

Znanje ili imenovanje? Što je vrijednije?

Petar Džaja*



Na 22. redovitoj sjednici Fakultetskoga vijeća Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koja je održana 23. rujna 2015. godine moja se rasprava odnosila na označavanje životinja za koje sam davno predlagao da to rade samo veterinarske organizacije, a u njima doktori veterinarske medicine i veterinarski tehničari, jer je to tehničko-medicinski veterinarski zahvat. Nažalost, na ovaj prijedlog nije bilo reakcije te stoga ne mogu, a da se ponovno ne javim istim povodom.

Razlog tome nije samo moja upornost nego i promjene u načinu označavanja životinja. Donekle je razumljivo kad se označavanje provodilo stiskanjem klijesta, da su taj stisak osim veterinara mogle napraviti i druge osobe, ali danas kad se označavanje životinja obavlja sondiranjem, „ubacivanjem“ transpondera u predželuze ili transpondera pod kožu. Mora se reći da je to veterinarsko-medicinski zahvat koji trebaju obavljati samo veterinari, ili veterinarski tehničari.

Svima nam je poznato da je označavanje životinja preduvjet za uspješno provođenje naređenih mjera i drugih poslova vezanih za životinje i da je to regulirano s nekoliko zakonskih akata.

Zakonski akti koji reguliraju označavanje životinja

U Zakonu o veterinarstvu (NN 82/13) propisano je da goveda, ovce koze i

svinje podliježu obveznom označavanju koje provode vlasnici životinja, ovlaštene veterinarske organizacije i veterinarska služba, a uzgojno valjane životinje HPA, uz napomenu da kopitari podliježu obveznom označavanju koje provode ovlaštene uzgojne organizacije, HPA i ovlaštene veterinarske organizacije (čl. 40. st. 1., 2., 3.).

Ovu problematiku zakonski reguliraju i sljedeći podzakonski akti: Pravilnik o provođenju obveznog označavanja i registracije ovaca i koza (NN 111/07), Pravilnik o izmjeni Pravilnika o provođenju obveznog označavanja i registracije ovaca i koza (NN 128/08), Pravilnik o smjernicama i postupku elektronskog označavanja ovaca i koza (NN 148/08), Pravilnik o izmjeni Pravilnika o provođenju obveznog označavanja i registracije ovaca i koza (NN 154/08), Pravilnik o izmjenama Pravilnika o obveznom označavanju i registraciji ovaca i koza (NN 81/11), Pravilnik o smjernicama i postupku elektroničkog označavanja ovaca i koza (NN 036/12) kojim prestaje važiti Pravilnik o elektroničkom označavanju iz 2008. g.

Pravilnik o označavanju ovaca i koza iz 2007. g. propisivao je da označavanje mogu obavljati pravne ili fizičke osobe i to: vlasnici životinja, ovlaštene veterinarske organizacije, veterinarske službe, HPA. Isto je propisano i u Pravilniku o provođenju obveznog

Dr. sc. Petar DŽAJA*, dr. med. vet., redoviti profesor, (dopisni autor, e-mail: dzaja@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

označavanja i registracije goveda (NN 108/13, čl. 5., st. 1.).

Pravilnik o identifikaciji i registraciji kopitara (NN 123/09) navodi da se označavanje sastoji od obveznog označavanja koje obuhvaća implantaciju transpondera i dijagramskog opisa vanjskog izgleda te dodatnog označavanja koje obuhvaća fizičko označavanje vrućim žigom (čl. 18.) te propisuje da označavanje kopitara transponderom obavlja u skladu s uputom nositelja odobrenja za stavljanje u promet veterinarsko-medicinskog proizvoda (čl. 14., st. 2.).

Razmatranje

U gore navedenim zakonskim propisima jasno je da se označavanje dopušta vlasnicima životinja, djelatnicima HPA (nema veterinara) i veterinarima, odnosno uzgojnim organizacijama. Isto tako je vidljivo da se kod pojedinih životinjskih vrsta kao što su ovce i koze označavanje obavlja postavljanjem („ubacivanjem“) transpondera u predželudce, goveda (novi zakonski propisi nagovještavaju transponderom označavanje), a kod kopitara se označavanje provodi kirurškim zahvatom. Da bi se neko sredstvo pa bio to u transponder nekoliko centimetara dug, „ubacio“ u predželudce preživača, nekim se sredstvom mora doći u te predželudce, ili bolje rečeno to se označavanje provodi sondiranjem što je izrazito veterinarski zahvat. Osim predavanja i vježbi iz propedeutike sondiranje je predmet predavanja i sudskog veterinarstva bilo da se govori o stručnoj pogriješci pri neprovođenju sondiranja životinja (kolike konja) ili stručnim pogriješcima pri sondiranju (ulazak u pluća umjesto u probavni sustav, obrnuto i dr.).

Da je to tako, poznato nam je da u RH postoji samo jedan Veterinarski fakultet, jedan kolegij Klinička propedeutika u kojem studenti slušaju 1 sat predavanja o sondiranju i na 10 vježbi (od 17-26) koje traju 2 sata, na kojima se radi

sondiranje različitih domaćih životinja. Ovdje ne trebam napominjati da je isto i kad je u pitanju kirurški zahvat. Smiješno je da se pri donošenju novosti u nekim zakonskim aktima ne ulazi u kurikulum pojedine struke da se vidi za što je neki stručnjak osposobljen, već se uporno nastavlja davati poslove iz okvira veterinarske djelatnosti i onima koji za vrijeme studija nisu ni čuli za propedeutiku i kirurgiju, sudsko veterinarstvo, odnosno nisu nikada vidjeli sondu. Iz ovoga nije teško zaključiti da se ne može očekivati od tih stručnjaka da posao obave po pravilima struke kad oni ne spadaju u tu struku, odnosno oni nisu stručni da bi to obavili. Dobiva se dojam da je najbitnije da se nešto napravi, a kako će se to napraviti i od koga, to nije bitno. Na ovaj način ostavlja se nepovjerenje vlasnika životinja, jer oni nisu kvalificirani prosuđivati što tko zna, njihova je dužnost poštovati zakonske propise i dopustiti označavanje životinja za to ovlaštenim osobama, a stručnjacima koji su za to osposobljeni ne preostaje ništa drugo nego gledati da znanje u nekim slučajevima nije najbitnije i da njihova diploma devalvira i čeka bolja vremena.

Svjedoci smo da ovim poslovima često nastaje šteta koju osim što treba dokazati i odrediti njezinu „veličinu“, za nju treba i odgovarati. Svakako da odgovornost postoji ako je posao obavljen mimo pravila struke. Često mi se u slučajevima probijanja jednjaka, stavljanja bolusa u pluća i sl. na sudu postavlja pitanje je li napravljena stručna pogriješka? U pravilu odgovoram da nije, ako zahvat nije napravio veterinar, jer nestručnjak ne može napraviti stručnu pogriješku! Donekle je razumljivo da u slučaju nastanka štete koju je označavanjem prouzročio vlasnik životinje isti ne može tužiti sebe za nastalu štetu, ali postavljamo pitanje što je s drugim „stručnjacima“ koji nisu stručni za taj posao, a zakonodavac im dopušta da ga obave. Oni bi pri

obavljanju tog posla trebali imati stručnu ili profesionalnu pozornost kao i veterinari, a nemaju je, imaju gospodarsku ili možda domaćinsku pozornost. U takvim slučajevima odgovornosti za nastalu štetu treba prebaciti na državu, jer je vlasnik po zakonskim propisima morao označiti svoje životinje koje su bile do trenutka označavanja zdrave. Onaj tko je naredio naređenu mjeru koja je provedena po zakonskim propisima i po pravilima struke snosi odgovornost za eventualno nastale posljedice takvih radnji. Ako sam rekao da nestručnjak ne može napraviti stručnu pogriješku jasno vam je da se nestručnjacima za neki posao ne bi trebalo zakonski dopustiti da rade zahvate na životinjama za koje nisu osposobljeni.

Ovim štitimo vlasnike životinja jamčeći da će se taj propisani obvezni zahvat obaviti profesionalno, kao i veterinarsku djelatnost, jer je neshvatljivo

da se nekome daje da u ime države nešto radi, a da o tome nikada nisu učili i da to nikada nisu radili.

I na koncu ne mogu ne reći da je više dosta nepoštovanja naše struke te ako ne možemo utjecati na smanjenje broja životinja što ima za posljedicu značajnog smanjenja posla za veterinare, možemo tražiti da se posao oko životinja prepusti veterinarima, jer je uvijek u obavljanju nekog posla važnije znanje nego li imenovanje.

Prijedlog

Zbog svega navedenog, poštujući pravila struke inzistiramo da zahvate označavanja životinja postupkom „ubacivanja transpondera“ pod kožu ili u predželuze može obavljati samo veterinarska organizacija – veterinarska ambulanta, a u njoj doktori veterinarske medicine ili veterinarski tehničari.

Prof. Dr. Marko Samardzija
Editor-in-Chief
Journal "VETERINARSKA STANICA"

Dear Professor Samardzija,

I am very happy to hear that the journal VETERINARSKA STANICA is celebrating its forty-fifth anniversary. I am writing this letter to you to congratulate you and all the members of the Editorial board on this achievement. I am very glad to hear that the journal has reached this widely recognized position. Only the best, highest quality content journals can stand the test of time. This can only be achieved through hard work and talent. The credit for all this primarily goes to your staff, who sometimes worked beyond the expectation of money for the journal. I am really proud of you and the Editorial board as you have the ability to make the impossible possible. I hope the journal performs even better in the future. It has been a pleasure to cooperate with the journal and I wish you continued success in the years ahead. Congratulations to you and all members of Editorial board of the journal once again.

Sincere wishes,

Emilian KUDYBA, DVM, Vicepresident of the Polish Society of Veterinary Sciences,
Division Lomza Ostroleka, Lomza, Poland

Enrotron 100 mg/ml
Otopina za injekciju za
goveda i svinje

ANIMEDICA

Što je Enrotron ?

- Enrotron je injekcijski proizvod čija je aktivna tvar enrofloksacin, veterinarima dobro poznat fluorokinolon, koji se uspješno koristi u veterinarskoj praksi širom svijeta.

Enrotron

Injekcijska otopina enrofloksacina
100 mg/ml

- ✗ Višestruke indikacije
- ✗ Kratka karenca za meso i mlijeko
- ✗ Različite mogućnosti aplikacije (s/c, i/m, i/v)
- ✗ Ekonomičnost

Enrotron 100 mg/ml

Goveda, s/c: meso i iznutrice
12 dana
mlijeko - 4 dana
Goveda, i/v: meso i iznutrice
5 dana
mlijeko - 3 dana
Svinje, i/m: meso i iznutrice
13 dana

Enrotron 100 mg/ml, otopina za injekciju za goveda i svinje.

Sastav: 1 ml sadržava 100 mg djelatne tvari Enrofloksacin i 30 mg pomoćne tvari 1-Butanola.

Indikacije:

Goveda - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereleza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloza) i sekundarne bakterijske infekcije koje uslijede nakon virusnih infekcija (npr. virusna upala pluća), gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora. Liječenje lokalnih znakova (upala, kvaliteta i količina mlijeka) pridruženih perakutnom/ akutnom mastitisu mliječnih krava u laktaciji uzrokovanih S. E. coli, gdje povijest stada i raniji nalazi antibiograma upućuju da je enrofloksacin lijek izbora.

Svinja - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereleza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloza) i multifaktorske bolesti kao što su atrofični rinitis i enzootska pneumonija, gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Doze: Pročitati uputu VMP prije primjene.
Primjena tijekom graviditeta, laktacije ili nesenja: Može se primjenjivati tijekom graviditeta i laktacije.

**PROČITATI UPUTU O VMP
PRIJE PRIMJENE**

**CIJENA
90,00 kn**

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

Bakterijska mikroflora gingive mandibule i sluznice jezika pasa u Makedoniji



Panče Dameski, Dražen Vnuk, Boris Habrun* i Gordan Kompes

Uvod

Bakterijska mikroflora u usnoj šupljini pasa je raznovrsna i spoznaje o vrsti izoliranih bakterija u ustima psa bitne su iz više aspekata. U humanoj stomatologiji postoje brojni radovi koji se bave ovom tematikom i u detalje je opisana bakterijska mikroflora u ljudi, a u cilju prevencije cijelog niza bolesti vezanih uz pronađene bakterije (Moore i Moore, 1994.). Nažalost, u veterinarskoj medicini je jako malo radova koji opisuju sastav bakterijske mikroflora u ustima pasa, iako i u pasa ove bakterije mogu ponekad prouzročiti pojedine bolesti. U radovima u kojima su određivane vrste bakterija u usnoj šupljini pasa vidi se da je do sada izolirano više stotina vrsta bakterija (Wunder i sur., 1976., Hennet i Harvey, 1991., Nieves i sur., 1997.). Epidemiološke studije su pokazale da su paradontalne bolesti i zubni kamenac najčešće bolesti usne šupljine pasa (Page i Schroeder, 1981., DeMeijer i sur., 1991., Hoffmann i Gaengler, 1996., Harvey, 1998., Lund i sur., 1999.). Osim ova dva patološka stanja u ustima još možemo uočiti i gubitak zubi, karijes i novotvorenine (Hale, 1998., Lund i sur., 1999.). Patološka stanja kao gingivitis i periodontitis su bolesti koje su prouzročene bakterijama koje obitavaju u usnoj šupljini pasa (Harvey, 2005.). Bakte-

rije koje su uzročnici ovih bolesti nazivaju se periodontopatogene bakterije. Katalaza pozitivni oblik gram-negativne bakterije *Porphyromonas gingivalis*, smatra se ključnim u etiologiji parodontopatija u pasa i mačaka (Yamasaki, 1990., Allaker, 1997., Saito, 1997.).

Drugi aspekt ove problematike je moguća infekcija ugriznih rana pasa i mogućnost pravovremene i pravilne uporabe antibiotika na osnovi spoznaja koje su bakterije najučestalije u usnoj šupljini pasa (Goldstein, 1992., Allaker i sur., 1997., Forsblom i sur., 2002.). Mikroorganizmi izolirani iz inficiranih psećih ugriznih rana slični su onima koji su izolirani iz usne šupljine pasa (Ganiere i sur., 1993.). I u inficiranim i u svježim ugriznim ranama pasa (nije prošlo više od 8 sati od ugriza i rane nisu klinički inficirane) ustanovljeno je da su one polimikrobne sa širokom kombinacijom aerobnih i anaerobnih bakterija (Ordog, 1986., Goldstein, 1999., Talan i sur., 1999.). Kod izvođenja kirurških zahvata u usnoj šupljini pasa bitno je znati koje bakterije obitavaju u ustima pasa i na osnovi toga napraviti pravilan izbor antiseptika koji će biti najučinkovitiji i koji će u najvećem

Mr. Panče DAMESKI, dr. med. vet., Veterinarski Fakultet, Bitola, Makedonija, dr. sc. Dražen VNUK, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski Fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Boris HABRUN*, dr. med. vet., izvanredni profesor, (dopisni autor, email: habrun@veinst.hr), dr. sc. Gordan KOMPES, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski Veterinarski Institut, Zagreb, Hrvatska

postotku uspjeti reducirati bakterijsku mikrofloru u ustima (Martin i Nind, 1987., Athanassiadis i sur., 2007.).

Smatra se da preko 80% pasa ima problema s bolestima zuba ili usne šupljine zbog neodgovarajuće higijene i narušene bakterijske mikroflore u ustima (Kyllar i Witter, 2005.). Neugodan zadah iz usta je problem koji vlasnici smatraju normalnim te ga ne spominju prilikom odlaska veterinaru. Otežano uzimanje i žvakanje hrane isto tako upućuje i na probleme s usnom šupljinom. Stalne infekcije usne šupljine ne prouzroče samo nemir zahvaćene životinje, već mogu prouzročiti bolesti na udaljenijim organima (De Bowes i sur., 1996.). U Makedoniji dosad nije bilo objavljenih radova na ovu temu i naš je cilj bio uzeti briseve usne šupljine u pasa te izolirati i identificirati bakterije, a onda naše rezultate usporediti s rezultatima drugih istraživanja da bi uvidjeli kako i koliko se podudaraju dobiveni rezultati. Primarna svrha ovog istraživanja bila je ustvrditi glavne vrste aerobnih bakterija prisutnih u usnoj šupljini pasa u Makedoniji.

Materijali i metode

Uzorci su uzeti od 20 pasa iz gradskog azila u Prilepu, u kojih je obavljena elektivna ovariohisterektomija (n=8) i elektivna orhiektomija (n=12) u veterinarskoj ambulanti "Dameski Veterina". Za sve pse od kojih su uzeti uzorci, općim kliničkim pregledom je ustanovljeno da su bili zdravi. Psi nisu primali antibiotike zadnjih 14 dana i nisu imali vidljive patološke promjene u ustima. Ovo istraživanje je odobrila Komisija za etiketu i dobrobit, Veterinarskog Fakulteta u Bitoli, Makedonija.

Nakon premedikacije s acepromazinom (Aceprom inj., Innovet, Bukurešt, Rumunjska) u dozi 0,02-0,05 IM i intravenske indukcije anestezije s ketaminom (Ketamine 10%, Alfasan, Nizozemska) u dozi 1-4 mg/kg i propofolom (Propofol 1% Fresenius, Fresenius Kabi,

Austrija) u dozi 1-5 mg/kg, svaki pas je bio postavljen u sternalni položaj. Brisevi su uzimani s gingive donje čeljusti i dorzalne strane jezika. Gingiva i jezik najprije su bili ispirani dva puta s po 10 mL sterilne fiziološke otopine nakon čega se pristupilo uzimanju briseva. Ovom prilikom korišteni su komercijalni štapići za uzimanje brisa s transportnom podlogom (Transport swab, Nouva Aptaca, Italija). Prije uzimanja obriska sa životinje, vatu na brisu smo navlaživali s 2-3 kapi sterilne fiziološke otopine. Zatim smo uzimali obrisak tako da je štapić bio prislonjen na mjesto na sluznici s kojeg se uzimao obrisak te je zatim okretan oko svoje osi i na taj način materijal je bio nanešen sa svih strana na vrh štapića. Nakon uzimanja briseva sa sluznica životinje, briseve smo stavljali u epruvete s transportnom podlogom, zatim u hladnjak na +4 °C i unutar 24 h transportirali smo ih u referentni mikrobiološki laboratorij.

Svaki bris je bio naciepljen na sljedeće hranjive podloge:

1. Krvni agar, koji sadrži 5% sterilne defibrinirane ovčje krvi. Ovaj agar služi za izdvajanje i uzgoj raznih zahtjevnih mikroorganizama, posebno patogenih vrsta, kao i za utvrđivanje hemolize. (Merck 1.10328.0500). Agar je dodan 1% eskulina radi lakše identifikacije enterokoka.
2. Hranjivi agar. Ovaj agar je prikladan medij za uzgoj manje zahtjevnih vrsta bakterija. Hranjive tvari iz peptona, mesnog ekstrakta i vitamini iz ekstrakta kvasaca pogoduju rastu većine bakterija. (Bio-Rad 356 4484, dehidriran 500 g)
3. Xylose – Lysine – Desoxycholate agar, (XLD). Ovo je selektivni agar za izdvajanje bakterija porodice *Enterobacteriaceae* (Bio-Rad 356 9124).

Sve agare smo inkubirali u aerobnim uvjetima, na temperaturi 37 °C. Agare smo pregledavali nakon 24 i 48 sati inkubacije. Identifikacija bakterija rađena je s komercijalnom biokemijskom

galerijom BBL CRYSTAL (Identification Systems, Becton Dickinson, SAD).

Rezultati

Dvadeset pasa je bilo uključeno u ovo istraživanje. Prema pasminskom sastavu

imali smo 13 pasa križanaca, 3 šarplaninaca, 2 sibirski haskija, 1 samojed i 1 epanjel breton. Skupine su, s obzirom na zastupljenost spolova, starosti životinja i težini bile dosta ujednačene. Podatci o spolu, starosti i težini pasa koji su bili uključeni u ovo istraživanje dati su u tabeli 1.

Tabela 1. Spol, starost i tjelesna masa životinja

pokazatelj kategorije		N	%
spol	mušjaci	12	60
	ženke	8	40
dob	1–3 godine	12	60
	3–4 godine	8	40
tjelesna težina	< 10 kg	2	10
	10–20 kg	8	40
	21–30 kg	7	35
	> 30 kg	3	15

Tabela 2. Izolirani rodovi vrste aerobnih bakterija i njihova učestalost

Izolirane bakterije	n	%
<i>Enterococcus</i> sp.	19	47,50
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	45,00
<i>Echerichia coli</i>	16	40,00
<i>Pasteurella multocida</i>	13	32,50
β hemolitički <i>Streptococcus</i> sp.	12	30,00
<i>Neisseria</i> sp.	5	12,50
<i>Pasteurella canis</i>	2	5,00
<i>Proteus</i> sp.	2	5,00
<i>Bacillus cereus</i>	2	5,00
<i>Micrococcus</i> sp.	2	5,00
<i>Streptococcus</i> sp.	2	5,00
<i>Enterococcus faecium</i>	2	5,00
<i>Streptococcus faecalis</i>	1	2,50
<i>Klebsiella oxystoca</i>	1	2,50
<i>Kingella denitrificans</i>	1	2,50
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2,50
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	2,50
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	2,50
<i>Erisipelotrix rhusiopathie</i>	1	2,50
<i>Klebsiella</i> sp.	1	2,50
<i>Corinebacterium renale</i>	1	2,50
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1	2,50
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	2,50
<i>Leuconostoc</i> sp.	1	2,50

Tabela 3. Izolirane bakterije s gingive donje vilice i njihova učestalost

Izolirane bakterije	n	%
<i>Escherichia coli</i>	9	45,00
<i>Enterococcus</i> sp.	8	40,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	30,00
<i>Pasteurella multocida</i>	5	25,00
β hemolitički <i>Streptococcus</i> sp.	5	25,00
<i>Neisseria</i> sp.	3	15,00
<i>Bacillus cereus</i>	2	10,00
<i>Streptococcus</i> sp.	1	5,00
<i>Corinebacterium renale</i>	1	5,00
<i>Streptococcus faecalis</i>	1	5,00
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	5,00
<i>Pasteurella canis</i>	1	5,00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	5,00
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	1	5,00
<i>Klebsiella</i> sp.	1	5,00
<i>Proteus</i> sp.	1	5,00
<i>Enterococcus faecium</i>	1	5,00
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	5,00
<i>Leuconostoc</i> sp.	1	5,00
<i>Micrococcus</i> sp.	1	5,00

Tabela 4. Izolirane bakterije s jezika i njihova učestalost

Izolirane bakterije	n	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	60,00
<i>Enterococcus</i> sp.	11	55,00
<i>Pasteurella multocida</i>	8	40,00
<i>Escherichia coli</i>	7	35,00
β hemolitički <i>Streptococcus</i> sp.	7	35,00
<i>Neisseria</i> sp.	2	10,00
<i>Pasteurella canis</i>	1	5,00
<i>Streptococcus</i> sp.	1	5,00
<i>Micrococcus</i> sp.	1	5,00
<i>Enterococcus faecium</i>	1	5,00
<i>Kingella denitrificans</i>	1	5,00
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1	5,00
<i>Sphingomonas pacimobilis</i>	1	5,00
<i>Proteus</i> sp.	1	5,00
<i>Proteus mirabilis</i>	1	5,00

Od 40 uzetih briseva izolirano je bilo 24 rodova i vrsta. Od bakterija koje smo izolirali najčešća je bila *Enterococcus* sp. koja je izolirana u 19 od ukupno 40 briseva ili u 47,5% briseva.

Druge najučestalije izolirane bakterije su bile: *Staphylococcus aureus* u 18 briseva ili 45,0%, *Escherichia coli* u 16 briseva ili 40,0%, *Pasteurella multocida* u 13 briseva ili 32,5%, β hemolitički *Streptococcus* sp.

u 12 briseva ili 30,0%, *Neisseria* sp. u 5 briseva ili 12,5%.

Još su pojedinačno bili izolirani: *Pasteurella canis* (5,0%), *Proteus* sp. (5,0%), *Bacillus cereus* (5,0%), *Micrococcus* sp. (5,0%), *Streptococcus* sp. (5,0%), *Enterococcus faecium* (5,0%), *Corynebacterium renale* (2,5%), *Streptococcus faecalis* (2,5%), *Klebsiella oxytoca* (2,5%), *Kingella denitrificans* (2,5%), *Proteus mirabilis* (2,5%), *Streptococcus pyogenes* (2,5%), *Sphingomonas paucimobilis* (2,5%), *Erysipelotrix rhusiopathiae* (2,5%), *Streptococcus* sp. (2,5%), *Klebsiella* sp. (2,5%), *Enterobacter cloacae* complex (2,5%), *Acinetobacter* sp. (2,5%), *Leuconostoc* sp. (2,5%).

Rasprava

Usna šupljina je topla, vlažna i puna hranjivih tvari što je čini savršenim mjestom za razvoj mikroorganizama. Većina mikroorganizama je fiziološka i ne stvara probleme, no jednom kada se stvori plak ili zubni kamenac, fiziološka mikroflora u ustima je poremećena. Ukoliko se patogeni mikroorganizmi razvijaju u prevelikom broju dolazi do razvoja bolesti. Poznavanje bakterijske mikroflore bitno je u rasvjetljavanju etiologije većine oralnih bolesti. Mikrobna ekologija usta pasa relativno je malo ispitana i uglavnom su to studije koje su ispitivale bakterije u ugriznim ranama pasa.

Kasempimpolporn i sur. (2003.) ispitivali su aerobnu bakterijsku mikrofloru u ustima pasa. Oni su uzeli briseve od 21 psa s bukalne sluznice, od kojih je 5 bilo zaraženih s virusom bjesnoće i ukupno su izolirali 20 vrsta bakterija. Najučestalije izolirane bakterije su bile *Klebsiella pneumoniae* spp. *pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter calcoaceticus* i *Pasteurella* sp. Nije bilo razlike u aerobnoj bakterijskoj flori između zdravih pasa i pasa oboljelih od bjesnoće.

Talan i sur. (1999.) ispitivali su bakterijsku mikrofloru u 50 inficiranih

psećih ugriznih rana u ljudi. Najčešće izolirane aerobne bakterije bile su: *Pasteurella* (50%), *Streptococcus* (46%), *Staphylococcus* (46%), *Neisseria* (32%) i *Corinebacterium* (12%). Ostale izolirane aerobne bakterije prema učestalosti su bile *Moraxella* (10%), *Enterococcus* (10%), *Bacillus* (8%), *Pseudomonas* (6%), *Actinomyces* (6%), *Brevibacterium* (6%), *Escherichia coli* (6%), *Klebsiella* (4%), *Lactobacillus* (4%), *Citrobacter* (4%), *Flavobacterium* (4%), *Micrococcus* (4%), *Proteus mirabilis* (4%), *Capnocytophaga ochracea* (2%), *Eikenella corrodens* (2%), *Flavimonas oryzihabitans* (2%), *Stomatococcus mucilaginosus* (2%).

Radice i sur. (2006.) ispitivali su subgingivalnu bakterijsku mikrofloru u 13 pasa koji su imali periodontalne bolesti. U istom istraživanju ispitivali su još i osjetljivost izoliranih bakterija na određene antibiotike. Autori su u svom radu od aerobnih bakterija najčešće uspjeli izolirati α -hemolitički *Streptococcus*, a dosta često uz njega su i *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida* i *Streptococcus intermedius*.

Naše istraživanje je provedeno s ciljem utvrđivanja aerobne bakterijske mikroflore u ustima klinički zdravih pasa u Makedoniji. Od aerobnih bakterija najčešće izolirani su bili *Enterococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, β hemolitički *Streptococcus* sp., i *Neisseria* sp. Ovi se rezultati u određenoj mjeri podudaraju s rezultatima drugih sličnih istraživanja.

Najčešće izolirana bakterijska vrsta u našem istraživanju bila je *Enterococcus* sp. (47,5%). Enterokoki su bakterije koje se nalaze u velikom broju staništa, u probavnom traktu sisavaca, tlu, vodi, biljkama, kukcima i prehrambenim proizvodima (Witte i sur., 1999., Giraffa, 2000.). Oni su i jedni od najčešćih uzročnika bolničkih infekcija, jer su otporniji od ostalih bakterija na antimikrobne lijekove, koji se obično koriste u humanoj i veterinarskoj medicini (Martone,

1998., Cetinkaya i sur., 2000.). Osim što su poznati kao jedan od glavnih uzročnika bolničkih infekcija, enterokoki su i rezervoar antimikrobnih gena otpornosti (Landman i Quale, 1997., Klare i sur., 2001.). Opasnost od neizlječivih enterokoknih infekcija je postojana i velika zbog porasta antimikrobne rezistencije ovih bakterija, uključujući tu i otpornost na više lijekova (engl. *multi-drug resistance* -MDR). Mogući prijenos otpornosti na više lijekova (MDR) između bakterija još više kompliciraju ovaj problem (Murray, 1998., Simjee i sur., 2002., Guardabassi i sur., 2004., Leener i sur., 2005.). Farmske životinje su mnogo više u fokusu proučavanja načina prijenosa rezistentnih patogenih bakterija i komenzala na ljude. Mnogo manja pozornost je usmjerena na kućne ljubimce i njihovu ulogu u širenju rezistentnih patogenih bakterija na ljude (Guardabassi i sur., 2004.). Psi i mačke su rezervoar i izvor enterokoka i mogu biti prenositelji ove bakterije na ljude zbog bliskog fizičkog kontakta ljudi i njihovih kućnih ljubimaca. Široka primjena antimikrobnih lijekova u ovih životinja povećava vjerojatnost nastanka rezistencije u ovih bakterija (Van Belkum i sur., 1996., De Graef i sur., 2004., Guardabassi i sur., 2004., Leener i sur., 2005.).

Jackson i sur. (2009.) su u svom istraživanju izolirali enterokoke s različitih dijelova tijela s pasa i mačaka. Broj izoliranih enterokoka je bio manji s područja zuba i nosa u usporedbi s brojem izoliranih enterokoka s područja rektuma, abdomena i stražnjih nogu. Njihovi rezultati pokazuju da različiti dijelovi tijela pasa i mačaka mogu biti kontaminirani s enterokokima. To je osobito važno s obzirom da kućni ljubimci imaju bliske kontakte sa svojim vlasnicima i da je rizik direktnog prijenosa ove bakterije velik. Osim toga psi i mačke mogu kontaminirati okolinu s ovom bakterijom i postoji mogućnost da se ona prenese na ljudima i neizravnim kontaktom (Jackson i sur., 2009.).

U pogledu vrste *Staphylococcus aureus*-a kao jedne od najčešće izoliranih bakterija u našem istraživanju (izolirana je u 45,0% uzetih briseva), interesantno je spomenuti da se dobiveni rezultati u velikoj mjeri poklapaju s opažanjima Danielsa (1986.) i Kizera (1978.) koji su u svojim radovima ustanovili da se *Staphylococcus aureus* učestalije izolira iz životinja koje su sklone ugrizima i da se češće izolirao iz muških životinja, iz većih i radnih pasmina nego *Staphylococcus intermedius*. Dalje, *Staphylococcus aureus* znatno češće je bio izoliran iz pasa koje se čuvaju na otvorenom u boksovima nego kod onih koji žive u kućama. Ova se pojava, prema Danielsu (1986.) i Kizeru (1978.) može djelomično objasniti većom izloženosti ovih pasa drugim životinjama i ljudima što povećava stopu izoliranosti vrste *Staphylococcus aureus* među psima i mačkama.

U našem radu učestalo je izolirana *Pasteurella multocida*, a nešto rijede *Pasteurella canis*. Zajedno su ove bakterije izolirane u 37,5% ispitanih uzoraka. Ovi rezultati su slični s drugim istraživanjima gdje je *Pasteurella* sp. izolirana iz usta pasa od 12,5% do 87% (Bailie i sur., 1978., Ganiere i sur., 1993.). Smatra se da je ova bakterija najveći patogen u inficiranim ugriznim ranama i da infekcija rana s *Pasteurelom* nastaje mnogo brže. Rezultati iz literature u određenoj su mjeri slični rezultatima koje smo dobili u našem istraživanju. Razlike koje postoje u pogledu vrste izoliranih bakterija i njihova učestalost ovise o više pokazatelja i mogu biti rezultat različitih populacija pasa, različitog načina držanja životinja i različitog načina hranidbe. Starost pasa igra veliku ulogu u pogledu sastava bakterijske mikroflore usne šupljine. Tako mlađi psi u pravilu imaju siromašniju bakterijsku mikrofloru od starijih životinja, a veće pasmine pasa u pravilu imaju manje problema s bolestima usne šupljine nego manje pasmine. Ovo se osobito odnosi na male,

brahiocefalične pasmine pasa (Harvey i sur., 1994.). Hranidba je isto tako jako bitna, hrane li se psi suhom dehidriranom hranom ili kuhanom tekućom (Genco i sur., 1998., Gorrel, 1998., Harvey, 1998., Lund i sur., 1999.). Tako su psi koji su se hranili s dehidriranom granuliranom hranom imali znatno manje plaka i zubnog kamenca i razvili su manje upale gingiva nego psi koji su bili hranjeni kuhanom tekućom hranom. Još je uočeno da je bila bitna oralna higijena, (redovita, povremena ili uopće je nema). Nedostatak oralne higijene prouzroči povećanje broja bakterija i bogatiju bakterijsku mikrofloru što prouzroči taloženje plaka i nastanak zubnog kamenca s posljedičnom upalom gingiva (Lindhe i sur., 1975., Page i Shroeder, 1982.). Sve su to čimbenici koji bitno utječu na sastav oralne aerobne bakterijske mikroflore u pasa i na učestalost patoloških stanja u usnoj šupljini psa i na zdravlje pasa.

Zaključak

Istraživanjem aerobne bakterijske mikroflore u usnoj šupljini pasa u Makedoniji konstatirali smo da je ona raznovrsna s velikim brojem izoliranih vrsta bakterija. Ove bakterije su uzrok pojave plaka na zubima i pojave zubnog kamenca. Isto tako bakterije koje obitavaju u usnoj šupljini mogu biti uzročnici mnogih bolesti usta u pasa, kako gingivitisa i periodontitisa. Razumijevanje sastava bakterijske mikroflore je jako bitno, jer se tako mogu prevenirati patološka stanja usta. Iz velikog broja istraživanja na ljudima, može se zaključiti se da je najbolja prevencija bolesti usta, redovita svakodnevna oralna higijena. Kliničari poznavanjem bakterijske mikroflore usne šupljine mogu poboljšati učinkovitost liječenja bolesti usta u pasa, a vlasnici uz odgovarajuću dentalnu higijenu mogu u velikom postotku sniziti učestalost bolesti usta u svojih ljubimaca.

Sažetak

Bolesti usta su česte u pasa i mogu prouzročiti različita patološka stanja i čak dovesti do gubitka zuba. Iz više opsežnih istraživanja na ljudima, postalo je jasno da je razumijevanje mikrobne ekologije usta temeljno za rasvjetljavanje etiologije većine oralnih bolesti. Mikrobna ekologija usta pasa relativno je slabo istraživana i uglavnom se radilo o istraživanjima koja su ispitivala bakterije u ugriznim ranama pasa. Poznavanje sastava bakterija u ustima pasa je bitan iz aspekta prevencije nekih bolesti, kao što su paradontoza, zubni kamenac, karijes. Cilj ovog istraživanja bilo je ispitati koje su bakterije najzastupljenije u usnoj šupljini pasa u Republici Makedoniji, koje se mogu uzgajati *in vitro* u cilju pružanja osnovnih informacija za unapređenje zdravstvene oralne skrbi pasa. Od 20 pasa uziman je po jedan bris s dorzalne strane jezika i jedan bris s gingive donje vilice, uzeto je ukupno 40 bri-seva. Izolirano je 24 vrste aerobnih bakterija, a najučestalije izolirane aerobne bakterije bile su: *Enterococcus* sp. (47,50%), *Staphylococcus aureus* (45,00%), *Escherichia coli* (40,00%), *Pasteurella multocida* (32,50%), β hemolitički *Streptococcus* sp. (30,00%), *Neisseria* sp. (12,50%).

Ključne riječi: bakterijska mikroflora, aerobi, usna šupljina, pas

Literatura

1. ALLAKER, R. P., K. A. YOUNG, T. LANGLOIS, R. De ROSAYRO and J. M. HARDIE (1997): Dental plaque flora of the dog with reference to fastidious and anaerobic bacteria associated with bites. J. Vet. Dent. 14, 127-130.
2. ALLAKER, R. P., R. ROSAYRO, K. A. YOUNG and J. M. HARDIE (1997): Prevalence of Porphyromonas and Prevotella species in the dental plaque of dogs. Vet. Rec. 140, 147-148.
3. ATHANASSIADIS, B., P. V. ABBOTT and L. J. WALSH (2007): The use of calciumhydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust. Dent J. 52, 564-582.
4. BAILIE, W. E., E. C. STOWE and A. M. SCHMITT (1978): Aerobic bacterial flora of oral and nasal fluids of canines with reference to bacteria associated with bites. J. Clin. Microbiol. 7, 223-231.
5. van BELKUM, A., B. N. van DEN, R. THOMASSEN, H. VERBRUGH and H. ENDTZ (1996): Vancomycin-resistant enterococci in cats and dogs. Lancet 348, 1038-1039.
6. CETINKAYA, Y., P. FALK and C. G. MAYHALL (2000): Vancomycin-resistant enterococci. Clin. Microbiol. Rev. 13, 686-707.

7. DANIELS, T. J. (1986): A study of dog bites on the Navajo reservation. *Public Health Rep.* 100, 50-59.
8. DeBOWES, L. J., D. MOSIER, E. LOGAN, C. E. HARVEY, S. LOWRY and D. C. RICHARDSON (1996): Association of periodontal disease and histologic lesions in multiple organs from 45 dogs. *J. Vet. Dent.* 13, 57-60.
9. De GRAEF, E. M., A. DECOSTERE, L. A. DEVRIESE and F. HAESBROUCK (2004): Antibiotic resistance among fecal indicator bacteria from healthy individually owned and kennel dogs. *Microb. Drug Resist.* 10, 65-69.
10. De MEIJER, L. M., A. W. VAN FOREEST, G. J. TRUIN and A. J. PLASSCHAERT (1991): Veterinary dentistry in dogs and cats; a survey among veterinarians (in Dutch). *Tijdsch. Diergen.* 116, 777-781.
11. FORSBLOM, B., E. SARKIALA-KESSEL, A. KANERVO, M. L. VAISANEN, M. HELANDER, H. JOUSIMIES-SOMER (2002): Characterisation of aerobic gram-negative bacteria from subgingival sites of dogs—potential bite wound pathogens. *J. Med. Microbiol.* 51, 207-220.
12. GANIERE, J. P., F. ESCANDE, G. ANDRE and M. LARRAT (1993): Characterization of *Pasteurella* from gingival scrapings of dogs and cats. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 16, 77-85.
13. GENCO, C. A., T. Van DYKE and S. AMAR (1998): Animal models for *Porphyromonas gingivalis*-mediated periodontal disease. *Trends Microbiol.* 6, 444-449.
14. GIRAFFA, G. (2002): Enterococci from foods. *FEMS Microbiol. Rev.* 26, 163-171.
15. GOLDSTEIN, E. J. C. (1992): Bite wounds and infection. *Clin. Infect. Dis.* 14, 633-638.
16. GOLDSTEIN, E. J. C. (1999): Current concepts on animal bites: bacteriology and therapy. *Curr. Clin. Top. Infect. Dis.* 19, 99-111.
17. GORREL, C. (1998): Periodontal disease and diet in domestic pets. *J. Nutrit.* 128, 2712-2714.
18. GUARDABASSI, L., S. SCHWARZ and D. H. LLOYD (2004): Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 321-332.
19. HALE, F. A. (1998): Dental caries in the dog. *J. Vet. Dent.* 15, 79-83.
20. HARVEY, C. E., F. S. SHOFER and L. LASTER (1994): Association of age and body weight with periodontal disease in North American dogs. *J. Vet. Dent.* 11, 94-105.
21. HARVEY, C. E. (1998): Periodontal disease in dogs. Etiopathogenesis, prevalence, and significance. *Vet. Clin. North Am. – Small Anim. Pract.* 28, 1111-1128.
22. HARVEY, C. E. (2005): Management of periodontal disease: understanding the options. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 35, 819-836.
23. HENNET, P. R. and C. E. HARVEY (1991): Aerobes in periodontal disease in the dog: a review. *J. Vet. Dent.* 8, 9-11.
24. HOFFMANN, T. and P. GAENGLER (1996): Epidemiology of periodontal disease in poodles. *J. Small Anim. Pract.* 37, 309-316.
25. JACKSON, C. R., P. J. FEDORKA-CRAY, J. A. DAVIS, J. B. BARRETT and J. G. FRYE (2009): Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from dogs and cats in the United States. *J. Appl. Microbiol.* 107, 1269-1278.
26. KASEMPIMOLPORN, S., M. BENJAVONGKULCHAI, W. SAENGSEESOM and V. SITPRIJA (2003): Oral bacterial flora of dogs with and without rabies: a preliminary study in Thailand. *J. Mes. Assoc. Thai.* 86, 1162-1166.
27. KIZER, K. W. (1979): Epidemiology and clinical aspects of animal bite injuries. *J. Am. Coll. Emerg. Physicians* 8, 434-441.
28. KLARE, I., G. WERNER and W. WITTE (2001): Enterococci. Habitats, infections, virulence factors, resistances to antibiotics, transfer of resistance determinants. *Contrib. Microbiol.* 8, 108-122.
29. KYLLAR, M. and K. WITTER (2005): Prevalence of dental disorders in pet dogs. *Vet. Med. – Czech* 50, 496-505.
30. LANDMAN, D. and J. M. QUALE (1997): Management of infections due to resistant enterococci: a review of therapeutic options. *J. Antimicrob. Chemother.* 40, 161-170.
31. LEENER, E. D., A. DECOSTERE, E. M. De GRAEF, H. MOYAERT and F. HAESBROUCK (2005): Presence and mechanism of antimicrobial resistance among enterococci from cats and dogs. *Microb. Drug Resist.* 11, 395-403.
32. LINDHE, J., S. E. HAMO and H. LOE (1975): Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study. *J. Periodon. Res.* 10, 243-255.
33. LUND, E. M., P. J. ARMSTRONG, C. A. KIRK, L. M. KOLAR and J. S. KLAUSNER (1999): Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214, 1336-1341.
34. MARTIN, M. V. and D. NIND (1987): Use of chlorhexidine glukonate for pre-operative disinfection of apicectomy sites. *Br. Dent. J.* 162, 459-461.
35. MARTONE, W. J. (1998): Spread of vancomycin-resistant enterococci: why did it happen in the United States? *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 19, 539-545.
36. MOORE, W. E. C. and L. V. H. MOORE (1994): The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol.* 2000 5, 66-77.
37. MURRAY, B. E. (1990): The life and times of the Enterococcus. *Clin. Microbiol. Rev.* 3, 46-65.
38. NIEVES, M. A., P. HARTWIG, J. M. KINYON and D. H. RIEDESEL (1997): Bacterial isolates from plaque and from blood during and after routine dental procedures in dogs. *Vet. Surg.* 26, 26-32.
39. ORDOG, G. J. (1986): The bacteriology of dog bite wounds on initial presentation. *Ann. Emerg. Med.* 15, 1324-1329.
40. PAGE, R. C. and H. E. SCHROEDER (1981): Spontaneous chronic periodontitis in adult dogs. A clinical and histopathological survey. *J. Periodontol.* 52, 60-73.

41. PAGE, R. C. and H. E. SCHROEDER (1982): Periodontitis in Man and Other Animals: A Comparative Review. Karger, Basel. P. 330.
42. RADICE, M., P. A. MARTINO and A. M. REITER (2006): Evaluation of subgingival bacteria in the dog and susceptibility to commonly used antibiotics. J. Vet. Dent. 23, 219-224.
43. SAITO, A., Y. HOSAKA, K. SEKIGUCHI, T. KIGURE, S. ISOBE, Y. SHIBUKAWA, H. SUMII, T. ITO, T. NAKAGAWA and S. YAMADA (1997): Responses of peri-implant tissues to undisturbed plaque formation in dogs: clinical, radiographic, and microbiological findings. Bull Tokyo Dent. Coll. 38, 13-20.
44. SIMJEE, S., D. G. WHITE, P. F. McDERMOTT, D. D. WAGNER, M. J. ZERVOS, S. M. DONABEDIAN, L. L. ENGLISH, J. R. HAYES et al. (2002): Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene exchange between human and animal enterococci. J. Clin. Microbiol. 40, 4659-4665.
45. TALAN, D. A., D. M. CITRON, F. M. ABRAHAMIAN, G. J. MORAN and E. J. C. GOLDSTEIN (1999): Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. N. Engl. J. Med. 340, 85-92.
46. WITTE, W., R. WIRTH and I. KLARE (1999): Enterococci. Chemotherapy 45, 135-145.
47. WUNDER, J. A., W. W. BRINER and G. P. CALKINS (1976): Identification of the cultivable bacteria in dental plaque from the beagle dog. J. Dent. Res. 55, 1097-1102.
48. YAMASAKI, T., A. NAGATA, T. KIYOSHIGE, M. SATO and R. NAKAMURA (1990): Black-pigmented, asaccharolytic *Bacteroides* species resembling *Porphyromonas gingivalis* (*Bacteroides gingivalis*) from beagle dogs. Oral Microbiol. Immunol. 5, 332-335.

