postojanje zarazne bolesti, nadzirao je ispravnost sredstava za prijevoz životinja, obavljao je nadzor nad radom veterinarskih organizacija. Republički organ uprave nadležan za poslove veterinarske inspekcije obavljao je veterinarsko stručni nadzor nad radom veterinarskih organizacija, organizirao je i usklađivao veterinarsko sanitарne mjere te zahtijevao da se veterinarski propisi provedu u život. Zakon o veterinarstvu (Anonymus, 1997.) pod inspekциjom životinja i životinjskih proizvoda podrazumijevaо je veterinarsko zdravstveni pregled, kontrolu i nadzor koji se provodi nad životinjama, životinjskim proizvodima, životinjskim sjemenom i oplođenim jajnim stanicama, objektima, opremom i sredstvima radi zaštite zdravila ljudi i životinja, veterinarske zaštite dobrobiti životinja, odnosno radi utvrđivanja zdravstvenog statusa životinja i zdravstvene ispravnosti životinjskih proizvoda, koji mogu biti prenosioci bolesti ljudi i životinja ili na drugi način ugroziti njihovo zdravlje. Inspekcija se odnosi i na sredstva i uvjete prijevoza, utvrđivanje identiteta i mjesta podrijetla životinja, uzimanje službenih uzoraka za laboratorijske pretrage. Inspeksijski nadzor prema ovom Zakonu obavljaju državni veterinarski inspektorji (drugi stupanj) i granični veterinarski inspektorji (prvi stupanj) te veterinarski inspektorji u područnim jedinicama Ministarstva-Veterinarskim uredima županija, odnosno Grada Zagreba (županijski-gradski-prvi stupanj). Postojao je ovlašteni veterinar koji je obavljao poslove državne uprave

koji su preneseni na veterinarsku organizaciju, osim potreba veterinarske organizacije u kojoj radi. Zakon o veterinarstvu (Anonymus, 2007.a) nalaže da inspeksijski nadzor o provedbi ovog Zakona provode veterinarski inspektorji (državni i granični veterinarski inspektor), službeni veterinar i drugi državni službenici koje ovlasti ministar. Novi pojam je službeni veterinar koji nadziru ovlaštene veterinarne, provode veterinarske preglede i službeni veterinarski nadzor te izdaju certifikate i druge javne isprave. Ovlašteni veterinar obavlja poslove državne uprave koji su preneseni na veterinarsku organizaciju, osim potreba veterinarske organizacije u kojoj radi. Ovlašteni veterinar obavlja poslove državne uprave koji su preneseni na veterinarsku organizaciju, osim potreba veterinarske organizacije u kojoj radi. Uvodi se certificiranje u kojem se provjerava jesu li obavljeni propisani pregledi, odnosno pretrage i ispunjavaju li pošiljke životinja, odnosno proizvodi propisane uvjete. Novo su i kontrolna tijela, jer Uprava može povjeriti pojedine poslove službenih kontrola hrane životinjskog podrijetla veterinarskim organizacijama kao kontrolnim tijelima. Službena kontrola provodi se u svim fazama proizvodnje, prerade, skladištenja i distribucije hrane životinjskog podrijetla, na životinjama i proizvodima. Ova kontrola obuhvaća kontrole korisnika u poslovanju s hranom životinjskog podrijetla, uporabu hrane životinjskog podrijetla, skladišta hrane životinjskog podrijetla, svih procesa, materijala, tvari, aktivnosti ili postupaka, uključujući i prijevoz koji se odnosi na hranu. Službene kontrole/inspeksijski nadzori provode se bez prethodne najave, osim kad se provode revizije kad je potrebno prethodno obavijestiti korisnike u poslovanju s hranom. Pravilnik o službenim kontrolama (Anonymus, 2007.b, Anonymus, 2010., Anonymus, 2012.) poslove službenog veterinara dijeli na: zadatke u poslovima revizije,

te inspekcijske zadatke (podaci o lancu prehrane, *ante mortem* pregled, dobrobit životinja, *post mortem* pregled, specifični rizični materijal i ostali nusproizvodi životinjskog podrijetla te laboratorijsko ispitivanje). Ovaj Pravilnik uz službenog veterinara uvodi u obavljanje pojedinih pomoćnih inspekcijskih poslova službenog pomoćnika koji pomaže službenim veterinarima. Ako se ti poslovi odnose na reviziju službeni pomoćnici mogu jedino prikupljati podatke o dobroj higijenskoj praksi i postupcima koji se temelje na sustavu HACCP-a, a ako su u pitanju poslovi vezani za *ante mortem* pregled i dobrobit životinja, službeni pomoćnici mogu obaviti jedino početnu provjeru životinja i pomagati u obavljanju isključivo praktičnih poslova, a kada je u pitanju *post mortem* pregled službeni veterinar mora redovito provjeravati rad službenih pomoćnika, a ako se radi o prisilno zaklanim životnjama izvan klaonice, osobno mora obaviti taj pregled.

