

Proširenost paratuberkuloze goveda u Republici Hrvatskoj u 2010. godini

Ž. Cvetnić, Maja Đuričić, V. Starešina, Maja Zdelar-Tuk, Ivana Račić, Sanja Duvnjak, N. Turk, Z. Milas i S. Špičić



Uvod

Paratuberkuloza je kronična zarazna bolest domaćih i divljih preživača. Klinički se očituje teškim nezaustavljivim proljevom, mršavošću i patološko-anatomski zadebljanjem sluznice tankog crijeva, osobito ileuma. Bolesne životinje i kliconoše fecesom izlučuju velike količine uzročnika i onečišćuju stelju, vodu, hranu i okoliš. Širenje je uzročnika u okolinu i iz crijeva u ostale organe inficiranih goveda uglavnom povezano s klinički prepoznatljivim oblikom bolesti (Antognoli i sur., 2008., Hasonova i sur., 2009.). Paratuberkulozu uzrokuje *Mycobacterium (M.) avium subspecies (subsp.) paratuberculosis*.

Nakon višemjesečnog bolovanja paratuberkuloza završava smrtno. Gospodarski su gubici u uzgojima mliječnih goveda zbog ove bolesti veliki. U mliječnoj industriji uzrokuje velike štete s obzirom na pad mliječnosti (Wilson i sur., 1993., Benedictus i sur., 1997., Hendrick i sur., 2005., Lombard i sur., 2005.), smanjene kloničke vrijednosti (Johnson-Ifearulundu i Kaneene, 1997., Johnson-Ifearulundu i sur., 1999.) i povećani remont stada (Ott i sur., 1999.). Ne može se zaobići ni zoonotsko značenje paratuberkuloze goveda u patogenezi Crohnove bolesti u ljudi (Chiodini i sur., 1984., Hermon-Taylor i sur., 2000., Harris i Lammerding, 2001., Greenstein i Collins, 2004.).

Bolest se javlja i rasprostranjena je u čitavom svijetu, a posebno u zemljama

s visokim brojem mliječnih goveda i intenzivnom proizvodnjom. Cetinkaya i sur. (1998.) su opisali paratuberkulozu u Engleskoj, Muskens i sur. (2000.) u Nizozemskoj, Boelaert i sur. (2000.) u Belgiji, Gastainer i sur. (2000.) u Austriji, Pavlik i sur. (2000.) u Češkoj, Stephan i sur. (2002.) u Švicarskoj, Pozatto i sur. (2011.) u Italiji, Cvetnić i sur. (2000.a,b, 2004.) i Zdelar-Tuk i sur. (2009.) u Hrvatskoj, Van Leeuwen i sur. (2001.) u Kanadi, Adaska i Anderson (2003.) u Kaliforniji (SAD) i Pak i sur. (2003.) u Južnoj Koreji.

Cilj je našeg istraživanja utvrditi rasprostranjenost paratuberkuloze u uzgojima goveda u Republici Hrvatskoj u 2010. godini. Do navedenih rezultata doći ćemo uz primjenu imunoenzimskih testova (ELISA) koji su se do sada pokazali najosjetljiviji i najspecifičniji.

Materijal i metode

Uzorci seruma goveda

Uzorci seruma goveda se dostavljaju u Laboratorij za bakterijske zoonoze temeljem godišnje Naredbe MPRRR, koja između ostalog propisuje kontrolu krvi svih krava u laktaciji prije formiranja novog uzgoja i novonabavljenih junica prije uvođenja u uzgoj. Uzorke za pretragu prikupljali su veterinarci na terenu. Životinjama je krv najčešće uzimana iz vene

Dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, izvanredni profesor, dr. sc. Maja ZDELAR-TUK, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, Ivana RAČIĆ, dipl. ing., znanstvena novakinja, Sanja Duvnjak, dipl. ing., znanstvena novakinja, dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Vilim STAREŠINA, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Nenad TURK, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Zoran MILAS, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Zagreb, Maja ĐURIČIĆ, dr. med. vet.

jugularis u obične epruvete. Iz dostavljenih uzoraka u laboratoriju se odvaja serum od korpuskularnih dijelova krvi, epruvete se centrifugiraju 10-15 minuta na 1500 okretaja u minuti. Dobiveni se serum čuvaju do završetka pretraga na +4 °C ili dulje razdoblje na -20 °C.

Tijekom 2010. godine iz 19 županija u Republici Hrvatskoj, dostavljena su 16 662 uzorka krvi goveda radi serološke pretrage na paratuberkulozu. Iz Zagrebačke županije dostavljeno je 508 uzoraka krvi goveda, Krapinsko-zagorske 94, Sisačko-moslavačke 303, Karlovačke 632, Varaždinske 353, Koprivničko-križevačke 1696, Bjelovarsko-bilogorske 1360, Primorsko-goranske 953, Ličko-senjske 539, Virovitičko-podravске 793, Požeško-slavonske 416, Brodsko-posavske 451, Zadarske 215, Osječko-baranjske 5641, Šibensko-kninske 575, Vukovarsko-srijemske 1529, Splitsko-dalmatinske 15, Istarske 367 i Međimurske 222 uzorka krvi goveda.

Serološke metode

Svi su serum pretraženi na prisustvo protutijela *M. paratuberculosis* najprije imunoenzimskim testom probira (ELISA-ID Screen Paratuberculosis Indirect-Screening Test, ID VET), a ukoliko je serum bio pozitivan ili sumnjiv, pretražen je i potvrdnim imunoenzimskim testom (ELISA - ID Screen Paratuberculosis Indirect - Confirmation Test, ID VET). Imunoenzimski testovi su komercijalno pripremljeni dijagnostički kitovi za paratuberkulozu preživača. Granična vrijednost iznad koje je serum pozitivan opisana je u uputi za uporabu testa. Rezultati su očitavani na spektrofotometru „Tecan Sunrise“, Austrija.

Rezultati

Rezultati dobiveni imunoenzimskim testom probira

Tijekom naših istraživanja u 2010. godini na području 19 županija u Republici Hrvatskoj ukupno su imunoenzimskim testom probira pretražena 16 662 uzorka krvnih seruma

goveda. Pozitivne reakcije utvrđene su u 222 uzorka seruma (1,33%), a sumnjive reakcije u 64 uzorka seruma (0,38%).

Najveći broj pretraženih uzoraka seruma preživača bio je u Osječko-baranjskoj županiji 5641, zatim u Koprivničko-križevačkoj županiji 1696 uzoraka seruma, 1529 pretraženih uzoraka seruma dostavljeno je iz Vukovarsko-srijemske županije, u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji je pretraženo 1360 uzoraka, a u ostalim županijama pretražen je manji broj krvnih seruma (tabela 1.).

Najveći postotak pozitivnih reakcija utvrđen je u Splitsko-dalmatinskoj županiji (20%), ali je pretražen i najmanji broj uzoraka seruma preživača (0,09% od ukupnog broja uzoraka). Slijedi Istarska županija s 5,18% pozitivnih reakcija i 367 pretraženih uzoraka, Krapinsko-zagorska županija s 3,19% pozitivnih rezultata, zatim Primorsko-goranska županija (3,15%), Virovitičko-podravska (2,02%), Brodsko-posavska (2,00%), Zagrebačka (1,77%), Bjelovarsko-bilogorska (1,69%), Zadarska (1,40%), Međimurska (1,35%), Sisačko-moslavačka (1,32%), Karlovačka (1,27%), Koprivničko-križevačka (1%), u ostalim županijama utvrđen je manji broj pozitivnih reakcija (grafikon 1.).

Rezultati dobiveni potvrdnim imunoenzimskim testom

Uzorci seruma goveda koji su imunoenzimskim testom probira dali pozitivnu ili sumnjivu reakciju podvrgnuti su ponovnom testiranju s potvrdnim imunoenzimskim testom. Potvrdnim je testom pretraženo ukupno 286 uzoraka seruma (222 pozitivna uzorka i 64 sumnjiva uzorka seruma). Pozitivne reakcije su ponovno utvrđene u 193 uzorka (67,4%).

Najveći broj pretraženih seruma bio je u Osječko-baranjskoj županiji 63, od kojih je pozitivne reakcije pokazalo 48 uzoraka seruma (76,19%). Od pretražena 34 uzorka iz Primorsko-goranske županije, pozitivne reakcije je pokazalo njih 25 uzoraka (73,53%). U Bjelovarsko-

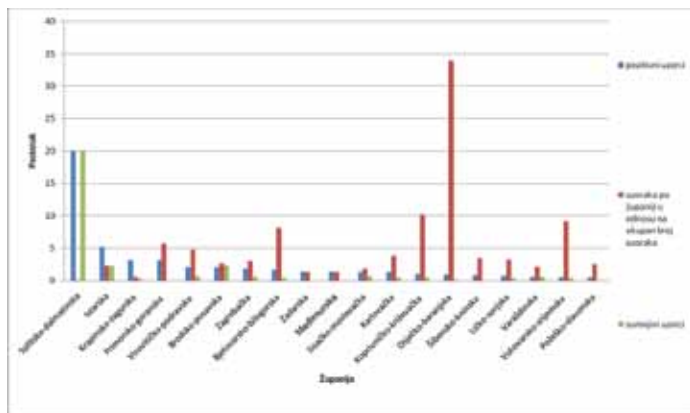
Tabela 1. Rezultati pretrage krvi goveda na paratuberkulozu imunoenzimskim testom probira

Županija	Broj serološki pretraženih uzoraka	Pozitivno		Sumnjivo	
		Broj	%	Broj	%
Osječko-baranjska	5641	54	0,96	9	0,16
Koprivničko-križevačka	1696	17	1,00	8	0,47
Vukovarsko-srijemska	1529	8	0,52	6	0,39
Bjelovarsko-bilogorska	1360	23	1,69	6	0,44
Primorsko-goranska	953	30	3,15	4	0,42
Virovitičko-podravsk	793	16	2,02	5	0,63
Karlovačka	632	8	1,27	3	0,47
Šibensko-kninska	575	5	0,87	0	0,00
Ličko-senjska	539	4	0,74	2	0,37
Zagrebačka	508	9	1,77	3	0,59
Brodsko-posavska	451	9	2,00	10	2,22
Požeško-slavonska	416	2	0,48	0	0,00
Istarska	367	19	5,18	1	0,27
Varaždinska	353	2	0,57	2	0,57
Sisačko-moslavačka	303	4	1,32	2	0,66
Međimurska	222	3	1,32	0	0,00
Zadarska	215	3	1,40	0	0,00
Krapinsko-zagorska	94	3	3,19	0	0,00
Šplitsko-dalmatinska	15	3	20,00	3	20,00
Ukupno	16662	222	1,33	64	0,38

bilogorskoj županiji je pretraženo 29 uzoraka seruma, od kojih je 22 reagiralo pozitivno (75,86%). U Koprivničko-križevačkoj županiji je pretraženo 25 seruma, od kojih je pozitivno reagiralo 15 (60%). U Virovitičko-podravskoj županiji je pretražen 21 uzorak, a pozitivne reakcije je pokazalo njih 14 (66,67%). Od 20 uzoraka seruma u Istarskoj županiji, pozitivne reakcije je pokazalo 19 uzoraka (95%). U Brodsko-posavskoj županiji je pregledano 19 uzoraka, a pozitivne reakcije utvrđene su u 9 uzoraka (47,37%). U Vukovarsko-srijemskoj županiji je pregledano 14 uzoraka, a pozitivne reakcije su utvrđene u 7 uzoraka (50%). Od pregledanih 12 uzoraka u Zagrebačkoj županiji, pozitivne reakcije su utvrđene u 6 uzoraka (50%). U Karlovačkoj županiji je pretraženo 11 uzoraka, a 7 ih je utvrđeno pozitivnih (63,64%). U Sisačko-moslavačkoj županiji je pretraženo 6 uzoraka, a 2 su utvrđena pozitivna (33,33%). U Šplitsko-

dalmatinskoj je županiji od 6 pretraženih seruma 1 bio pozitivan (16,67%). Od pretraženih 6 uzoraka u Ličko-senjskoj županiji, 4 uzorka su utvrđena pozitivna (66,67%). U Šibensko-kninskoj županiji je pretraženo 5 uzoraka, a pozitivne reakcije su utvrđene u 4 uzorka (80,00%). U Varaždinskoj županiji su pretražena 4 uzorka, a pozitivne reakcije su utvrđene u 1 uzorku (25%). U Krapinsko-zagorskoj županiji su pretražena 3 uzorka i sva 3 su se pokazala pozitivnim (100%). U Zadarskoj županiji su pretražena 3 uzorka, a 2 su utvrđena pozitivnim (66,67%). Isto vrijedi i za Međimursku županiju (66,67%). U Požeško-slavonskoj su županiji pretražena 2 uzorka seruma i oba su bila pozitivna (100%) (tabela 2.).

U grafikonu 2. vidljivo je da je najveći postotak pozitivnih reakcija utvrđen u Krapinsko-zagorskoj i Požeško-slavonskoj županiji (100%), ali je u tim županijama pretražen i najmanji broj uzoraka seruma preživača. Slijede Istarska



Grafikon 1. Rezultati dobiveni imunoenzimskim testom probira

Tabela 2. Rezultati dobiveni potvrdnim imunoenzimskim testom

Županija	Broj serološki pretraženih uzoraka	Pozitivno	
		Broj	%
Osječko-baranjska	63	48	76,19
Primorsko-goranska	34	25	73,53
Bjelovarsko-bilogorska	29	22	75,86
Koprivničko-križevačka	25	15	60,00
Virovitičko-podravska	21	14	66,67
Istarska	20	19	95,00
Brodsko-posavska	19	9	47,37
Vukovarsko-srijemska	14	7	50,00
Zagrebačka	12	6	50,00
Karlovačka	11	7	63,64
Sisačko-moslavačka	6	2	33,33
Splitsko-dalmatinska	6	1	16,67
Ličko-senjska	6	4	66,67
Šibensko-kninska	5	4	80,00
Varaždinska	4	1	25,00
Krapinsko-zagorska	3	3	100,00
Zadarska	3	2	66,67
Međimurska	3	2	66,67
Požeško-slavonska	2	2	100,00
Ukupno	286	193	67,48

županija (95%), Šibensko-kninska (80%), Osječko-baranjska (76,19%), Bjelovarsko-bilogorska (75,86%) i Primorsko-goranska (73,53%). 66,67% pozitivnih uzoraka seruma imaju Virovitičko-podravska, Ličko-senjska, Zadarska i Međimurska županija. Karlovačka županija ima 63,64%, a slijede ju Koprivničko-križevačka (60%), Vukovarsko-srijemska i Zagrebačka s 50%. Brodsko-posavska

županija ima 47,37% pozitivnih, Sisačko-moslavačka 33,33%, a Varaždinska županija (25%). Najmanji postotak pozitivnih uzoraka seruma ima Splitsko-dalmatinska županija (16,67%).

Rasprava

Za kontrolu širenja paratuberkuloze bitno je razumijevanje načina njezina prenošenja. Iako je poznato da je



Grafikon 2. Rezultati dobiveni potvrdnim imunoenzimskim testom

postnatalni fekalno-oralni prijenos najčešći način prenošenja ove bolesti, mogući su i drugi načini prenošenja. Bolesna životinja i kliconoše balegom izlučuju velike količine uzročnika te na taj način onečišćuju svoju okolinu, stelju, pašu, vodu i dr. Unutar gojidbe bolest se širi i kohabitacijom. U nezaražene se gojidbe unosi nakupom inficiranih grla ili kontaminiranom hranom. Utvrđen je unos paratuberkuloze uvozom latentno inficiranih goveda, a dokazan je i dijaplacentalni (kongenitalni) prijenos. U prirodnim uvjetima uzročnik ulazi u organizam kroz probavni sustav i dijaplacentalno. Bolest se klinički obično očituje u drugom i trećem teljenju. Smatra se da infekciji pogoduje pretjerano iskorištavanje, gravidnost i bolest poremećenog metabolizma. (Sweeney i sur., 1992.). Svaka se životinja koja oboli od paratuberkuloze može svrstati u jedan od četiri stadija bolesti. Različiti stadiji bolesti razlikuju se prema jačini kliničkih znakova, potencijalnom izlučivanju mikroorganizama u okoliš i mogućnostima kojima se bolest može otkriti primjenom laboratorijskih metoda. Prilikom svakog uznapredovalog kliničkog slučaja paratuberkuloze na farmi, vjerojatno je da je još najmanje 25 drugih goveda isto tako zaraženo (Whitlock, 1991.). Od njih će samo 15 do 25% biti otkriveno različitim

laboratorijskim postupcima (Gilmour i sur., 1965.). Životinja s kliničkim znakovima bolesti samo je vrh „ledenog brijega“ (Whitlock i Buergelt, 1996.).

U rutinskoj dijagnostici paratuberkuloze primjenjuje se više različitih testova. U praktičnoj primjeni svi ovi postupci daju manje od 1% nespecifičnih reakcija. Razlika je u tome što je znatan postotak životinja u zaraženom stadu u ranom stadiju bolesti klinički zdrav, jer životinje još nisu razvile imunosni odgovor ili počele izlučivati mikobakterije pa se bolest ne može otkriti nikakvim metodama dijagnostike. Iako ni jedan pojedinačni test nije dovoljan za sve svrhe, pri odabiru jednog ili više testova važno je znati ciljeve istraživanja, preciznost i predvidivu vrijednost svakog testa u dijagnostici paratuberkuloze (Collins, 1996.). Protutijela se stvaraju kasno u tijeku bolesti, prije pojave kliničkih simptoma bolesti pa je serološkim testovima ograničena mogućnost da se otkriju protutijela za *M. avium subsp. paratuberculosis* u ranim stadijima (Bech-Nielsen i sur., 1992.).

Tijekom naših istraživanja imunoenzimskim testom (ELISA) ID Screen Paratuberculosis Indirect- Screening Test je pretraženo 16 662 uzorka. Pozitivne reakcije utvrđene su u 222 pretražena uzorka (1,33%), a sumnjive u 64 uzorka (0,38%). Imunoenzimskim testom (ELISA) ID Screen Paratuberculosis Indirect- Confirmation test

su potvrđena ukupno 193 pozitivna uzorka (67,48%). Sweeney i sur. (1995.) su naveli da na osjetljivost komercijalnog postupka ELISA za goveđu paratuberkulozu utječe stadij bolesti, odnosno izlučivanje mikobakterija balegom. Oni su dokazali da je prilikom izlučivanja malih količina mikobakterija u balezi osjetljivost ELISA iznosila samo 15% dok je u životinja s kliničkim znakovima paratuberkuloze osjetljivost bila 87%. Hilbink i sur. (1994.) su dokazali da su ELISA i GDP test osjetljiviji za otkrivanje subkliničkih oblika paratuberkuloze u preživača nego RVK. RVK test ima osjetljivost od 18 do 80%, a često daje antikomplementarne reakcije (Thomas, 1983.). Collins (1996.) navodi da više od 85% goveda inficiranih s *M. avium* subsp. *paratuberculosis* koji imaju kliničke znakove paratuberkuloze daju pozitivan rezultat metodom ELISA, a lažno pozitivni rezultati su rijetkost. Navodi i da je GDP test postupak koji je 100% specifičan (pozitivan test je uvijek točan), ali je manje osjetljiv od ELISA-e (pozitivan je samo u otprilike pola slučajeva paratuberkuloze za koje je postupkom ELISA utvrđeno da su pozitivni.)

Tijekom naših istraživanja u 2010. godini paratuberkuloza je serološkim testovima dokazana u svim istraživanim županijama u Republici Hrvatskoj. Najveći broj pretraživanih krvi goveda dolazio je iz onih županija u kojima je mliječno govedarstvo najrazvijenije, kao što su Osječko-baranjska, Vukovarsko-srijemska i Bjelovarsko-bilogorska. Paratuberkuloza je opisana u mnogim zemljama svijeta. Cetinkaya i sur. (1998.) su opisali paratuberkulozu u Engleskoj, Muskens i sur. (2000.) u Nizozemskoj, Boelaert i sur. (2000.) u Belgiji, Gastainer i sur. (2000.) u Austriji, Pavlik i sur. (2000.) u Češkoj, Stephan i sur. (2002.) u Švicarskoj, Ocepek i sur. (2000.), u Sloveniji, Pozzato i sur. (2011.), u Italiji, Van Leeuwen i sur. (2001.) u Kanadi, Adaska i Anderson (2003.) u Kaliforniji (SAD) i Pak i sur. (2003.) u Južnoj Koreji. U Hrvatskoj su bolest u goveda opisali Cvetnić i sur. (2000.) i Zdelar-Tuk i sur. (2009.).

Najbrži i najosjetljiviji serološki test za brzu dijagnostiku paratuberkuloze te

utvrđivanje i procjenu prevalencije u stadu je ELISA. GDP test i RVK su testovi koji su prilično specifični, ali preslabo osjetljivi. Testovi za ispitivanje stanično uvjetovane imunosti mogu služiti kao „screening“ testovi, ali nikako kao „screening“ testovi. Collins i Morgan (1991.) su naveli da je pretraga stada postupkom ELISA prvi korak u programu suzbijanja paratuberkuloze, zatim slijedi izdvajanje pozitivnih seroloških reaktora i potvrda infekcije bakteriološkom pretragom.

Na temelju naših rezultata možemo zaključiti da je paratuberkuloza bolest čija je zastupljenost u uzgojima mliječnih goveda u Republici Hrvatskoj znatna. Naša istraživanja se podudaraju s mnogim ranijim istraživanjima koja su dovela do zaključka da je imunoenzimski test (ELISA) najosjetljiviji i najspecifičniji test za brzu dijagnostiku paratuberkuloze te utvrđivanje i procjenu prevalencije u stadu mliječnih goveda. Stalna kontrola uzgoja s obzirom na paratuberkulozu je i dalje potrebna u intenzivnim uzgojima mliječnih goveda, kao i izrada programa kontrole i suzbijanja paratuberkuloze goveda u Hrvatskoj koji bi osigurao, između ostaloga, trijažu zaraženih uzgoja od slobodnih te tako doprinio ograničavanju širenja bolesti.

Sažetak

Našim je istraživanjem na području 19 županija u Republici Hrvatskoj, imunoenzimskim testom (ELISA) pretraženo 16 662 uzoraka krvi mliječnih goveda. Pozitivne reakcije utvrđene su u 222 (1,33%), a sumnjive reakcije u 64 (0,38%) goveda. Najveći broj pretraženih krvi goveda bio je u Osječko-baranjskoj županiji (5 641 krvi), zatim u Koprivničko-križevačkoj (1696 krvi) i u Bjelovarsko-bilogorskoj (1360 krvi). Najviše pozitivnih reakcija utvrđeno je u Splitsko-dalmatinskoj županiji (20%), a postotak pozitivnih reakcija se u drugim županijama kretao od 5,18% u Istarskoj do 0,57% u Varaždinskoj županiji. Potvrđenim imunoenzimskim testom (ELISA) pretraženo je 286 uzoraka seruma. Pozitivne reakcije utvrđene su u 193 (67,4%) uzoraka seruma mliječnih goveda. Rezultati imunoenzimskog

testa (ELISA – screening test) bila su potvrđena potvrdnim imunoenzimskim testom prosječno u 67,48% slučajeva, a u rasponu od 16,67% do 100%. Naša istraživanja se podudaraju s ranijim istraživanjima koja su dovela do zaključka da je imunoenzimski test (ELISA) najosjetljiviji i najspecifičniji test za brzu dijagnostiku paratuberkuloze i utvrđivanja te procjenu prevalencije u stadu mliječnih goveda. Na temelju naših rezultata možemo zaključiti da je paratuberkuloza bolest čija je zastupljenost u uzgojima mliječnih goveda u Republici Hrvatskoj znatna. Stalna kontrola uzgoja s obzirom na paratuberkulozu je i dalje potrebna u intenzivnim uzgojima mliječnih goveda.

Literatura

- ADASKA, J. M. and R. J. ANDERSON (2003): Seroprevalence of Johnes disease in dairy cattle in California, USA. *Prev. Vet. Med.* 60, 255-261.
- ANTOGNOLI, M. C., F. B. GARRY, H. L. HIRST, J. E. LOMBARD, M. M. DENNIS, D. H. GOULD and M. D. SALMAN (2008): Characterization of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* disseminated infection in dairy cattle and its association with *antemortem* test results. *Vet. Microbiol.* 127, 300-308.
- BECH-NIELSEN, S., J. B. JORGENSEN and P. AHRENS (1992): Diagnostic accuracy of a *Mycobacterium phlei* – absorbed serum enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of bovine paratuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 30, 613-618.
- BENEDICTUS, G., A. DIJKHUIZEN and J. STELWAGEN (1997): Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle. *Vet. Rec.* 121, 142-146.
- BOELAERT, F., K. WALRAVENS, P. BIRONT, J. P. VERMEERSCH, D. BERKVEN, J. GODFROID (2000): Prevalence of paratuberculosis (Johnes disease) in the Belgian cattle population. *Vet. Microbiol.* 77, 269-281.
- CETIKNAYA, B., H. M. ERDOGAN and K. L. MORGAN (1998): Prevalence, incidence and geographical distribution of Johnes disease in cattle in England and the Welsh borders. *Vet. Rec.* 143, 265-269.
- CHIODINI, R. J., H. J. VAN KRUININGEN, R. S., MERKAL, W. R. THAYER JR. and J. A. COUTU (1984): Characteristics of an unclassified *Mycobacterium* species isolated from patients with Crohn's disease. *J. Clin. Microbiol.* 20, 966-971.
- COLLINS, M. T. and I. R. MORGAN (1991): Economic decision analysis model of a paratuberculosis test and cull program. *J.A.V.M.A.* 199, 1724-1729.
- COLLINS, D. M. (1996): Diagnosis of paratuberculosis. In: SWEENEY, R. W.: The veterinary clinics of North America – Food animal practice. Paratuberculosis (Johnes disease). W. B. Saunders Company. 12, pp. 357-371.
- CVETNIĆ, Ž. (2000a): Tuberkuloza i paratuberkuloza domaćih životinja, Hrvatski Veterinarski Institut, Zagreb, 135-171.
- CVETNIĆ, Ž. (2000b): Paratuberkuloza goveda u Republici Hrvatskoj. *Vet. stn.* 31, 21-25.
- CVETNIĆ, Ž., M. OCEPEK, S. ŠPIČIĆ, B. HABRUN, M. MITAK i B. KRT (2004): Usporedba različitih metoda dijagnostike paratuberkuloze u uzgoju mliječnih goveda. *Vet. stn.* 35, 5-13.
- GASTEINER, J., M. AWAD-MASALMEH and W. BAUMGARTNER (2000): *Mycobacterium avium* susp. *paratuberculosis* infection in cattle in Austria, diagnosis with culture, PCR and ELISA. *Vet. Microbiol.* 77, 339-349.
- GILMOUR, N. J. L., D. I. NISBET and J. G. BROTHERTON (1965): Experimental oral infection of calves with *Mycobacterium johnnei*. *J. Comp. Pathol.* 75, 281-287.
- GREENSTEIN, R. J. and M. T. COLLINS (2004): Emerging pathogens: is *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* zoonotic? *Lancet* 364, 396-397.
- HARRIS, J. E. and A. M. LAMMERDING (2001): Crohn's disease and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: current issues. *J. Food Prot.* 64, 2103-2110.
- HASONOVA, L., I. TRCKA, V. BABAK, Z. ROZSYPALOVA, R. PRIBYLOVA and I. PAVLIK (2009): Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissues of naturally infected cattle as affected by age. *Vet. Med.* 54, 257-269.
- HENDRICK, S. H., D. F. KELTON, K. E. LESLIE, K. D. LISSEMORE, M. ARCHAMBAULT and T. F. DUFFIELD (2005): Effect of paratuberculosis on culling, milk production, and milk quality in dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1302-1308.
- HERMON-TAYLOR, J., T. J. BULL, J. M. SHERIDAN, J. CHENG, M. L. STELLAKIS and N. SUMAR (2000): Causation of Crohn's disease by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Can. J. Gastroenterol.* 14, 521-539.
- JOHNSON-IFEARULUNDU, Y. J. and J. B. KANEENE (1997): Epidemiology and economic impact of subclinical Johnes disease: a review. *Vet. Bull.* 67, 437-447.
- JOHNSON-IFEARULUNDU, Y. J., J. B. KANEENE and J. W. LLOYD (1999): Herd level economic analysis of the impact of paratuberculosis on dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214, 822-825.
- LOMBARD, J. E., F. B. GARRY, B. J. MCCLUSKEY and B. A. WAGNER (2005): Risk of removal and effects on milk production associated with paratuberculosis status in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1975-1981.
- MUSKENS, J., H. W. BARKEMA, E. RUSSCHEN, K. VAN MAANEN, Y. H. SCHUKKEN, D. BAKKER (2000): Prevalence and region distribution of paratuberculosis in dairy herds in the Netherlands. *Vet. Microbiol.* 77, 253-261.
- OCEPEK, M., B. KRT, M. PATE and M. POGAČNIK (2002): Seroprevalence of paratuberculosis in Slovenia between 1999 and 2001. *Slov. Vet. Res.* 39, 179-185.
- OIE (2008): Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2. 1. 11.
- OTT, S. L., S. J. WELLS and B. A. WAGNER (1999): Herd-level economic losses associated with Johnes disease on US dairy operations. *Prev. Vet. Med.* 40, 179-192.
- PAK, S. I., KIM, D. and M. SALMAN (2003): Estimation of paratuberculosis prevalence in dairy cattle in a province of Korea using an enzyme-linked immunosorbent assay application of Bayesian approach. *J. Vet. Sci.* 4, 51-56.
- PAVLIK, I., J. BARTL, L. DVORSKA, P. SVASTOVA, R. DU MAINE, M. MACHACKOVA,

- W. YAYO AYELE and A. HORVATOVA (2000): Epidemiology of paratuberculosis in wild ruminants studied by restriction fragment length polymorphism in the Czech Republic during the period 1995–1998. *Vet. Microbiol.* 77, 231–251.
29. POZZATO, N., K. CAPELLO, A. COMIN, N. TOFT, S. S. NIELSEN, G. VICENZONI and N. ARRIGONI (2011): Prevalence of paratuberculosis infection in dairy cattle in Northern Italy. *Prev. Vet. Med.* 102, 83–86.
30. STEPHAN, R., K. BUHLER and S. CORTI (2002): Incidence of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in bull-tank milk samples from different regions in Switzerland. *Vet. Rec.* 16, 214–215.
31. SWEENEY, R. W., R. H. WHITLOCK and A. E. ROSENBERGER (1992): *Mycobacterium paratuberculosis* isolated from fetuses of infected cows not manifesting signs of the disease. *Am. J. Vet. Res.* 53, 477–480.
32. SWEENEY, R. W., R. H. WHITLOCK and C. L. BUCKLEY (1995): Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7, 488–493.
33. THOMAS, G. W. (1983): Paratuberculosis in a large goat herd. *Vet. Rec.* 113, 464–469.
34. VAN LEEUWEN, J. A., G. P. KEEFE, R. TREMBLAY, C. POWER and J. J. WICHTEL (2001): Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*, bovine leukemia virus and bovine viral diarrhoea virus in maritime Canada dairy cattle. *Can. Vet. J.* 42, 193–198.
35. WILSON, D. J., C. ROSSITER, H. R. HAN and P. M. SEARS (1993): Association of *Mycobacterium paratuberculosis* infection with reduced mastitis, but with decreased milk production and increased cull rate in clinically normal dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 54, 1851–1857.
36. WHITLOCK, R. H. (1991): Laboratory diagnosis of Johns disease. *Proceedings of the Third International Colloquium on Paratuberculosis*, Orlando, Florida – USA (September 28 – October 2) (1).
37. WHITLOCK, R. W. and C. D. BUERGELT (1996): Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis. In: SWEENEY, R. W.: *The veterinary clinics of North America – Food animal practice. Paratuberculosis (Johne's Disease)*. W. B. Saunders Company. Pp. 345–357.
38. ZDELAR TUK, M., S. ŠPIČIĆ, S. DUVNJAK, I. RAČIĆ i Ž. CVETNIĆ (2009): Serološka, bakteriološka i molekularna dijagnostika paratuberkuloze domaćih životinja u 2008. godini. *Vet. stn.* 40, 263–271.

The spread of bovine paratuberculosis in the Republic of Croatia in 2010

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Ivana RAČIĆ, BSc, Junior Researcher, Sanja Duvnjak, BSc, Junior Researcher, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Vilim STAREŠINA, DVM, PhD, Associate Professor, Nenad TURK, DVM, PhD, Associate Professor, Zoran MILAS, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Maja ĐURIČIĆ, DVM

In this study, we tested 16,662 dairy cattle blood samples from 19 Croatian counties using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Using the screening ELISA test, positive reactions were found in 222 (1.33%) cows, while 64 (0.38%) reactions were questionable. Most blood samples originated from Osijek-Baranja County (5,641) followed by Koprivnica-Križevci County (1,696) and Bjelovar-Bilogora County (1,360). Split-Dalmatia County had the highest percentage of positive reactions (20%) while the percentage in other counties ranged from 5.18% (Istria County) to 0.57% (Varaždin County). All positive and questionable blood samples (286) were additionally tested by

the ELISA test and positive reactions were found in 193 (67.4%) samples. The results of the screening ELISA test were in agreement with the confirmatory ELISA test in 67.48% of cases. These results support previous findings of ELISA as the most sensitive and most specific test for rapid paratuberculosis diagnosis and evaluation of paratuberculosis prevalence in dairy cattle breeds. The number of positive reactions shows that the prevalence of paratuberculosis in dairy cattle breeds in Croatia is significant. Therefore continuous paratuberculosis monitoring is necessary in intensive breeding of dairy cattle in Croatia.

Promjene u hemogramu pasa kod različitog trajanja skladištenja krvi I. dio

Dubravka Ljubojević, I. Harapin, Marija Lipar, Ana Shek-Vugrovečki i Ljiljana Bedrica



Uvod

Suvremena veterinarska medicina danas je nezamisliva bez krvnih pretraga. Kompletna krvna slika je uz anamnezu, kliničku pretragu životinje, biokemijsku pretragu krvi, pretragu urina, ultrazvučnu i rengenološku pretragu, jedan od najvažnijih postupaka u dijagnostici unutarnjih bolesti životinja.

Pouzdanost rezultata pretraga uključenih u hemogram ovise o nizu čimbenika. Najvažniji među njima su način uzimanja uzorka krvi (izbor krvne žile i pribora za vađenje krvi), uporaba odgovarajućeg antikoagulansa, metoda izvođenja pretrage i točnost samog postupka, dužina i način skladištenja uzorka prije analize, tip i opremljenost laboratorija kao i ispravnost laboratorijske opreme.