Bacterial Microflora in the Mouth of Dogs in Macedonia

Panche DAMESKI, DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Bitola, Macedonia; Dražen VNUK, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Boris HABRUN, DVM, PhD, Associate Professor, Gordan KOMPES, DVM, PhD, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Oral diseases are frequent in dogs and can cause various pathological conditions and often lead to tooth loss. From a wide range of human studies, it has become clear that understanding the microbial ecology of the mouth is the key to discovering the etiology of most oral diseases. The microbial ecology of the mouth of dogs is relatively poorly investigated and most studies have investigated bacteria from dog bite wounds. Knowing the consistency of the bacteria in the mouths of dogs is important for the prevention of certain diseases, such as paradontosis, tartar, and caries. The objective of this study was to determine the most common bacteria in the mouths of dogs in the

Republic of Macedonia that could be isolated *in vitro* in order to gather basic information for improvement of the oral health of dogs. Samples were taken from 20 dogs from the dorsal side of the tongue, and another sample from the gingiva of the lower jaw for a total of 40 samples. 24 aerobic bacteria species were isolated, and the most common aerobic bacteria were: *Enterococcus* sp. (47.50%), *Staphylococcus aureus* (45.00%), *Escherichia coli* (40.00%), *Pasteurella multocida* (32.50%), β hemolytic *Streptococcus* sp. (30.00%), and *Neisseria* sp. (12.50%).

Key words: Bacterial microflora, Aerobic, Oral cavity, Dog

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

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

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

Detaljnije informacije možete dobiti od proizvođača:

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



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

Praćenje ambijentalnih uvjeta u svinjogojskoj proizvodnji – pripustilište



Mario Ostović*, Ivica Pučko i Željko Pavičić

Uvod

U brojnoj svinjogojskoj proizvodnji u nastambama za pripust i gravidnost moraju se osigurati uvjeti potrebni za postizanje odgovarajuće plodnosti plotkinja. Budući da, upravo u ovim nastambama, plotkinje provedu 75% do 80% vremena tijekom iskorištavanja (Uremović i Uremović, 1997.), važno je da su ti uvjeti i takvi da ne ugroze njihovu dobrobit (Narodne novine, broj 119/10.).

Mikroklimatski, kao i ostali ambijentalni uvjeti u velikoj mjeri utječu na dobrobit svinja. Pod mikroklimom se podrazumijeva skup klimatskih prilika u nastambi, koje nastaju pod utjecajem čimbenika sredine u kojoj svinje žive i vanjskih klimatskih čimbenika (Uremović i Uremović, 1997.). Pritom su temperaturno-vlažni odnosi i brzina strujanja zraka osnovno mjerilo mikroklimatskih uvjeta.

Svinje su osjetljivije na visoke, nego na niske temperature. Visoke temperature naročito nepovoljno djeluju na reprodukciju plotkinja (von Borell i sur., 1997.). Edwards i sur. (1968.) utvrdili su da su nazimice osjetljivije na toplinski stres tijekom prvih 15 dana, nego od 15. do 30. dana nakon pripusta. U nazimica koje su prvih 15 dana bile izložene visokim temperaturama zabilježena je

manja stopa koncepcije, značajno manji broj vitalnih embrija i njihova bitno manja stopa preživljavanja, nego u nazimica držanih u hladnijim uvjetima ili na pašnjaku. Autori su isto tako ustanovili da su embriji nazimica koje su bile izložene toplinskom stresu tijekom prvih 15 dana nakon pripusta bili manji, iako ne značajno. Pri visokim temperaturama, krmače i nazimice, kao i ostale kategorije svinja, smanjuju opću aktivnost i fizički kontakt s drugim jedinkama, leže na boku, dahću i kaljužaju se ukoliko su u mogućnosti (Broom i sur., 2005.), slabijeg su apetita, što se negativno odražava na njihov prirast, kondiciju i mliječnost (Senčić i sur., 1996.). Kada je hladno, svinje leže na trbuhu kako bi smanjile površinu tijela i griju se dodirom. Iako su na hladnoću manje osjetljive, nego na vrućinu, i niske temperature mogu nepovoljno utjecati na njihovo zdravlje i proizvodnost (Ostović i sur., 2008.). Tako Ekesbo (2011.) navodi da su gravidne krmače držane u neizoliranim nastambama, u odjeljcima bez stelje i bez mogućnosti tjelesnog kontakta, tijekom hladnijeg razdoblja pobacile.

Isto kao i s temperaturom, tako i s vlagom zraka, svinje su osjetljivije na

Dr. sc. Mario OSTOVIĆ*, dr. med. vet., docent, (dopisni autor, e-mail: mostovic@vef.hr), dr. sc. Željko PAVIČIĆ, dr. med. vet., dipl. ing. agr., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Ivica PUČKO, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta ANIMA-VET d.o.o., Sela, Hrvatska

visoke, nego na niske vrijednosti. Pri visokoj vlazi i visokim temperaturama zraka, dakle tijekom toplijeg razdoblja, odavanje topline iz tijela svinja kondukcijom, konvekcijom, radijacijom i evaporacijom je otežano, u najgorem slučaju i onemogućeno, što posljedično rezultira toplinskim udarom. Osim toga, pri visokoj vlazi zraka apetit svinja se smanjuje kao i iskoristivost hrane (Senčić i sur., 1996.). S druge strane, pri visokoj vlazi zraka i niskim temperaturama, zrak može primiti veće količine topline, jer je vlažan zrak njezin dobar vodič, zbog čega svinje gube više topline. Ovo stanje u početku rezultira prehladama, zatim bolestima dišnog sustava, a pri vrlo niskim temperaturama može doći i do smržavanja (Vučemilo i Tofant, 2009.). Iako svinje lakše podnose zrak s nižim sadržajem vlage, vlaga u zraku ispod 50% isušuje sluznice (Ostović i sur., 2008.). U takvom zraku je prisutna i veća količina prašine, koja iritira, i na koju se vežu štetni plinovi i mikroorganizmi, koji preko dišnog sustava mogu dospjeti u organizam i prouzročiti bolest (Rosentrater, 2003.).

Strujanje zraka utječe na odavanje topline iz životinjskog tijela, odnosno na njegovu termoregulaciju. Pri povećanom strujanju zraka životinje gube više topline, koju pak nadoknađuju pojačanim metabolizmom i većim utroškom hrane. Osim toga, u uvjetima s povećanim strujanjem zraka životinje se mogu pothladiti, smanjuje im se otpornost i stvara predispozicija za pojavu različitih bolesti. Nasuprot tome, pri preslabom strujanju zraka, u staji se povećavaju vrijednosti temperature i vlage zraka te se nakupljaju štetni plinovi, prašina i mikroorganizmi (Havranek i Rupić, 2003.).

Amonijak je štetni plin najčešće prisutan u svinjogojskoj proizvodnji. Nastaje bakterijskom razgradnjom organske tvari iz fecesa i urina koja sadrži dušik. Veće koncentracije amonijaka u zraku od dopuštenih uzrokom su manjeg apetita u svinja te posljedično i prirasta

(Vučemilo i Tofant, 2009.), a povezuju se i s pojavom grčeva, neravnomjernim disanjem (Asaj, 2003.), nadraženim sluznicama očiju i dišnih putova te respiratornim bolestima. Koncentracije od nekoliko tisuća ppm su letalne (Verstegen i sur., 1994.).

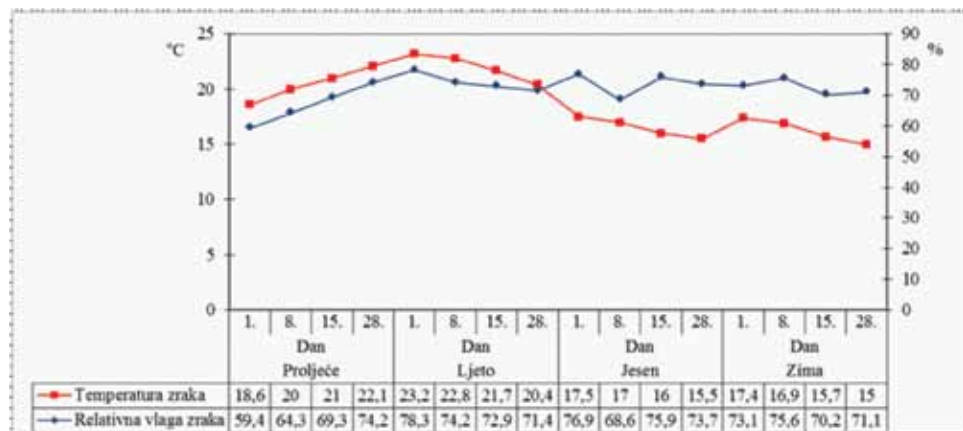
Pri disanju životinja kao krajnji proizvod metabolizma nastaje ugljikov dioksid, koji se smatra sanitarnim pokazateljem kvalitete zraka u nastambama za držanje životinja. Udisanje zraka s koncentracijama ugljikovog dioksida iznad dopuštene granice može prouzročiti respiratorne poremećaje (otežano disanje), vrtoglavicu, poremtnje u cirkulaciji i smanjenje apetita (Ostović i sur., 2008.), a koncentracije od 20.000 ppm trovanje i gušenje svinja (Uremović i Uremović, 1997.).

U ovom radu istraživani su tijekom svih godišnjih doba osnovni mikroklimatski uvjeti, temperatura, relativna vlaga i brzina strujanja zraka, te koncentracije štetnih plinova, ugljikovog dioksida i amonijaka, u zraku nastambe za pripust plotkinja u svinjogojskoj proizvodnji.

Materijali i metode

Istraživanje je provedeno u komercijalnim uvjetima uzgoja, pripustilištu svinjogojske farme tijekom 4 proizvodna ciklusa, uključujući sva godišnja doba - proljeće (svibanj-lipanj), ljeto (rujan), jesen (studenj) i zima (prosinac-siječanj). Svaki je ciklus trajao 28 dana, koliko se krmače i nazimice smiju držati u pojedinačnim odjeljcima pripustilišta (Narodne novine, broj 119/10).

Dimenzije pripustilišta su: dužina 18,40 m, širina 14,00 m i visina 2,40 m, a izgrađeno je od betonskih blokova s krovom prekrivenim izoliranim aluminijskim pločama. U nastambi se nalaze ukupno 63 pojedinačna odjeljka za smještaj plotkinja, koliko ih je i bilo prisutno u pripustilištu tijekom svakog istraživanih ciklusa. Svaki odjeljak dužine



Grafikon 1. Temperatura i relativna vlaga zraka u pripustilištu tijekom istraživanih proizvodnih ciklusa

je 1,80 m i širine 0,60 m, s rešetkastim betonskim podom iznad kanala za tekući gnoj. Između nasuprot smještenih odjeljaka nalazi se manipulativni prostor za osoblje i plotkinje te prikupljanje fecesa koji se zadržao na podu.

Osvjetljenje u nastambi je prirodno i umjetno (najmanje 8 sati dnevno), a prozračivanje mehaničko na podtlak. U hladnijim se mjesecima ne provodi grijanje nastambe, već se prihvatljivi mikroklimatski uvjeti postižu smanjenjem obujma prozračivanja. Plotkinje se hrane obročno, 2 puta dnevno, koncentriranom hranom, iz istih valova iz kojih se i napajaju *ad libitum*.

Mikroklimatski pokazatelji u pripustilištu, temperatura (°C), relativna vlaga (%) i brzina strujanja zraka (ms^{-1}), te koncentracije štetnih plinova u zraku, ugljikovog dioksida (vol. %) i amonijaka (ppm), mjereni su 4 puta tijekom svakog ciklusa, 1., 8., 15. i 28. dan. Istraživani pokazatelji mjereni su prenosivim digitalnim uređajima (Testo i Dräger, Njemačka) i to svaki puta na nekoliko mjesta kako bi se dobila prosječna reprezentativna vrijednost.

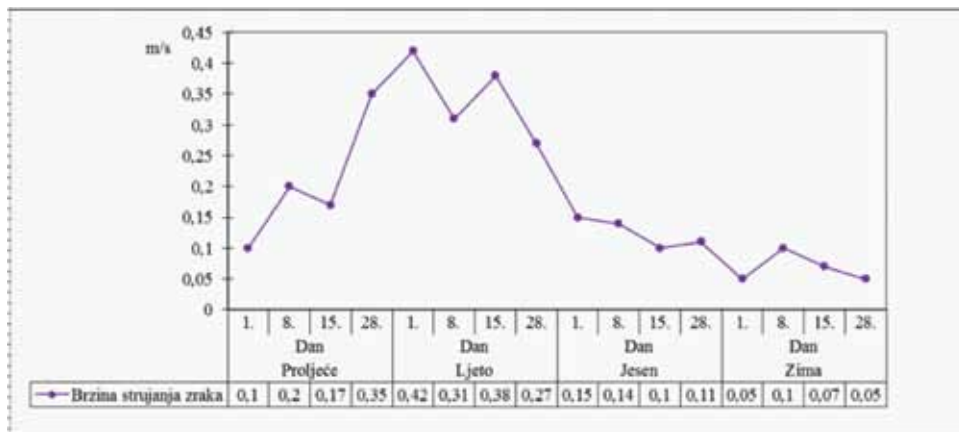
Rezultati istraživanja analizirani su statističkim programom STATISTICA. Svi promatrani pokazatelji obrađeni su uobičajenim postupcima deskriptivne statistike, a normalnost raspodjele

podataka provjerena je Kolmogorov-Smirnovim testom. Značajnost razlika između srednjih vrijednosti pokazatelja tijekom različitih godišnjih doba testirana je analizom varijance. Statistički značajnom smatrana je razlika na razini $p < 0,05$.

Rezultati

Kretanje vrijednosti promatranih pokazatelja u pripustilištu tijekom razdoblja istraživanja prikazano je u grafikonima 1-3. Njihova srednja vrijednost (aritmetička sredina) tijekom pojedinih proizvodnih ciklusa/godišnjih doba, najmanja i najveća utvrđena vrijednost te značajnost razlika između srednjih vrijednosti dani su u tabeli 1.

Srednja vrijednost temperature zraka bila je najveća tijekom ljeta (22,03 °C), a najmanja tijekom zime (16,25 °C). Osim između proljeća i ljeta te jeseni i zime, između ostalih godišnjih doba utvrđena je značajna razlika ($p < 0,05$) u srednjoj vrijednosti temperature zraka u pripustilištu. Najveća srednja vrijednost relativne vlage zraka zabilježena je tijekom ljeta (74,20%), a najmanja tijekom proljeća (66,80%). Međutim, srednje vrijednosti relativne vlage zraka u pripustilištu nisu se značajno razlikovale ($p > 0,05$) između godišnjih doba. Srednja vrijednost brzine strujanja zraka bila je



Grafikon 2. Brzina strujanja zraka u pripustilištu tijekom istraživanih proizvodnih ciklusa



Grafikon 3. Koncentracije ugljikovog dioksida i amonijaka u zraku pripustilišta tijekom istraživanih proizvodnih ciklusa

najveća ljeti ($0,35 \text{ ms}^{-1}$), a najmanja zimi ($0,07 \text{ ms}^{-1}$). Između svih godišnjih doba, osim između proljeća i jeseni te jeseni i zime, utvrđena je značajna razlika ($p < 0,05$) u srednjoj vrijednosti brzine strujanja zraka u pripustilištu. S obzirom na srednju vrijednost koncentracije ugljikovog dioksida u zraku pripustilišta, značajna razlika ($p < 0,05$) ustanovljena je između svih godišnjih doba, osim između proljeća i ljeta. Najveća srednja vrijednost koncentracije ugljikovog dioksida zabilježena je zimi ($0,26 \text{ vol. \%}$), a najmanja ljeti ($0,07 \text{ vol. \%}$), kao što je to

bio slučaj i za koncentraciju amonijaka u zraku pripustilišta (najveća srednja vrijednost koncentracije zimi - $19,75 \text{ ppm}$, najmanja ljeti - $13,75 \text{ ppm}$). Ipak, za koncentraciju amonijaka nisu utvrđene značajne razlike ($p > 0,05$) u srednjim vrijednostima između godišnjih doba.

Rasprava

Temperature zraka u nastambama za nazimice i krmače mogu varirati od optimalnih do kritičnih, a ovise o građevinskoj izvedbi staje, količini topline koju odaju životinje, temperaturi

Tabela 1. Srednje, najmanje i najveće utvrđene vrijednosti mikroklimatskih pokazatelja i plinovitih zračnih onečišćenja u pripustilištu u istraživanom razdoblju

		Tempera- tura zraka (°C)	Relativna vlaga zraka (%)	Brzina strujanja zraka (ms ⁻¹)	Ugljikov dioksid (vol. %)	Amonijak (ppm)
Proljeće	arit. sred.	20,43 ^{a,b}	66,80	0,21 ^{a,b}	0,09 ^{a,b}	14,00
	std. dev.	1,49	6,38	0,11	0,02	2,83
	min.	18,60	59,40	0,10	0,07	12,00
	maks.	22,10	74,20	0,35	0,11	18,00
Ljeto	arit. sred.	22,03 ^{c,d}	74,20	0,35 ^{a,c,d}	0,07 ^{c,d}	13,75
	std. dev.	1,26	2,96	0,07	0,01	3,59
	min.	20,40	71,40	0,27	0,05	11,00
	maks.	23,20	78,30	0,42	0,08	19,00
Jesen	arit. sred.	16,50 ^{a,c}	73,78	0,13 ^c	0,18 ^{a,c,e}	19,00
	std. dev.	0,91	3,70	0,02	0,04	4,90
	min.	15,50	68,60	0,10	0,15	13,00
	maks.	17,50	76,90	0,15	0,22	25,00
Zima	arit. sred.	16,25 ^{b,d}	72,50	0,07 ^{b,d}	0,26 ^{b,d,e}	19,75
	std. dev.	1,10	2,40	0,02	0,04	0,96
	min.	15,00	70,20	0,05	0,21	19,00
	maks.	17,40	75,60	0,10	0,29	21,00

^{a,b,c,d,e} Vrijednosti u istom stupcu označene istim slovom statistički se značajno razlikuju na razini $p < 0,05$

zraka izvan staje i obujmu prozračivanja kojim se regulira toplinska ravnoteža (Asaj, 1974.). Optimalne (termoneutralne) temperature zraka, pri kojima nazimice i krmače troše minimalnu energiju za održavanje bazalnih metaboličkih funkcija, kreću se u rasponu od 12 do 25 °C (Asaj, 2003.). Kritične temperature, pri kojima se smanjuje ili ubrzava metabolizam, su temperature okoliša ispod ili iznad granice optimalne temperature. Na variranje kritičnih temperatura utječu dob i tjelesna masa svinja, vrsta hrane i intenzitet hranidbe, način držanja i smještaja, napućenost i dr. (Uremović i Uremović, 1997.).

U ovom istraživanju temperatura zraka u pripustilištu kretala se u granicama optimalnim za plotkinje tijekom svih istraživanih ciklusa (Grafikon 1).

Između toplijih godišnjih doba, proljeća i ljeta, kao niti između hladnijih, jeseni i zime, nije utvrđena značajna razlika u srednjoj vrijednosti temperature zraka u pripustilištu (Tabela 1), iako se temperatura zraka kontinuirano snižavala i tijekom ljetnog proizvodnog ciklusa (Grafikon 1), s obzirom da su mjerenja provedena u mjesecu rujnu.

Relativna vlažnost zraka iskazuje zasićenost zraka vodenom parom u postotcima. Vlaga u zraku nastambi potječe od vlage vanjskog zraka dovedenog prozračivanjem, isparavanja s izloženih ploha u staji i iz gnoja, pojilica, prolivene vode te iz isparavanja površine tijela životinja, kao i iz izdahnutog zraka. Kako navodi Weida (2000.), svinja tjelesne mase od 70 kg disanjem izluči 65 g vodene pare tijekom jednog sata. Pri optimalnim

temperaturama svinjama pogoduje koncentracija vlage u zraku od 50% do 80% (von Borell i sur., 2002.), a za krmače se, posebice, preporuča vlaga od 60% do 80% (Bockisch i sur., 1999.). Rezultati istraživanja pokazuju da je relativna vlaga zraka u pripustilištu bila optimalna za plotkinje tijekom svih godišnjih doba (Grafikon 1). Ipak, između godišnjih doba nije ustanovljena značajna razlika s obzirom na sadržaj vlage u zraku (Tabela 1), što se može objasniti napajanjem plotkinja iz valova i isparavanjem vode.

Optimalna brzina strujanja zraka u nastambama za svinje ovisi o godišnjem dobu. Zimi se kreće od 0,05 do 0,3 ms⁻¹, a tijekom ljeta može biti dvostruko veća (Uremović i Uremović, 1997.), što je u suglasju i s rezultatima ovog istraživanja (Grafikon 2). Pritom su između srednje vrijednosti brzine strujanja zraka u pripustilištu tijekom ljeta i srednjih vrijednosti tijekom ostalih godišnjih doba utvrđene značajne razlike (Tabela 1).

Ugljikov dioksid prisutan je u sastavu atmosferskog zraka u koncentraciji između 300 i 400 ppm, dok mu je maksimalno dopuštena koncentracija u zraku svinjogojskih nastambi i do 10 puta veća (Broom i sur., 2007.). Koncentracija mu ovisi o građevinsko-tehničkim karakteristikama staje, vrsti i broju životinja te učinkovitosti sustava za prozračivanje i uklanjanje gnoja (Vučemilo i Tofant, 2009.). Prema rezultatima istraživanja, koncentracija ugljikovog dioksida kretala se unutar vrijednosti optimalnih za svinje tijekom svih godišnjih doba. Veće vrijednosti zabilježene tijekom jesenskog i zimskog proizvodnog ciklusa (Grafikon 3, Tabela 1) mogu se pripisati smanjenom obujmu prozračivanja, odnosno manjoj brzini strujanja zraka u pripustilištu tijekom hladnijeg razdoblja (Grafikon 2).

Koncentracija amonijaka u zraku nastambi ovisi o broju i kategoriji životinja, udjelu bjelančevina u hranidbi, načinu izgnojavanja te mikroklimatskim i smještajnim uvjetima (Arogo i sur., 2003.), s naglaskom na izvedbu poda

(Kavolelis, 2006.). Preporučena gornja dopuštena koncentracija amonijaka u zraku svinjogojskih nastambi je između 20 i 25 ppm (Gregory, 2007.), dok se prosječne koncentracije u nastambama za krmače kreću između 5 i 18 ppm (Groot Koerkamp i sur., 1998.), odnosno iznose 13,4 ppm prema podacima Seedorf i Hartung (1999.). Tijekom svih proizvodnih ciklusa koncentracija amonijaka u zraku pripustilišta bila je u granicama optimalnim za svinje (Grafikon 3), a srednje vrijednosti nisu se značajno razlikovale između godišnjih doba (Tabela 1), što se može protumačiti držanjem plotkinja na rešetkastom podu, odnosno načinom i učestalošću održavanja higijenskih uvjeta u nastambi.

Sažetak

U ovom radu istraživani su osnovni mikroklimatski uvjeti i plinovita zračna onečišćenja u nastambi za pripust krmača i nazimica. Svi su pokazatelji mjereni 4 puta tijekom 28-dnevnog proizvodnog ciklusa u svim godišnjim dobima. Tijekom cjelokupnog razdoblja istraživanja utvrđene vrijednosti svih pokazatelja u pripustilištu bile su u granicama optimalnim za svinje, a kretale su se u rasponu 15,00-23,20 °C (temperatura zraka), 59,40-78,30% (relativna vlaga zraka), 0,05-0,42 ms⁻¹ (brzina strujanja zraka), 0,05-0,29 vol. % (ugljikov dioksid) i 11-25 ppm (amonijak). Za sve pokazatelje utvrđene su značajne razlike ($p < 0,05$) u srednjim vrijednostima između pojedinih godišnjih doba, osim za relativnu vlagu i koncentraciju amonijaka u zraku pripustilišta ($p > 0,05$), što se može pripisati napajanju plotkinja iz valova, odnosno držanju životinja na rešetkastom podu/načinu i učestalosti održavanja higijenskih prilika u nastambi.

Ključne riječi: ambijentalni uvjeti, pripustilište, svinja

Literatura

1. AROGO, J., P. W. WESTERMAN and A. J. HEBER (2003): A review of ammonia emissions from confined swine feeding operations. T. ASAE 46, 805-817.
2. ASAJ, A. (1974): Zoohigijena u praksi. Zagreb: Školska knjiga.
3. ASAJ, A. (2003): Higijena na farmi i u okolišu. Zagreb: Medicinska naklada.
4. BOCKISCH, F. J., T. JUNGBLUTH and A. RUDOVSKY (1999): Technical indicators for the evaluation of housing systems for cattle, pigs and laying hens in relation to animal welfare aspects. Zuchtungskunde 71, 38-63.

5. BROOM, D. M., B. ALGERS, T. NUNES PINA, M. SANAA, M. BONDE, S. EDWARDS, J. HARTUNG, I. de JONG, X. MANTECA VILANOVA, G. MARTELLI and G. P. MARTINEAU (2007): Animal health and welfare in fattening pigs in relation to housing and husbandry. Scientific Report, EFSA-Q-2006-029. European Food Safety Authority (EFSA) - AHAW Panel (Animal Health and Welfare). Annex to EFSA Journal 564, 1-14.
6. BROOM, D. M., M. GUNN, S. EDWARDS, B. WECHSLER, B. ALGERS, H. SPOOLDER, F. MADEC, E. von BORELL and O. OLSSON (2005): The welfare of weaners and rearing pigs: effects of different space allowances and floor types. Scientific Report, EFSA-Q-2004-077. European Food Safety Authority (EFSA) - AHAW Panel (Animal Health and Welfare). Annex to EFSA Journal 268, 1-19.
7. EDWARDS, R. L., I. T. OMTVEDT, E. J. TURMAN, D. F. STEPHENS and G. W. A. MAHONEY (1968): Reproductive performance of gilts following heat stress prior to breeding and in early gestation. J. Anim. Sci. 27, 1634-1637.
8. EKESBO, I. (2011): Farm animal behaviour characteristics for assessment of health and welfare. Cambridge: CAB International, Cambridge University Press.
9. GREGORY, N. G. (2007): Animal welfare and meat production. 2nd ed. Trowbridge: Cromwell, N. G. Gregory.
10. GROOT KOERKAMP, P. W. G., J. H. M. METZ, G. H. UENK, V. R. PHILLIPS, M. R. HOLDEN, R. W. SNEATH, J. L. SHORT, R. P. P. WHITE, J. HARTUNG, J. SEEDORF, M. SCHRÖDER, K. H. LINKERT, S. PEDERSEN, H. TAKAI, J. O. JOHNSEN and C. M. WATHES (1998): Concentrations and emissions of ammonia in livestock buildings in Northern Europe. J. Agric. Eng. Res. 70, 79-95.
11. HAVRANEK, J. i V. RUPIC (2003): Mlijeko: od farme do mljekare. Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga.
12. KAVOLELIS, B. (2006): Impact of animal housing systems on ammonia emission rates. Pol. J. Environ. Stud. 15, 739-745.
13. OSTOVIĆ, M., Ž. PAVIČIĆ, T. BALENOVIĆ i A. EKERT KABALIN (2008): Utjecaj socijalnih i mikroklimatskih čimbenika na vladanje svinja tijekom hranjenja. Stočarstvo 62, 255-263.
14. ROSENTRATER, K. A. (2003): Performance of an electrostatic dust collection system in swine facilities. Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development. Manuscript BC 03 003. May, 2003.
15. SEEDORF, J. and J. HARTUNG (1999): Survey of ammonia concentrations in livestock buildings. J. Agric. Sci. 133, 433-437.
16. SENČIĆ, Đ., Ž. PAVIČIĆ i Ž. BUKVIĆ (1996): Intenzivno svinjogojstvo. Osijek: Biblioteka Extra Nova zemlja.
17. UREMOVIĆ, M. i Z. UREMOVIĆ (1997): Svinjogojstvo. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
18. VERSTEGEN, M., S. TAMMINGA and R. GREERS (1994): The effect of gaseous pollutants on animals. In: DEWI, I. Ap., R. F. E. AXFORD, I. F. M. MARAI and H. M. OMED: Pollution in livestock production systems. CAB International, Wallingford (71-79).
19. Von BORELL, E., D. M. BROOM, D. CSERMELY, A. A. DIJKHUIZEN, S. HYLKEMA, S. A. EDWARDS, P. JENSEN, F. MADEC and C. STAMATARIS (1997): The welfare of intensively kept pigs. Report of the Scientific Veterinary Committee (SVC). Brussels: European Commission.
20. Von BORELL, E., G. von Lengerken und A. RUDOVSKY (2002): Tiergerechte Haltung von Schweinen. In: METHLING, W. und J. UNSHELM: Umwelt- und tiergerechte Haltung von Nutz-, Heim- und Begleittieren. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin (333-368).
21. VUČEMILO, M. i A. TOFANT (2009): Praktikum - Okoliš i higijena držanja životinja. Jastrebarsko: Naklada Slap.
22. WEIDA, W. J. (2000): Concentrated animal feeding operations and the economics of efficiency. The Colorado College, Colorado Springs, Co. <http://sraproject.org/wp-content/uploads/2007/12/cafosandtheeconomicsofefficiency.pdf>
23. Pravilnik o minimalnim uvjetima za zaštitu svinja (Narodne novine, broj 119/10.).

Monitoring of Ambient Conditions in a Pig Production Service Unit

Mario OSTOVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Željko PAVIČIĆ, DVM, B. Agr. Sc., PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia; Ivica PUČKO, DVM, Veterinary Clinic ANIMA-VET Ltd., Sela, Croatia

This study examined the basic microclimate conditions and gaseous air contamination in a sow and gilt service unit. All study parameters were measured 4 times during the 28-day production cycle in all seasons. Throughout the study period, the values of all parameters measured in the service unit were within the optimal range for pigs, as follows: air temperature 15.00–23.20 °C; relative humidity 59.40–78.30%; air flow 0.05–0.42 ms⁻¹; carbon dioxide 0.05–0.29

vol.%; and ammonia 11–25 ppm. Statistically significant seasonal differences ($p < 0.05$) were found in the mean values of all parameters in the service unit air, except relative humidity and ammonia concentration ($p > 0.05$), which could be attributed to pig-trough watering, keeping animals on a slatted floor/method and the frequency of sanitary measures in the housing.

Key words: *Ambient conditions, Service unit, Swine*

Menbutil®

Menbuton 100 mg/ml

Otopina za injekciju za goveda, konje, svinje, ovce i koze

Menbutil® -djelatna tvar, menbuton, stimulira jetreno-probavnu aktivnost kod probavnih smetnji i nedostatne funkcije jetre. Menbuton potiče izlučivanje žuči i probavnih enzima tripsina i pepsina od strane gušterače i probavnog trakta. Pojačano izlučivanje žuči potiče bolje izbacivanje otpadnih tvari probave i optimizira metabolizam masti. Hrana, stoga, može biti bolje probavljena i učinkovitije metabolizirana. Mnoge bolesti kod životinja za posljedicu imaju smanjenje iskoristivosti hrane i probavne smetnje. Primjena Menbutila omogućava optimizaciju probave u takvim situacijama.



**KARENCE
ZA MESO I
MLJEKO
0 DANA**

Menbutil, 100 mg/mL, otopina za injekciju, za goveda, svinje, konje, ovce i koze.

Sastav: 1 mL otopine sadržava - djelatna tvar: Menbuton 100,0 mg; pomoćne tvari: Klorokrezol 2,0 mg, Natrijev metabisulfid (E223) 2,0 mg. Bistra blijedo-žuta otopina.

Indikacije: Poticanje jetreno-probavne aktivnosti u slučajevima probavnih poremećaja i nedostatne funkcije jetre. **Doze:** Ako se u mišić daje više od 20 mL lijeka, dozu treba rasporediti na nekoliko mjesta. Kod konja je preporučena isključivo polagana primjena u venu. **Telad do 6 mjeseci, svinje, ovce i koze:** 10 mg menbutona na kg tjelesne mase treba primijeniti duboko u mišić ili polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 10 kg tjelesne mase. **Goveda:** 5-7,5 mg menbutona na kg tjelesne mase primijeniti polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 15-20 kg tjelesne mase (npr. govedo težine 400 kg = 20-27 mL Menbutila). **Konji:** 2,5-5 mg menbutona na kg tjelesne mase primijeniti polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 20-40 kg tjelesne mase. Ukoliko je potrebno, primjena se može ponoviti nakon 24 sata.

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

**PROČITATI UPUTU O VMP
PRIJE PRIMJENE**

Parazitološka pretraga uzoraka psećih izmeta pronađenih na zelenim površinama u gradovima Zagrebu i Velikoj Gorici – intenzitet kontaminacije i njezino značenje

*Lea Lovrić, Marta Kiš, Snježana Lučinger i Tatjana Živićnjak**



Uvod

Kontaminacija javnih površina pasjim izmetom predstavlja ozbiljan javno zdravstveni problem, posebice u gradovima (Soriano i sur., 2010.). Mjesta kao što su igrališta, parkovi, vrtovi, javni trgovi i pješčanici mogu biti izvor invazije za čovjeka, kako nakon unosa razvojnih stadija parazita peroralno (p/o), ali i nakon perkutane (p/c) penetracije invazijske ličinke (Rinaldi i sur., 2006.).

Provedena su mnoga istraživanja prevalencije crijevnih parazita pasa u uzorcima nepokupljenog izmeta ili iz tla (Fok i sur., 2001., Asano i sur., 2004., Rubel i Wisnievesky, 2005., Fontanarrosa i sur., 2006., Pullola i sur., 2006., Yacob i sur., 2007., Katagiri i Oliveira-Sequeira, 2008., Soriano i sur., 2010., Stojčević i sur., 2010.) i uglavnom je dokazana visoka učestalost kontaminacije tla parazitskim elementima.

U gradu Zagrebu i gradu Velikoj Gorici takvoj kontaminaciji javnih površina najčešće nisu uzrok psi litalice,

već kućni ljubimci čiji vlasnici tijekom šetnje ne skupljaju izmet za svojim psom. Šetnja livadom, parkom ili stazom, sjedenje ili valjanje po travi nerijetko rezultira ljepljenjem izmeta nečijeg psa za obuću ili odjeću ljudi.

Dehelmintizaciju pasa provode sami vlasnici, najčešće nitko ne kontrolira učinak, a životinja koja nema zdravstvenih problema svejedno može biti invadirana endoparazitima i izlučivati izmetom razvojne stadije mnogih parazita (ciste, oociste, jaja i ličinke). Ako takav izmet nije neškodljivo uklonjen, dolazi do sukcesivne kontaminacije površina gdje razvojni stadiji parazita ostaju mjesecima pa i godinama izvor invazije za druge pse, ali i ljude.

Materijali i metode

Lokaliteti

Odabrani lokaliteti su obuhvaćali parkove i javne travnate površine na

Lea LOVRIĆ, studentica 6. godine, Marta KIŠ, studentica 6. godine, Snježana LUČINGER, dr. med. vet., stručna savjetnica, dr. sc. Tatjana ŽIVIĆNJAK*, dr. med. vet., izvanredna profesorica, (dopisni autor, e-mail: tanja.zivicnjak@gmail.com), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

kojima se okupljaju vlasnici s psima. Istraživanje je provedeno na šest lokaliteta na području grada Zagreba i šest na području grada Velike Gorice.

Lokaliteti u Zagrebu:

- zelena površina kod studentskog doma Ante Starčević
- Park kralja Petra Krešimira IV.
- Park Bartola Kašića
- Park Erazma Barčića
- Park 148. brigade
- zelena površina Veterinarskoga fakulteta

Lokaliteti u Velikoj Gorici:

- zelene površine u Ciblanici
- zelena površina u Cvjetnom naselju
- zelena površina kod Policijske postaje
- zelena površina kod Srednje škole Velika Gorica
- zelena površina u Šenoinom naselju
- zelene površine kod Trga Stjepana Radića

Uzorkovanje

Tijekom razdoblja bez oborina posjećivane su navedene lokacije i skupljeni su svi pronađeni izmeti pasa koje vlasnici nisu uklonili. Sakupljeno je 110 uzoraka u razdoblju od svibnja do studenog 2014. godine. Pronađeni su uzorci pojedinačno pakirani i označeni u plastičnim vrećicama te transportirani u laboratorij. Do obrade su čuvani u hladnjaku na + 4 °C. Uzorci su pregledani parazitološkom koprološkom pretragom u roku od nekoliko dana nakon skupljanja.

Koprolška parazitološka pretraga

Pretraga je provedena u laboratoriju Zavoda za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Od svakog pojedinačnog uzorka je napravljena flotacija sa zasićenom otopinom kuhinjske soli (Zajac

i sur., 2012.) i izravna imunofluorescencija za detekciju cista *Giardia duodenalis* i oocista *Cryptosporidium* sp. primjenom komercijalnog MERIFLUOR® *Cryptosporidium*/*Giardia* test (Meridian bioscience, SAD). Uzorak je smatran pozitivnim ako je u njemu pronađeno barem jedno parazitsko jajašce, ličinka, cista ili oocista.

Flotacija s NaCl

Nakon makroskopske pretrage i ručnog miješanja, izvagano je 5 grama izmeta i promiješano s 20 mL zasićene otopine kuhinjske soli (NaCl, spec. tež. 1,2). Suspenzija je procijeđena kroz sito (mreža Ø 0,5 mm) u plastičnu kivetu, stavljeno je pokrovno stakalce i centrifugirano 5 minuta na 1500 okretaja. Pokrovno stakalce je prebačeno na predmetno staklo i pretraženo na prisutnost parazita ili njihovih razvojnih stadija pod svjetlosnim mikroskopom (povećanje 100x i 400x).

Izravna imunofluorescencija komercijalnim testom

MERIFLUOR® *Cryptosporidium*/*Giardia* test (Meridian bioscience, SAD) se temelji na izravnom vezanju specifičnih protutijela na površinske proteine cista roda *Giardia* i oocista roda *Cryptosporidium*. Kit sadrži monoklonska protutijela obilježena fluorescein izotiocijanatom (FITC) koja se vežu na površinske proteine oocista kriptosporidija i cista giardija, što se očituje kao fluorescencija pod UV svjetlom fluorescentnog mikroskopa. Pri svakom pretraživanju uzoraka korištena je pozitivna i negativna kontrola. Uzorci su za pretragu pripremani priloženim reagensima prema uputi proizvođača. Na svaki dio predmetnice za imunofluorescenciju nanosi se 15-20 µL uzorka pripremljenog za pretraživanje i suši se 10-15 minuta na magnetskoj miješalici s grijačem. Na svaki se dio nanosi 15 µL radne otopine (PBS 200 µL + detekcijski reagens 40 µL + kontrastno sredstvo 50 µL + DAPI 3 µL). Uzorci se 60 minuta

inkubiraju u vlažnoj komori na 37 °C. Nakon inkubacije, ispiru se fosfatnim puferom (PBS, pH 7,2). Uzorci se nakon sušenja pretražuju pod UV svjetlom fluorescentnog mikroskopa (povećanje 200x i 400x).

Statistička obrada

Podatci su analizirani deskriptivnim statističkim metodama (MS Excel 2013).

Rezultati

U gradu Zagrebu je sakupljeno 77/110 uzoraka (70%), a na parazitske elemente je bio pozitivan 21 uzorak (27,3%). U gradu Velikoj Gorici je sakupljeno 33/110 uzoraka (30%), a pozitivno na parazitske elemente je bilo 8 (24,2%) uzoraka. Rezultati parazitološke pretrage po lokalitetima su prikazani u Tabeli 1., a distribucija vrsta parazita prema

Tabela 1. Rezultati parazitološke pretrage svih uzoraka po lokalitetima

LOKALITET	Broj skupljenih uzoraka po lokalitetu	POZITIVNI (%)	NEGATIVNI (%)
Studentski dom Ante Starčević	21	2 (9,5%)	19 (90,5%)
Park kralja Petra Krešimira IV.	11	0	11 (100%)
Park Bartola Kašića	14	9 (64,3%)	5 (35,7%)
Park Erazme Barčića	9	4 (44,4%)	5 (55,6%)
Park 148. brigade	3	0	3 (100%)
Veterinarski fakultet	19	6 (31,6%)	13 (68,4%)
Σ ZAGREB	77	21 (27,3%)	56 (72,7%)
Cibljanića	4	0	4 (100%)
Cvjetno naselje	4	0	4 (100%)
Policijska postaja	6	2 (33,3%)	4 (66,7%)
Srednja škola Velika Gorica	13	5 (38,5%)	8 (61,5%)
Šenoino naselje	3	1 (33,3%)	2 (66,7%)
Trg Stjepana Radića	3	0	3 (100%)
Σ V. GORICA	33	8 (24,2%)	25 (75,8%)
Σ UKUPNO	110	29 (26,4%)	81 (73,6%)

Tabela 2. Distribucija pojedinih parazita po lokalitetima

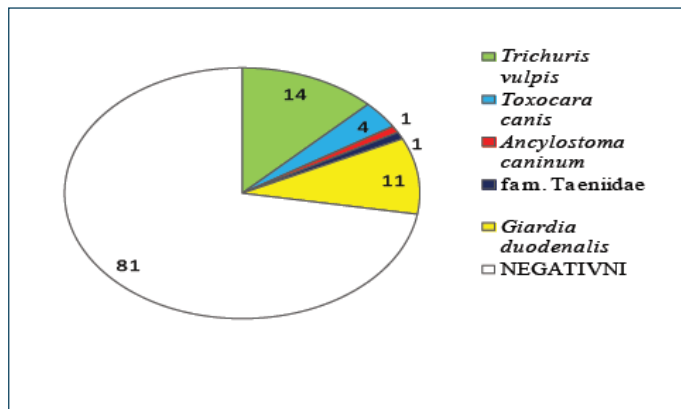
LOKALITET	<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Giardia duodenalis</i>	<i>Toxocara canis</i>	<i>Ancylostoma caninum</i>	fam. Taeniidae
Studentski dom Ante Starčević	0	2	0	0	0
Park kralja Petra Krešimira IV.	0	0	0	0	0
Park Bartola Kašića	3	5	2	0	0
Park Erazme Barčića	0	2	2	0	0
Park 148. brigade	0	0	0	0	0
Veterinarski fakultet	5	2	0	0	0
Σ ZAGREB	8 (38,0%)	11 (52,4%)	4 (19,0%)	0	0
Cibljanića	0	0	0	0	0
Cvjetno naselje	0	0	0	0	0
Policijaska postaja	1	0	0	1	0
Srednja škola Velika Gorica	4	0	0	0	1
Šenoino naselje	1	0	0	0	0
Trg Stjepana Radića	0	0	0	0	0
Σ V. GORICA	6 (75,0%)	0	0	1 (12,5%)	1 (12,5%)
Σ UKUPNO	14 (48,3%)	11 (37,9%)	4 (13,8%)	1 (3,4%)	1 (3,4%)

lokalitetima je prikazana u Tabeli 2. Zastupljenost vrsta parazita u svim pretraženim uzorcima je prikazana na Slici 1. Udio pojedinih vrsta parazita u pozitivnim uzorcima je prikazana na Slici 2.