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

Sažetak

Radoslav Krištof bio je prvi samostalni nadzornik veterinarske službe kojeg je imenovalo 27 kotarskih veterinara na području Hrvatske i Slavonije, a Zakon kojeg on izradio 1888. g. vrijedio je sve do 1926. g. Od samih početaka ozbiljnijeg veterinarskog djelovanja vidljivo je da se inspekcijskim poslovima, a posebno sprječavanju pojave i širenja neke zarazne bolesti pridavalo najvažnije značenje. Od 1888. g. postoje općinski, kotarski, županijski veterinari koji obavljaju pojedine inspekcijske poslove. Veterinarska služba, koja je potpadala pod Odjel za unutarnje poslove Kraljevske Zemaljske vlade obavljala je veterinarski nadzor. Nakon 1914. g. izdvajaju se poslovi veterinarstva iz Odjela za unutarnje poslove i stavljuju u Odjel za narodno gospodarstvo. Od 1928. g. pregled stoke za klanje, mesa kao i svih životnih namirnica animalnog podrijetla vršio je veterinar, a gdje nije bilo veterinarata taj posao obavljao je za to naročito oposobljeni pregledavač. Od 1954. g. veterinarsku

inspekciju vrše inspektori koji su službenici odgovarajućih organa državne uprave nadležnih za poslove veterinarstva (narodni odbori kotara/gradova, autonomnih jedinica, republičkih i saveznih organa). Veterinarsku inspekciju obavljali su kotarski (gradski), republički i državni veterinarski inspektori. Također, obavljanje veterinarske inspekcije moglo je biti dodijeljeno honorarnim inspektorima iz reda osoba koje raspolažu propisanom stručnom spremom i koje su zaposlene u nekoj veterinarskoj ustanovi dok se vršenje pojedinih inspekcijskih poslova moglo povjeriti i pojedinim veterinarima. Graničnu veterinarsku inspekciju obavljali su inspektori Savezne uprave za poslove veterinarstva. Po Uputstvu o provođenju poslova veterinarske inspekcije iz 1956. g. Narodni odbor općine ovlaštavao je za vršenje veterinarskih poslova upravne prirode pojedine veterinarne iz reda službenika svoje ili, ako još nema, teritorijalno najbliže veterinarske stanice, ishodivši prethodnu suglasnost nadležnog organa općine i te veterinarske stanice. Ovlašteni veterinari su putem veterinarskih stanica izvještavali sve zainteresirane organe o pojavi i prestanku stočnih zaraza, vodili su evidenciju na mjestu rada i propisane izvještaje o tome, i to dostavljali veterinarskoj stanici. Nacrte Naredbe o mjerama pripremali su ovlašteni veterinari i predlagali ogovarajućem savjetu Narodnog odbora općine bez posredovanja stanice, a sami su donosili u ime odgovarajućeg Upravnog odbora općine rješenje koje se odnosilo na mjere i na pojedine pravne i fizičke osobe u slučaju sprječavanja i suzbijanja zaraza. Od 1967. g. poslove veterinarske inspekcije vrše organi Općinske uprave nadležne za poslove veterinarstva, osim poslova, koji su prema odredbama vršile druge društveno političke zajednice nadležne za poslove veterinarske inspekcije i veterinarske stanice. U obavljanju veterinarske inspekcije, veterinarska stanica bila je ovlaštena vršiti zdravstveni pregled. Poslove veterinarske inspekcije obavljali su i veterinarski inspektori koji su morali imati završen veterinarski fakultet, položen stručni ispit te imati radno iskustvo na poslovima u oblasti veterinarstva. Od 1979. g. poslove veterinarske inspekcije obavljaju veterinarski inspektori, a to su diplomirani veterinari koji su morali položiti stručni ispit za veterinarskog inspektora. Veterinarsko sanitarnе preglede i veterinarsko inspekcijske preglede životinja i životinjskih sirovina, proizvoda i otpadaka i druge veterinarsko sanitarnе preglede obavljali su ovlašteni radnici veterinarskih stanica (ovlašteni veterinarski inspektori).