Podatci iz literature

Hematološkim profilom dobivamo uvid u kakvoću i kvantitetu staničnih elemenata krvi, a time i u eventualno prisustvo abnormalnosti ukoliko su rezultati van referentnih vrijednosti (Weiss i Tvedten, 2004.).

Parametri obuhvaćeni hemogramom podrazumijevaju analizu broja eritrocita

i njihovih parametara (MCV, MCH, MCHC, RDW), koncentraciju hemoglobina, vrijednost hematokrita, analizu broja trombocita i njihovog volumena (MPV), analizu ukupnog broja leukocita i njihovih vrsta (diferencijalna bijela krvna slika) (Villiers, 2005.) i pregled morfoloških karakteristika eritrocita, leukocita i trombocita pomoću razmaza periferne krvi (Torrance, 2000.).

Broj **eritrocita** predstavlja njihov broj u jednoj litri krvi. Jedinice kojima se izražava su $10^{12}/L$. Normalne referentne vrijednosti u odraslih pasa kreću se od $5,5-8,5 \times 10^{12}/L$ (Schalm i sur., 1975.).

Koncentracija **hemoglobina** izražava se u g/L i predstavlja količinu hemoglobina u litri krvi. Referentne vrijednosti koncentracije hemoglobina za većinu pasmina kreću se od 120-180 g/L (Bush, 1998.).

Odstupanja od referentnih vrijednosti fiziološki se javljaju u engleskih kratkodlakih hrtova, malih engleskih hrtova, ruskih hrtova i pasmine Lurcher. Kod tih pasmina vrijednosti broja eritrocita i koncentracije hemoglobina su više, tako da u engleskih kratkodlakih hrtova one za broj eritrocita iznose $6,5-9,5 \times 10^{12}/L$, a za koncentraciju hemoglobina 170-230 g/L. Niže vrijednosti broja eritrocita fiziološki se javljaju u

Dubravka LJUBOJEVIĆ, dr. med. vet.; dr. sc. Ivica HARAPIN, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Marija LIPAR, dr. med. vet., stručna suradnica, Ana SHEK-VUGROVEČKI, dr. med. vet., znanstvena novakinja, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb

štenadi stare dva do tri tjedna i kreću se od $3-4 \times 10^{12}/L$. U štenadi stare četiri do šest tjedana, fiziološke vrijednosti koncentracije hemoglobina također su niže i iznose 70-80 g/L. Te vrijednosti postupno rastu i dosežu adultne vrijednosti u dobi od jedne godine. U odnosu na spol, vrijednosti broja eritrocita i koncentracije hemoglobina fiziološki su nešto više u muških životinja, a u engleskih kratkodlakih hrtova ta odstupanja su jače izražena. Tijekom gravidnosti broj eritrocita i koncentracija hemoglobina pada te se u poodmaklim fazama gravidnosti spusti i ispod donjih referentnih vrijednosti. U vrijeme porođaja većina kuja ima broj eritrocita niži od $5 \times 10^{12}/L$, a vrijednost koncentracije hemoglobina 110 g/L. Te vrijednosti mogu biti i niže, s time da se za osam do devet tjedana vrate u normalne granice (Bush, 1998.).

Hematokrit predstavlja frakciju krvi crvenih krvnih stanica. Vrijednosti hematokrita dobivene mikrohematokritnom cjevčicom, koja daje najtočnije rezultate $\pm 1\%$ mogućnosti grješke, izražavaju se u postotcima. One dobivene u automatiziranim hematološkim uređajima, matematički su izračunate pomoću vrijednosti MVC i vrijednosti broja eritrocita. Pažnju treba obratiti na jedinice kod matematičkog izračunavanja vrijednosti MCV i MCHC. Referentne vrijednosti hematokrita u pasa kreću se od 37-55%, s time da se vrijednosti kod pudlica, njemačkih ovčara, boksera, chihuahua, dalmatinskih pasa i biglova kreću oko gornje granice. U engleskih kratkodlakih hrtova, malih engleskih hrtova, ruskih hrtova i pasmine Lurcher, referentne vrijednosti su veće i kreću se od 48-66% (Bush, 1998.).

Najniže vrijednosti hematokrita su u štenadi stare četiri do šest tjedana i iznose 24-34%, da bi se postupno povećavale i dostigle adultne vrijednosti u dobi od jedne godine. Obzirom na spol, vrijednosti hematokrita nešto su više u ženskih životinja, što je izraženo kod engleskih kratkodlakih hrtova. Tijekom gravidnosti vrijednosti padaju,

da bi u poodmakloj fazi gravidnosti bile ispod donje referentne granice. U normalne granice vraćaju se devet tjedana nakon porođaja. U stresnim stanjima (strah, uzbuđenje ili veliko tjelesno opterećenje) zbog kontrakcija slezene, vrijednosti hematokrita rastu, no ne moraju prelaziti gornju referentnu granicu. U zadnjoj trećini gravidnosti vrijednosti hematokrita smanjuju se zajedno s vrijednostima broja eritrocita i koncentracije hemoglobina, što je izraženije u mlađih ženki. Takva anemija uzrokovana povećanim udjelom plazme je normocitna i normokromna s povećanim brojem retikulocita u cirkulirajućoj krvi (Bush, 1998.).

Konstante eritrocita neophodne su kod procjene anemija u pasa (Jain, 1993.). One opisuju veličinu eritrocita i njihov sadržaj hemoglobina. Matematički se mogu izračunati direktno iz vrijednosti hematokrita, broja eritrocita i koncentracije hemoglobina. Automatiziranim hematološkim uređajima, koji rade na principu promjene električnog otpora, analiziraju se vrijednosti MCV (mean cell volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin) i MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration). Najsofisticiranijim laserskim brojačima analizira se i vrijednost RDW (Weiss i Tvedten, 2004.).

MCV (mean cell volume) označava prosječni volumen eritrocita (Ramadan i Harapin, 1998.). Dobivenim vrijednostima MCV dobivamo uvid jesu li eritrociti normocitni, makrocitni ili mikrocitni (Weiss i Tvedten, 2004.). Vrijednosti MCV izražavaju se u femtolitrima (fL). Referentne vrijednosti MCV u pasa kreću se od 60-77 fL (Bush, 1998.).

MCH (mean corpuscular hemoglobin) označava prosječnu količinu hemoglobina u eritrocitu (Ramadan i Harapin, 1998.). Njegove vrijednosti imaju manji značaj u hemogramu od vrijednosti MCHC. Referentne vrijednost MCH kod pasa kreću se od 19,5-24,5 pg (Bush, 1998.).

MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) označava prosječnu

koncentraciju hemoglobina u eritrocitu (Ramadan i Harapin, 1998.). Predstavlja težinu hemoglobina u gramima u jednoj litri eritrocita. Vrijednosti se izražavaju u g/L (Bush, 1998.) i daju nam uvid jesu li eritrociti normokromni, hiperkromni ili hipokromni (Weiss i Tvedten, 2004.). Referentne vrijednosti MCHC u pasa kreću se od 320 – 360 g/L (Bush, 1998.).

RDW (red cell distribution width) je četvrta eritrocitna konstanta kojom dobivamo uvid u eventualno prisustvo i stupanj anizocitoze (varijacije staničnog volumena eritrocita) (Cush i sur., 2005.). Vrijednosti RDW se dobivaju se iz vrijednosti MCV (Jackson, 2007.). Referentne vrijednosti, a koje se u pasa kreću od 12,5-16,5% (Vaden i sur., 2009.), ovise o proizvođaču automatiziranih hematoloških uređaja, ali i o modelu uređaja istog proizvođača. Zbog toga bi svaki laboratorij trebao odrediti svoje referentne vrijednosti (Ravel, 1995.).

Eritrociti su u štenadi nakon rođenja fiziološki veći u odnosu na odrasle životinje, na što nam ukazuju vrijednosti MVC koje se kreću od 95-100 fL. Te vrijednosti se smanje do starosti od dva mjeseca. Vrijednosti MCHC nakon rođenja su fiziološki niske, iznose < 270 g/L, no do starosti od pet ili šest mjeseci vraćaju se u normalne granice odraslih pasa. Obzirom na pasminu, vrijednosti MCV fiziološki variraju. U Japanskih Akita iznose 55-65 fL, dok su u minijturnih pudlica eritrociti veći tako da se vrijednosti MCV kreću od 85-95 fL. U engleskih kratkodlakih hrtova, malih engleskih hrtova i pasmine Lurcher vrijednosti MCV mogu fiziološki biti veće od 77 fL, dok se u aljaških malamuta vrijednosti MCHC fiziološki kreću ispod donje referentne vrijednosti (Bush, 1998.).

Ukupni broj leukocita predstavlja ukupni broj svih vrsta leukocita u volumenu krvi izraženog u litrama. Jedinica u kojima se vrijednosti izražavaju je $10^9/L$. Referente vrijednosti u pasa kreću se od $6-17 \times 10^9/L$, a u engleskih kratkodlakih hrtova od $3,5-10,5 \times 10^9/L$.

Promjene vrijednosti ukupnog broja leukocita uzrokovane su promjenama u broju neutrofila i/ili limfocita koji čine najveći dio leukocita u krvi. Promjene u broju bazofila i monocita uz normalan broj limfocita i neutrofila, neće bitno utjecati na ukupan broj leukocita, odnosno vrijednosti neće biti pomaknute van referentnih (Bush, 1998.).

Obzirom na starost pasa vrijednosti ukupnog broja leukocita ne mijenjaju se, osim u slučaju povećane aktivnosti mladih pasa, kada blago variraju. Tijekom gravidnosti vrijednosti porastu, da bi za vrijeme porođaja iznosile i do $20 \times 10^9/L$, a potom padaju na normalnu razinu (Bush, 1998.).

Diferencijalna krvna slika daje uvid u vrijednosti broja svake pojedine vrste leukocita u cirkulirajućoj krvi. Analizira se krvnim razmazom obojanim po May-Grünwald-Giemsa uz pregled najmanje 100 leukocita i sofisticiranim automatiziranim laserskim uređajima koji diferenciraju leukocite na temelju veličine, bojanja, gustoće i oblika jezgre.

Iako ukupan broj leukocita može biti unutar referentnih vrijednosti, to ne znači da su vrste leukocita unutar fizioloških granica. Apsolutni broj vrsta leukocita izražen u $10^9/L$ dobiva se matematički tako da se vrijednost broja vrste leukocita izražen u postotcima podjeli sa 100 i pomnoži s vrijednošću ukupnog broja leukocita izraženog u $10^9/L$. Normalne referentne vrijednosti nesegmentiranih neutrofila u pasa kreću se do 3%, segmentiranih neutrofila od 30-100%, eozinofila od 1-13%, limfocita od 10-48%, monocita od 1-13%, a bazofili se pojavljuju izuzetno rijetko. Iako je u engleskih kratkodlakih hrtova ukupan broj leukocita niži, vrijednosti pojedinih vrste leukocita su slične (Bush, 1998.).

Blago povećanje broja neutrofila, kratkotrajna eozinofilija, a potom blaga eozinopenija i limfocitoza, javljaju se prilikom stresa (uzbuđenje, strah i fizička opterećenja) pod utjecajem adrenalina. Ta promjena u krvnoj slici

traje oko 30 minuta. Porast vrijednosti nije signifikantan i kreće se unutar referentnih granica ili je lagano iznad. Limfocitoza je izraženija od neutrofilije koja nije uzrokovana pojačanom produkcijom neutrofila od strane koštane srži. Ukoliko je životinja pod djelovanjem prolongiranog stresa (bol, jaka i dugotrajna fizička opterećenja) pod utjecajem endogenih glukokortikoida (kortizol) javlja se eozinopenija zajedno s neutrofilijom, limfopenijom i monocitozom.

U tijeku gravidnosti broj neutrofila raste, bez pomaka krvne slike u lijevo. Vrijednosti su najviše u vrijeme porođaja i kreću se od 12-15%, da bi se unutar 25 tjedana vratile u normalne granice. U nekih kuja djelovanjem estrogena tijekom estrusa javlja se eozinofilija. U basenja starih oko dva mjeseca, može se javiti mali broj bazofila, koji se do četvrtog mjeseca starosti smanji.

Broj limfocita veći je u štenadi u usporedbi s odraslim životinjama. Vrijednosti su najviše u starosti od šest tjedana kad iznose 61%, a padaju na vrijednost odraslih pasa u dobi od dva mjeseca. U starih životinja često se sreće monocitoza, limfopenija i eozinopenija (Bush, 1998.).

Broj **trombocita** izražava se u $10^9/L$. Referentne vrijednosti u pasa kreću se od $200 - 500 \times 10^9/L$ (Bush, 1998.), po nekim drugim autorima od 200 do $700 \times 10^9/L$ (Schalm i sur., 1975.). Uzbuđenost izaziva trombocitopeniju, a u gravidnosti broj trombocita od trećeg tjedna raste, da bi pred sam porođaj dostignuo vrijednosti $>500 \times 10^9/L$ (Bush, 1998.).

Vrijednost **MPV** (mean platelet volumen) izražena u femtolitrima (fL) daje uvid u veličinu trombocita. Povećana je u stanjima trombocitopenije u kojima koštana srž izbacuje u krvotok mlade velike stanice kao i kod koagulopatija. Obzirom na činjenice da trombociti nabubre pod djelovanjem EDTA i da postoje fiziološke varijacije u veličini trombocita u organizmu, nema veći značaj u hemogramu (Maedel i Doig, 2007.). Referentne vrijednosti

dobivaju se automatiziranim hematološkim uređajima i variraju obzirom na model. Analizom na Technicon H-1 hematološkom analizatoru (Bayer, NY) referentne vrijednosti u pasa kreću se od $3,9-6,1$ fL, analizator ADVIA 120 (Bayer, Njemačka) daje referentne vrijednosti od $8,56-14,41$ fL, a pri korištenju Coulter S-Plus IV (Coulter Electronics, FL) vrijednosti se kreću od $7,0-10,3$ fL (Vaden i sur., 2009.). Prema Rebar i sur. (2002.) referentne vrijednosti kod pasa iznose $6,1-10$ fL.

Vrijednost **PDW** (platelet distribution width) koju analiziraju neki modeli automatiziranih hematoloških uređaja, prikazuje varijacije u veličini trombocita (Rebar i sur., 2002.).

Načini prikupljanja uzoraka krvi i izbor antikoagulansa

Pouzdanost dobivenih rezultata ovisi o mnoštvu čimbenika koji utječu na kakvoću uzoraka krvi namijenjenih analizi standardnog hemograma. To podrazumijeva način uzimanja krvi i njezine pripreme za analizu, izbor analitičke metode, vremensko razdoblje unutar kojeg se analiza napravi i način skladištenja uzoraka (Meyer i Harvey, 2004.).

Pretrage hemograma rade se u punoj krvi. Krv za pretragu potrebno je izvaditi prije bilo kakve terapije, no ukoliko je dana mora biti poznata (Anthony i Sirois, 2004.). Dvanaest sati prije postupka životinja treba postiti (Harvey, 2001.). Budući da veliki napor, strah i uzbuđenje, pogotovo u mladim životinjama, mijenjaju vrijednosti parametra hemograma prije samog postupka životinja ne smije biti izložena prevelikom stresu (Jain, 1993.).

Malim životinjama krv vadimo iz *v. saphena*, *v. cephalica antebrachii* ili *v. jugularis* u onolikoj količini, koja će u slučaju tehničkih pogrešaka, kvara aparata i slično zadovoljiti potrebe trokratne analize, da bi se izbjegla višekratna venepunkcija (Anthony i Sirois, 2007.).

Ukoliko se kao pribor za dobivanje uzorka krvi koriste igla i brizgalica, igla

se prije unosa krvi u epruvetu treba odstraniti kako bi se spriječila pojava hemolize (Jain, 1993.). Potrebno je koristiti iglu većeg promjera obzirom na veličinu životinje, a volumen brizgalice izabire se prema potrebnom volumenu uzorka. Najbolje je koristiti vakuumski sistem koji se sastoji do igle, držača i komercijalne vakuumske epruvete kojoj je već tvornički dodan antikoagulans. Prednosti gotove vakuumske epruvete su punjenje krvlju pod djelovanjem vakuuma do one granice koja omogućava miješanje krvi i antikoagulansa u najboljem omjeru, kao i mogućnost dobivanja većeg broja uzoraka bez višekratnih venepunkcija (Anthony i Sirois, 2007.). Metoda vađenja krvi pomoću vakuumskog sistema reducira pojavu agregacije trombocita i stvaranja ugrušaka koji rezultiraju prividnim smanjenjem broja trombocita i leukocita u rezultatu hemograma (Harvey, 2001.).

Za analizu hemograma potrebna je antikoagulirana krv. Od dostupnih antikoagulansa, preporuča se uporaba EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), jer morfologija stanica pod djelovanjem ovog antikoagulansa ostaje potpuno očuvana (Weiss i Tvedten, 2004.). Na tržištu je EDTA dostupna u praškastom i tekućem obliku, a u komercijalne vakuumske epruvete dodana je tvornički (Anthony i Sirois, 2007.). Tekući oblik ima prednost u odnosu na praškasti, jer se bolje miješa s krvlju (Maedel i Doig, 2007.). EDTA veže ione kalcija i na taj način sprječava grušanje krvi. Mane EDTA su pojava lagane vakuolizacije citoplazme, promjena na membrani ili piknoza neutrofila (Gossett i Carakostas, 1984.), a prema Rebar i sur. (2002.) eritrociti podliježu lizi unutar jedan sat. Ostali dostupni antikoagulansi ne ulaze u izbor za kompletnu krvnu sliku. Heparin uzrokuje lošu obojanost leukocita u krvnom razmazu i njihovu agregaciju (Anthony i Sirois, 2007.). Formalin i njegove pare utječu na obojanost krvnog razmaza (Weiss i Tvedten, 2004.). Natrij fluorid koristi se samo za očuvanje glukoze u krvi. Oksalati (natrij oksalat,

kalij oksalat i litij oksalat) koriste se za testiranja koagulacije kao i citrati (natrij citrat i litij citrat) koji se još koriste i u transfuzijskoj medicini (Anthony i Sirois, 2007.). Oksalate treba izbjegavati, jer izazivaju promjene morfologije eritrocita, leukocita i trombocita (Jain, 1993.).

Skladištenje uzoraka krvi do analize



Slika 1. Vakuumski sistem za vađenje krvi

Nakon vađenja krvi, epruvetu s uzorkom treba začeptiti i uzorak lagano promiješati (Torrance, 2000.). Prema Weiss i Tvedten (2004.), krv koja neće biti analizirana unutar dva do tri sata, mora se pohraniti na $+4^{\circ}\text{C}$, kako bi bazalne vrijednosti MCV, hematokrita i MCHC ostale očuvane. Anthony i Sirois (2007.) tvrde, da se uzorci krvi moraju pohraniti u hladnjak ukoliko neće biti analizirani unutar jednog sata od njihovog prikupljanja, dok prema Rebar i sur. (2002.) uzorke treba analizirati što prije kako bi se spriječila pojava artefakata uzrokovana djelovanjem antikoagulansa na stanice krvi tijekom skladištenja. Brzom obradom krvi minimalizira se pojava agregacije leukocita i trombocita (Harvey, 2001.). Uzorci skladišteni u hladnjaku, prije svake analize moraju se ugrijati na sobnoj temperaturi i lagano promiješati (Anthony i Sirois, 2004.).

Cray (2008.) navodi minimalne razlike u vrijednostima hemograma obzirom na temperaturu skladištenja uzoraka.

Skupina talijanskih autora (Furanello i sur., 2006.) istražila je utjecaj različitog vremena trajanja i temperature skladištenja pune krvi na rezultate kompletne krvne slike pet zdravih pasa. Krv je izvađena u epruvete s EDTA antikoagulansom i

pohranjena na +4 °C i +24 °C kroz 12, 24, 26 i 48 sati. Već nakon 12 sati skladištenja pri temperaturi od +4 °C kao i +24 °C, vrijednosti hematokrita i MCV u krvi značajno su porasle, dok se vrijednost MCHC značajno snizila. Promjene su bile značajnije u uzorcima pohranjenim na temperaturi od +24 °C. Četrdesetosam sati nakon vađenja krvi, u uzorcima pohranjenim na +24 °C, utvrđeno je smanjenje vrijednosti ukupnog broja leukocita i broja trombocita te povećani udio normocitnih hipokromnih i makrocitnih normokromnih eritrocita. Na osnovi ovog istraživanja zaključeno je da je za analizu kompletne krvne slike preporučljivo krv pohraniti na +4 °C i pretragu izvesti u roku od 12 sati od vađenja krvi.

Suočeni činjenicom da se uzorci krvi uzeti na kraju tjedna često skladište kroz dva dana do analize, Medaille i sur. (2006.) proveli su istraživanje na uzorcima krvi 152 psa uz skladištenje krvi na sobnoj temperaturi kroz 4, 24 i 48 sati. Rezultati su pokazali da su vrijednosti broja eritrocita i koncentracije hemoglobina ostale stabilne tijekom svih 48 sati od vađenja krvi, vrijednosti ukupnog broja leukocita i broja trombocita neznatno su varirale, dok je vrijednost MCV tijekom 48 sati konstantno rasla. Autori su zaključili da je krv pasa pohranjena na sobnoj temperaturi pogodna za analizu kompletne krvne slike kroz 48 sati od uzimanja uzorka i da odstupanja koja nastaju skladištenjem krvi nisu od kliničkog značaja.

Nigerijski znanstvenici Ihedioha i Onwubuche (2007.) istražili su promjene u vrijednostima hematokrita, koncentracije hemoglobina i broja krvnih stanica u krvi goveda, koza i svinja. Krv je bila skladištena na temperaturi od +30 °C i u hladnjaku na +5 °C. Svjesni problema da krv farmских životinja često ne dopijeva na laboratorijsku obradu odmah nakon prikupljanja uzoraka, skupili su krv 36 krava, 32 koze i 48 svinja te odmah odredili bazične vrijednosti broja eritrocita, ukupnog broja leukocita, koncentracije

hemoglobina i hematokrita. Krv je analizirana u određenim intervalima tijekom 120 sati. U komparaciji s bazičnim vrijednostima nije bilo značajnih promjena u vrijednostima koncentracije hemoglobina, ukupnog broja leukocita i broja eritrocita u krava, koncentracije hemoglobina i broja eritrocita u koza, koncentracije hemoglobina i ukupnog broja leukocita u svinja tijekom 120 sati u uzorcima krvi skladištenim na obje temperaturne vrijednosti. Signifikantne promjene u krvi krava i koza javile su se u vrijednostima hematokrita skladištenjem uzoraka kroz 14 sati na +30 °C i 19 sati na +5 °C, kao i skladištenjem uzoraka krvi svinja kroz 10 sati na +30 °C te 14 sati na +5 °C. Koncentracija hemoglobina pokazala je značajne razlike u odnosu na bazalne vrijednosti skladištenjem uzoraka krvi svinja kroz 96 sati na obje temperaturne vrijednosti, a vrijednosti broja eritrocita skladištenjem krvi kroz 48 sati na +30 °C i 96 sati na +5 °C. Vrijednosti ukupnog broja leukocita značajno se su se promijenile nakon skladištenja krvi kroz 120 sati na obje temperaturne vrijednosti u krava. Promjene su bile izraženije u krvi skladištene na +30 °C. Autori su zaključili da se krv krava i koza može skladištiti 12 sati do analize bez obzira na temperaturu, dok se krv svinja može skladištiti do osam sati bez značajnih promjena u vrijednostima hematokrita. Krv sve tri vrste životinja može se skladištiti do 24 sata, a da ne nastupe značajne promjene u vrijednostima koncentracije hemoglobina, broja eritrocita i trombocita.

Metode analize krvnog uzorka

Danas se broj krvnih stanica uglavnom analizira pomoću suvremenih automatiziranih hematoloških uređaja koji su zamijenili ručne (vizualne) metode. Iako sofisticiranim laserskim uređajima dobivamo, između ostalog i uvid u diferencijalnu krvnu sliku i morfologiju krvnih stanica, vizualne su metode ipak u određenom broju pretraga nezamjenjive (Fritsma, 2007.).

Krvni razmaz

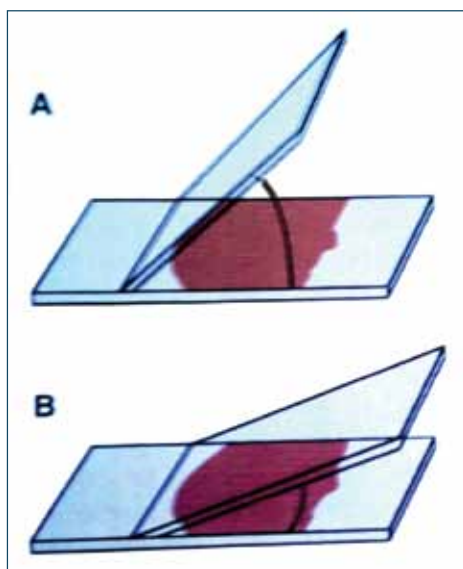
Krvnim razmazom dobivamo najbolji prikaz morfologije stanica krvi (Maedel i Doig, 2007.). Krvni razmaz daje uvid u eventualno prisutnu anizocitozu, prisutnost abnormalnih stanica ili inkluzija, uočavaju se retikulociti i prisutnost krvnih parazita (Bush, 1998.). Obzirom da automatizirani hematološki aparati ne detektiraju nezrele neutrofile, toksično promijenjene neutrofile, reaktivne limfocite i monocite, bazofile i leukemične stanice, preporučljivo je takvu metodu analize krvi kombinirati s krvnim razmazom za dobivanje što točnijih rezultata hemograma (Weiss i Tvedten, 2004.).

Krvni razmaz se radi iz antikoagulirane krvi. Prednosti antikoagulirane krvi su u tome da se razmaz ne mora napraviti odmah po vađenju krvi te se iz jednog izvađenog uzorka može napraviti veći broj razmaza bez višekratnih venepunkcija (Maedel i Doig, 2007.). Prvu kap krvi uvijek odstranimo i razmaz radimo s drugom kapljicom (Mullins, 2007.).

Maedel i Doig (2007.) tvrde da razmaz treba napraviti unutar dva do tri sata od vađenja krvi. Rebar i sur. (2002.) tvrde da razmaz treba napraviti unutar 90 minuta od venepunkcije, dok prema Jain (1993.) razmaz mora biti napravljen odmah, odnosno unutar jednog sata od vađenja krvi, jer u krvi koja stoji nekoliko sati, ukoliko je izložena visokoj temperaturi, dolazi do degeneracije leukocita. Nakon što je napravljen, razmaz je potrebno osušiti na zraku kako bi se izbjeglo oštećenje stanica djelovanjem antikoagulanasa (Weiss i Tvedten, 2004.). Ukoliko je potrebno razmaz se može sušiti fenom. Skladišti se na sobnoj temperaturi, nikako u hladnjaku, jer kondenzacija na hladnom staklu lizira stanice (Kahn, 2005.). Nakon što se potpuno osuši, razmaz se fiksira da bi ga se moglo pravilno obojiti i treba ga držati dalje od formalina te pokriti kako bi ga se zaštitilo od insekata. Gotovi suhi razmazi ne smiju se brisati krpom da se ne ogrebu (Rebar i sur., 2002.).

Dobro napravljen razmaz ima tanki sloj debljine jedne stanice u kojem su stanice krvi blizu jedna drugoj no samo se mjestimično dodiruju. Dužina razmaza ne smije preći sredinu zadnje trećine predmetnice (Weiss i Tvedten, 2004.). Kapljica krvi stavi se na predmetnicu i drugom predmetnicom razvuče u jednom potezu. Dužina razmaza ovisi o veličini kapljice i kutu pod kojim se drži predmetnica kojom razmazujemo krv. Što je taj kut manji, razmaz je duži (Weiss i Tvedten, 2004.). Ukoliko radimo razmaz anemične krvi predmetnicu kojom razmazujemo krv potrebno je držati pod većim kutom od onoga potrebnog za pripremu razmaza hemokoncentrirane krvi (Anthony i Sirois, 2007.).

Područje pregleda razmaza periferne krvi vrlo je bitno, jer se stanice obzirom na veličinu različito rasporede. Najveće stanice najčešće se nalaze pri kraju krvnog razmaza („rep“ razmaza). Ostatak razmaza pregleda se na prisutnost neoplastičnih stanica i agregacije trombocita (Torrance, 2000.).



Slika 2. Razlika u položaju predmetnice kojom razmazujemo anemičnu i hemokoncentriranu krv. (A) veći kut za anemične uzorke krvi, (B) manji kut kod hemokoncentriranih uzoraka krvi (McCurnin i Bassert, 2006.).

Eritrociti se u razmazu pregledavaju obzirom na veličinu, boju, oblik i razvojni stadij (Torrance, 2000.). Neki hematolozi uz analizu razmaza na eventualno prisustvo eritrocitnih inkluzija, koriste razmaz i za brojenje eritrocita (Fritsma, 2007.).

Retikulociti su zadnji polikromatofilni nezreli oblici eritrocita. Nakon što dva do tri dana provedu u koštanoj srži, ulaze u krv gdje u roku od jednog dana sazriju u zrele eritrocite (Maedel i Doig, 2007.). Bojanjem poprimaju sivoplavu boju zahvaljujući ribosomima koji se u zrelih eritrocita gube (Anthony i Sirois, 2007.). Veći su od eritrocita i čine jedan do dva posto eritrocitne populacije u krvi (Fritsma, 2007.). Danas sofisticirani laserski hematološki brojači automatski računaju broj retikulocita (Fritsma, 2007.).

Leukociti se u razmazu promatraju s ciljem utvrđivanja njihovog ukupnog broja, broja pojedinih vrsta i prisutnosti abnormalnih stanica (Kahn, 2005.).

Diferencijalna krvna slika podrazumijeva broj granulocita (neutrofila, bazofila i eozinofila), limfocita i monocita. Sazrijevanjem granulocita stanice se mijenjaju, a pored ostalog mijenja se i jezgra, koja je kod nesegmentiranih granulocita uska i izdužena u obliku slova U ili S, dok jezgra segmentiranih granulocita sadrži gusti kromatin i stegnuta je u nekoliko segmenata. Stanice granulocitopoeze razvijaju se zasebno od samog početka. Tri su tipa granulacije zastupljene u citoplazmi - eozinofilna, bazofilna i neutrofilna (Bedrica, 1989.).

Segmentirani neutrofili su fagocitne stanice kojima broj raste kod bakterijskih infekcija, a pada kod dugotrajnih terapija i virusnih infekcija (Fritsma, 2007.). Promjera su 10-12 μm . Jezgra im je podijeljena na 3-5 segmenta. Obojeni imaju tamnoljubičastu jezgru i ružičastu citoplazmu u kojoj se nalaze sitne granule (Sink i Feldman, 2004.).

Nesegmentirani neutrofili su nezreli oblici neutrofila čije se povećanje u

cirkulaciji naziva skretanje u lijevo. Nezreli su pušteni u cirkulaciju kao odgovor koštane srži na bakterijsku infekciju. Jezgra im bojanjem poprima ljubičastu boju s vidljivim kromatinom. Bojanjem citoplazma poprima svjetlo ružičastu do ljubičastu boju i sadrži sitne granule ružičaste boje (Sink i Feldman, 2004.).

Eozinofili sadrže svjetlo narančaste granule ispunjene antihistaminom. Broj im se povećava kod alergija i parazitarne invazije (Fritsma, 2007.). Granule variraju veličinom i brojem, okruglog su oblika, a jezgra je sličnog oblika kao u segmentiranih neutrofilima, ali se segmenti ne mogu jasno diferencirati (Sink i Feldman, 2004.).

Bazofili imaju tamnoljubičaste nepravilne granule koje prekrivaju jezgru. Bazofilija je rijetka i znak je hematoloških patologija kao npr. leukemija (Fritsma, 2007.).

Limfociti su okrugli, malo veći od eritrocita, a manji od neutrofila (Sink i Feldman, 2004.). Broj im se u krvi povećava u tijeku virusnih infekcija, a smanjuje se kod dugotrajnih terapija nekim lijekovima i imunodeficientnim stanjima (Fritsma, 2007.). Obojeni imaju plavkastu citoplazmu, a jezgra je tamno ružičasta s gustim kromatinom. Limfocit nije završni stanični oblik i sposoban se pod utjecajem različitih specifičnih i nespecifičnih stimulirajućih agensa transformirati u „blastičnu“ stanicu. Morfološki se T i B limfociti ne mogu razlikovati, ali se može odrediti njihova starost prema veličini i obojenosti stanica (Bush, 1998.). Razlikujemo velike i male limfocite. Veliki su promjera 10-15 μm sa subcentralno položenom okruglom ili ovalnom jezgrom. Kromatin je u obliku jasno odvojenih nakupina. Ima više citoplazme od malog limfocita, koja se boji svjetlo plavo i sadrži po nekoliko granula veličine 0,5 μm koje su azurofilne. Mali limfocit ima promjer 9 μm , ekscentrično položenu okruglu ili ovalnu jezgru koja je na mjestu najobilnije citoplazme udubljena. Kromatin je vrlo

gust i tvori kompaktne nakupine koje nemaju jasnih granica. Citoplazma koja se boji bazofilno, je oskudna, ne sadrži granule i poput vrpce okružuje jezgru. Mali limfociti tvore glavninu limfocita u krvi (Bedrica, 1989.).

Monociti fagocitiraju strane tvari u organizmu. Veći su od ostalih leukocita, sive citoplazme i lobularne jezgre. Promjer im je oko 20 μm . Imaju veliku ovalnu ili bubrežastu jezgru smještenu subcentralno ili više prema periferiji stanice, a leži tako da joj je konkavna strana okrenuta prema najširem dijelu stanice (Bedrica, 1989.). Monociti se javljaju u malom postotku u krvi. Nakon stvaranja u koštanoj srži kratko se vrijeme zadržavaju u cirkulaciji te odlaze u tjelesna tkiva i šupljine gdje se pretvaraju u slobodne ili fiksirane makrofage. Odnos količine monocita u krvi i tkivu je 1:400. Zajednički prekursori koštane srži, tkivni makrofagi i monociti u krvi predstavljaju mononuklearni fagocitni sustav (Bush, 1998.).

Danas se u većini laboratorija vrijednosti broja trombocita dobivaju u automatiziranim hematološkim uređajima pomoću kojih se automatski dobiva uvid i u vrijednosti MPV koje je vizualnim metodama nemoguće izmjeriti (Fritsma, 2007.).