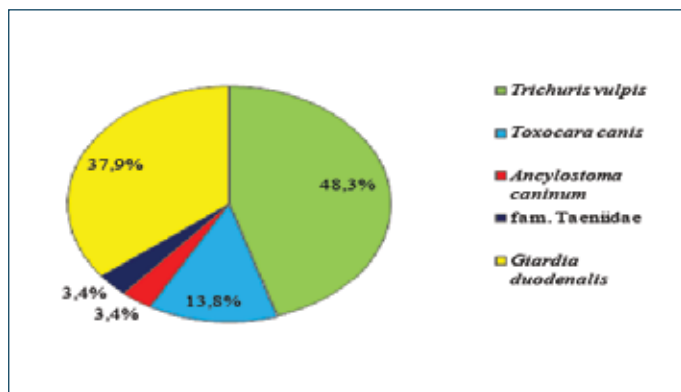
Rasprava

Prema *Naredbi o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u Republici Hrvatskoj* obvezna je dehelmintizacija pasa jednom godišnje lijekovima pripravkom

koji sadrži prazikvantel, a provodi se istovremeno s imunoprofilaksom bjesnoće (Anonymus, 2013.). Na našem tržištu su najzastupljeniji lijekoviti pripravci u obliku tableta, koji pored prazikvantela (ubija sve trakavice pasa nakon jednokratne aplikacije, ali ne sprječava reinvaziju), sadrže još pirantel i febantel (pamoat ili embonat) koji su djelotvorni za p/o liječenje invazije crijevnim oblicima, ali i za liječenje giardioze. Učinak ovisi prije svega o dozi, ali i broju dana u kojem se liječenje provodi. Međutim, takvi pripravci



Slika 1. Zastupljenost parazita prema vrstama u svim pretraženim uzorcima



Slika 2. Udio pojedinih vrsta parazita u pozitivnim uzorcima

ne sprečavaju rein vaziju (Bowman, 2009.). Neki proizvođači tableta koje sadrže kombinaciju prazikvantela s pirantelom i febantelom preporučuju „redovito preventivno“, odnosno „rutinsko“ tretiranje pasa svaka 3 mjeseca jednokratno, što i neki veterinar preporučuju vlasnicima. Nažalost, takva praksa može rezultirati s barem dva neželjena učinka: vlasnik i veterinar su uvjereni da životinja nema endoparazite osjetljive na kombinaciju prazikvantel/pirantel/febantel, iako takvo liječenje ne mora biti uspješno nakon jednokratne aplikacije (tek koprološkom pretragom se može ustanoviti je li pas prestao izmetom izlučivati parazitske elemente). S druge strane, mnogi endoparaziti pasa osjetljivi na navedenu kombinaciju lijekova imaju kraće prepatentno razdoblje od

3 mjeseca, tako da je u međuvremenu moguća invazija/reinvazija i posljedična kontaminacija okoline.

Kretanje pasa po javnim površinama uređeno je gradskom odredbom, prema kojoj je posjednik psa dužan nositi pribor za skupljanje izmeta i odložiti ga u za to predviđene kante postavljene na javnim površinama. Za nepoštivanje navedene odredbe komunalni redari mogu naplatiti novčanu kaznu od 500-1000 kuna (Anonymus, 2008.a, Anonymus, 2008.b).

Tijekom obilaska lokaliteta, uočeno je da na području gradova Zagreba i Velike Gorice nema dovoljno postavljenih kanti za odlaganje izmeta i izvjesno je da i to može biti jedan od razloga zašto mnogi vlasnici ne skupljaju izmet za svojim psom.

Na području grada Zagreba je uočena veća kontaminacija javnih površina pasjim izmetom (Tabela 1), što može biti posljedica kretanja ukupno većeg broja pasa i/ili veće neodgovornosti vlasnika, ali možda je i posljedica manje aktivnosti komunalnih redara, odnosno nedovoljnog provođenja represivnih mjera u odnosu na grad Veliku Goricu. Isto su tako primijećene i razlike u postupcima vlasnika od lokacije do lokacije u Zagrebu. U Parku 148. brigade je pronađen mali broj uzoraka, unatoč velikom broju zatečenih pasa. To može upućivati na savjesnost vlasnika koji skupljaju izmet za svojim psima. Nasuprot toga, u parku Bartola Kašića je bila opažena velika posjećenost i vrlo visoka kontaminiranost izmetima.

U Velikoj Gorici, na zelenoj površini Srednje škole Velika Gorica, zabilježena je veća kontaminacija, ali i viša posjećenost u odnosu na ostale lokalitete u tom gradu.

Uočena je podjednaka prevalencija pozitivnih uzoraka u Zagrebu i Velikoj Gorici, a ukupno je 26,4% uzoraka bilo pozitivno na parazitske elemente (Tabela 1).

Prema nekim istraživanjima, prevalencija crijevnih parazita u pasa u ukupnom broju analiziranih uzoraka varira od 17,7% u Češkoj, do 93,8% u Nigeriji (Dubná i sur., 2007., Umar, 2009.). Razlike u prevalenciji se pripisuju čimbenicima kao što su geografska širina i dužina, podrijetlo životinja, protokol uzimanja uzoraka, demografska struktura, primjena antihelmintika, ali i vrsta dijagnostičke metode (Katagiri i Oliveira-Sequeira, 2008.). Mnogi autori visoku prevalenciju u urbanim područjima pripisuju velikom broju pasa, a time i većoj kontaminaciji izmetom (Dubin i sur., 1975., Kirkpatrick, 1988.), iako je viša prevalencija intestinalnih parazita u pasa u Mađarskoj, Češkoj i Španjolskoj opisana u ruralnim područjima (Fok i sur., 2001., Dubná i

sur., 2007., Martínez-Moreno i sur., 2007.). Veća prevalencija crijevnih parazita u pasa lotalica u odnosu na kućne ljubimace utvrđena je u Španjolskoj i Brazilu (Martínez-Moreno i sur., 2007., Katagiri i Oliveira-Sequeira, 2008.).

U područjima gdje su klimatski uvjeti pogodni za preživljavanje razvojnih stadija parazita u vanjskoj sredini (toplina, vlaga), zabilježena je veća prevalencija intestinalnih parazita u pasa (Traub i sur., 2002., Wang i sur., 2006.). Zbog izrazito kišnog proljeća i ljeta 2014. godine, nije bilo izvedivo ujednačenom frekvencijom sakupljati uzorke, jer je po prestanku kiše pronađen manji broj razmočenih i ispranih uzoraka. Tijekom rujna i listopada je uslijedilo jedno dulje razdoblje bez kiše i tada je pronađen i sakupljen najveći broj uzoraka izmeta na javnim površinama.

Jaja oblića *T. vulpis* pronađena su u 14/110 uzoraka (12,7%), odnosno 48,3% pozitivnih uzoraka je sadržavao *T. vulpis* (Tabela 2; Slike 1 i 2). Prema nekim istraživanjima, prevalencija trihurisa u ukupnom broju uzoraka kretala se od 0,2% u Finskoj do 38% u Argentini (Rubel i Wisnievesky, 2005., Pullola i sur., 2006.). Oblic *Trichuris vulpis* parazitira u slijepom i debelom crijevu psa nakon p/o unosa invazijskog jajeta. Neembrionirana jaja izmetom dospijevaju u okoliš te se u njima za mjesec dana razvije invazijska ličinka. Klinički znaci variraju, a slabije invazije uglavnom prolaze asimptomatski, a kod jačih invazija uobičajen je proljev, krv i sluz u stolici, anemija pa i prolaps rektuma (Schmidt i sur., 2009.). S javno zdravstvenog stanovišta, ne smatra se zoonozom iako su zabilježeni i slučajevi invazije djece u predgrađu Indije (Mirdha i sur., 1998.). Najveći broj uzoraka s jajima oblića *T. vulpis* pronađen je na zelenoj površini Veterinarskog fakulteta (Tabela 2), što nije iznenađujuće s obzirom na pacijente i pse iz skloništa za nezbrinute životinje koji se kreću po navedenoj

zelenoj površini. Embrionirana su jaja trihurisa vrlo otporna na vanjske uvjete (rezistentni su na kemikalije, široki raspon temperature i isušivanje) i mogu preživjeti u tlu i do 7 godina (Traversa i sur., 2014.).

Ciste protozoona *G. duodenalis* pronađene su u 11/110 uzoraka (10,0%), odnosno 37,9% pozitivnih uzoraka je sadržavao *G. duodenalis* (Tabela 2; Slike 1 i 2). Dobiveni su rezultati slični rezultatima istraživanjima provedenim u Engleskoj gdje je prevalencija protozoona *G. duodenalis* u ukupnom broju analiziranih uzoraka bila 8,4% (Batchelor i sur., 2008.). Protozoon *G. duodenalis* je jednostanični bičuš koji parazitira u tankome crijevu životinja i čovjeka nakon ingestije cisti. Vegetativni oblici (trofozoiti) žive u tankome crijevu, a ciste, koje su invazijski stadij, oblikuju se u debelom crijevu te izlučuju izmetom (Thompson, 2004.). Invazije su obično subkliničke, a mlade, imunosuprimirane i u zbijenim uvjetima držane životinje češće pokazuju kliničke znakove, u smislu kroničnog proljeva i gubitka težine (Weese i sur., 2011.). Molekularnim metodama je dokazana genska raznolikost unutar vrste *G. duodenalis*, tako da je poznato 7 genskih skupina. Poznato je da skupine A i B mogu invadirati i čovjeka i psa (Schmidt i sur., 2009.). U nerazvijenim zemljama kontaminacija vode i hrane ljudskim izmetom ima ključnu ulogu u prijenosu ovog parazita, dok se u razvijenim zemljama visoka prevalencija giardija objašnjava fekalnom kontaminacijom tla animalnog podrijetla (Ponce-Macotela i sur., 2005.). Izloženost pasjem izmetu s cistama protozoona *G. duodenalis* u parkovima i ostalim javnim površinama u urbanim se sredinama smatra glavnim izvorom invazije za ljude i pse (Weese i sur., 2011.).

Jaja oblića *T. canis* su pronađena u 4/110 uzoraka (3,6%). Svi su uzorkovani na području grada Zagreba, odnosno

13,8% pozitivnih uzoraka je sadržavalo *T. canis* (Tabela 2; Slike 1 i 2). Oblič *T. canis* jedan je od najznačajnijih parazita u pasa zahvaljujući njegovoj velikoj učestalosti, prenatalnom i neonatalnom prijenosu na štenad te zoonotskom potencijalu (Greve, 1971., Overgaauw, 1997., Maizels i sur., 2006.), ali i velikoj reproduktivnoj sposobnosti ženke koja dnevno može proizvesti i do 200 000 jaja (Bowman, 2009.). Odrasli oblič parazitiraju u tankome crijevu, a tijekom razvoja nakon ingestije invazijskog jaja ovisi o dobi i spolu nosioca. U štenadi se odvija hepatotrahealna migracija koja može uzrokovati kašalj i pneumoniju, a u starijih pasa ličinke migriraju u razna tkiva (Bowman, 2009.). Klinički znaci uključuju proljev, povraćanje, usporeni rast i crijevnu opstrukciju (Bowman, 2009.). U gravidnih invadiranih kuja dolazi do reaktivacije ličinka te diaplacentnog i kolostralnog prijenosa. U ljudi se nakon ingestije invazijskog jaja može razviti sindrom visceralne larve migrans, što je posljedica migracije ličinke ovoga oblića kroz unutarnje organe (Weese i sur., 2011.). Prevalencija protutijela za *T. canis* u ljudi razlikuje se između pojedinih zemalja ovisno o socio-ekonomskom statusu, stupnju razvoja, prehrambenim navikama i klimi (Akao i Ohta, 2007., Won i sur., 2008., Prestes-Carneiro i sur., 2009.). Jaja oblića *T. canis* izmetom najčešće izlučuje štenad u dobi od 3 tjedna do 3 mjeseca te kuje, neposredno prije i poslije porođaja (Bowman, 2009.). Jaja se mogu dalje prenositi vjetrom, kišom, na obući ili putem člankonožaca (Schantz i Steher, 1988.), a godinama zadržavaju invazijsku sposobnost u okolišu (Traversa, 2012.).

Kod nas vlasnici pasa u gradovima obično ne dovode štenad na mjesta gdje ima odraslih pasa zbog bojazni od psećih zaraza. Jedan dio štenadi ne napušta kuću ili stan, ali ostale vlasnici nerijetko dovode na mjesta na kojima nema odraslih pasa (prazne livade, ali i dvorišta dječjih vrtića,

igrališta ili škola) gdje kontaminiraju tlo jajima, ako nisu redovito dehelmintizirani, a vlasnici ne pokupe izmet (Stojčević i sur., 2010.). Tijekom našeg istraživanja je pronađen je relativno mali broj uzoraka s jajima *T. canis*, što je vjerojatno posljedica skupljanja na mjestima gdje ima mnogo odraslih pasa, koja vlasnici štenadi izbjegavaju.

Jaja oblića *A. caninum* su pronađena u samo jednome uzorku (1/110; 0,9%), kao i jaja trakavice iz porodice Taeniidae (1/110; 0,9%) (Tabela 2; Slike 1 i 2). Oba su pozitivna uzorka pronađena na području Velike Gorice. Slične je rezultate opisao Soriano i sur. (2010.), gdje je prevalencija ankilostoma u ukupnom broju uzoraka iznosila 0,93%. Fontanarroza i sur. (2006.) su ustanovili prevalenciju ankilostome od 13,4% u ukupnom broju analiziranih uzoraka.

Dok do invazije s oblicem *A. caninum* dolazi nakon p/c penetracije ili p/o unosa invazijske ličinke iz okoline, odnosno galaktogeno s invadirane kuje na štenad, invazija psa trakavicom iz porodice Taeniidae je u pravilu posljedica prehrane psa sirovim mesom s vitalnim larvalnim stadijem (Bowman, 2009.). Oblic *A. caninum* parazitira u tankom crijevu psa, koji izmetom izlučuje jaja koja embrioniraju u vanjskoj sredini i oslobađa se ličinka koja se presvlači do invazijskog stadija. Nakon p/c penetracije ili p/o unosa invazijske ličinke, one migriraju preko pluća i traheje te dolaze u tanko crijevo gdje se nastavlja daljnji razvoj. Invaziju često karakterizira anemija, inapetenca, proljev i melena (Bowman, 2009.). Kod čovjeka invazijska ličinka može p/c penetrirati i prouzročiti tzv. sindrom kutane larve migrans (Bowman, 2009.), a nakon p/o unosa posljedica može biti razvoj eozinofilnog enteritisa (Prociv i Croese, 1996.).

Teniozu pasa prouzroče trakavice iz porodice Taeniidae, koje žive u tankome crijevu psa, a posrednici su domaći i divlji biljožderi i svežderi. Nositelji se

invadiraju ingestijom organa ili tkiva posrednika koji sadrže larvalne oblike, dok se posrednici invadiraju vodom ili hranom kontaminiranom jajima tenija; oslobođeni heksakantni embriji penetriraju kroz crijevnu stijenku i prenose se krvotokom do tkiva ili organa u kojima se razvija larvalni stadij. Invazija u pasa najčešće prolazi bez kliničkih znakova, iako aktivni prolazak članaka trakavica kroz rektum može izazvati pruritus koji se manifestira „sanjkanjem“ ili griženjem u području anusa (Weese i sur., 2011., Zajac i Conboy, 2012.). Invazija ljudi jajima trakavica iz porodice Taeniidae je moguća, a najopasnija i najčešća je invazija s jajima trakavice iz roda *Echinococcus*, a moguća je invazija i s rodnom *Taenia* (Weese i sur., 2011.). Posljedica je razvoj larvalnog stadija u tkivima i organima.

Kod pasa u urbanom području tenioza je obično posljedica namjernog hranjenja sirovim mesom, prema odluci nekih vlasnika kao „najzdravije“ prehrane. U ruralnim sredinama psi imaju veću mogućnost naići na odbačene organe i tkiva s vitalnim larvalnim stadijima pa je tako u Iranu kod pasa litalica ustanovljena prevalencija od 61% trakavice *T. hydatigena* u ukupnom broju analiziranih uzoraka (Adinezhadeh i sur., 2013.), a u Nigeriji 48,4% (Umar, 2009.). U Španjolskoj je prevalencija trakavica iz roda *Taenia* u pretraženim uzorcima bila 6,6%, s većom je učestalosti u pasa litalica (Martínez-Moreno i sur., 2007.). Niska prevalencija teniidnih jaja slična našoj, od 1,3% opisana je u Švicarskoj (Sager i sur., 2006.).

Koprološkom je pretragom nemoguće razlikovati jaja roda *Taenia* od jaja roda *Echinococcus* pa je svaki nalaz teniidnih jaja sumnjiv na ehinokokozu zbog javnozdravstvenog rizika (Bowman, 2009., Weese i sur., 2011.).

Budući da ne postoji djelotvorna metoda eliminacije parazitskih elemenata iz nepropusnog tla, ona zadržavaju

invazijsku sposobnost tijekom nekoliko mjeseci do nekoliko godina, prevencija kontaminacije tla je od velikog značenja (Traversa, 2014.). Sprječavanje defekacije pasa na javnim mjestima, odnosno uklanjanje pasjeg izmeta se smatra najvažnijom mjerom (Lee i sur., 2010.).

Uloga veterinarar je ključna u edukaciji vlasnika o redovitoj dehelmintizaciji i odgovarajućem načinu uklanjanja izmeta pasa s javnih, ali i privatnih površina, a u sustavu antiparazitarnog programa preporuča se i preventivna (redovna) koprološka pretraga (Robertson i Thompson, 2002., Traversa, 2014.). Unatoč tome, veliki broj veterinarar još uvijek smatra da je sama antiparazitarna terapija dovoljna za rješavanje invazija. Istraživanje u Kanadi je pokazalo da manje od polovice ispitivanih veterinarar razgovara s vlasnicima pasa o zoonotskom riziku, dok ostatak to radi samo u iznimnim slučajevima ili nikad (Stull i sur., 2007.).

Zaključak

Prema očekivanju, ustanovljeno je da kontaminacija javnih površina nepokupljenim pasjim izmetom može biti izvor invazije za druge pse, ali i ljude. Jaja oblića *T. vulpis* su pronađena u najvećem broju pozitivnih uzoraka i njihov bi se nalaz u tlu mogao smatrati indikatorom kontaminacije pasjim izmetom, ali i indikatorom slabe propusnosti tla.

Veterinarar bi trebali educirati vlasnike o potrebi skupljanja i uklanjanja izmeta pasa s javnih ali i privatnih površina, čime bi se umanjila kontaminacija, a to bi značilo i smanjenje rizika prijenosa na pse, ali i na ljude. Osim toga veterinarar bi vlasnicima trebali sugerirati rutinsko provođenje koprološke parazitarne pretrage (i liječenje prema nalazu te kontrolu po prestanku liječenja) kao učinkovitiju preventivnu mjeru od nasumičnog liječenja antihelminticima, a isto tako bi kod određenih patoloških

stanja (dugotrajni ili učestali proljev, anemija, hipoproteinemija, kašalj) trebalo napraviti parazitološku koprološku pretragu.

Pojačavanje represije od strane komunalnih inspektora (prije svega u smislu većeg broja inspektora) bi sigurno rezultiralo većim poštivanjem uredbi komunalnog reda.

Lea Lovrić i Marta Kiš dobile su Rektorovu nagradu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Tatjane Živičnjak u ak. god. 2014./15. za studentski rad istoga naslova koji je prilagođen za objavu u časopisu Veterinarska stanica.

Sažetak

Kontaminacija javnih površina psećim izmetom predstavlja ozbiljan javnozdravstveni problem, posebice u gradovima. U gradu Zagrebu i gradu Velikoj Gorici kontaminaciji javnih površina najčešće nisu uzrok psi litalice, već kućni ljubimci čiji vlasnici tijekom šetnje ne skupljaju izmet za svojim psom. Na lokalitetima koji su obuhvaćali parkove i javne travnate površine na kojima se okupljaju vlasnici sa psima tijekom razdoblja bez oborina su skupljani izmeti koje vlasnici nisu uklonili. Sakupljeno je 110 uzoraka u razdoblju od svibnja do studenoga 2014. godine. Uzorci su pregledani parazitološkom koprološkom pretragom i to flotacijom s NaCl i izravnom imunofluorescencijom komercijalnim testom (kitom). U gradu Zagrebu je skupljeno 77/110 uzoraka (70%). U gradu Velikoj Gorici je skupljeno 33/110 uzoraka (30%). Od 110 pretraženih uzoraka izmeta pasa, 29 uzoraka (26,4%) je bilo pozitivno koprološkom parazitološkom pretragom. U pozitivnim uzorcima determinirana su jaja oblića *T. vulpis* kod 14/29 (48,3%), *T. canis* 4/29 (13,8%), *A. caninum* 1/29 (3,4%), ciste protozoona *G. duodenalis* 11/29 (37,9%) i jaja trakavice fam. Taeniidae 1/29 (3,4%). Ustanovljeno je da je na ispitivanim lokalitetima kontaminacija javnih površina nepokupljenim pasjim izmetom izvor invazije za druge pse, ali i za ljude.

Ključne riječi: izmet, parazit, zoonoza, parkovi, pas

Literatura

- Anon. (2013): Zakon o veterinarstvu, Narodne novine, 82/13.
- Anon. (2008a): Službeni glasnik grada Zagreba, 21; <http://www1.zagreb.hr/slglasnik.nsf/VPD/4DCB5C47F3E13F8BC1257532003E0C9F?OpenDocument>
- Anon. (2008b): Službeni glasnik grada Velike Gorice, 6; <http://www.gorica.hr/dokumenti/službeni-glasnik/SGGVG-2008-08.pdf>
- ADINEZADEH, A., E. B. KIA, M. MOHEBALI, S. SHOJAEE, M. B. ROKNI, Z. ZAREI and G. MOWLAVI (2013): Endoparasites of stray dogs in Mashhad, Khorasan Razavi Province, Northeast Iran with special reference to zoonotic parasites. *Iran. J. Parasitol.* 8, 459–466.
- AKAO, N. and N. OHTA (2007): Toxocariasis in Japan. *Parasitol. Int.* 56, 87–93.
- ASANO, K., K. SUZUKI, T. MATSUMOTO, T. SAKAI and R. ASANO (2004): Prevalence of dogs with intestinal parasites in Tochigi, Japan in 1979, 1991 and 2002. *Vet. Parasitol.* 120, 243–248.
- BATCHELOR, D. J., S. TZANNES, P. A. GRAHAM, J. M. WASTLING, G. L. PINCHBECK and A. J. GERMAN (2008): Detection of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. *Transbound. Emerg. Dis.* 55, 99–104.
- BOWMAN, D. D. (2009): Georgis' Parasitology for Veterinarians. 9th ed., W. B. Saunders Elsevier, St. Louis. P. 451.
- DUBIN, S., S. SEGALL and J. MARTINDALE (1975): Contamination of soil in two city parks with canine nematode ova including *Toxocara canis*: a preliminary study. *Am. J. Public Health* 65, 1242–1245.
- DUBNÁ, S., I. LANGROVÁ, J. NÁPRAVNÍK, I. JANOVSÁ, J. VADLEJCH, S. PEKÁR and J. FECHTNER (2007): The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 145, 120–128.
- FOK, E., V. SZATMÁRI, K. BUSÁK and F. ROZGONYI (2001): Epidemiology: Prevalence of intestinal parasites in dogs in some urban and rural areas of Hungary. *Vet. Quart.* 23, 96–98.
- FONTANARROSA, M. F., D. VEZZANI, J. BASABE and D. F. EIRAS (2006): An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Vet. Parasitol.* 136, 283–295.
- GREVE, J. H. (1971): Age resistance to *Toxocara canis* in ascarid-free dogs. *Am. J. Vet. Res.* 32, 1185–1192.
- KATAGIRI, S. and T. C. G. OLIVEIRA-SEQUEIRA (2008): Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in Sao Paulo State, Brazil. *Zoonoses Public Health.* 55, 406–413.
- KIRKPATRICK, C. E. (1988): Epizootology of endoparasitic infections in pet dogs and cats presented to a veterinary teaching hospital. *Vet. Parasitol.* 30, 113–124.
- LEE, A. C. Y., P. M. SCHANTZ, K. R. KAZACOS, S. P. MONTGOMERY and D. D. BOWMAN (2010): Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends Parasitol.* 26, 155–161.
- MAIZELS, R. M., I. SCHABUSSOVA, D. M. CALLISTER and G. NICOLL (2006): Molecular biology and immunology of *Toxocara canis*. In: The Enigmatic Parasite (Holland, C. V., H. V. Smith, Eds.), CABI Publishing, Wallingford, pp. 3–17.
- MARTÍNEZ-MORENO, F. J., S. HERNÁNDEZ, E. LÓPEZ-COBOS, C. BECERRA, I. ACOSTA and A. MARTÍNEZ-MORENO (2007): Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Vet. Parasitol.* 143, 7–13.
- MIRDHA, B. R., Y. G. SINGH, J. C. SAMANTRAY and B. MISHRA (1998): *Trichuris vulpis* infection in slum children. *Indian J. Gastroenterol.* 17, 154.
- OVERGAAUW, P. A. M. (1997): Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. *Crit. Rev. Microbiol.* 23, 215–231.
- PONCE-MACOTELA, M., G. E. PERALTA-ABARCA and M. N. MARTÍNEZ-GORDILLO (2005): *Giardia intestinalis* and other zoonotic parasites: Prevalence in adult dogs from the southern part of Mexico City. *Vet. Parasitol.* 131, 1–4.
- PRESTES-CARNEIRO, L. E., D. H. SOUZA, G. C. MORENO, C. TROIANI, V. SANTARÉM, S. C. ZAGO, N. A. MIGUEL, S. B. FREITAS, R. FARIA, L. MARTINI, G. RUBINSKI-ELEFANT, A. IHA and A. J. VAZ (2009): Toxocariasis/cysticercosis seroprevalence in a long-term rural settlement, São Paulo, Brazil. *Parasitology* 136, 681–689.
- PROCI, P. and J. CROESE (1996): Human enteric infection with *Ancylostoma caninum*: hookworms reappraised in the light of a “new” zoonosis. *Acta Trop.* 62, 23–44.
- PULLOLA, T., J. VIERIMAA, S. SAARI, A.-M. VIRTALA, S. NIKANDER and A. SUKURA (2006): Canine intestinal helminths in Finland: Prevalence, risk factors and endoparasite control practices. *Vet. Parasitol.* 140, 321–326.
- RINALDI, L., A. BIGGERI, S. CARBONE, V. MUSELLA, D. CATELAN, V. VENEZIANO and G. CRINGOLI (2006): Canine faecal contamination and parasitic risk in the city of Naples (southern Italy). *Vet. Res.* 2, 29. doi:10.1186/1746-6148-2-29.
- ROBERTSON, I. D. and R. C. THOMPSON (2002): Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes Infect.* 4, 867–873.
- RUBEL, D. and C. WISNIEVSKY (2005): Magnitude and distribution of canine fecal contamination and helminth eggs in two areas of different urban structure, Greater Buenos Aires, Argentina. *Vet. Parasitol.* 133, 339–347.
- SAGER, H., C. STEINER MORET, F. GRIMM, P. DEPLAZES, M. G. DOHERR and B. GOTTSTEIN (2006): Coprological study on intestinal helminths in Swiss dogs: temporal aspects of anthelmintic treatment. *Parasitol. Res.* 98, 333–338.
- SCHANTZ, P. M. and J. K. STEHER (1988): *Toxocara* larva migrans. *J. Am. Med. Assoc.* 192, 28–32.
- SCHMIDT, G. D., L. S. ROBERTS and J. JANOVY JR (2009): Foundations of Parasitology. 8th ed., McGraw-Hill, New York, pp. 89–412.
- SORIANO, S. V., N. B. PIERANGELI, I. ROCCIA, H. F. J. BERGAGNA, L. E. LAZZARINI, A.

- CELESCINCO, M. S. SAIZ., A. KOSSMAN, P. A. CONTRERAS, C. ARIAS and J. A. BASUALDO (2010): A wide diversity of zoonotic intestinal parasites infects urban and rural dogs in Neuquén, Patagonia, Argentina. *Vet. Parasitol.* 168, 81-85.
32. STOJČEVIĆ, D., V. SUŠIĆ and S. LUČINGER (2010): Contamination of soil and sand with parasite elements as a risk factor for human health in public parks and playgrounds in Pula, Croatia. *Vet. arhiv* 80, 733-742.
33. STULL, J. W., A. P. CARR, B. B. CHOMEL, R. D. BERGHAUS and D. W. HIRD (2007): Small animal deworming protocols, client education, and veterinarian perception of zoonotic parasites in western Canada. *Can. Vet. J.* 48, 269-276.
34. THOMPSON, R. C. A. (2004): The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet. Parasitol.* 126, 15-35.
35. TRAUB, R. J., I. D. ROBERTSON, P. IRVING, N. MENCKE and R. C. A. THOMPSON (2002): The role of dogs in transmission of gastrointestinal parasites in a remote tea-growing community in northeastern India. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 67, 539-545.
36. TRAVERSA, D. (2012): Pet roundworms and hookworms: a continuing need for global warming. *Parasite. Vector.* 5, 91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418564/>
37. TRAVERSA, D., A. F. DI REGALBONO, A. DI CESARE, F. LA TORRE, J. DRAKE and M. PIETROBELLI (2014): Environmental contamination by canine geohelminths. *Parasite. Vector.* 7, 67. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3929561/>
38. UMAR, Y. A. (2009): Intestinal helminthoses in dogs in Kaduna Metropolis, Kaduna State, Nigeria. *Iran. J. Parasitol.* 4, 34-39.
39. WANG, C. R., J. H. QIU, J. P. ZHAO, L. M. XU, W. C. YU and X. Q. ZHU (2006): Prevalence of helminthes in adult dogs in Heilongjiang Province, the People's Republic of China. *Parasitol. Res.* 99, 627-630.
40. WEESE, J. S., A. S. PEREGRINE, M. E. C. ANDERSON and M. B. FULFORD (2011): *Parasitic Diseases. In: Companion Animal Zoonoses* (Weese, J. S., M. Fulford, Eds.), Wiley-Blackwell, Ames, Iowa pp. 3-107.
41. WON, K. Y., D. KRUSZON-MORAN, P. M. SCHANTZ and J. L. JONES (2008): National seroprevalence and risk factors for zoonotic *Toxocara* spp. infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79, 552-557.
42. YACOB, H. T., T. AYELE, R. FIKRU and A. K. BASU (2007): Gastrointestinal nematodes in dogs from Debre Zeit, Ethiopia. *Vet. Parasitol.* 148, 144-148.
43. ZAJAC, A. M., G. A. CONBOY, E. C. GREINER, S. A. SMITH and K. F. SNOWDEN (2012): *Veterinary Clinical Parasitology*. 8th ed., Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.

Parasitological Examination of Dog Faeces Samples Collected from Grassy Areas in the Cities of Zagreb and Velika Gorica – Contamination Intensity and its Significance

Lea LOVRIĆ, student 6th year, Marta KIŠ, student 6th year, Snježana LUČINGER, DVM, Expert Advisor, Tatjana ŽIVIČNJAK, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia

Contamination of public surfaces with dog faeces represents a serious public health issue, particularly in urban areas. The main cause of contamination of public surfaces in the cities of Zagreb and Velika Gorica are not stray dogs, but pet owners who do not clean up after their animals. Dog faeces were collected at sites including parks and public grass areas where dog owners gather, during periods without rain. A total of 110 samples were collected from May to November 2014. Samples were examined by parasitological coprological examination and flotation with NaCl and direct immunofluorescence commercial test (kit). Of the total 110 samples,

77 (70%) were collected in Zagreb and 33 (30%) in Velika Gorica. Among the samples, 29 (26.4%) tested positive for coprological parasitological examination. Positive samples contained nematode eggs *T. vulpis* in 14/29 (48.3%), *T. canis* in 4/29 (13.8%), *A. caninum* in 1/29 (3.4%), cysts of protozoan *G. duodenalis* in 11/29 (37.9%) and eggs of tapeworm fam. Taeniidae in 1/29 (3.4%) samples. These results indicate that canine faecal contamination of investigated public surfaces represents a source of infection for dogs and humans.

Key words: *Faeces, Parasite, Zoonosis, Parks, Dogs*



Harmonija druženja

Dehinel[®] Plus &

*1 tableta
sadržava:*

febantel 150 mg
pirantel embonat 144 mg
prazikvantel 50 mg

flavour
tablete

Dehinel[®] Plus XL

tablete

1 tableta sadržava:

febantel 525 mg
pirantel embonat 504 mg
prazikvantel 175 mg

Antiparazitik za pse (nematocid, cestocid)

- Za pse male i srednje veličine
- Preporučena doza – 1 tableta na 10 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.
- Za velike i vrlo velike pse
- Preporučena doza – 1 tableta na 35 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.

Prije korištenja priprema pročitajte cijelu verificiranu uputu za uporabu o glavnim karakteristikama proizvoda.



 **KRKA**

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

Utjecaj prihrane pčela dodatkom hrani BeeWell AminoPlus na broj spora *Nosema* sp. – preliminarno istraživanje

Maja Krznar, Jasna Ribarić, K. Pužar, D. Cvitković,
Srebrenka Nejedli i Ivana Tlak Gajger*



Uvod

Medonosnu pčelu (*Apis mellifera*) zbog njenih dobrih bioloških i proizvodnih osobina smatramo najpogodnijom vrstom pčela za suvremeni način pčelarenja. U svjetskom je gospodarstvu najznačajniji koristan kukac, jer se smatra izravnim i neizravnim proizvođačem visokovrijednih i lakoprobavljivih namirnica animalnog podrijetla. Među najučestalijim bolestima odraslih pčela ističe se nozemoza. To je nametnička bolest raširena posvuda u svijetu (Klee i sur., 2007., Giersch i sur., 2009.) koju prouzroče mikrosporidije *Nosema apis* (Zander, 1909.) i *Nosema ceranae* (Fries, 1995.). Učinak nozemoze na pčele manifestira se na način da prerano postanu skupljačice. Zbog patoloških promjena na epitelnim stanicama srednjeg crijeva i poremećaja u procesima probave i metabolizma dolazi do neishranjenosti zaraženih pčela te posljedično preranog ugibanja (Malone

i sur., 1995.) koje može rezultirati propadanjem pčelinje zajednice (Morse i Shimanuki, 1990.). *N. ceranae* se danas smatra puno virulentnijim i opasnijim nametnikom od *N. apis* (Higes i sur., 2007., Paxson i sur., 2007., Fries, 2010.), a invazije su prisutne tijekom cijele godine (Higes i sur., 2010.). Osim što je praktički preskočila zapreku prirodnog nositelja te s azijske prešla i prilagodila se na europsku medonosnu pčelu, utvrđeno je da je došlo i do promjene tropizma uzročnika. Naime, osim u epitelnim stanicama srednjeg crijeva, genetski materijal uzročnika utvrđen je i u drugim organima i tkivima kao što su: masno – bjelanjčevinasto tijelo, Malphigijeve cjevčice te mliječna i slinska žlijezda. Takav izmijenjeni tropizam može prouzročiti puno različitije patološke promjene kao i težu kliničku sliku pri kojoj vrlo često ne postoje ili nisu vidljivi

Maja KRZNAR, dr. med. vet., Veterinarska stanica Vrbovec, Hrvatska; Jasna RIBARIĆ, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane, Zagreb, Hrvatska; Krunoslav PUŽAR, dr. med. vet., Zen-Vet d.o.o., Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Denis CVITKOVIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Srebrenka NEJEDLI, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Ivana TLAK GAJGER*, dr. med. vet., izvanredna profesorica, (dopisni autor, e-mail: itlak@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

znaci bolesti karakteristični za klasičnu nozemozu.

Dok invazija s *N. apis* aktivira, invazija *N. ceranae* suprimira, odnosno zaustavlja imunosni odgovor u organizmu medonosne pčele i tako čini invadirane pčele prijemljivijima za različite virusne bolesti, a u kombinaciji istodobne invazije grinjom *Varroa destructor*, može dovesti i do propadanja pčelinje zajednice (Antunez i sur., 2009.).

Pčelari često nozemozi tipa C ne pridaju dovoljno važnosti zato što bolesne pčele obično ugibaju izvan košnice, a zbog nedostatka vidljivih znakova bolest je teško zamjetljiva. Iz tih razloga naziva ju se i "tihi ubojica" (Hornitzky, 2005.). Problem u liječenju nozemoze predstavlja činjenica da važeći normativni akti u Europskoj uniji (EU) ne dopuštaju uporabu antibiotika za liječenje pčelinjih bolesti (EU 3/01/081). Razlog tome su moguće pojave rezistencije na višekratno rabljene kemoterapeutike, recidive bolesti, utvrđivanje štetnih tvari (rezidua) antibiotika ili njihovih sekundarnih metabolita u pčelinjim proizvodima i prikrivanje bolesti. Da bi se smanjila mogućnost pojave rezidua, u zemljama izvan Europe, fumagilin je dopušteno upotrebljavati samo tijekom ograničenog razdoblja nakon pašne sezone i u razmacima od pola godine. Međutim, utvrđeno je da male koncentracije mijenjaju sastav strukturalnih i metaboličkih bjelančevina u tkivu srednjeg crijeva tretiranih pčela. Posljedično tome primijenjeni antibiotik ne zaustavlja niti ne suprimira umnažanje mikrosporidija, već može povećati učestalost *N. ceranae* invazija i omogućiti povećano stvaranje spora. Također, smatra se da je uporaba fumagilina mogući čimbenik u zamjeni *N. apis* s *N. ceranae* u pčelinjim zajednicama i pčelinjacima rasprostranjenim diljem SAD-a (Huang i sur., 2013.). Stoga u kontroliranju nozemoze tipa C postoji

velika potreba za uporabom prirodnih fitofarmakoloških pripravaka (Tlak Gajger, 2011.), odnosno dodataka hrani za pčele.

BeeWell AminoPlus je dodatak hrani za pčele koji sadrži brojne aminokiseline i vitamine. Koristi se kao dodatna terapija i prevencija prilikom poremećenog zdravstvenog stanja pčela prouzročenog stresom i/ili bolestima te za poboljšanje plodnosti u pčela. Preporuča se u prihrani pčelinjih zajednica, jer jača imunitet i poboljšava opće stanje organizma te ima povoljan učinak pri suzbijanju bolesti pčela, posebice nozemoze tipa C. S obzirom na navedene prednosti pripravka BeeWell Aminoplus, cilj ovog istraživanja je istražiti učinkovitost prihrane pčela ovim pripravcima te utvrditi utjecaj takve prihrane na broj spora *Nosema* sp.

Materijali i metode

Prihranjivanje pčelinjih zajednica BeeWell Aminoplus dodatkom hrani

Pokus je postavljen na ukupno deset pčelinjih zajednica prirodno invadiranih sporama *N. ceranae* čije smo košnice označili s A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3 i C4. Pčelinje zajednice označene slovom A (košnice A1, A2, A3) i slovom B (košnice B1, B2, B3) predstavljale su pokusnu skupinu, a pčelinje zajednice označene slovom C (košnice C1, C2, C3 i C4) predstavljale su kontrolnu skupinu. Zbog različite vrste prihrane i radi lakšeg raspoznavanja, kontrolnu skupinu C podijelili smo u dvije podskupine: kontrolnu skupinu C1 (košnice C1 i C2) te kontrolnu skupinu C2 (košnice C3 i C4).

Pokusnu skupinu A prihranjivali smo šećernim sirupom s dodatkom BeeWell AminoPlus pripravka, a pokusnu skupinu B pogačom s dodatkom BeeWell AminoPlus pripravka. Kontrolnu skupinu C prihranjivali smo šećernim sirupom i pogačom bez dodataka. Pokusne pčelinje zajednice prihranjivali

smo jednom dnevno, rano ujutro. Kontrolna skupina A dobivala je po 0,5 mL BeeWell AminoPlus pripravka u pola litre šećernog sirupa pripremljenog u omjeru 1:1, a skupina B isto tako 0,5 mL navedenog pripravka u pola kilograma pogače pripremljene od šećera u prahu i pekarskog kvasca. Svježe pripremljenu suspenziju šećernog sirupa, odnosno pogače, odnosno pogače, u hranilicu smo stavili poklopac te zatvorili ju krovom košnice. Dozu smo odredili na osnovu uputa proizvođača navedenog pripravka za prihranjivanje pčela.

Pokusne i kontrolne skupine pčelinjih zajednica prihranjivali smo uzastopno tijekom 30 dana. Svaka pojedina pčelinja zajednica iz kontrolne skupine dobivala je istu količinu šećernog sirupa, odnosno pogače bez dodatka pripravka, pripremljenog i primijenjenog na jednaki način.

Uzorkovanje

Prije početka prihranjivanja pokusnih i kontrolnih pčelinjih zajednica, a zatim 15. i 30. dana nakon početka prihranjivanja, uzeli smo po 30 do 40 pčela skupljačica koje smo dugom pincetom uhvatili u letu pri povratku s paše. Uхваćene pčele stavljali smo u označene plastične čaše s čvrstim poklopcem i dostavili u laboratorij. Dvadesetak pčela iz svakog uzorka uporabili smo za laboratorijsko utvrđivanje broja spora *Nosema* sp., a preostale za molekularno diferencijalno dijagnosticiranje vrsne specifičnosti.

Laboratorijske pretrage

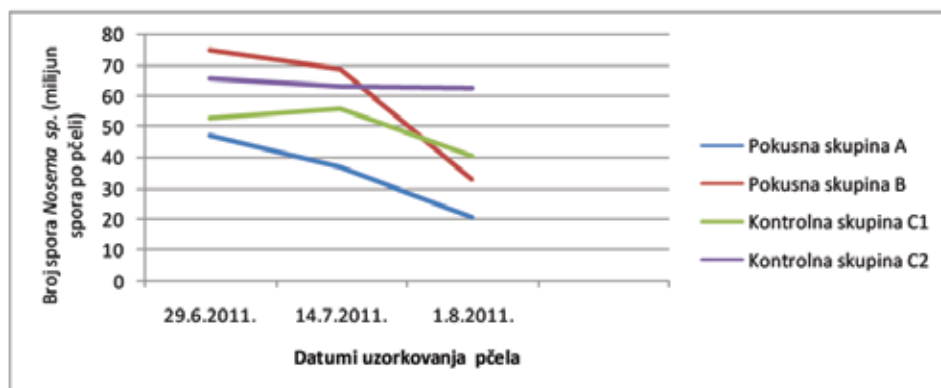
Za laboratorijsko utvrđivanje nozemoze pouzdana je mikroskopska pretraga crijevnog sadržaja pčela, odnosno nalaz karakterističnih ovalnih spora nametnika u crijevnom sadržaju invadiranih pčela. Od molekularnih metoda koje se rabe za rutinsku diferencijalnu dijagnostiku *N. apis* i *N. ceranae* najčešća i najjednostavnija metoda je višestruki PCR.

Dostavljene uzorke pčela u laboratorij mikroskopski smo pretražili

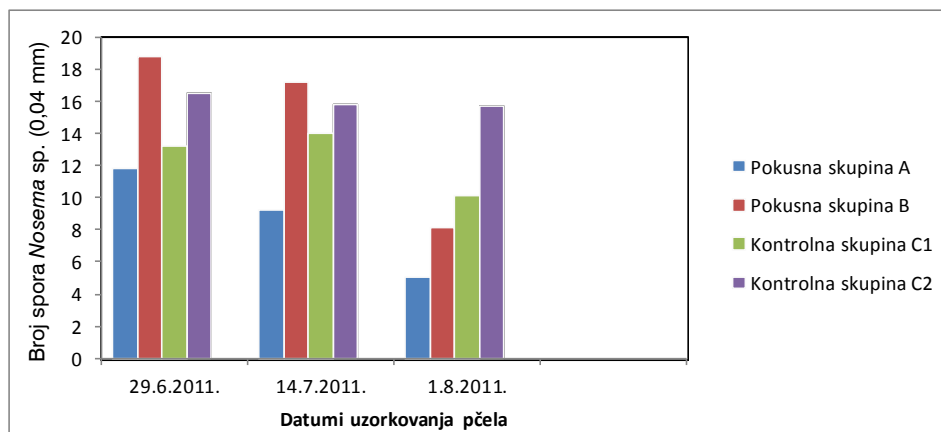
na prisutnost spora *Nosema* sp. Pri tome smo po 10 pčela iz svakog uzorka zgnječili plastičnim štapićem u posudici u koju smo dodali 10 mL destilirane vode. Nativne razmaze crijevnog sadržaja dobivene na opisani način pretražili smo svjetlosnim mikroskopom Olympus BX41 pod povećanjem 400 puta i faznim kontrastom. Broj spora *Nosema* sp. utvrdili smo brojanjem spora pomoću hemocitometra po Bürker-Türku (Cantwell, 1970.).

Iste uzorke zgnječenih pčela rabili smo za izdvajanje spora *Nosema* sp. Da bismo izazvali mehaničko pucanje spora od svake suspenzije pojedinog uzorka odmjerali smo količinu od 50 μ L i prelili u novu Ependorf tubicu koju smo zagrijavali u termobloku pri 100 °C tijekom 30 minuta. Izdvajanje genomske DNK proveli smo na način da smo prokuhane uzorke spora centrifugirali na 14000 g tijekom deset minuta. Zatim smo 30 μ L nadtaloga izdvojili i nadopunili s 10x TE pufera do konačne koncentracije od 10 mM i 5 mM EDTA, pri pH 8. Navedeni nadtalog nam je služio kao izvor DNK za daljne analize. Uzorci su pohranjeni na temperaturi -20 °C ili smo ih izravno koristi za višestruki PCR.

PCR reakciju pokrenuli smo početnom denaturacijom tijekom dvije minute na 94 °C, slijedila je denaturacija u 10 ciklusa po 10 sekundi na 94 °C, 15 sekundi na 60 °C i 30 sekundi na 70 °C te 25 ciklusa po 10 sekundi na 94 °C, 15 sekundi na 62 °C, 30 sekundi na 72 °C plus dvije sekunde elongacije lanca za svaki ciklus i završili konačnom elongacijom pri 72 °C tijekom 7 minuta. PCR postupak izveli smo prema uputama proizvođača *Taq* polimeraze (Sigma, SAD). Smjesa za PCR reakciju sadržavala je koncentraciju od 200 μ M za svaki dNTP, 3 mM $MgCl_2$, 0,5 μ M prednje i stražnje početnice i 1 jedinicu *Taq* DNK polimeraze. Navedenoj smjesi smo za PCR reakciju dodali po 4 μ L izdvojenog DNK uzorka.