Republički organ uprave nadležan za poslove veterinarske inspekcije obavljao je veterinarsko stručni nadzor nad radom veterinarskih organizacija, organizirao je i usklađivao veterinarsko sanitarnе mјere te zahtijevao da se veterinarski propisi provedu u život. Od 1997. g. inspekcijski nadzor obavljaju državni veterinarski inspektorji (drugi stupanj) i granični veterinarski inspektorji (prvi stupanj) te veterinarski inspektorji u područnim jedinicama Ministarstva-Veterinarskim uredima županija, odnosno Grada Zagreba (županijski-gradski-prvi stupanj). Postojao je ovlašteni veterinar koji je obavljao poslove državne uprave koji su preneseni na veterinarsku organizaciju. Od 2007. g. inspekcijski nadzor provode veterinarski inspektorji (državni i granični veterinarski inspektor), službeni veterinar i drugi državni službenici koje ovlasti ministar. Novost je postojanje službenog veterinara koji nadzire ovlaštene veterinarne, provodi veterinarske pregledne i službeni veterinarski nadzor te izdaje certifikate i druge javne isprave. Ovlašteni veterinar obavlja poslove kako je propisano u prijašnjem Zakonu. Uvodi se certificiranje u kojemu se provjerava jesu li obavljeni propisani pregledi, odnosno pretrage i ispunjavaju li pošiljke životinja, odnosno proizvodi propisane uvjete. Novo su i kontrolna tijela jer Uprava može povjeriti pojedine poslove službenih kontrola hrane životinjskog podrijetla veterinarskim organizacijama kao kontrolnim tijelima. Službena kontrola provodi se u svim fazama proizvodnje, prerade, skladištenja i distribucije hrane životinjskog podrijetla, na životinjama i proizvodima.

Literatura

1. Anon. (1879): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Žemaljske vlade kojom je izdan naputak za podžupanijske i gradske veterinarne od 28. travnja 1879., broj 8658.
2. Anon. (1888): Zakona o uređenju veterinarstva u Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji od 27. kolovoza 1888. Tiskarski zavod "Narodnih novina" Zagreb.
3. Anon. (1900): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Žemaljske vlade kojom je izdan naputak o obavljanju službe marvogojskih nadzornika od 8. srpnja 1900., broj 47900.
4. Anon. (1928): Zakon o suzbijanju i ugušivanju stočnih zaraza. Službeni list, broj 144/1928.
5. Anon. (1954): Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza. Službeni list FNRJ, broj 26/1954.
6. Anon. (1955): Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza. Službeni list FNRJ, broj 36/1955.
7. Anon. (1956): Zakon o zdravstvenom nadzoru nad živežnim namirnicama. Službeni list FNRJ, broj 17/1956.
8. Anon. (1967): Zakon o zaštiti stoke od stočnih zaraza. Narodne novine, broj 15/1967.
9. Anon. (1976): Zakon o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju cijelu zemlju. Narodne novine, broj 43/1976.
10. Anon. (1979): Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti. Narodne novine, broj 11/1979.
11. Anon. (1997): Zakon o veterinarstvu. Narodne novine, broj 70/1997.
12. Anon. (2007a): Zakon o veterinarstvu. Narodne novine, broj 41/2007.
13. Anon. (2007b): Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla. Narodne novine, broj 99/2007.
14. Anon. (2010): Pravilnik o izmjeni Pravilnika o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla. Narodne novine, broj 028/2010.
15. Anon. (2012): Pravilnik o izmjenama Pravilnika o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla. Narodne novine, broj 051/2012.
16. VUČEVAC-BAJT, V. (2012): Povijest veterinarstva. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

The Organisation of Veterinary Inspection in Croatia Throughout History

Petar DŽAJA, DVM, PhD, Full Professor, Krešimir SEVERIN, DVM, PhD, Assistant Professor, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Damir AGIĆIĆ, DVM, Veterinary Office Slavonski Brod; Miroslav KAJGANIĆ, DVM, Agro-vet, Križevci