U krvnom razmazu analizira se veličina i granularnost trombocita (Maedel i Doig, 2007.). Prilikom analize obvezno treba pregledati razmaz na prisutnost trombocitne agregacije, koja se najčešće nalazi na rubovima razmaza i dovodi do grješaka u brojanju trombocita (Weiss i Tvedten, 2004.). Prema Bush (1998.) razmaz krvi mora biti napravljen od krvi antikoagulirane s EDTA, a brojanje trombocita mora se napraviti što prije – idealno bi bilo u roku od pola sata do najkasnije dva sata nakon vađenja krvi, jer se u protivnom trombociti agregiraju i dobivamo prividno niže vrijednosti njihovog broja. Trombociti su okruglog ili ovalnog oblika, nemaju jezgru i lagano

su granulirani (Fritsma, 2007.). Promjer trombocita iznosi 2,2-3,7 μm (Rebar i sur., 2002.).

Automatizirane metode analize krvnog uzorka

Prednost suvremenih uređaja u analizi krvi je preciznost i obrada velike količine uzoraka u danu (Weiss i Tvedten, 2004.). Zbog velike razlike u broju i morfološkim karakteristikama stanica obzirom na vrste životinja, takvi aparati moraju se testirati na uzorcima poznatih vrijednosti (kalibracija) uz korekcije razrijeđenja krvi (Jain, 1993.).

Poluautomatski uređaji za razliku od automatskih, ne mogu sami u potpunosti izvršiti analizu pa u obradi uzoraka krvi sudjeluje i laborant. Svi uređaji za hematološku analizu, bez obzira na model, moraju biti redovito održavani i kalibrirani prema uputama proizvođača (Rebar i sur., 2002.). Čimbenici koji utječu na kakvoću rezultata dobivenih automatiziranih hematološkim uređajima podrazumijevaju tip uređaja, kakvoću uzorka, starost uzorka, pojavu agregacije trombocita i ugrušaka koji mogu začepiti dijelove analizatora (Torrance, 2000.).

Danas se u većini laboratorija vrijednosti broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, hematokrita, MCV, MCH, MCHC, ukupnog broja leukocita i broja trombocita mjere u automatiziranim hematološkim uređajima, dok se diferencijalna krvna slika još uvijek analizira ručno krvnim razmazom (Torrance, 2000.).

Laserski uređaji analiziraju broj, veličinu i unutarnju strukturu stanica prema kutu loma svjetlosti (protočna citometrija). Stanice prolaze kroz lasersko svjetlo, apsorbirajući i raspršujući svjetlost pod različitim kutevima što registrira instrument (Meyer i Harvey, 2004.). Osim standardnih vrijednosti, analizom uzoraka u najsofisticiranijim uređajima tipa ADVIA 120 obrađuju se i vrijednosti

retikulocita pasa, diferencijalne krvne slike, MPC (mean platelet component concentration) koji se odnosi na aktivirane trombocite i MPV (Weiss i Tvedten, 2004.). Takva vrsta uređaja uglavnom zanemaruje agregirane stanice, iako ponekad agregirane trombocite ubroji u leukocite. Loše strane ovakvih uređaja su visoka cijena i iako analiziraju veći broj vrijednosti hemograma od Coulter aparata, i dalje je potreban krvni razmaz za utvrđivanje skretanja krvne slike u lijevo, toksičnosti leukocita, prisutnosti reaktivnih limfocita i krvnih parazita (Rebar i sur., 2002.). U odnosu na krvni razmaz, prednost ovih uređaja je brža i točnija diferencijalna analiza leukocita na temelju različitih citokemijskih reakcija stanica (Jain, 1993.). Na tržištu su također dostupni i uređaji koji laserski analiziraju diferencijalnu krvnu sliku, dok vrijednosti broja i veličine eritrocita i trombocita analiziraju na temelju promjene električnog otpora (Meyer i Harvey, 2004.).

Kontrola kakvoće u laboratorijima

Osiguravanje kakvoće u laboratorijima skup je postupaka kojima se pokušavaju smanjiti analitičke grješke da bi se dobili što točniji rezultati hemograma. Ta kontrola uključuje kontrolu osoblja, materijala, metoda, reagensa, instrumenata i sl. Kontrola kakvoće rezultata uređaja provodi se pomoću kontrolnih uzoraka (Burnes, 2007.).

Loše strane laboratorija zatvorenog tipa u odnosu na referentne laboratorije, su veća cijena analize uzoraka krvi i rjeđa kontrola točnosti dobivenih rezultata. Takvi laboratoriji trebali bi svakodnevno kontrolirati točnost svojih rezultata i povremeno ih usporediti s nalazom referentnog laboratorija. Prednost je pak laboratorija zatvorenog tipa brzo dobivanje rezultata krvnih pretraga (Rebar i sur., 2002.).

Referentni laboratoriji raspolažu velikim brojem stručnog osoblja i daju točnije rezultate krvnih pretraga. Mane ovih la-

boratorija podrazumijevaju dugo čekanje rezultata, većina ih ne raspolaže osobljem kvalificiranim znanjem u području veterinarske medicine, ili posjeduju uređaje koje je nemoguće kalibrirati za analizu hemograma u životinja.

Obzirom na sve navedeno idealno bi bilo uzorke krvi analizirati u referentnim laboratorijima koji raspolažu stručnjacima u području veterinarske medicine ukoliko bi brzina dobivanja rezultata bila zadovoljavajuća (Rebar i sur., 2002.).

Postupci koji utječu na kakvoću rezultata kompletne krvne slike

Pouzdanost dobivenih rezultata analize krvnih uzoraka ovise o mnoštvu čimbenika (Meyer i Harvey, 2004.). Grješke koje mogu dovesti do netočnosti rezultata odnose se na postupke sa životinjama i uzorcima krvi prije analize hemograma, za vrijeme analize i na eventualne grješke po završetku analiza uzoraka krvi. Najčešće preanalitičke grješke koje dovode do netočnosti u rezultatima analize hemograma su neadekvatna priprema pacijenta za vađenje krvi, neadekvatna tehnika uzimanja krvi, korištenje krivih epruveta za hemogram, nepravilno skladištenje uzoraka te nepravilan transport i rukovanje uzorcima krvi (Fritsma, 2007.).

Netočnost rezultata također može biti uzrokovana i postupcima laboratorijskih tehničara iz neznanja ili slučajno što podrazumijeva pogrešno stavljanje etiketa s podacima na uzorke krvi, grješke u razrjeđenjima uzoraka, korištenje reagensa kojem je istekao datum uporabe, neredovitost kontrole kakvoće dobivenih rezultata i neispravna kalibracija uređaja (Weiss i Tvedten, 2004.).

Ukoliko životinje prije uzimanja uzorka krvi ne poste, prisutnost lipemije povećava vrijednosti koncentracije hemoglobina, MCHC, broja trombocita (Meyer i Harvey, 2004.) i javlja se skretanje krvne slike u lijevo (Jain, 1993.).

Ukoliko su životinje izložene stresu (uzbuđenost, strah ili fizički napori)

neposredno prije i tijekom vađenja krvi, rastu vrijednosti hematokrita (Torrance, 2000.). U tim stanjima rastu vrijednosti broja neutrofila i limfocita, pogotovo u mlađih životinja (Jain, 1993.) kao i vrijednosti hemoglobina, broja eritrocita i broja trombocita (Bush, 1998.). Vrijednosti hemoglobina i broja eritrocita rastu nakon utrke u engleskih kratkodlakih hrtova za osam posto (Bush, 1998.). Ukoliko je životinja pod djelovanjem prolongiranog stresa (bol, jaka i dugotrajna fizička opterećenja) pod utjecajem endogenih glukokortikoida (kortizol) javlja se eozinopenija zajedno s neutrofilijom, limfopenijom te monocitozom (Bush, 1998.).

Krv za pretragu potrebno je izvaditi prije bilo kakve terapije, no ukoliko je dana mora biti poznata (Anthony i Sirois, 2004.). Imobilizacija životinje sedativima uzrokuje promjene u broju eritrocita i leukocita (Jain, 1993.). Terapija kortikosteroidima uzrokuje neutrofiliju, eozinopeniju, limfopeniju, monocitozu, bazofiliju i trombocitozu. Monocitoza nije tako izražena i rapidna kao neutrofilija. Navedene promjene jave se unutar 46 sati već nakon samo jedne aplikacije kortikosteroida, a u normalne granice, vrijednosti se vraćaju u roku od 24 sata. Ukoliko je terapija kortikosteroidima kratkotrajna, vrijednosti su promijenjene oko 23 dana, dok se kod dugotrajnih terapija kortikosteroidima javlja stalno prisutna neutrofilija, no u manjem stupnju nego kod kratkotrajne terapije. Pomak krvne slike u lijevo ne javlja se bez obzira na dužinu trajanja terapije, a neutrofili imaju hipersegmentiranu jezgru (Bush, 1998.).

U kuja liječenih estrogenom u početku terapije javlja se neutrofilija sa skretanjem u lijevo, zatim trombocitoza, limfocitoza i monocitoza, da bi dugotrajnom terapijom nastupilo oštećenje koštane srži praćeno neutropenijom, trombocitopenijom i neregenerativnom anemijom (Bush, 1998.).

Neutropenija je uočena prilikom korištenja lijekova za terapiju tumora uzrokovana njihovim citotoksičnim djelovanjem.

Terapija vincristinom, sulfonamidima, klorpromazinom, methimazolom, carbimazolom, phenytoinom, derivatima fenotijazina, novobiocinom, nitrofurantoinom i sličnima, rezultira neutropenijom i trombocitozom. Kod terapije imunosupresivnim lijekovima (azathioprine), javlja se limfopenija. Trombocitopenija se javlja kod primjene levamisola, phenilbutazona, aspirina, paracetamola, phenobarbitona, chlorpromazina, penicilina, streptomycina, diuretika na bazi thiazida, sulfonamida, tetraciklina, acetazolamida, fursevida i sličnih. Svi lijekovi koji suprimiraju koštanu srž prvo uzrokuju smanjenje broja leukocita, a potom i broja trombocita pošto potonji imaju duži životni vijek (Bush, 1998.).

Najveći problem prilikom uzimanja uzoraka krvi za hematološke pretrage, predstavljaju krhkost eritrocita i sklonost trombocita agregaciji. Oštećeni eritrociti tijekom skladištenja uzoraka bubre, što prividno povećava vrijednosti MCV i hematokrita. Nakon vađenja krvi pomoću igle i brizgalice, treba izbjegavati naknadno ubrizgavanje krvi u epruvetu bez odstranjenja igle u otvorenu epruvetu ili direktno kroz čep epruvete. Ukoliko igla nije odstranjena eritrociti dva puta prolaze kroz nju i izloženi su oštećenju (Torrance, 2000.). U krvi uzetoj pomoću brizgalice i naknadno preseljenoj u epruvetu može doći do agregacije trombocita s ili bez stvaranja krvnih ugrušaka, što rezultira prividno smanjenim trombocitima i prividno povećanim vrijednostima ukupnog broja leukocita i MPV pošto distribucija trombocita i leukocita nije u uzorku jednakomjerna (Meyer i Harvey, 2004.). Uzimanje krvi direktno iz igle u epruvetu ili pomoću igle u brizgalicu može zbog sporosti i dugotrajnosti procesa dovesti do stvaranja krvnih ugrušaka. Tako promijenjene uzorke laboratoriji neće primiti na analizu zbog mogućnosti začepljenja sistema automatskih brojača (Weiss i Tvedten, 2004.). Djelovanjem prejakog vakuuma prilikom uporabe brizgalice ili vakuumske epruvete

prevelikog volumena u odnosu na potrebnu količinu krvi, dolazi do hemolize uzorka. Prividno sniženje vrijednosti broja eritrocita javlja se prilikom skupljanja krvi kroz venski kateter ili iznad njega, odmah po prestanku davanja infuzije (Bush, 1998.). Prilikom uzimanja uzoraka treba paziti da se u postupku ne povuče i međustanična tekućina kože, jer će analizom takav uzorak pokazati prividno povišenu vrijednost hematokrita (Hippel, 2007.).

U postupku vađenja krvi vrlo je bitan omjer krvi i antikoagulansa u epruveti. Premala količina krvi u odnosu na količinu antikoagulansa rezultira pojavom smežuranosti eritrocita i prividno sniženim vrijednostima hematokrita, broja eritrocita i MCV (Rebar i sur., 2002.). Premala količina antikoagulansa u odnosu na količinu krvi uzrokuje njeno grušenje (Weiss i Tvedten, 2004.).

Nakon prikupljanja uzorci se ne smiju tresti, izlagati izuzetno visokim i niskim temperaturama, ne smiju biti kontaminirani stranim tijelima, prljavštinom, kemikalijama ni vodom (Voigt, 2000.). Moraju biti odmah lagano promiješani kako ne bi došlo do stvaranja ugrušaka (Weiss i Tvedten, 2004.). Svako bućkanje i prejaka trešnja uzoraka dovodi do hemolize i do izlaska sastojaka eritrocita u plazmu (Anthony i Sirois, 2007.).

Uzorke se ne smije smrzavati, jer procesom odmrzavanja stanice bivaju kompletno uništene (Torrance, 2000.). Maedel i Doig (2007.) tvrde da razmaz treba napraviti unutar dva do tri sata od vađenja krvi. Rebar i sur. (2002.) tvrde da razmaz treba napraviti unutar 90 minuta od venepunkcije, dok prema Jain (1993.) razmaz mora biti napravljen odmah, odnosno unutar jednog sata od vađenja krvi, jer u krvi koja stoji nekoliko sati, ukoliko je izložena visokoj temperaturi, dolazi do degeneracije leukocita. Nakon što je napravljen, razmaz je potrebno osušiti na zraku kako bi se izbjeglo oštećenje stanica djelovanjem antikoagulansa (Weiss i Tvedten, 2004.). Ukoliko je potrebno razmaz se može sušiti fenom. Skladišti se na sobnoj temperaturi,

nikako u hladnjaku, jer kondenzacija na hladnim predmetnicama lizira stanice (Kahn, 2005.). Nakon što se potpuno osuši, razmaz se fiksira da bi ga se moglo pravilno obojiti i treba ga držati dalje od formalina te pokriti kako bi ga se zaštitilo od insekata (Rebar i sur., 2002.).

Obojanost razmaza mora biti idealna, jer u suprotnom dolazi do loše vidljivosti bazofila u krvi pasa. Artefakti i precipitati trebaju biti izbjegnuti kako ih ne bi zamijenili s krvnim nametnicima ili toksičnim promjenama leukocita. Ukoliko razmaz nije dobro fiksiran javlja se promjena u morfologiji eritrocita (Jain, 1993.).

Obojanost razmaza je loša ukoliko se fiksira prije nego što je dobro osušen. U prejako obojanim razmazima eritrociti su intenzivno plave boje bez dobro vidljive stanične strukture. U preslabo obojanim razmazima teško se uočavaju stanične strukture leukocita, a prividna bljedoća eritrocita može biti zamijenjena s hipokromijom (Rebar i sur., 2002.). Analiza krvnog razmaza ne smije se raditi u višeslojnom djelu razmaza i ne smije se pokušati identificirati oštećene stanice. Prilikom izrade, krvni razmaz ne smije doseći kraj predmetnice, jer se time gubi jednoslojnost područja analize stanica. Takva pogreška u izradi dogodi se prilikom razmazivanja prevelike kapljice krvi ili postavljanjem predmetnice kojom razmazujemo krv pod prevelikom kutem u odnosu na razmaznu predmetnicu. Ukoliko se krv razmazuje u više od jednog poteza dolazi do pojave razmaznih valova uz gubitak jednoslojnog područja pretrage (Weiss i Tvedten, 2004.).

Grješke prilikom analize diferencijalne krvne slike u krvnom razmazu javljaju se zbog neravnomjerne raspodjele stanica u razmazu, netočne identifikacije stanica i prebrojavanja premalog broja stanica (Burnes, 2007.).

Čimbenici koji utječu na kakvoću automatizirano dobivenih rezultata hemograma podrazumijevaju tip uređaja, kakvoću uzorka, starost uzorka, pojavu agregacije trombocita i krvnih

ugrušaka. Uzorci koji sadrže agregirane trombocite analizirani u uređajima koji rade na principu promjene električnog otpora, dat će prividno više vrijednosti ukupnog broja leukocita i eritrocita, uz smanjenu vrijednost broja trombocita, jer se agregati ubrajaju u bijele i crvene krvne stanice (Torrance, 2000.).

Literatura

1. ANTHONY, E. and M. SIROIS (2004): Erythrocytes and Leukocytes in Disease I (T-17). Western Veterinary Conference 2004.
2. ANTHONY, E. and M. SIROIS (2007): Hematology and Hemostasis. In: HENDEIX, C. M., M. SIROIS. Laboratory Procedures for Veterinary Technicians. 5th ed., Mosby Elsevier, 29-42, 57-59.
3. BEDRICA, LJ. (1989): Promjene u krvi i koštanoj srži kod nekih novotvorina pasa. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
4. BURNES, S. (2007): Quality Assurance. In: RODAK, F., G. A. FRITSMA, K. DORG. Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences, 39-47.
5. BUSH, B. M. (1998): Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians. Blackwell Science, 31-63, 132-201.
6. CRAY, C. (2008): Optimizing Sample Type and Handling for Best Diagnostic Result (400). AAV 2008.
7. CUSH, J. J., A. KAVANAUGH and C. M. STEIN (2005): Reumatology: Diagnosis and Therapeutics. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins, 50.
8. FRITSMA, G. A. (2007): An overview of Clinical Laboratory Hematology. In: RODAK, F., G. A. FRITSMA, K. DORG. Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences, 1-4.
9. FURANELLO, T., S. TASCA, M. CALDIN, E. CARLI, C. PATRON, M. TRANQUILLO, G. LUBAS and L. SOLANO-GALLEGO (2006): Artefactual Changes in Canine Blood Following Storage, Detected Using the ADVIA 120 Hematology Analyser. Vet. Clin. Pathol. 35, 1, 42-46.
10. GOSSETT, K. and A. Mc. CARAKOSTAS (1984): Effect of EDTA on the Morphology of Normal and Toxic canine Neutrophils. Vet. Clin. Pathol. 13, 22-25.
11. HARVEY, J. W. (2001): Atlas of Veterinary Hematology Blood and Bone Marrow of Domestic Animals. Elsevier Health Sciences, 3.
12. HIPPEL, T. G. (2007): Routine Testing in Hematology. In: RODAK, F., G. A. FRITSMA, K. DORG. Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences, 163-169.
13. IHEDIOHA, J. and R. C. ONWUBUCHE (2007): Artefactual Changes in PCV, Hemoglobin Concentration, and Cell Count in Bovine, Caprine, and Porcine Blood Stored at Room and Refrigerator Temperatures. Vet. Clin. Pathol. 36, 60-63.
14. JACKSON, M. L. (2007): Veterinary Clinical Pathology: an Introduction. Wiley-Blackwell, 22.
15. JAIN, N. C. (1993): Essentials of Veterinary Hematology. Wiley-Blackwell, 5-8.
16. KAHN, C. (2005): Merck Veterinary manual. 9th ed., Merck, 3-21.
17. MAEDEL, L. B. and K. DOIG (2007): Examination of the Peripheral Blood Smear and Correlation with the Complete Blood Count. In: RODAK, F., G. A. FRITSMA, K. DORG. Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences, 176-190.
18. McCURIN, D. M. and J. M. BASSERT (2006): Clinical Textbook for Veterinary Technicians. 6th ed., Saunders. In: ANTHONY, E., M. SIROIS: Hematology and Hemostasis. In: HENDEIX, C. M., M. SIROIS. Laboratory Procedures for Veterinary Technicians. 5th ed., Mosby Elsevier, 29-32.
19. MEDAILLE, C., A. BRIEND-MARCHAL and J. P. BRAUN (2006): Stability of Selected Hematology Variables in Canine Blood Kept at Room Temperature in EDTA for 24 and 48 Hours. Vet. Clin. Pathol. 35, 18-23.
20. MEYER, D. J. and J. W. HARVEY (2004): Veterinary Laboratory Medicine Interpretation and Diagnosis. 3rd ed., Saunders, 15-19.
21. MULLINS, C. A. (2007): Specimen Collection. In: RODAK, F., G. A. FRITSMA, K. DORG. Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences, 26.
22. RAMADAN, P. i I. HARAPIN (1998): Interna klinička propedeutika domaćih životinja. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 116-120.
23. RAVEL, R. (1995): Clinical Laboratory Medicine Clinical Application of Laboratory Data. 6th ed., Elsevier Health Sciences, 12-13.
24. REBAR, A. H., P. S. MacWILLIAMS, B. F. FELDMAN, F. L. METZGER, R. V. H. POLLOCK and J. ROCHE (2002): A guide to hematology in dogs and cats. Teton NewMedia, 7-26.
25. SCHALM, O. W., N. C. JAIN and E. J. CARROLL (1975): Veterinary Hematology, 3rd ed., Lea & Febiger, Philadelphia.
26. SINK, C. A. and B. F. FELDMAN (2004): Laboratory Urinalysis and Hematology for the Small Animal Practitioner. Teton NewMedia, 49-70.
27. TORRANCE, A. (2000): Overview of Haematological Diagnostic Techniques. In: DAY, M. J., A. MACKIN, J. D. LITTLEWOOD. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. BSAVA, 3-7.
28. VADEN, S. L., J. S. KNOLL, F. W. K. SMITH JR. and L. P. TILLEY (2009): Blackwell's Five Minute Veterinary Consult: Laboratory Tests and Diagnostic Procedures Canine and Feline. John Wiley and Sons, 522.
29. VILLIERS, E. (2005): Introduction to Haematology. In: Villiers, E., L. Backwood. BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology, BSAVA, 23-29, 37.
30. VOIGHT, G. L. (2000): Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians. Wiley-Blackwell, 4.
31. WEISS, D. and H. TVEDTEN (2004): The Complete Blood Count and Bone Marrow Examination: General Comments and Selected Techniques. In: WILLARD, M. D., H. TVEDTEN. Small animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. 4th ed., Saunders, 14-29.

GEOMYCIN® RETARD 30%

otopina za injekciju

**Učinkovito i fleksibilno doziranje
u jednoj aplikaciji!**

- PRODULJENOG DJELOVANJA - DO 6 DANA
- MANJE MANIPULACIJE SA ŽIVOTINJOM - MANJE STRESA
- IZUZETNO BRZI POČETAK DJELOVANJA
- SMANJENA IRITACIJA NA MJESTU APLIKACIJE
- FLEKSIBILNO DOZIRANJE



GENERA

U SLUŽBI VETERINARSKJE MEDICINE

Genera d.d.

Svetonedeljska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok

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

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

Vaš pouzdan partner

Odnos koncentracija nižih masnih kiselina u buragu krava na količinu i sastav mlijeka



Lana Pađen, Melani Stepić, Mario Mitak i Zvonko Stojević

Uvod

Simbiotski odnos preživača kao domaćina i mikropopulacije predželudaca osnova je probave u preživača. U tom simbiotskom odnosu preživač pruža idealne uvjete mikropopulaciji za njihov razvoj i metabolizam, a mikropopulacija svojim metabolizmom domaćinu pruža vlastite metabolite, niže masne kiseline (NMK) od kojih najveći udjel čine octena, maslačna i mliječna. Također i sebe kao izdašan izvor proteina. Zbog specifičnosti probave preživača, niže masne kiseline nastaju u buragu pod djelovanjem mikrobne populacije, a čine 60-70% opskrbe energijom u preživača i od velike su važnosti u produkciji mlijeka (Seymour i sur., 2004.). U intenzivnoj mljekarskoj proizvodnji naročito se značenje pridaje omjeru i količini NMK u buragu, a koja će od nižih masnih kiselina nastati, ovisit će o supstratu i o samoj mikrobnoj populaciji (Morvay i sur., 2011.). Naime, svaka od NMK ima specifičnu ulogu u metabolizmu, a njihov je omjer u buragu ovisan o sastavu hrane. Octena kiselina najvećim dijelom nastaje fermentacijom teško topivih ugljikohidrata (celuloze). Maslačna kiselina nastaje fermentacijom lako topivih ugljikohidrata, kao i iz hrane bogate bjelančevinama, a najčešće se razgrađuje u dvije molekule octene kiseline. Octena i maslačna kiselina

supstrati su za oksidacijske procese u metabolizmu domaćina kao i za sintezu mliječne masti (Seymour i sur., 2004., Morvay i sur., 2011.). Maslačna kiselina bude metabolizirana u buragovoj sluznici (Morvay i sur., 2011.). Octena kiselina najvećim dijelom vodi podrijetlo iz sadržaja buraga. Međutim, ona nastaje i kao posljedica beta-oksidacije viših masnih kiselina nastalih tijekom mobilizacije tjelesnih masti. Propionska kiselina kao prekursor glukoze vodi podrijetlo iz mliječne kiseline koja nastaje fermentacijom lako topivih ugljikohidrata. Propionska kiselina jedina je glukoneogenička niža masna kiselina i čini 65-80% energetskih izvora u laktaciji mliječnih krava (Seymour i sur., 2004.). Tako stvorena glukoza poslužit će stanicama mliječne žlijezde za sintezu mliječnog šećera-laktoze.

Jedno je od glavnih načela kojim se proizvodnja i sastav mlijeka mliječnih krava mogu prilagoditi u kratkom vremenskom roku upravljanje hranidbom visokomliječnih krava. Zato su bitni razni pristupi koji predviđaju povezanost količine mlijeka i sastava mlijeka s načinom hranidbe (Braun-Lafreul i sur., 2010.) kao i proučavanje metabolizma buraga u predviđanju odnosa NMK u buragu (Murphy i sur., 1982.).

Lana PAĐEN, dr. med. vet., asistentica-znanstvena novakinja, dr. sc. Zvonko STOJEVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Mario MITAK, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Melani STEPIĆ, dr. med. vet.

Metaboliranje NMK nastalih fermentacijom započinje već u buragu. Dijelom ih koristi i mikrobna populacija što se najviše odnosi na metaboliranje mliječne u propionsku kiselinu. Kod preživača epitel buraga metabolira velike količine NMK za vrijeme njihove resorpcije stoga je relativno mala količina NMK dostupna perfirenom tkivu uključujući i mliječnu žlijezdu (Kristensen, 2005.). Octenu i propionsku kiselinu, resorbirane iz buraga, epitel buraga ne metabolira ili metabolira u vrlo malim količinama, dok se maslačna kiselina intenzivnije metabolira (Kristensen, 2005.). Međutim, metaboliranje NMK najvećim dijelom se odvija u jetri tek nakon njihove resorpcije u probavnom traktu.

Molekule octene kiseline moraju biti aktivirane kao acilni radikal preko koenzima A te nastaje acetil koenzim A (AcCoA). Nastali je spoj vrlo reaktivan te se on ne zadržava u organizmu, već mora biti metaboliran. Četiri su puta metaboliranja AcCoA: ciklus limunske kiseline, lipogeneza, kolesterologeneza i ketogeneza. Najčešće AcCoA ulazi preko oksalacetata u ciklus limunske kiseline gdje će biti iskorišten za energetske potrebe. Preostali će AcCoA poslužiti za sintezu viših masnih kiselina, ponajprije mliječne masti. Sterolna jezgra kolesterola se u cijelosti sintetizira iz molekula AcCoA (kolesterologeneza). Ketogeneza je jedan od mogućih puteva metaboliranja AcCoA. Aktivirana je octena kiselina spoj koji trenutno mora ući u neki od navedenih metaboličkih puteva. Ukoliko ulazi u energetski metabolizam (ciklus limunske kiseline) potrebna je dostatna količina oksalacetata, a koji može nastati jedino iz glukoze ili glukoneogenezom. Isto tako treba uvažiti činjenicu da preživači nemaju alimentarni izvor glukoze te ona nastaje isključivo putem glukoneogeneze. Zbog sinteze

mliječnog šećera, laktoze, preživači su u fiziološkoj hipoglikemiji, što rezultira staničnim manjkom oksalacetata, u tim uvjetima nastaje „glad stanice“ te dolazi do pojačanog obujma tkivne lipolize i povećane koncentracije viših masnih kiselina u krvi. Preko procesa β – oksidacije nastaje veliki broj molekula AcCoA (polovičan broj od C-atoma). Tako nastale molekule AcCoA ne mogu ući u ciklus limunske kiseline, već prelaze u ketonska tijela, acetoacetat, β -hidroksi maslačnu kiselinu, aceton (Filipović i sur., 2007.).

Na sastav mlijeka bitno utječe način prehrane mliječnih krava. Brojna su istraživanja pozitivnog utjecaja pojedinih sastojaka mlijeka na zdravlje ljudi (mliječna mast, zasićene i nezasićene masne kiseline, proteini mlijeka) (Marenjak i Poljičak-Milas, 2005., Haug i sur., 2007.).

Cilj je ovog rada istražiti utjecaj koncentracija i postotnog udjela nižih masnih kiselina buraga na količinu i sastav mlijeka, što bi moglo sugerirati povoljnije načine prehrane, a time osigurati povoljne metaboličke puteve i izbjeći probleme u proizvodnji mlijeka.

Materijali i metode

Pokusi su provedeni na kravama holštajnske pasmine u drugoj i trećoj laktaciji, u periodu 80. do 120. dana laktacije (n=12). Uzorak buragovog sadržaja uziman je sondom posebno prilagođene pumpe nakon izlaska krava iz izmuzišta. Uzorak sadržaja uziman je u falcon epruvete i trenutačno zamrznut u tekućem dušiku te pohranjen na 20 °C do analize. U buragovom sadržaju određene su količina i postotni odnos NMK (octene, maslačne i mliječne kiseline) akreditiranom titracijskom metodom oznake: SOP-2-1-4K17:02. Rezultati

su preračunati s g/100 mL na 200 L sadržaja te izraženi u postotnom odnosu. Količina i sastav mlijeka krava u pokusu dobiveni su od Hrvatske poljoprivredne agencije. Statistička je obrada načinjena korištenjem računalnog programa Statistika 9. Nakon testiranja normalnosti (Kolmogorov-Smirnov test) načinjen je t- test za zavisne uzorke te Spermanov koeficijent korelacije. Razlike se smatraju statistički značajnim ako je $P < 0,05$.

Rezultati

Koncentracije octene, maslačne i mliječne kiseline u buragovom sadržaju prikazane su u tabelama 1. i 2. Rezultati količine mliječne masti u mlijeku prikazani su u tabeli 3. Tabela 4. prikazuje linearnu korelaciju između udjela mliječne masti u mlijeku i NMK u sadržaju buraga. Tijekom istraživanja utvrđena je povezanost između koncentracija nižih masnih kiselina i mliječne masti. Utvrđena je pozitivna korelacija između mliječne masti i octene kiseline te pozitivna korelacija između mliječne masti i mliječne kiseline. Utvrđena je i negativna korelacija između mliječne masti i maslačne kiseline, a utvrđena je i statistički značajna visoka pozitivna korelacija između octene i mliječne kiseline.

Tabela 1. Količina NMK u sadržaju buraga krava, preračunata na 200 L sadržaja izražena u gramima

Broj krave	Maslačna kiselina	Octena kiselina	Mliječna kiselina
429	342	1006	790
451	0	4854	1004
419	416	1376	1046
319	0	2538	1036
268	0	2540	438
3	212	552	518
334	0	3578	368
284	140	526	426
359	0	1196	390
220	52	598	424
313	0	1126	482
347	0	2530	438

Tabela 2. Omjer NMK u sadržaju buraga izražen u %

Broj krave	Maslačna kiselina	Octena kiselina	Mliječna kiselina
429	15,99	47,05	36,95
451	0	82,86	17,14
419	14,65	48,48	36,86
319	0	71,01	28,99
268	0	85,25	14,75
3	16,56	43,01	44,42
334	0	90,65	9,35
284	12,88	48,08	39,04
359	0	75,43	24,57
220	0	70,02	29,08
313	0	70,02	29,08
347	0	85,19	14,81

Korelacija mliječne masti i maslačne kiseline je negativna ($r = -0,271$); mliječne masti i octene kiseline je pozitivna ($r = 0,356$) te mliječne masti i mliječne kiseline je pozitivna ($r = 0,380$). Utvrđena je i statistički značajna visoko pozitivna korelacija između mliječne i octene kiseline ($r = 0,996$).

Rasprava

Količina, kao i sastav NMK u buragu od izuzetne su važnosti za proizvodne i zdravstvene osobine u preživaca. Svaka od njih ima zasebnu ulogu u daljnjem metabolizmu.

Tabela 3. Podatci o količini mliječne masti u mlijeku

Broj krave	Mliječna mast %
429	4,29
451	5,21
419	3,93
319	3,81
268	4,63
3	5,02
334	5,81
284	4,71
359	4,64
220	4,02
313	4,9
347	5,84

Tabela 4. Linearna korelacija između udjela mliječne masti u mlijeku i NMK u sadržaju buraga

Linearna korelacija	Maslačna kiselina %	Octena kiselina %	Mliječna kiselina %
Mliječna mast %	- 0,271	0,356	0,380
Maslačna kiselina %	1,000	- 0,395	- 0,403
Octena kiselina %	- 0,395	1,000	<u>0,996</u>
Mliječna kiselina %	- 0,403	<u>0,996</u>	1,000

Podcrtane korelacije su statistički značajne ($P < 0,05$)

Osim uloge NMK u metabolizmu preživača njihov je odnos u sadržaju buraga pokazatelj hranidbenog statusa. Svaka NMK vodi podrijetlo specifično ovisno o vrsti hrane.

Budući da pojedine NMK znatno utječu na količinu i sastav mlijeka, važno je poznavati navedenu povezanost. Seymour i sur. (2004.) istraživali su povezanost mliječne masti i maslačne kiseline. Količina mliječne masti imala je pozitivnu korelaciju s octenom kiselinom ($r=0,31$) te negativnu korelaciju s propionskom kiselinom ($r = -0,25$) kao i s maslačnom ($r = -0,11$).

Na osnovi analize buragova sadržaja može se pretpostaviti da su životinje u obrocima primale visoki udio teško topivih ugljikohidrata, a vrlo mali bjelančevina. Količina i vrsta NMK u buragu značajno utječu na resorpciju hranjivih tvari te na količinu i sastav mlijeka. Sama resorpcija NMK je difuzijski proces i brzina je ovisna o koncentracijskom gradijentu i o tome da su propionska i maslačna kiselina opsežno metabolirane preko epitela buraga (Dijkstra i sur., 1993.). Nakon resorpcije octena i propionska kiselina značajno utječu na sastav mlijeka.