Grafikon 1. Srednja vrijednost broja spora *Nosema* sp. (milijun spora po pčeli) prije, tijekom i nakon prihranjivanja pojedinih pčelinjih zajednica šećernim sirupom i pogačom sa i bez BeeWell Aminoplus dodatka hrani.



Grafikon 2. Srednja vrijednost broja spora *Nosema* sp. (0,04 mm) prije, tijekom i nakon prihranjivanja pokusnih i kontrolnih pčelinjih zajednica.

* $p < 0,05$

Molekularnu veličinu PCR proizvoda smo odredili elektroforezom u 2% - tnom agarozu TAE (tris-acetat-etilen diamin tetra octena kiselina) gelu sa standardnim TAE puferom obojenim sa SYBR zelenom bojom. U svrhu vizualizacije koristili smo UviTec gel dokumentacijski sustav.

Statistička analiza

Statistička analiza provedena je programom Microsoft Office Excel.

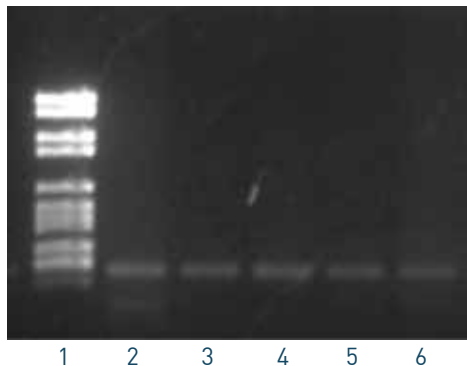
Statistički značajne razlike izražavane su na razini vjerojatnosti od 0,05 i provjerene t-testom.

Rezultati

Rezultati mikroskopske pretrage na prisutnost spora *Nosema* sp. prije početka te nakon 15. i 30. dana od početka prihranjivanja pčelinjih zajednica šećernim sirupom i pogačom sa ili bez BeeWell Aminoplus dodatka hrani

prikazani su u tabeli 1., grafikonima 1. i 2. te slici 1.

Rezultati PCR umnažanja uporabom generičkih parova nosema početnica isti su s rezultatima umnažanja *N. ceranae* sa specifičnim parom početnica. Svi su pretraženi uzorci pčela pozitivni na prisutnost *N. ceranae*, a svi negativni na prisutnost nametnika *N. apis*.



Slika 1. Rezultati elektroforeze PCR proizvoda za pretražene uzorke pčela. [Kolona 1. – standard molekularnih veličina; Kolona 2. – pozitivna kontrola za *N. ceranae*; Kolona 3. – 6. – ispitivani uzorci pozitivni na *N. ceranae*].

Rasprava

Nozemoza je nametnička bolest odraslih pčela kojoj se zbog nedostatka vidljivih znakova bolesti i posebnog načina sanacije bolesti tehnološkim postupkom prevješavanja, odnosno izmjenjivanjem okvira s leglom, često ne pridaje dovoljno pozornosti. Nozemoza prouzročena mikrosporidijom *N. ceranae* je asimptomatske i asezonalne prirode, a posljedično tome kliničkim pregledom pčelinjih zajednica teško primjetna bolest. Smatra se i da jake invazije pčelinjih zajednica mogu prouzročiti nagla uginuća ili znatno smanjenje broja pčela skupljačica (Martin Hernadez i sur., 2007.). Rezultatima diferencijalno - dijagnostičkog razlikovanja vrsne pripadnosti utvrđenih spora *Nosema*

sp. u ovom istraživanju potvrđena je prisutnost samo *N. ceranae*. Time smo potvrdili rezultate prethodno provedenih istraživanja o prevalenciji i raširenosti istog uzročnika bolesti na pojedinim područjima RH (Grilec, 2010., Tlak Gajger i sur., 2010.a, 2010.b).

Budući da na području EU uporaba antibiotika u liječenju pčelinjih bolesti nije dopuštena, bolest predstavlja ozbiljnu prijetnju suvremenom načinu pčelarenja. Za istu bolest je utvrđen značajan imunodepresivan učinak na invadirane pčele, a istodobna jaka invazija grinjom *V. destructor* može biti pogubna. Sukladno podacima o sastavu BeeWell AminoPlus pripravaka i naputcima proizvođača za njegovu uporabu navedeni pripravak bi trebao pokazati povoljno djelovanje pri suzbijanju niza poremećaja i bolesti pčela. Budući da su bjelančevine vrlo važan dio ishrane pčela i to primarno za razmnožavanje, uzgoj i negu legla (Herbert, 1999.), kvalitetu i dugoživost matice te jačinu imunološkog sustava, smatramo da bi uporabljeni dodatak hrani mogao imati znatan učinak pri smanjenju broja spora *N. ceranae* u prirodno invadiranim pčelinjim zajednicama u odnosu na kontrolne skupine.

Kod nedostatnog unosa bjelančevina, a posebice esencijalnih aminokiselina, može se smanjiti količina uzgajanog legla u pčelinjim zajednicama čime se posljedično smanjuje i broj skupljačica, a što, uspoređujući s učincima nozemoze, izaziva iste posljedice. Stoga, dodatnim unošenjem niza amonokiselina koje sadrži istraživani dodatak hrani za pčele, predviđamo dobre rezultate u smislu smanjenja broja spora *N. ceranae* nakon njegove primjene, a kao posljedice povoljnog djelovanja na imunološki sustav pojedinačne pčele.

Rezultati ovog preliminarnog istraživanja pokazali su povoljni učinak prihranjivanja pčelinjih zajednica dodatkom hrani BeeWell AminoPlus

Tabela 1. Srednja vrijednost broja spora (0,04 mm) *Nosema* sp. utvrđenih prije, tijekom i nakon prihranjivanja pojedinih pčelinjih zajednica šećernim sirupom i pogačom sa i bez BeeWell Aminoplus dodatka hrani.

Pčelinje zajednice	Redni br. pčelinje zajednice	Uzorkovanje prije početka prihranjivanja	Uzorkovanje	
			15.	30.
			dan nakon početka prihranjivanja BeeWell AminoPlus pripravkom	
		Srednja vrijednost broja spora <i>Nosema</i> sp.		
Pokusna skupina (s dodatkom BeeWell AminoPlus)	1.	45	15	11
	2.	34	27	35
	3.	63	70	14
	4.	90	81	21
	5.	75	60	53
	6.	55	66	24
Kontrolna skupina (bez dodatka BeeWell AminoPlus)	7.	54	55	52
	8.	52	56	29
	9.	64	64	64
	10.	68	63	62

na smanjenje broja spora *N. ceranae* u odnosu na kontrolnu skupinu. Pri tome je 15. dana nakon početka prihranjivanja u uzorcima pčela utvrđeno smanjenje broja spora istraživanog nametnika za 11,87%, a 30. dana 56,35% u odnosu na broj spora utvrđen prije početka prihranjivanja. Isto je tako 30. dana utvrđeno smanjenje broja spora *N. ceranae* za 43,64% u odnosu na prethodno uzorkovanje. U pokusnim skupinama prihranjivanih šećernim sirupom 15. dana je utvrđeno smanjenje spora za 21,1% a 30. dana za 57,74%. Pokusne skupine prihranjivane pogačom pokazale su smanjenje broja spora 15. dana za 5,9%, a 30. dana za 55,45%. U kontrolnim skupinama pčelinjih zajednica utvrđena je razlika u broju utvrđenih spora *N. ceranae*, no tek 30. dana od prvog uzorkovanja i to svega 13%, dok je nakon 15. dana broj spora u pretraživanim uzorcima ostao isti kao pri inicijalnom uzorkovanju.

U svrhu razjašnjavanja mogućnosti povoljnog djelovanja istraživanog dodat-

ka hrani za pčele na imunološki sustav pčela nužno je daljnja istraživanja u poljskim uvjetima na proizvodnim zajednicama provoditi tijekom dužih razdoblja, usmjeriti ih na histološke analize građe srednjeg crijeva te utvrđivanja prisutnosti mukopolisaharida i aktivnosti probavnih enzima odraslih pčela skupljačica podrijetlom iz prihranjivanih zajednica.

Sažetak

U suvremenom pčelarenju, nozemoza je nametnička, gospodarski vrlo značajna bolest odraslih medonosnih pčela prouzročena mikrosporidijama *Nosema apis* i *Nosema ceranae*. Parazitiranjem uzročnika u epitelnim stanicama srednjeg crijeva, dolazi do poremećaja u probavi i metabolizmu te iskorištavanju hranjivih tvari što u konačnici može dovesti do slabljenja ili propadanja pčelinje zajednice. Aminokiseline su neophodni sastavni dio ishrane medonosnih pčela. Osim za normalan rast i razvoj, aminokiseline su potrebne za fiziološki razvoj i proizvodnju mliječne i vo-

skovne žlijezde te posljedično, besprijeckorno obavljanje kućnih zadataka u pčelinjoj zajednici. Kako je pelud jedini izvor aminokiselina u ishrani pčela, pčelinje zajednice je potrebno prihranjivati bjelačevinastim nadomjescima u razdobljima nedostatne ili onemogućene opskrbe potrebnim peludom. Beewell Amino-Plus je dodatak hrani koji sadrži kombinaciju aminokiselina i vitamina potrebnih u ishrani svake pčelinje zajednice. Cilj ovog rada je ustvrditi utjecaj navedenog dodatka hrani na broj spora *Nosema* sp. u prirodno invadiranim pčelinjim zajednicama.

Ključne riječi: nozemoza, Beewell Amino-Plus, pčele

Literatura

1. ANTUNEZ, K., R. MARTIN – HERNANDEZ, L. PREIETO, A. MEANA, P. ZUNINO and M. HIGES (2009): Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environ. Microbiol.* Doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01953.x.
2. CANTWELL, G. E. (1970): Standard methods for counting *Nosema* spores. *Am. Bee J.* 110, 222-223.
3. FRIES, I. (1995): *Nosema apis* – a parasite in the honey bee colony. *Bee World* 74, 5-19.
4. FRIES, I. (2010): *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*), *J. Invertebr. Pathol.* 103, 73-79.
5. GIERSCHE, T., T. BERG, F. GALEA and M. HORNITZSKY (2009): *Nosema ceranae* infects honey bees (*Apis mellifera*) and contaminates honey in Australia. *Apidologie* 40, 117-123.
6. GRILEC, D. (2010): Raširenost *Nosema ceranae* na pčelinjacima u Koprivničko – križevačkoj županiji. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
7. HERBERT, E. W. (1999): Honey bee nutrition. In Graham, J. M. (ed.). *The hive and the honey bee*. Dadant and Sons; Carthage, Illinois, USA, 197-223.
8. HIGES, M., M. J. NOZAL, A. ALVARO, L. BARRIOS and A. MEANA (2010): The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. *Apidologie* 42, 364-377.
9. HIGES, M., P. GARCIA-PALENCIA, R. MARTIN-HERNANDEZ and A. MEANA (2007): Experimental infection of *Apis mellifera* honeybee with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *J. Invertebr. Pathol.* 94, 211-217.
10. HORNITZKY, M. (2005): A report for the Rural Industries Research and Development Corporations. Publication No. 03/028. Rural Industries Research and Development Corporation, Barton, Australia, 1-16.
11. HUANG, W-F., L. F. SOLTER, P. M. YAU and B. S. IMAI (2013): *Nosema ceranae* Escapes Fumagillin Control in Honey Bees. *PLoS Pathog* 9, 3. e1003185. doi:10.1371/journal.ppat.1003185.
12. KLEE, J., A. M. BESANA, E. GENERSCH, S. GISDER, A. NANETTI, D. Q. TAM, T. X. CHINH, F. PUERTA, J. M. RUZ, P. KRYGER, D. MESSAGE, F. HATJINA, S. KORPELA, I. FRIES and R. J. PAXTON (2007): Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.* 96, 1-10.
13. MALONE, L. A., H. A. GIACON and M. R. NEWTON (1995): Comparison of the responses of some New Zealand and Australian honey bees (*Apis mellifera*) to *Nosema apis*. *Z. Apidologie* 2, 495-502.
14. MARTIN-HERNANDEZ, R., L. PRIETO, A. MARTINEZ SALVADOR, E. GARRIDO-BAILON and M. HIGES (2007): Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 6331-6338.
15. MORSE, R. A. and H. SHIMANUKI (1990): Summary of control methods. U: *Honey Bee Pests, Predators and Diseases*. 2nd ed., Morse, R. A., Nowogrodzki, R. (eds.) Cornell University Press, Ithaca and London, 341-354.
16. PAXON, R. J., J. KLEE, S. KORPELA and I. FRIES (2007): *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38, 558-565.
17. TLAK GAJGER, I., O. VUGREK, Z. PETRINEC, D. GRILEC and Z. TOMLIJANOVIĆ (2010a): Detection of *Nosema ceranae* in honey bees from Croatia. *J. Apicul. Res.* 49, 340-341.
18. TLAK GAJGER, I., O. VUGREK, D. GRILEC and Z. PETRINEC (2010b): Prevalence and distribution of *Nosema ceranae* in Croatian honeybee colonies. *Vet. Med.* 55, 457-462.
19. TLAK GAJGER, I., Z. KOZARIĆ, D. BERTA, S. NEJEDLI and Z. PETRINEC (2011): Effect of the herbal preparation Nozevit on the mid-gut structure of honeybees (*Apis mellifera*) infected with *Nosema* sp. spores. *Vet. Med.* 56, 343-350.
20. ZANDER, E. (1909): Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Münchener Bienenzeitung* 31, 196-204.

Influence of Supplementary Feeding of Bees with BeeWell AminoPlus on the Number of Spores of *Nosema* sp. – a Preliminary Study

Maja KRZNAR, DVM, Veterinary Practice Vrbovec, Croatia; Jasna RIBARIĆ, DVM, Ministry of Agriculture, Veterinary and Food Safety Directorate, Zagreb, Croatia; Krunoslav PUŽAR, DVM, Zen-Vet d.o.o., Zagreb, Croatia; Denis CVITKOVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Srebrenka NEJEDLI, DVM, PhD, Full Professor, Ivana TLAK GAJGER, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

In modern beekeeping, the *Nosema* disease is a parasitic, economically very important disease of adult honeybees. The disease agents are the microsporidia species *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. These parasitic agents lead to disturbances in the digestion and utilization of nutrients in the midgut epithelial cells, which can ultimately lead to the weakening or deterioration of affected honeybee colonies. Amino acids are an essential part of the honeybee diet, and are necessary for normal growth and development, for the production of royal jelly and beeswax, and ultimately, for the

smooth functioning of household tasks in honeybee colonies. Since pollen is the sole source of amino acids in the honeybee diet, each colony requires supplemental feeding for proteinaceous restoration during periods of insufficient supply of the necessary pollen. Beewell AminoPlus is dietary supplement for honeybees that contains a combination of amino acids and vitamins. The objective of this study was to determinate the effect of this product on the number of spores *Nosema* sp. in naturally infected honeybee colonies.

Key words: *Nosemosis*, *BeeWell AminoPlus*, *Bees*

Toksični metali - bioindikatori zagađenja u morskom okolišu - I. dio: kadmij i olovo

Marija Sedak, Nina Bilandžić, B. Čalopek, Maja Đokić,
Božica Solomun Kolanović, Ivana Varenina, Đurđica Božić,
Ines Varga, B. Šimić, Martina Đuras i T. Gomerčić*



Uvod

Tijekom proteklih 200 godina postupno povećanje antropogenih aktivnosti poput potrošnje fosilnih goriva, metalne industrije, taljenja, primjene umjetnih gnojiva, spaljivanje komunalnog otpada omogućili su mobilizaciju toksičnih metala iz zemljine kore (geosfere) u globalni okoliš (hidrosferu, atmosferu i biosferu). Ukupna koncentracija žive u alpskom snijegu (Mont Blanc, Francuska) je porasla pet puta u razdoblju od 1885. do 1965. godine. Kvantitativna procjena svjetske antropogene zagađenosti zraka, vode i tla s toksičnim metalima pokazala je da ljudske aktivnosti znatno narušavaju biogeokemijske cikluse najmanje jedanaest elemenata na globalnoj razini (Gailer, 2007.). Osnovni razlog zabrinutosti obzirom na povećane koncentracije toksičnih metala u okolišu je da svakodnevnim unosom relativno malih doza dolazi do dramatičnih zdravstvenih učinaka kod čovjeka. Na primjer, dnevni unos od 200 do 250 µg anorganskog arsena može rezultirati pojavom karcinoma (Marcus i

Rispin, 1988.). Dakle, izlaganje ljudske populacije povećanim prehrambenim razinama anorganskih i organskih oblika toksičnih metala značajno povećava rizik od kroničnih bolesti.

Metali u morski okoliš dospijevaju iz prirodnih izvora (npr. trošenjem stijena), kao i ljudskih aktivnosti (npr. rudarstvo). Mogu se akumulirati u morskim organizmima raznim putevima, uključujući disanje, adsorpciju i gutanje. Hranidbene navike i brzina resorpcije važni su čimbenici u procjeni koncentracije metala u tim organizmima. U zagađenim morskim sustavima, koncentracije toksičnih metala u sedimentima nekoliko puta su više od onih u živim organizmima. Kako morski sisavci ne dišu pomoću škrga, njihov se unos metala izravno iz vode može zanemariti. Tri glavna puta unosa metala su preko posteljice prije rođenja, mlijekom tijekom razdoblja sisanja te unosom hrane. Dakle, nakon perioda laktacije kod morskih sisavaca unos metala je u njihov

Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ*, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, (dopisni autor, e-mail: bilandzic@veinst.hr), Bruno ČALOPEK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ines VARGA, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Branimir ŠIMIĆ, dipl. ing., redoviti profesor, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Martina ĐURAS, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Tomislav GOMERČIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

organizam uglavnom putem hrane, a takav unos može dovesti do nakupljanja elemenata u tkivima (Zhou i sur., 2001.).

Uporaba biomarkera u vodenim organizmima vrlo je važna radi rješavanja širokog spektra industrijskih, poljoprivrednih, komercijalnih i domaćih štetnih tvari koja dopijevaju u okoliš i integriraju se u tkivima vodenih organizama.

Biomarkeri mogu poslužiti kao prognostički alat za povećane razine onečišćenja. Definiraju se kao funkcionalna mjera izloženosti kemijskim i fizikalnim zagađivačima (Tosti i Gallo, 2012.). Metode procjene rizika pružaju kvantitativnu procjenu vjerojatnosti štetnog učinka koji je nastao kao posljedica onečišćenja okoliša uslijed različitih mješavina kemijskih zagađivača koje mogu djelovati i sinergijski. Ekotoksikološke studije koriste biomarkere u svrhu utvrđivanja rizika od onečišćenja okoliša na ključne komponente u ekosustavu.

Stanište i prehrana morske sisavce čini idealnim indikatorima zdravlja vodenog ekosustava (Van der Schalie i sur., 1999.). Povećane koncentracije teških metala mogu prouzročiti promjene imunološkog sustava i mijenjati podložnost bolesti životinje (Lapierre i sur., 1999.). Dugoročne posljedice klimatskih i okolišnih promjena zasigurno utječu na nastanak bolesti morskih biljaka i životinja. Koncept morskih organizama kao indikatora („sentinel“ vrsta) pruža pristup procjene stanja vodenih ekosustava. Takvi indikatori su barometri za postojeće ili potencijalno negativne učinke na razini zdravlja životinja. S druge strane, pomoću morskih indikatora omogućuje se bolja karakterizacija i upravljanje čimbenicima koji u konačnici utječu na zdravlje životinja i ljudi, a povezani su s morskim okolišem. Morski sisavci su važna indikatorska vrsta zbog dugog životnog vijeka, dugoročni su obalni stanovnici, na vrhu su hranidbenog lanca, i imaju jedinstvene masne naslage koje mogu poslužiti kao spremišta za antropogene toksine.

Morski sisavci mogu biti izloženi okolišnom stresu, kao npr. kemijskim tvarima, štetnim biotoksinima algi i patogenima. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu hranu, oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme. Ovaj pristup osigurava novi put za bolje razumijevanje povezanost između ekosustava i zdravlja ljudi (Bossart, 2011.).

Pojam biomagnifikacije se definira kao prijenos ksenobiotika iz hrane u organizam, što rezultira višom koncentracijom u organizmu od one koja je inicijalno utvrđena u izvoru (Connell, 1989.). Isto tako, postoje i dva mehanizma unosa kontaminanata, biokoncentracija i bioakumulacija. Biokoncentracija je unos kemikalija od strane organizma izravno iz abiotskog okoliša što rezultira višoj koncentraciji unutar organizma, odnosno, akumuliranje tvari u organizmu. Bioakumulacija je definirana kao unos kemikalije od strane organizma iz abiotskog i/ili biotskog (hrana) okoliša, odnosno, povećanje koncentracije tvari u organizmima kroz hranidbeni lanac (Rand i sur., 1995.).

Analiza tkiva različitih vrsta kitova i dupina koristi se kao sredstvo prilikom procjene onečišćenja morskog okoliša elementima u tragovima (Caurant i sur., 1994.). Dokazano je da je hranidbeni lanac glavni put bioakumulacije selen, arsena, kadmija i žive u vodenim organizmima (Kubota i sur., 2001.). Morski sisavci unose kontaminante uglavnom gutanjem. Lignje su glavni izvor kadmija kod kitova, jer prirodno sadrže visoke koncentracije ovog metala (Bustamante i sur., 1998.). Stoga je utvrđeno da fiziološki čimbenici u kitova kao vrsta prehrane pridonosi nakupljanju metala no vrlo važan faktor bioakumulacije metala je životni vijek kitova (Monaci i sur., 1998.).

Teški metali mogu prouzročiti promjene imunološkog sustava i povećati incidenciju zaraznih bolesti kod morskih sisavaca (Bennett i sur., 2001.). Kadmij može

dovesti do imunotoksičnih promjena leukocita dupina inducivanjem apoptoze limfocita, utječući na limfocitnu funkciju i fagocitozu kao živa, ali na višim koncentracijama. Olovo može doprinijeti malim promjenama u imunološkom sustavu dobrih dupina djelovanjem na limfocitnu aktivnost (Cámara Pellissó i sur., 2008.).

Razumijevanje uloge morskih sisavaca u morskim ekosustavima je važno, jer pruža kontekst unutar kojeg se ocjenjuje mogući utjecaj grabežljivaca na plijen i strukturu zajednica, a promjene okoliša na dinamiku morskih sisavaca. Ovo razumijevanje s druge strane može pomoći u poticanju racionalne rasprave o zaštiti i upravljanju morskim sisavcima (Bossart, 2011.).

Kadmij

Kadmij (Cd) je teški metal koji predstavlja ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje te je bez poznatih korisnih svojstava za život. Klasificiran je 1993. kao kancerogen prve skupine koji negativno utječe na ljude i životinje. Ubraja se u zagađivače okoliša i nalazi se na osmom mjestu među dvadeset najopasnijih tvari (ATSDR, 2012.). Ima dugačak biološki poluvijek (20 god.), a ciljni organi su bubrezi i jetra. Mehanizmi koji dovode do kancerogeneze kadmija su prije svega oni koji uzrokuju oksidativni stres, inhibiciju mehanizama popravka DNK te povećanje ili smanjenje tendencije prema apoptozi (Sarkar i sur., 2013.).

Emisije kadmija nastaju iz dva glavna izvora: prirodnog i antropogenog. Prirodni izvori obuhvaćaju procese poput abrazije stijena, erozije tla, prijenos zagađenih čestica tla vjetrom, šumskim požarima i vulkanskim erupcijama. Iz tla se apsorbira u biljke, a prehranbenim lancem dalje prenosi i akumulira u životinjama i ljudima. Samo se 4-6% kadmija iz tla prenese u vodu gdje se u sedimentima akumulira brže nego u bioti (Burger, 2008.).

Profesionalna izloženost kadmiju manifestira se udisanjem kadmijevih para, u industriji kadmij-nikal baterija i pigmentnim bojama (ATSDR, 2012.). Osim toga, zbog naglog razvoja modernih tehnologija, gdje se kadmij upotrebljava u CdSe/CdTe kombinacijama, primjerice, u proizvodnji fotonaponskih solarnih ćelija i nanomaterijala za biološke aplikacije, možemo, uz dosadašnje razine onečišćenja okoliša kadmijem, u budućnosti očekivati i povišenje tih razina (Lazarus, 2010.). Glavni izvor kadmija u općoj populaciji je hrana, posebno žitarice (riža i pšenica), povrće, lignje, školjke i iznutrice, kao i duhanski dim.

Morski sisavci mogu ublažiti toksične učinke kadmija vezanjem za metalotionein-MT tako da je većina kadmija u tijelu vezana za taj mali, cisteinom bogati protein (Nordberg, 2004.). MT vezan za kadmij je prvi put otkriven 1957. u bubregu konja (Margoshes i Vallee, 1957.). Kasnije je pronađen u jetri i bubrezima različitih morskih sisavaca poput sivog tuljana (*Halichoerus grypus*) i sjevernih tuljana krznaša (*Arctocephalus gazella*) (Olafson i Thompson, 1974.), kalifornijskih morskih lavova (*Zalophus californianus*) (Ridlington i sur., 1981.), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) (Kwohn i sur., 1986), običnih tuljana (*Phoca vitulina*) i glavatih ulješura (*Physeter catodon*) (Holsbeek i sur., 1998.).

Jednokratnoj izloženosti organizma kadmij se akumulira prije svega u jetri. Niskomolekularni protein, MT u jetri formira kompleks s kadmijem (Cd-MT). Otpuštanjem iz jetre u krv Cd-MT kompleks se distribuira u različita tkiva i organe u ljudskom tijelu (Sarkar i sur., 2013.). Raspodjela kadmija u tijelu ovisi o kemijskom obliku tog elementa. Povećana akumulacija Cd²⁺ iona u jetri, bubrezima i kostima nastaje nakon izlaganja kadmiju u obliku anorganskih soli (npr. CdCl₂), a ne kadmiju u kompleksu s MT (Cd-MT). CdCl₂ se akumulira uglavnom u jetri, a Cd-MT u bubrezima. Pretpostavlja se da

se oko 50% kadmija u tijelu pohranjuje u jetri i bubrezima (Siddiqui, 2010.). Kadmij se može akumulirati i u plućima udisanjem kontaminiranog zraka. Iako je plućni epitel učinkovita barijera za toksične molekule i teške metale, kadmij može proći kroz alveolarne stanice i ući u krv (Bressler, 2004.). Apsorpcija kadmija iz probavnog trakta je pod snažnim utjecajem sadržaja proteina, cinkovih i bakrenih spojeva, kalcija i željeza u prehrani. Njihova niska koncentracija u prehrani povećava apsorpciju kadmija iz probavnog trakta i njegovu akumulaciju u tijelu. Povećanje količine cinka u prehrani smanjuje intenzitet apsorpcije kadmija iz probavnog trakta. Kadmij se može apsorbirati i iz probavnog trakta zajedno s tiolnim skupinama cistein-SH i glutationa (GSH) u obliku Cd-cistein, Cd-GSH. Apsorbirani kadmij se prenosi u jetru (Sarkar i sur., 2013.).

Toksikokinetika i toksikodinamika kadmija

Apsorpcija iz probavnog trakta je glavni put izloženosti kadmija kod ljudi. U laboratorijskim ispitivanjima provedenim na životinjama, količina kadmija apsorbiranog iz gastrointestinalnog trakta je niska, ali se povećava s povećanjem doze. Sadržaj MT u crijevima se povećava 25 puta uz prisutnost cinka, a više od 90% kadmija u citosolu crijevnih stanica je vezana na MT. Međutim, indukcija MT-a u crijevima uz prisutnost cinka ne utječe na povećanje crijeвне apsorpcije kadmija (Goon i Klaassen, 1989.).

Iako MT u početnoj raspodjeli kadmija ima ograničenu ulogu u pojedinim tkivima, njegovo zadržavanje u tkivu ovisi o MT-u (Liu i sur., 2001.). Kadmij se uglavnom nakuplja u bubrezima i jetri gdje su prisutne i visoke razine MT-a. Indukcija jetrenog MT-a gotovo poništava izlučivanje kadmija putem žuči. Koncentracija kadmija u bubrezima je proporcionalna bubrežnim razinama MT-a. Do-

stupnost kadmija u mozgu ovisi o dobi životinje. Mozak novorođene životinje je propustan za kadmij, međutim, njegova se propusnost smanjuje s godinama uslijed sazrijevanja krvno-moždane barijere. Ipak, MT ima važnu ulogu u zadržavanju kadmija u tkivima te je odgovoran za dugi biološki poluraspad kadmija u tijelu (Klaassen i sur., 2009.).

Kadmij je biološki nerazgradiv i redoks inertan u odnosu na druge prijelazne metale kao što su željezo i bakar. Malo je poznato o biotransformacijama kadmija izuzev njegovog vezanja sa sulfhidrilnim skupinama u molekulama MT i glutationa. Cd-MT kompleks uglavnom nastaje u jetri, otpušta se u krvi i transportira u bubrege (Nordberg, 2004.). Molekule kao što je albumin, cistein, glutation i proteini koji sadrže sulfhidrilne skupine isto tako mogu formirati kompleks s kadmijem kao i MT. Unos kadmija je posredovan transportnim proteinima kao što su DMT1 (transportni protein 1), proteini kalcijevih kanala i ZIP 8 transporter koji mu omogućuju prijenos do ciljanog tkiva. Promjena ekspresije transportnih proteina može utjecati na stanični unos i akumulaciju kadmija, odnosno na toksičnost kadmija (Klaassen i sur., 2009.).

Čovjek je uglavnom izložen kadmiju udisanjem i gutanjem. Adsorpcija kadmija kožom je relativno mala, iako se male količine mogu apsorbirati perkutano tijekom dužeg perioda izlaganja. Dok je CdCl₂ dobro topivi u vodi i osnovni je oblik oralne izloženosti, a nasuprot tome, CdO je glavni oblik kadmija povezan s inhalacijom. Apsorpcija kadmija kroz pluća je relativno učinkovitija od apsorpcije u probavnom traktu (Zalups i Ahmad, 2003.). Nakon unosa kroz pluća ili probavni trakt kadmij se transportira u plazmu vezan na albumin. U takvom obliku dopijeva u jetru. Dio se kadmija iz jetre izlučuje u žuč i vezan je za glutation. Mali dio kadmija vezanog na MT se otpušta u plazmu, filtrira kroz bubrežne glomerule i reapsorbira u proksimalnim

bubrežnim kanalicima adsorptivnom endocitozom. Kadmij zatim ulazi u lizozime tubularnih stanica gdje se otpušta s metalotioneina. Slobodni ioni kadmija mogu prouzročiti oštećenje tkiva ako metalotionein nije prisutan. Kod dugoročne izloženosti kadmiju, nevezani kadmij stimulira proizvodnju metalotioneina u stanicama bubrežnih kanalića i omogućuje vezanje u kompleks Cd-MT štiteći na taj način stanicu (Nordberg, 2009.).

Kadmij uglavnom ulazi u stanice pomoću tri transmembranska transportera: DMT1-divalentni metal transporter, Ca^{2+} kanali nadzirani naponom i Zip 8. Unutar stanice, kadmij se (Sarkar i sur., 2013.):

- veže na metaloproteine vezanjem na mjesto željeza, mangana, cinka, bakra, itd. pri čemu dolazi do pogrešnog smatjanja proteina ili eventualno proizvodnje reaktivnih kisikovih radikala (ROS), odnosno reaktivnih spojeva dušika (RNS) što dovodi do oksidativnih oštećenja uslijed čega slijedi smrti stanice;
- veže na MT istiskujući Zn^{2+} koji se povezuje s MTF1 transkripcijskim faktorom, koji se translocira u jezgru kako bi pokrenuo transkripciju ciljnih gena;
- veže se za specifične receptore na membrani endoplazmatskog retikuluma, što dovodi do oslobađanja kalcija, koji će ili aktivirati kaspazu i dovesti do apoptoze, ili će aktivirati određene kinaze i fosfataze čime dolazi do transkripcije gena staničnog ciklusa i stanične proliferacije ili vezanje Ca^{2+} pri čemu dolazi do razgradnje proteina;
- pokretanje apoptoze mitohondrijskim putem.

Toksičnost kadmija na ljude

Kadmij se smatra jednim od najtoksičnijih metala. Prvi opisani slučaj povezan sa štetnim djelovanjem toga metala objav-

ljen u izvješću 30-ih godina 20. stoljeća bio je oštećenje pluća kod radnika izloženih povećanim koncentracijama kadmija (Nordberg, 2004.). Visoka koncentracija kadmija kod čovjeka može dovesti do teških skeletnih deformacija ("itai-itai" bolest), bubrežnih lezija (uglavnom na proksimalnim tubulima), plućnih oštećenja, disfunkcije kardiovaskularnih i hematopoetskih sustava te mogu imati kancerogene, mutagene i teratogene učinke (Das i sur., 2003.).

Kadmij uzrokuje toksičnost u mnogim tkivima. Akutna trovanja kadmijem uzrokuju plućni edem, krvarenje, oštećenja testisa i smrtnost. Dugoročno izlaganje kadmiju dovodi do nefrotoksičnosti, osteotoksičnosti i imunotoksičnosti (ATSDR, 2012.). Kadmij je klasificiran i prema IARC kao kancerogen za čovjeka zbog uzrokovanja tumora pluća i prostate. Glavni mehanizmi uključeni u kancerogenezu kadmija mogu se podijeliti u četiri skupine: aberantnu ekspresiju gena, inhibiciju popravka oštećenja DNK, inhibiciju apoptoze i indukciju oksidativnog stresa (Sarkar i sur., 2013.). Jetra je glavni organ akutne toksičnosti kadmija, ali i kronične toksičnosti nakon dugoročne izloženosti CdCl_2 (Klaassen i sur., 2009.). Dugotrajna izloženost ljudi kadmiju rezultira njegovom akumulacijom u tijelu i dovodi do bolesti koje prije svega utječu na pluća i bubrege (IARC, 1993.). Lezije bubrega nakon izloženosti kadmiju i živi zabilježene su kod ljudi i životinja. Podatci kod ljudi i laboratorijskih sisavaca pokazuju da koncentracija kadmija u korteksu bubrega od 200 do 220 $\mu\text{g/g}$ mokre težine može izazvati tubulopatiju (oštećenje proksimalnih kanalića) uključujući proteinuriju (WHO, 1992). Elinder i Järup (1996.) su ustvrdili da je koncentracija od 50 $\mu\text{g/g}$ mokre težine u korteksu bubrega dostatna da izazove bubrežnu disfunkciju (proteiniurija) u starijih osoba i u populacijama koje su kronično izložene kadmiju iz okoliša. Kadmij dopijeva u bubrege u obliku

kadmij-metalotioneina (Cd-MT). Cd-MT se filtrira u glomerulima, a nakon toga resorbira u proksimalne tubule. Količina kadmija u stanicama tubula povećava se tijekom životnog vijeka. Povećanje kadmija u bubrezima rezultira većim izlučivanjem kalcija, što dovodi do većeg rizika od bubrežnih kamenaca (Godt, 2006.). Tubularna oštećenja uz gubitak resorptivnog kapaciteta za hranjive tvari, vitamine i minerale te nefropatija i proteinurija povezuju se s dugotrajnim izlaganjem niskim dozama kadmija (Jarup, 2003.). Dišni sustav je ozbiljno ugrožen udisanjem kadmijem kontaminiranog zraka. Posljedice su otežano disanje, edem pluća, fibrozne promjene i razvoj karcinoma (Klaassen i sur., 2009.).

Veliki dio toksičnog učinka kadmija u organizmu potječe od njegovog negativnog utjecaja na stanične enzimske sustave gdje se veže za mjesta dvovalentnih iona cinka, bakra i kalcija u metaloenzimima ili za tiolne skupine proteina, enzima i nukleinskih kiselina (Sarkar i sur., 2013.). Kadmij često inhibira antioksidativne enzime, posebno katalazu i superoksid dismutazu, ali i hemoksigenazu 1 i izoformu glutathion-S-transferaze. Dugotrajna izloženost visokim dozama kadmija u organizmu može biti povezana s pojavom Itai-Itai, bolesti kod koje pacijent pokazuje široki spektar simptoma kao što su: niski stupanj mineralizacije kostiju, visoka stopa prijeloma, povećani porast osteoporoze, i intenzivna bol u kostima (Godt i sur., 2006.).

Najvjerovatniji izvor toksičnosti kadmija kod ljudi je kontaminirana hrana. Osobe koje redovito konzumiraju školjke i ribe te organe kao što su jetra i bubrežni mogu biti pojačano izloženi kadmiju (ATSDR, 2012.). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, dopuštena granica unosa kadmija za ljude je 1 µg/kg/dan, odnosno 7 µg/kg/tjedan.

Kadmij u morskim sisavcima

Prijenos kadmija iz kopnenih u vodeni sustav nije vrlo učinkovit: 94-96% ostaje u tlu. Kadmij koji dospije u vodu uglavnom se nakuplja u vegetaciji brže nego u bioti. U vodi 20% kadmija ostaje u suspendiranim česticama (Peakall i Burger, 2003.).

Štetno djelovanje u ribama i divljim životinjama javlja se kada koncentracija kadmija prijeđe 3 mg/kg u slatkovodnoj vodi, 4,5 mg/kg u morskoj vodi, 1000 µg/kg u prehrani, ili 100 mg/m³ u zraku (Burger, 2008.). Koncentracije kadmija u bubrezima ili jetri kralježnjaka koje prelaze 10 µg/g (mokre tež.) uzrokuju subletalni učinak, a 200 µg/g (mokre tež.) u bubrezima je opasno po život (Peakall i Burger, 2003.). Neke od najviših razina kadmija pronađene su kod morskih sisavaca s Farskih otoka (Caurant i sur., 1994.).

Glavonošci mogu biti znatan izvor kadmija, a predatori koji ih konzumiraju pokazuju visoku razinu ovog metala u ciljnim organima. Glavonošce jedu mnoge oceanske životinje, kao što su morski sisavci, ptice i ribe. Za više od 80% odontocete vrsta (*Monodontidae*, *Phocaenidae*, *Delphinidae*, *Stenidae*) glavonošci su redovita prehrana (Bustamante i sur., 1998.).

Koncentracija kadmija u korteksu bubrega veća je od njegove prosječne koncentracije u bubrezima i može se interpretirati množenjem prosječne koncentracije s faktorom 1,25 (Friberg i sur., 1986.). Kadmij se koncentrira u stanicama proksimalnih tubula bubrega, a u istraživanjima je dokazano da kod čovjeka izaziva tubularnu disfunkciju kod koncentracije od 50 µg/g mokre težine u korteksu (Elinder i Jarup, 1996.). Histopatološka analiza bubrežnog tkiva pokrenuta je budući da su oštećenja bubrega jedan od najprisutnijih učinaka kadmija (Gallien i sur., 2001.). U pojedinim životinjskih vrsta koncentracije kadmija mogu dosežati visoke razine, čak do 2000 µg/g suhe mase izmjerene kod

tuljana (Dietz i sur., 1998.). To je znatno viša vrijednost od kritične koncentracije od približno 800 µg/g suhe mase (200 µg/g mokre težine) koja se povezuje s bubrežnim oštećenjima kod sisavaca, uključujući čovjeka (WHO, 1992.). Očito je da kod morskih sisavaca unatoč visokim koncentracijama kadmija postoji vrlo učinkovit mehanizam detoksikacije. To potiče pitanja o zdravstvenom stanju takvih kontaminiranih morskih sisavaca. Usporedbom niske i visoke koncentracije kadmija u bubrezima tuljana s Grenlanda makroskopskim i mikroskopskim pretragama utvrđeno je da nema razlike u morfologiji između eksperimentalnih skupina. Ova su istraživanja pokazala da morski sisavci mogu podnijeti znatne koncentracije kadmija bez pokazivanja oštećenja bubrega (Dietz i sur., 1998.). Granule koje u svom sastavu sadrže kadmij uočene su u bubrezima dupina iz roda *Lagenorhynchus acutus* na Farskim otocima (Gallien i sur., 2001.). Guste mineralne konkrecije promjera do 300 nm nalazile su se u bazalnim membranama proksimalnih tubula. Takvi sferokristali su sastavljeni od mineralnih naslaga kalcija, fosfora i kadmija.

Koncentracije kadmija su gotovo uvijek najviše u bubrezima i jetri, a najniže u masnom tkivu i mišićima (Dehn i sur., 2006.). Koncentracija od 71,3 mg/kg kadmija mokre težine pronađena je u bubrezima plavobijelih dupina u Brazilu i pripisuje se prehrani baziranoj uglavnom na lignjama (Dorneles i sur., 2007.). Zabilježeno je da se povećanjem duljine tijela tuljana povećava koncentracija kadmija u bubrezima i jetri (Harper i sur., 2007.).

Utjecaj selen na toksikokinetiku i toksikodinamiku kadmija

Selen (Se) je esencijalni element koji igra važnu ulogu u brojnim biološkim procesima kod ljudi i životinja. Antioksidansi kao što je selen, prisutni u tkivima sisavaca, štite od oksidativnog stresa. On kao esencijalni element

većinom djeluje kao dio selenoproteina i na taj način neizravno utječe na oksidativni stres izazvan kadmijem (Newairy i sur., 2007.). Nedostatak ovog elementa izaziva nekoliko patoloških stanja, kao što su karcinom, koronarne bolesti srca i nekroza jetre (Agay i sur., 2005.). Selen se u obliku selenita, selenata, selenocisteina i selenometionina najčešće apsorbira u dvanaesniku. Nakon apsorpcije, povišene razine selenita su detektirane u proteinima krvne plazme odakle se može distribuirati u tkiva gdje se ugrađuje u novosintetizirane selenoproteine (Ognjanović i sur., 2008.).

Selen je inkorporiran u proteine u formi selenocisteina. Proteini koji sadrže selenocistein nazivaju se selenoproteini kao npr. glutation peroksidaza (GSH-Px), tioredoksin reduktaza (TR), selenoprotein P (SeP). Poznato je da selen ima i zaštitnu ulogu kod toksičnog djelovanja kadmija i drugih teških metala što znači da ima sposobnost mijenjanja raspodjele kadmija u tkivima i poticanje vezanja u Cd-Se kompleks (Ognjanović i sur., 2008.).

Unesen u organizam pokusnih životinja u obliku selenita, selen se vrlo brzo selektivno transportira u eritrocite putem anion-transportnog proteina (AEI) gdje se reducira i otpušta u plazmu u obliku selenida. Selenit se u molarnom omjeru 1:1 spaja s ionima kadmija i žive. Nastali kompleks selektivno se veže za kationski centar specifičnog plazmatskog proteina, poznatog kao selenoprotein P pri čemu nastaje tercijarni kompleks (Sasakura i Suzuki, 1998.).

Kao najvjerojatniji mehanizam detoksikacije organizma selenom predložen je onaj u kojemu selen utječe na pojačano vezanje kadmija u kompleks s proteinima velike molekularne mase čime se mijenja njegov metabolički put u organizmu. Pri izlaganju organizma, kadmij dospijeva u krv gdje se transportira plazmom, većinom vezan za albumin i druge protein te odlazi u jetru gdje se veže za MT. Sporo se otpušta iz jetre te zbog male molekularne mase

(oko 7 kDa) učinkovito filtrira kroz membranu glomerula i resorbira se u stanice proksimalnih bubrežnih kanalića (Nordberg, 2009.). Nakon što Cd-MT uđe pinocitozom u stanice, katabolizira se u lizosomima te se u stanici oslobađaju ioni kadmija koji stimuliraju *de novo* sintezu endogenog bubrežnog MT-a koji sadrži kadmij, cink i bakar (Lazarus, 2010.).

Kadmij pospješuje oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina u membranama i mijenja oksidativni status što može izazvati oksidativno oštećenje raznih tkiva (Wang i sur., 2006.). Za razliku od redoks-aktivnih metala kao željezo, bakar, krom i vanadij koji u reakcijama sličnim Fentonovoj stvaraju reaktivne kisikove spojeve (RKS), kadmij, olovo, živa i arsen su redoks-neaktivni metali čiji mehanizam stvaranja oksidativnog stresa nije do kraja razjašnjen. Kadmij ne može izravno stvarati slobodne radikale pa je predložena teorija prema kojoj kadmij može zamijeniti ione željeza i bakra u raznim plazmatskim i membranskim proteinima (npr. feritin), čime u stanici raste količina slobodnih iona željeza i bakra koji preko Fentonovih reakcija sudjeluju u stvaranju oksidativnog stresa (Valko i sur., 2006.). Pretpostavlja se i da zbog visokog afiniteta za vezanje na biološke strukture koje sadrže -SH skupine, kadmij iskorištava većinu staničnih rezervi antioksidansa, npr. glutationa (GSH) ili MT čime narušava obrambeni sustav stanica (Ercal i sur., 2001.).