Radoslav Krištof was the first independent supervisor of Veterinary Service who appointed 27 district veterinarians in the territory of Croatia and Slavonia and who drafted the Act that was in force from 1888 to 1926. From the outset of organised veterinary activities, it is evident that of the inspection tasks, precedence was given to the prevention of the occurrence and spread of infectious

diseases. Since 1888, municipal, district and county veterinarians have performed certain inspection tasks. Veterinary Services, which were under the Department for Internal Affairs of the Royal Government, performed veterinary supervision. After 1914, veterinary activities were shifted from the Department for Internal Affairs to the Department of National Economy. From 1928, the inspection

of livestock for slaughter, meat and all products of animal origin were conducted by a veterinarian or by a qualified person where a veterinarian was not available. Since 1954, veterinary inspections have been carried out by inspectors who are employees of state administration bodies competent for veterinary activities (district or city public boards, autonomous units, republic and federal authorities). Veterinary inspections were carried out by district (city), republic and state veterinary inspectors. Also, veterinary inspections could be assigned to part-time inspectors who possess specified qualifications and who were employed in a veterinary organization, while the performance of certain inspection tasks could be entrusted to veterinarians. A border veterinary inspection was carried out by inspectors of the State Administration for veterinary activities. According to the Directive of the implementation of veterinary inspection activities from the 1956 of the Municipality National Committee, veterinarians from the competent veterinary station or, if there was none, then the territorially nearest station were authorized to perform veterinary administrative tasks with the prior approval of the competent authorities of the municipality and the veterinary station. Approved veterinarians reported through the veterinary stations to all interested about the appearance and cessation of livestock diseases, keep records at the workplace, drafted reports and delivered these to the veterinary station. The draft order on measures was prepared by the approved veterinarians and proposed to the relevant National Committee Council of the municipality without the mediation of veterinary station. The approved veterinarians, on behalf of the appropriate municipal board, were authorised to pass the decisions on measures and the particular legal and natural persons in the control and eradication of animal diseases. From 1967, veterinary inspection activities were carried out by competent authorities of the municipal administration for veterinary activities, except those that were carried out under the provisions of other social and political communities responsible for veterinary inspections and veterinary stations. In conducting veterinary inspections, the veterinary station was authorised to carry out health examinations.

The veterinary inspection activities were performed by veterinary inspectors holding a university degree in veterinary medicine, passed the state examination and with work experience in the field of veterinary medicine. From 1979, veterinary inspection activities were performed by veterinary inspectors who were graduate veterinarians who had passed the state occupational examination for the occupation of an official veterinarian. Sanitary veterinary examinations and veterinary examination of animals, products of animal origin and animal waste were performed by authorized employees of veterinary stations (authorized veterinary inspectors). The Republic administrative body responsible for veterinary inspections conducted professional supervision of veterinary organizations, organized and coordinated veterinary sanitary measures, and ensured the proper enforcement of veterinary regulations. From 1997, inspection control was performed by state veterinary inspectors (second degree), border veterinary inspectors (first degree) and veterinary inspectors in the regional offices of the Ministry-County Veterinary Office or the City of Zagreb (county/city first degree). An authorised veterinarian performed the duties of state administration, which were then transferred to the veterinary organization. As of 2007, inspection controls have been performed by veterinary inspectors (civil and border veterinary inspector), official veterinarians and other government officials authorized by the Minister. The novelty is the existence of an official veterinarian who supervises authorized veterinarians; conducts veterinary checks and official veterinary supervision; issues certificates and other public documents. The authorized veterinarian performs activities as provided under the previous Veterinary Act. The certification procedure was introduced, which verified whether the stipulated checks or tests were carried out and whether consignments of animals or products met the stipulated conditions. The control bodies to which the Directorate may delegate specific tasks of official control of food of animal origin to the veterinary organisation are another novelty. Official controls are conducted in all phases of production, including processing, storage and distribution of foods of animal origin, on both animals and products.

13. srednjeeuropski kongres bujatričara

**Prva obavijest i poziv za pisanje radova
Hotel M (Best Western), Beograd 5.-8. lipnja 2013.**

Čast nam je pozvati Vas da nam se pridružite na 13. srednjeeuropskom kongresu bujatričara koji će se održati u Best Western Hotelu M u Beogradu u vremenu od 5.-8. lipnja 2013. godine. Cilj je Kongresa okupiti veterinare i poljoprivredne stručnjake i upoznati ih s najnovijim znanstvenim postignućima i praktičnim profesionalnim iskustvima u području reprodukcije, hranidbe, zdravstvene zaštite i dobrobiti preživača. Željeli bismo pružiti priliku svim stručnjacima uključenim u istraživanje i razvoj bujatričarstva da se bolje upoznaju jedni s drugima i ostvare suradnju tijekom kao i nakon kongresa. Težimo tome da podstaknemo plodonosne rasprave, omogućimo uspostavljanje profesionalnih i osobnih kontakata i postavimo temelje za buduću suradnju, u nadi da čemo u svemu tome i uspjeti.