Murphy i sur. (1982.) su konstruirali model fermentacije u buragu koji predviđa povećanje koncentracija maslačne i propionske kiseline s umjerenim smanjenjem koncentracije octene kiseline kada su žitarice u prehrani povećane do i žiad 50% suhe tvari. Navedeni model predviđa da će se u prijelazu s hrane bazirane na voluminoznim krmivima na hranu baziranu na koncentratu, udio topivih ugljikohidrata koji se pretvara u maslačnu

kiselinu povećati na udio octene kiseline, dok će se udio škroba pretvoren u propionsku kiselinu povećati i na udio stvaranja acetata. Model predviđa da se udio celuloze koji fermentira u octenu kiselinu povećava što se više koncentrata daje u zamjenu za voluminoznu hranu (Murphy i sur., 1982.). Van Soest (1982.) navodi da maslačna kiselina stimulira glukoneogenezu u preživača, iako ona sama ne može prijeći u glukozu. To može objasniti da istodobno povećanje maslačne i propionske kiseline vodi povećanju proizvodnje mlijeka, jer maslačna kiselina djeluje kao izvor energije i lipidni prekursor, dok u isto vrijeme štedi propionsku kiselinu od oksidacije povećavajući njenu konverziju u glukozu za sintezu laktoze. Jasne su razlike u metaboličkim putevima tri najzastupljenije NMK u epitelu buraga, jetri i perifernom tkivu. Brojne su interakcije na staničnom nivou gdje maslačna i propionska kiselina djeluju na aktivnosti enzima kao i na omjer konverzija različitih supstrata (Baldwin i Jesse, 1996.). Zabilježeno je za maslačnu kiselinu da smanjuje metabolizam octene i propionske kiseline u epitelu buraga, dok propionska kiselina povećava, a octena smanjuje konverziju maslačne kiseline u BHB u epitelnim stanicama buraga (Baldwin i Jesse, 1996.). Navedene studije sugeriraju da povećanje koncentracije maslačne kiseline u buragu može povećati zalihiu propionata u jetri kao i zalihiu acetata u perifernim tkivima smanjujući njihovu oksidaciju u epitelu buraga (Seymour i sur., 2004.).

U zaključku; potrebno je istaknuti značaj analize buragova sadržaja na koncentracije i postotni odnos NMK i

povezati s proizvodnim sposobnostima krava u laktaciji. Na osnovi dobivenih rezultata moguće je korigirati hranidbu i na taj način izbjeći gubitke u proizvodnji.

Sažetak

U radu je istražen utjecaj sastava nižih masnih kiselina u buragu krava holštajnske pasmine na količinu i sastav mlijeka. Buragov sadržaj (n=12) uziman je sondom uz pomoć prilagođene pumpe. Dobiveni je sadržaj pohranjen odmah nakon uzimanja do analize u tekućem dušiku. Količina, kao i postotni udjel octene, maslačne i mliječne kiseline određen je titracijskom metodom SOP-2-1-4K17:02. Rezultati količine i sastava mlijeka, uzetih od istih životinja, dobiveni su od Hrvatske poljoprivredne agencije, Središnjeg laboratorija za kontrolu mlijeka. Rezultati ukazuju kako sastav i količina nižih masnih kiselina imaju značajan utjecaj na kvalitativne i kvantitativne karakteristike mlijeka.

Literatura

- BALDWIN, V. I. R. L. and B. W. JESSE (1996): Propionate modulation of ruminal ketogenesis. *J. Anim. Sci.* 74, 1694–1700.
- BRAUN-LAFREUL, L., L. DELABY, F. HUSSON and P. FAVERDIN (2010): Predicting energy × protein interaction on milk yield and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 4128–4143.
- DIJKSTRA, J., H. BOER, J. VAN BRUCHEN, M. BRUINING and S. TAMMINGA (1993): Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. *Brit. J. Nutrition* 69, 385–396.
- FILIPOVIĆ, N., Z. STOJEVIĆ i L. BAČAR-HUSKIĆ, (2007): Energetski metabolizam u krava tijekom razdoblja rane laktacije. *Praxis vet.* 55, 91–100.
- HAUG, A., A. T. HOSTMARK and O. M. HARSTAD (2007): Bovine milk in human nutrition. *Lipids Health Dis.* 6, 25.
- KRISTENSEN, N. B. (2005): Splanchnic metabolism of volatile fatty acids in the dairy cow. *Anim. Sci.* 80, 3–10.
- MARENJAK, T. S. i N. POLJIČAK-MILAS (2005): Učinak hranidbe krava na sastav bioaktivnih masnih kiselina u mlijeku. *Krmiva* 47, 245–252.
- MORVAY, Y., A. BANNINK, J. FRANCE, E. KEBREAB and J. DIJKSTRA (2011): Evaluation of models to predict the stoichiometry of volatile fatty acid profiles in rumen fluid of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94, 3063–3080.
- MURPHY, M. R., R. L. BALDWIN and L. J. KOONG (1982): Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 55, 411–421.
- SEYMOUR, W. M., D. R. CAMPBELL and Z. B. JOHNSON (2004): Relationships between rumen volatile fatty acid concentrations and milk production in dairy cows. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 119, 155–169.
- VAN SOEST, P. J. (1982): *Nutritional Ecology of the Ruminant*. O & B Books Inc., Corvallis, Oregon, USA, p. 252.

Ratio of Concentrations of Volatile Fatty Acids in Rumen of Dairy Cows on the Amount and Composition of Milk

Lana PAĐEN, DVM, Assistant-Junior Researcher, Zvonko STOJEVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Mario MITAK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Melani ŠTEPIĆ, DVM

The influence of the composition of volatile fatty acids in the rumen of holstein cows on the amount and composition of milk was investigated. The rumen content was extracted using a custom sonde. The obtained content (n=12) is stored in the falcon tubes, 50 ml and frozen in liquid nitrogen until analysis. The amount as well as the percentage, of acetic, butyric and lactic acid was determined

by titration method SOP-2-1-4K17:02. The results of the quantity and composition of milk, taken from the same animals, were obtained from Croatian agricultural agency, Central laboratory for milk control. The obtained results indicate that the composition and amount of volatile fatty acids have a significant impact on the qualitative and quantitative characteristics of milk.

CLOXAMED® DC forte

intramamarna suspenzija, uljna, antibakterijski lijek za i.mam. primjenu, penicilini otporni na β -laktamaze, kloksacilin za krave u suhojstaju

SASTAV : jedan Cloxamed® DC forte injektor (12 mL) u 8 g uljne suspenzije sadrži:

Kloksacilin natrij monohidrat.....200 mg
Kloksacilin benzoat.....800 mg

OSNOVNA SVOJSTVA I DIELOVANJE

Cloxamed® DC Forte je uljna suspenzija za i.mam. primjenu koja sadrži kombinaciju lako topljivog kloksacilin natrija i teško topljivog kloksacilin benzoata. Kloksacilin djeluje baktericidno protiv najvažnijih gram-pozitivnih uzročnika upale mliječne žlijezde u krava: *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* i druge vrste streptokoka, *Staphylococcus aureus* (sojevi otporni i osjetljivi na benzilpenicilin) te *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes*. U podlogu je dodan aluminijev stearat (gelirajuće sredstvo) koji omogućuje prolongirano otpuštanje antibiotika iz podloge. U tretiranom četvrtinu tjekom nekoliko tjedana održava se djelotvorna razina kloksacilina koja krave štiti od novih infekcija.

INDIKACIJE

- Terapija i metaflaksa infekcija mliječne žlijezde prilikom zasušenja, uzrokovana streptokokima i stafilokokima uključujući sojeve koji stvaraju β -laktamaze.
- Metaflaksa upale mliječne žlijezde početkom suhojstaja uzrokovane bakterijom *Arcanobacterium pyogenes* (osjetljiva na kloksacilin), kako bi se spriječilo širenje tog uzročnika na druge krave u uzgoju.

NAČIN PRIMJENE I DOZE

Nakon što se krave zadnji puta temeljito izmruze, pažljivo se očisti i dezinficira vrh sisa. Prije upotrebe injektor treba protresti. Nakon skidanja zaštitne kapice nastavak injektora ne smije se dirati prstima.

Cloxamed® DC Forte aplicira se jednokratno i.mam. (1 injektor/1 četvrt). Nastavak injektora oprezno se uvede u sisni kanal i istisne njegov sadržaj. Istovremeno se mora tretirati sve četvrti vimena.

Apliciranu suspenziju ne smije se masiranjem potiskivati u gornje dijelove žlijezde jer se može stvoriti čep. Lijek se smije primijeniti samo ako je do očekivanog termina teljenja ostalo 42 ili više dana.

KARENCIJA

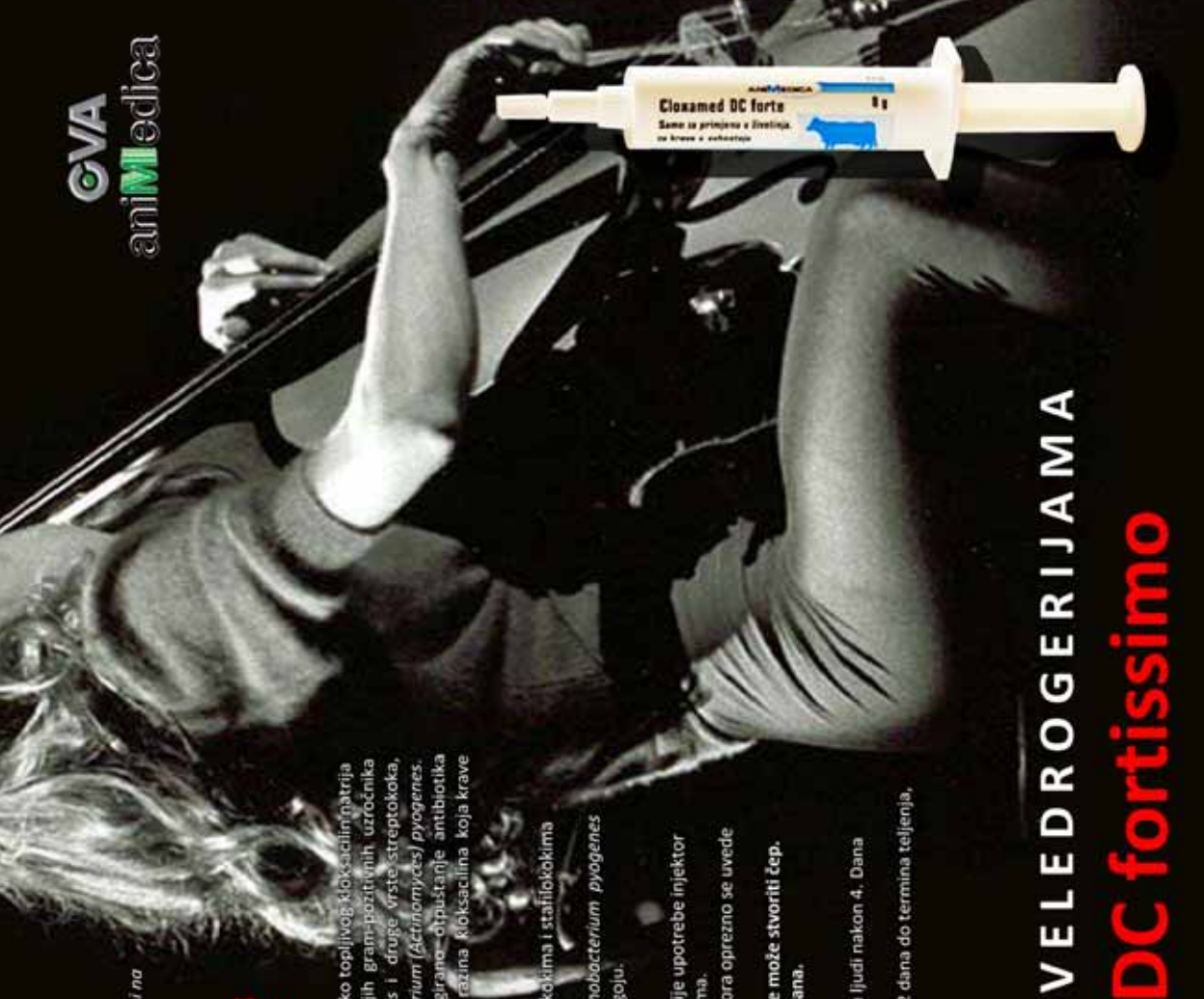
- Mlijeko krava, liječenih više od 42 dana prije termina teljenja, može se koristiti za hranu ljudi nakon 4. Dana po teljenju, tj. nakon 8. mružnje u krava koje se doji 2 x na dan.
- Ako se krave prijevremeno otele ili pobace ili im se lijek aplicira u razdoblju kraćem od 42 dana do termina teljenja, tada je mlijeko ispravno za hranu nakon 46-og dana od trenutka aplikacije.

Meso i jestive iznutrice.....28 dana.

Cijena injektora od 12 ml - 10,00 kn

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

CLOXAMED® DC fortissimo



Usporedba koncentracije progesterona u mliječnim i mesnih pasmina koza tijekom puerperija

A. Stipić, D. Đuričić, Nikica Prvanović Babić, Natalija Filipović, J. Grizelj, G. Bačić, T. Karadjole, N. Maćešić i M. Samardžija



Uvod

U Hrvatskoj je uzgoj koza tradicionalan, posebice u južnim i brdskim područjima pa je proizvodnja mesa i mlijeka relativno oskudna (Samardžija i sur., 2010.). Posljednjih desetljeća uvezen je prilično velik broj mliječnih pasmina koza, kao i neke mesne pasmine, a pojavila su se i veća stada tih životinja u ravničarskim dijelovima naše zemlje.

Sanska je koza jedna od najpoznatijih i najmliječnijih pasmina koza u svijetu. Nastala je sustavnom selekcijom u kantonu Bern u Švicarskoj, u dolinama rijeke Simme i Saane, po kojoj je dobila ime (Mioč i Pavić, 2002.). Zbog izvrsnih proizvodnih odlika i velikih mogućnosti prilagodbe ta se pasmina proširila u gotovo sve krajeve svijeta. Potpuno je bijele boje (katkad kremaste sa sivim ili crnim pjegama na nosu ili oko očiju) i nježne kratke dlake. Odlika pasmine je dobro razvijeno vime, najčešće okruglastog oblika te sisa pogodnih za strojnu mužnju. Tjelesna masa odraslih švicarskih koza iznosi prosječno oko 60 kg (50-70), a jarčeva oko 80 kg (70-

90), a francuske sanske koze su teže. U Švicarskoj je za tu pasminu utvrđena prosječna proizvodnja mlijeka između 750 i 800 kg u laktaciji od osam mjeseci, a najbolja grla proizvode i više od 2000 kg mlijeka u laktaciji od 280 do 300 dana (Mioč i Pavić, 2002.). Sanska se koza ponajprije uzgaja radi proizvodnje mlijeka. Međutim, zbog visoke plodnosti, dobrih dnevnih prirasta jaradi i veličine odraslih grla ta je pasmina zahvalna i u proizvodnji kozjeg mesa.



Stika 1. Visoko mliječne sanske koze

Antun STIPIĆ, dr. med. vet.; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Veterinarska stanica Đurđevac; dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Tugomir KARADJOLE, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Nino MACESIĆ, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. med. vet., Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Natalija FILIPOVIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, Medicinski fakultet Split

Burska je koza mesna pasmina koja potječe iz aridnih predjela Južnoafričke Republike (JAR) (Shelton, 1978., Casey i van Nierkerk, 1988.), a zahvaljujući dobroj i brznoj prilagodbi i otpornosti na bolesti te izvršne kakvoće mesa (Erasmus, 2000.), poboljšana se burska koza (Malan, 2000.) danas uzgaja u cijelom svijetu. Devedesetih godina ponajprije se iz Austrije počinje uvoziti u Hrvatsku (Mioč i Pavić, 2002.). Burska je koza bijele boje sa smeđe-crvenom glavom. Tijelo je obraslo glatkom, priležećom dlakom. Koža je tamnije boje na dijelovima tijela koji nisu obrasli dlakom (npr. pod repom). Uši su duge i ovještene uz trup. Oba su spola rogata, s rogovima povijenim u luku nazad, no postoje i šute. Glava je teška s izraženim ovnujskim profilom. Životinja je snažna i mišićava. Vime je dobro namješteno s dobro razvijenim, srednje dugim sisama. Dopusnene su i dvije pasise. Sposobne su se prilagoditi različitim podnebljima. Kako je burska koza mesna pasmina, ima dovoljno mlijeka samo za odhranu jaradi. Glavni je proizvod ove pasmine meso zbog kojeg se i šire uzgoji diljem svijeta.

Koza je sezonski poliestrična životinja u krajevima umjereno kontinentske klime, što znači da se tjera samo u određeno vrijeme godine i to više ciklusa za redom (Zarrouk i sur., 2001.). Sezona počinje skraćivanjem dana (fotoperiod), a

ovisi o trajanju dnevnog svjetla (Shelton, 1978., Legan i Karsch, 1980., Karsch i sur., 1984.), pasmini, hranidbi (količini i kakvoći hrane) i nazočnosti mužjaka (Chemineau i sur., 1999.). U tropskim se krajevima koze tjeraju cijele godine. Kad se pasmine iz umjerenog pojasa uvedu u tropski pojas, s vremenom se izgubi sezonost u novom okruženju (Zarrouk i sur., 2001.). Burska je koza cijele godine poliestrična (Đuričić, 2007.), za razliku od većine ostalih pasmina koza koje su sezonski poliestrične i u estrusu su (mrču se) od rujna do studenog. U Južnoafričkoj Republici nije zabilježeno vrijeme potpune spolne neaktivnosti burskih koza, a vrhunac spolne aktivnosti je u jesen, dok je kasno proljeće i sredina ljeta vrijeme smanjene spolne aktivnosti (Greyling i van Der Nest, 1990.). Iako se ova pasmina odlično prilagodila u našim krajevima umjereno-kontinentalnog klimatskog pojasa, primjećeno je kako prvo mrkanje nakon porođaja varira od godišnjeg doba (Đuričić i sur., 2009.). Ciklus u koza traje u prosjeku 21 dan. Vanjski podražaji, od kojih je najbitnije produljenje noći, podražavaju epifizu da tijekom pretežito noćnih sati izlučuje melatonin (Fabre-Nys, 2000.). Melatonin utječe na hipotalamus da izlučuje GnRH koji utječe na otpuštanje gonadotropina (LH i FSH) iz hipofize odgovornih za aktivnost jajnika. Porastom razine LH dolazi do ovulacije. Prosječna koncentracija LH ovisi o koncentraciji estrogena kako u sezoni tako i izvan sezone, a frekvencija LH je ista, dok je amplituda viša u sezoni (Chemineau i Delgadillo, 1994.). Ovulacija se javlja oko pet dana prije porasta razine progesterona (Romano i Fernandez Abella, 1997., Sousa i sur., 1999.). Lutealna faza (Zarkawi i Soukouti, 2001.) traje 15-17 dana. Nakon porođaja razina je progesterona u serumu niska, sve do prvog estrusa i ovulacije u puerperiju (Đuričić i sur., 2008.). Progesteron je steroidni hormon kojeg proizvodi žuto



Slika 2. Autohtona burska koza

tijelo, *theca interna* folikula, nuzbubrežna žlijezda i posteljica. Žuto tijelo u koza predstavlja glavni izvor progesterona (Bauerfeind i Holtz, 1991.). Uloga progesterona je da djeluje kao antagonist estrogenim hormonima, prouzrokuje zatvaranje cervikalnog kanala pri kraju estrusa, potpomaže sekrecijsku fazu endometrija te smanjuje spontani motilitet miometrija. Progesteron djeluje na sekreciju hipofiznih gonadotropnih hormona (FSH i LH) na principu negativne povratne sprege, tako da kod gravidnih ženki sprječava ponovni estrus, odnosno, ovulaciju. Svojim biološkim djelovanjem on priprema spolne organe za početak i odvijanje gravidnosti. Progesteron ima važnu ulogu prilikom ovulacije folikula, razvoja alveolarnog sustava mliječne žlijezde te pojavi majčinskog instinkta. Sekrecija progesterona održava gravidnost kroz cijelo vrijeme gravidnosti. Navodi se da je razina progesterona podrijetlom iz žutog tijela vrlo visoka, sve do njegove regresije (Samardžija i sur., 2010.). Koncentracija progesterona u gravidnih i negravidnih koza je identična do 15. ili 16. dana nakon ovulacije. Nakon toga vremena kod negravidnih jedinki razina progesterona naglo pada i počinje novi ciklus. Kod gravidne koze oko 21. dana nakon oplodnje dolazi do prolaznog blagog pada razine progesterona, da bi nakon toga koncentracija progesterona narasla i ostala približno ista tijekom čitave gravidnosti sve do nekoliko dana pred porođaj, kada dolazi do njenog naglog pada (Samardžija i sur., 2010.). Razina progesterona se uz ultrazvučnu dijagnostiku (transrektalno) i razinu PAG-a (pregnancy- associated glycoprotein) može koristiti za utvrđivanje bređosti u koza već i tri tjedna nakon pripusta (Gonzales i sur., 2004.). Zanimljivo je da broj zametaka, odnosno plodova u gravidnoj maternici ovaca i koza, utječe na razinu progesterona, za

razliku od primjerice, krmača (Samardžija i sur., 2010.).

Materijali i metode

U ovom radu obuhvaćeno je 16 koza, 8 burskih i 8 sanskih koza u dobi od dvije do četiri godine. Koze potječu iz jednog uzgoja s područja Koprivničko-križevačke županije, općina Đurđevac. Životinje su smještene u skupne nastambe i hranjene jednako: livadno sijeno po volji te oko 0,9 kg koncentrata po kozi dnevno. Obje su skupine koza držane zajedno s jaradi. Venepunkciju smo vršili iz *v. jugularis* svaki deseti dan počevši od prvog završno do četrdesetog dana puerperija. Korišten je vacutainer pribor. Krv je ostavljena najmanje 15 minuta na sobnoj temperaturi te smo je centrifugirali 15 minuta na 3000 okretaja u minuti. Izdvojeni smo serum vrlo brzo pohranili na temperaturu od -20 °C, sve do pretraga.

Korištena je standardna RIA metoda s konjugiranim steroidima (Coat-A-Count TKPG, Diagnostic Product Corporation) bez predinkubacije za mjerenje progesterona. Gama brojač s računalnim programom, čija pouzdanost i preciznost iznose oko 80% je korišten za očitavanje. Tri standardne krivulje su korištene za očitavanje, a svi uzorci su analizirani u duplikatu, pri čemu je korištena srednja vrijednost. Prikupljene smo podatke obradili pripadnim statističkim postupcima uporabom računalnog programa STATISTICA 9.

Rezultati

Ukupna razina progesterona u krvnom serumu sanskih (n=8) koza za vrijeme puerperija iznosila je 0,608 nmol/L, a srednja vrijednost 0,076 nmol/L/kozi. Ukupna razina progesterona u krvnom serumu burskih (n=8) koza za vrijeme puerperija iznosila je 28,977 nmol/L, a srednja vrijednost 3,622 nmol/L/kozi ($P < 0,05$).

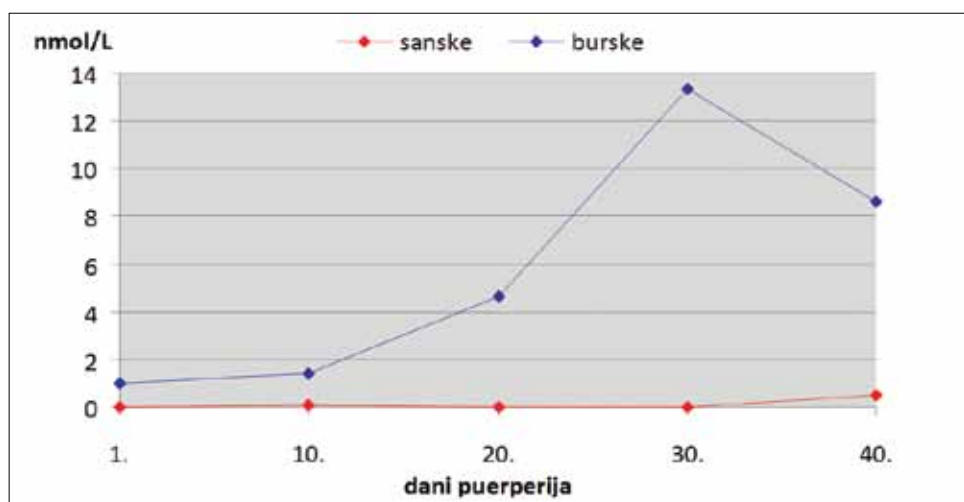
Rasprava

Nakon porođaja razina progesterona u serumu je niska, sve do prve ovulacije u puerperiju. Razina progesterona u krvnom serumu za vrijeme lutealne faze kod križanki njemačke srnaste koze i burske koze, iznosila je iznad 3,18 mmol/L (Bauerfeind i Holtz, 1991.), no prosjek kod burskih koza u našem istraživanju je nešto

niži, osim kod koza broj 6 i 8. Sakurai i sur. (2004.) smatraju da je prva ovulacija nastupila kod koza pasmine Shiba, ako je razina progesterona bila viša od 1,0 ng/mL. Koze kod kojih je razina progesterona P_4 u plazmi 22. dan poslije pripusta bila iznad 1 ng/mL su se smatrale gravidnima (Gonzalez i sur., 2004.). Povodeći se prethodnim navodima, smatrali smo da je postojala aktivnost jajnika, ako je razina

Tabela 1. Razine progesterona (nmol/L) u krvnom serumu burskih (n=8) i sanskih (n=8) koza za vrijeme puerperija

Sanske koze	1	2	3	4	5	6	7	8	Ukupno
1. dan	0	0	0	0	0	0,021	0	0	0,021
10. dan	0	0	0,04	0	0	0,073	0	0	0,113
20. dan	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30. dan	0,006	0	0	0	0	0	0	0	0,006
40. dan	0	0,234	0	0	0	0	0,234	0	0,468
Ukupno	0,006	0,234	0,04	0	0	0,094	0,234	0	0,608
Burske koze	1	2	3	4	5	6	7	8	Ukupno
1. dan	0,056	0,199	0,026	0,276	0,227	0	0,077	0,122	0,983
10. dan	0,018	0	0,045	0,321	0,002	0	0	1,023	1,409
20. dan	0,013	1,125	0,178	0,387	0,166	0,345	0	2,45	4,664
30. dan	0,056	2,306	0,958	0,56	0,021	3,234	0,875	5,312	13,322
40. dan	0,045	0,025	1,325	1,424	1,008	3,49	1,154	0,128	8,599
Ukupno	0,188	3,655	2,532	2	1,424	7,069	2,106	9,035	28,977



Grafikon 1. Razine progesterona u puerperiju sanskih i burskih koza po danima

progesterona bila iznad 1,0 nmol/L. Ni jedna sanska koza nije imala višu razinu progesterona od granične, dok je 7 od 8 burskih koza (koze br.: 2, 3, 4, 5, 6, 7 i 8) pokazalo vrijednosti progesterona više od 1 nmol/L i to najviše od 30. do 40. dana puerperija s maksimalnom vrijednosti od 5,31 nmol/L (30. dan puerperija burska koza broj 8). U autohtone je sirijske koze određivana razina progesterona (RIA) za vrijeme ciklusa te je utvrđeno da je u početku razina vrlo niska, oko $0,69 \pm 0,85$ nmol/L, a traje oko tri (dva do pet) dana. Slijedi nagli porast razine progesterona od 3,26 do 27,98 nmol/L, što upućuje na prisutnost žutog tijela, a traje prosječno $15,3 \pm 1,4$ dana. Dolazi do luteolize i naglog pada razine progesterona od 0 do 2,81 nmol/L (prosječno 0,68 nmol/L) (Zarkawi i Soukouti, 2001.). Kako nismo nastavili daljnja mjerenja iza 40. dana puerperija ne možemo usporediti rezultate s rezultatima spomenutih autora. Prosječna je razina progesterona u serumu kod indukcije estrusa u autohtonih koza u Južnoafričkoj Republici iznosila od 0,01 do 6,19, a kod burskih oko 9,05 nmol/L (Greyling i van Der Nest, 2000.). Najviša razina IGF-I u krvnom serumu burskih koza prethodi 8 dana prije porasta razine progesterona u krvnom serumu, iako su koze bile izvan sezone mrkanja (u mjesecu ožujku i travnju) (Đuričić i sur., 2011.).

Utvrdili smo da burske koze, za razliku od sanskih pokazuju znakove prve ciklične aktivnosti jainika već poslije tridesetog dana poslije porođaja. Određivanje progesterona u serumu koza za vrijeme ili tijekom puerperija može pomoći u određivanju reproduktivnog statusa koza.

Sažetak

Cilj istraživanja je bio usporediti koncentracije progesterona u krvnom serumu mliječnih i mesnih pasmina koza za vrijeme puerperija te odrediti postoji li povratak ciklične aktivnosti. Istraživanje smo provodili na 16 koza, 8 burskih i 8 sanskih koza u dobi od dvije do četiri godine. Istraživanje je trajalo

40 dana. Uzorci krvi su uzimani svaki deseti dan počevši od prvog do četrdesetog dana puerperija. Koze potječu iz jednog uzgoja s područja Koprivničko-križevačke županije, općina Đurđevac. Životinje su smještene u skupne nastambe i hranjene jednako: livadno sijeno po volji te oko 0,9 kg koncentrata po kozi dnevno. Za određivanje progesterona korištena je standardna RIA metoda s konjugiranim steroidima bez preinkubacije za mjerenje progesterona. Usporedbom rezultata ukupne razine progesterona u krvnom serumu burskih koza (poliestrične) i sanskih koza (sezonski poliestrične) ustanovljena je značajno viša razina progesterona ($P < 0,05$) kod burskih koza. Burske koze pokazuju znakove prve ciklične aktivnosti jainika već tridesetog dana poslije porođaja, za razliku od sanskih koza. Može se zaključiti da određivanje progesterona u serumu koza za vrijeme puerperija može pomoći u određivanju reproduktivnog statusa koza.

Literatura

1. BAUERNFEIND, M. and W. HOLTZ (1991): Progesterone and estrogen levels in serum of cyclic goats measured by enzyme immunoassay. *Small Rum. Res.* 6, 95-102.
2. CASEY, N. H. and W. A. VAN NIERKERK (1988): The boer goat. I. Origin, adaptability, performance testing, reproduction and milk production. *Small Rum. Res.* 1, 291-302.
3. CHEMINEAU, P. and J. A. DELGADILLO (1994): Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins. *INRA Prod. Anim.* 7, 315-326.
4. CHEMINEAU, P., G. BARIL, B. LEBOEUF, M. C. MAUREL, F. ROY, M. PELLICER-RUBIO, B. MALPAUX and Y. COGNIE (1999): Implications des progres recents en Physiologie de la reproduction dans l'espece caprine. *INRA Prod. Anim.* 12, 135-146.
5. ĐURIČIĆ, D. (2007): Usporedba razina progesterona i inzulina sličnog čimbenika rasta I te nekih biokemijskih pokazatelja u puerperiju burske i njemačke šarene koze. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
6. ĐURIČIĆ, D., T. DOBRANIĆ, M. SAMARDŽIJA, I. HARAPIN, S. VINCE, J. GRIZELJ, N. PRVANOVIĆ, D. GRAČNER, LJ. BEDRICA und D. CVITKOVIĆ (2008): Analyse der Ovarienaktivität der Burenziegen im Puerperium mit Hilfe des Stoffwechsel- und Hormonprofils. *Tierarztl. Umsch.* 63, 370-376.
7. ĐURIČIĆ, D., M. SAMARDŽIJA, T. DOBRANIĆ, L. VUKOŠA, I. HARAPIN, D. GRAČNER, Ž. PAVIČIĆ und Z. ŽVORC (2009): Einfluss der Jahreszeit auf die Serviceperiode und Zwischenlammzeit bei

- Burenziegen im nordwestlichen Teil Kroatiens. *Tierärztl. Umsch.* 64, 24-29.
8. ĐURIČIĆ, D., N. FILIPOVIĆ, T. DOBRANIĆ, M. LIPAR, N. PRVANOVIĆ, R. TURK, D. GRAČNER, D. STANIN, I. FOLNOŽIĆ and M. SAMARDŽIJA (2011): Progesterone and Insulin-Like Growth Factor I Levels in Blood of Boer Goats During Puerperium Out-of-Season in a Mild Climate Region. *Reprod. Dom. Anim.* 46, 776-780.
 9. ERASMUS, J. A. (2000): Adaptation to various environments and resistance to disease of the Improved Boer goat. *Small Rumin. Res.* 36, 179-187.
 10. FABRE-NYS, C. (2000): Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Prod. Anim.* 13, 11-23.
 11. GONZALES, F., F. CABRERA, M. BATISTA, N. RODRIGUEZ, D. ALAMO, J. SULON, J. F. BECKERS and A. GARCIA (2004): A comparison of diagnosis of pregnancy in the goat via transrectal ultrasound scanning, progesterone, and pregnancy-associated glycoprotein assays. *Theriogenology* 62, 1108-1115.
 12. GREYLING, J. P. C. and M. VAN DER NEST (1990): Ovulation in the Boer goat doe. *Small Rumin. Res.* 3, 457-464.
 13. GREYLING, J. P. C. and M. VAN DER NEST (2000): Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. *Small Rumin. Res.* 36, 201-207.
 14. KARSCH, F. J., E. L. BITTMAN, D. J. FOSTER, R. L. GOODMAN, S. J. LEGAN and J. E. ROBINSON (1984): Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog. Horm. Res.* 40, 185-232.
 15. LEGAN, S. J. and F. J. KARSCH (1980): Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. *Biol. Reprod.* 23, 1061-1068.
 16. MALAN, S. W. (2000): The Improved Boer goat. *Small Rumin. Res.* 36, 165-170.
 17. MIOČ, B. i V. PAVIĆ (2002): Reprodukcijska koza. U: *Kozarstvo*. (Ur. Vera VOLARIĆ). Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
 18. ROMANO, J. E. and D. FERNANDEZ ABELLA (1997): Effect of service on duration of oestrus in dairy goats. *Anim. Reprod. Sci.* 47, 107-112.
 19. SAKURAI, K., S. OHKURA, S. MATASUYAMA, K. KATOH, Y. OBARA and H. OKAMURA (2004): Body growth and plasma concentrations of metabolites and metabolic hormones during the pubertal period in female Shiba goats. *J. Reprod. Dev.* 50, 197-205.
 20. SAMARDŽIJA, M., D. ĐURIČIĆ, T. DOBRANIĆ, M. HERAK i S. VINCE (2010): Rasplodivanje ovaca i koza. (Ur. M. SAMARDŽIJA i M. POLETTTO). Veterinarski fakultet Zagreb Sveučilišta u Zagrebu.
 21. SHELTON, M. (1978): Reproduction and breeding of goats. *J. Dairy Sci.* 61, 994-1010.
 22. SOUSA, N. M., J. M. GARBAYO, J. R. FIGUEIREDO, J. SULON, P. B. D. GONCALVES and J. F. BECKERS (1999): Pregnancy-associated glycoprotein and progesterone profile during pregnancy and postpartum in native goats from the north-east of Brazil. *Small Rumin. Res.* 32, 137-140.
 23. ZARKAWI, M. and A. SOUKOUTI (2001): Serum progesterone levels using Radioimmunoassay during oestrus cycle of indigenous Damascus does. *N. Z. J. Agric. Res.* 44, 165-169.
 24. ZARROUK, A., O. SOULEM, P. V. DRION and J. F. BECKERS (2001): Caracteristiques de la reproduction de l'espece caprine. *Ann. Med. Vet.* 145, 98-105.