Antioksidansi kao što je selen, prisutni u tkivima sisavaca, štite od oksidativnog stresa. Selen kao esencijalni element većinom djeluje kao dio selenoproteina i na taj način neizravno utječe na oksidativni stres izazvan kadmijem (Newairy i sur., 2007.).

Olovo

Olovo (Pb) je ubikvitaran element. Budući da je za većinu živih bića toksičan pri većoj izloženosti i ne postoji biološka

potreba za njime, glavni problem je određivanje doza koje se mogu prihvatiti kao toksične. Toksičnost se razlikuje ovisno o starosnoj dobi. Najosjetljivija populacija su djeca, posebno mala djeca, dojenčad u neonatalnom periodu i fetus. U organizam dospjeva uglavnom profesionalnom izloženosti, na prvom mjestu inhalacijom, dok je opća populacija izložena pored inhalacije i ingestijom (Duraković i Labar, 2000.). Olovo se nalazi u tragovima u gotovo svakoj hrani. Smatra se da odrasla osoba svakodnevno u organizam unese oko 300 µg olova, od čega se prosječno apsorbira oko 10%. Vodom u naseljima civiliziranih sredina stanovnik unese oko 10 µg/dan olova, od čega odrasle osobe apsorbiraju prosječno oko 10%, a djeca 30-50%. Ukupna količina olova koja se tijekom života unese u organizam ljudi iznosi do 200 mg, dok u profesionalno izložene osobe ta količina može biti 2-2,5 puta više i iznosi i do 500 mg (Duraković i Labar, 2000.).

Među teškim metalima olovo pokazuje osobito povišeni antropogeni faktor. Korištenje proizvoda koji sadrže olovo znatno se povećao od industrijske revolucije. Štoviše, hlapljivost olova, povezana s mnogim izvorima emisije, rezultirala je time da olovo nije samo lokalni onečišćivač zraka već zagađivač globalnih razmjera. Više od 90% olova iz okoliša rezultat je prošlih antropogenih aktivnosti (Caurant i sur., 2006.).

Toksikokinetika i toksikodinamika olova

Olovo mijenja funkciju i strukturu bubrega, kostiju, središnjeg živčanog sustava, i hematopoetskog sustava te proizvodi štetne biokemijske, histopatološke, neuropsihološke, fetotoksične, teratogene, i reproduktivne učinke (Eisler, 2009.). Anorgansko olovo apsorbira kod sisavaca u tijelu inicijalno ulazi u krvotok i veže se na crvene krvne stanice. Distribucija olova između krvi

i izvanstanične tekućine i drugih mjesta za pohranu je vrlo brza tako da samo polovica netom apsorbiranog olova ostaje u krvi nakon nekoliko minuta. Olovo se skladišti u zubima i kostima. Poluvrijeme raspada ($T_{1/2}$) anorganskog olova procjenjuje se na 20 dana u krvi, 28 dana u cijelom tijelu, i 600 do 3000 dana u kostima (Harrison i Laxen, 1981.). Razina olova u kostima utječe na razinu olova u plazmi, a postoji zabrinutost da prethodno akumulirano olovo pohranjeno u kostima može predstavljati unutarnji izvor izloženosti, osobito u razdobljima povećanog mineralnog gubitka kosti povezano s trudnoćom ili dojenjem (Hernandez-Avila i sur., 1998.).

Kad olovo inhalacijom ili ingestijom dospije u cirkulaciju, oko 95% se veže za eritrocite, a oko 5% se nalazi u plazmi. Na površini eritrocita odlaže se u obliku agregata olovnog fosfata. Vezanjem na tiolske i fosfatne ligande na membranama stanica olovo povećava fragilnost eritrocita i eritroblasta (Duraković i Labar, 2000.). U plazmi se olovo sastoji od dvije frakcije. Jedna je vezana za proteine plazme, a druga je dijalizibilna i predstavlja metabolički aktivni dio ukupne količine olova u tijelu (Duraković i Labar, 2000.). Nakuplja se i u kostima, a sastoji se od dva dijela: u medularnom dijelu nalazi se izmjenjiva frakcija olova, a u korteksu kosti nalazi se neizmjenjiva frakcija. Olovo se posebno nakuplja u kostima koje brzo rastu, a to su tibija i femur. Iz kostiju može dospjeti u krv i postati značajan izvor unutarnje izloženosti olovu. Prisutnost u kostima kod trudnica i roditelja može predstavljati zabrinjavajući čimbenik tijekom trudnoće i dojenja, a u kasnijoj životnoj dobi može se mobilizirati u osoba s osteoporozom (Silbergeld i sur., 1988.).

Akumulacija olova u mekom tkivu najveća je u jetri i bubrežima. Olovo uzrokuje i poremećaj rada hormona rasta iz hipofize tijekom puberteta (Ronis i sur., 1998.).

Anorgansko se olovo u okolišu može biološki metilirati u alkilne olovne spojeve (Walsh i Tilson, 1984.). Žuč je važna za izlučivanje: olovo unešeno ingestijom prolazi kroz crijeva, krv, kosti i meka tkiva te putem žuči u tanko crijevo i fekalno se izlučuje (De Michele, 1984.).

Toksičnost olova u ljudi

Toksični učinci olova povezani su s njegovim interakcijama s enzimima, čija je aktivnost ovisna o pristnosti slobodnih sulfhidrilnih (SH) skupina s kojima olovo stvara merkaptide. Posljedica je da te skupine organizam više ne može koristiti za stvaranje hemoglobina i citokroma. Niske koncentracije olova inhibiraju i Na, K, ATP-azu, što rezultira povećanom fragilnosti eritrocita i skraćivanjem njihova vijeka trajanja. Uz to, oštećenje proksimalnih tubula bubrega dovodi do deficita eritropoetina (Duraković i Labar, 2000.).

Olovo ometa sintezu hema inhibicijom tri enzima koji sadrže SH skupine. To su: sintetaza delta aminolevulininske kiseline (S-DALK), dehidrataza delta aminolevulininske kiseline (D-DALK) i hem-sintetaza (ferokelataza) (Duraković i Labar, 2000.). Inhibicijom D-DALK dolazi do zastoja pretvaranja tog enzima u porfobilinogen, što ometa dalju sintezu hema, a D-DALK se nakuplja na mjestu gdje bi trebala biti potrošena. No može se dogoditi i paradoksalna reakcija da se mehanizmom povratne sprege poveća aktivnost sintetaze i veća sinteza DALK. Rezultat toga je povećano izlučivanje DALK urinom što se koristi u ocjeni biokemijskog učinka olova. Povećana koncentracija D-DALK opaža se u slučajevima kada koncentracija olova u krvi iznosi ili premašuje 25 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$. Treća je abnormalnost u sintezi hema, a sastoji se u inhibiciji hem-sintetaze (ferokelataze), koja je prisutna na unutarnjoj strani membrane mitohondrija. Inhibicija hem-sintetaze dovodi do nakupljanja koproporfirina u eritroblastima, a protoporfirina u eritroblastima i

eritrocitima. Tu nastaje koproporfinurija koja je karakteristična za djelovanje olova, a vjerojatno je posljedica intramodularnog propadanja eritroblasta. Inhibicija hem-sintetaze tijekom djelovanja olova ima za posljedicu neupotrebljeno željezo, a to se može dokazati analizom eritroblasta koji sadrže grudice ili zrnca željeza (Duraković i Labar, 2000.).

Klinička slika trovanja olovom sastoji se od nespecifičnih općih simptoma kao opća slabost i malaksalost, do razdražljivosti i nesanice. U akutnom otrovanju može se pojaviti bubrežna kolika, gastrointestinalni simptomi, neuromišićni i encefalopatički simptomi. Od laboratorijskih znakova otrovanja olovom može se dokazati umjerena mikrocitna i hipokromna anemija kao znak deficita željeza s porastom broja retikulocita i bazofilnim punktacijama eritrocita. Anemija nastaje zbog skraćenog vijeka eritrocita i ometanja sinteze hema. No, svi ti znaci nisu specifični za otrovanje olovom. Najraniji i najosjetljiviji znak je inhibicija aktivnosti dehidrataze delta aminoevulinske kiseline (D-DALK) kada se radi o koncentraciji olova višoj od 10 µg/100 mL, čije je povećanje koncentracije u urinu posebno od koristi u epidemiološkim studijama. Dok je DALK aktivna na početku sinteze hema, hem-sintetaza je aktivna na njenom kraju, na mjestu kada se u protoporfirin ugrađuje atom željeza. Zbog toga je paradoksalna činjenica da D-DALK ostaje aktivna čak i u cirkulirajućim eritrocitima, a aktivnost hem-sintetaze nestaje čim eritrocit uđe u cirkulaciju, tj. onda kada retikulocit izgubi mitohondrije i postane zreli eritrocit (Duraković i Labar, 2000.).

Olovo u morskim sisavcima

Većina istraživanja usmjerena na prisutnost olova u morskim sisavcima su provedena na mekim tkivima u kojima su koncentracije često vrlo niske (manje od 1 µg/g mokre težine). Od mekih tkiva, jetra i bubrezi pokazivali su najviše

koncentracije olova, nakon čega slijedi koža, mozak i mišići. Zbog jakog afiniteta olova za kalcificiranim tkivima, kosti i zubi su pogodniji organi od mekog tkiva za istraživanje bioakumulacije olova. Istraživanja o nakupljanju olova u kostima i zubima kitova su rijetka, međutim, sva pokazuju da je koncentracija olova u tvrdim tkivima veća od one u mekim. Vrijeme poluraspada olova varira od 5 do 20 godina u zubima, a samo nekoliko tjedana ili mjeseci u mekim tkivima (Caurant i sur., 2006.).

Reproduktivne aktivnosti kao što su trudnoća, porođaj i dojenje mogu prozročiti promjene koncentracija metala u tkivima. Istraživanja su pokazala da se prijenos metala sa ženke na mladunče provodi kroz posteljicu ili dojenjem (Honda i sur., 1987.). Kao posljedica toga je smanjenje koncentracije olova u ženki tijekom trudnoće.

Koncentracije olova u tkivima različitih vrsta morskih sisavaca bile su najviše u kostima, s maksimalnom vrijednosti od 62,0 mg/kg suhe težine. U principu, nakupine olova bile su veće u starijih životinja (Lavery i sur., 2008.). Biomagnifikacija olova kroz hranidbeni lanac može biti važan mehanizam akumulacije kod karnivornih morskih sisavaca. Kod kalifornijskih morskih lavova (*Zalophus californianus*), olovo se nakuplja u znatno većim koncentracijama u tvrdim tkivima, kao što su kosti i zubi, u odnosu na meka tkiva, kao što su mast i mišići (Roberts i sur., 1976.). Ovi rezultati su uspoređivi s opterećenjem olova u ljudi, što sugerira da je razina izloženosti olova slična za kopnene i morske zajednice (Braham, 1973.).

Usporedba koncentracija olova tuljanove dlake pronađene u sedimentima u antarktičkom području i onih pronađenih 1980-ih, pokazuju izraziti porast od 3,9 do 67,0 mg Pb/kg suhe težine, vjerojatno zbog ljudskih aktivnosti. Nakon 1980-te sadržaj olova u tuljanovoj dlaci pao je na 45,0 mg/kg

suhe težine, vjerojatno zbog smanjenog korištenja olovnog benzina u južnoj hemisferi (Yin i sur., 2006.).

Sažetak

Ljudske aktivnosti znatno narušavaju biogeokemijske cikluse elemenata na globalnoj razini. Teški metali u morski okoliš dopijevaju iz prirodnih izvora, npr. trošenjem stijena te antropogenim utjecajem. Hranidbeni lanac je glavni put bioakumulacije selen, arsena, kadmija i žive u morskim organizmima. Hranidbene navike i brzina resorpcije važni su čimbenici u procjeni koncentracija metala u tim organizmima. Ekotoksikološke studije koriste biomarkere u svrhu utvrđivanja rizika od onečišćenja ekosustava. Pri tome su morski sisavci važna indikatorska vrsta zbog dugog životnog vijeka, obalni su stanovnici određenog područja, na vrhu su hranidbenog lanca i imaju jedinstvene masne naslage koje mogu poslužiti kao spremište za antropogene toksine. Analiza tkiva različitih vrsta kitova i dupina koristi se kao sredstvo prilikom procjene onečišćenja morskog okoliša elementima u tragovima. Kadmij nema poznatih korisnih svojstava za život, poznati je kancerogen s negativnim utjecajem na ljude i životinje i karakterizira ga dugačak biološki poluvijek. Veliki dio toksičnog učinka kadmija u organizmu potječe od njegovog negativnog utjecaja na stanične enzimske sustave gdje se veže za mjesta dvovalentnih iona cinka, bakra i kalcija u metaloenzimima ili za tiolne skupine proteina, enzima i nukleinskih kiselina. Koncentracije kadmija su gotovo uvijek najviše u bubrezima i jetri, a najniže u masnom tkivu i mišićima. Morski sisavci mogu ublažiti toksične učinke kadmija vezanjem za metalotionein-MT tako da je većina kadmija u tijelu vezana za taj mali, cisteinom bogati protein. Mehanizam detoksikacije organizma selenom je njegovo pojačano vezanje kadmija u kompleks s proteinima velike molekularne mase čime se mijenja njegov metabolički put u organizmu. Olovo je za većinu živih organizama toksičan pri većoj izloženosti te ne postoji biološka potreba za njime. Većina istraživanja o prisutnosti olova u morskim sisavcima pokazala je da od mekih tkiva, jetra i bubrezi nakupljaju najviše koncentracije, nakon čega slijedi koža, mozak

i mišići. Zbog jakog afiniteta olova za kalcificiranim tkivima, kosti i zubi su pogodniji organi od mekog tkiva za istraživanje bioakumulacije olova. Toksični učinci olova povezani su s njegovim interakcijama s enzimima, čija je aktivnost ovisna o slobodnim sulfhidrilnim skupinama s kojima olovo stvara merkaptide. Posljedica je da organizam te skupine ne može više koristiti za stvaranje hemoglobina i citokroma. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu hranu, oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme.

Ključne riječi: toksični metali, kadmij, olovo, morski sisavci, bioakumulacija

Literatura

1. AGAY, D., C. SANDRE, V. DUCROS, H. FAURE, C. CRUZ, A. ALONSO, A. M. ROUSSEL and Y. CHANCERELLE (2005): Optimization of selenium status by a single intraperitoneal injection of Se in Se-deficient rat: possible application to burned patient treatment. *Free Radic. Biol. Med.* 39, 762-768.
2. ATSDR (2012): *Toxicological Profile for Cadmium*. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.
3. BENNETT, P. M., P. D. JEPSON, R. J. LAW, B. R. JONES, T. KUIKEN, J. R. BAKER, E. ROGAN and J. K. KIRKWOOD (2001): Exposure to heavy metals and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. *Environ. Pollut.* 112, 33-40.
4. BOSSART, G. D. (2011): Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Vet. Pathol.* 48, 676-690.
5. BRAHAM, H. W. (1973): Lead in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Environ. Pollut.* 5, 253-258.
6. BRESSLER, J. P., L. OLIVI, J. H. CHEONG, Y. KIM and D. BANNONA (2004): Divalent metal transporter 1 in lead and cadmium transport. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1012, 142-152.
7. BURGER, J. (2008): Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Sci. Total Environ.* 389, 37-45.
8. BUSTAMANTE, P., F. CAURANT, S. W. FOWLER and P. MIRAMAND (1998): Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. *Sci. Total Environ.* 220, 71-80.
9. CÁMARA PELLISSÓ, S., M. J. MUÑOZ, M. CARBALLO and J. M. SÁNCHEZ-VIZCAÍNO (2008): Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity of bottlenose dolphin leukocytes *in vitro*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 121, 189-198.
10. CAURANT, F., J. C. AMIARD, C. AMIARD-TRIQUET and P. G. SAURIAU (1994): Ecological

- and biological factors controlling the concentrations of trace elements (As, Cd, Cu, Hg, Se, Zn) in delphinids *Globicephala melas* from the north Atlantic Ocean. *Mar. Ecol. Prog.* 103, 207-219.
11. CAURANT, F., A. AUBAIJ, V. LAHAYE, O. VAN CANNEYT, E. ROGAN, A. LOPEZ, M. ADDINK, C. CHURLAUD, M. ROBERT and P. BUSTAMANTE (2006): Lead contamination of small cetaceans in European waters - The use of stable isotopes for identifying the sources of lead exposure. *Mar. Environ. Res.* 62, 131-148.
 12. CONNELL, D. W. (1989): Biomagnification by aquatic organisms - a proposal. *Chemosphere* 19, 1573-1584.
 13. DAS, K., V. DEBACKER, S. PILLET and J. M. BOUQUEGNEAU (2003): Heavy metals in marine mammals. In: *Toxicology of Marine Mammals* (Vos, J. V., Bossart, G. D., Fournier, M., O'Shea, T., eds.), Taylor and Francis Publishers, Washington D. C., pp. 135-167.
 14. DEHN, L. A., E. H. FOLLMANN, C. ROSA, L. K. DUFFY, D. L. THOMAS and G. R. BRATTON (2006): Stable isotope and trace element status of subsistence-hunted bowhead and beluga whales in Alaska and gray whales in Chukotka. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 301-319.
 15. DE MICHELE, S. J. (1984): Nutrition of lead. *Comp. Biochem. Physiol.* 78A, 401-408.
 16. DIETZ, R., J. NØRGAARD and J. C. HANSEN (1998): Have arctic mammals adapted to high cadmium levels? *Mar. Pollut. Bull.* 36, 490-492.
 17. DORNELES, P. R., J. LAILSON-BRITO, R. A. DOS SANTOS, P. A. DA COSTA, O. MALM and A. F. AZEVEDO (2007): Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. *Environ. Pollut.* 148, 352-359.
 18. DURAKOVIĆ, Z. i B. LABAR (2000): Hematološke promjene kao posljedice otrovanja. U: *Klinička toksikologija, Grafos, Zagreb*, str. 83-87.
 19. EISLER, R. (2009): *Compendium of Trace Metals and Marine Biota Volume 2: Vertebrates*. Elsevier, Amsterdam.
 20. ELINDER, C. and L. JÄRUP (1996): Cadmium exposure and health risks: recent findings. *Ambio* 25, 370-373.
 21. ERCAL, N., H. GÜRE-ORHAN and N. AYKIN-BURNS (2001): Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.* 1, 529-539.
 22. FRIBERG, L., C. G. ELINDER, T. KJELLSTRÖM and G. F. NORDBERG (1986): *Cadmium and Health. A toxicological and epidemiological appraisal Volume II: Effects and response*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, p. 303.
 23. GAILER, J. (2007): Arsenic-selenium and mercury-selenium bonds in biology. *Coord. Chem. Rev.* 251, 234-254.
 24. GALLIEN, I., F. CAURANT, M. BORDES, P. BUSTAMANTE, B. FERNANDEZ, N. QUELLARD and P. BABIN (2001): Cadmium-containing granules in kidney tissue of the Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*) off the Faroe Islands. *Comp. Biochem. Phys.* C 130, 389-395.
 25. GODT, J., F. SCHEIDIG, C. GROSSE-SIESTRUP, V. ESCHE, P. BRANDENBURG, A. REICH and D. A. GRONEBERG (2006): The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *J. Occup. Med. Toxicol.* 1, 22.
 26. GOON, D. and C. D. KLAASSEN (1989): Dosage-dependent absorption of cadmium in the rat intestine measured in situ. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 100, 41-50.
 27. HARRISON, R. M. and D. P. H. LAXEN (1981): *Lead Pollution: Causes and Control*. Chapman and Hall, New York, p. 168.
 28. HARPER, E., J. A. LEGER ST., J. A. WESTBERG, L. MAZZARO, T. SCHMITT and T. H. REIDARSON (2007): Tissue heavy metal concentrations of stranded California sea lions (*Zalophus californianus*) in southern California. *Environ. Pollut.* 147, 677-682.
 29. HERNANDEZ-AVILA, M., D. SMITH, F. MENESES, L. H. SANIN and H. HU (1998): The influence of bone and blood lead on plasma lead levels in environmentally exposed adults. *Environ. Health Perspect.* 106, 473-477.
 30. HONDA, K., R. TATSUKAWA and T. FUJIYAMA (1982): Distribution characteristics of heavy metals in the organs and tissues of striped dolphin *Stenella coeruleoalba*. *Agric. Biol. Chem.* 46, 3011-3021.
 31. HOLSBEEK, L., U. SIEBERT and C. R. JOIRIS (1998): Heavy metals in dolphins stranded on the French Atlantic coast. *Sci. Total Environ.* 217, 241-249.
 32. IARC (1993): Cadmium and cadmium compounds. In: *Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposure in the Glass Manufacturing Industry. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, vol. 58.: WHO/IARC - World Health Organization / International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp. 119-237.
 33. KLAASSEN, C. D., J. LIU and B. A. DIWAN (2009): Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238, 215-220.
 34. KUBOTA, R., T. KUNITO and S. TANABE (2001): Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. *Environ. Pollut.* 115, 303-312.
 35. KWOHN, Y. T., S. YAMAZAKI, A. OKUBO, E. YOSHIMURA, R. TATSUKAWA and S. TODA (1986): Isolation and characterization of metallothionein from kidney of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*. *Agric. Biol. Chem.* 50, 2881-2885.
 36. LAPIERRE, P., S. DE GUISE, D. C. MUIR, R. NORSTROM, P. BELAND and M. FOURNIER (1999): Immune functions in the Fisher rat fed beluga whale (*Delphinapterus leucas*) blubber from the contaminated St. Lawrence estuary. *Environ. Res.* 80, 104-112.
 37. LAVERY, T. J., C. M. KEMPER, K. SANDERSON, C. G. SCHULTZ, P. COYLE, J. G. MITCHELL and L. SEURONT (2009): Heavy metal toxicity of kidney and bone tissues in South Australian adult bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Mar. Environ. Res.* 67, 1-7.

38. LAZARUS, M. (2010): Cadmium and selenium interaction in mammals. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 61, 357-369.
39. LIU, J., C. CORTON, D. J. DIX, Y. LIU, M. P. WAALKES and C. D. KLAASSEN (2001): Genetic background but not metallothionein phenotype dictates sensitivity to cadmium-induced testicular injury in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 176, 1-9.
40. MARCUS, W. L. and A. S. RISPIN (1988): Threshold carcinogenicity using arsenic as an example. In: *Advances in Modern Environmental Toxicology*, Vol. 15. Risk Assessment and Risk Management of Industrial and Environmental Chemicals, (Cothern, C. R., Mehlmans, M. A., Marcus, W. L., eds.), Princeton Publishing Co., Princeton, pp. 133-158.
41. MARGOSHES, M. and B. L. VALLEE (1957): A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 1813-1814.
42. MONACI, F., A. BORREL, C. LEONZIO, L. MARSILI and N. CALZADA (1998): Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *Environ. Pollut.* 99, 61-68.
43. NEWAIRY, A. A., A. S. EL-SHARAKY, M. M. BADREL-DEEN, S. M. EWEDA and S. A. SHEWEITA (2007): The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats. *Toxicology* 242, 23-30.
44. NORDBERG, G. F. (2004): Cadmium and health in the 21st century-historical remarks and trends for the future. *Biomaterials* 17, 485-489.
45. NORDBERG, G. F. (2009): Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238, 192-200.
46. OGNJANOVIĆ, B. I., S. D. MARKOVIĆ, S. Z. PAVLOVIĆ, R. V. ŽIKIĆ, A. S. ŠTAJN and Z. S. SAJIĆ (2008): Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium. *Physiol. Res.* 57, 403-411.
47. OLAFSON, R. W. and J. A. J. THOMPSON (1974): Isolation of heavy metal binding proteins from marine vertebrates. *Mar. Biol.* 28, 83-86.
48. PEAKALL, D. and J. BURGER (2003): Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 56, 110-121.
49. RAND, G. M., P. G. WELLS and L. S. MCCARTHY (1995): Introduction to aquatic ecology. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment* (Rand, G. M., ed.), Taylor & Francis, London, pp. 3-53.
50. RIDLINGTON, J. W., D. C. CHAPMAN, D. E. GOEGER and P. D. WHANGER (1981): Metallothionein and Cu-chelatin: characterization of metal-binding proteins from tissues of four marine animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 70, 93-104.
51. ROBERTS, T. M., P. B. HEPPELSTON and R. D. ROBERTS (1976): Distribution of heavy metals in tissues of the common seal. *Mar. Pollut. Bull.* 7, 194-196.
52. RONIS, M. J. J., T. M. BADGER, S. J. SHEMA and P. K. ROBERSON (1998): Endocrine mechanisms underlying the growth effects of developmental lead exposure in the rat. *J. Toxicol. Environ. Health A* 54, 101-120.
53. SARKAR, A., G. RAVINDRAN and V. A. KRISHNAMURTHY (2013): A brief review on the effect of cadmium toxicity: From cellular to organ level. *Int. J. Bio-Technol. Res.* 3, 17-36.
54. SASAKURA, C. and K. T. SUZUKI (1998): Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/sulfide and selenoprotein P. *J. Inorg. Biochem.* 71, 159-162.
55. SIDDQUI, M. F. (2010): Cadmium induced renal toxicity in male rats, *Rattus rattus*. *East. J. Med.* 15, 93-99.
56. SIEBERT, U., C. JOIRIS, L. HOLSBEEK, H. BENKE, K. FAILING, K. FRESE and E. PETZINGER (1999): Potential relation between mercury concentrations and necropsy findings in cetaceans from German waters of North and Baltic Seas. *Mar. Pollut. Bull.* 38, 285-295.
57. SILBERGELD, E. K., J. SCHWARTZ and K. MAHAFEEY (1988): Lead and osteoporosis - mobilization of lead from bone in postmenopausal women. *Environ. Res.* 47, 79-94.
58. TOSTI, E. and A. GALLO (2012): Best biomarker and bioindicator for marine environmental pollution. *J. Marine Sci. Res. Development* 2, 101.
59. VALKO, M., C. J. RHODES, J. MONCOL, M. IZAKOVIC and M. MAZUR (2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1-40.
60. VAN DER SCHALIE, W. H., H. S. GARDNER, J. A. BANTLE, C. T. DE ROSA, R. A. FINCH, J. S. REIF, R. H. REUTER, L. C. BACKER, J. BURGER, L. C. FOLMAR and W. S. STOKES (1999): Animals as sentinels of human health hazards of environmental chemicals. *Environ. Health Persp.* 107, 309-315.
61. WALSH, T. J. and H. A. TILSON (1984): Neurobehavioral toxicology of the organoleads. *Neurotoxicology* 5, 67-86.
62. WHO (1992): Cadmium. *Environmental Health Criteria*, 134. World Health Organization, Geneva.
63. YIN, X., X. LIU, L. SUN, R. ZHU, X. XIE and Y. WANG (2006): A 1500-year record of lead, copper, arsenic, cadmium, zinc level in Antarctic seal hairs and sediments. *Sci. Total Environ.* 371, 252-257.
64. ZALUPS, R. K. and S. AHMAD (2003): Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 186, 163-188.
65. ZHOU, J. L., S. M. SALVADOR, Y. P. LIU and M. SEQUEIRA (2001): Heavy metals in the tissues of common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded on the Portuguese coast. *Sci. Total Environ.* 273, 61-76.

Toxic Metals - Bioindicators of Pollution in the Marine Environment - Part I.: Cadmium and Lead

Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Nina BILANDŽIĆ, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, Bruno ČALOPEK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ivana VARENINA, Grad. Biotechnology Eng., Đurđica BOŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., INES VARGA, Grad. Biotechnology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia; Branimir ŠIMIĆ, PhD, Full Professor, Faculty for Technology and Biotechnology, Zagreb, Croatia; Martina ĐURAS, Assistant Professor, DVM, PhD, Tomislav GOMERČIĆ, Assistant Professor, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

Human activities significantly disturb biogeochemical cycles of elements at the global level. Heavy metals enter the marine environment from natural sources, e.g. rock weathering, and from anthropogenic influences. The food chain is the main route for bioaccumulation of selenium, arsenic, cadmium and mercury in aquatic organisms. Feeding habits and resorption rate are important factors in assessing the concentration of metals in these organisms. Ecotoxicological studies use biomarkers to determine the contamination risks in ecosystems. Marine mammals are important bioindicator species due to their long life span. As long-term marine residents, they are top of the food chain, and have unique fatty deposits that can serve as storage for anthropogenic toxins. Analysis of tissues of different species of whales and dolphins is used as a tool in assessing trace element pollution in the marine environment. Cadmium has no known beneficial properties for life, and is a well-known carcinogen with negative impacts for humans and animals. It is characterized by a long biological half-life and most of its toxic effects are derived from its negative impact on cellular enzymatic systems, where it binds to the divalent ions of zinc, copper and calcium in metalloenzymes or thiol groups of proteins, enzymes and nucleic acids. Cadmium concentrations are almost always highest

in kidney and liver, and lowest in fat tissue and muscles. Marine mammals can mitigate the toxic effects of cadmium by binding metallothionein-MT so that the majority of cadmium is related to the small, cysteine-rich protein. The mechanism of detoxification of the body with selenium is enhanced with cadmium binding into complexes with high molecular mass proteins, thereby is changing its metabolic pathways in the body. Lead is toxic at high exposure levels for most living organisms, and there is no biological need for it. Most studies on the presence of lead in marine mammals have shown that soft tissue, liver and kidney accumulate the highest concentrations, followed by skin, brain and muscles. Due to the strong affinity of lead for calcified tissues, bones and teeth are more suitable organs for studies of lead bioaccumulation. The toxic effects of lead are associated with its interactions with enzymes whose activity is dependent on the presence of free sulfhydryl groups, which form lead mercaptide. The result is that the groups organism can no longer be used for the production of hemoglobin and cytochrome. Since many species of marine mammals share the coastal environment with humans and consume the same food, they can serve as effective indicators of public health problems.

Key words: *Toxic metals, Cadmium, Lead, Marine mammals, Bioaccumulation*

Najznačajnije herpesviroze naših domaćih životinja (I. dio)



Tomislav Keros*, Lorena Jemeršić i Tomislav Bedeković

Uvod

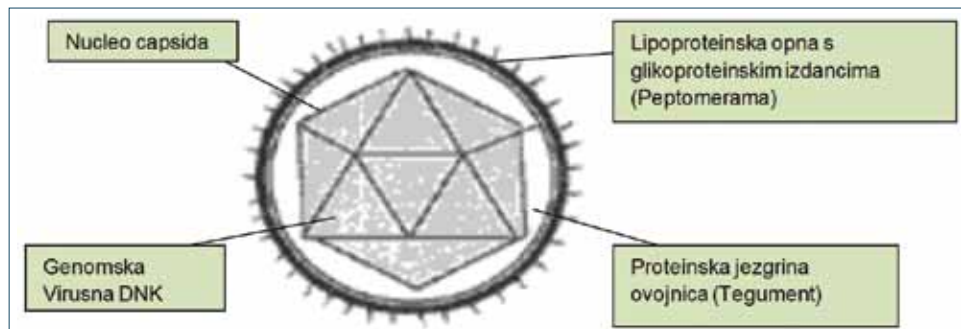
Herpesvirusi su (*Herpesviridae*)¹ velika su porodica endonuklearnih DNK virusa koji su rasprostranjeni u ljudima i ostalim kralješnjacima pa i u nekim beskralješnjacima (mekušci), a cijela porodica je taksonomski promaknuta u red *Herpesvirales*. Herpesvirusi su parazitarne mikroorganizmi jednostavna ustroja, koji imaju dva osnovna dijela: jezgru i proteinski ovoj. Jezgru čini razmjerno velika dvostruka uzvojnica deoksiribonukleinske kiseline (*virusna DNK*) koja kodira za 120 do 200 gena. Antigenski proteinski ovoj (*nucleocapsida*) čine virusne bjelančevine i glasnike ribonukleinske kiseline (*virusna mRNK*) što ikosaedarski oblikuju 12 pentamernih i 150 heksamernih podjedinica (*capsomere*). Tvorba je okružena zaštitnim slojem amorfnih bjelančevina (*tegument*), a izvana je oblaže dvoslojna lipoproteinska omotnica s trnastim glikoproteinskim izdancima na površini. Cjelovita je virusna čestica nazvana *virion* i veličine je 100 do 200 nm (Naglić i Hajsig, 1993., Carter i sur., 2006.).

Zaraza herpesvirusima nastaje prigodom doticaja virusne čestice sa specifičnim receptorskim molekulama na površini stanice domaćina i vezanjem glikoproteinskih izdanaka na staničnu opnu. Virion se razgrađuje i DNK prodire u staničnu jezgru gdje se replicira uz prepisivanje gena putem mRNK. Istodobno proteinska se ovojnica virusa stapa sa staničnom opnom pa kao *nucleocapsida* dospje u staničnu jezgru gdje se umnaža. U daljnjem se tijeku razvijaju razarajuća (*litička*) ili prikrivena (*latentna*) zaraza. U litičkom obliku bolesti u stanici domaćina prepisuju se i umnažaju virusni razarajući geni (*lytic genes*) pa stanica naposljetku propada.

U latentne se zaraze u stanicama domaćina nakupljaju pridruženi prikriveni geni (engl. *latency associated transcripts*) koji se dugo vremena pa i doživotno, mogu održavati bez očitovanja bolesti. Različiti uzroci mogu potaknuti pretvorbu prikrivenih u razarajuće gene kojih umnažanje vodi u smrt stanice. Pojedine vrste herpesvirusa mogu biti i onkogene. (Fenner i sur., 1993., Madić, 2000., Carter i Saunders, 2013.).

¹ Naziv herpesvirus potječe od grčke riječi *herpein* (puzanje) i latinske riječi *virus* (otrov, sluz).

Dr. sc. Tomislav KEROS*, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, (dopisni autor, e-mail: keros@veinst.hr), dr. sc. Lorena JEMERŠIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, naslovna docentica, dr. sc. Tomislav BEDEKOVIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska



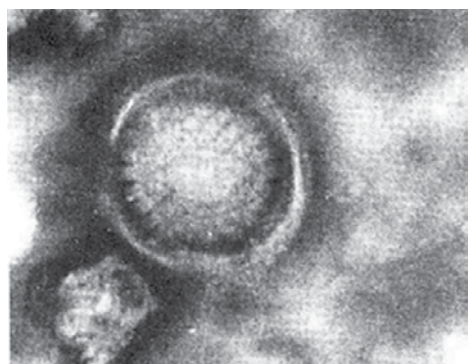
Slika 1. *Herpesviridae* (100-200 nm). Između kapside i ovojnice nalazi se proteinom ispunjeno područje poznato kao sjemena opna. [Slika preuzeta s IVIS web stranice www.ivis.org].

Herpesviruse je prvi put izolirao *Walter Plowright* 1960. godine, a do danas je poznato 138 vrsta. Cijela porodica herpesvirusa podijeljena je na tri potporodice: alfa herpesvirusi, beta herpesvirusi, i gama herpesvirusi, a poglavito zahvaćaju živčani i žljezdani sustav te ponajprije prouzroče poremećaje autonomnoga živčevlja i neuro endokrinoga sustava (Davison, 2010., Adams i Carstens, 2012., JCTV, 2015.). (Slika 2).

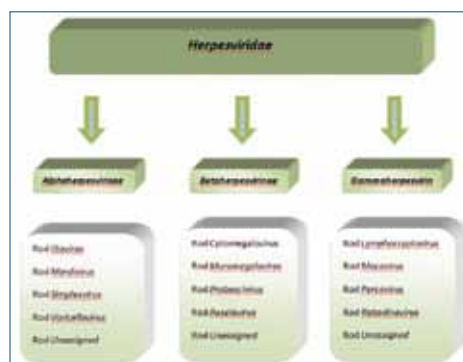
Alpha herpesvirusi (*Alpha herpesvirinae*) imaju velik broj mogućih domaćina (engl. *host range*) te uključuje rod varicelovirusa koji u veterini imaju najveće značenje. Virus iz te skupine imaju kratak replikacijski ciklus (24 sata) pa obično

naglo prouzroče razaranje stanica, a osobina im je da redovito ostaju trajno latentne u živčanim stanicama. Beta herpesvirusi (*Beta herpesvirinae*) manje su značajni u veterini, a imaju razmjerno spor replikacijski ciklus (> od 24 sata) i mali broj mogućih domaćina, a prouzroče sporo razaranje stanica. Stanice se često znatno povećaju, a u citoplazmi i jezgri sadrže virusne uklopine (*intranuklearne uklopine*). Virusi iz te skupine latentno se zadržavaju u limforetikularnim i žljezdanim stanicama.

Gama herpesvirusi (*Gama herpesvirinae*) uključuju razmjerno malu skupinu virusa koja prouzroči malignu kataralnu groznicu u goveda, ovaca, jelena i drugih preživača u Africi, ali se virus



Slika 2. Elektronska mikrofotografija virusne čestice EHV-1 (Iz zbirke Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)



Slika 3. Prikaz porodice *Herpesviridae* s pripadajućim rodovima

Tabela 1. *Herpesviridae* zastupljene u domaćih životinja

Porodica <i>HERPESVIRIDAE</i>		
Podporodica <i>ALPHAHERPESVIRINAE</i>		
Rod (genus)	Vrsta (species)	Bolesti
<i>Simplexvirus</i>	Bovine herpesvirus 2 (BoHV-2)	Mamilitis, lažna ljuskasta koža
<i>Varicellovirus</i>	Bovine herpesvirus 1 (BoHV-1)	Zarazni rinotraheitis, vulvovaginitis/ balanopostitis
	Bovine herpesvirus 5 (BoHV-5)	Meningoencefalitis,
	Suid herpesvirus 1 (SuHV-1)/ Pseudorabies virus (PrV)	Pseudorabies (Aujeszkyeva bolest)
	Equine herpesvirus 1 (EHV-1)	Herpesvirusni pobačaj
	Equine herpesvirus 3 (EHV-3)	Koitalni egzantem
	Equine herpesvirus 4 (EHV-4) Equine herpesvirus 8 (EHV-8) Equine herpesvirus 9 (EHV-9)	Zarazni rinopneumonitis
	Canide herpesvirus 1 (CHV-1)	Pseći rinopneumonitis
	Felide herpesvirus 1 (FHV-1)	Virusni rinotraheitis/keratitis
	Caprine herpesvirus 1 (CpHV-1)	Konjunktivitis i bolesti dišnih organa
<i>Mardivirus</i>	Gallide herpesvirus 2 (GaHV-2)	Marekova bolest peradi
	Gallide herpesvirus 3 (GaHV-3; MDV-2)	
	Meleagrid herpesvirus (HV-1)	Virusna zaraza u purana
<i>Iltovirus</i>	Gallide herpesvirus 1 (GaHV-1)	Zarazni laringotraheitis peradi
Podporodica <i>BETAHERPESVIRINAE</i>		
	Suid porcine herpesvirus 2 (SuHV-2)	Rinitis inkluzijskih tjelešaca
Podporodica <i>GAMMAHERPESVIRINAE</i>		
<i>Macavirus</i>		
	Bovine herpesvirus 6 (BoHV-6) / Alcelaphine herpesvirus 1 Ovine herpesvirus 2 (OvHV-2)	Maligna kataralna septikemija (coryza) ovaca, ali i druge stoke
	Suid herpesvirus 3 (SuHV-3)	
	Suid herpesvirus 4 (SuHV-4)	
	Suid herpesvirus 5 (SuHV-5)	
	Caprine herpesvirus 2 (CpHV-2)	
<i>Percavirus</i>	Equine herpesvirus 2 (EHV -2)	
	Equine herpesvirus 5 (EHV-5)	
<i>Rhadinovirus</i>	Bovine herpesvirus 4 (BoHV-4)	
NERAZVRSTANI		
	Anatide herpesvirus 1 (AnHV-1) Equine herpesvirus 7	Virusni enteritis pataka

prenosi i diljem svijeta. U tu se skupinu ubrajaju i rodovi koji ugrožavaju morske i slatkovodne ribe te štakore, hrčke i druge životinje. U ovom pregledu prikazujemo najvažnije herpesvirusne zaraze naših domaćih životinja. Cjelovitosti radi napominjemo da brojne posebne vrste herpesvirusa prouzroče bolesti ljudi, a istraživanja upućuju da su zaraze vrlo rasprostranjene i latentno opstojе u gotovo 90% pučanstva. Pri tome se ističu osam vrsta herpesvirusa: *humani herpesvirus 1* i *2* koji oba prouzroče orolabijalni i genitalni herpes; *humani herpesvirus 3* što prouzroči vodene kozice i herpes zoster; *humani herpesvirus 4* (Epstein-Barr virus - EBV) uzročnik mononukleoze; *humani herpesvirus 5* (citomegalovirus); *humani herpesvirus 6* uzročnik limfoproliferativnih bolesti; *humani herpesvirus 7* i *humani herpesvirus 8* povezan s Kapossievim sarkomom. Naposljetku upozoravamo da i pojedini animalni herpesvirusi mogu zoonotski zaraziti ljude, primjerice *cercopithecine* virus i herpes B virus, koji prouzroči pogibeljni encefalomijelitis. To posebice vrijedi za osoblje u laboratorijima koje je takvim zarazama izloženo pa je nužna pomnija zaštita (Ropac i sur., 2003., Tischer i Osterrieder, 2011., Carter i Saunders, 2013.).

Zaraze goveda herpesvirusima

Herpesvirusne zaraze u goveda prouzroči šest specifičnih vrsta herpesvirida (BoHV) među kojima su najvažnije BoHV-1, BoHV-2, BoHV-5 i BoHV-6. Napominjemo da goveda mogu oboljeti i od zaraze virusom pseudorabiesa (PrV) (Jukić i sur., 1975., Čač i sur., 2005.).

Goveđi herpesvirus 1

Goveđi herpesvirus 1 (*Bovine herpesvirus 1*- BoHV-1, BHV-1, GHV-1)

prouzroči nekoliko bolesti prednjih dišnih putova, spolnoga sustava i crijeva te vrlo rijetko encefalitis. Pri tome razlikujemo dvije skupine: respiratornu BHV-1.1 i genitalnu BHV-1.2 (Madić, 2012.).

Pojavnost i prenošenje. Zaraze BoHV-1 rasprostranjene su u cijelome svijetu, a uz goveda virus je dokazan i u divljih preživača (npr. jelena). Zaraza se izravno prenosi putem dišnoga (kapljice aerosola) ili spolnoga sustava (snošaj, umjetna oplodnja) te drugim izlučevinama (proljev). Virus je otporan na utjecaje iz okoliša pa u hladnim razdobljima može preživjeti i do mjesec dana. Naglašavamo da je smrznuto sjeme optimalna sredina za preživljavanje virusa i do godine dana. Zaraza najčešće zahvaća životinje u dobi od 6 do 18 mjeseci, a učestalija je u jeseni i zimi. Pobol je u necijepljenih i ne imunih životinja, od 20% do 30%, a povećava se u stresnim stanjima.

Razvoj bolesti. Umnažanje virusa nastaje u sluznicama prednjeg dijela dišnoga ili spolnoga sustava pa se virusi nalaze u izlučevinama dišnih (slina, ispljuvak, suze) ili spolnih organa (sjeme, rodnički iscjedak ili putem posteljice). Virusi se vežu na okončine živčanih stanica i prenose do trigeminalnih ili sakralnih ganglija, gdje se ustale kao žarišta latentne infekcije. Virusi se vraćaju i na mjesta ulaza pa se bolest može periodički reaktivirati, sa ili bez kliničkog očitovanja, a zaražena goveda postaju doživotni nositelji infekcije za druge životinje. Izlučivanje virusa obično traje 2 do 17 dana, a cijepjene životinje isto tako izlučuju viruse, ali u manjem broju (Nandy i sur., 2009.).

Klinička slika i patološke promjene. Inkubacija traje 3 do 7 dana, a tijekom bolesti je zavisan o virulentnosti soja, dobi zaražene životinje i uvjetima održavanja. Zaraza BoHV-1 očituje se u nekoliko kliničkih oblika i to kao rinotraheitis te u krava kao pustularni vulvovaginitis i abortus, a u bikova balanopostitis. U zaraženih životinja razvijaju se i enteritis te transportna groznica.

Respiratorni oblik bolesti (Bovine rhinotracheitis infectiosus -IBR): najučestaliji je i započinje naglim povećanjem tjelesne temperature iznad 41 °C i ubrzanim bicom uz kongestiju i nekrotičnu upalu sluznica nosa i usta s papulama, kihanjem, seroznim i mukopurulentnim nosnim iscjetkom, ubrzanim otežanim disanjem i kašljem te odbijanjem hrane i smanjenom mliječnosti. Upala očne spojnice (*conjunctivitis*) uz suzenje oka redoviti je nalaz, a upala može zahvatiti rožnicu pa i cijelo oko (*panophthalmitis*). U teladi se katkad razvije i encefalitis.