Organizator Kongresa u Beogradu je Udruženje bujatričara Srbije koje je osnovala grupa profesora s Fakulteta Veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu. Neki od najvažnijih ciljeva Udruženja su: razvoj i širenje rezultata znanstvenih i stručnih studija, praćenje suvremenih postignuća u znanosti i tehnologiji, organiziranje sastanaka, s ciljem uvođenja novih i proširenjem starih spoznaja, uspostavljanje i unaprjeđenje dobre i kvalitetne suradnje između domaćih i međunarodnih udruženja, kao i mnogobrojna druga pitanja vezana za vrste preživača.

Nacionalni organizacijski odbor čine: Predsjednik: Dragan Gvozdić, organizacijska tajnica: Natalija Fratrić, tehnički tajnik: Branko Petrujić, članovi, Vlado Teodorović, Vera Katić, Sanja Kovačević-Aleksić, Milica Kovačević-Filipović, Sonja Radojičić, Slobodanka Vakanjac, Hore Šamanc, Miodrag Lazarević, Ivan Jovanović, Branislav Prokić, Dragan Damnjanović, Dragan Šefer.

Međunarodni znanstveni odbor čine: Prof. dr. W. Baumgartner, prof. dr. O. Szenci, dr. Ožbalt Podpečan, dr. Borut Zemljjič, prof. dr. J. Kos, doc. dr. Nikica Prvanović Babić, prof. dr. K. Doll, prof. dr. G. Kováč, doc. dr. J. Illek, prof. dr. J. Twardoń, prof. dr. Natalija Fratrić.

Tehnički organizator skupa: BBN Congress Management d.o.o.

Službeni jezik

Službeni jezik Kongresa je engleski. Svi sažetci radova i radovi *in extenso* dostavljaju se obvezno na engleskom jeziku. Sažetci, izbornno mogu biti dostavljeni i na srpskom jeziku, pored engleskog.

Dostavljanje sažetaka i radova: rok za dostavu sažetaka je 31. prosinac 2012. Obavijest o prihvaćanju sažetka: 1. veljače 2013. Rok za dostavljanje cijelog rada: 1. ožujak 2013. Obavještenje o prihvaćanju radova: 1. travanj 2013.

Rok za uplatu kotizacije za autore radova je 15. travanj 2013.

Tematske cjeline: 1. Reprodukcija, 2. Parazitologija, 3. Zarazne bolesti - Bakteriologija i virusologija, 4. Hranidba i bolesti metabolizma, 5. Interna medicina, 6. Kirurgija i hromost, 7. Bolesti novorođenčadi, 8. Epidemiologija i ekonomika zdravlja životinja, 9. Zdravlje vimen, 10. Imunologija, 11. Zdravlje stada i upravljanje rizicima kvaliteta, 12. Dobrobit goveda i stoke, 13. Slikovna dijagnostika, 14. E-learning / trajna izobrazba, 15. Mali preživači, 16. Javno zdravstvo / sigurnost hrane, 17. Farmakologija, 18. Organska proizvodnja i zaštita životne sredine.

Upute za pisanje

Svi sažetci moraju biti dostavljeni u sljedećem formatu: - Dužina - do 500 riječi (1 strana A4), uključujući naslov rada, informacije o autorima i ključne riječi (3-7). Font - Times New Roman - 12, VELIKIM SLOVIMA, za naslov i 10 za ostatak teksta, imena autora - bold, adrese autora - italic, izlagač podvučen. Paragrafi - full justify, jedna kolona, single space između redova, dvostruki prored između pasusa, naslov i autori centrirani.

Sažetke treba dostaviti na bbn@bbn.co.rs

Kontakt osoba: Marija Marković, marija.markovic.bbn@gmail.com, +381 (0) 113629402. Svi sažetci bit će recenzirani i obavijest o prihvaćanju biti će poslana podvučenom autoru (izlagaču) putem e-maila.