Comparison of Progesterone Blood Serum Levels in Saanen and Boer Goats During Puerperium

Antun STIPIĆ, DVM; Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Veterinary practice Đurđevac; Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Juraj GRIZELJ, DVM, PhD, Assistant Professor, Goran BAČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Tugomir KARADJOLE, DVM, PhD, Associate Professor, Nino MAČEŠIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Natalija FILIPOVIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Faculty of Medicine Split

The aim of the study was to compare progesterone concentrations in dairy and meat goat breeds in puerperium and to determine the possible return of ovarian cyclicity. A total of 16 goats (8 Boer and 8 Saanen) between the ages of 2 and 4 years were the subject of the 40-day study. Blood samples were collected every 10 days, beginning on the first and ending with the 40th day of puerperium. All goats were from the same flock from the Đurđevac municipality of Koprivnica-Križevci County. Goats were kept in joint quarters and fed evenly: hay as much as wanted and approximately 0.9

kg of feed concentrate per goat per day. To determine progesterone levels, a standard RIA method with conjugated steroids was used, without pre-incubation for progesterone measurement. A significantly higher level of progesterone was found in the blood serum of Boer goats (polyestric) than in Saanen goats (seasonally polyestric). Boer goats demonstrate signs of first cyclic ovarian activity on the 30th day after delivery, unlike Saanen goats. It can be concluded that determining progesterone levels in blood serum during puerperium can help to determine the reproductive state of goats.

Toltrazuril – primjena i farmakokinetika



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

Uvod

Kokcidioza je bolest prouzročena kokcidijama, parazitima roda *Eimeria*. Kokcidije su specifične za pojedine vrste životinja, a njihove oocite su otporne na nepovoljne čimbenike u okolišu (vlaga, toplina, isušivanje) te na određene dezinficijense. Dospjevši do crijeva, nasele se na sluznici i razmnožavaju te je uništavaju, što se očituje probavnim poremećajima i promjenom općeg stanja životinje. Razvojni ciklus parazita traje oko 7 dana, a nakon toga invadirana životinja izmetom počinje izlučivati kokcidije. Od kokcidioze uglavnom stradaju mlade životinje te starija populacija pri poremećaju ravnoteže probavnog sustava i pri padu opće otpornosti organizma (EMEA 2008.a).

Stoga se na velikim farmama peradi i kunića ne može isključiti pojava kokcidioze te se provodi prevencija u mladoj dobi dok imunosni sustav nije dovoljno razvijen da bi mogao održavati fiziološku mikropopulaciju u crijevima. Općenito se smatra da je kokcidioza bolest mladih organizama te je pri pojavi manje ili više sličnih simptoma kokcidioze u starijih jedinki uglavnom riječ o nekoj bakterijskoj infekciji (EMEA 2008.a,b).

Kokcidistatici se najčešće dodaju u hranu uglavnom u uzgajalištima pilića

u tovu za liječenje i prevenciju gdje je uslijed velike vlage, visoke temperature ili nečistoća pojavnost bolesti veća. Oni prekidaju rast i razvoj razvojnih oblika parazita, odnosno narušavaju transmembranski ionski gradijent potreban za rad i preživljavanje. Zahvaljujući tome takvi spojevi su specifični po sposobnosti lake apsorpcije iz gastrointestinalnog trakta i ugrađivanju u tkiva (Anadon i Martinez-Larranaga, 1999.).

U Europskoj Uniji kokcidistatici su ovlaštteni za uporabu kao dodatci hrani za životinje za sprječavanje kokcidioze u jednoj ili više životinjskih vrsta, što je određeno Uredbom 1831/2003 (EC, 2003.). Definirane su najviše dopuštene količine pojedinih kokcidistatika u pojedinim životinjskim vrstama. Međutim, njihova uporaba nije ovlaštena za kokoši nesilice (EMEA, 2004.).

Kokcidistatici se dijele u dvije skupine: prirodno proizvedni polieterski ionofori kao što su monenzin, narazin, lasalocid, salinomycin, maduramicin i semduramicin te kemijske spojeve kao što su halofuginon, robenidin, diklazuril i nikarbazin. Toltrazuril je sintetski spoj, derivat triazintriona koji se primjenjuje dodatkom u vodu za piće za liječenje

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Laboratorij za određivanje rezidua, Odjel za veterinarsko javno zdravstvo, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

kokcidioze pilića i purana te svinja i goveda (EMA, 2008.c).

Primjena toltrazurila

Toltrazuril je po svojoj strukturi simetrični spoj triazintriona (1-metil-3-[3-metil]-4[4-(trifluorometilsulfanil)fenoksi]fenil]-1,3,5-triazinan-2,4,6-trion (slika 1.). Primjena toltrazurila izaziva promjene strukture u razvojnim fazama kokcidija uslijed nabreknuća ednoplazmatskog retikuluma i Golgijevog aparata te abnormalnosti i ometanja u podjeli jezgre (Mehlhorn i sur., 1984., Haberkorn i Stoltefuss, 1987.). Toltrazuril uzrokuje smanjenje enzima u respiratornom lancu parazita. Međutim, točan biokemijski model njegova djelovanja nije odgonetnut (EMA, 1998.). Njegova se primjena pokazala efikasnom za sve vrste kokcidija u vrsta: kokoši (Mehlhorn i sur., 1984.), miševa (Haberkorn i sur., 1983.), golubova (Van Reeth i Vercruyse, 1993.), zečeva (Balicka-Ramisz, 1999.), pataka (Chauve i sur., 1994.), pasa (Daugochies i sur., 2000.), prasadi (Maes i sur., 2007.).

Primjena toltrazurila oralno u vodi za piće za liječenje kokcidioze u praksi se primjenjuje u intenzivnim proizvodnim sustavima peradi pri čemu se tretiraju sve životinje, iako ne pokazuju znakove bolesti. Toltrazuril se koristi kao oralna suspenzija proizvoda Baycox 2,5% (Bayer Health Care ili Ceva Sante Animale) u Austriji, Belgiji, Bugarskoj, Cipru, Češkoj, Francuskoj, Njemačkoj, Grčkoj, Mađarskoj, Irskoj, Italiji, Poljskoj,

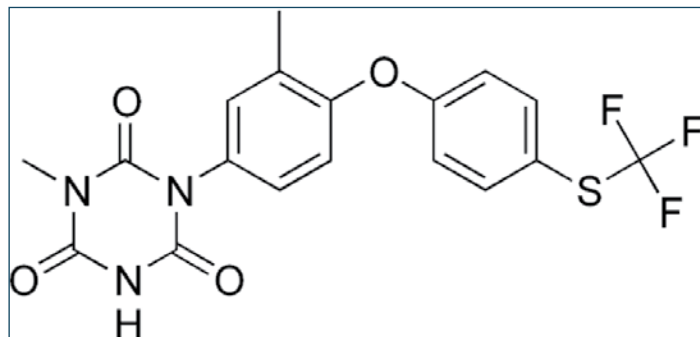
Portugalu, Rumunjskoj, Slovačkoj, Sloveniji, Nizozemskoj i Velikoj Britaniji (EMA, 2008.c). Preporučena doza i trajanje liječenja za piliće i purane je 7 mg/kg tjelesne težine dnevno dva uzastopna dana.

U tovnih se pilića toltrazuril primjenjuje nakon 14 dana starosti. Za kokoši, proizvod se može koristiti nakon dva tjedna starosti i prije nego se životinje počnu koristiti za nešenje jaja. S obzirom na duljinu zaostajanja ostataka toltrazurila u nekim se zemljama tovnici pilići rijetko tretiraju. U purana se koristi u 5.-6. tjednu starosti. Prema tome proizvod se ne koristi rutinski, ali se koristi pri pojavi kokcidioze. Međutim, u nekim državama članicama EU (Bugarska, Francuska i Rumunjska) toltrazuril se koristi za sprječavanje kokcidioze, odnosno za kontrolu kokcidioze (Irska). U težim slučajevima kokcidioze tretman se može ponoviti nakon pet dana. Za prevenciju u kokoši, preporuča se i primjena 9. i 10., 16. i 17. te 23. i 24. dana života.

U Poljskoj je proizvod odobren i za golubove za liječenje i sprječavanje kokcidioze u dozi od 20 mg/kg tjelesne težine dnevno tijekom tri uzastopna dana (EMA, 2008.c). Toltrazuril se primjenjuje i u teladi kao oralna suspenzija u jednoj dozi od 15 mg/kg tjelesne težine od oko 5 tjedana starosti i nadalje.

Farmakokinetika toltrazurila

Provedene su brojne farmakološke studije, odnosno određivanje apsorpcije,



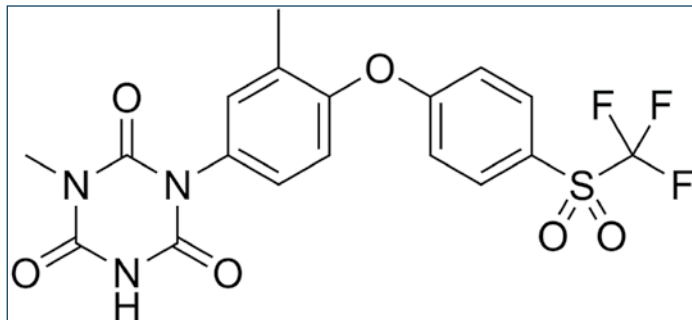
Slika 1. Strukturna formula toltrazurila.

distribucije, metabolizama te izlučivanja toltrazurila u štakora, kokoši, zečeva, konja i teladi (Tobin i sur., 1997., EMEA, 2000., Lim i sur., 2007., Kim i sur 2010.). Toltrazuril se metabolizira nizom oksidacija u derivate sulfoksida i sulfona, odnosno glavne metabolite toltrazuril sulfoksid i toltrazuril sulfon (slika 2.) poznat kao ponazuril (Furr i Kennedy, 2000., MacKay, 2006.). Ponazuril je najdjelotvorniji metabolit poznat kao antikokcidiostatik širokog spektra djelovanja (Lindsay i sur., 2000., Franklin i sur., 2003.). Brojne su studije pokazale da se toltrazuril dobro apsorbira u gastrointestinalnom traktu te brzo metabolizira u toltrazuril sulfoksid i toltrazuril sulfon. Pri tome se toltrazuril sulfon sporo eliminira iz plazme, odnosno tkiva životinja (EMEA, 1998.). Triazinski su spojevi među koje spada toltrazuril, poznati po svojim lipolitičkim karakteristikama te se nakon oralne primjene dobro apsorbiraju. Smatra se da apsorpcija kemikalija u gastrointestinalnom traktu ovisi o fizikalno-kemijskim svojstvima spojeva, kao što su topljivost lipida i brzina razgradnje (Houston i sur., 1974.).

Nakon oralne primjene toltrazurila od 7 mg/kg tjelesne težine u pura kroz dva dana određene su koncentracije toltrazurila od 0,62 g/mL te toltrazuril sulfoksida od 2 g/mL nakon druge aplikacije. Međutim, koncentracije toltrazurila u plazmi nisu više određene 24 sata nakon primjene, odnosno toltrazuril sulfoksida 72 sata nakon

primjene. Koncentracije glavnog metabolita toltrazuril sulfona od 5 g/mL izmjerene su nakon 24 sata nakon primjene te je zabilježen spori pad koncentracije, odnosno 2 g/mL i 120 sati nakon primjene (EMEA, 2004.).

Primjenom toltrazurila u kokoši u dozi od 14,1 mg/kg tjelesne težine dnevno tijekom dva uzastopna dana, 3 puta u jednom tjednu, dan nakon završetka tretmana utvrđene su koncentracije (g/kg): 773 u mišiću, 1845 u masnom tkivu, 870 u koži, 1332 u jetri te 1077 u bubregu. Šest dana nakon primjene određene su koncentracije (g/kg): 10 u mišiću, 81 u masnom tkivu, 33 u koži, 22 u jetri te 15 u bubregu. Deset dana nakon primjene toltrazuril je određen u masnom tkivu te koži (24 i 11 g/kg). Nadalje, dan nakon primjene određene su koncentracije toltrazuril sulfoksida (g/kg): 773 u mišiću, 1268 u masnom tkivu, 1030 u koži, 3416 u jetri te 4411 u bubregu. Zabilježen je pad koncentracija 6 dana nakon tretmana te su koncentracije toltrazuril sulfoksida u mišićnom tkivu, masti i koži bile oko granice kvantifikacije od 10 g/kg, a u jetri i bubregu 54, odnosno 95 g/kg. Deset dana nakon primjene toltrazuril sulfoksid izmjeren je jedino u jetri i bubregu (16 i 36 g/kg). U istom istraživanju koncentracije toltrazuril sulfona bile su znatno više od dva ostala metabolita te su dan nakon tretmana iznosile (mg/kg): 4742 u mišiću, 13267 u masnom tkivu, 7931 u koži, 21275 u jetri te 17084 u bubregu. Koncentracije u mišiću, masnom tkivu,



Slika 2. Strukturna formula toltrazuril sulfona.

koži, jetri i bubregu izmjerene 16 dana nakon tretmana iznosile su (g/kg): 38, 104, 97, 225 i 152. Dvadeset dana nakon tretmana koncentracije izmjerene u jetri i bubrezima bile su 117 i 152 g/kg, a u ostalim tkivima 30 do 85 g/kg.

Studija određivanja eliminacije radioaktivnog ^{14}C -toltrazurila provedena je nakon oralne primjene u teladi u dozi od 15 mg/kg tjelesne težine. Pri tome se toltrazuril polako apsorbira nakon oralne administracije te je maksimalna koncentracija u plazmi (33,41 mg ekvivalent/l) utvrđena 120 sati nakon oralne primjene. Poluvrijeme eliminacije je 154 sati (EMEA, 2004.). Najveća koncentracija radioaktivnosti zabilježena je u jetri cijelo vrijeme uzorkovanja. U početku, toltrazuril je glavni sastojak u plazmi te tkivima nakon doziranja. Međutim, nakon toga toltrazuril sulfon čini većinu sadržaja radioaktivnosti. Koncentracije toltrazuril sulfona izmjerene 28 i 56 dana nakon tretmana iznosile su (g/kg): 8515 i 617 u jetri, 4251 i 319 u bubregu, 1296 i 71 u mišićima i 3920 i 261 g/kg u masti. Toltrazuril sulfon se stoga jer je određen u svim tkivima smatra najprikladnijim markerom ostataka toltrazurila. Omjeri između marker/ukupni ostatci utvrđeni 56 dana nakon tretmana za jetru, bubrege, mišiće i masno tkivo bili su 0,92, 0,94, 0,85 i 0,89 (EMEA, 2004.).

Zadržavanje ostataka toltrazuril sulfona u teladi određivano je nakon oralne primjene jedne doze toltrazurila na 15 mg/kg tjelesne težine. Srednje koncentracije toltrazuril sulfona (g/kg) utvrđene 28 dana nakon liječenja u tkivima bile su: 4290 u jetri, 2247 u bubregu, 643 u mišiću te 1652 u masnom tkivu. Također, 42 dana nakon tretmana određene su slijedeće koncentracije u tkivima (g/kg): 848 u jetri, 393 u bubregu, 99 u mišiću i 260 u masnom tkivu. Nakon 70 dana po završetku tretmana u svim uzorcima koncentracije su bile ispod granice kvantifikacije analitičke metode, odnosno 40 g/kg u jetri te 30 g/kg u

drugim jestivim tkivima (EMEA, 2004.).

U nedavnom istraživanju farmakokinetike u zečeva nakon oralne primjene u dozi od 10 mg/kg tjelesne težine toltrazurila utvrđene su koncentracije u plazmi: toltrazurila 30,2 g/mL nakon 20 sati, toltrazuril sulfoksida od 8,9 g/mL nakon 20 te toltrazuril sulfona od 14,7 g/mL nakon 96 sati (Kim i sur., 2010.). Poluvrijeme raspada toltrazurila, toltrazuril sulfoksida i toltrazuril sulfona nakon primjene doze od 10 mg/kg iznosi 52,7, 56,1 i 76,7 sati. Nakon primjene doze od 20 mg/kg tjelesne težine koncentracije su u plazmi iznosile toltrazuril 39,4 g/mL nakon 28 sati, toltrazuril sulfoksid 12,5 g/mL nakon 20 te toltrazuril sulfon 24,9 g/mL nakon 112 sati.

Toltrazuril sulfon i toltrazuril sulfoksid su isto tako glavni metaboliti toltrazurila nakon peroralne primjene Baycox-a u dozi od 10 mg/kg u konja (Furr i Kennedy, 2000.). Oba metabolita prolaze i krvno-moždanu barijeru te su srednje koncentracije toltrazuril sulfona u cerebrospinalnom likvoru (CSF) nakon 10 dana liječenja 0,09, 0,157 i 0,223 g/mL nakon dnevnih oralnih doza toltrazurila od 2,5, 5 i 7,5 mg/kg. Srednje koncentracije toltrazuril sulfoksida u cerebrospinalnom likvoru (CSF) nakon 10 dana liječenja bile su 0,073, 0,110 i 0,147 g/mL nakon dnevnih doza toltrazuril 2,5, 5 i 7,5 mg/kg. Pri tome nije bilo znakova toksičnosti toltrazurila i nakon 2 mjeseca ili duže oralne primjene toltrazurila (Furr i Kennedy, 2000., Dirikolu i sur., 2009.).

Toltrazuril sulfon primijenjen je u liječenju mijeloencefalitisa (EPM) u konja (Furr i sur., 2001.). Oko 100 konja koji nisu prethodno liječeni za EPM tretirano je 28 dana formulacijom paste ponazurila u koncentraciji od 5 ili 10 mg/kg. U 71% životinja stanje se poboljšalo bez znakova toksičnosti. Određene su koncentracije toltrazuril sulfona u CSF od 150-180 ng/mL od 7 do 28 dana te pad koncentracija do 20 ng/mL 7 dana nakon oralne primjene ponazurila od 5 mg/kg/dan.

Postoji svega nekoliko studija

farmakokinetike ostataka toltrazurila u jajima nakon oralne primjene u kokoši nesilica. Primjenom toltrazurila u kokoši nesilica u vodi u koncentraciji od 78 mg/L tijekom 2 dana te nakon 5 dana ponovno tijekom 2 dana, najviše koncentracije ostatka toltrazurila u cijelom jaju određene tijekom tretmana iznosile su 1500 µg/kg toltrazurila te 11000 µg/kg toltrazuril sulfona (Mulder i sur., 2005.). Ostaci toltrazurila i toltrazuril sulfona uglavnom su distribuirani u žumanjku jajeta. Na kraju istraživanja, odnosno 19 dana nakon završetka tretmana koncentracije toltrazurila su pale ispod granice detekcije metode od 30 µg/kg dok je određena koncentracija toltrazuril sulfona u žumanjku od 5650 µg/kg, odnosno jaju od 1940 µg/kg.

U nedavnom istraživanju eliminacije toltrazurila u jajima nakon primjene u kokoši nesilica u suspenziji od 125 mg/L, odnosno od 17,25 mg/kg tjelesne težine dnevno po dva dana u tri navrata (dani 1, 2, 7, 8, 13 i 14) određene su koncentracije ostatka toltrazurila i toltrazuril sulfona u cijelom jajetu te bjelanjku i žumanjku (Varenina i sur., 2012.). Najviše koncentracije toltrazurila u žumanjku od 19366 µg/kg određene su osmog dana tretmana, odnosno toltrazuril sulfona od 46451 µg/kg prvog dana nakon zadnje primjene. Toltrazuril je određen čak 50 dana nakon završetka tretmana, a poluvrijeme eliminacije toltrazuril sulfona iznosilo je 6 dana. Na kraju studije, odnosno 50 dana nakon tretmana izmjerene su koncentracije toltrazuril sulfona od 294 µg/kg u cijelom jajetu te 998 µg/kg u žumanjku i 80,8 µg/kg u bjelanjku.

Toksičnost toltrazurila

Provedene su toksikološke studije toltrazurila u štakora, pasa i miševa te karcinogene studije na štakorima i miševima (EMEA, 2004.). Istraživanja u štakora primjenom toltrazurila u hranjivu od 15, 60 i 240 mg/kg kroz 3 mjeseca odnosno u dozama 1,1, 4,2 i 16,6 mg/kg

tjelesne težine dnevno, utvrđeno je da na najvišoj dozi dolazi do značajnog pada tjelesne težine te promjena u krvnoj slici i narušavanja funkcija jetre. Doza na kojoj nisu uočeni nikakvi utjecaji (NOEL; no-observed-effect level) je 1 mg/kg tjelesne težine dnevno.

Istraživanja u pasa primjenom toltrazurila u dozama od 1,5, 4,5 i 13,5 mg/kg tjelesne težine dnevno, na najvišoj dozi utvrđena su značajna povećanja težine srca te smanjenje srednje težine testisa i prostate (EMEA, 1998.). U ovome istraživanju NOEL doza je 1,5 mg/kg tjelesne težine dnevno.

U teratogenim studijama na štakorima primjenom doza od 3, 10 i 30 mg/kg tjelesne težine dnevno na najvišoj primijenjenoj dozi utvrđeni su teratogeni i embriotoksični učinci, kao što su displazija dugačkih kostiju te značajno smanjenje broja preživjelih fetusa pri dozama od 10 i 30 mg/kg tjelesne težine dnevno. Najniža doza pri kojoj se uočavaju utjecaji (LOEL, lowest-observed-effect level) je 1 mg/kg tjelesne težine dnevno. U drugoj teratogenoj studiji na štakorima primjenom toltrazurila u dozama od 1, 3, 10 i 30 mg/kg tjelesne težine dnevno, doze na kojima nisu uočeni nikakvi utjecaji (NOEL) su 3 i 10 mg/kg tjelesne težine dnevno.

Teratogeni učinci toltrazurila utvrđeni su u zečeva te je pri primjeni doza od 3 i 10 mg/kg tjelesne težine dnevno utvrđeno značajno povećanje broja pobačaja. Karcinogena su istraživanja u miševa pokazala značajno povećanje pojave limfoma pri najvišoj dozi toltrazurila od 18 mg/kg tjelesne težine dnevno odnosno u 18% mužjaka te 34% ženki. U ženki štakora, utvrđene su povećane pojave adenokarcinoma endometrija na najvišoj primijenjenoj dozi od 10 mg/kg tjelesne težine dnevno te neoplastične lezije uterusa pri primjeni doza od 3 i 10 mg/kg tjelesne težine dnevno.

Na temelju toksikoloških studija utvrđena je toksičnost toltrazurila za ljude, odnosno dnevna doza unosa

(ADI, acceptable daily intake) od 2 g/kg tjelesne težine, odnosno 120 µg po osobi (EMEA, 1998.).

Rizik primjene toltrazurila na okoliš

Nedavna su istraživanja prikazala zabrinutost zbog prisutnosti veterinarskih lijekova u okolišu te mogućih dugoročnih utjecaja na okoliš (EMEA, 2008.c, Hansen i sur., 2009., Ramaswamy i sur., 2010.). Smatra se da odobrenje Baycoxa (2,5%) može predstavljati ozbiljan potencijalni rizik za okoliš. Naime, postoje dokazi o neprihvatljivom riziku za biljke i podzemne vode kada se gnojivo dobiveno od peradi tretirane s Baycoksom primjenjuje na poljoprivrednom zemljištu. Toltrazuril i njegov glavni metabolit toltrazuril sulfon su organohalogeni te mogu dospjeti do podzemne vode nakon primjene gnoja tretirane peradi na poljoprivrednom zemljištu.

Kako je već naznačeno Baycox se koristi u tovnih pilića i ne koristi se rutinski, nego najčešće pri pojavi kokcidioze. Malo je vjerojatno da će se primijeniti više od jedan ili dva ciklusa pri uzgoju na istoj farmi. Izmet se s peradarskih farmi prikuplja, transportira te prodaje te se gnoj tretirane peradi miješa s gnojem peradi koja nije tretirana.

Nakon primjene toltrazuril se izlučuje kao mješavina matičnog spoja i glavnog metabolita toltrazuril sulfona. U tlu se toltrazuril brzo degradira (DT_{50} 7,5 dana) na toltrazuril sulfon. Dokazano je da je toltrazuril sulfon vrlo otporan u tlu (DT_{50} 472 dana), no valja napomenuti da postoji visok stupanj varijabilnosti u podacima u rasponu od 87 do 3285 dana. Dokazano je da je otrovan za biljke, odnosno njegova svojstva ukazuju da možda postoji mogućnost negativnih učinaka za biljke te potencijalna opasnost za podzemne vode (EMEA, 2008.c). Povoljne okolnosti pri riziku kontaminacije tla i vode je što je malo vjerojatno da će se isto leglo liječiti toltrazurilom u istoj godini te da

je liječenje vezano za izbijanje kokcidioze što isključuje ponovno nakupljanje na istom području zemljišta.

Kontrola ostataka toltrazirila i toltrazuril sulfona

Veterinarski lijekovi, dodatci hrani za životinje te tako i kokcidiostatiki pri određenim koncentracijama mogu biti štetni ako uđu u čovjekov prehrambeni lanac (McEvoy, 2002.). Znatna uporaba veterinarskih lijekova i aditiva utječe na mnogobrojne slučajeve kontaminacije životinja i njihovih proizvoda. Iako se pojavnost ostataka kokcidiostatika, odnosno toltrazurila u hrani životinjskog podrijetla ne može izbjeći, na to se može utjecati poštujući utvrđeno vrijeme zadržavanja u tkivu životinja. Najveće dopuštene količine ostataka toltrazurila i trazuril sulfona u jestivim tkivima (mišić, jetra, bubreg, masno tkivo) svih vrsta životinja koje se koriste za proizvodnju hrane određene su Uredbom Vijeća 37/2010/EU (EC, 2010.) odnosno u Republici Hrvatskoj Pravilnikom (N. N. br. 21/2011.) te su prikazane u Tabeli 1.

Različiti su razlozi utvrđivanja ostataka kokcidiostatika u jajima iako su zabranjeni za primjenu u kokoši nesilica. Smatra se da su najčešće posljedica slučajne unakrsne kontaminacije u pripremi hrane ili njihova nepravilna uporaba na farmama (McEvoy, 2002.). U Europskoj Uniji u okviru državnih programa praćenja rezidua i različitih istraživanja utvrđene su pojave povećanih koncentracija kokcidiostatika kao na primjer nikarbazina i robenidina (Danaher i sur., 2008., VRC, 2001.-2010.) te lasalocida ili salinomicina u jajima, odnosno jetri peradi (Mortier i sur., 2005.).

Dostupnost prikladnih određivanja kokcidiostatika je važan cilj laboratorija uključenih u službene kontrole ovih spojeva. Međutim, istodobno određivanje ionofornih i kemijskih kokcidiostatika predstavlja s analitičkog

Tabela 1. Najveće dopuštene količine ostataka toltrazurila i toltrazuril sulfona u hrani životinjskog podrijetla.

Farmakološki aktivna tvar/ Marker rezidua	Vrsta životinje	Najveće dopuštene količine (µg/kg)	Ciljno tkivo	Napomena
Toltrazuril / Toltrazuril sulfon	Sve vrste sisavaca koje se koriste za proizvodnju hrane	100 150 500 250	mišić masno tkivo jetra bubreg	Za svinje NDK za masno tkivo se odnosi na „kožu i masno tkivo u prirodnom omjeru“.
	Perad	100 200 600 400	mišić koža i masno tkivo jetra bubreg	Ne primjenjuje se kod životinja čije se mlijeko koristi za hranu.

stajališta ozbiljne poteškoće budući da se kokcidiostatici, unatoč njihovom zajedničkom farmakološkom djelovanju, uvelike razlikuju po kemijskim strukturi i svojstvima. Koncentracije jednog ili više kokcidiostatika u različitim vrstama uzoraka određuju se primjenom nekoliko različitih analitičkih metoda, najčešće tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) s UV (Stahl i Johnston, 2002., Dowling i sur., 2005., Mulder i sur., 2005.) ili flouroscentnom detekcijom (Asukabe i sur., 1994., Crooks i sur., 1998.).

Odnedavno, spajanjem metoda tekućinske kromatografije s detekcijom sa spektrometrijom masa, obično u kombinaciji s dvojnog (tandem) masenom spektrometrijom (LC-MS/MS), razvijene su zadovoljavajuće multirezidualne metode koje omogućuju analizu više različitih kokcidiostatika na vrlo niskim granicama određivanja (Matabudul i sur., 2002., Dubois i sur., 2004., Heller i sur., 2004., Mortier i sur., 2003., Mortier i sur., 2005., Rokka i sur., 2006., Dubreil-Chéneau i sur., 2009.) uključujući i do četrnaest kokcidiostatika u hrani i hrani za životinje (Olejniki i sur., 2009., Delahaut i sur., 2010.). Danas su razvijene multirezidualne LC-MS/MS metode određivanja kokcidiostatika koje uključuju i određivanje toltrazurila u tkivima i jajima (Dubois i sur., 2004., Dubreil-Chéneau i

sur., 2009., Olejniki i sur., 2009., Aia i sur., 2011., Galarini i sur., 2011.).

Metoda LC-MS/MS osigurava visoku selektivnost te specifičnost i osjetljivost u odnosu na HPLC metode. Matriks interferencije koje nastaju zbog velikih molekula poput proteina i lipofilnih spojeva u životinjskim tkivima i jajima mogu biti ozbiljna prepreka u kvantifikaciji lipofilnih triazinskih kokcidiostatika. Zbog toga se primjenjuju učinkoviti postupci pročišćavanja višestrukim postupcima odmašćivanja otapalima, kruto-faznom ekstrakcijom ili pročišćavanje gel permeacijskom kromatografijom.

Sažetak

Farmakološke tvari kokcidiostatici koriste se za suzbijanje kokcidioze, bolest prouzročene kokcijama, parazitima iz roda *Eimeria*. Koriste se dodatkom u hranu uglavnom kod pilića u tovu za liječenje i prevenciju u uzgajalištima gdje je uslijed velike vlage, visoke temperature ili nečistoća pojavnost bolesti veća. Toltrazuril je sintetski derivat triazintriona koji se koristi kao oralna suspenzija u vodi za piće za liječenje kokcidioze pilića i purana te svinja i goveda. Preporučena doza i trajanje liječenja za piliće i purane je 7 mg/kg tjelesne težine dnevno u dva uzastopna dana. Farmakološke studije su pokazale da se toltrazuril dobro

apsorbira u gastrointestinalnom traktu te brzo metabolizira u toltrazuril sulfoksid i toltrazuril sulfon poznat kao ponazuril. Pri tome se toltrazuril sulfon sporo eliminira iz tkiva kokoši, teladi i pura te se smatra glavnim markerom rezidua toltrazurila. Tako je na primjer utvrđeno da se ostatci toltrazuril sulfona u teladi nakon primjene jedne oralne doze toltrazurila od 15 mg/kg tjelesne težine mogu odrediti i 42 dana nakon primjene te su utvrđene koncentracije u tkivima (g/kg): 848 u jetri, 393 u bubrežima, 99 u mišićima i 260 u masnom tkivu. I nakon 70 dana po završetku tretmana u uzorcima jetre se još mogu odrediti ostatci toltrazuril sulfona.

Toksikološka su istraživanja toltrazurila na štakorima primjenom viših doza pokazala utjecaj na značajan pad tjelesne težine, promjene u krvnoj slici i narušavanje funkcije jetre te teratogene i embriotoksične učinke kao što su displazija dugačkih kostiju i značajno smanjenje broja preživjelih fetusa na višim dozama. Pokazano je da je toltrazuril sulfon vrlo stabilan u tlu te je dokazano da je otrovan za biljke, odnosno njegova svojstva sugeriraju da možda postoji mogućnost negativnih učinaka za biljke kada se gnoj tretirane peradi koristi na poljoprivrednim zemljištima te je i potencijalna opasnost za podzemne vode.

Najveće dopuštene količine ostataka toltrazurila i toltrazuril sulfona u jestivim tkivima (mišić, jetra, bubrezi, masno tkivo) svih vrsta životinja koje se koriste za proizvodnju hrane su definirane u rasponu od 100 u mišićnom tkivu do 600 µg/kg u bubregu. Danas se za određivanje ostataka kokcidiostatika, odnosno toltrazurila primjenjuju metode tekućinske kromatografije sa spektrometrijom masa obično u kombinaciji s dvojnog (tandem) masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) visoke selektivnosti, specifičnosti i osjetljivosti koje omogućuju analizu više različitih kokcidiostatika na vrlo niskim granicama određivanja.