Genitalni oblik bolesti (Vulvovaginitis pustulosus/balanoposthitis infectiosus): očituje se upalom sluznica spolnoga sustava uz groznicu, opću klonulost i odbijanje hrane. Stidnica je u krava natečena s nekrotičnim erozijama, pustulama, čirevima i bolnim mokrenjem i snošajem, a krave imaju podignut rep i oskudan iscjedak iz rodnice. Pobačaji i mrtvorođenčad nisu učestali, a mogu nastati i do tri mjeseca nakon zaraze. Prodor virusa u maternicu prouzroči nekrotizirajući endometritis pa i nekrotična oštećenja jajnika s privremenim poremećajem reproduktivnog ciklusa i neplodnošću tijekom dva do tri mjeseca.

Oporavak u primjereno održanim uvjetima traje do četrnaest dana. U otežanim uvjetima (stres prigodom miješanja životinja u stadu i transporta, nedostatna prehrana) sekundarne bakterijske infekcije mogu prouzročiti žestoki traheitis s difteričnim naslagama i bronhopneumonijom. Viremija je rijetkost, ali ako putem posteljice virusi dospiju u fetus prouzroče nekrozu organa i pobačaj, a u novorođene teladi enteritis i uginuće. Smrtnost je razmjerno mala (10%), ali poremetnje umanjuju proizvodne sposobnosti oboljelih goveda te utječu na zabranu trgovine proizvodima i životinjama (Fenner i sur., 1993., Carter i Saunders, 2011., Madić, 2012.).

Dijagnostika. Početna se dijagnoza postavlja temeljem epizootioloških podataka i kliničkog nalaza, a potom pretragama suza, nosnog iscjetka i/ili prepucijalnog i vaginalnog obriska te uzoraka mlijeka. Etiološka se dijagnoza utvrđuje izdvajanjem i unošenjem u stanične kulture govedskog podrijetla te dokazivanjem virusne DNK, postupkom PCR. Za prepoznavanje specifičnih protutijela rabe se neutralizacijski i imunoenzimni testovi (ELISA). Imunofluorescenca je prikladan postupak u dijagnostici pobačaja kada virusi nisu održivi zbog autolize fetalnog tkiva. Serološka dijagnostika nije posve pouzdana, jer protutijela nisu dostatno osjetljiva, ali značajno povećanje IBR protutijela može koristiti u razlučivanju akutnog i latentnog oblika bolesti (Lojkić i sur., 2011.). Razlikovna se dijagnostika odnosi ponajprije na meningoencefalitis uzrokovan s BoHV-5, a otežana je zbog izrazite serološke reaktivnosti. Uzorci za pretrage se uzimaju iz tkiva tonzila, pluća, traheobronhalnih limfoidnih čvorova te fetalne jetre, slezene, pluća i bubrega (Carter i sur., 2006.).

Liječenje. Liječenje je simptomatsko protuupalnim sredstvima za suzbijanje vrućice i bolite antibioticima, ako se razvije sekundarna infekcija. U vulvovaginitisa se primjenjuju antiseptička terapija i adstringensi te pripravci rivanola i borata, a u balanopostitisa se koriste masti na osnovi prokaina i rivanola, antibiotici i vitamin A.

Sprječavanje. Suzbijanje zaraze BoHV-1 dugotrajan je pothvat i njezino je iskorjenjivanje do sada bilo uspješno samo u nekim europskim zemljama (Austrija, Švicarska, Italija, Danska, Švedska, Norveška i Finska). U Hrvatskoj je u pojedinim stadima pronađeno 90% serološki pozitivnih krava. U reproduktivnim programima najvažnija je mjera specifična imunoprofilaksa. Pri tome se uglavnom rabe atenuirana i inaktivna cjepiva, a mutanti cjepiva (Marker vaccine -DIVA) omogućuju

razlikovanje cijepljenih od zaraženih životinja te otkrivanja virusa koji su mutirali. Zaražena goveda se odmah moraju izdvajati iz uzgoja, a goveda pozitivna na BoHV-1 protutijela treba ekonomski iskoristiti klanjem. Posebnu pozornost valja pridati ispravnoj mužnji i transportu, a napose prigodom uvoza stoke (Nandy i sur., 2009., Lojkić i sur., 2011.).

Atenuirana cjepiva obično se daju intranazalno i već tijekom 72 sata potiču tvorbu lokalne imunosti, ali se ne primjenjuju u bređih krava, jer mogu prouzročiti neplodnost. Inaktivirana cjepiva se primjenjuju intramuskularno, a virus se ne umnaža u životinji pa nema opasnosti od povratne virulencije i prikladna su za cijepjenje bređih krava. No, cjepivo je potrebno višekratno primijeniti, a dobra imunost se postiže tek nakon 7 do 10 dana tijekom kojih životinja može biti zaražena (Madić, 2012.).

Goveđi herpesvirus 2

Goveđi herpesvirus 2 (*Bovine herpesvirus 2*; BoHV2) prouzroči herpetični mastitis /ulcerativni mastitis (*Bovine herpes mammilitis*) koji lokalno zahvaća kožu i potkožna tkiva vimena i sisa pa se govori i o lažnoj bolesti kvrgave kože.

Pojavnost i prenošenje. Bolest se pojavljuje u tropskim područjima te sporadično diljem svijeta, a poglavito u mliječnih krava i gospodarski je značajna zbog pada mliječnosti. Zaraza se prenosi izravnim doticajem ili posredno onečišćenom opremom za mužnju i rukama mužača te mehanički ubodima kukaca (primjerice muhe). Na zarazu su posebno primljive junice koje tijekom dva tjedna po porođaju imaju izraženi fiziološki edem vimena (Milas, 2012.a).

Razvoj bolesti. Virus se nakon prodora u kožu lokalno umnožava i stvara intranuklearne uklopine bez sustavnog rasapa. Epizootija u stadu traje 6 do 15 tjedana.

Klinička slika i patološke promjene. Inkubacija traje 5 do 10 dana, a bolest se očituje

bolnim edemom mamila i naglim razvojem vezikula koje pucaju unutar 24 do 42 h serozni izljev, a posljedično nastaju nekrotičke erozije bradavice i epitela vimena, koje ulceriraju. Četvrtog se dana počinju stvarati tamne kruste ispod kojih cijeljenje kože i oporavak traju tri do dvanaest tjedana. U teladi se mogu naći i lezije na njušci, u usnoj šupljini, a u krava i na sluznici rodnice te na koži medice. U krava bez posebne skrbi mogu se razviti sekundarne infekcije (Carter i Saunders, 2013.).

Dijagnostika. Dijagnoza se teško postavlja samo temeljem kliničke slike pa je potrebna patohistološka pretraga uzoraka. Virus se može izolirati u staničnim kulturama gdje bolje raste uz niže temperature te u stanicama stvara osebujne sincicije. Brza se dijagnoza može postići prikazom virusa u smrznutom histološkom preparatu pod elektronskim mikroskopom. Pretraga se upotpunjava serološkom neutralizacijom i fluorescencijskim testom protutijela.

Razlikovna dijagnoza uključuje zarazu BoHV-1 te prave i lažne kravlje boginje, bolest kvrgave kože, bolest plavog jezika, malignu kataralnu septikemiju (coryza), slinavku i šap, vezikularni stomatitis i ostale bolesti u kojih na koži nastaju vezikule i ulceracije (Milas, 2012.b). Uzorci za pretrage uzimaju se iz zahvaćenih područja kože i sluznica.

Liječenje. Strojna mužnja može spriječiti nastanak krusta, ali odlaže cijeljenje. Njegovom i dezinfekcijom kože treba otkloniti dodatna oštećenja tijekom mužnje i sekundarne infekcije (mastitis). Pri tome se prije postavljanja muzilice koriste dezinfekcijske masti razmućene u vodi, a nakon mužnje adstringensi i losioni. Virus je osjetljiv i na jodoformne dezinficijense.

Sprječavanje. Oboljele životinje treba odmah odijeliti. Posebnu pozornost valja pridati mužnji i postupanju s mlijekom uz antiseptičku obradu vimena i mliječnog pribora, a krave koje se prvi put muzu valja pomusti prije ostalih. Nakon porođaja valja nastojati smanjiti

pojavnost fiziološkog edema vimena. U ljetnim mjesecima treba suzbijati brojnost kukaca. Moguće je cijepljenje prije uvođenja novih životinja u zaraženi uzgoj (Bačić i sur., 2000.).

Goveđi herpesvirus 4

Goveđi herpesvirus 4 (*Bovine herpesvirus 4; BoHV-4*) katkad može prouzročiti zarazu istovjetnu onoj s BoHV-2, a razlike u kliničkom očitovanju zavise o soju virusa i načinu infekcije.

Goveđi herpesvirus 5

Goveđi herpesvirus 5 (*Bovine herpesvirus 5; BoHV-5*) zahvaća središnji živčani sustav i prouzroči zarazni encefalomijelitis (*encephalomyelitis infectiosus*).

Pojavnost i prenošenje. Zaraza je učestala u Južnoj Americi (Brazil, Argentina) te rjeđe u Australiji i rijetko u nekim europskim zemljama. Bolest se najčešće očituje u goveda od sedam mjeseci do tri godine, rjeđe u mlađih životinja te iznimno i nakon šeste godine života. Zaraza se razvija neovisno od klasične IBR, a može oboljeti i do 30% stada (Fenner i sur., 1993.).

Razvoj bolesti. Virus se vjerojatno, poput BoHV-1, prenosi putem nosne sluznice i trigeminalnoga živca, poglavito do frontalnog korteksa gdje uzrokuje upalne promjene. Latentna se infekcija reaktivira u stresnim stanjima (odbijanje od sisanja, transport).

Klinička slika i patološke promjene. Klinički nalaz sukladan je meningoencefalitisu uz znakovitu sljepoću, smušenost i opću klonulost tijekom 4 do 7 dana, a kadšto i do dva tjedna. Bolest najčešće završava uginućem.

Patoanatomski se nalaze malacija mozgovne kore te upalne promjene pretežito u mozgu, a koje sežu u mozgovno deblo i mali mozak.

Dijagnostika. Dijagnoza se postavlja temeljem kliničke slike, histopatološkog nalaza i virološkog izolata. U neuronima i astrocitima su često prisutna

inkluzijska tjelešca, a virusološki se u mozgovnim tkivima može izolirati oseljivi BoHV-5 (Carter i Saunders, 2013.). Razlikovna dijagnoza uključuje zarazu s BoHV-1 uz napomenu da s većinom dijagnostičkih reagensa nije moguće razlučiti BoHV-1 i BoHV5. Za pretragu se uzimaju uzorci tkiva mozga, malog mozga i mozgovnog debla.

Liječenje. Nema uspješnog liječenja.

Sprječavanje. Cijepljenje IBR cjepivom je učinkovito, ali zbog rijetkosti zaraza s BoHV-5 nije isplativo.

Goveđi herpesvirus 6

Goveđi herpesvirus 6 (*Bovine herpesvirus 6; BoHV-6*), u literaturi katkad naveden i kao *Alcephaline herpesvirus 1* prouzroči zloćudnu virusnu prehladu goveda (*Coryza; Bovine septicaemia catarrhalis maligna*). Drugim epizootološki bliskim uzročnikom smatra se ovčji herpesvirus 2, a izolirani su još i kozji herpesvirus 2 i jelenski herpesvirus 2 (Milas, 2012.b).

Pojavnost i prenošenje. Bolest poglavito ugrožava stada ovaca i gnuva u Africi, ali se povremeno pojavljuje u ovaca i koza u cijelom svijetu, posebice u zajedničkim uzgojima ovaca i goveda. Latentna zaraza postoji i u ostalih divljih preživača (jeleni) koji je mogu prenijeti govedima. Zaraza obično nastaje nakon janjenja, a janjci izlučuju viruse u dobi od 6 do 9 mjeseci. Pretpostavlja se da se virusi poglavito prenose kapljičnom infekcijom ili zaraženom hranom, a izvor zaraze su oboljele životinje bez klinički izraženih poremećaja pa i rijetka goveda koja prežive bolest, ali je zaostala dugotrajna viremija.

Razvoj bolesti. Razvoj bolesti nije dostatno istražen, a u lezijama postoji intracelularna viremija i propadanje virusa, što se smatra imunim odgovorom.

Klinička slika i patološke promjene. Inkubacija traje 3 do 8 tjedana. Bolest se najčešće očituje općim infekcijskim sindromom uz klonulost i groznicu

(tjelesna temperatura do 42 °C) i drhtanje mišićja pa i kloničke grčeve. Životinja odbija hranu i vodu, a laktacija naglo prestaje. Životinja žestoko suzi uz edem vjeđa i osjetljivost na svjetlo (fotofobiju), a mogu se razviti upale rožnice i šarenice pa i perforacija s ispadom šarenice. Upala razara sluznice nosne i usne šupljine uz obilan iscjedak koji postaje mukopurulentan i brzo se suši pa nastaju pseudomembrane koje zatvaraju prednje dišne putove i otežavaju disanje. Istodobno je zahvaćena i sluznica predželuca i crijeva pa se mogu pojaviti opstipacija ili proljev u kojem nalazimo primjese sluzi i krvi te pseudo membrane. Moguće su erozije gupca i otpadanje rogova te rožine papaka. Nakon akutnog febrilnog razdoblja većina oboljelih životinja ugiba unutar desetak dana (Fenner i sur., 1993., Milas, 2012.b).

Patoanatomski se nalaze nekrotične upale sluznica, dišnoga, probavnoga i mokraćnoga sustava sa subepitelijalnim limfoidnim infiltracijama te generalizirana limfoidna hipoplazija uz rasprostranjeni fibrinoidni vaskulitis. U bubrezima i jetri mogu se uočiti siva žarišta, a prednji vratni i retrofaringealni limfoidni čvorovi mogu biti edematozni i hemoragični. Dodatno se mogu pronaći zamućenje rožnice te edem mozgovnih ovojnica i perivaskularna zadebljnja u ostalim mozgovnim područjima.

Dijagnostika. Epizootički značajan podatak je ako se goveda drže zajedno s ovcama, a temeljem izražene kliničke slike i patoloških promjena bolest se lako prepoznaje. Laboratorijski je virus teško dokazati izolacijom virusa, imunohistokemijski i PCR postupkom limfoidnih čvorova, slezene i pluća. Razlikovna dijagnoza uključuje zarazni rinotraheitis goveda, bolest sluznice goveda, govedu kugu, keratokonjunktivitis, listeriozu i keratozu, bjesnoću te ostale meningoencefalitise. Uzorci za pretrage uzimaju se iz zahvaćenih tkiva (Carter i Saunders, 2013.).

Liječenje je redovito neuspješno.

Sprječavanje. Goveda se moraju uzgajati odijeljeno od ovaca, a ako to nije moguće PCR postupkom valja provjeravati ovce na kliconoštvo. Cijepljenje zbog rijetke pojavnosti bolesti nije gospodarski isplativo (Jukić i sur., 1975.).

Zaraze konja herpesvirusima

Konje ugrožava sedam vrsta herpesvirusa (EHV), među njima posebice EHV-1 i EHV-2 te EHV-3 i EHV-4. Pri tome su konjski herpesvirus 1 i konjski herpesvirus 4 antigenski različite podskupine i razlikuju se u patogenezi bolesti, ali imaju brojna zajednička obilježja. EHV-1 uz oštećenja dišnoga sustava poglavito zahvaća živčani i spolni sustav, a EHV-4 uglavnom prouzroči upale dišnih organa. Konji katkad mogu biti zaraženi i virusom pseudorabiesa (PrV).

Konjski herpesvirus 1

Konjski herpesvirus 1 (*Equine herpesvirus 1*; EHV-1) poznat i kao konjski virus abortusa uključuje dva glavna soja. Neurotropni soj s asparaginskom kiselinom (D752) koji je uglavnom odgovoran za razvoj neurološke kliničke slike, a soj s asparaginom (N752) blisko je povezan s ostalim oblicima bolesti (Lunn i sur., 2014.).

Pojavnost i prenošenje. Zaraze EHV-1 virusom rasprostranjena je diljem svijeta, napose u područjima s mnoštvom konja. Zaraza se prenosi izravno ili posredno putem kapljica, iscjетка iz nosnica i usta ili od pobačenog fetusa s plodovima ovojnicama i tekućinom koji su prirodni domaćini virusa te mogu biti latentni prijenosnici zaraze. Reaktivacije virusa se pojavljuju nakon različitih stresova i primjene kortikosteroida (Dunowska, 2015.).

Razvoj bolesti. Konjski herpesvirus 1 umnožava se u endotelnim stanicama

ma krvnih žila nosne sluznice, pluća, nadbubrežne i štitaste žlijezde te putem posteljice i ploda prigodom pobačaja. Istodobno zahvaća i regionalne živčane ganglije, a rjeđe i središnji živčani sustav gdje uzrokuje meningoencefalopatiju (engl. *Equine herpesvirus meningoencephalopathy*).

Klinička slika i patološke promjene. Inkubacija traje 2 do 10 dana tijekom kojih se bolest očituje blagom slikom uz povećanje tjelesne temperature (39 do 42 °C), seroznim iscjedom iz nosa te konjunktivitisom i otjecanjem submandibularnih i retrofaringealnih limfoidnih čvorova te kašljem i odbijanjem hrane. Sekundarna bakterijska infekcija može prouzročiti mukopurulentni iscjedak, upalu ždrijela, tešku upalu pluća pa i smrt životinja, što je iznimna pojava. U kobila 2 do 4 tjedna nakon zaraze najčešće u posljednja četiri mjeseca trudnoće i bez prethodnih kliničkih znakova nastaje pobačaj. Kobile u visokoj bređosti mogu roditi živo ždrijebe koje je beživotno i atonična mišićja pa ne može stajati, a podložno je sekundarnim infekcijama i redovito ugiba tijekom nekoliko sati ili dana od porođaja (Fenner i sur., 1993., Carter i Saunders, 2013.).

Patoanatomski se u krvnim žilama razvijaju perakutni vaskulitis i tromboze. U pobačenih se plodova nalaze prepoznatljive velike nekrotične lezije u edematoznim plućima, a redovito postoje mala zagasita nekrotična žarišta u plućima, jetri i slezeni. Pod elektronskim mikroskopom vidljive su intranuklearne uklopine. Neurološki oblik bolesti razmjerno je rijetka pojava i očituje se manje ili više izraženim poremećajima koordinacije (ataksijom) i parezom stražnjih udova pa životinja ne može stajati, a obično je i poremećena svijest. Uz hipoesteziju kože u perianalnom i ingvinalnom području mogu uslijediti inkontinencija i ispad motoričke funkcije repa. Oporavak obično nastaje za 7 do 14 dana i kobile mogu opet biti gravidne, ali u nekih životinja mogu zaostati trajna ne-

urološka oštećenja. Samo iznimno se razvije paraplegija i životinja ugiba (Barbić i sur., 2012.).

Dijagnostika. Vjerojatna dijagnoza se postavlja temeljem kliničke slike, a potom nalaza pri obdukciji i histopatološkim pretragama te u pobačaja fetalne jetre, slezene, timusa i pluća. Dijagnoza se potvrđuje dokazom virusnih antigena imunofluorescencijom kriostatских rezova promjenama zahvaćenih tkiva. U obriscima nosne sluznice te uzorcima krvnog seruma sigurna se dijagnoza danas postavlja primjenom lančane reakcije polimerazom (PCR), inačicom kojom se može iskazati i količina prisutne DNK virusa, odnosno razina zaraženosti životinje. Dijagnostika neurogenih oblika bolesti je otežana, jer je iz tkiva središnjega živčanog sustava teško izolirati virus (Dunowska, 2015.). Razlikovna dijagnoza uključuje konjsku influencu, arteritis i druge respiratorne zaraze. Razlučivanje zaraze s EHV-1 i EHV-4 omogućuje inokulacija virusa u stanične kulture podrijetlom od konja i zečeva, jer EHV-4 raste samo u konjskim stanicama. U razlikovanju rečenih zaraza te akutnog i kroničnog tijeka bolesti koriste se pretraživanje krvnih seruma Virus neutralizacijskim i ELISA testom. Uzorci za pretrage uzimaju se iz nosne sluznice, pluća te posteljice i plodovih ovoja.

Liječenje. Potrebna je primjerena njega uz antipiretike, a antibiotici smanjuju mogućnost sekundarne infekcije te otklanjaju smrtnost od kongestije i upale pluća, atonije crijeva i rupture mokraćnog mjehura. Bitno je životinjama višekratno provjeravati tjelesnu temperaturu.

Sprječavanje. U sprječavanju pobačaja obavlja se cijepljenje inaktivnim cjepivom u 3, 5, 7. i 9. mjesecu gravidnosti, a zaštita traje 2 do 4 mjeseca. U program cijepljenja valja uključiti sve konje u uzgoju. Zdrjebad se cijepi u dobi od tri do četiri mjeseca uz docijepljivanje zavisno o cjepivu. Zaražene životinje nužno je odmah izdvojiti iz uzgoja, a u osami ostaju još mjesec dana nakon potpunog oporavka.

U otklanjanju reaktivacije virusa životinje valja čuvati od stresa (odbijanje od dojenja, transport, vuča, teška oprema, trening i natjecanja, život u stajama), a utjecaj imaju i godišnja dob, starost pa i spol životinje (Lunn i sur., 2014.).

Konjski herpesvirus 2 i Konjski herpesvirus 5

Konjski herpesvirus 2 (*Equine herpesvirus 2; EHV-2*) i konjski herpesvirus 5 (*Equine herpesvirus 5; EHV-5*) pronađeni su u većine domaćih konja, a prouzroče konjunktivitis i bolesti dišnoga sustava.

Konjski herpesvirus 3

Konjski herpesvirus 3 (*Equine herpesvirus 3; EHV-3*) prouzroči spolni osip konja (*Equine coital exantema; ECE*).

Pojavnost i prenošenje. Zaraza s EHV-3 je izrazito priljepčiva i rasprostranjena je u rasplodnih konja diljem svijeta. Virus se prenosi prigodom opasivanja, posebice sa sluzi i iscjerkom iz rodnice, premda prijenosnici mogu biti i konji u sklopu reaktivacije virusa. Pri tome se virus može prenijeti onečišćenim priborom za umjetno osjemenjivanje ili instrumentima za ginekološki pregled (Barbić i sur., 2011.).

Razvoj bolesti. Virus prodira u sluznicu spolnoga sustava i u kožu okolnih područja, a postoji i manje značajna mogućnost zaraze dišnim sustavom. Sekundarne bakterijske infekcije mogu prouzročiti komplikacije pa ih treba sprječavati.

Klinička slika i patološke promjene. Inkubacija traje 1 do 10 dana. Sluznica spolnih organa (penis, prepucij, rodница, stidnica) pocrveni i natekne uz svrbež pa ih životinja češe o razne predmete. Tijekom dva do tri dana razvijaju se sitne bijele papule koje mogu narasti do 10 ili 15 milimetara i prelaze u pustule što mjestimično pucaju pa nastaju vrlo bolne ulceracije s vremenom pokrivene krastama. U pastuha edem zahvaća kožu mošnje uz sputan hod. U kobila se pojavljuju iscjedak iz rodnice i promjene kože u okolici stidnice te podignut

rep. U bolesnih životinja nestaje spolni nagon i rasplodivanje je privremeno je onemogućeno. Ulceracije naposljetku zacijeljuju malim karakterističnim ožiljcima. Bolest je redovito benigna te ako ne uslijede komplikacije traje tri tjedna. Imunost nakon toga nije trajna pa životinja ostaje doživotno prenositelj, a moguće su i ponovne infekcije. Katkad zaraze mogu biti bez povećanja tjelesne temperature i izostanka apetita pa prolaze nezapaženo (Barbić, 2012.).

Dijagnostika. Bolest se najčešće može prepoznati prema kliničkoj slici. Objektivno se virus dokazuje serološki virus neutralizacijskim testom. Histološki se u stanicama nalaze znakovite intranuklearne uklopine. Virus se umnožava u staničnim kulturama podrijetlom iz konja. Uzorci tkiva za pretragu uzimaju se s ruba kožnih i staničnih promjena.

Liječenje. U liječenju nema specifičnih etioloških mogućnosti pa se samo lokalno može njegovati kožu uz primjenu antiseptičke masti i losiona, a u suzbijanju sekundarnih bakterijskih infekcija rabe se antibiotici.

Sprječavanje. Specifičnog cjepiva nema. Oboljele životinje valja izdvajati, a posebno provjeriti pastuhe prije opasivanja i umjetnog osjemenjivanja. Pozornost treba pridati zaštiti od jatrogenog prenošenja zaraze (oprema za preglede). U posebice vrijednih konja može se poduzeti i provjera PCR postupkom.

Konjski herpesvirus 4

Konjski herpesvirus 4 (*Equine herpesvirus-4; EHV-4*) prouzroči upale dišnoga sustava (*Equine viral rhinopneumonitis*), a samo rijetko neurološke poremećaje te kadšto i pobačaj.

Pojavnost i prenošenje. Virus je učestao u konja diljem svijeta, ali životinje redovito dugo vremena ne pokazuju kliničke znakove bolesti i samo katkad se dogodi izbijanje bolesti. Zaraza se prenosi izravnim doticajem ili posredno

putem aerosolnih kapljica, a pri tome najčešće zahvaća mlade konje dobi od dvije godine (Barbić i sur., 2010.).

Razvoj bolesti. Virusi se umnažaju u slini i epitelnim stanicama sluznice dišnih organa te u regionalnim limfnim čvorovima.

Klinička slika i patološke promjene. Inkubacija traje 2 do 10 dana. Bolest se očituje povećanjem tjelesne temperature, upalom nosne sluznice uz obilat nosni iscjedak, a životinje pokazuju blagu klonulost. U bređih kobila kadšto može uslijediti pobačaj. Sekundarne bakterijske infekcije pogoršavaju stanje bolesti pa se može razviti i pogibeljna upala pluća. Oporavak bez komplikacija obično je miran i traje do tri tjedna. No, virusna DNK se latentno zadržava u stanicama (trigeminalni gangliji, limfoidni čvorovi) pa je reaktivacijom virusa moguće naknadno kliničko izbijanje bolesti (Starešina, 2012.).

Dijagnostika. Vjerojatna se dijagnoza može postaviti temeljem epizootioloških podataka i kliničke slike. Potvrđuje se izolacijom virusa u staničnim kulturama konjskog podrijetla, a promjene u porastu specifičnih protutijela u akutnoj fazi i za oporavka mogu pomoći u dijagnostici (Perharić i sur., 2011.).

Razlikovna dijagnoza: Virusi EHV-1 i EHV-4 su srodni i uvriježenim ih serološkim pretragama nije moguće razlučiti, premda su opisani ELISA postupci. Stoga se poduzima inokulacija virusa u stanične kulture podrijetlom od konja (*dermalne stanice*) i kunića (*RK-13 stanični oblik*), jer EHV-1 raste samo u konjskim stanicama. Promišljati valja i o paralitičkoj koitalnoj egzantemi (*durina*). Uzorci za laboratorijske pretrage su: nosni iscjedak, potpuna krv, krvni serum i oboljelih životinja i životinja u oporavku.

Liječenje. Nema etiološki specifičnog liječenja pa primjerenom skrbi uz antibiotike treba spriječiti komplikacije i sekundarne bakterijske infekcije.

Sprječavanje. U uzgojima treba otkloniti opasnost od zaraze valjanom održava-

njem. Novi dobavljeni konji i povratnici s izložbi ili natjecanja moraju provesti nekoliko tjedana u osami. Cijepljenje modificiranim virusima danas je omogućeno, ali treba koristiti cjepiva koja ostvaruju potpunu zaštitu. Pri tome pojedina cjepiva istodobno sadrže EHV-1 i EHV-4. Cijepljenje se obično poduzima u trećem ili četvrtom mjesecu života i potom učestalo opetuje (Carter i sur., 2006.).

Sažetak

Herpesvirusi, kojih porodica obuhvaća više od 130 vrsta, među najučestalijim su uzročnicima virusnih zaraza u ljudi i životinja, a posebice su značajni u veterinarskoj medicini gdje ugrožavaju održavanje zdravlja domaćih životinja. Pri tome pojedine vrste herpesvirusa nanose velike gospodarske gubitke pa je njihovo suzbijanje naglašeni problem u cijelome svijetu. U prvom dijelu autori su izložili osnovne značajke i podjelu herpesvirusa uz primjeren preglednu tablicu najvažnijih sojeva. Slijede sažeti, ali iscrpni prikazi pojedinih virusa u goveda, (BoHV-1, BoHV-2, do BoHV-6), konja (EMV-1 i EMV-4). Pri tome su redovito obuhvaćene pojavnost i širenje zaraze, klinička slika i patološke promjene, dijagnostika te mogućnosti liječenja i sprječavanja zaraze.

Ključne riječi: *herpesvirusi, epizootiologija, dijagnostika, prevencija*

Literatura

- ADAMS, M. J. and E. B. CARSTENS (2012): Ratification vote on taxonomic proposal to the International committee on taxonomy of viruses. *Arch. Virol.* 157, 1411-1422.
- BAČIĆ, G., K. STIPETIĆ, Z. MILAS, C. J. M. BARTLES i T. KARADJOLE (2000): Komparativni prikaz higijene i tehnike mužnje mlijeka u tri farme. 2. hrvatski veterinarski kongres, Zbornik referata. Zagreb. (837 - 843).
- BARBIĆ, LJ., N. TURK, Z. MILAS, V. STAREŠINA, V. STEVANOVIĆ, V. MARTINKOVIĆ, T. BEDEKOVIĆ, J. LOJKIĆ, M. LOJKIĆ and J. MADIĆ (2010): Equine pneumonitis in Croatia 2009 – introduced or recognised disease. 15th STVE International Congress, Abstracts, Carrara. (282-283).
- BARBIĆ, LJ., M. MARKIĆ, V. STEVANOVIĆ, V. STAREŠINA, T. BEDEKOVIĆ, N. LEMO i J. MADIĆ (2011): Seroprevalencija spolnog osipa konja u Republici Hrvatskoj. *Vet. stn.* 42, 425-430.
- BARBIĆ, LJ. (2012): Spolni osip konja. U: V. HERAK

- PERKOVIĆ, Ž., GRABAREVIĆ i J. KOS, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2580-2581).
6. BARBIĆ, LJ., J. LOJKIĆ, V. STEVANOVIĆ, T. BEDEKOVIĆ, V. STAREŠINA, N. LEMO, M. LOJKIĆ and J. MADIĆ (2012): Two outbreaks of neuropathogenic equine herpesvirus type 1 with bread - dependent clinical signs. *Vet. Rec.* doi: 10.1136/vr100150: 1-4.
 7. CARTER, G. R., P. J. WISE and E. F. FLORES (2006): Herpesviridae. In: CARTER, G. R., D. J. WISE, E. F. FLORES, eds.: A concise review of veterinary virology. Ithaca: IVIS. (www.ivis.org.) Retrieved 6-8-2006.
 8. CARTER, J. and V. SAUNDERS (2013): *Virology: Principles and applications*. Chichester: J. H. Wiley.
 9. ČAČ, Ž., B. HABRUN, M. LOJKIĆ, B. ROIĆ, L. JEMERŠIĆ i T. KEROS (2005): Etiologija najčešćih bolesti dišnog sustava goveda. *Vet. stn.* 36, 201-208.
 10. DAVISON, A. J. (2010): Herpesvirus systematics. *Vet. Microbiol.* 143, 52-69.
 11. DUNOWSKA, M. (2015): A review of equid herpesvirus 1 for the veterinary practitioner. Part B: Pathogenesis and epidemiology. *New Zealand Vet. J.* 62, 179-188.
 12. FENNER, F. J., E. P. J. GIBBS, F. A. MUPDHY, R. ROTH, M. J. STUDERT and D. O. WHITE (1993): *Veterinary Virology*, 2nd ed. London: Academic Press.
 13. INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (2015): Virus taxonomy 2014. Release. ICTV, Retrieved 15-6-2015.
 14. JUKIĆ, B., M. HERCEG, Ž. ČAČ, M. LOJKIĆ, S. BAMBIR i B. POSPIŠIL (1975): Prikaz slučaja bolesti Aujeszzkoga u goveda. *Praxis. vet.* 23, 117-119.
 15. LOJKIĆ, J., Ž. ČAČ, T. KEROS, T. BEDEKOVIĆ, J. BALATINEC and B. ROIĆ (2011): Phylogenetic analysis of bovine herpes virus isolated in Croatia. *Vet. arhiv* 81, 299-306.
 16. LUNN, D. P., N. DAVIS-POYNTER, M. J. FLAMINIO, D. W. HOROHOV, K. OSTERRIEDER, N. POSTERLA and H. G. TOWNSEND (2009): Equine Herpesvirus 1. Consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 450-461.
 17. MADIĆ, J. (2000): Molekularne osnove patogenosti nekih herpesvirusa. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti* 479, str. 5-23.
 18. MADIĆ, J. (2012): Zarazni rinotraheitis goveda / zarazni pustulovaginitis. U: V. HERAK PERKOVIĆ, Ž. GRABAREVIĆ i J. KOS, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2610-2614).
 19. METTENLEITER, T. C. (2008): Pseudorabies virus. In: MAHY, B. W. J. and M. Van REGENMORTEL (eds.), *Encyclopedia of virology*, vol. 5. 3rd ed., Oxford: Elsevier (341-351).
 20. MILAS, Z. (2012a): Herpetični mamilitis. U: V. HERAK PERKOVIĆ, Ž. GRABAREVIĆ i J. KOS, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2598-2599).
 21. MILAS, Z. (2012b): Zarazna korica goveda. U: V. HERAK PERKOVIĆ, Ž. GRABAREVIĆ i J. KOS, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2606-2607).
 22. NAGLIĆ, T. i D. HAJSIG (1993): Veterinarska imunologija. Zagreb: Školska knjiga.
 23. NANDY, S., M. KUMAR, M. MANOHAR and R. CHAUHAN (2009): Bovine herpes virus infection in cattle. *Anim. Health Res. Rev.* 10, 85-98.
 24. PERHARIĆ, M., LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, V. STAREŠINA, K. MARINKOVIĆ, J. HABUŠ, Z. MILAS and N. TURK (2011): Seroprevalence of equine rhinopneumonitis in Croatia. International Congress Veterinary Science and Profession, Abstracts, Zagreb. (48).
 25. ROPAC, D. i sur. (2003): Epidemiologija zaraznih bolesti. Zagreb: Medicinska naklada.
 26. STAREŠINA, V. (2012): Rinopneumonitis konja. U: V. HERAK PERKOVIĆ, Ž. GRABAREVIĆ J. i KOS, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd., Zagreb: Medicinska naklada. (2577-2578).
 27. TISCHER, K. B. and N. OSTERRIEDER (2011): Herpesviruses – a zoonotic threat? *Vet. Microbiol.* 140, 266-274.

The Most Important Herpesvirus Infections in Domestic Animals in Croatia (Part I.)

Tomislav KEROS, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Lorena JEMERŠIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Tomislav BEDEKOVIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Herpesviruses that comprise more than 130 species are among the most common causes of viral infections in people and animals. Their importance in global animal health control is imperative, as some herpesvirus species cause great economic losses in animal production worldwide. This review describes the main characteristics and taxonomy of herpesviruses and their most

important strains, following the description of herpesviruses in cattle (BoHV-1, BoHV-2, to BoHV-6), and horses (EMV-1, EMV-4). The epidemiology aspect of herpesviral diseases, clinical and postmortal signs of disease, diagnosis and possibility of treatment and control measures are addressed.

Key words: *Herpesviruses, Epizootiology, Diagnosis, Prevention*

Mijelodisplastični sindromi kod mačaka



Mirna Robić*, Maja Belić, Romana Turk i Jelena Čavar

Uvod

Pod mijelodisplastičnim sindromima (MDS) podrazumijevamo skupinu malignih konalnih hematoloških poremećaja podrijetla od matičnih hematopoetskih stanica, s zajedničkom osobinom neučinkovite hematopoeze i poremećaja u sazrijevanju stanica krvi i koštane srži (Kouides i Bennett, 1996.). Dijagnostički kriteriji za mijelodisplastične sindrome najprije su bili preuzeti i prilagođeni prema FAB sustavu (Francusko-Američko-Britanski sustav) klasifikacije hematopoetskih neoplazmi u ljudi, prema kojem u mijelodisplastične sindrome spadaju refraktorna anemija, refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima, refraktorna anemija s viškom blasta u transformaciji i kronična mijelomonocitna leukemija (Bennet i sur., 1982.). Veterinarski hematolozi prilagodili su FAB klasifikacijski sustav mijelodisplastičnih sindroma te se kod životinja mijelodisplastični sindromi danas klasificiraju kao mijelodisplastični sindrom s viškom blasta (MDS-EB), mijelodisplastični sindrom dominacijom eritroidne loze (MDS-Er) i mijelodisplastični sindrom refraktorna citopenija (MDS-RC) (Raskin 1996., Juopperi i DeHeer, 2004.). Budući da se u ranijim istraživanjima mijeloproliferativnih poremećaja koristio različit klasifikacijski sustavi, prema sadašnjim kriterijima vjerojatno bi određen broj mijeloproliferativnih poremećaja spadao u MDS iako je ra-

nije drugačije klasificiran (Blue, 2000.). Retrospektivnim istraživanjima mijeloproliferativnih bolesti mačaka, ustanovljeno je da mijelodisplastični sindromi čine 21% ukupnih mijeloproliferativnih bolesti, stoga nisu toliko rijedak nalaz kod ove vrste (Jain, 1993.).

Etiopatogeneza

Smatra se da u etiologiji MDSa sudjeluje virus leukemije mačaka (FeLV), prema nekim provedenim istraživanjima gotovo su sve mačke koje boluju od MDSa pozitivne na FeLV (Hisasue i sur., 2001., Shimoda i sur., 2000.). U koštanoj srži ljudi oboljelih od MDS ustanovljen je povišen stupanj apoptoze hematopoetskih stanica i smatra se da je bolest posljedica klonalne proliferacije pluripotentnih matičnih stanica koje su izgubile sposobnost diferencijacije (Delforge i sur., 1998.). Tumorigeneza izazvana infekcijom FeLV smatra se posljedicom interakcije virusa i stanice nosioca (Hoover i Mulins, 1991.). Integracija na određenim ciljnim mjestima genoma dovodi do klonalne proliferacije abnormalnih hematopoetskih stanica u koštanoj srži mačaka inficiranih FeLV kod kojih se dijagnosticiraju MDS, a u mačaka u oboljelih od MDS kod kojih se ne može dokazati klonalna proliferacija, pretpostavlja se da je preko mehanizma apoptoze broj abnormalnih klonova smanjen (Hissasue i sur., 2000.).

Dr. sc. Mirna ROBİĆ*, dr. med. vet., izvanredna profesorica, (dopisni autor, email: mrobic@vef.hr), dr. sc. Maja BELİĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Romana TURK, mag. med. biochem., docentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Jelena ČAVAR, dr. med. vet., Hrvatska

Nalazi hematološke pretrage

Hematološki nalazi kod MDS vrlo su varijabilni. Često su prisutne multiple citopenije. Gotovo u svih oboljelih mačaka ustanovljena je neregnerativna anemija i trombocitopenija, a u oko polovine istraženih i neutropenija (Hisasue i sur., 2001., Blue, 2000., Shimoda i sur., 2000.). Isto se tako uočavaju morfološke promjene na stanicama krvi i koštane srži koje ukazuju na displastičnu hematopoezu uključujući nalaz sideroblasta, makrocita, promjene u segmentaciji jezgre i veličini stanica (Blue, 2000.). Promijenjena morfologija perifernih stanica krvi koja ukazuje na poremećenu hematopoezu uključuje nalaz makrocita koji često sadrže Howell-Jolly-jeva tjelešca, pri čemu oba nalaza upućuju na diseritropoezu. Nalaz velikih neutrofila s hipersegmentiranom jezgrom upućuje na disgranulopoezu. Ovi nalazi nisu specifični za MDS, ali predstavljaju indicaciju za pretragu koštane srži kojom se postavlja dijagnoza (Shimoda i sur., 2000.).

Nalaz pretrage koštane srži

Pretragom razmaza koštane srži u tipičnim slučajevima ustanovi se normocelularnost ili hiperpelularnost. Međutim, kod MDS koštana srž može biti i hipocelularna. Nadalje, nalaz uključuje prisutnost megaloblastoidnih acidofilnih eritroblasta, makrocitozu, promjene u obliku i fragmentaciju jezgre u eritroidnoj lozi, abnormalne granulacije, promjene u segmentaciji jezgre, stanični gigantizam i monocitoidne neutrofile u mijeloidnoj lozi te velike mononuklearne megakariocite, mikromegakariocite, velike trombocite, abnormalne granulacije i vakuolizacije u megakariocitnoj lozi (Blue, 1988., Raskin, 1996.). Svi navedeni nalazi upućuju na displastičnu hematopoezu. Karakteristični su nalazi MDS kod mačaka binuklearni mijelociti, smanjen broj azurofilnih granula i disintegracija sazrijevanja jezgre i citoplazme stanica u koštanoj srži (Shimoda i sur., 2000.).

Klasifikacija mijelodisplastičnih sindroma

Klasifikacija MDS temelji se na diferencijalnoj pretrazi stanica koštane srži. Podtip MDS-EB karakterizira 6-19% blastičnih stanica (bez proeritroblasta) u koštanoj srži i mijeloidno eritroidni odnos koji je veći od 1. Ovaj se podtip najčešće nalazi u mačaka. Podtip, MDS-Er dijagnosticira se kada blastične stanice, uključujući proeritroblaste čine manje od 30% svih hematopoetskih stanica s jezgrom, a mijeloidno eritroidni odnos bude manji od 1. Podtip MDS-RC se dijagnosticira kada je blastičnih stanica manje od 6% od ukupnih hematopoetskih stanica s jezgrom (bez proeritroblasta) a odnos mijeloidno eritroidni odnos bude veći od 1 (Blue, 2000.).

Klinički znaci

Klinički znaci koji se javljaju kod MDS nisu specifični, a povezani su s hipofunkcijom ili zatajenjem funkcije koštane srži. Simptomi ovise o tome da li je prisutna pancitopenija, bicitopenija ili je zahvaćena samo jedna loza krvnih stanica. Kao posljedica anemije javlja se blijedilo sluznica, slabost, otežano ili ubrzano disanje. Posljedica smanjenog broja granulocita su rekurentne ili kronične bakterijske i gljivične infekcije, a posljedica trombocitopenije povećana sklonost krvarenjima (Blue, 2000.).

Diferencijalna dijagnoza

Diferencijalno dijagnostički potrebno je isključiti nutritivne deficite koji izazivaju diseritropoezu, uključujući deficit folne kiseline, piridoksina i B₁₂ vitamina. Nadalje, mijelotoksične tvari kao što su kloramfenikol i trovanje olovom mogu izazvati pojavu siderocita i nuklearnih abnormalnosti eritroidnih stanica. Kod pacijenata s selektivnim ili multiplim citopenijama i kada je koštana srž normalne staničnosti bez multilinijske dispoeze potrebno je isključiti imunoposredovanu neučinkovitu hematopoezu (Blue, 2000.).

Liječenje

Liječenje mijelodisplastičnih sindroma najčešće je neučinkovito. Pokušaji liječenja MDS-EB humanim eritropoetinom i granulocitnim i granulocitno makrofagnim čimbenicima stimulacije kolonija kod nekih su pacijenata doveli do poboljšanja (Weiss, 2003.), ali mijelodisplastični sindromi su neizlječive bolesti (Juapperi i sur., 2011.). Uz potpurnu terapiju koja se daje po potrebi ipak se može produljiti život oboljelim mačkama (Blue, 2000.).

Prognoza

Prognoza je kod svih oblika mijelodisplastičnih sindroma loša, vrijeme preživljavanja od postavljanja dijagnoze mjeri se danima i mjesecima. Negativni prognostički biljezi su visok postotak blastičnih stanica, multiple citopenije i morfološka atipija stanica (Hisasue i sur., 2001.). Najlošiju prognozu ima mijelodisplastični sindrom s viškom blasta (MDS-EB), koji često prelazi u akutnu mijeloblastičnu leukemiju. Vrijeme preživljavanja mjeri se danima i tjednima (Juapperi i sur., 2011.). Drugi podtip, mijeloblastični sindrom s refraktornom citopenijom (MDS-RC) ima najbolju prognozu, najrjeđe prelazi u akutnu leukemiju, vrijeme preživljavanje može biti i do šest godina, a uginuća su najčešće posljedica pancitopenije i rekurentnih infekcija. Prognoza je kod ovog tipa najbolja ako je citopenija ograničena na eritrocite (Weiss, 2003.). Treći podtip, mijelodisplastični sindrom s eritroidnom dominacijom (MDS-Er) isto tako ima lošu prognozu, preživljavanje se mjeri u danima i tjednima (Juapperi i sur., 2011.).