Hotelski smeštaj

Za učesnike Kongresa osiguran je smeštaj u hotelu Best Western Hotel M. Rezervaciju i uplatu smještaja potrebno je izvršiti direktno hotelu. Kontakt podatci: Best Western Hotel M, Bulevar Oslobođenja 56a, 11000 Beograd.

Tel: +381 (0) 11 3090505, 3095505

Fax: +381 (0) 11 3095506

E-mail: salesbwhotelm@eunet.rs
Cijene soba: jednokrevetna soba75 €
dvokrevetna soba90 €.

Preporuke za smještaj u blizini hotela Best Western M

Hotel Crystal****, www.crystalhotel-belgrade.rs, Hotel Slavija**, www.slavijahotel.com, Ostale preporuke: www.chilltonhostel.com, sanmarashostel.com, www.vilamarija.rs, www.sun.hostel.com.

Kotizacija

Kotizacija je obvezna za sve učesnike kongresa.

Tip	do 15. 4. 2013.	do 15. 5. 2013.	od 15.5. 2013.
Učesnici	200 €*	220 €*	250 €*
Prateća osoba	110 €*	130 €*	150 €*
Student	110 €*	130 €*	150 €*

* U cijene je uključen PDV od 20%.

Važno!

Autori radova su obvezi uplatiti kotizaciju do 15. travnja 2013. godine. Uplata kotizacije jedan je od preduvjeta da bi rad bio uključen u program Kongresa kao i objavljen u Zborniku radova Kongresa. Za autore radova koji su prihvaćeni, a kotizacija nije uplaćena do spomenutog roka smatraće se da su odustali.

Za sve dodatne informacije kontaktirajte:
BBN Congress Management d.o.o.
Deligradska 9/VI, 11000 Belgrade, Serbia,
Tel: +381 (0) 11 3629405, 3629402, 2682318
Fax: +381 (0) 11 3629406
E-mail: bbn@bbn.co.rswww.bbn.co.rs
www.XIIIMEBC-belgrade.co.rs.

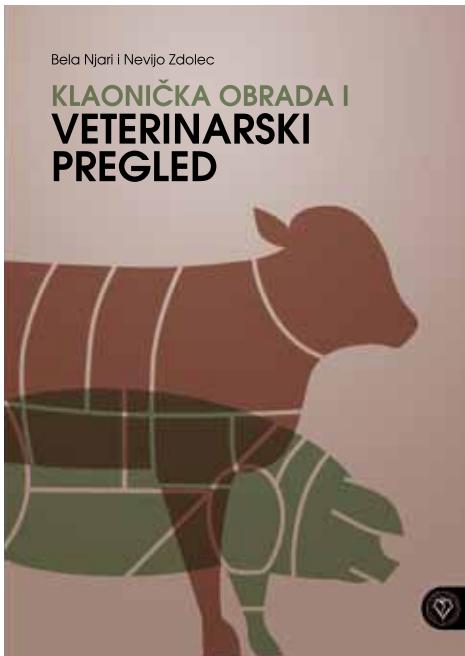
KLAONIČKA OBRADA I VETERINARSKI PREGLED

Bela Njari i Nevijo Zdolec

ISBN: 978-953-6062-88-1

Nakladnik: Veterinarski fakultet, 2012.

Cijena knjige: 300 kn



Građa ovog sveučilišnog udžbenika podijeljena je u osam poglavlja. U uvodnom dijelu autori tumače osnovne pojmove iz područja veterinarskog javnog zdravstva te djelokrug rada veterinara koji obavljaju poslove vezane uz higijenu i tehnologiju proizvodnje hrane. Čitatelj ima priliku naučiti razlikovati i pravilno primjenjivati termine „klaonička obrada“ i „klanje.“ U prvom poglavlju opisani su higijensko-tehnološki uvjeti izgradnje i uređenja kaloničkih objekata. Slijedi poglavlje o pregledu životinja prije klaoničke obrade (*ante mortem*) te ono o prisilnom klanju. Dobrobiti životinja u klaoničkom objektu