Literatura

1. AIA, L., H. SUN, F. WANG, R. CHEN and C. GUO (2011): Determination of diclazuril, toltrazuril and its two metabolites in poultry tissues and eggs by gel permeation chromatography-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chrom. B* 879, 1757-1763.
2. ANADON, A. and M. R. MARTINEZ-LARRANAGA (1999): Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livestock. Prod. Sci.* 59, 183-198.
3. ASUKABE, H., H. MURATA, K. HARADA, M. SUZUKI, H. OKA and Y. IKAI (1994): Improvement of chemical analysis of antibiotics. 21. Simultaneous determination of three polyether antibiotics in feeds using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.* 42, 112-116.
4. BALICKA-RAMISZ, A. (1999): The influence of coccidiostats on the course of coccidiosis and production results in an industrial rabbit farm. *Wiad. Parazytol.* 45, 193-198.
5. CROOKS, S. R. H., T. L. FODEY, G. R. GILMORE and C. ELLIOT (1998): Rapid screening for monensin residues in poultry plasma by a dry reagent dissociation enhanced lanthanide fluoroimmunoassay. *Analyst* 123, 2493-2496.
6. CHAUVE, C. M., M. C. REYNAUD and J. M. GOUNEL (1994): Description of *Eimeria mulari* n. sp. from the hybrid duck. Study of the endogenous phase of its developmental cycle with demonstration of intranuclear development. *Parasite* 25, 37-50.
7. DANAHER, M., K. CAMPBELL, M. O'KEEFFE, E. CAPURRO, G. KENNEDY and C. T. ELLIOTT (2008): Survey of the anticoccidial feed additive nicarbazin (as dinitrocarbanilide residues) in poultry and eggs. *Food Addit. Contam.* 25, 32-40.
8. DAUGSCHIES, A., H. C. MUNDT and V. LETKOVA (2000): Toltrazuril treatment of cystoisosporosis in dogs under experimental and field conditions. *Parasitol. Res.* 86, 797-799.
9. DELAHAUT, H., G. PIERRET, N. RALET, M. DUBOIS and N. GILLARD (2010): Multi-residue method for detecting coccidiostats at carry-over level in feed by HPLC-MS/MS. *Food Addit. Contam.* 27, 801-809.
10. DIRIKOLU, L., W. KARPESIUŁ, A. F. LEHNER, C. HUGHES, D. E. GRANSTROM and T. TOBIN (2009): Synthesis and detection of toltrazuril sulfone and its pharmacokinetics in horses following administration in dimethylsulfoxide. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 32, 368-378.
11. DOWLING, G., M. O'KEEFE and M. R. SMYTH (2005): Determination of robenidine in eggs by liquid chromatography with UV spectrophotometric detection. *Anal. Chim. Acta* 539, 31-34.
12. DUBOIS, M., G. PIERRET and Ph. DELAHAUT (2004): Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 813, 181-189.
13. DUBREIL-CHÉNEAU, E., M. BESSIRAL, B. ROUDAUT, E. VERDON and P. SANDERS (2009): Validation of a multi-residue liquid chromatography-tandem mass spectrometry confirmatory method for 10 anticoccidials in eggs according to Commission Decision 2002/657/EC. *J. Chromatogr. B* 1216, 8149-8157.
14. EC (2003): Commission Decision 1831/2003 of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Off. J. Eur. Commun.* L268, 29-43.
15. EC (2010): Commission Regulation 885/2010 of 7 October 2010 on concerning the authorization

- of the preparation of narasin and nicarbazin as feed additive for chicken for fattening (holder of authorization ELI Lilly and Company Ltd) and amending Regulation (Ec) No 2430/1999. Off. J. Eur. Commun. L265, 5-8
16. EMEA (1998): European Agency for the Evaluation of Medical Products. Committee for medicinal products for veterinary use. Toltrazuril. Summary Report (1). EMEA/MRL/314/97-Final 1998, April 1998.
 17. EMEA (2000): European Agency for the evaluation of European Medicines Agency (EMA). Committee for Veterinary Products/The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Toltrazuril (Extension to Pig)—Summary Report. EMEA/MRL/907/00-FINAL, 2000.
 18. EMEA (2004): European Agency for the Evaluation of Medical Products. Committee for medicinal products for veterinary use. Toltrazuril (extension to cattle). Summary Report (4). EMEA/MRL/907/04-Final, June 2004.
 19. EMEA (2008a): European Agency for the Evaluation of Medical Products. Committee for medicinal products for veterinary use. Opinion following an article 35¹ referral for all authorised veterinary medicinal products containing toltrazuril intended for use in poultry species. EMEA/402698/2008, 26 September 2008.
 20. EMEA (2008b): Cross-contamination of non-target feedingstuffs by maduramicin authorised for use as a feed additive: Scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain Question N° EFSA-Q-2005-220F. EFSA J. 594, 1-30.
 21. EMEA (2008c): European Medicines Agency. Annex I, II and III of Toltrazuril. EMEA/CVMP/345752/2008-EN. 16-7-2008.
 22. FRANKLIN, R. P., R. J. MACKAY, K. D. GILLIS, S. M. TANHAUSER, P. E. GINN and T. J. KENNEDY (2003): Effect of a single dose of ponazuril on neural infection and clinical disease in *Sarcocystis neurona*-challenged interferon-gamma knock-out mice. *Vet. Parasitol.* 114, 123–130.
 23. FURR, M. and T. KENNEDY (2000): Cerebrospinal fluid and blood concentration of toltrazuril 5% suspension in the horse after oral dosing. *Vet. Therap.* 1, 125–132.
 24. FURR, M., T. KENNEDY, R. MACKAY, S. REED, F. ANDREWS, B. BERNARD, F. BAIN and D. BYARS (2001): Efficacy of ponazuril 15% oral paste as a treatment for equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Therap.* 2, 215–222.
 25. GALARINI R., L. FIORONI, S. MORETTI, L. PETTINACCI and G. DUSI (2011): Development and validation of a multi-residue liquid chromatography-tandem mass spectrometry confirmatory method for eleven coccidiostats in eggs. *Anal. Chim. Acta* 700, 167–176.
 26. HANSEN, M., E. BJÖRKLUND, K. A. KROGH and B. HALLING-SØRENSEN (2009): Analytical strategies for assessing ionophores in the environment. *Tr. Anal. Chem.* 28, 521–533.
 27. HABERKORN, A., C. W. FRIIS, H. P. SCHULZ, G. MEISTER and W. FELLER (1983): Control of an outbreak of mouse coccidiosis in a closed colony. *Lab. Anim.* 17, 59–64.
 28. HABERKORN, A. and J. STOLTEFUSS (1987): Studies on the activity spectrum of toltrazuril, a new anticoccidial agent. *Vet. Med. Rev.* 1, 22–32.
 29. HELLER, D. N. and C. B. NOCHETTO (2004): Development of multiclass methods for drug residues in eggs: silica SPE cleanup and LC-MS/MS analysis of ionophore and macrolide residues. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6848–6856.
 30. HOUSTON, J. B., D. G. UPSHALL and J. W. BRIDGES (1974): A re-evaluation of the importance of partition coefficients in the gastrointestinal absorption of nutrients. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 189, 244–254.
 31. KIM, M.-S., J.-H. LIM, Y.-H. HWANG, B.-K. PARK, I.-B. SONG and H.-I. YUN (2010): Plasma disposition of toltrazuril and its metabolites, toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, in rabbits after oral administration. *Vet. Parasitol.* 169, 51–5631.
 32. LIM, J. H., B. K. PARK, M. S. KIM, Y. H. HWANG, I. B. SONG and H. I. YUN (2007): Pharmacokinetics of toltrazuril after oral administrations in broilers. *J. Vet. Clin.* 24, 308–311.
 33. LINDSAY, D. S., J. P. DUBEY and T. J. KENNEDY (2000): Determination of the activity of ponazuril against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. *Vet. Parasitol.* 92, 165–169.
 34. MAES, D., P. VYT, P. RABAEYS and D. GEVAERT (2007): Effects of toltrazuril on the growth of piglets in herds without clinical isosporosis. *Vet. J.* 173, 197–199.
 35. MATABUDUL, D. K., I. D. LUMLEY and J. S. POINTS (2002): The determination of 5 anticoccidial drugs (nicarbazin, lasalocid, monensin, salinomycin and narasin) in animal livers and eggs by liquid chromatography linked with tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). *Analyst* 127, 760–768.
 36. McEVOY, J. D. G. (2002): Contamination of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control. *Anal. Chim. Acta* 473, 3–26.
 37. MACKAY, R. J. (2006): Equine protozoal myeloencephalitis: treatment, prognosis, and prevention. *Clin. Tech. Equine Pract.* 5, 9–16.
 38. MEHLHORN, H., G. ORTSMANN-FALKENSTEIN and A. HAABERKORN (1984): The effects of sym. Triazinones on developmental stages of *Eimeria tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina*: a light and electron microscopical study. *Z. Parasitenkd.* 70, 173–182.
 39. MORTIER, L., E. DAESELEIRE and P. DELAHAUT (2003): Simultaneous detection of five coccidiostats in eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 483, 27–37.
 40. MORTIER, L., E. DAESELEIRE and C. VAN PETEGHEM (2005): Liquid chromatographic tandem mass spectrometric determination of five coccidiostats in poultry eggs and feed. *J. Chromatogr. B* 820, 261–270.
 41. MULDER, P. P. J., P. BALZER-RUTGERS, E. M. BRINKE, Y. J. C. BOLCK, B. J. A. BERENDSE, H. GERCEK, B. SCHAT and J. A. van RHIJN (2005): Deposition and depletion of the coccidiostats toltrazuril and halofuginone in eggs. *Anal. Chim. Acta* 525, 331–337.
 42. OLEJNIK, M., T. SZPRENGIER-JUSZKIEWICZA and P. JEDZINIAKA (2009): Multi-residue confirmatory method for the determination of twelve coccidiostats in chicken liver using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chrom.* A 1216, 8141–8148.
 43. Pravilnik o farmakološki djelatnim tvarima i njihovoj klasifikaciji u odnosu na najveće dopuštene količine rezidua u hrani životinjskog podrijetla (Narodne novine broj 21/2011.).
 44. PEETERS, J. E. and R. GEEROMS (1986): Efficacy of toltrazuril against intestinal and hepatic coccidiosis in rabbits. *Vet. Parasitol.* 22, 21–35.

45. RAMASWAMY, J., S. O. PRASHER, R. M. PATEL, S. A. HUSSAIN and S. F. BARRINGTON (2010): The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical. *Biores. Technol.* 101, 2294–2299.
46. ROKKA, M. and K. PELTONEN (2006): Simultaneous determination of four coccidiostats in eggs and broiler meat: validation of an LC-MS/MS method. *Food Addit. Contam.* 23, 470–478.
47. STAHL, R. S. and J. J. JOHNSTON (2002): High-performance liquid chromatography-based determination of nicarbazin excretion in waterfowl. *J. Chromatogr. B* 775, 103–108.
48. TOBIN, T., L. DIRIKOLU, J. D. HARKINS, D. E. GARNSTROM, W. CARTER, F. LEHNER and W. A. REES (1997): Preliminary pharmacokinetics of diclazuril and toltrazuril in the horse. *Am. Assoc. Equine Pract.* 43, 15–16.
49. VAN REETH, K. and J. VERCRUYSE (1993): Efficacy of toltrazuril against experimental infections with *Eimeria labbeana* and *E. columbarum* in racing pigeons. *Avian Dis.* 37, 218–221.
50. VARENINA, I., N. BILANDŽIĆ, Ž. CVETNIĆ, L. CVETNIĆ, T. NEKIĆ, Đ. BOŽIĆ and BOŽICA SOLOMUN KOLANOVIĆ (2012): Deposition of toltrazuril residues in eggs during and after treatment with dose over the therapeutic dose. In *Proceedings: EuroResidue VII, Conference on residues of veterinary drugs in food*, The Netherlands, in press.
51. VRC (2001-2010): Veterinary Residues Committee's Annual Report on surveillance for Veterinary Residues in Food in UK for 2001 to 2010. Dostupno na: <http://www.vmd.defra.gov.uk/vrc/Reports/annual.htm>.

Toltrazuril - administration and pharmacokinetics

Nina BILANDŽIĆ, BSc, PhD, Scientific Advisor, Ivana VARENINA BSc, Đurđica BOŽIĆ, BSc, Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, BSc, Laboratory for Residue Control, Department for Veterinary Public Health, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Pharmacological agents called coccidiostats are used to control coccidiosis, a disease caused by coccidia, parasites of the genus *Eimeria*. They are used mainly in food supplements for chickens for fattening, for the treatment and prevention at farms where a larger incidence of the disease arises due to high humidity, high temperatures or dirt. Toltrazuril is a synthetic derivative of triazinetrione, which is used as an oral suspension in drinking water for the treatment of coccidiosis in chickens, turkeys, pigs and cattle. The recommended dose and duration of treatment for chickens and turkeys is 7 mg/kg body weight per day for two consecutive days. Pharmacological studies have shown that toltrazuril is well absorbed in the gastrointestinal tract and rapidly metabolized into toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, also known as ponazuril. Toltrazuril sulfone is slowly eliminated from tissues of chickens, turkeys, and calves, and is considered a marker of toltrazuril residues. For example, residues of toltrazuril sulfone in calves after administration of a single oral dose of toltrazuril of 15 mg/kg body weight can be determined 42 days after administration, with concentrations of (g/kg): 848 in liver, 393 in kidney, 99 in muscle and 260 in

adipose tissue. Also, 70 days after treatment, residues of toltrazuril sulfone can still be determined in liver samples. Toxicological studies of toltrazuril on rats have shown that higher doses cause significant decreases in body weight, changes in blood count and liver function disturbance, and teratogenic and embryotoxic effects such as dysplasia of long bones and significant reduction of the number of foetuses. It is shown that toltrazuril sulfone is very stable in soil and has proven to be toxic to plants. Its properties suggest that there may be the possibility of adverse effects to plants when treated with poultry manure used in farming and that it may pose a potential threat to groundwater. The maximum residue levels for toltrazuril and toltrazuril sulfone in edible tissues (muscle, liver, kidney, adipose tissue) for animals used for food production has been set in the range from 100 g/kg in muscle tissue to 600 g/kg in the kidneys. Today, liquid chromatography with mass spectrometry is used for the determination of coccidiostats and toltrazuril, and this method is usually combined with dual (tandem) mass spectrometry (LC-MS/MS), which has high selectivity, specificity and sensitivity to allow for the analysis of different coccidiostats at very low detection limits.



Zaštita na
pravi način!

FYPRYST®

fipronil

Otopina za nakapavanje na kožu

Zaštita od



Prije primjene pažljivo pročitajte uputu o VMP.

KRKA-FARMA d.o.o.
Radnička cesta 48/II p.p.205, Zagreb 10002
Telefon: 01/63 12 100, 63 12 101. Faks: 01/61 76 739.
E-mail: krka-farma@zg.htnet.hr. www.krka.biz/hr

Sastav Pipeta (0,67 ml) sadržava: ljevakovitu tvar fipronil 67 mg; Pipeta (1,34 ml) sadržava: ljevakovitu tvar fipronil 134 mg; Pipeta (2,68 ml) sadržava: ljevakovitu tvar fipronil 268 mg; Pipeta (4,02 ml) sadržava: ljevakovitu tvar fipronil 402 mg; Pipeta (0,5 ml) sadržava: ljevakovitu tvar fipronil 50 mg. **Indikacije** Sprječavanje i suzbijanje invazije pasa i mačaka buhama (*Ctenocephalides* spp.) i krpeljima (*Rhipicephalus* spp., *Dermacentor* spp., *Ixodes* spp.). Pomoć u liječenju i kontroli alergijskog dermatitisa pasa i mačaka uzrokovanog ubodima buha. Sprječavanje i suzbijanje infestacije pasa psećom paušom *Trichodectes canis*. Sprječavanje i liječenje infestacije mačaka mačjom paušom *Felicola subrostratus*. **Ciljne životinjske vrste** Psi. Mačke. **Kontraindikacije** Fypryst spot-on za pse ne smije se primjenjivati na: štenadi mlađoj od 8 tjedana i lakšoj od 2 kg; bolesnim životinjama (sustavne infekcije, povišena tjelesna temperatura) i onima u stadiju oporavka; kunićima jer se u njih mogu javiti teške reakcije nepodnošljivosti i uginuća; mačkama jer može doći do predoziranja. Fypryst 50 mg spot-on za mačke ne smije se primjenjivati: mačićima mlađim od 8 tjedana i lakšim od 1 kg; bolesnim životinjama (sustavne infekcije, povišena tjelesna temperatura) i onima u stadiju oporavka; kunićima zbog teških reakcija nepodnošljivosti i uginuća.



Naša inovativnost i znanje posvećeni su zdravlju. Zbog toga naša odlučnost, ustrajnost i iskustvo zajedno doprinose jednom cilju – razvoju djelotvornih i neškodljivih proizvoda vrhunske kakvoće.

Amoxycilline 20% L.A. 48 SATI MIRA

INDIKACIJE

Liječenje sustavnih i lokalnih bakterijskih infekcija osjetljivih na amoksisilin u goveda, svinja, pasa i mačaka.

Pas i mačka

Duboke i površne infekcije kože i mekih tkiva, infekcije urogenitalnog, probavnog i dišnog sustava, te sprječavanje postoperacijskih bakterijskih upala.

Govedo

Infekcije dišnog trakta i mekih tkiva (npr. apscesi), upala maternice i mliječne žlijezde, nekrotični faringitis i laringitis u teladi, te sekundarne bakterijske infekcije.

Svinja

Infekcije dišnog trakta (*Actinobacillus pleuropneumoniae*), bolesti koje uzrokuje bakterija *Escherichia coli*, infekcije prilikom poroda (npr. MMA sindrom), eksudativni epidermitis prasadi (*Staphylococcus hyicus*), nekrotični stomatitis prasadi (*Fusobacterium necrophorum*), te opće i septikemijske infekcije (*Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Streptococcus* spp.).

Najvažnije gram-negativne bakterijske vrste osjetljive na amoksisilin jesu: *Haemophilus parainfluenzae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Bordetella* spp., *Brucella* spp., *Vibrio cholerae*, *Pasteurella* spp.

Gram-pozitivne vrste bakterija osjetljive na amoksisilin jesu *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* (koji ne proizvodi β -laktamaze), *Clostridium* spp, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium* spp i *Listeria monocytogenes*.

Govedima i svinjama daje se 1 mL Amoxycillin 20%/10 kg t.m., a injekcija se ponovi nakon 48 sati. Na jedno mjesto smije se aplicirati najviše 20 mL.

Psima i mačkama daje se 0.1 mL/kg t.m./48 sati.

48 SATI BEZ BRIGE ZA **55,50 KN** / 100 ml

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA



Pregled najčešćih prirođenih srčanih grješaka u pasa i mačaka



Marin Torti, Vesna Matijatko, Mirna Brkljačić i Vladimir Mrljak

Uvod

Prirodene srčane grješke definiramo kao grješke u anatomske građi srčanih struktura koje su prisutne pri rođenju životinje (MacDonald, 2006.), a posljedica su djelovanja genetskih, okolišnih, infekcijskih, toksičnih, farmakoloških, nutritivnih i drugih čimbenika, odnosno njihovih kombinacija (Rush, 2006.). Za određene prirodene srčane grješke postoji i pasminska predispozicija (Tabela 1.) (Bonagura i Lehmkuhl, 1999., Buchanan, 1999.).

Glavno je kliničko obilježje prirođenih srčanih grješaka postojanje srčanog šuma, no u rijetkim slučajevima šum ne prati prirodenu srčanu grješku (Ware, 2007.). Intenzitet (glasnoća) šuma pa i težina kliničke slike, često korelira s veličinom anomalije (Bonagura i Lehmkuhl, 1999.). U mladim životinja nerijetko nalazimo fiziološke, tzv. nevine ili funkcijske srčane šumove, a radi se o diskretnim sistoličkim ejekcijskim šumovima, s mjestom najbolje čujnosti u području srčane baze, nad lijevim hemitoraksom. Intenzitet fizioloških šumova može varirati, ovisno o frekvenciji rada srca ili položaju tijela, no oni uglavnom nisu glasniji od prvog srčanog tona. S vremenom, kako životinja stari, intenzitet se fizioloških srčanih šumova smanjuje te oni u potpunosti isčezavaju u dobi od 4 do 6 mjeseci (Rush, 2006., Ware, 2007.). Za razliku od fizioloških srčanih šumova, oni koji prate prirodene srčane grješke su glasniji, a intenzitet im se pojačava kako životinja stari.

Pojavnost prirođenih srčanih grješaka u pasa se, prema podacima Darke (1986.) i Patterson (1989.), kreće od 0,5 do 1%, a u mačaka, prema podacima Liu (1977.) oko 2%. MacDonald (2006.) navodi da se pojava prirođenih srčanih grješaka, prema podacima Veterinary Medical Teaching Hospital, University of Davis, Kalifornija, SAD, tijekom desetgodišnjeg razdoblja u pasa kreće oko 17%, a u mačaka oko 5%.

Prirodene srčane grješke možemo podijeliti na različite načine, no u okviru ovoga rada podijeliti ćemo ih na opstruktivne prirodene srčane grješke, grješke kod kojih su atrioventrikulski zalisci displastični, grješke sa skretanjem krvi i ostale prirodene srčane grješke. (Tabela 2.).

Patofiziološke su posljedice prirođenih srčanih grješaka uzrokovane u većini slučajeva promjenama u smjeru kretanja krvi ili smetnjama u protoku krvi, a njihov stupanj i kliničko značenje ponajprije ovise o težini same grješke (Rudar, 2005.).

Prirodene srčane grješke koje dovode do opstrukcije istisnog dijela ventrikula (engl. *ventricular outflow tract obstruction*), desnog ili lijevog, ponajprije zahvaćaju semilunarne zalistke, a smještene su u većini slučajeva ispod (subvalvularno) ili iznad (supravalvularno) zalistka, odnosno njima je zahvaćen sam zalistak (valvularno). Zbog opstrukcije (zapravo stenoze ili suženja) dolazi do sistoličkog (tlačnog) opterećenja ventrikula i

Marin TORTI, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Vesna MATIJATKO, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Mirna BRKLJAČIĆ, asistentica, dr. sc. Vladimir MRLJAK, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

Tabela 1. Pasminska i spolna predispozicija za prirođene srčane grješke

PRIROĐENA SRČANA GRJEŠKA	SPOLNA PREDISPOZICIJA	PASMINSKA PREDISPOZICIJA
patentni duktus arteriozus	ž	puđl, njemački ovčar, pomeranski špic, šetlandski ovčar, škotski ovčar, malteški psić, jorkširski terijer, čivava, kovrčavi psić, nizozemski špic, američki koker španijel, rotvajler, engleski springer španijel, plavi irski terijer, njufaundlander, labradorski retriever, jazavčar, njemački ovčar, patuljasti gubičar, irski seter, sijamska mačka
subaortalna stenoza		njufaundlander, rotvajler, zlatni retriever, njemački bokser, njemačka doga, njemački kratkodlaki ptičar, njemački ovčar, flandrijski govedarski pas, engleski buldog, samojed
aortalna (valvularna) stenoza		bulterijer
pulmonalna stenoza		engleski buldog, zapadnoškotski bijeli terijer, erdelski terijer, jorkširski terijer, škotski terijer, bigl, mastif, samojed, patuljasti gubičar, američki koker španijel, njemački bokser, čivava, bojkin španijel, samojed
displazija trikuspidalnog zalistka		labradorski retriever, zlatni retriever, njemački ovčar, vajmarski ptičar, njemačka doga, staroengleski ovčar
displazija mitralnog zalistka		bulterijer, rotvajler, zlatni retriever, njufaundlander, mastif, njemački ovčar, njemačka doga
ventrikulski septalni defekt		lejklandski terijer, zapadnoškotski bijeli terijer, engleski springer španijel, baset, nizozemski špic, akita, shih-tzu, engleski buldog
atrijski septalni defekt		njemački bokser, doberman pinč, samojed
tetralogija Fallot		nizozemski špic, engleski buldog
perzistirajući desni luk aorte		njemački ovčar, njemačka doga, irski seter

posljedičnog nastanka koncentrične hipertrofije stijenki ventrikula. Razlika u tlačnom gradijentu ovisi o stupnju opstrukcije, kontraktilnosti miokarda i volumenu protoka krvi (Ware, 2007.). Drugim riječima, što je opstrukcija veća (tj. stenoza uža), tlačni je gradijent veći pa tako i patofiziološke posljedice teže. Posljedica je dugotrajnog sistoličkog opterećenja dilatacija srca s dekompenzacijom (Rudar, 2005.). Zbog smanjene rastegljivosti ventrikula poremećena je i dijasolička funkcija ventrikula što ima za posljedicu regurgitaciju krvi kroz atrioventrikulske zalistke. Visoki ventrikulski dijasolički i povišeni atrijski tlak pridonose razvoju zastoja, a povećano srce je sklono nastanku aritmije, što sve dovodi do dodatne

hemodinamičke nestabilnosti. Tako istovremena opstrukcija istisnog dijela lijevog ventrikula, s paroksizmalnom tahiaritmijom i/ili neprimjerenom bradikardijom dovodi do stimulacije ventrikulskih baroreceptora, što ima za posljedicu pojavu nepodnošenja napora, sinkope i, u konačnici, iznenadnog uginuća životinje (Kienle i sur., 1994., Bonagura i Lehmkuhl, 1999., Ware, 2007.).

Kod prirođenih srčanih grješaka s lijevo-desnim skretanjem krvi, kao što je to slučaj kod ventrikulskog i atrijskog septalnog defekta (VSD, ASD) te patentnog duktusa arteriozusa (PDA), zbog postojanja patološke komunikacije dolazi do miješanja arterijske i venske krvi te posljedičnog volumnog opterećenja

Tabela 2. Podjela prirodnih srčanih grješaka

(1) opstruktivne prirodene bolesti zalistaka	aortalna stenoza pulmonalna stenoza
(2) displazija atrioventrikulskih zalistaka	displazija mitralnog zalistka (insuficijencija ili stenoza) displazija trikuspidalnog zalistka (insuficijencija ili stenoza)
(3) prirodene grješke s lijevo-desnim skretanjem krvi	patentni duktus arteriozus atrijski septalni defekt ventrikulski septalni defekt
(4) prirodene grješke s desno-lijevim skretanjem krvi	tetralogija Fallot desno-lijevi patentni duktus arteriozus Eisenmengerov sindrom
(5) ostale prirodene srčane grješke	triatrsko srce (desno ili lijevo) perzistirajući desni luk aorte peritoneoperikardijalna dijafragmatska hernija endokardijalna fibroelastoza

lijevog (u slučaju VSD i PDA) ili desnog (u slučaju ASD) srca. Smjer miješanja krvi ovisi o razlici tlakova pa tako sve dok je odnos u razlici tlakova između desne i lijeve strane srca fiziološki dolazi do vraćanja (recirkulacije) arterijalizirane krvi iz srca ili početnog dijela aorte u plućni krvotok. Ukoliko se razvije plućna hipertenzija (kao što je to slučaj kod velikih srčanih grješaka) u početku dolazi do smanjenja u lijevo-desnom skretanju, a kako tlak raste spoj postaje obostran te konačno, kada tlak u plućnom krvotoku postane viši od sustavnog, dolazi do obrata spoja i desno-lijevog skretanja. S obratom spoja razvija se tzv. Eisenmengerov sindrom kojeg prati cijanoza (Rudar, 2005., Ware, 2007.).

Određene prirodene srčane grješke, poput primjerice tetralogije Fallot, od samoga početka prati desno-lijevo skretanje krvi. Zbog toga dio venske krvi mimoilazi plućni krvotok i prolazi na lijevu stranu pa dolazi do hipoksemije i pojave cijanoze (kada se u krvi nalazi 50 g/L ili više desaturiranog hemoglobina). Kronična arterijska hipoksemija stimulira eritropoezu kako bi se povećao kapacitet vezanja kisika te se u pokušaju kompenzacije organizma razvija sekundarna policitemija (Coté i Ettinger, 2001., Rudar, 2005.). Izrazita policitemija (hematokrit viši od 65%) dodatno pridonosi slabijoj opskrbljenosti tkiva kisikom te može biti uzrokom pojave tromboze ili krvarenja,

cerebrovaskularnog inzulta ili aritmija (Ware, 2007.).

Zaključno, patentni duktus arteriozus i (sub)aortalna stenoza su se u brojnim istraživanjima pokazali kao najučestalije prirodene srčane grješke u pasa (Tindholm, 1997., Bonagura i Lehmkuhl, 1999., Buchanan, 1999., Buchanan, 2003., Buchanan i Patterson, 2003.). Pulmonalna stenoza je također česta srčana grješka u psa, a nešto se rjeđe javljaju perzistirajući desni aortalni luk, ventrikulski septalni defekt, displazije atrioventrikulskih zalistaka, atrijski septalni defekt i tetralogija Fallot (Ware, 2007.).

U mačaka je najčešće prirodena srčana grješka (atrio) ventrikulski septalni defekt (tzv. defekt endokardijalnih jastučića), a slijede displazije atrioventrikulskih zalistaka, patentni duktus arteriozus i endokardijalna fibroelastoza, koja je osobito česta u burmskih i sijamskih pasmina mačaka (Larsson i sur., 1997., Bonagura i Lehmkuhl, 1999.). Ware (2007.) navodi da se prirodene srčane grješke pojavljuju češće u muških nego u ženskih mačaka.

Patentni (perzistirajući) duktus arteriozus

Patentni duktus arteriozus je prirodena srčana grješka s lijevo-desnim skretanjem krvi zbog patencije fetalne komunikacije između aorte i plućne arterije, karakterizirana kontinuiranim

protokom krvi iz aorte (područje visokog tlaka) u plućnu arteriju (područje niskog tlaka). Posljedica je navedenog protoka pojava kontinuiranog srčanog šuma (Rush, 2006.). Patentni se duktus arteriozus češće javlja u ženskih pasa, a postoji i pasminska predispozicija za ovu prirođenu srčanu grješku. Tako se patentni duktus arteriozus javlja češće u pomeranskog špica, nizozemskog špica, pudli (za koje je dokazana i nasljednost grješke), kovrčavog psića, čivave, malteškog psića, šetlandskog ovčara, jorkširskog terijera, engleskog springer španijela, jazavčara, patuljastog gubičara, njemačkog ovčara, koker španijela, irskog setera, plavog irskog terijera, labradorskog retrievera, njufaundlendera i škotskog ovčara. Kod sijamske pasmine mačaka postoji predispozicija za patentni duktus arteriozus (Bonagura i Lehmkuhl, 1999., Buchanan, 1999., Van Israel i sur., 2002., Rush, 2006.).

Klinički je za patentni duktus arteriozus najznačajniji nalaz kontinuiranog, tzv. mašinskog ili strojnog srčanog šuma (sistolicko-dijastolicki šum), s mjestom najbolje čujnosti visoko nad srčanom bazom, nad lijevom hemitoraksom. Šum se može širiti i nad desni hemitoraks, a karakteristično je da se čuje i nad aperturom toracis kranijalis. U nekih pasa ovaj šum prati i holosistolicki šum mitralne regurgitacije. Puls je nad femoralnom arterijom uglavnom hiperkinetičan. Za razliku od pasa, u mačaka se ne mora uvijek čuti kontinuirani šum, već samoistolicki šum (Rush, 2006., Ware, 2007.).

U trenutku postavljanja konačne dijagnoze patentnog duktusa arteriozusa, 10 do 25% životinja ima razvijeno zastojno (kongestivno) zatajivanje srca (Rush, 2006.). U elektrokardiogramu nalazimo promjene koje prate povećanje lijevog ventrikula, a ponekad i povećanje lijevog atrija. U rijetkim slučajevima nalazimo aritmije, najčešće fibrilaciju atrija i preuranjene ventrikulske kontrakcije. Rengenografski se u laterolateralnoj projekciji uočavaju generalizirana kardiomegalija, s izraženijim povećanjem lijeve strane srca

te smanjena transparentnost pluća sa znakovima zastoja u plućnom krvotoku. U dorzoventralnoj projekciji moguće je uočiti tri izbočenja, na pozicijama: jedan sat – aorta i duktus arteriozus, dva sata – plućna arterija, i tri sata – lijeva aurikula srca (Van Israel i sur., 2002.). Na temelju kliničkog nalaza šuma i navedenih elektrokardiografskih i rengenografskih promjena možemo postaviti dijagnozu bolesti, a ehokardiografskom pretragom je sa sigurnošću potvrđujemo. Ehokardiografski nalazimo znakove volumnog opterećenja lijeve strane srca i dilataciju plućnog arterijskog segmenta. Kontraktilnost miokarda može biti smanjena ili unutar granica normale, dok je udaljenost vrha prednjeg mitralnog kuspisa, tj. točke E, od interventrikulskog septuma (engl. *E point septal separation*, EPSS) često povećana. Duktus arteriozus možemo vizualizirati između plućne arterije i descendente aorte, posebice u lijevom kranijalnom parasternalnom i subkostalnom prozoru. Doplerskom pretragom vizualiziramo kontinuirani, turbulentni protok krvi u plućnu arteriju. U nekih pasa zbog sekundarne dilatacije mitralnog prstena, možemo ehokardiografski uočiti i mitralnu regurgitaciju (Rush, 2006., Ware, 2007.).

U svim slučajevima patentnog duktusa arteriozusa s lijevo-desnim skretanjem krvi indiciran je kirurški zahvat zatvaranja spoja. U životinja kod kojih se do prve godine života ne učini kirurška korekcija mortalitet se kreće od 40 do 70%. Medikamentozna terapija standardnim lijekovima (ponajprije inhibitorima konvertaze angiotenzina i diureticima) indicirana je u slučaju razvoja zastojnog zatajivanja srca. Kirurški zahvat uputno je učiniti do starosti od 4 do 5 mjeseci, kako bi došlo do remodeliranja srca i djelomične regresije promjena nastalih posljedično patentnom duktusu arteriozusu, a korekcija se može provesti na dva osnovna načina: podvezivanjem (ligiranjem) duktusa i transkateterskom okluzijom (Rush, 2006.).

Ukoliko je došlo do obrata spoja zbog razvoja plućne hipertenzije, odnosno razvoja Eisenmengerovog sindroma,

kirurška je korekcija kontraindicirana, jer patentni duktus ima ulogu tzv. ispustnog ventila. Zastojno zatajivanje srca kontrolira se primjenom već prije spomenutih lijekova (Ware, 2007.).

Aortalna stenoza

Kod aortalne stenoze dolazi do opstrukcije istisnog dijela lijevog ventrikula i to zbog subvalvularnog (u 90% slučajeva; iznimno rijetko supralvularnog ili valvularnog) suženja ušća aortalnog zalistka zbog nastanka fibrozne membrane ili fibromuskularnog grebena ili prstena. Supralvularna se aortalna stenoza najčešće javlja u mačaka. Kako se u većini slučajeva radi o subvalvularnoj stenozu, ispravnije je govoriti o subaortalnoj stenozu. Pasminska predispozicija postoji u njufaundlendera, zlatnog retrivera, rotvajlera, njemačkog boksera, njemačkog ovčara, engleskog buldoga, njemačke doge, njemačkog kratkodlakog ptičara, samojeda i flandrijskog govedarskog psa. Postoje indicije da se u njufaundlendera radi o nasljednoj bolesti (Goodwin, 2001., Rush, 2006., Ware, 2007.).