Sažetak

Mijelodisplastični sindromi su skupina malignih klonalnih hematoloških poremećaja, koje karakterizira neučinkovita hematopoeza s poremećajima u sazrijevanju stanica krvi i koštane srži. Iako su relativno rijetki u ostalih životinjskih vrsta, u mačaka čine oko 20% ukupnih mijeloproliferativnih bolesti, a u etiologiji ulogu ima infekcija virusom leukemije mačaka budući da su

gotovo sve oboljele životinje pozitivne na virus leukemije mačaka. Na bolest se posumnja na temelju kliničke slike koja je posljedica smanjene ili insuficijentne funkcije koštane srži s posljedičnim citopenijama. Klinički simptomi uključuju blijedilo sluznica, slabost, otežano ili ubrzano disanje kao posljedicu anemije, rekurentne ili kronične bakterijske i gljivične infekcije kao posljedicu granulocitopenije te povećanu sklonost krvarenjima uslijed trombocitopenije. Hematološki se kod oboljelih mačaka ustanovljava neregenerativna anemija, trombocitopenija i katkada neutropenija. Nadalje, ustanovi se promjena morfologije krvnih stanica uključujući nalaz Howel-Jollyjevih tjelešaca u eritrocitima i makrocitozu te promjene u veličini i hipersegmentaciju jezgre granulocita. Dijagnoza i klasifikacija vrši se na temelju pretrage razmaza koštane srži. Karakterističan nalaz su binuklearni mijelociti, smanjen broj azurofilnih granula i disintegracija sazrijevanja jezgre i citoplazme u hematopoetskim stanicama. Prema sada prihvaćenom klasifikacijskom sustavu razlikuju se tri oblika mijelodisplastičnih sindroma: MDS s dominacijom eritroidne loze (MDS-Er), MDS -refraktorna citopenija (MDS-RC) i MDS s povećnim udjelom blasta (MDS-EB). MDS-Er dijagnosticira se kada blastične stanice čine manje od 30% svih hematopoetskih stanica s jezgrom, a mijelodno eritroidni odnos je manji od 1. MDS-RC dijagnosticira se kada je blastičnih stanica manje od 6%, a mijeloidno-eritroidni odnos veći od 1. Kod ovog tipa prognoza je najbolja, osobito ako je zahvaćena samo eritrocitna loza. MDS-EB karakterizira 6-19% blastičnih stanica i mijeloidno-eritroidni odnos veći od 1, a taj tip u mačaka se najčešće javlja i ima najlošiju prognozu. Diferencijalno dijagnostički potrebno je isključiti diseritropoezu izazvanu nutritivnim deficitima (folne kiseline, piridoksina i cijanokobalamina), trovanje mijelotoksičnim supstancama (olovo, kloramfenikol) i imunoposredovanu neučinkovitu hematopoezu. Prognoza je kod sva tri tipa MDS loša, vrijeme preživljavanja mjeri se u tjednima i mjesecima. Liječenje je neučinkovito, potpurnom terapijom može se produljiti život oboljelim mačkama.

Ključne riječi: *mijelodisplastični sindromi, mačke, hematologija*

Literatura

1. BENNETT, J. M., D. CATOVSKY, M. T. DANIEL, G. FLANDRIN, D. A. GALTON, H. R. GRALNICK and C. SULTAN (1982): Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. Br. J. Hematol. 51, 189-199.

2. BLUE, J. (2000): Myelodysplastic syndromes and myelofibrosis. In: FELDMAN, B.V., J. G. ZINKL, N. C. JAIN Schalm's veterinary hematology. Lippincott, Williams and Wilkins (682-688).
3. BLUE, J., T. FRENCH and J. KRANZ (1988): Non-lymphoid hematopoietic neoplasms in cats: a retrospective study of 60 cases. *Cornell Vet.* 78, 21-42.
4. DELFORGE, M. H. DEMYNCK, F. G. VERHOE, P. VANDERBERGHE, P. ZACHEE, J. MAERTENS, V. VAN DUPPEN and M. BOOGAERTS (1998): Patients with high risk myelodysplastic syndrome can have polyclonal or clonal haemopoiesis in complete haematological remission. *Br. J. Haematol.* 102, 486-494.
5. HISASUE, M., H. OKAYAMA, T. OKAYAMA, A. SUZUKI, T. MINZUNO, Y. FUJINO, K. NAGANOBU, A. HASEGAWA, T. WATARI, N. MATSUKI, K. MASUDA, K. OHNO and H. TSUJIMOTO (2001): Hematologic abnormalities and outcome in 16 cats with myelodysplastic syndromes. *J. Vet. Inter. Med.* 15, 471-477.
6. HOOVER, E. and J. MULLINS (1991): Feline leukemia virus infection and disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199, 1287-1297.
7. JAIN, N. C. (1993): Classification of myeloproliferative disorders in cats using criteria proposed by the animal leukemia study group: A retrospective study of 181 cases (1969-1992). *Comp. Haematol. Int.* 3, 125-134.
8. JUOPPERI, T. and H. L. DEHEER (2004): Myelodysplastic syndromes. In: COWELL, R. *Veterinary clinical pathology secrets.* Elsevier Mosby, St. Louis (74-80).
9. JUOPPERI, T. A., D. BIENZLE, D. C. BERNREUTER, W. VERNAU, M. A. THRALL and P. M. McMANUS (2011): Prognostic markers for myeloid neoplasms: a comparative review and goals for future investigation. *Vet. Pathol.* 48, 182-197.
10. KOUIDES, P. A. and J. M. BENNETT (1996): Morphology and classification of the myelodysplastic syndromes and their pathologic variant. *Semin. Hematol.* 33, 95-110.
11. RASKIN, R. E. (1996): Myelopoiesis and myeloproliferative disorders. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 26, 1023-1042.
12. SHIMODA, T., N. SHIRANANGA, T. MASHITA and A. HASEGAWA (2000): A hematological study on thirteen cats with myelodysplastic syndrome. *J. Vet. Med. Sci.* 62, 59-64.
13. WEISS, D. J. (2003): New insights into the physiology and treatment of acquired myelodysplastic syndromes and aplastic pancytopenia. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 33, 1317-1334.

Myelodysplastic Syndromes in Cats

Mirna ROBIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Maja BELIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Romana TURK, Mag. Med. Biochem., Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Jelena ČAVAR, DVM, Croatia

Myelodysplastic syndromes are malignant clonal hematological disorders with ineffective hematopoiesis and disturbances in blood and bone marrow cells maturation. Although relatively rare in other species of domestic animals, MDSs comprise cca 20% of total number of myeloproliferative disorders in cats, which can be explained by the role of Feline Leukemia Virus in the etiology, since almost all affected cats are positive for FeLV infection. Clinical manifestation of MDS reflects compromised function or insufficiency of bone marrow function with various degree of cytopenias and is indicative for MDS. Clinical signs include pallor, weakness, dyspnea or tachypnea which are consequences of anemia, recurrent or chronic bacterial or fungal infections as a consequence of granulocytopenia and bleeding disorders due to thrombocytopenia. Hematological findings include non-regenerative anemia, thrombocytopenia and in some cases neutropenia. Dysplastic changes in blood cells morphology, including Howell-Jolly bodies and macrocytes, as well as giant neutrophils and nuclear hypersegmentations can be detected. Diagnosis and classification are based on bone marrow smears examination. Common findings are binucleated myelocytes, decreased number

of azurophilic granules in promyelocytes and maturation disintegration between the nucleus and cytoplasm. MDSs are classified in three forms: MDS-with erythroid line domination (MDS-Er), MDS-refractory cytopenia (MDS-RC) and MDS-with excess blast (MDS-EB). MDS-Er is diagnosed when blast cells are less than 30% of all nucleated hemopoietic cells and myeloid/erythroid ratio is less than 1. MDS-RC is diagnosed when blast cells are less than 6% and myeloid/erythroid ratio is greater than 1. This type has best prognosis, especially if only erythroid lineage is affected. MDS-EB is characterized with 6-19% of blast cells and myeloid/erythroid ratio greater than 1. This type is most frequently diagnosed in cats and has poorest prognosis. Dyserythropoiesis due to nutritional deficiencies (folate, pyridoxine and cobalamin) and myelotoxic substances intoxication (lead, chloramphenicol) as well as immune-mediated ineffective hematopoiesis should be considered in differential diagnosis. Prognosis is poor in each type of MDSs, survival time is measured in weeks and months. Therapy is ineffective, but supportive treatment can prolong survival time.

Key words: *Myelodysplastic, Cats, Hematology*

Nasljeđivanje boje dlake mačaka



Dominika Fajdić, I. Štoković[†], V. Sušić i Anamaria Ekert Kabalin^{*}

Uvod

Boja mačaka složeno je svojstvo čiju ekspresiju kontrolira veći broj gena. Zaboju dlake, kože i očiju odgovoran je melanin. Tijekom razvoja zametka, melanoblasti migriraju u smjeru dorzalno-ventralno od neuralnog grebena te se smještaju u koži. Koliko je poznato, ovu migraciju kontroliraju barem dva gena (w i S). Nakon što se na njihovoj ciljanoj lokaciji melanoblasti diferenciraju u melanocyte, počinje proizvodnja pigmenta. Kako su mikroskopske granule melanina pohranjene u dlaci njihov oblik, veličina i raspored utječu na boju krzna. Postoje dvije vrste melanina: eumelanin (crni) i feomelanin (žuto-crveni; narančasti). Smatra se da su granule eumelanina sferičnog oblika i apsorbiraju gotovo svu svjetlost, dajući crnu pigmentaciju, dok su zrnca feomelanina izdužena te reflektiraju svjetlo u crveno-narančasto-žutom rasponu. Na nijansu boje ne utječe samo vrsta pigmenta, nego i njegova raspodjela u dlaci, pri čemu melanin može biti ravnomjerno raspoređen ili u grudicama. No, varijetete u krznu ne čini samo boja dlake. Važno je spomenuti i brojne gene koji utječu na dužinu i teksturu dlake. „Bezdlachnost“ kod sfinksa, kao i duga dlaka kod perzijskih i drugih dugodlakih pasmina, nasljeđuju se recesivno. Za kovrčavu dlaku reks pasmina, odgovorna su najmanje 3 gena,

dok gen za oštrodlakost odgovara za mekanu ili čekinjastu (oštru) dlaku.

Genska osnova nasljeđivanja boje dlake mačaka

U mačaka je do danas mapirano nekoliko glavnih (*major*) gena poznatog učinka na boju i raspored šara. Pri tome nemaju svi geni jednaku ulogu u očitovanju svojstva. Tako razlikujemo gene koji su odgovorni za proizvodnju pigmenta, gene za raspodjelu pigmenta te gen za intenzitet boje (Vella i sur., 1999., Verhoef, 2004., Softić i sur., 2012.).

Geni za proizvodnju pigmenta

C-lokus: C, c^b, c^s, c^a ili c alel

Geni za pigmentaciju kontroliraju proizvodnju melanina, pri čemu onaj na C-lokusu (gen za boju dlake) kodira za tirozinazu, enzim odgovoran za prvi korak u sintezi melanina iz tirozina. Alel C je dominantan i daje krznu punu boju - crnu ili narančastu. Aleli c^b i c^s proizvode verziju enzima koja je osjetljiva na temperature (*colorpoint* jedinke). Pritom je enzim aktivan na niskim temperaturama, no ne i na uobičajenoj tjelesnoj temperaturi. Zato je proizvodnja pigmenta ograničena na hladnijim dijelovima tijela,

Dominika FAJDIĆ, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Igor ŠTOKOVIĆ[†], dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Velimir SUŠIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Anamaria EKERT KABALIN^{*}, dr. med. vet., izvanredna profesorica, (dopisni autor, e-mail: akabalin@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

ekstremitetima. Mačke takvog genskog zapisa kote jednobojne mačice svjetlije boje (bijeke odnosno svijetlosmeđe, ovisno o pasmini) kojima s vremenom dlaka na krajnjim dijelovima tijela potamni. Alel c^b je manje osjetljiv na temperaturu te stoga mačke $c^b c^b$ genotipa (burmanska pasmina) imaju više pigmenta (intenzivniju boju) od homozigota $c^s c^s$ (sijamska pasmina). Homozigotni genotip $c^s c^s$ smanjuje izražaj pigmenta na većem dijelu tijela životinje. Smanjena proizvodnja pigmenta u očima stvara svijetlo plave oči, dok manja gustoća pigmenta u dlaci posvjetljuje boju krzna iz crne/smeđe do svjetlo bež boje s tamno smeđim "vrhovima" u klasičnom sijamskom uzorku. No, čak niti na ekstremitetima enzimi ne djeluju punim kapacitetom. "Vrhovi" (*point*) kod sijamskih mačaka obično nisu jednako intenzivne boje kao kod mačaka s dominantnim C alelom. Homozigotni $c^b c^b$ genotip ima sličnu, ali manju redukciju proizvodnje pigmenta. Posvjetljuje crnu boju do tamno smeđe (slično boji "vrhova" kod sijamskih mačaka) i omogućuje pojavu zelenih ili zeleno-zlatnih očiju. Mačke s genotipom $c^b c^s$ su hibridi burmanske i sijamske pasmine (tokinška mačka). Krasi ih krzno sijamskog uzorka s tamnijom osnovnom bojom tijela i tirkizne (akvamarin) oči. Ljestvica dominantnosti C-lokusa je sljedeća: $C > c^b = c^s > c^a > c$ (C je dominantan u odnosu na ostale alele, c^b i c^s su intermedijarni, c^a i c recesivni). Alel c ne proizvodi aktivan enzim pa su stoga cc homozigotne mačke albino. No, tu valja napomenuti da je cc jedini genotip koji je epistatičan W alelu (opisanom niže). Albino mačka uopće ne može proizvesti pigment, postojali melanociti u koži ili ne, a nemaju pigmenata u oku. Sva tri alela (C, c^s i c^b) su dominantni u odnosu na vrlo rijetke albino alele, c i c^a , koji kao homozigoti proizvode bijele mačke ili s lagano pigmentiranim blijedo plavim očima ($c^a c^a$), ili nepigmentiranim ružičastim očima (cc) (Vella i sur., 1999., Anonymous, 2003., Lyons i sur., 2005., Geary i sur., 2006.).

O-lokus: O ili o alel

U mačaka razlikujemo dvije osnovne boje krzna: crnu i narančastu. Ostale boje proizlaze iz njih. Pri tome bijela predstavlja „odsutnost“ boje, odnosno odsutnost pigmenta. Gen za narančastu boju ima dva alela: narančasti (O) i „ne-narančasti“ (o). Ne-narančasti alel je recesivan i omogućuje puni izraz crnog lokusa. Međutim, dominantni narančasti alel je rezultat mutacije i zamjenjuje proizvodnju feomelanina eumelaninom. Time je prikriven učinak crnog gena, a krzno mačaka je narančasto (epistatički učinak). O-lokus smješten je na X kromosomu, što ga čini spolno vezanim svojstvom. Ukoliko mužjak ima alel o, bit će izražena bilo koja boja. Suprotno tome, mužjaci s alelom O će biti narančasti. Kod ženki su moguća tri fenotipa: crna, narančasta i kornjačevina: ukoliko oba X kromosoma nose narančaste alele (XOXO), mačka će biti narančasta. Međutim, kod heterozigota (XOXo) su na krznu vidljive narančaste i crne mrlje, što se naziva kornjačevina (*torti*, Slika 1), dok su recesivni homozigoti (XoXo) crne boje. S obzirom da ima samo jedan narančasti alel, mužjak (XY) ne može biti boje kornjačevine, uz iznimku mužjaka s dodatnim X kromosomom (XXY) (Vella i sur., 1999., Slutz, 2013.).



Slika 1. Kornjačevina uzorak krzna mačke (foto: D. Fajdić)

B-lokus: B, b¹ ili b alel

Alel B je potreban i za proizvodnju eumelanina te je dominantan u odnosu na b alel. Crni alel B daje crnu ili crnu i smeđu dlaku (ovisno o prisutnosti agutija, kako je pojašnjeno u daljnjem tekstu). Ova crna boja je vidljiva kod svih jednobojno crnih mačaka, crnih pruga kod tzv. *tabby* mačaka te rjeđe na tamnim vrhovima uški, nogama i repu (*point*) kod sijamske i burmanske pasmine. Tamno smeđi alel b (b-mutant), reducira crnu u tamno smeđu, boju čokolade. Ovaj alel je rjeđi i javlja se gotovo isključivo kod čistokrvnih mačaka (poput sijamskih i burmanskih). Recesivni homozigoti (bb) su smeđi ili boje čokolade. Postoji i svijetlo smeđi alel b¹ (b¹-mutant) koji dodatno reducira gustoću melanina i rezultira nastankom srednje smeđeg krzna boje cimeta. Recesivni homozigoti ovog alela iznimno su rijetki. Dominantnost nasljeđivanja opisanih alela je B > b > b¹ (Vella i sur., 1999., Hartwell, 2013.).

Gen za intenzitet boje

D-lokus: D ili d alel

Gen odgovoran za boju krzna putem rasporeda pigmenta duž dlake nalazi se na D-lokusu (*dilute*). D alel je dominantan i uzrokuje ravnomjerno raspoređen pigment duž čitave dlake (jednoličnu boju

dlake). Rezultat je intenzivna boja: crna, tamnosmeđa, svjetlije smeđa i narančasta. Recesivni alel d nastao je kao posljedica mutacije. Sam pigment nije promijenjen, ali se nakuplja u mikroskopske granule ostavljajući između velike površine koje ne sadrže zrnca, što uzrokuje „razrjeđivanje“ boje (svjetlije krzno). To je ujedno najjednostavnija modifikacija osnovnih boja. Crna izgleda plavo ili sivo, čokoladna ljubičasto, a narančasta krem. Kada se promatraju sve kombinacije, mogućih je 8 boja krzna kod mačaka: crna, plava/siva, kestenjasta/boja čokolade (tamnosmeđa), boja lavande/ljubičasta, cimet/srednje smeđa, bež, crvena/narančasta i krem (Slika 2). Pri tome se nakupljanje granula melanina ne događa u tkivu oka, zbog čega boja očiju kod ovog gena nije svjetlija (Vella i sur., 1999., Hartwell, 2013.).

Geni za raspodjelu pigmenta

Geni za raspodjelu pigmenta kontroliraju migraciju melanoblasta u koži, proizvodnju melanocita te na kojim dijelovima tijela će se pigment u dlaci očitovati. Navedeni geni se u genomu mačaka nalaze na W, S, A, i T lokusima.

W-lokus: W ili w alel

W je gen za dominantnu bijelu boju koji ima epistatički učinak, odnosno nadjačava ekspresiju drugih gena za

Boje temeljene na crnom pigmentu		Intenzivna, jednolična boja dlake (D-)		„razrijeđena“ boja dlake (dd)	
		crna (B-)		crna	plava / siva
Boje temeljene na narančastom (žuto-crvenom) pigmentu	smeđa (bb)		→	čokoladna (kestenjasta, tamnosmeđa)	ljubičasta (boja lavande)
	svjetlosmeđa (b ¹ b ¹)		→	boja cimeta	bež
	narančasta (O-)		→	narančasta (crvena)	krem

Slika 2. Shematski prikaz kombinacije boja krzna mačaka

pigmentaciju, rezultirajući bijelim krznom i plavim očima. Navedeno znači da je unatoč prisutnosti drugih gena njihovo djelovanje potpuno prikriveno, jer dominantna bijela mutacija blokira proizvodnju melanocita. Da bi melanociti mogli proizvesti pigment, treba prethoditi migracija melanoblasta do kože, što se događa samo kod recesivnih homozigota (ww). Koža životinja s WW i Ww genima nema melanocite i dlaka im je potpuno bijela, jer epistatički dominantni bijeli fenotip maskira sve druge boje. Mačke koje su heterozigoti (Ww) se najčešće rađaju s mrljom na glavi u boji koja je maskirana, što se obično izgubi tijekom prve godine života. To ukazuje da je jedinka heterozigot za W-lokus te koji su geni ostali "skriveni" (Vella i sur., 1999.).

S-lokus: S ili s alel

Pojava bijelih mrlja vrlo je česta kod mačaka. One se mogu javiti na bilo kojoj boji krzna i većinom su posljedica djelovanja gena s dva kodominantna alela. Gen odgovoran za pojavu mrlja S, tzv. *piebald-spotting* ("šarena umrljanost"), predstavlja drugi gen koji utječe na migraciju melanocita. Ponekad se naziva i "gen bijelih mrlja" (*white spotting gene*) te određuje u kojoj mjeri će mačka biti prekrivena bijelim točkama. Kod ss homozigota, melanociti ravnomjerno migriraju na ventralnu stranu životinje, tako da je potpuno pigmentirana, dakle neće imati bijele pjege. Alel S sprječava migraciju melanocita za vrijeme embrionalnog razvoja. Bijele mrlje su, zapravo, područja bez melanocita. Takva područja su bijele boje, kao i kod djelovanja dominantnog bijelog gena (W). Heterozigoti Ss na tijelu imaju bijele mrlje, no one su ograničene većinom na šape, njušku, prsa i trbuh, dok SS homozigoti obično imaju veći broj malih mrlja, ili nekoliko većih, tako da je više od polovice tijela pokriveno bijelom bojom. U ovom zadnjem slučaju, obično se čini da su tamna područja mrlje, no zapravo su velika bijela područja mrlje, odnosno

pjegava („umrljana“) mačka može čak biti potpuno bijela. Stupanj pjegavosti / umrljanosti na krznu mačaka jako varira, ali uzorci obično prate pravilan raspored. Budući da uzorak mrlja varira i nije posve slučajna, mala je vjerojatnost da samo jedan gen utječe na to svojstvo. U literaturi se navodi da barem još jedan gen ima slabi utjecaj na pjegavost koji uzrokuje pojavu male bijele mrlje na području grla, prsima ili na trbuhu, u blizini stražnjih nogu (Vella i sur., 1999., Miller, 2011.).

A-lokus: A ili a alel

Neke mačke imaju krzno u kojem se nalazi više od jedne boje raspoređene duž dlake. Dlake ovog tipa nazivaju se aguti (*agouti*) i tvore specifično prošarano krzno. Aguti je određen dominantnim alelom, A. Aguti krzno (AA ili Aa) ima žutu prugu u blizini vrha svake crne dlake, koja je rezultat inhibicije gena B (za crnu boju) od strane aguti gena, tijekom rasta dlake. S druge strane, ne-aguti mačke imaju jednoličnu boju dlaka, tj. jednobožno krzno. Takva mačka je homozigot za ne-aguti alel (aa) (Vella i sur., 1999., Eizirik i sur., 2003., Anonymous, 2007.).

I-lokus: I ili i alel

Inhibitor melanina I vidi se kod dominantnih homozigota (II) ili heterozigotnih jedinki (Ii). Inhibicija melanina posebno je učinkovita kod aguti uzorka, što rezultira bijelom bojom dlake s obojanim vrhom pa krzno izgleda srebrno (Prieur i Collier, 1981., Vella i sur., 1999.).

T-lokus: T^b, T ili t^b alel

Kod većine mačaka aguti gen se izmjenjuje s jednobožnim krznom tvoreći tako tigrasti uzorak (*tabby*). Gen za *tabby* uzorak prisutan je kod svih mačaka, čak i jednobožnih, ali je uzorak vidljiv samo kad mačka koje imaju dominantni aguti (A) gen. Jedina iznimka je kod jednobožnih narančastih mačaka kod kojih O gen nadjačava učinak ne-aguti gena te rezultira određenim oblikom ispruganosti. Rezultat djelovanja *tabby*



Slika 3. Različiti tipovi tigrastog uzorka. (Izvor: catscenterstage.com)

gena su prugaste dlake koje se izmjenjuju s linijama, mrljama ili područjima jednolično obojane dlake, stvarajući tigrasti uzorak na krznu mačke. Utvrđeno je pet tipova tigrastih uzoraka: abesinski (*ticked*) - T(a); makarel (poput skuše) - T; klasični (*blotched*) - t(b); pjegavi (*spotted*) i mrljasti (*patched*) (Slika 3).

Tamne pruge kod tigrastog uzorka posljedica su pojačanog intenziteta pigmentacije na pojedinim dijelovima tijela. Dominantni uzorci su makarel (TT ili T^t), s tankim okomitim prugama postrance na tijelu (kao kod tigra), abesinski (T^aT^a) s gotovo nevidljivim prugama po tijelu, uz slabije vidljive na licu, nogama i repu, klasični (t^bt^b) kod kojeg su okomite pruge zamijenjene širima i oblikuju spiralne uzorke ili one nalik na metu. Hijerarhija dominacije navedenih alela je T^a > T > t^b. Međutim, T^a alel pokazuje određeni stupanj nepotpune dominacije budući da T^aT i T^at^b heterozigot mogu ispoljiti slabu ispruganost na nogama i repu (Vella i sur., 1999., Anonymous, 2007., Kaelin i sur., 2012.).

Mačke bijele boje krzna

Bijela boja krzna u mačaka može se javiti uslijed tri različita djelovanja gena: može biti posljedica djelovanja dominantnih gena za bijelu boju na W-lokusu (WW homozigot ili Ww heterozigot), potom mačke mogu biti albino jedinke, tj. recesivni homozigoti cc gena za boju na C-lokusu, ili je bijela boja posljedica djelovanja S alela gena za pojavu pjegavosti, ukoliko imaju veliku bijelu pjegu duž cijelog tijela. Iz tog je

razloga važno obratiti pažnju na boju očiju, koja upućuje na genetsku osnovu boje. Gen za dominantnu bijelu boju (W) i dominantni homozigot pjegavog genotipa (SS), mogu imati potpuno bijelo krzno s narančastim ili tamnije do srednje plavim očima. Međutim, „pjegava“ mačka (SS) često ima čuperak boje na tijelu. Gen za bijeli pigment (W) kod mačaka prenosi se autosomima, dominantan je u odnosu na gen koji određuje boju mačke i nije povezan s albinizmom. Mačke koje ga nose često na glavi imaju mrlje koje mogu izbljediti ili nestati s vremenom. Albino gen kontrolira količinu pigmenta proizvedenog u melanocitima. Recesivni homozigot na albino lokusu (cc) je „pravi“ albino i njegovi melanociti ne mogu proizvesti pigment. Takve jedinke imaju bijelo krzno i ružičaste oči. Genotip c^cc^a na albino lokusu rezultira bijelom bojom krzna u mačaka sa svijetloplavim, gotovo sivim, očima. Oba ova alela su jako rijetka (Vella i sur., 1999., Strain, 2007.).

Na kraju treba napomenuti da uz manji broj glavnih gena koji utječu na boju i raspored uzoraka, postoji veliki broj gena koji zajednički djeluju na izražaj pojedinih svojstava. Poznavajući navedene mehanizme, moguće je ciljano odabirati roditeljske parove kako bismo s velikom vjerojatnošću dobili potomke željene boje dlake.

Sažetak

Dugotrajnim selekcijskim radom i ciljanim provođenjem križanja uzgojene su brojne pasmine mačaka koje danas poznajemo. Boja mačaka složeno je svojstvo pod kontrolom više

gena. Za boju dlake zaslužan je melanin, dok na nijansu boje jednako utječu vrsta melanina (eumelanin i feomelanin) i njegov raspored duž dlake. Tri su osnovne boje kod mačaka: crna, narančasta i bijela. Ostale boje i kombinacije proizlaze iz njih. Temeljeno na dosadašnjim znanstvenim spoznajama, gene odgovorne za boju dlake možemo podijeliti u nekoliko kategorija: gene koji određuju proizvodnju pigmenta (smješteni na C, O i B-lokusima), gen za intenzitet boje (D-lokus) te gene za raspodjelu boje (W, S, A, I, T lokusi). Uz navedene gene, za svojstva krzna neizostavni su i brojni gene koji utječu na dužinu i teksturu dlake.

Gljučne riječi: mačke, boja krzna, geni, nasljeđivanje

Literatura

1. Anon. (2003): <http://scidiv.bellevuecollege.edu/rkr/Biology211/labs/pdfs/CatGenetics211.pdf> [pristupano 15.03.2015.]
2. Anon. (2007): Cat coat colour genetics - Part 2: Coat patterns. The Quarterly Newsletter of animal DNA laboratory. Volume 2. <http://www.animalsdna.com/templates/animaldna/pdfs/animal-dna-testing-oct-2007.pdf> [pristupano 04.02.2015.]
3. EIZIRIK, E., N. YUHKI, W. E. JOHNSON, M. MENOTTI-RAYMOND, S. S. HANNAH and S. J. O'BRIEN (2003): Molecular Genetics and Evolution of Melanism in the Cat Family. *Curr. Biol.* 13, 448–453.
4. GEARY, L. A., R. A. GRAHN and L. A. LYONS (2006): Albinism in the domestic cat (*Felis catus*) is associated with a tyrosinase (TYR) mutation. *Anim. Genet.* 37, 175–178.
5. HARTWELL, S. (2013): The basic self (solid) colours of cats. Copyright 2002–2013. <http://www.messybeast.com/self-solid.htm> [pristupano 04.02.2015.]
6. KAELEN, C. B., X. XU, L. Z. HONG, V. A. DAVID, K. A. MCGOWAN, A. SCHMIDT-KÜNTZEL et al. (2012): Specifying and sustaining pigmentation patterns in domestic and wild cats. *Science* 337, 1536–1541.
7. LYONS, L. A., D. L. IMES, H. C. RAH and R. A. GRAHN (2005): Tyrosinase mutations associated with Siamese and Burmese patterns in the domestic cat (*Felis catus*). *Anim. Genet.* 36, 119–126.
8. MILLER, J. (2011): The basics of feline coat colours and patterns. The Cat Fanciers' Association (CFA). <http://www.cfainc.org/SearchResults.aspx?Search=miller+2011> [pristupano 15.03.2015.]
9. PRIEUR, D. J. and L. L. COLLIER (1981): Morphologic basis of inherited coat-colour dilutions in cats. *J. Heredity* 72, 178–182.
10. SLUTZ, S. (2013): X-inactivation marks the spot for cat coat colour. http://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/project_ideas/MamBio_p022.shtml#background [pristupano 04.02.2015.]
11. SOFTIĆ, A., V. KATICA, F. ALIBEGOVIĆ-ZEČIĆ, A. KAVAZOVIĆ i M. VARATANOVIĆ (2012): Nasljeđivanje alternativnih svojstava. U: Uzgoj kunića. Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Sarajevo (70–88).
12. STRAIN, G. M. (2007): Deafness in blue-eyed white cats: The uphill road to solving polygenic disorders. *Vet. J.* 173, 471–472.
13. VELLA, C. M., L. M. SHELTON, J. J. MCGONAGLE and T. W. STANGLEIN (1999): Robinson's Genetics for Cat Breeders and Veterinarians. 4th ed. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto: Butterworth Heinemann.
14. VERHOEF, E. (2004): The Complete Encyclopaedia of Cats. Lisse, The Netherlands: Rebo International b.v.
15. www.catscenterstage.com [pristupano 04.07.2015.]

Inheritance of Coat Colour in Cats

Dominika FAJDIĆ, DMV, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia, Igor ŠTOKOVIĆ†, DMV, PhD, Associate Professor, Velimir SUŠIĆ, DMV, PhD, Full Professor, Anamaria EKERT KABALIN, DMV, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

Long-term selection and targeted crossings have resulted in the large number of cat breeds known today. Coat colour is a complex trait controlled by multiple genes. The type of melanin, and its distribution along the hair shaft, affects coat colour. There are three primary colours in cats: black, orange and white. Other colours and combinations are derived from these. Based on the current scientific findings, the genes

responsible for coat colour can be divided into several categories: genes for pigment production (at the C, O and B loci), gene for colour intensity (D locus) and genes for pigment distribution (W, S, A, I and T loci). Furthermore, there are also numerous genes which affect the length and texture of hair.

Key words: Cat, Coat Colour, Genes, Inheritance

Aseptična nekroza glave i vrata bedrene kosti u pasa



Jasmina Vidović, Darko Capak i Hrvoje Capak*

Uvod

Aseptična osteonekroza glave i vrata femura relativno je učestala bolest u pasa u svakodnevnoj dijagnostici i terapiji. Etiopatogeneza bolesti se donekle razlikuje iako su klinički simptomi u osnovi uniformni. U literaturi se tako pojavljuje više sinonima za isti ili sličan nalaz promjena: Legg Perthesova bolest, Legg Calve - Perthesova bolest, ishemična nekroza glave femura, *coxa plana*, aseptična idiopatska nekroza glave femura, *malum deformans juvenilis coxae*.

U literaturi se navodi nekoliko mogućih uzroka nastanka aseptične nekroze glave femura, primarna (idiopatska) nekroza epifize femura u malih pasmina pasa u tijeku rasta i razvoja, posljedica prijeloma vrata bedrene kosti u odraslih životinja ili epifiznog prijeloma glave femura u mladih životinja (Šehić, 2000.). U osnovi nastanka posljednja dva tipa opisanih osteonekroza su traumatski uzroci. U daljnjem tekstu pažnja je posvećena primarnoj Legg Calve Perthesovoj bolesti, kao dokazano genetski i pasminski ovisnoj bolesti sa značajnom pojavnošću.

Funkcionalna anatomija

Kostur proksimalnog dijela zdjelice uda čini bedrena kost ili

femur (*os femoris*). Proksimalni okrajak zaokrenut je medijalno i nosi istaknutu glavu bedrene kosti (*caput ossis femoris*) koja se odvaja od podužne osi kosti. Glavu femura u mesojeda od trupa odvaja dobro izražen vrat (*collum ossis femoris*) (Liebich i sur., 2009.).

Bočni zglobov (*articulatio coxae*) je kuglasti zglob u kojem se uzglobljuju glava bedrene kosti i acetabulum. Acetabularna jama je plitka i ne prelazi ekvator glave bedrene kosti pa je na acetabularni rub pričvršćen prsten vezivne hrskavice koja produbljuje acetabulum.

Mogućnost kretanja svedena je na fleksiju i ekstenziju te ograničenu mogućnost rotacije, adukcije i abdukcije. Ligament glave bedrene kosti (*lig. capitis ossis femoris*) prolazi iz jame glave bedrene kosti u acetabularnu jamu. Ovaj ligament je pretežno intrakapsularni, obavijen sinovijalnom membranom (Liebich i sur., 2009.).

Etiopatogeneza

Etiologija i patogeneza aseptične osteonekroze glave i vrata femura nije dovoljno poznata, no genetika dokazano ima ulogu u nastanku bolesti. Istraživani su različiti čimbenici utjecaja na pojavu bolesti, primjerice neravnoteža

Jasmina VIDOVIĆ, dr. med. vet., Hrvatska; dr. sc. Darko CAPAK, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Hrvoje CAPAK*, dr. med. vet., viši asistent, (dopisni autor, email: hcapak@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

spolnih hormona. U istraživanju neuravnoteženosti spolnih hormona mogu se naći eksperimentalni dokazi, međutim ne postoje istraživanja koja bi potvrdila vezu s kliničkom pojavom bolesti. Kod nekih terijerskih pasmina uočena je prisutnost bolesti zbog genetski uvjetovanog poremećaja u krvnoj cirkulaciji odgovornoj za prehranu glave i vrata bedrene kost (Robinson, 1992.).

Kod pasa s Perthesovom bolesti jedan od etioloških čimbenika je neprimjeren promjer krvnih žila u *ligamentum teres* ili zglobnoj čahuri, koje su iz tog razloga slabije otporne na ozljede ili manje tromboze. Opisano je kako u malih pasmina pasa krvne žile ne prelaze u fizu bedrene kosti, dok je u velikih pasmina pasa prisutna transfizealna prokrvljenost različitog stupnja.

Histološki gledano razvija se avaskularna nekroza glave i vrata bedrene kosti koja dovodi do trabekularnog kolapsa koštanog tkiva (Lee, 1970.). Nedovoljna vaskularizacija ne stvara dovoljno čvrstu subhondralnu potporu zglobnoj hrskavici što dovodi do subhondralne skleroze. Kasnije dolazi do značajne redukcije stabilnosti koksalnog zgloba i omogućava se stvaranje sekundarnog osteoartritisa. Ishemično se područje kosti može zamijeniti granulacijskim tkivom. Bol kod nalaza aseptične osteonekroze primarno je rezultat inicijalne ishemije, a postaje izraženija kada se razvije nestabilnost zgloba kao posljedica kolapsa zglobne hrskavice.

Anamneza i klinička slika

Legg Calve Perthesova bolest zahvaća proksimalni dio bedrene kosti u mlađih pasa patuljastih i malih pasmina. Progresivna hromost stražnjeg uda obično se evidentira u pasa starijih od pet mjeseci. U slučaju obostranih promjena, šepavost se tijekom vremena može nejednoliko raspoređivati na oba kuka. U

slučaju dugotrajnije hromosti životinje se prilagođavaju bolnom kretanju stražnjim ekstremitetima zauzimajući čučajući stav, odnosno takozvani „bunny-hopping“ položaj (položaj zečjeg skoka). Intenzivni se klinički simptomi mogu uočiti u dobi od 4–11 mjeseci.

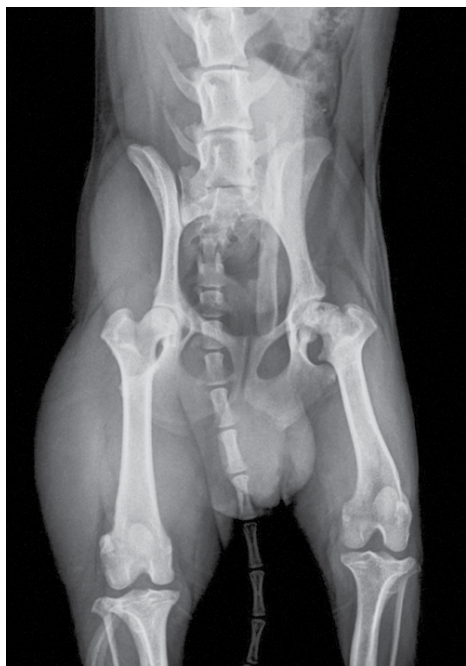
Pasmine s većom predispozicijom za pojavnost te nasljednim faktorima za aseptičnu nekrozu glave femura su: mali pudl, kern terijer, jorkširski terijer, patuljasti pinč, mops, *toy* pudl, zapadnoškotski bijeli terijer – westy (Robinson, 1992.). Bolest je najčešća u malih terijerskih pasmina, naročito zapadnoškotskih bijelih terijera, kern i jorkširskih terijera (Kealy i sur., 2011.). Spolna predispozicija za pojavu bolesti nije znanstveno dokazana. Opisana patologija upitna je u pogledu uzgoja. Pojedini autori (Robinson, 1992.) smatraju kako se oboljele jedinice ne bi smjele koristiti u daljnjem uzgoju.

Prilikom kliničkog pregleda pronalazi se hromost u području bočnog zgloba, bolnost kod manipulacije kukom, posebice ekstenzije ili abdukcije. Prisutnost krepitacije pri pasivnim kretanjima je dokaz različitog stupnja inkongruencije koksalnog zgloba, smanjenog opsega kretanja ili periartikularne fibroze. Inspekcijom i palpacijom očituje se gubitak mase i tonusa glutealnog mišića kod dužeg trajanja bolesti. Atrofija mišića može prouzročiti vizualno prominentniji trohanter bedrene kosti u odnosu na fiziološku poziciju. Prilikom pregleda pasa malih pasmina s istaknutom hromošću stražnjeg ekstremiteta, važno je isključiti druge ortopedске bolesti, primjerice, pomak proksimalne epifize bedrene kosti, prijelom vrata bedrene kosti ili luksaciju patele.

Radiološka dijagnostika

Za potvrdu dijagnoze aseptične osteonekroze glave femura preporuča

se rendgensko snimanje kukova. Ventrodorzalni prikaz zdjelice trebao bi biti dostatan za dijagnozu bolesti. Kao i kod drugih razvojnih koštanih bolesti, rendgenološki nalaz značajno varira ovisno o trajanju promjena (Pollard i Wisner, 2013.).



Slika 1. Snimka zdjelice psa u ventrodorzalnoj projekciji s istaknutim znacima Legg Calve Perthesove bolesti u području glave i vrata lijeve bedrene kosti.

Rane koštane promjene kod ishemične osteonekroze u pasa nisu rendgenografski vidljive, sve dok se ne pojavi povećana gustoća sjene kosti zahvaćene proksimalne epifize bedrene kosti. Na glavi femura mogu se zamjetiti zadebljanja koštanih gredica i stvaranje kompaktne subhondralne kosti, što stvara povećanu gustoću sjene. Glava femura je nepravilne gustoće sjene, a zglobni prostor postaje proširen i nejednakomjeran. Opisane promjene s razvojem bolesti progresivno se razvijaju do završne

faze rendgenoloških promjena kada je naglašena fragmentacija glave femura i pojava nepravilnosti u odnosima promijenjenih zglobnih ploha. Dobrim dijelom nekrotizirana glava femura može biti subluksurirana ili luksurirana. Acetabulum s vremenom popunjava novo koštano tkivo. U uznapredovaloj fazi može nastati potpuna resorpcija glave femura, a u pojedinim slučajevima vrat femura može biti dijelom nekrotičan ili potpuno resorbiran (Šehić, 2000.).

U pravilu se tipični radiološki znaci aseptične osteonekroze nalaze unilateralno, ali preporuča se pretraga oba koksalna zgloba, budući da se razvijaju individualni rendgenološki znaci (Pollard i Wisner, 2013.). Ljunggren (1967.) je objavio samo 12,2% dijagnosticiranih slučajeva bilateralne aseptične osteonekroze glave femura. Međutim, histološke pretrage jasno su pokazale da se koštana nekroza pojavljuje na glavi femura drugog ekstremiteta, i pažljivom analizom rendgenograma mogu se utvrditi početni znaci subhondralne skleroze. Nije dovoljno etiološki jasan nastanak takvih promjena. Moguće objašnjenje je biomehaničke prirode, kada se opterećenje prebacuje na kontralateralnu nogu.

U praksi je rendgenološki teško odrediti stupanj razvoja bolesti, posebice u ranoj fazi, a promjene koje upućuju na Perthesovu bolest su zglobni prostor kuka širi od normalnog i područja smanjene gustoće sjene kosti posljedično osteolizi na glavi ili vratu bedrene kosti. Područja smanjene gustoće sjene postaju jasnije vidljiva s progresijom bolesti. Može se razviti subluksacija, a acetabulum postaje plitak, na kranijalnom rubu spljošten u prilagodbi na promjenu oblika glave femura. Razvijaju se sekundarne degenerativne promjene zgloba s periartikularnim bujanjima novog koštanog tkiva. Sve opisane promjene ne moraju biti nužno vidljive kod svakog pacijenta (Kealy i sur., 2011.).

Metode liječenja

Strogo mirovanje tijekom 4-8 tjedana može omogućiti zamjenu ishemičnog područja kosti granulacijskim tkivom, odnosno remodelaciju okolnog tkiva u svrhu prilagodbe glave bedrene kosti na nove biomehaničke stresove i fiziološku pokretljivost koksalnog zgloba (Denny i Butterworth, 2000.).

Konzervativno se liječenje ne preporuča u svim slučajevima aseptične osteonekroze glave i vrata femura. U ranoj fazi bolesti dijagnostički može biti prisutna hromost, uz dobro očuvan opseg kretnji kukova i stabilnost zglobnih elemenata. Napredak promjena kod takvih životinja svakako treba pažljivo pratiti, jer je izvjesno da će mnogi postati kandidati za kirurško liječenje (Denny i Butterworth, 2000.). Metode fizikalne terapije označavaju metodu izbora kao zasebna terapija, neovisno o operativnom zahvatu ili kao postoperativna nužnost za povratak fizioloških funkcija u području kuka.

Kirurško liječenje

Osteotomija glave i vrata femura (engl. *Femoral Head and Neck Osteotomy*) je vrlo učinkovit kirurški zahvat s osnovnim učinkom eliminacije ili znatnog smanjenja bola zbog popustljivosti tetiva oko koksalnog zgloba u mlađih pasa ili bola posljedično razvoju osteoartroze. Koristi se u liječenju aseptične nekroze glave bedrene kosti, frakture vrata ili proksimalne epifize bedrene kosti, iščašenja kuka te implantacije umjetnog kuka.

Osteotomija glave i vrata bedrene kosti - OGVF (u literaturi se ranije navodi kao resekcija glave i vrata bedrene kosti) može se izvoditi u pasa svih starosnih dobi. Prognostički čimbenici svakako su bolji u manjih ili patuljastih pasmina pasa (do 20 kg) u odnosu na velike i gigantske pasmine pasa. Do

boljih kliničkih rezultata dolazi kod kompletne ekscizije vrata bedrene kosti i rane primjene postoperativne fizikalne terapije za poboljšanje pokretljivosti i raniju uporabu oboljele noge.

Predhodni pokušaji unaprijeđenja krajnjeg ishoda OGVF transplantacijom mišićnih *flapova* različita porijekla između acetabuluma i ostatka vrata bedrene kosti nakon ostektomije nisu se pokazali kao dobar izbor (Lippincott, 1992.).