posvećeno je četvrtog poglavlje. Naredno je poglavlje najopsežnije, donosi detaljan opis klaoničke obrade i pregleda mesa goveda, malih preživača, kopitara, svinja, divljači, peradi, kunića i nojeva. Za svaku su životinjsku vrstu dijagramski prikazane faze rada u klaoničkom objektu. Brojnim fotografijama iz vlastite zbirke autori su nam zorno predložili određene zahvate na životinjama i tehnološke procese snimljene u najmodernijim klaonicama. Detaljne ilustracije i crteži zasjecanja i palpacije limfnim čvorova i drugih organa u svrhu veterinarskog pregleda mesa, iznimno su dragocjeni i edukativni. Razveselit će veterinarne praktičare ali i studente koji uče nastavni predmet Higijena i tehnologija hrane. Posebno će biti od koristi kolegama koji pripremaju stručni ispit, ali i podsetnik ovlaštenim veterinarima koji rade u kontrolnim tijelima. O označavanju trupova nakon *post mortem* pregleda govori se u šestom poglavlju. Obredna, odnosno ritualna klanja, košer i halal, definirana su i objašnjena u zasebnom poglavlju. Posljednje, osmo poglavlje posvećeno je procjeni uporabljivosti mesa i organa za prehranu ljudi. I to poglavlje obiluje fotografijama patološki promijenjenih životinjskih organa te grafičkim prikazima razvojnih ciklusa parazita. Najprije je podastrta zakonska osnova propisanih radnji a zatim tehnika *post mortem* pregleda i prosuđivanje važnih zoonoza. Na kraju knjige nalazi se popis korištene literature i prilozi s raznim obrascima, papirnatim oznakama, izvješćima i evidencijama koje se rutinski rabe u klaoničkim objektima. Ukratko, vrijednost ove knjige je u njenoj posve praktičnaj orijentaciji.

Knjigu možete naručiti putem telefona 01 3779 444 ili kupiti online, u web knjižari Medicinske naklade.

Vlasta HERAK-PERKOVIĆ

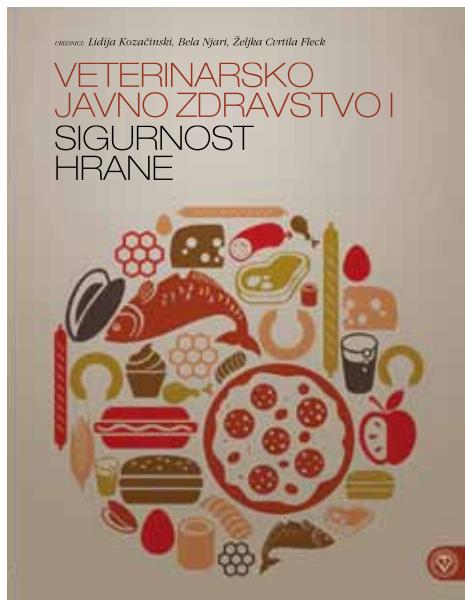
VETERINARSKO JAVNO ZDRAVSTVO I SIGURNOST HRANE

Urednici: Lidija Kozačinski, Bela Njari, Željka Cvrtila Fleck

ISBN: 978-953-6062-89-8

Nakladnik: Veterinarski fakultet, 2012.

Cijena knjige: 180 kn



Četrnaest autora, nastavnika Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, napisalo je ovaj moderan sveučilišni priručnik namijenjen studentima. Članovi autorskog tima su (abecednim redoslijedom): prof. dr. sc. Željka Cvrtila Fleck, dr. sc. Ivana Filipović, prof. dr. sc. Lidija Kozačinski, prof. dr. sc. Branimir Mioković, prof. dr.

sc. Bela Njari, prof. dr. sc. Željko Pavičić, Marko Poletto, dr. med. vet., prof. dr. sc. Jelena Pompe-Gotal, prof. dr. sc. Andrea Prevendar Crnić, prof. dr. sc. Emil Srebočan, prof. dr. sc. Dagny Stojčević, prof. dr. sc. Alenka Tofant, prof. dr. sc. Marija Vučemilo i dr. sc. Nevijo Zdolec.

Priručnik sadržava tri cjeline. Prvu cjelinu čine izabrana poglavlja iz područja veterinarskog javnog zdravstva: higijena i tehnologija hrane, animalna higijena, okoliš i etologija, parazitologija te farmakologija i toksikologija. U drugoj cjelini čitateljima je objašnjeno veterinarsko zakonodavstvo i sustav nadzora sigurnosti hrane. Treći dio knjige posvećen je kontroli kakvoće i higijeni ispravnosti hrane.