Aortalnu stenozu prati glasan ejekcijski (tzv. krešendo-dekrešendo) sistolički šum, s mjestom najbolje čujnosti u području srčane baze (u trećem ili četvrtom međurebrenom prostoru), nad lijevim hemitoraksom. Ponekad se šum širi i nad desni hemitoraks pa ga možemo čuti i nad desnom srčanom bazom. Iktus kordis je izraženiji lijevo, a puls nad femoralnom arterijom je slabo pipljiv (tzv. *pulsus parvus et tardus*). Od aritmija aortalnu stenozu najčešće prate one ventrikulskog podrijetla (MacDonald, 2006., Ware, 2007.).

Elektrokardiografski je nalaz kod blagih oblika aortalne stenoze neupadljiv, no kod umjerenih, a osobito teških oblika mogu se javiti promjene koje ukazuju na povećanje lijevog ventrikula, depresija ST-spojnice i/ili promjene T-vala. Značajnija depresija ST-spojnice (veća od 0,2 mV) kod životinje u mirovanju može ukazivati na ishemiju ili fibroziranje miokarda. Rengenografski je moguće, u nekim slučajevima, uočiti povećanje lijevog

ventrikula, dok je u pasa starijih od godinu dana na laterolateralnim i dorzoventralnim projekcijama moguće uočiti poststenotičnu dilataciju aorte. Ehokardiografskom pretragom postavljamo konačnu dijagnozu, a u dvodimenzionalnom prikazu su vidljivi: prerano zatvaranje kuspisa aortalnog zalistka, sistolički pomak prednjeg mitralnog kuspisa i subendokardijalna hiperehogenost lijevog ventrikula. U uznapredovalim slučajevima ascendentna aorta je proširena, aortalni zalistak je zadebljao, lijevi ventrikul koncentrično hipertrofirao, a lijevi atrij proširen. Doplerskom pretragom dokumentiramo turbulentan protok krvi u aortu te određivanjem vršne brzine protoka (najbolje pri subkostalnom pozicioniranju sonde) i tlačni gradijent. Pomoću tlačnog gradijenta konačno određujemo stupanj stenoze: o blagoj aortalnoj stenozu govorimo kada je tlačni gradijent od 10 do 40 mmHg, umjerenoj od 40 do 80 mmHg i teškoj, kada je tlačni gradijent veći od 80 mmHg (Rush, 2006., Ware, 2007.).

U pasa s blagim oblikom aortalne stenoze liječenje u većini slučajeva nije potrebno. Značajnija hipertrofija lijevog ventrikula ima za posljedicu slabiju perfuziju miokarda (zbog pritiska na koronarne arterije) i pojavu ventrikulskih aritmija. Aortalna stenoza može se liječiti medikamentozno i kirurški (Rush, 2006.). Kirurško liječenje podrazumijeva tzv. zahvat na otvorenom srcu (engl. *open heart surgery*), s resekcijom stenotičnog zalistka (Monnet i sur., 1996., White i sur., 1997.). Alternative su kirurškom zahvatu balonska valvuloplastika i perkutana transluminalna balonizacija. Glavni je nedostatak navedenih metoda što s vremenom dolazi do razvoja parcijalne restenoze (DeLellis i sur., 1993., Bonagura, 2001.). Medikamentozno liječenje podrazumijeva primjenu propranolola, atenolola i ostalih blokatora beta-adrenergičnih receptora. Blokatori beta-adrenergičnih receptora dovode do smanjenja potrebe miokarda za kisikom pa se tako i smanjuje rizik nastanka aritmija. Životinje s aortalnom stenozom, osobito subaortalnom, su predisponirane na nastanak endokarditisa aortalnog

zalistka pa se kod njih prije svakog kirurškog zahvata (i onog manjeg) preporučuje profilaktična primjena antimikrobnih lijekova (Rush, 2006.).

Pulmonalna stenoza

Pulmonalna je stenoza (stenoza plućne arterije) treća po učestalosti prirođena srčana grješka u pasa, a rijetko se javlja i u mačaka. Posljedica je pulmonalne stenoze sužavanje istisnog dijela desnog ventrikula, najčešće zbog displazije pulmonalnog zalistka (valvularna stenoza). Opisane su i supralvalvularna i subvalvularna pulmonalna stenoza, a potonja se često javlja u sklopu tetralogije Fallot. Anomalija lijeve koronarne arterije isto tako može biti uzrokom valvularne ili subvalvularne stenoze, a koje su posljedica ekstramuralne kompresije. Sekundarna infundibularna (mišićna) hipertrofija često komplicira pulmonalnu stenozu. Pasmine pasa predisponirane za razvoj pulmonalne stenoze su: engleski buldog, gubičari, bigl, čivava, terijeri (škotski, erdel, zapadnoškotski bijeli, jorkširski itd.), koker španijel, mastif, njemački bokser, bojkini španijel i samojed. Engleski buldozi i njemački bokseri su predisponirani za razvoj pulmonale stenoze posljedično anomaliji lijeve koronarne arterije (Bonagura i Lehmkuhl, 1999., Buchanan, 2001., Rush, 2006.).

Tipičan je klinički nalaz glasan i grub ejeleksijski sistolički šum s mjestom najbolje čujnosti u području srčane baze (drugi ili treći međurebreni prostor), nad lijevim hemitoraksom. Srčani šum pulmonalne stenoze može pratiti i šum trikuspidalne regurgitacije nad desnim hemitoraksom, a ikтус kordis je često izraženiji desno. Životinje su uglavnom asimptomatske. U težim se oblicima pulmonalne stenoze mogu javiti blijedilo vidljivih sluznica i puls slabih kvaliteta. Desnostrano zatajivanje srca prate hepatomegalija, ascites, izljev u pleuralnu šupljinu te distenzija i/ili pulzacija jugularnih vena (Fingland i sur., 1986., Buchanan, 1990., Ware, 2007.).

U pasa s blažim i umjerenim oblikom pulmonalne stenoze u elektrokardiogramu često ne nalazimo

nikakvih promjena, dok u teškim oblicima nalazimo promjene koje prate povećanje desne strane srca (dubok S-val u II. i III. odvodu, devijacija srednje električne osi udesno, P-pulmonale). Pulmonalnu stenozu prate ventrikulske i, u slučajevima povećanja desnog atrija, supraventrikulske aritmije (Buchanan, 2001., Rush, 2006., Ware, 2007.). Rengenografski se mogu uočiti povećanje desnog ventrikula s poststenotičnom dilatacijom plućnog arterijskog segmenta, koja je vidljiva na dorzolateralnim projekcijama na poziciji od dva sata. Ponekad nalazimo i povećanje desnog atrija, proširenje kaudalne šuplje vene i jasno istaknutno plućno polje (Rush, 2006.). Ehokardiografskom se pretragom postavlja konačna dijagnoza: u dvodimenzionalnom prikazu nalazimo koncentrično hipertrofirani desni ventrikul, s izraženim papilarnim mišićem. Vidljiva je i poststenotična dilatacija plućnog arterijskog korijena, a ukoliko postoji značajnija trikuspidalna regurgitacija vizualiziramo i povećani desni atrij. Istisni dio desnog ventrikula je hiperehogen, posebice subvalvularno, a može se doimati i suženim, dok su zalisci plućne arterije zadebljali, a tijekom sistole prolabiraju formirajući kupolu. Interventrikulski septum je zadebljan, a kada je sistolički tlak u desnom ventrikulu veći od tlaka u lijevom vidljivo je izravnavanje septuma tijekom sistole. Doplerskom pretragom možemo vizualizirati turbulentan protok krvi u plućnu arteriju te odrediti putem modificirane Bernoullijeve jednadžbe ($\Delta P = 4V^2$; ΔP = tlačni gradijent; V^2 = vršna brzina) tlačni gradijent u području zalistka. Općenito govoreći, blagi oblik pulmonalne stenoze prati tlačni gradijent od 10 do 50 mmHg, umjereni oblik od 50 do (-80)100 mmHg te teški oblik gradijent veći od (80-)100 mmHg (Goodwin, 2001., MacDonald, 2006., Ware, 2007.).

Psi s blagim oblikom pulmonalne stenoze uglavnom su asimptomatski pa liječenje nije ni potrebno. U pasa s teškim oblikom pulmonalne stenoze, ukoliko se ne liječi, do uginuća dolazi uglavnom do četvrte godine starosti. Odabir metode

liječenja, odnosno neprovođenje liječenja, ovisi ponajprije o tlačnom gradijentu, stupnju hipertrofije desnog ventrikula i prirodi stenozе (radi li se o valvularnoj ili subvalvularnoj stenozі ili pak anomaliji lijeve koronarne arterije) te stupnju trikuspidalne regurgitacije i posljedične dilatacije desnog atrija. U smislu palijacije balonskom se valvuloplastikom uspješno reducira tlačni gradijent, a uspjeh je uglavnom zajamčen, ukoliko se radi o valvularnoj stenozі (kod subvalvularne je uspjeh manji) (Sisson i MacCoy, 1988., Martin i sur., 1992., Bussadori i sur., 2001.). Medikamentozna terapija ograničena je na primjenu blokatora beta-adrenergičnih receptora, a u slučajevima zastoynog zatajivanja srca inhibitora konvertaze angiotenzina, diuretika i pozitivnih inotropa. Tjelesni napor treba ograničiti. Od kirurških zahvata u obzir dolaze parcijalna valvulektomija, perikardijalni presađak i ostale (Shores i Weirich, 1985., Orton i sur., 1990., Hunt i sur., 1993.).

Ventrikulski septalni defekt

Ventrikulski septalni defekt je učestala prirođena srčana grješka u mačaka, dok je kod pasa nešto rjeđi. Pasmenska predispozicija kod pasa postoji kod lejklandskog terijera, zapadnoškotskog bijelog terijera, engleskog springer španijela, baseta, nizozemskog špica, akite, shih-tzua i engleskog buldoga (Ware, 2007.).

Kod ventrikulskog septalnog defekta dolazi do prekida u kontinuitetu interventrikulskog septuma, s posljedičnim lijevo-desnim skretanjem krvi. Defekt se može nalaziti na bilo kojem dijelu interventrikulskog septuma, no najčešće se nalazi visoko, na nemišićnom dijelu septuma ispod aortalnog zalistka i septalnog kuspisa trikuspidalnog zalistka, a iznimo se rijetko može naći na mišićnom dijelu septuma (Eyster, 1994., Bonagura i Lehmkuhl, 1999., Rush, 2006.).

Klinički, ventrikulski septalni defekt prati glasan i grub holosistolički šum, s mjestom najbolje čujnosti nad desnim hemitoraksom, ventralno uz kranijalni rub sternuma. Prema svojim obilježjima

taj šum može biti tzv. regurgitacijski *plateau* šum, krešendo šum ili krešendo-dekrešendo šum (ejekcijski). Ponekad šum ventrikulskog septalnog defekta prate i drugi srčani šumovi: sistolički šum relativne pulmonalne stenozе (u području srčane baze, nad lijevim hemitoraksom) ili pak dijastolički dekrešendo šum aortalne regurgitacije (također u području srčane baze, nad lijevim hemitoraksom) (Sisson i sur., 1991., Buchanan i Lehmkuhl, 1999., Rush, 2006.).

Elektrokardiografski nalaz može biti normalan, ali i ukazivati na povećanje lijevog atrija i/ili ventrikula. Ponekad se mogu pojaviti i pocijepani (fragmentirani) QRS-kompleksi, koji su uglavnom znak smetnji u interventrikulskom provođenju srčanog impulsa. Rengenografski nalaz ovisi ponajprije o veličini defekta i volumenu krvi koji protječe kroz defekt. Tako velike defekte s obilnim lijevo-desnim skretanjem krvi prate znakovi povećanja lijevog srca sa znakovima zastoja u plućnom krvotoku. Ponekad ventrikulski septalni defekt može pratiti i povećanje desnog ventrikula. Ukoliko je došlo do razvoja zastoynog zatajivanja srca uz navedene promjene nalazimo plućni edem, koji može pratiti i izljev u pleuralnu šupljinu, što je osobito često u mačaka (Ware, 2007.). Ehokardiografskom pretragom postavljamo konačnu dijagnozu: nalazimo znakove volumnog opterećenja lijevog atrija i ventrikula (ekscentrična hipertrofija). Umjereno velike i velike defekte na septumu vizualiziramo kao eholucentna područja na samome vrhu interventrikulskog septuma, najbolje u desnom parasternalnom podužnom presjeku. Doplerskom pretragom vrlo lako možemo uočiti turbulentan protok velike brzine u području defekta (Rush, 2006.).

Psi i mačke s malim do srednje velikim ventrikulskim septalnim defektom uglavnom žive bez ozbiljnijih poteškoća, a opisano je i spontano zatvaranje malih defekata unutar prve dvije godine života (Brezneck, 1973., Rausch i Keene, 2003.). Konačno liječenje podrazumijeva kirurški zahvat na otvorenom srcu s kardiopulmonalnom premosnicom. Ponajprije kod perimembranskih ventrikulskih septalnih defekata može

se pomoću transkateterski postavljene zavojnice pokušati zatvoriti defekt (Fujii i sur., 2004., Shimizu i sur., 2005.). Naravno, ukoliko je došlo do razvoja plućne hipertenzije i obrata spoja pokušaj zatvaranja defekta je kontraindiciran. U životinja kod kojih je došlo do razvoja zastoynog zatajivanja srca indicirano je medikamentozno liječenje već prije spomenutim skupinama lijekova (Ware, 2007.).

Displazija atrioventrikulskih zalistaka

Prirođene srčane grješke na atrioventrikulskim zaliscima (mitralnom i trikuspidalnom), česte su u mačaka, a nešto rjeđe u pasa. Posljedice anomalije zalistaka su insuficijencija, stenoza ili insuficijencija i stenoza istovremeno. Ipak, najčešća je posljedica valvularna insuficijencija. Kuspisi zahvaćenog zalistka mogu biti zadebljali ili pak fuzionirani, a u slučaju tzv. Ebsteinove anomalije trikuspidalni zalistak se nalazi znatno apikalnije u desnom ventrikulu, dakle ispod trikuspidalnog prstena, u šupljini desnog ventrikula (Eyster i sur., 1977.). Korde tendineje mogu biti skraćene i zadebljale ili pak izdužene i stanjene, a i položaj papilarnih mišića može biti neprimjeren, odnosno u nekim slučajevima je prisutna aplazija papilarnih mišića (Malik i Church, 1988., Atwell i Sutton, 1998., Wright i sur., 2001.).

Osnovna je patofiziološka posljedica valvularne insuficijencije volumno opterećenje s posljedičnom ekscentričnom hipertrofijom lijevog ili desnog ventrikula, ovisno o tome koji je zalistak displastičan. Zbog regurgitacije (vraćanja) krvi u atrij dolazi do njegovog povećanja. U konačnici, patofiziološke posljedice displazije atrioventrikulskih zalistaka jednake su onima koje prate degenerativnu bolest atrioventrikulskih zalistaka (Ware, 2007.).

Opisana je pasminska predispozicija za displaziju mitralnog zalistka kod bulterijera, njemačkog ovčara, njemačke doge, zlatnog retrivera, njufaundlendera, mastifa i rotvajlera te za displaziju

trikuspidalnog zalistka kod labradorskog retrivera, njemačkog ovčara, vajmarskog ptičara, njemačke doge, staroengleskog ovčara i zlatnog retrivera (Bonagura i Lehmkuhl, 1999.).

Klinički se znakovi displazije atrioventrikulskih zalistaka javljaju već vrlo rano po rođenju: gubitak na tjelesnoj težini, nepodnošenje tjelesnog napora, dispneja, ascites i izljevi u pleuralnu šupljinu. Intermitentna pojava slabosti i sinkope posljedica je razvoja aritmija. U mačaka s displastičnim mitralnim zalistkom često nalazimo edem pluća koji je posljedica biventrikulskog zatajivanja srca te arterijsku tromboemboliju. Auskultacijski možemo čuti šum mitralne ili trikuspidalne regurgitacije (Rush, 2006.).

Rengenografski displaziju mitralnog zalistka prate povećanje lijevog atrija i ventrikula, a ukoliko se razvilo zastoyno zatajivanje srca transparentnost plućnog parenhima je smanjena, odnosno vidljiv je plućni edem sa zastojem u plućnoj cirkulaciji. Displazija se trikuspidalnog zalistka rengenografski očituje povećanjem desnog srca, hepatomegalijom i, u slučaju razvoja zastoynog zatajivanja srca, ascitesom i izljevom u pleuralnu šupljinu. Rijetko srce može biti loptasto (globoidno) te podsjećati na rengenografski nalaz kod izljeva u perikardijalnu šupljinu. Elektrokardiografski u slučaju mitralne displazije nalazimo promjene koje prate povećanje lijevog atrija i ventrikula (ponekad i biatrijsko povećanje), dok trikuspidalnu displaziju uglavnom prate promjene koje ukazuju na povećanje desnog ventrikula. Od aritmija displaziju atrioventrikulskih zalistaka prate supraventrikulske, dok je kod trikuspidalne displazije opisana i pojava ventrikulske preeskicacije (Wolff-Parkinson-White sindrom) (Atkins i Wright, 1995., Hoffman i sur., 2000., Rush, 2006.). Ehokardiografski vizualiziramo morfološki promijenjene zalistke, korde tendineje i papilarno mišićje, odnosno povećanje atrija i ventrikula (desnog ili lijevog, ovisno o zahvaćenom zalistku). Doplerskom pretragom dokumentiramo regurgitaciju u području zahvaćenog zalistka (Ware, 2007.).

Liječenje ima za cilj kontrolirati

znakove zastoynog zatajivanja srca pa životinje s blagom i umjerenom displazijom atrioventrikulskih zalistaka godinama mogu biti kardiovaskularno kompenzirane. U slučajevima teške displazije sa značajnom regurgitacijom može se pokušati kirurški korigirati displastični zalistak, najčešće u smislu rekonstrukcije ili potpune zamjene zalistka. Trikuspidalnu stenozu može se pokušati liječiti i balonskom dilatacijom (Brown i Thomas, 1995., Kunze i sur., 2002., Ware, 2007.).

Tetralogija Fallot

Tetralogija Fallot je složena prirođena srčana grješka kod koje nalazimo pulmonalnu stenozu (ponekad s hipoplastičnom ili čak atretičnom plućnom arterijom – tzv. pseudotrunkus arteriozus), ventrikulski septalni defekt, dekstopoziciju aorte (aorta nadsvoduje interventrikulski septum, tzv. jašuća aorta) i sekundarnu hipertrofiju stijenke desnog ventrikula. Radi se o anomaliji s desno-lijevim skretanjem krvi koju prate hipoksemija s posljedičnom policitemijom (Rush, 2006.). Tetralogija Fallot učestala je prirođena srčana grješka kod mačaka, dok je kod pasa rijetka. Pretpostavlja se da je tetralogija Fallot nasljedna bolest u nizozemskog špica (Van Mierop i sur., 1977., Patterson i sur., 1993.), a od ostalih pasmina pasa predispozicija postoji u engleskog buldoga (Ware, 2007.).

Tetralogiju Fallot klinički prate sinkopa, slabost, dispneja, cijanoza i zaostajanje u rastu. Navedeni su znakovi uglavnom posljedica aritmija, sustavne hipoksemije i/ili izrazite policitemije (Ringwald i Bonagura, 1988., Bonagura i Lehmkuhl, 1999.). Dodatna je posljedica ove složene prirođene srčane grješke pojava tromboembolije. Naime, tromboembolusi koji bi u normalnim uvjetima bivali filtrirani u plućima, dospijevaju kroz ventrikulski septalni defekt u sustavnu cirkulaciju, pa na udaljenim mjestima izazivaju tromboemboliju. U rijetkim slučajevima može razviti i zastoyno zatajivanje srca (Rush, 2006.). Tetralogiju Fallot auskultacijski prate šum pulmonalne

stenoze i ventrikulskog septalnog defekta, a kod životinja s izrazitom policitemijom, teškom pulmonalnom stenozom ili malim protokom kroz ventrikulski septalni defekt šum može biti slabijeg intenziteta, dok se u iznimno rijetkim slučajevima ne mora niti čuti (Ware, 2007.).

Rengenografski se mogu naći povećanje desnog srca, poststenotična dilatacija plućnog arterijskog segmenta i pojačana transparentnost pluća zbog malog protoka kroz plućni krvotok. U elektrokardiogramu, osobito cijanotičnih životinja, nalazimo promjene u II. odvodu koje prate povećanje desnog ventrikula, a u mačaka i devijaciju srednje električne osi ulijevo. Ehokardiografskom pretragom postavljamo konačnu dijagnozu, a u dvodimenzionalnom prikazu srca možemo uočiti: visoki ventrikulski septalni defekt, hipertrofiju desnog ventrikula, anomalije zalistka plućne arterije te suženje istisnog dijela desnog ventrikula. Doplerska pretraga (kao i angiografska te kontrastna ehokardiografska pretraga) otkriva desno-lijevo skretanje krvi s turbulentnim protokom visoke brzine u području pulmonalnog zalistka (Ware, 2007.).

Kod životinja koje nisu cijanotične i kod kojih ehokardiografskom pretragom utvrdimo blagu pulmonalnu stenozu je liječenje konzervativno, naime primjenjuje se acetylsalicilna kiselina u niskim dozama (0,5 mg/kg tjelesne težine svakih 12 sati peroralno) kako bi se spriječio nastanak arterijske ili venske tromboembolije. Kako bismo održavali vrijednost hematokrita oko 60% potrebne su periodičke flebotomije. Izrazitu policitemiju možemo i medikamentozno pokušati kontrolirati, najbolje pomoću hidroksiureje (izaziva reverzibilnu supresiju koštane srži), u dozi od 40 do 50 mg/kg tjelesne težine svakih 48 sati ili tri dana u tjednu peroralno. U liječenju se još koriste i blokatori beta-adrenergičnih receptora koji dovode do smanjenja tonusa simpatikusa i kontraktilnosti miokarda desnog ventrikula, ublažavaju opstrukciju u području istisnog dijela desnog ventrikula, smanjuju potrošnju kisika u miokardu te povišuju tonus

perifernog krvožilja. Navedeno ima za posljedicu smanjenje u desno-lijevom skretanju krvi (Lehmkuhl i Bonagura, 1999., Rush, 2006., Ware, 2007.).

Konačno liječenje tetralogije Fallot podrazumijeva kirurški zahvat. Uglavnom se radi o palijaciji, a najčešće se provode: anastomoza potključne arterije na plućnu arteriju i otvaranje „prozora“ između ascendentne aorte i plućne arterije (Eyster i sur., 1977., Ringwald i Bonagura, 1988.).

Sažetak

Prirodne srčane grješke predstavljaju grješke u građi anatomskih struktura srca koje su prisutne pri rođenju životinje. Pojavnost se prirodnih srčanih grješaka u pasa kreće od 0,5 do 1%, a u mačaka oko 2%, a opisane su i pasminske predispozicije za pojavu prirodnih srčanih grješaka. Najučestalije su prirodne srčane grješke u pasa patentni duktus arteriozus i (sub) aortalna stenoza, dok se u mačaka najčešće javlja ventrikulski septalni defekt, tj. atrioventrikulski septalni defekt (tzv. defekt endokardijalnih jastučića). Najvažnija je klinička karakteristika prirodnih srčanih grješaka prisutnost srčanog šuma intenzitet kojeg, kako životinja stari, raste. Kasnije se razvijaju i ostali, klasični znakovi zatajivanja srca. Liječenje prirodnih srčanih grješaka može biti medikamentozno i kirurško. Medikamentozno liječenje podrazumijeva primjenu lijekova u smislu stabilizacije i kontrole zastoynog zatajivanja srca. U radu su obrađene sljedeće prirodne srčane grješke u pasa i mačaka: patentni duktus arteriozus, pulmonalna stenoza, aortalna stenoza, ventrikulski septalni defekt, displazije atrioventrikulskih zalistaka i tetralogija Fallot.

Literatura

- ATKINS, C. E. and K. N. WRIGHT (1995): Supraventricular tachycardia associated with accessory atrioventricular pathways in dogs. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy XII* (BONAGURA, J. D., ed.), W. B. Saunders Comp., Philadelphia, pp. 807-813.
- ATWELL, R. B. and R. H. SUTTON (1998): Atrioventricular valve dysplasia in Dalmatians. *Aust. Vet. J.* 76, 249.
- BONAGURA, J. D. (2001): Balloon valvuloplasty for congenital aortic stenosis. American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2001 Proceedings Online (www.vin.com).
- BONAGURA, J. D. and L. B. LEHMKUHL (1999): Congenital Heart Disease. In: *Textbook of Canine and Feline Cardiology* (FOX, P. R., D. SISSON i N. S. MOÏSE, eds.), 2nd edition, W. B. Saunders Comp., London, 471-535.
- BREZNOK, E. M. (1973): Spontaneous closure of ventricular septal defects in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 162, 399-403.
- BROWN, W. A. and W. P. THOMAS (1995): Balloon valvuloplasty of tricuspid stenosis in a Labrador retriever. *J. Vet. Intern. Med.* 9, 419-424.
- BUCHANAN, J. W. (1990): Pulmonic stenosis caused by single coronary artery in dogs: four cases (1965-1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196, pp. 115-120.
- BUCHANAN, J. W. (1999): Prevalence of cardiovascular disorders. In: *Textbook of Canine and Feline Cardiology* (FOX, P. R., D. SISSON i N. S. MOÏSE, ur.), second ed., W. B. Saunders Comp., London, pp. 457-470.
- BUCHANAN, J. W. (2001): Pathogenesis of single right coronary artery and pulmonic stenosis in English Bulldogs. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 101-104.
- BUCHANAN, J. W. (2003): Patent ductus arteriosus. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)* 9, 168-176.
- BUCHANAN, J. W. and D. F. PATTERSON (2003): Etiology of patent ductus arteriosus in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 17, 167-171.
- BUSSADORI, C., E. DEMADRON, R. A. SANTILLI and M. BORGARELLI (2001): Balloon valvuloplasty in 30 dogs with pulmonic stenosis: effect of valve morphology and annular size on initial 1-year outcome. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 553-558.
- CÔTÉ, E. and S. J. ETTINGER (2001): Long-term clinical management of right-to-left ('reversed') patent ductus arteriosus in 3 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 39-42.
- DARKE, P. G. G. (1986): Congenital heart defects in small animals. *Br. Vet. J.* 142, 203-209.
- DELELLIS, L. A., W. P. THOMAS and P. D. PION (1993): Balloon dilatation of congenital subaortic stenosis in the dog. *J. Vet. Intern. Med.* 7, 153-162.
- EYSTER, G. E. (1994): Atrial septal defect and ventricular septal defect. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)* 9, 227-233.
- EYSTER, G. E., L. ANDERSON, A. T. EVANS, A. CHAFFEE, G. BENDER, J. JOHNSTON, W. MUIR and G. BLANCHARD (1977): Ebstein's anomaly: a report of 3 cases in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 170, 709-713.
- EYSTER, G. E., R. D. WHIPPLE, L. K. ANDERSON, A. T. EVANS and P. O'HANDLEY (1977): Pulmonary artery banding for ventricular septal defect in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 170, 434-438.
- FINGLAND, R. B., J. D. BONAGURA and C. W. MYER (1986): Pulmonic stenosis in the dog: 29 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189, 218-226.
- FUJII, Y., T. FUKUDA, N. MACHIDA, T. YAMANE and Y. WAKAO (2004): Transcatheter closure of congenital ventricular septal defects in 3 dogs with a detachable coil. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 911-914.
- GOODWIN, J. K. (2001): Congenital heart diseases. In: *Manual of Canine and Feline Cardiology* (TILLEY, L. P. and J. K. GOODWIN, eds.), 3rd edition, W. B. Saunders Comp., Philadelphia, 282-287.
- HOFFMAN, G., C. N. AMBERGER, G. SEILER and C. W. LOMBARD (2000): Tricuspid valve dysplasia in fifteen dogs. *Schweiz Arch. Tierheilkd.* 142, 268-277.
- HUNT, G. B., M. R. B. PEARSON, C. R. BELLENGER and R. MALIK (1993): Use of modified patch-graft technique and valvectomy for correction of severe pulmonic stenosis in dogs: eight consecutive cases. *Aust. Vet. J.* 70, 244-248.
- KIENLE, R. D., W. P. THOMAS and P. D. PION (1994): The natural clinical history of canine congenital subaortic stenosis. *J. Vet. Intern. Med.* 8, 423-431.

25. KUNZE, C. P., J. A. ABBOTT, S. M. HAMILTON and R. L. PYLE (2002): Balloon valvuloplasty for palliative treatment of tricuspid stenosis with right-to-left atrial-level shunting in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 491-496.
26. LARSSON, M. H. M. A., M. R. BACCARO and L. PEREIRA (1997): Endocardial fibroelastosis in a dog. *J. Small Anim. Pract.* 38, 168-170.
27. LIU, S. K. (1977): Pathology of feline heart disease. *Vet. Clin. North. Am.* 7, 323-339.
28. MACDONALD, K. A. (2006): Congenital Heart Diseases of Puppies and Kittens. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 36, 503-531.
29. MALIK, R. and D. B. CHURCH (1988): Congenital mitral insufficiency in Bull Terriers. *J. Small Anim. Pract.* 29, 549-557.
30. MARTIN, M. W. S., M. GODMA, V. LUIS FUENTES, R. E. CLUTTON, A. HAIGT and P. G. G. DARKE (1992): Assessment of balloon pulmonary valvuloplasty in six dogs. *J. Small Anim. Pract.* 33, 443-449.
31. MONNET, E., E. C. ORTON, J. S. GAYNOR, J. BOON, A. WAGNER, K. LINN, L. A. EDDLEMAN and S. BREVARD (1996): Open resection for subvalvular aortic stenosis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209, 1255-1261.
32. ORTON, E. C., K. A. BRUECKER and T. O. MCCracken (1990): An open patch-graft technique for correction of pulmonic stenosis in the dog. *Vet. Surg.* 19, 148-154.
33. PATTERSON, D. F. (1989): Hereditary congenital heart defects in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 30, 153-165.
34. PATTERSON, D. F., T. PEXIEDER, W. R. SCHNARR, T. NAVRATIL and R. ALAILI (1993): A single major gene defect underlying cardiac conotruncal malformations interferes with myocardial growth during embryonic development: studies in the CTD line of Keeshond dogs. *Am. J. Human Genet.* 52, 388-397.
35. RAUSCH, W. P. and B. W. KEENE (2003): Spontaneous resolution of an isolated ventricular septal defect in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 219-220.
36. RINGWALD, R. J. and J. D. BONAGURA (1988): Tetralogy of Fallot in the dog: clinical findings in 13 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 24, 33-43.
37. RUDAR, M. (2005): Prirodne srčane grješke. U: *Patofiziologija* (GAMULIN, S., M. MARUŠIĆ i Z. KOVAČ, ur.), knjiga prva, 6. obnovljeno i izmijenjeno izdanje, Medicinska naklada, Zagreb, str. 849-850.
38. RUSH, J. E. (2006): Congenital Heart Diseases. Lecture Notes on Cardiology, District of Columbia Academy of Veterinary Medicine, 3 pp., www.dcavm.org.
39. SHIMIZU, M., R. TANAKA, H. HIRAO, M. KOBAYASHI, S. SHIMAMURA, K. MARUO and Y. YAMANE (2005): Percutaneous transcatheter coil embolization of a ventricular septal defect in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226, 69-72.
40. SHORES, A. and W. E. WEIRICH (1985): A modified pericardial patch graft technique for correction of pulmonic stenosis in the dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 21, 809-812.
41. SISSON, D. and D. M. MACCOY (1988): Treatment of congenital pulmonic stenosis in two dogs by balloon valvuloplasty. *J. Vet. Intern. Med.* 2, 92-99.
42. SISSON, D., M. LUETHY and W. P. THOMAS (1991): Ventricular septal defect accompanied by aortic regurgitation in five dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 27, 441-448.
43. TIDHOLM, A. (1997): Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs. *J. Small Anim. Pract.* 38, 94-98.
44. VAN ISRAËL, N., A. T. FRENCH, P. J. DUKES-MCEWAN and B. M. CORCORAN (2002): Review of left-to-right shunting patent ductus arteriosus and short term outcome in 98 dogs. *J. Small Anim. Pract.* 43, 395-400.
45. VAN MIEROP, L. H. S., D. F. PATTERSON and W. R. SCHNARR (1977): Hereditary conotruncal septal defects in Keeshond dogs: embryologic studies. *Am. J. Cardiol.* 40, 936-950.
46. WARE, W. (2007): Cardiovascular Diseases in Small Animal Medicine, Mason Publishing/The Veterinary Press, London, 228-262.
47. WHITE, R. N., A. BOSWOOD, O. A. GARDEN and R. A. HAMMOND (1997): Surgical management of subvalvular aortic stenosis and mitral dysplasia in a Golden Retriever. *J. Small Anim. Pract.* 38, 251-255.
48. WRIGHT, K. N., M. E. BLEAS and D. W. BENSON (2001): Clinical spectrum of congenital tricuspid valve malformations in an extended family of Labrador Retrievers. *Abstract. J. Vet. Intern. Med.* 15, 280.

Review of Common Congenital Heart Defects in Dogs and Cats

Marin TORTI, DVM, Junior Researcher, Vesna MATIJATKO, DVM, PhD, Associate Professor, Mirna BRKLJACIĆ, Assistant, Vladimir MRLJAK, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Congenital heart defects are defined as malformations of heart structures present at birth. The incidence of congenital heart defects is around 0.5 to 1% in dogs, and 2% in cats, though the actual incidence remains unknown. Also, breed predispositions for certain congenital heart defects are reported. The most common congenital heart defects are patent ductus arteriosus and (sub) aortic stenosis in dogs, and ventricular septal defect (endocardial cushion defect) in cats. The most important clinical sign of

a congenital heart defect is auscultation of a cardiac murmur. The intensity of the cardiac murmur accompanying a congenital heart defect progresses with animal age. In the advanced stages of congenital heart defects, signs of congestive heart failure also appear. Treatment of congenital heart defects can be conservative (medical therapy) or surgical. In the present paper, patent ductus arteriosus, aortic and pulmonic stenosis, ventricular septal defect, dysplasia of atrioventricular valves and tetralogy of fallot are reviewed.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

Indikacije: Goveda: 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: Goveda: 14 dana. Svinja: 10 dana. Mlijeko krava: 48 sati.

Kronično zatajenje bubrega u mačaka

Karla Alavanja, Martina Crnogaj i Nada Kučer



Uvod

Kronično je zatajenje bubrega sve češći zdravstveni problem mačaka. U posljednjih 10 godina pojavnost bolesti se povećala s 1,6% na 11,2%. Kod gerijatrijskih mačaka ta brojka čini 26,9% mačaka starijih od 10 godina i 49,1% mačaka starijih od 15 godina. Postoje pasminске predispozicije, ali ulogu imaju i nasljedne bolesti koje rezultiraju kroničnim zatajenjem i u mladih životinja (Ross i sur., 2005.).