Osnovna uloga OGVF je ublažiti direktan kontakt „kost – na – kost“ zahvaćenog acetabuluma i vrata pripadajuće bedrene kosti. Odnosno nakon toga omogućiti formiranje pseudoartroze (lažnog zgloba). Pseudoartroza se razvija iz gustog fibrinogenog vezivnog tkiva okruženog sinovijalnom membranom. Nakon ekscizije glave femura acetabulum se popunjava koštanim tkivom, dok se proksimalni dio bedrene kosti remodelira koštanom resorpcijom u području ekscizijske površine i koštanom produkcijom u području proksimalnog femura. Često se u sanaciji procesa stvaraju koštane reakcije (entezofiti) na rubnim zglobnim površinama (Tobias i Johnston, 2012.).

Pacijenti su kandidati za OGVF u slučaju da se hromost ne može ublažiti analgetskom terapijom, gubitkom tjelesne težine ili fizikalnom terapijom. Na ishod zahvata utječu kirurška tehnika, klinički znaci, dob pacijenta, težina bolesti, postoperativna njega i fizikalna terapija te tjelesna masa (Daff i Campbell, 1977., Mann i sur., 1987., Penwick, 1992.). Tjelesna težina je najčešće istraživani prognostički faktor u ishodu operacije. Primjerice, psi težine do 17 kg imaju bolje preduvjete za potpuni oporavak nego velike pasmine. Dob pacijenta prilikom operacije nije rizičan čimbenik za razliku od samog zdravstvenog stanja, međutim mlađi psi u postoperativnom oporavku imaju bolje rezultate (Daff i Campbell, 1977., Mann i sur., 1987., Penwick, 1992.).

Neovisno o operaciji mnogo su bolji rezultati kada životinja konstantno koristi oboljeli ud za kretanje i nema prisutne atrofije mišića prije zahvata. Pojava mišićne atrofije ne isključuje izbor kirurškog zahvata, no poželjno je ne odgađati zahvat.

Funkcionalne promjene po obavljenoj OGVF uključuju smanjenu abdukciju i ekstenziju kuka, privremeno skraćivanje uda, dorzalnu dislokaciju bedrene kosti, smanjen stojni kut koljena i skočnog zgloba te atrofiju mišićnih skupina stražnjih ekstremiteta. Maksimalno vrijeme od same operacije do krajnjeg oporavka može trajati 6-8 mjeseci, a funkcija se značajno prije vraća kod mlađih pasa (Berzon i sur., 1980., Penwick, 1992.).

U literaturi su opisani brojni pokušaji implantacije tkiva između acetabuluma i vrata bedrene kosti kako bi se poboljšao klinički ishod operacije nakon osteotomije glave i vrata bedrene kosti ali njihovi rezultati su neprihvatljivi za svakodnevnu praksu ili čak negativni (Berzon i sur., 1980., Bjorling i Chambers, 1986., Montgomery i sur., 1987., Lewis, 1992., Renberg i Radlinsky, 2001.).

Kod pokušaja mišićne transpozicije korišteni su: *musculus biceps femoris*, *musculus gluteus superficialis* i *musculus rectus femoris*. Analiza kinetike pokreta na traci nije pokazala znatnije rezultate u opterećenju ekstremiteta nakon korištenja mišićne transpozicije (Mann i sur., 1987.). Stoga se mišićna interpozicija više ne preporuča za rutinsku primjenu u praksi (Lewis, 1992.).

Kirurški postupak

Prilikom zahvata pas leži u bočnom položaju i izvodi se kranio-lateralni pristup kuku (Piermattei i Johnson, 2004.). *Musculus tensor fasciae latae* odvaja se od kranijalnog ruba superficijalnih glutealnih mišića i *m. biceps femoris*. Središnji glutealni mišić se retrahira dorzalno, a tetive

dubokog glutealnog mišića se prepariraju najbliže hvatištu na velikom trohanteru. *Musculus vastus lateralis* i periost su usko priljubljeni uz vrat i proksimalni dio bedrene kosti pa se za otvoren pristup vratu bedrene kosti koristi periostealni elevator. Na zglobnoj čahuri otvara se incizija oblika slova „T“ prema vratu bedrene kosti te se na kranijalnom rubu otvara pristup glavi femura. Ligament glave bedrene kosti ili *ligamentum teres* se oslobađa ako postoji, u pravilu taj je ligament često liziran ili atrofičan.

Glava bedrene kosti se iščaši iz acetabuluma i kapsule bedrene kosti rotacijom pod kutem 90° prema van. Bedrena kost se zadržava izvan acetabuluma rotirana s kranijalnim rubom patele paralelnim uz stol. Vrat bedrene kosti presjeca se kirurškom pilom ili osteotomom održavajući ga pritom u paralelnoj ravnini s patelom, lateralnom fabelom i velikim trohanterom. Većina autora preferira koristiti oscilirajuću kiruršku pilu jer rezultira glatkim rezom i mnogo je manje vjerojatno da će nastati jatrogeno prouzročena fraktura bedrene kosti nego pri radu osteotomom. Preporučena linija presjecanja proteže se od kaudalnog ruba intertrohanterične jame dorzalno do nešto nižeg mjesta distalno od trohantera lateralno. Time se postiže uklanjanje samo manjeg dijela trohantera. Postranična osteotomija može biti izgladana koštanom turpijom.

Zglobna čahura i drugi parcijalni dijelovi fascije se reseiraju od glave i vrata femura oštrom ekscizijom. Nakon izrezivanja zglobna čahura zatvara



Slika 2. Shematski prikaz pravilne linije osteotomije prilikom resekcije glave i vrata femura (Denny i Butterworth, 2000.)

se preko acetabuluma jednostavnim prekinutim ili madrac šavovima, resorptivnim koncem prema izboru operatera. Tetive dubokog gluteusa šivaju se kontinuiranim madrac kirurškim šavom, dok se dijelovi lateralnog mišića uklanjaju iz pozicije i zašiveni su na ventralnom rubu središnjeg glutealnog mišića. Gluteus superficialis i biceps femoris prekrivaju se s *m. tensor fasciae latae* i šivaju jednostavnim šavom, resorptivnim šivaćim materijalom. Potkožje i slojevi kože zatvaraju se prema tehnici koju preferira operater.

Postoperativni oporavak

Primjenjuje se agresivna terapija analgeticima kako bi se postoperativne komplikacije svele na minimum i povećao učinak fizikalne terapije. Opioidi u kombinaciji s nesteroidnim protuupalnim lijekovima propisuju se odmah nakon operacije. Doze lijekova se smanjuju tijekom nekoliko dana ili tjedana ovisno o stanju pacijenta i pokretljivosti uda te brzini povratka funkcije. Postoperativni oporavak za razliku od drugih ortopedskih zahvata, zahtjeva različit pristup. Životinji se odmah nakon anestezije treba omogućiti kratka i kontrolirana vježba te postoperativno obvezno fizikalna terapija. Strogo mirovanje direktno je kontraindicirano.

Upute za oporavak nakon osteotomije glave i vrata femura vrijede kao i kod ostalih ekscizijskih artroplastika s posebnim oprezom u ekstenziji kukova. Uz svakodnevne pasivne kretnje za ekstenziju kukova, koje će unaprijediti opseg kretnji, treba uvoditi vježbu na pokretnoj traci ili podvodnoj traci za trčanje. S vremenom treba omogućiti kontrolirane šetnje, čija se udaljenost s vremenom povećava. Vježba „sjedni – ustani“ koristi se ubrzo nakon zahvata za istezanje mišića stražnjih nogu, bez

dodatne boli prilikom potpune ekstenzije kukova. Vježba hoda uzbrdo ima za posljedicu povećanje opsega kretnji u kuku. Pokretna traka (ergometar) ili podvodna traka za trčanje, intenzivira oporavak mišićne mase stražnjih ekstremiteta (Davidson i Kerwin, 2013.). Ovakva vježba osnova je za očuvanje mišićne mase i vraćanje tonusa, obzirom da se prije operativnog zahvata, u većini slučajeva razvija mišićna atrofija.

Preporuča se učiniti postoperativno rendgensko snimanje za procjenu uspješnosti resekcije glave i vrata bedrene kosti. Prognoze za postoperativni oporavak su u većini slučajeva povoljne, te se očekuje se potpuni oporavak funkcije stražnjeg ekstremiteta.



Slika 3. Ventrodorzalni prikaz zdjelice psa 5 godina nakon osteotomije glave bedrene kosti.

Postoperativne komplikacije

Poznata komplikacija OGVI je minimalna do normalna stopa kirurške infekcije (1-2% pacijenata). Komplikacije treba predvidjeti i profilaktički koristiti antibiotike naročito kod imunokompromitiranih pasa ili

pacijenata kod kojih očekujemo infekciju. Komplikacije neinfektivne prirode uključuju: trajnu hromost, skraćenje stražnjeg uda, atrofiju mišića, smanjen opseg kretnji u koksalmom zglobu i luksaciju patele (Tobias i Jonhston, 2012.).

Sažetak

Aseptična osteonekroza glave i vrata bedrene kosti (Legg Calve Perthesova bolest) javlja se u pasa malih pasmina, s nalazom ishemične osteonekroze glave femura. Najčešće je opisana u pasmina malih terijera, s izraženom genetskom i pasminskom predispozicijom. Uglavnom se dijagnosticira u dobi od 4-11 mjeseci. U osnovi je degenerativna etiologija bolesti, no točan uzrok nastanku bolesti nije jasan. Histološki gledano razvija se avaskularna nekroza, posljedično nedovoljnoj vaskularizaciji glave i vrata femura, koja dovodi do trabekularnog kolapsa koštanog tkiva. Klinička slika uključuje različit stupanj šepavosti stražnjeg ekstremiteta, uz istaknut gubitak funkcije i bolnost. Rendgensko snimanje omogućava definitivnu dijagnozu bolesti. Nalazi se različit stupanj deformacija u području acetabuluma, glave i vrata femura. U većini slučajeva promjene se javljaju unilateralno. Posljedično nestabilnosti razvijaju se sekundarne degenerativne promjene na koksalmom zglobu (osteoartraze). Diferencijalno dijagnostički potrebno je isključiti pomak u proksimalnoj epifizi bedrene kosti, prijelom vrata bedrene kosti i luksaciju patele. Mogućnosti liječenja uključuju medikamentoznu terapiju, koja u pravilu daje privremene učinke, metode fizikalne terapije i kirurške zahvate. Od kirurških tehnika najbolji rezultati postižu se osteotomijom glave i vrata bedrene kosti. Osnovna uloga kirurškog zahvata je ublažiti direktan kontakt „kost na kost“ između acetabuluma i vrata pripadajuće bedrene kosti te omogućiti formiranje pseudoartroze (lažnog zgloba). Osnovni faktor u povoljnoj prognozi liječenja je stupanj mišićne atrofije zahvaćenog ekstremiteta prilikom zahvata. Nakon operacije preporuča se primjena fizikalne terapije u vrlo kratkom vremenu, omogućavanje kontroliranog kretanja,

pasivne vježbe kukova, vježbe na pokretnoj traci ili podvodnoj traci za trčanje. Osnovna uloga je povećanje opsega kretnji u kuku, očuvanje mišićne mase i vraćanje tonusa mišića stražnjih ekstremiteta. Fizikalna terapija uz pravilno izveden zahvat i njegu pacijenta omogućava potpuni oporavak i vraćanje funkcije ekstremiteta. Uz nisku stopu postoperativnih komplikacija prognoza kod liječenja aseptične osteonekroze glave i vrata femura je povoljna.

Ključne riječi: *aseptična nekroza, bedrena kost, Legg Perthesova bolest, osteotomija glave i vrata bedrene kosti, pas*

Literatura

1. BERZON, J. L., P. E. HOWARD, S. J. COVELL, E. J. TROTTER and R. DUELAND (1980): A retrospective study of the efficacy of femoral head and neck excisions in 94 dogs and cats. *Vet. Surg.* 9, 88-92.
2. BJÖRLING, D. E. and J. N. CHAMBERS (1986): The biceps femoris flap and femoral head and neck excision in dogs. *Compend. Contin. Ed. Pract. Vet.* 8, 359-363.
3. DAVIDSON, J. R. and S. KERWIN (2014): Common Orthopedic Conditions and Their Physical Rehabilitation. In: MILLIS, D. L., D. LEVINE: *Canine Rehabilitation and Physical Therapy*. Elsevier Saunders, Philadelphia, USA (543-581).
4. DENNY, R. H. and S. J. BUTTERWORTH (2000): *A Guide to Canine and Feline Orthopaedic Surgery*. 4th ed. Blackwell Science Ltd., UK, SAD, Australia.
5. DUFF, R. and J. R. CAMPBELL (1977): Long term results of excision arthroplasty of the canine hip. *Vet. Rec.* 101, 181-184.
6. KEALY, J. K., H. McALLISTER and J. P. GRAHAM (2011): *Diagnostic Radiology and Ultrasonography of the Dog and Cat*. 5th ed., Elsevier Saunders, St. Louis.
7. LEE, R. (1970): A study of the radiographic and histological changes occurring in Legg-Calve-Perthes disease (LCP) in the dog. *J. Small. Anim. Pract.* 11, 621-638.
8. LIEBICH, H - G., H. E. KÖNIG i J. MAIERL (2009): Zdjelični ud (membrum pelvinum). U: *Anatomija domaćih sisavaca*. (Zobundžija, M., K. Babić, V. Gjurčević Kantura, ed.), Naklada Slap, Hrvatska, (225-286).
9. LJUNGGREN, G. (1967): Legg-Perthes disease in the dog. *Acta Orthop. Scand. Suppl.* 95, 1-79.
10. LEWIS, D. D. (1992): Femoral head and neck excision and the controversy concerning adjunctive soft tissue interposition. *Compend. Contin. Ed. Pract. Vet.* 14, 1463-1473.
11. LIPPINCOTT, C. L. (1992): Femoral head and neck excision in the management of canine hip dysplasia. *Vet. Clin. North Am.* 22, 721-737.

12. MANN, F. A., C. H. TANGER, C. WAGNER-MANN, W. K. READ, D. A. HULSE, T. A. PUGLISI and H. P. HOBSON (1987): A comparison of standard femoral head and neck excision and femoral head and neck excision using a biceps femoris muscle flap in the dog. *Vet. Surg.* 16, 223-230.
13. MONTGOMERY, R. D., J. L. MILTON, R. D. HOME, R. H. COBLE and J. C. WILLIAMS (1987): A retrospective comparison of three techniques for femoral head and neck excision in dogs. *Vet. Surg.* 16, 423-426.
14. PENWICK, R. C. (1992): The variables that influence the success of femoral head and neck excision in dogs. *Vet. Med.* 87, 325-333.
15. PIERMATTEI, D. L. and K. A. JOHNSON (2004): Approach to the craniodorsal aspect of the hip joint through a craniolateral incision. In: *An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat*, 4th ed., Philadelphia, Elsevier/Saunders.
16. RENBERG, W. C. and M. G. RADLINSKY (2001): In vitro comparison of the locking loop and continuous cruciate suture patterns paper on continuous mattress. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 14, 15-18.
17. ROBINSON, R. (1992): Legg-Calve-Perthes disease in dogs: genetic aetiology. *J. Small. Anim. Pract.* 33, 275-276.
18. ŠEHIĆ, M. (2000): *Osteoartropatije u domaćih životinja*. Skener studio, Zagreb.
19. POLLARD, R. E. and E. R. WISNER (2013): Orthopedic Diseases of Young and Growing Dogs and Cats. In: THRALL, D. E.: *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*. 6th ed. Elsevier Saunders, St. Louis (267-282).
20. TOBIAS, K. M. and S. A. JOHNSTON (2012): *Veterinary Surgery: Small Animal*. Vol. I. Saunders Elsevier, Canada.

Aseptic Necrosis of the Femoral Head and Neck in Dog

Jasmina VIDOVIĆ, DVM, Croatia; Darko CAPAK, DVM, PhD, Full Professor, Hrvoje CAPAK, DVM, Senior Assistant, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Aseptic necrosis of the femoral head (Legg Calve Perthes disease) may affect young, growing dogs by osteonecrosis of femoral head and neck. This condition is degenerative, most often seen in small terrier breeds, suggesting hereditary factors, genetic and breed predisposition. Clinical signs are often seen in dogs between 4 and 11 months of age. The aetiology is still uncertain. Histology showing avascular osteonecrosis in the femoral head and neck, due to poor vascularisation, causes trabecular collapse of bone tissue. Dogs show varying signs of function loss and pain. The most relevant clinical sign is hindlimb lameness of varying degree. A portion of the femoral capital epiphysis loses its blood supply, and the affected area undergoes necrosis. The result can be varying degrees of deformity and secondary degenerative joint disease. Radiology is required for a definitive diagnosis. X-rays often show different degrees of osteonecrosis and secondary bone

reactions, such as degenerative joint disease. The condition is usually unilateral, though in rare cases it can be bilateral. Treatment options include drugs, physical therapy and rehabilitation, or surgery. A prognostic factor of great importance is muscle atrophy of the affected limb before surgery. Osteotomy of the femoral head and neck is the most commonly performed surgical treatment. Physical therapy after surgery is strongly recommended, in addition to a passive range of motion for hip extension, while ground treadmill or underwater exercises may be used to promote active hip motion and improve muscle strengthening. After a short recovery period, appropriate postoperative care and physical therapy, the prognosis is good in most cases.

Key words: *Aseptic necrosis, Femur, Legg-Perthes disease, Femoral head and neck osteotomy, Dog*

VI. međunarodna bujatrička konferencija u Lomzi, Poljska



Emilian Kudyba

Uvod

U Poljskom gradu Lomzi u listopadu 2015. godine održana je 6. međunarodna bujatrička konferencija (VIth International Buiatric Conference) u organizaciji Poljskog društva veterinarskih znanosti - Odjel LomzaOstroleka (Polish Society of Veterinary Sciences, Lomza-Ostroleka Division) pod tematskim naslovom „Suvremena biotehnologija u reprodukciji goveda – embriotransfer“ (Modern biotechnology in the cattle reproduction - embryotransfer). Na konferenciji je sudjelovalo oko 250 sudionika, znanstvenika i stručnjaka iz: Bjelorusije, Litve, Letonije, Ukrajine, Mađarske, Rusije, Francuske, Hrvatske, Italije i Poljske. Iz programa Konferencije izdvajam posebno zanimljiva predavanja:

- prof. dr. sc. Leszek Krakowski, Veterinarski fakultet Univerziteta u Lublinu, Poljska pod naslovom: Veterinary requirements for receiving/obtaining, processing, storage and transmission of bovine embryos – Veterinarski uvjeti za dobivanje, postupak sa goveđim zametcima, pohranu i njihov transfer
- dr. sc. Gerard Bernard, Genes Diffusion Optimal, Douai, Francuska

pod naslovom: Practical aspects of embryo transfer – Praktični aspekti embriotransfera

- dr. sc. Michał Plewik, Veterinarski institut, Lublin, Poljska pod naslovom: Hormonal methods of cows reproduction management: stimulation of oestrus and ovulation; determining the time of insemination - Hormonalne metode upravljanja reprodukcijom krava: indukcija estrusa i ovulacije; određivanje optimalnog vremena za umjetno osjemenjivanje.

Tijekom trajanja Konferencije održan je i okrugli stol znanstvenog odbora Konferencije na kojem su sudjelovali: prof. dr. sc. Krzysztof Lutnicki, prof. dr. sc. Mirosław Kleczkowski, prof. dr. sc. Przemysław Sobiech, prof. dr. sc. Krzysztof Kostro, prof. dr. sc. Roman Engler, prof. dr. sc. Kazimieras Lukauskas, prof. dr. sc. Marko Samardžija, dr. sc. Giancarlo Belluzzi, prof. dr. sc. Robert Ilyazov i mr. sc. Elżbieta Zegalska. Glavna je tema rasprave na okruglom stolu bila nastavak znanstvene, stručne i nastavne suradnje između zemalja i institucija čiji su predstavnici nazočili Konferenciji kao

Emilian KUDYBA, dr. med. vet., potpredsjednik Poljskog društva veterinarskih znanosti, Odjel Lomza Ostroleka, Lomza, Poljska

i određivanju i prihvaćanju smjernica tematskih cjelina za Konferenciju koja će se održati 2016. godine. Na Konferenciji je održana svečanost tijekom koje je prof. dr. sc. Marku Samardžiji s Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska uručeno priznanje „Veterinar 2014. godine“ od strane Poljskog društva veterinarskih znanosti za posebni znanstveni i nastavni doprinos kao i za međunarodnu suradnju u području veterinarske medicine i iznimnu stručnu ekspertizu iz područja bujatrike. Tijekom konferencije održana je prezentacija veterinarskih proizvoda, lijekova, pribora i opreme od strane 16 tvrtki.

Sudionik iz Hrvatske iskoristio je priliku posjetiti Veterinarski fakultet u gradu Olsztyn radi dogovora o budućoj znanstvenoj, nastavnoj i stručnoj suradnji. Spomenuti fakultet uz još 16 fakuleta pripada Warminskomazurskom Sveučilištu u Olsztynu.

Konferencija je završila uspješno, a posebno treba napomenuti da su iznesene nove spoznaje i utvrđeni zaključci te je za očekivati da će doprinos Konferencije i utjecaj njezinih znanstveno-stručnih preporuka biti u buduću od sve većeg značenja za bujatričku znanost i struku.



Slika 1. Sudionici Konferencije tijekom predavanja



Slika 2. Uručivanje priznanja „Veterinar 2014. godine“ od strane Poljskog društva veterinarskih znanosti, na slici lijevo Potpredsjednik Društva Emilian Kudyba i desno primatelj priznanja Marko Samardžija

PATOLOGIJA HRANIDBE DOMAĆIH ŽIVOTINJA



Mario Mitak

Izdavači: Medicinska naklada Zagreb i
Hrvatski veterinarski institut Zagreb
Godina izdanja: 2015., tvrdi uvez

U lipnju ove godine stručnoj je javnosti predstavljena knjiga dr. sc. Marija Mitaka, dugogodišnjeg djelatnika Hrvatskog veterinarskog instituta, stručnjaka za dijagnostiku bolesti nastalih zbog neprimjerene hranidbe domaćih životinja. Kolega Mitak dvadesetak godina prati zdravstvene poremećaje životinja hranidbene etiologije i provodi laboratorijske analize krmiva, krmnih smjesa te mikrobiološke pretrage hrane. U knjizi iznosi vlastite spoznaje proizašle iz bogate laboratorijske prakse u dijagnostici hranidbenih i metaboličkih

bolesti goveda, svinja, ovaca, koza, konja, peradi, kunića te pasa i mačaka. Osvrnuo se i na bolesti vezane uz hranidbu riba.

Knjiga sadrži četrnaest poglavlja na 335 stranica tiskanog teksta izdašno ilustriranog fotografijama iz vlastite zbirke, originalnim crtežima otrovnih biljaka i, u hranidbi nezaobilaznim, tabličnim prikazima. U prvom poglavlju autor sažeto upoznaje čitatelje s hranidbenim potrebama domaćih životinja. U sljedećem piše o odlikama hrane za životinje i njezinoj primjerenosti za konzumiranje. Objašnjava kako krmne smjese utječu na zdravlje životinja. Upoznaje nas s genetički modificiranom hranom, tzv. novom i funkcionalnom hranom te objašnjava specifičnosti hranidbe u ekološkom uzgoju životinja. Sljedeća poglavlja organizirana su prema životinjskim vrstama, a obuhvaćaju najčešće hranidbene i metaboličke bolesti farmских životinja, peradi, kunića i riba. Dvanaesto poglavlje posvećeno je opisu mnogobrojnih štetnih tvari u hrani za životinje, s naglaskom na dijagnostiku i sprječavanje mikotoksikoza, sveprisutnog nutricionističkog izazova. Pravodobnom dijagnostikom štetnih tvari u krmivima i okolišu, mogu se spriječiti mnogi hranidbeni poremećaji u životinja te posredno zaštititi zdravlje ljudi.

Dijagnostici hranidbenih poremećaja posvećeno je trinaesto poglavlje, ključno u ovoj stručnoj knjizi, jer podučava kako brzo prepoznati i otkloniti uzroke nastanka najčešćih hranidbenih i metaboličkih bolesti domaćih životinja. U četrnaestom poglavlju pregledno su tablično prikazane hranidbene potrebe za svaku vrstu i proizvodnu kategoriju životinja. Obuhvaćene su sve farmske životinje, perad, kunići te psi i mačke.

Dr. Mitak svojom knjigom svraća pozornost kolega na važnost hranidbe u veterinarskoj medicini i veterinarskom javnom zdravstvu.

Vlasta HERAK-PERKOVIĆ



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

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

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

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

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

Laboratorij provodi ukupno 51 metodu te određuje: zabranjene supstance (kloramfenikol, metabolite nitrofurana, dapson); veterinarske lijekove, kokcidostatike, kontaminante (kemijske elemente: arsen, olovo, kadmij, živa, bakar, selen i cink), organoklorirane i organofosforne pesticide, piretroide i karbamate, bezno(a)piren te aflatoksin M1, boje (malahitno i 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 govede DNA u krmivima i krmnim smjesama.

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

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

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

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

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

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

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

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

Kongres veterinarara Hrvatske, Cavtat, 1996.

Marijan Sabolić



Od 2. do 5. listopada 1996. godine održan je u Cavtatu (*Hotel Croatia*) I. kongres veterinarara Hrvatske. Fotografije

su snimljene u trenucima opuštanja i obilaska znamenitosti Dubrovnika.



s lijeva na desno: Srećko MAJNARIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Bože MIKULIĆ, dr. med. vet., Jarmila ŽGANEC, dr. med. vet., Milan VELIMIROVIĆ, dr. med. vet., Vesna BUNTA, dr. med. vet., Željko LJUBIĆ, dr. med. vet.



s lijeva na desno: Milan VELIMIROVIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Dijana KATICA, dr. med. vet., mr. Miljenko JURIČIĆ, dr. med. vet.

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

In memoriam – izv. prof. dr. sc. Igor Štoković



Izenada i puno prerano, 3. listopada 2015., smrt nas je razdvojila od dragog prijatelja, kolege i suradnika Igora Štokovića. Vedrog duha i otvoren, Igor je dotaknuo živote mnogih od nas pa stoga ne čudi da je dvorana Zagrebačkog krematorija Mirogoj bila premala za sve koji su došli uputiti Igoru posljednji pozdrav i riječi utjehe njegovoj obitelji.

Tijekom sedamnaest godina rada, Igor je u Zavodu za stočarstvo Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu utkao svoje srce, a iznimnom energijom i veseljem svakodnevno ispunjavao naš rad, ali i osobni život. Stoga pisanje osvrta na njegov nastavni, znanstveni i stručni rad nije samo nizanjanje datuma i činjenica, već i oživljavanje mnogih uspomena po kojima ćemo ga pamtiti.

Izv. prof. dr. sc. Igor Štoković rođen je 19. lipnja 1968. godine u Zagrebu, gdje je završio osnovnu i srednju školu. Tijekom studija na Veterinarskom fakultetu sudjelovao je kao hrvatski branitelj u

Domovinskom ratu. Diplomirao je 1997. godine, nakon čega je u Veterinarskoj stanici Jastrebarsko odradio pripravnički staž. Akademске godine 1998./1999. upisao je znanstveni poslijediplomski studij "Animalna higijena, okoliš i etologija", kada je i započeo, kao mlađi asistent, svoj znanstveno-nastavni rad u Zavodu za stočarstvo Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Magisterij znanosti stekao je 2004., obranivši rad pod naslovom "Udio kostiju u trupovima simentalke junadi u Hrvatskoj". Tri godine kasnije (2007.), obranom doktorskog rada "Fenotipske i genotipske značajke najduljega lednoga mišića simentalke junadi u Hrvatskoj", stekao je titulu doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva. Slijedio je put ka uspješnoj sveučilišnoj karijeri. U zvanje znanstvenog suradnika izabran je 2008., nakon čega je 2009. izabran u znanstveno-nastavno zvanje docenta. U višeg znanstvenog suradnika izabran je 2010., a znanstvenog savjetnika 2012. godine. Iste godine izabran je i u znanstveno-nastavno zvanje izvanrednog profesora u području biomedicinskih znanosti, polju veterinarska medicina, grani animalna proizvodnja i biotehnologija.

Od samog početka rada u Zavodu za stočarstvo, dr. sc. Igor Štoković bio je uključen u dodiplomsku nastavu studenata veterinarske medicine. Najprije je to bilo u predmetu Tehnologija proizvodnje i uzgoja životinja, a od akad. god. 2005./2006., u reformiranim predmetima Pasminka svojstva životinja, Uzgoj i proizvodnja životinja, Osnove statistike u veterinarskoj medicini te izbornom predmetu Uzgoj i proizvodnja kunića i krznaša. Također, izborom u znanstveno-nastavno zvanje, počeo je održavati nastavu i na Specijalističkim studijima te Doktorском studiju iz veterinarskih znanosti. O

odlikama izv. prof. dr. sc. Igora Štokovića, kao sveučilišnog nastavnika, najbolje govore postignuća i uspjesi studenata kojima je tijekom godina rada nastojao pretočiti svoje znanje na što zanimljiviji način, ali jednako tako i poticati njihovu međusobnu suradnju, sportski duh te želju da jednog dana kao časni mladi ljudi budu ponos svog fakulteta i struke. Kroz voditeljstva većeg broja predmeta, nastojao je uvesti ne samo aktualne sadržaje, već i unaprijediti metodiku provođenja nastave, kako bi studentima na što pristupačniji način približio najnovije spoznaje važne za njihov daljnji rad. Stoga, ne iznenađuje da su ga studenti gotovo redovito nagrađivali najboljim ocjenama, a tijekom višegodišnjeg provođenja sveučilišne ankete prepoznat je kao jedan od deset najbolje ocijenjenih nastavnika Sveučilišta u Zagrebu. Dr. sc. Igor Štoković bio je vrlo aktivan u brojnim povjerenstvima i radnim tijelima Fakulteta. Kao predsjednik Udruge asistenata, već za ranih asistentskih dana, nesebično se „borio“ za prava mladih znanstvenika. Bio je član i prvi tajnik Sportskog društva i na taj način doprinio važnijoj ulozi sporta u studentskom životu Fakulteta te neformalnijoj suradnji djelatnika i studenata. No, ono u čemu je prof. Štoković bio osobito uspješan bio je njegov angažman na prepoznatljivosti našeg Fakulteta u širem europskom okruženju. Ogledalo se to u činjenici da je organizirao jednu od prvih međunarodnih ljetnih škola pod nazivom Satellite workshop for students: Genetic diversity and conservation programs of autochthonous livestock breeds. Kao gost predavač kraće je vrijeme boravio na brojnim inozemnim institucijama među kojima ističemo Europski kampus univerziteta u Slovačkoj i Univerzitet u Kazahstanu. Međunarodnu razmjenu studenata i nastavnika osobito je poticao obavljajući odgovorne funkcije voditelja fakultetskog Ureda za međunarodnu suradnju, zatim CEEPUS (Srednjoeuropski

program razmjene za sveučilišne studije) koordinatora te CEEPUS koordinatora cijele VetNEST grupacije veterinarskih sveučilišta i fakulteta.

Znanstvena djelatnost izv. prof. Igora Štokovića bila je povezana s područjem uzgoja i selekcije domaćih životinja radi unaprjeđenja njihovog zdravstvenog i proizvodnog statusa, odvijala se kroz fenotipsku i genetsku karakterizaciju, primarno goveda simentalske pasmine. Osim toga, radio je na uvođenju modernih uzgojno-seleksijskih metoda u zaštiti i unaprjeđenju zdravlja različitih vrsta domaćih životinja, napose hrvatskih izvornih pasmina. Svakako treba istaknuti njegov rad na sustavnom procjenjivanju učinkovitosti elektroničkog označavanja životinja te primjenu molekularnih i statističkih metoda u genetskom vrjednovanju i selekciji životinja. Svoje spoznaje objedinio je i prezentirao u više od sto znanstveno-stručnih publikacija, zatim autorskim poglavljima u dvije knjige te uredništvom knjige i zbornika sažetaka znanstveno-stručnog skupa. Osim toga, bio je mentor pri izradi disertacije i jednog specijalističkog rada, recenzent u više znanstvenih časopisa te član Uredničkog odbora časopisa „Mljekarski list“ i „Uzgoj goveda“. Sve navedeno bilo je moguće zbog činjenice da je prof. Štoković od samog početka rada na Veterinarskom fakultetu bio aktivno uključen u mnogobrojne domaće i međunarodne projekte, među kojima na ovom mjestu ističemo samo one kojima je bio voditelj: projekt Ministarstva znanosti obrazovanja i športa „Udio tkiva, kemijski i masnokiselinski sastav mesa simentalske pasmine goveda“, projekt Vijeća za istraživanje u poljoprivredi Ministarstva poljoprivrede „Nove tehnologije u sustavu krava-tele za dobru poljoprivrednu i okolišnu praksu“ te tri potpore za znanstveni rad Sveučilišta u Zagrebu - „Utjecaj pasmine, botaničkog sastava i drugih čimbenika na udio tkiva, kemijski i masnokiselinski sastav

mesa goveda“, zatim „Utjecaj pasmine i drugih čimbenika na osobine tovnosti te kemijski i masnokiselinski sastav mlijeka goveda“ i „EDUFARM 2020“ (potpora za međunarodni projekt). Posebno mjesto u njegovoj znanstvenoj i stručnoj aktivnosti zauzima vođenje IPA projekta „HighTechVets – High tech veterinary platform for high transparency and competitiveness“. Unatoč ozbiljno narušenom zdravlju, prof. Štoković doveo je do kraja i ovaj međunarodni projekt u kojem je na originalan i suvremen način želio istražiti i ponuditi rješenja za mnogobrojne probleme koji u svakodnevnoj praksi muče veterinarsku struku. Velika energija i želja za promicanjem suradnje ogledala se i kroz njegov angažman pri organizaciji više kongresa u Hrvatskoj i izvan nje. U tom kontekstu, posebno treba istaknuti da je na neki način ponovno aktivirao i na višu razinu podigao znanstveno-stručni skup Veterinarska znanost i struka, a kao predsjednik Radne skupine za središnju i istočnu Europu potvrdio se i kao aktivni sudionik te organizator dva kongresa (61. i 62.) Europskog udruženja za proizvodnju životinja (EAAP).

Prepoznat kao stručnjak u području stočarstva, napose govedarske proizvodnje, dr. sc. Igor Štoković je sudjelovao u radu većeg broja povjerenstava i odbora Ministarstva poljoprivrede. Bio je član Povjerenstva za izradu Operativnog programa razvoja govedarske proizvodnje, Povjerenstva za autohtone pasmine, potom Povjerenstva za priznavanje novih pasmina, sojeva i hibrida goveda, Povjerenstva za izradu Pravilnika o provedbi obveznog označavanja i registracije ovaca i koza te Povjerenstva za ocjenjivanje centara za reprodukciju u stočarstvu Republike Hrvatske. Članstvom u Hrvatskoj veterinarskoj komori, Hrvatskom veterinarskom društvu 1893 – Societas Veterinaria Croatica, Hrvatskom kinološkom savezu te Europskom udruženju za proizvodnju životinja kolega Štoko-

vić potvrdio je i svoj širi društveni angažman. Stoga, ne čudi da je bio dobitnikom mnogih priznanja, među kojima ističemo Zahvalnicu Hrvatske poljoprivredne agencije za dugogodišnju suradnju u razvoju stočarstva i unaprjeđenje uzgojno-selektorskog rada Republike Hrvatske te Plaketu 6. Međunarodnog sajma inovacija, eko ideja, proizvoda i tehnologija u poljoprivredi i prehrambenoj industriji Agro Arca za inovaciju „Nova veterinarska platforma za veću transparentnost i konkurentnost“.

Na kraju treba istaknuti da je prof. Štoković iskazivao i brojne druge sklonosti kao što su sport, posebice košarka, zatim glazba, a sigurno su mnogi zapazili i njegove vještine dobrog crtača koje su ostale zapisane kroz mnoge ilustracije za Sveučilišne smotre, znanstvene i stručne skupove, udžbenike i priručnike.

Sažimajući kratku, ali intenzivnu profesionalnu karijeru kolege Igora Štokovića možemo reći da je bio talentirani nastavnik i znanstvenik koji je svojom marljivošću poticao druge da daju više i bolje. Bio je čvrsto uvjeren da nijedna bitka nije beznačajna i unaprijed izgubljena te da se stvari mogu mijenjati „sada i odmah“. Nije se bojao iznijeti svoje mišljenje o bilo kojoj temi i problemu, a na nerazumijevanje okoline odgovorio bi još upornijim i požrtvovnijim radom. Svoju energiju i postojanost crpio je iz ljubavi prema supruzi i djeci na koje je bio neizmjereno ponosan. Potvrđivalo se to posebno u trenucima teške bolesti kada je pokazao veliku hrabrost i snagu, tjerajući sve nas na optimizam. I baš zbog svega toga, naši osjećaji tuge i gubitka miješaju se s njegovim porukama ohrabrenja kako uvijek treba gledati naprijed s veseljem i sjećanjima na lijepe trenutke. A takvih je trenutaka, svih ovih godina kada smo imali čast raditi s prof. Igorom Štokovićem, bilo puno ... jako puno.

Anamaria EKERT KABALIN i
Velimir SUŠIĆ

CILJEVI I DJELOKRUG

Cilj je časopisa pružiti međunarodnu platformu za objavljivanje članaka u području veterinarskih i životinjskih znanosti i biotehnologije. Sadržaj časopisa posebno je posvećen veterinarskoj praksi, ali i svim znanstvenicima kao i sveučilišnim nastavnicima u cilju ohrabrenja da podijele svoje znanje i iskustvo na ovoj platformi. Rukopisi poslani u časopisu mogu uključivati: izvorne znanstvene radove, pregledne članke, kratka priopćenja, stručne članke, prikaze slučajeva i kongresna priopćenja te literarne zapise kao i osvrte novih knjiga na hrvatskom ili engleskom jeziku.

Tekstovi originalnih znanstvenih radova, preglednih članaka i stručnih rasprava mogu imati do 20 stranica (pisanih u MS Wordu, Times New Roman, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvatit će se i veći broj stranica. Kratka priopćenja i prikazi slučajeva do 7 stranica, a kongresna priopćenja, literarni zapisi i osvrte novih knjiga do 3 stranice.

Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:

- ako je jedan autor: Cvetnić (2015.).
- ako su dva autora: Džaja i Severin (2012.).
- ako su tri ili više autora: Dobranić i sur. (2008.); (Vince i sur., 2009.).

Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj rad bez da ga pošalje na istorazinsku recenziju ili ga može odmah odbiti.

Svaki originalni znanstveni rad, pregledni članak, stručna rasprava, kratko priopćenje i prikaz slučaja mora imati sažetak na engleskom jeziku, od najmanje 300-500 riječi, a ostali rukopisi moraju imati sažetak do najviše 300 riječi. Ključne riječi trebaju biti također napisane, minimalno 3-6.

Ističemo napose da svi grafikoni moraju biti izrađeni u Microsoft programima na računalu, a fotografije (analogne i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.

Popratno pismo autora mora sadržavati:

a) Izjavu o sukobu interesa

Autori su dužni objaviti svaki potencijalni sukob interesa, kao što su konzultantske, financijske uključenosti, vlasništvo patenta, itd. Autori originalnih znanstvenih članaka moraju u trenutku podnošenja objaviti financijski aranžman koji imaju s tvrtkom čiji je proizvod istaknut u dostavljenom rukopisu, ili s tvrtkom s kojom izrađuju kompetitivni proizvod. Takve informacije će se povjerljivo čuvati sve dok je članak na recenziji i neće utjecati na sudeću odluku, ali ako je članak prihvaćen za objavljivanje, takvi se podatci moraju priopćiti čitatelju.

b) Izjavu o etičnosti

Autori moraju potvrditi da materijal dostavljen za objavljivanje nije objavljen niti poslan za objavljivanje nigdje drugdje osim, eventualno u obliku sažetka. Uredništvo neće dopustiti objavljivanje radova koji opisuju pokusne postupke na živim životinjama za

koje se može razumno pretpostaviti da su im nanijeli nepotrebnu bol ili nelagodu. Kako bi za objavljivanje bili prihvatljivi, pokusi na živim kralježnjacima ili *Octopus vulgaris* trebaju biti u skladu s propisima Europske unije te su u skladu sa smjernicama koje je donio Odbor za istraživanje i etičkim pitanjima IASP. Uredništvo zahtjeva da svaki originalni znanstveni članak dostavljen časopisu uključuje izjavu da je za istraživanje dobiveno etičko odobrenje nadležne institucije ili izjavu da isto nije bilo potrebno.

Rukopisi se ne vraćaju.

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

U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u radu i to prema uputama koje se prilažu:

Knjiga: HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.

Poglavlje 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).

Disertacija: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Utjecaj tjelesne kondicije i pariteta na energetske, antioksidacijske i reproduksijske status visoko mlječnih krava tijekom prijelaznog razdoblja. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

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).

Zbornik sažetaka: ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odgovor svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezskog. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Časopis: CERUNDOLO, R. (2004): Generalized Microsporum canis dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. Vet. Dermatol. 15, 181-187.

Predaja rukopisa:

Rukopise na hrvatskom ili engleskom jeziku treba poslati elektroničkom poštom na adresu glavnog urednika na e-mail: smarko@vef.hr

U svakom članku treba navesti:

Dopisnog autora, njegov akademski stupanj, naziv i adresu organizacije u kojoj radi, broj telefona, telefaksa i elektroničku adresu (e-mail). Isto tako treba navesti akademski stupanj i organizaciju u kojoj rade svi ostali autori.

AIMS AND SCOPE

The goal of the journal is to provide an international platform for the publication of articles in the fields of veterinary and animal sciences, and biotechnology. The content of the journal is particularly dedicated to veterinary practitioners, but also to veterinary scientists and university professors, to encourage them to share their knowledge and experience on this platform. Manuscripts submitted to the journal may include: original scientific papers, review articles, short communications, professional articles, case reports, conference reports and literary records and reviews of new book either in Croatian or English languages.

Original research papers, review articles and expert discussions may have up to 20 pages (written in MS Word, Times New Roman, font size 12, spacing 1.5); however, in exceptional cases, a larger number of pages may be accepted. Case reports may be up to 7 pages and conference reports, literary records and reviews of new books may be up to 3 pages.

In the text, references should be cited as follows:

- single author: Cvetnić (2015)
- two authors: Džaja and Severin (2012)
- three or more authors: Dobranić et al. (2008); (Vince et al., 2009).

The Editorial Board may require authors to improve their work without submitting it to the peer review process or may immediately reject it.

Original scientific papers, review articles, and expert discussions must have an abstract in English between minimum 300 to 500 words, while other papers must have an abstract of up to 300 words. A minimum of 3 – 6 keywords should also be provided.

All figures should be prepared using Microsoft programs, and photos (analogue and digital) should be of such quality that allows for successfully reproduction.

The Covering letter authors must include:

- Conflict of interest statement

Authors are required to disclose any potential conflict of interest such as consultancies, financial involvement, patent ownership, etc. Authors of research articles must disclose at the time of submission any financial arrangement they have with the company whose product features prominently in the submitted manuscript, or with a company making a competing product. Such information will be held in confidence while the paper is under review and will not influence the editorial decision, but if the article is accepted for publication, such information must be communicated to the reader.

- Ethical statement

The authors must certify that the material submitted for publication has not been published except in abstract form, and is not being considered for publication elsewhere. The Editorial Boards will not allow the publication of papers describing

experimental procedures on living animals which may reasonably be presumed to have inflicted unnecessary pain or discomfort upon them. To be acceptable for publication, experiments on living vertebrates or *Octopus vulgaris* should conform to the European Union's legislation and are in accordance with guidelines set by the Committee for Research and Ethical Issues of IASP. We require every research article submitted to the Journal to include a statement that the study obtained ethics approval or a statement that it was not required.

Manuscripts will not be returned.

Advertising of veterinary medicinal products in the journal Veterinarska Stanica must be in accordance with Articles 75-78 of the Act on Veterinary Medicinal Products (Official Gazette 84/2008) and the Ordinance on the advertising of veterinary medicinal products (Official Gazette 146/2009). For veterinary medicinal products that have not been granted marketing authorisation, advertisers are required to request consent for advertising from the competent authority.

The literature citations may list only the papers cited in the manuscript and according to the instructions below:

Book: HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.

Book chapter: 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).

Dissertation: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Effect of body condition and parity on energetic, antioxidative and reproductive status in high yielding dairy cows during transition period. Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb.

Proceedings manuscripts: 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).

Proceeding abstracts: ČAJAVEC, S., Lj. MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Seroški odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezškoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Journal: CERUNDOLO, R. (2004): Generalized Microsporum canis dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. Vet. Dermatol. 15, 181-187.

Manuscripts submission:

Manuscripts should be submitted either in Croatian or English languages by electronic mail to the chief editor via e-mail: smarko@vef.hr

All submissions should include:

Academic degree, Affiliation, Phone number, Fax number and e-mail of Corresponding author. It should also specify the Academic degree and Affiliation for all other authors.