Čitatelj se informira o suvremenoj koncepciji veterinarskog nadzora u proizvodnji i prometu hrane te menadžmentu kakvoće i sigurnosti hrane. Uči o onečišćivačima u prehrambenom lancu, proizvodnji hrane na OPG-ima, važnim parazitima i štetnim reziduama u tkivu. Organizacija veterinarske inspekcije i zakonodavni okvir veterinarskog nadzora sastavnica su ove knjige. Objasnjeni su ovlaštenja, dužnosti i odgovornosti u inspekciji hrane. Posebna je pozornost posvećena kontroli kakvoće hrane.

Pomoću 27 tabela i jednako toliko shematskih prikaza, dijagrama i stabala odluke, postignuta je preglednost građe i lakše svladavanje gradiva.

Knjigu možete naručiti putem telefona 01 3779 444 ili kupiti *online*, u web knjižari Medicinske naklade.

Vlasta HERAK-PERKOVIĆ

Predatorovo djelo



Alojzije Frković

Iako je veterinara na ovoj slici malo, prizor je dojmljiv. Fotografiju sam snimio u kasnu jesen 1986. godine u predjelu Polane, ponad Delnice, kad je tijekom noći čopor vukova usmratio (neke samo

priklao) preko dvadeset ovaca. Veterinar prof. dr. sc. Đuro Huber protumačio je taj masakr kao „višak ubijanja“ u ovog predatora, koljući više nego što mu je potrebno za održavanje.



Uz trojicu oštećenika, prva dva s lijeve strane i posljednji u nizu, čija su mi imena nepoznata na fotografiji je Viktor Bolkovac, dr. med. vet., ispred Veterinarske stanice Delnice (treći slijeva) i Josip Briški, san. inspektor općine Delnice (četvrti slijeva) s kojima sam činio stalnu komisiju za procjenu šteta od grabežljive zvjeradi.

Pozivaju se svi čitatelji „Veterinarske stanice“ da pošalju fotografiju (poštom, e-mailom ili po dogovoru, glavnom uredniku - kontakt: 091/2390-157; smarko@gef.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.

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 uskladenosti mikrobiološke ispravnosti hrane životinskog podrijetla sa zakonskim propisima, te nadzor nad uzročnicima bolesti koje se prenose hranom u svrhu zaštite zdravlja ljudi.

S ciljem usklajivanja 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 ostanaka zabranjenih tvari, veterinarskih lijekova i kontaminanata u hrani životinskog podrijetla te hrani za životinje. U svome radu primjenjuje orientacijske analize te potvrđne metode atomske apsorpcijske spektrometrije, tekućinske i plinske kromatografije s masenom detekcijom. U 2010. g. Laboratorij je proglašen Nacionalnim referalnim laboratorijom (NRL) za rezidue.

Laboratorij provodi ukupno 51 metodu te određuje: zabranjene supstance (kloramfenikol, metabolite nitrofurana, dapson); veterinarske lijekove, kokcidiozatike, 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 leukomalahitno zelenilo) te vrstu mesa.

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

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

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

Hematoške 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 životinskog 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).

- 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 osvrt na znanstvene i stručne skupove i sl.
 - 5) Objavljivat ćemo referate od posebna interesa za neposrednu praksu, zatim prikaze knjiga i drugih publikacija.
 - 6) Tekstovi originalnih i stručnih rasprava te onih iz povijesti veterinarstva i prikazi obljetnica mogu imati pet do deset kartica (pisanih u MS Wordu, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvativat će se i veći broj kartica. Mišljenja, prijedlozi i sučeljavanja dvije do pet kartica. Literarni zapisi četiri do deset kartica.
 - 7) Tekstove je potrebno pisati u MS Wordu, font 12, srednji prored (1,5) ili na pisaćem stroju, srednje veliki prored. Svaki novi stavak mora početi s uvučenim retkom.
 - 8) Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:
 - a) ako je jedan autor: Nicolet (1975.).
 - b) ako su dva autora: Adamović i Jurak (1938.).
 - c) ako su tri ili više autora: Lojkic i sur. (1978.); (Vince i sur., 2009.).
 - 9) Sve što se obrađuje mora imati oblik primjereno obradi materije u znanosti i struci. Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj prilog ili ga može odbiti.
 - 10) Svaka rasprava mora imati kratak sažetak.
 - 11) Išticiemo napose da svi grafikoni moraju biti izrađeni u Microsoft okružju na računalu, a fotografije (obične i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.
 - 12) Rukopisi se ne vraćaju.
 - 13) Oglasavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu „Veterinarska stanica“ mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.).
U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.
 - 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959):

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

Predaja rukopisa:

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

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

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

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.