To upućuje da ovoj bolesti treba pridati pažnju te pri svakom kliničkom pregledu mačke uočiti i prepoznati znakove koji mogu uputiti na ranu fazu zatajenja bubrega, kada se može djelovati na tijek bolesti.

Oboljenje bubrega općenito može značiti funkcionalno ili strukturno oštećenje bubrežnog tkiva koje se očituje makroskopskim ili mikroskopskim promjenama te promjenama u hematološkim, biokemijskim testovima, analizama urina, a praćeno je kliničkom slikom koja može biti različita, ovisno o vrsti oštećenja i trajanju inzulta (Grauer, 2008.).

Zatajenje se bubrega javlja kad je $\frac{3}{4}$ nefrona oba bubrega oštećeno što ukazuje na veliku kompenzatornu moć ovog organa, a upravo je to razlog dijagnosticiranja bolesti u kasnoj fazi razvoja. Izuzetak je akutno zatajenje bubrega koje se javlja iznanađ i s dramatičnom kliničkom slikom u životinja koje nisu imale nikakve

prethodne simptome, a glavni uzročnici su toksini i ishemije (Grauer, 2008.).

U svrhu postavljanja što točnije dijagnoze, terapije i prognoze, razvijen je sustav stupnjevanja kroničnog zatajenja bubrega. Taj je sustav preuzet iz humane medicine od International Renal Interest Societi (IRIS) i modificiran je u suradnji s American and European Societis of Veterinary Nephrology and Urology (Elliott, 2005.).

S obzirom da je kronično zatajenje bubrega ireverzibilno, potrebno je pratiti odrednice koje će nam dati uvid u stupanj razvoja i tijek bolesti da bismo usporili progresiju bolesti, smanjili opseg kliničkih simptoma i općenito poboljšali kvalitetu života pacijenta.

Etiologija

Bolest može biti uzrokovana nizom čimbenika, od nasljedne predispozicije, kongenitalno ili može biti stečena pa je potreban niz dijagnostičkih postupaka kako bismo ustvrdili primarni uzrok.

Zbog svoje karakteristične građe i fizioloških funkcija bubrezi su osjetljivi na ishemiju i toksično djelovanje jer 20% srčanog volumena protječe kroz bubrege što znači da velik dio toksina iz krvi prolazi kroz bubrege. Posebno je osjetljiva kora bubrega kroz koju prolazi 90% bubrežnog krvotoka, jer se tu nalaze glomerularne kapilare.

Bubrezi imaju znatnu ulogu u biotransformaciji lijekova i toksina.

Karla ALAVANJA, dr. med. vet.; Martina CRNOGAJ, asistentica, dr. med. vet., dr. sc. Nada KUČER, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet, Zagreb

Nastali su metaboliti uglavnom manje toksični za bubrege, ali u nekim slučajevima kao što je oksidacija etilen glikola u glikolat i oksalat, nastaju više toksični spojevi (Grauer, 2008.).

Patogeneza

Progresivno se smanjenje bubrežne funkcije odvija kroz nekoliko mjeseci ili godina, kao posljedica oštećenja bubrega. Njihova funkcija nastavlja padati neovisno o prisutstvu, odnosno odsutstvu primarnog uzroka te se smatra da je gubitak funkcija odraz prilagodbe bubrega na novonastale metaboličke, strukturne i funkcionalne situacije (Brown i sur., 1997.).

S gubitkom dijela nefrona, preostali zdravi pokušavaju održavati normalnu ukupnu glomerularnu filtraciju zbog čega dolazi do njihove hiperfiltracije i glomerularne hipertenzije. Ako je inicijalni događaj zahvatio glomerul, hipertenzija će se javiti kao odgovor na smanjenu propusnost glomerularnih kapilara da bi se održala minutna glomerularna filtracija, smanjit će se otpor glomerularnih arteriola i doći će do vazodilatacije aferentnih arteriola. To rezultira povišenjem tlaka u glomerularnim kapilarama i pojačanim protokom plazme, ali se ne povećava broj podocita koji okružuju glomerul te se smanjuje gustoća stanica i glomerul je podložan oštećenju. Time glomerul gubi funkciju zadržavanja makromolekula

Tabela 1. Uzroci kroničnog zatajenja bubrega

Urođeni
1. Policistični bubrezi 2. Amiloidoza 3. Aplazija bubrega 4. Hipoplazija bubrega 5. Displazija bubrega
Steceni
1. Akutno zatajenje bubrega 2. Taloženje imunokompleksa u glomerule 3. Infekcija - bakterijska, virusna ili gljivična 4. Neoplazme 5. Mehanička oštećenja 6. Idiopatski

uključujući i proteine, ponajprije albumine. Proteini mogu endocitozom ući u stanice i potaknuti aktivaciju medijatora upale na bazolateralnoj membrani. Na proteine mogu biti vezani lipidi ili željezo za koje je dokazano toksično djelovanje na tubule (Burton i sur., 1999.).

Tabela 2. Nefrotoksični lijekovi

Antibiotici
- aminoglikozidi - cefalosporini - polimiksin - sulfonamidi - tetraciklini
Antimikotici
- amfotericin B
Antihelmintici
- tiacetarsamid
Analgetici
- nesteroidni protuupalni lijekovi
Teški metali
- željezo - živa - kadmij - krom
Organske tvari
- etilen glikol - karbon-tetraklorid - kloroform - pesticidi - herbicidi
Pigmenti
- hemoglobin - mioglobin - i/v kontrastna sredstva
Kemoterapeutici
- cisplatin - metotreksat - doksorubicin
Anestetici
- metoksifluran

Poteškoće u otkrivanju primarnog uzroka kronične bubrežne insuficijencije čine tri fenomena povezana s progresijom bolesti. Prvo je međusobna ovisnost, odnosno povezanost dijelova nefrona. Drugo je činjenica da na različite agense bubrežno tkivo morfološki i funkcionalno odgovara na sličan način. Treći faktor je nemogućnost stvaranja novih nefrona nakon mjesec dana starosti životinje. Progresivne ireverzibilne lezije najprije nastaju na jednom dijelu nefrona te uzrokuju ireverzibilne lezije na ostatku nefrona. Upravo je zbog toga u kasnijoj fazi bolesti teško ustvrditi primarnu leziju te je potrebno rano otkrivanje bolesti da bi se moglo djelovati na specifičnog uzročnika ili mjesto početka lezije (Polzin, 2009.).

Klinička slika

Kronično se zatajenje bubrega razvija postupno kroz duži vremenski period, od nekoliko mjeseci čak i godina. S obzirom da je ovo bolest uglavnom starijih životinja vlasnici često tipičan gubitak tjelesne mase i slabu kondiciju povezuju sa starošću životinje. Životinje su općenito anoreksične, dehidrirane, depresivne, slabe, loša je kvaliteta dlake, izražena je poliurija i polidipsija, a ponekad i povraćanje. Kliničkim pregledom naći ćemo male, tvrde i nepravilne bubrege, neregenerativnu anemiju, uremiju, hipertenziju te simptome od strane ostalih organskih sustava ovisno koliko je bolest uznapredovala (Polzin, 2009.).

Uremija

Ureja nastaje u jetri metabolizmom aminokiselina, koncentracija u krvi joj se povisuje nakon hranjenja obilnom količinom bjelancevina, katabolizma mišića, krvarenja ili dehidracije što nije tipičan pokazatelj bolesti bubrega. Koncentracija kreatinina je manje pod utjecajem vanjskih faktora, jer svakodnevno nastaje u mišićima te mu je koncentracija prilično konstantna, ali ako dođe do poremećaja u glomerularnoj

filtraciji, to će izravno utjecati na povišenje koncentracije (Guyton i Hall, 2006.).

Uremija se primarno odražava na gastrointestinalnom traktu zbog čega je mačka anoreksična ili izbirljiva u hrani. Goldstein i sur. (1998.) pojavu povraćanja povezuju s toksinima koji djeluju na centar za povraćanje i nastankom uremičnog gastritisa koji može prijeći u ulcerativni i dovesti do krvavog povraćanja. Zbog smanjene ekskrecije povišena je koncentracija gastrina koji potiče parijetalne žlijezde želuca na izlučivanje i povisuje aciditet želuca. Isto tako dolazi i do oslobađanja histamina iz mastocita u mukozi. Sve to djeluje na razvoj gastritisa, eventualne ulceracije i ishemične nekroze.

Drugi bitan simptom uremije su erozije i ulceracije po sluznici usta i jezika te karakterističan uremični zadah. Prema Elliot i Barber (1998.) 30% uremičnih mačaka ima simptome periodontalne bolesti.

Poliurija i polidipsija

Jedan od prvih i najčešćih znakova kroničnog zatajenja bubrega je poliurija i polidipsija zbog nemogućnosti koncentracije urina. To se događa jer preostali nefroni ne mogu održavati ravnotežu vode i elektrolita, zbog oštećenja medule bubrega i nemogućnosti bubrežnog odgovora na antidiuretski hormon (Meyer i sur., 1991.). Polidipsija je izravno povezana s poliurijom, ali usprkos tome mačke s kroničnim zatajenjem bubrega često su i dehidrirane (Polzin, 2009.).

Hipertenzija

Bubrezi imaju ključnu ulogu u dugoročnom održavanju krvnog tlaka, putem održavanja ravnoteže između soli i vode te sustavom renin–angiotenzin–aldosteron. Kod oštećenja bubrega ekskrecija soli je smanjena te dolazi do dilatacije aferentne arteriole da bi se povisila minutna glomerularna filtracija u preostalim funkcionalnim nefronima. Jukstaglomerularni aparat to registrira kao smanjanje krvnog tlaka i izlučuje renin koji potiče stvaranje angiotenzina

I te njegovu pretvorbu u angiotenzin II i vazokonstriktorski učinak, ali potiče i izlučivanje aldosterona iz nadbubrežne žlijezde čime se dodatno povisuje krvni tlak (Guyton i Hall, 2006.).

Anemija

Tipično za kronično zatajenje bubrega je razvoj normocitne, normokromne, neregenerativne anemije. U koštanoj srži nalazimo smanjen broj perkusora eritroidne loze, dok su perkusori leukocitne loze i megakariociti normalno prisutni (Polzin, 2009.). Primarni razlog je smanjena sinteza eritropoetina u bubrezima, jer kod zdravih bubrega snižena koncentracija kisika u krvi potiče izlučivanje eritropoetina koje djeluje na koštanu srž potičući eritropoezu (Cook i Lathrop, 1994.).

Krvarenje

Zbog uremije često dolazi do krvarenja po desnim i gastrointestinalnom traktu što rezultira krvavim povraćanjem, melenom i anemijom. To se događa jer se mijenjaju svojstva trombocita te se oni agregiraju, mijenjaju se svojstva endotela krvnih žila i produkcija tromboksana A₂. Na pojačanu agregaciju trombocita na krvne žile mogu djelovati glikoproteini, prostaglandini i nitroksidi koji su kod uremije povišeni. Za razliku od njih, snižena je koncentracija von Willebrandovog faktora (Hedges i sur., 2007.).

Sekundarni hiperparatiroidizam

Sekundarni hiperparatiroidizam je prisutan u terminalnoj fazi, ali može se pojaviti i kod životinja s normalnom koncentracijom kalcija i fosfora. Općenito gledano, smanjenjem glomerularne filtracije povećava se koncentracija fosfora. Ona raste usporedno s koncentracijom kreatinina (Martinez i sur., 1997.). Bitnu ulogu ima sniženje koncentracije kalcitriola. Naime, kalcitriol je aktivni oblik vitamina D koji nastaje 1 α hidroksilacijom 25-hidroksikolekalciferola u stanicama

bubrežnih tubula. Kako dolazi do propadanja nefrona, prestaje produkcija 1 α -hidroksilaze. Paratiroidni hormon potiče nastanak kalcitriola koji zatim negativnom povratnom spregom djeluje na smanjenje izlučivanja paratiroidnog hormona. Kod zatajenja bubrega ovaj mehanizam je umanjnjen te je snižena koncentracija kalcitriola, a povišena koncentracije paratiroidnog hormona. To dovodi do mobilizacije kalcija iz kostiju koje se nastavlja i nakon što je koncentracija kalcija dostigla normalne vrijednosti. Povišenje koncentracije fosfora i narušen normalan omjer kalcija i fosfora dodatno stimulira paratiroidnu žlijezdu na izlučivanje (Polzin, 2009.).

Smanjena je apsorpcija kalcija iz crijeva te se njegova koncentracija u krvi još snižava što dodatno potiče paratiroidnu žlijezdu i mobilizaciju kalcija iz kostiju. Rezultat je hiperparatiroidizam i osteodistrofija. Zbog zahvaćenosti mandibule i maksile često dolazi do ispadanja zubiju. Posebno je važna nefrokalcinoza koja dodatno pogoršava funkciju bubrega (Bro i Olgaard, 1997.).

Laboratorijski nalazi

Metabolička acidoza

Kod mačaka se metabolička acidoza pojavljuje tek u četvrtom stadiju bolesti i smatra se da je posljedica kroničnog zatajenja, a ne znak progresije bolesti te nije prognostički značajna (Elliott i sur., 2003.). Kronična metabolička acidoza ima raznoliku kliničku sliku, od anoreksije, mučnine i povraćanja do mišićne slabosti i letargije.

Prva linija obrane od acidoze je od strane dišnog sustava koji pokušava izbaciti višak ugljičnog dioksida. Zbog postojećeg povišenog tlaka u pulmonarnim arterijama i dodatnih promjena u disanju, životinje su sklone razvoju plućnog edema što treba uzeti u obzir kod tekućinske terapije pacijenata u acidozi (Polzin, 2009.).

Uremija

Uremija podrazumijeva povišenu koncentraciju ureje, kreatinina i drugih neproteinskih dušičnih tvari u krvi zbog gubitka bubrežne funkcije.

Da bi što točnije procijenili rad bubrega i stupanj uremije bitan je omjer ureje i kreatinina, jer ako je povišen i nakon prehrane s niskom koncentracijom proteina može nas uputiti na pojačan katabolizam bjelancevina, krvarenja u probavnom sustavu, dehidraciju, anoreksiju ili brz gubitak mišićne mase. Stvorena ureja se može izlučiti preko bubrega ili se može metabolizirati u amonijak, aminokiseline i ugljični dioksid u bakterijama probavnog sustava, nakon čega se amonijak ponovo metabolizira u ureju u jetri. Nove metode liječenja pokušavaju zadržati dušične produkte u probavnom sustavu preko bakterija te ih izlučiti fecesom (Polzin, 2009.).

Hiperfosfatemija

S obzirom da su bubrezi glavni način izlučivanja fosfora, svaka promjena u glomerularnoj filtraciji rezultirati će zadržavanjem fosfora i hiperfosfatemijom (Polzin, 2009.).

Hipokalcemija, hiperkalcemija i hipermagneziemija

Kod kronične bubrežne insuficijencije mjerenjem koncentracije ioniziranog kalcija u većini slučajeva rezultat je hipokalcemija. Međutim, mjerenjem ukupnog serumskog kalcija nerijetko je nalaz upravo hiperkalcemija, jer se oslobođeni kalcij brzo veže, a u ionskom obliku se brzo gubi putem bubrega, poglavito pri acidozi.

Uzrok hiperkalcemiji najčešće je sekundarni hiperparatireoidizam zbog povišene koncentracije fosfora.

Hipermagneziemija je isto tako čest nalaz jer su bubrezi primarni način izlučivanja magnezija. Vezani magnezij je redovito povišen, dok u ioniziranom obliku varira (Polzin, 2009.).

Hipokalijemija

Kod mačaka s kroničnom bubrežnom insuficijencijom redoviti je nalaz hipokalijemija. Postoje teorije da uzrok leži u neadekvatnoj dijeti s premalo soli pa se aktivira sustav renin-angiotenzin ili pak zbog dehidracije, ali hipokalijemija se pogoršava kako bolest odmiče te se zatajenje bubrega može smatrati primarnim uzrokom (Buranakarl i sur., 2004.).

Stupnjevanje kroničnog zatajenja bubrega

S obzirom na dugotrajni tijek bolesti, možemo razlikovati faze bolesti od one bez ikakvih kliničkih simptoma pa do posljednje faze koju karakterizira jaka uremija. Iako mačke kao vrsta kasno pokazuju simptome bolesti pa je moguć nagli razvoj i uginuće bez prethodnih simptoma (Ross i sur., 2005.).

Da bi se lakše postavila barem okvirna prognoza bolesti, preuzet je iz humane medicine model stupnjevanja kroničnog zatajenja bubrega koji je prilagođen mačkama (Elliott, 2005.). Ovaj model moguće je primijeniti samo na stabilnim pacijentima, jer kod drugih bolesti koje zahvaćaju bubrege koncentracija ureje i kreatinina se drastično mijenja u kratkom vremenskom periodu. Osim toga, pacijenti se svrstavaju u podskupine, ovisno o proteinuriji, krvnom tlaku te omjeru kreatinina u krvi i mokraći.

Prema IRIS-u (International Renal Interest Society) stupnjevanje bolesti se temelji na koncentraciji kreatinina u normalno hidriranih mačaka.

U prvi stadij spadaju ne uremične mačke s koncentracijom kreatinina u krvi manjom od 140 $\mu\text{mol/L}$.

Drugi stadij obuhvaća mačke u blagoj uremiji s koncentracijom kreatinina od 140 – 250 $\mu\text{mol/L}$.

U trećem su stadiju mačke s razvijenom renalnom uremijom i kreatininom od 251 – 440 $\mu\text{mol/L}$.

Posljednji, četvrti stadij obuhvaća mačke s razvijenom renalnom uremijom, kreatininom višim od 440 $\mu\text{mol/L}$.

Naravno da kod postavljanja prognoze treba uzeti u obzir i druge čimbenike, ponajprije kliničku sliku, trajanje simptoma bolesti, eventualne komplikacije i starost mačke. Od velike koristi bi bio i podatak o primarnom uzroku zatajenja te brzina progresije bolesti neovisno o liječenju.

Dijagnostika

Prvi korak u postavljanju dijagnoze kroničnog zatajenja bubrega su: anamnestički podatci, nacional, habitus i *status praesens*. S obzirom da mačke dugo prikrivaju simptome bolesti dijagnoza se često lako postavlja, jer je već razvijena tipična klinička slika. Potrebno je napraviti hematološku i biokemijsku pretragu krvi, fizikalne i biokemijske pretrage urina te ultrazvučnu i rengenšku pretragu bubrega da bismo postavili što točniju dijagnozu i prognozu. Sljedeći korak je utvrditi stabilnost mačke, odnosno stupanj oštećenja bubrežne funkcije te komplikacije nastale zbog bolesti.

Pod komplikacije bolesti spadaju: anemija, hipertenzija, dehidracija, hiperparatireoidizam, hiperfosfatemija i hiperkalcemija, hipokaliemija, malnutricija, acidoza i uremija (Polzin, 2009.).

Liječenje

Liječenje kronične bubrežne insuficijencije uključuje specifičnu terapiju, prevenciju, liječenje nastalih komplikacija te usporavanje progresije bolesti (The Nati-

onal Kidney Foundation Disease Outcomes Quality Initiative Board, 2002.).

Zbog različitosti stanja, terapija se mora provoditi individualno za svaku pojedinu mačku. Specifična se terapija temelji na liječenju primarnog uzroka. S obzirom da je kronično zatajenje ireverzibilno specifična terapija neće dovesti do izlječenja, ali može usporiti razvoj bolesti. Liječenje komplikacija uključuje potpurnu i simptomatsku terapiju. Primarni ciljevi su ublažiti kliničke znakove uremije, ispraviti disbalans vode, elektrolita, vitamina i minerala, zatim omogućiti potreban dnevni unos proteina i kalorija te ublažiti progresiju bolesti (Polzin, 2009.).

Da bi se postigli ovi ciljevi bitno je svakom pacijentu propisati individualnu terapiju na osnovi kliničkih i laboratorijskih nalaza te je ovisno o reakciji mijenjati, odnosno nastalim promjenama stanja.

Dijetetska terapija

Dijetetska prehrana je osnova svakog liječenja kronične bubrežne insuficijencije. Primarno je takva prehrana s manjim udjelom proteina, ali i koncentracija i omjeri ostalih elemenata su od velike važnosti (Polzin, 2009.).

Bitno je da takva prehrana sadrži nižu koncentraciju fosfora da se ublaži hiperfosfatemija i hiperparatireoidizam koji potiču kalcifikaciju bubrega, samim time i bržu progresiju bolesti (King i sur., 2007.). Međutim, da bi se smanjila koncentracija fosfora u hrani potrebno je smanjiti udio bjelancevina koji su primarni

Tabela 3. Stupnjevanje kroničnog zatajenja bubrega prema koncentraciji kreatinina u krvi

Stadij	Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	Komentar
-	<140	Neke mačke možemo svrstati u rizičnu skupinu pa vrijednosti kreatinina treba redovito kontrolirati da bi se pravovremeno pristupilo terapiji
I.	<140	Neuremične mačke s drugim simptomima od strane mokraćnog sustava, palpatorno promijenjeni bubrezi, proteinurija te progresivan porast koncentracije kreatinina
II.	140 - 249	Blaga uremija
III.	250 - 439	Uremija praćena blagim kliničkim simptomima
IV.	>440	Uremija uz razvijene kliničke simptome bolesti

izvor fosfora. Snižavanjem koncentracije proteina bitno se ublažavaju znakovi uremije, ali kod mačaka koje nemaju znakove uremije drastično smanjenje unosa proteina treba izbjegavati s obzirom da su mačke isključivi mesojedi (Polzin, 2009.). Uobičajena mačija hrana sadrži 1-4% fosfora u suhoj tvari osiguravajući 2,9 mg/kcal, dok dijetna prehrana sadrži 0,5% fosfora što znači 0,9 mg/kcal (Polzin, 2009.). Problem je što se primjenom ovakve prehrane rezultati vide tek za 28-49 dana. Zato se najprije pristupa primjeni tvari koje vežu fosfor (Barber i sur., 1999.). To je u prvom redu aluminijev hidroksid i oksid te karbonatne soli. Druge tvari, osim aluminija, koje se mogu primijeniti su kalcijev karbonat i kalcijev acetat, ali je njihova uporaba upitna zbog hiperkalcemije posebno kad se primjenjuje kalcitriol. Tvari koje vežu fosfor primjenjuju se za vrijeme obroka, poglavito one na bazi kalcija, jer će inače više imati ulogu nadoknade kalcija nego vezanja fosfora.

Kalcijev acetat je učinkovit i sigurniji, jer veže više fosfora nego što otpušta kalcija. Inicijalna doza je 60-90 mg/kg/dan za kalcijev acetat i 90-150 mg/kg/dan za kalcijev karbonat (Polzin, 2009.).

Dehidracija

Mačke s kroničnom bubrežnom insuficijencijom su često kronično dehidrirane. Iako poliuriju prati i polidipsija, unos vode uglavnom nije dostatan da bi zadovoljio potrebe organizma. Osim toga životinje koje osjećaju mučninu uglavnom neće piti.

Otopina odabira je Ringerov laktat, jer povoljno djeluje i na acidozu. Aplicira se svakih 1-3 dana u količini 75-100 mL/kg, ovisno od slučaja do slučaja, odnosno prilagođava se individualno ovisno o stupnju dehidracije (Polzin, 2009.).

Hipokalijemija

Hipokalijemija je relativno česta u 2. i 3. stadiju bolesti, za razliku od 4. stadija. Razvija se zbog neodgovarajućeg unosa kalija hranom zbog inapetencije,

povećanog gubitka mokraćom zbog poliurije ili aktivacije renin-angiotenzin sustava kod prehrane s malo soli. Hipokalijemija se u mačaka očituje kao polimiopatija, odnosno opća mišićna slabost s karakterističnom ventrofleksijom (Polzin, 2009.). S obzirom da je acidoza predisponirajući faktor za hipokalijemiju, treba je ispraviti prije primjene kalija (Dow i sur., 1990.). Kalij se može nadoknaditi pripravkom kalijeva citrata, 40-60 mg/kg/dan podijeljeno u dvije doze i za 1-3 dana trebalo bi doći do znatnog poboljšanja kliničke slike (Polzin, 2009.). Nadoknada kalija potrebno je pratiti laboratorijskim kontrolama njegove serumske koncentracije.

Metabolička acidoza

Ispravkom metaboličke acidoze ublažuju se znakovi uremije kao što je: anoreksija, mučnina, letargija, slabost i gubitak težine, zatim se minimiziraju katabolički učinci na metabolizam proteina i povećava organizmu mogućnost adekvatnog odgovora na dodatne stresne situacije, dehidraciju ili respiratornu acidozu.

Za vlasnike je najprikladnija peroralna primjena sode bikarbone u početnoj dozi od 8-12 mg/kg svakih 8-12 sati u obliku tableta (Polzin, 2009.).

Hipertenzija

Kronična je bubrežna insuficijencija jedan od najčešćih uzroka povišenog krvnog tlaka kod mačaka, a kad se povisi dodatno pogoršava stanje već oštećenih bubrega, jer povećava stupanj proteinurije i dodatno oštećuje krvne žile (Bidani i Griffin, 2004.).

Lijekovi koji se najčešće koriste su enalapril i benazepril (ACE inhibitori) i amlodipin (bloktor kalcijских kanala) jer imaju blago protektivni učinak na bubrege (Polzin, 2009.).

ACE inhibitori slabo djeluju na snižavanje sistemskog krvnog tlaka, ali poništavaju djelovanje angiotenzina II na bubrežne arteriole čime umanjuju proteinuriju. To je njihova najvažnija uloga

i primjenjuju se do učinka od 0,25 do 0,5 mg/kg peroralno svakih 12–24 sata. Benazepril je povoljniji nego enalapril, jer se izlučuje putem žuči, a ne bubrega (Brown i sur., 2001.). Blokatori kalcijevih kanala uzrokuju vazodilataciju preglomerularnih arteriola čime povećavaju glomerularnu hipertenziju, ali djeluju na smanjeno zadržavanje makromolekula u epitelnim stanicama tubula i aktivaciju medijatora upale te na proteinuriju. U mačaka se njihova uporaba pokazala povoljnijom za bubrege nego za krvni tlak zbog čega spadaju u lijekove izbora. Amilodipin se daje u dozi od 0,625 mg/kg mačkama lakšim od 5 kg i 1,25 mg/kg mačkama preko 5 kg (Matur i sur., 2002.).

Anemija

Kod kronične bubrežne insuficijencije, pojava anemije nije neuobičajena, jer bubrezi proizvode eritropoetin, a uremija uzrokuje gastrointestinalna krvarenja i gubitak krvi. Takva je krvarenja teško sa sigurnošću ustvrditi jer nisu opsežna, ali kod životinja koje ne mogu nadoknaditi te gubitke rezultat će anemijom. Da bi ih ublažili preporučljivo je kod uremije primjenjivati H_2 antagoniste da se umanjí želudčana kiselina koja dodatno nadražuje sluznicu te preparate za poticanje apetita.

Liječenje treba započeti s primjenom željeza, jer njegova koncentracija u krvi redovito pada, zatim primjenom eritropoetina da se potakne koštanu srž na stvaranje novih eritrocita.

Inicijalna doza željeznog sulfata je 50–100 mg/dan, a peroralne pripravke je preporučljivo davati u češćim manjim količinama, jer mogu izazvati mučninu ili proljev. Kod anemije zbog kronične bubrežne insuficijencije najbolja terapija je primjena eritropoetina. Indikacija je hematokrit ispod 20% uz dokaz da se ne radi o gastrointestinalnom krvarenju ili nedostatku željeza i ostalih elemenata potrebnih za eritropoezu (Polzin, 2009.).

Eritropoetin se daje ovisno o hematokritu i za normalizaciju hematokrita treba

2–8 tjedana, jer već tada mačka ima pojačan apetit, poveća joj se tjelesna težina i ima više energije. Postoji u dva oblika; kao rekombinantni humani i darbepoetin. Doza eritropoetina se kreće od 50–100 i.j./kg s tim da se za početak liječenja preporuča 100 i.j./kg tri puta tjedno. Hematokrit se kontrolira svaki tjedan dok ne dostigne 30–35%. Kad je anemija izrazita, što podrazumijeva hematokrit od 14% i niže, preporučljivo je davati 150 i.j./kg eritropoetina dnevno prvih tjedan dana, a u slučaju blage anemije i hipertenzije dovoljno je 50 i.j./kg tri puta tjedno (Cowgill i sur., 1998.). Tijekom terapije ponekad je potrebno nadoknađivati i željezo, jer se pri stvaranju novih eritrocita brzo troši.

Terapija kalcitriolom

Kalcitriol, odnosno 1,25-dihidroksikolekalciferol je aktivni oblik vitamina D. Nastaje hidroksilacijom 25-hidroksikolekalciferola u bubrežima. Njegova uloga je povećanje apsorpcije kalcija i fosfora iz probavnog sustava, njihovo odlaganje u kosti i inhibicija sinteze paratireoidnog hormona (Guyton i Hall, 2006.).

Terapija kalcitriolom pokazala se uspješnom u snižavanju koncentracije paratireoidnog hormona, ali povoljno djeluje na opće stanje mačaka. Doza je 2–3 ng/kg svaka 24 sata, najčešće ga je potrebno davati do kraja života mačke s kroničnom bubrežnom insuficijencijom. Poboljša apetit, mačke postaju aktivnije i dokazano im se produžuje život (Nagode i sur., 1996.). S obzirom na njegovo brzo djelovanje i brz nestanak iz krvi omogućena je brza reakcija u slučaju prevelike doze. Terapija se prekine kad se koncentracija kalcija i fosfora normaliziraju te se nastavi s nižom dozom (Polzin, 2009.).

Zaključak

Kronično je zatajenje bubrega jedan od najčešćih zdravstvenih problema gerijatrijskih mačaka. Klinički se simptomi pojavljuju postupno i često prepoznaju u terminalnoj fazi bolesti. Sve

primarne posljedice kroničnog zatajenja, sekundarno su uzroci progresije bolesti. Cilj je terapije usporiti razvoj bolesti i gubitak funkcionalnog bubrega. Svakom je pacijentu potreban individualni terapijski pristup.

Sažetak

Kronično je zatajenje bubrega jedan od najčešćih zdravstvenih problema gerijatrijskih mačaka. Karakterizirano je ireverzibilnim i progresivnim prestankom funkcije bubrega. Gubitak funkcije $\frac{2}{3}$ nefrona će dovesti do nemogućnosti koncentracije urina, a gubitak $\frac{3}{4}$ do uremije. Međutim, kroz nekoliko mjeseci može doći do poboljšanja sekretorne i ekskretorne funkcije zbog hipertrofije preostalih funkcionalnih nefrona. Pojavnost kliničkih znakova je postupna, uključuje polidipsiju i poliuriju, smanjen apetit i lošu kvalitetu dlake. Često je veličina bubrega smanjena zbog zamjene funkcionalnog bubrežnog tkiva vezivnim i fibroznim tkivom, ali preostali funkcionalni dio može biti povećan. Uremija je važan klinički sindrom koji se pojavljuje kod gubitka integriteta oba bubrega. Da bismo postavili što točniju prognozu i terapiju potrebno je odrediti stadij bolesti. Tu bitnu ulogu ima koncentracija kreatinina kao pokazatelj glomerularne filtracije. U obzir treba uzeti da kod kroničnog zatajenja bubrega kao i svake kronične bolesti dolazi do gubitka tjelesne mase, ponajprije mišićne mase pa se koncentracija kreatinina može sniziti bez da se poboljšala glomerularna filtracija. Bolest se razvija pod utjecajem primarnog uzroka, zbog posljedica koje povratno negativno djeluju na bubrege ili oboje. Zbog toga je primarni cilj svake terapije usporiti razvoj bolesti i gubitak funkcionalnog bubrega. To sve uključuje spominjane terapijske postupke, od dijeta, antihipertenzivne terapije, ublažavanja proteinurije i terapije kalcitriolom. Dijetetska se terapija pokazala vrlo uspješnom u ublažavanju simptoma i poboljšanju kvalitete života mačaka. Jednako tako, ublažavanje hipertenzije i s njom povezane proteinurije znatno je smanjilo postotak uginuća. Vrlo je važno svakom pacijentu

individualno pristupiti, jer iako je klinička slika mačaka s kroničnom bubrežnom insuficijencijom srodna, ona nikako nije ista i ne može se uniformno pristupiti terapiji.

Literatura

1. BARBER, P., J. RAWLINGS and P. MARKWELL (1999): Effect of dietary phosphate restriction on renal secondary hyperparathyroidism in the cat. *J. Small. Anim. Pract.* 40, 62-70.
2. BIDANI, A. K. and K. A. GRIFFIN (2004): Pathophysiology of hypertensive renal damage. Implications for therapy. *Hypertension* 44, 595-601.
3. BRO, S. and K. OLGAARD (1997): Effects of excess PTH on nonclassical target organs. *Am. J. Kidney. Dis.* 30, 606-620.
4. BROWN, S., C. BROWN and G. JACOBS (2001): Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril in cats with induced renal insufficiency. *Am. J. Vet. Res.* 62, 375-383.
5. BROWN, S., W. CROWELL and C. BROWN (1997): Pathophysiology and management of progressive renal disease. *Vet. J.* 154, 93-109.
6. BURANAKARL, C., S. MATHUR and S. A. BROWN (2004): Effects of dietary sodium chloride intake on renal function and blood pressure in cats with normal and reduced renal function. *Am. J. Vet. Res.* 65, 620-627.
7. BURTON, C., C. COMBE and J. WALLS (1999): Secretion of chemokines and cytokines by human tubular epithelial cells in response to proteins. *Nephrol. Dial. Transplant.* 14, 2628-2633.
8. COOK, S. and C. LATHROP (1994): Serum erythropoietin concentrations measured by radioimmunoassay in normal, polycythemic, and anemic dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 8, 18-25.
9. COWGILL, L., K. JAMES and J. LEVY (1998): Use of recombinant human erythropoietin for management of anemia in dogs and cats with renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212, 521-528.
10. DOW, S., M. FETTMAN and K. SMITH (1990): Effects of dietary acidification and potassium depletion on acid-base balance, mineral metabolism and renal function in adult cats. *J. Nutr.* 120, 569-578.
11. ELLIOT, J. and P. BARBER (1998): Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *J. Small. Anim. Pract.* 39, 78-85.
12. ELLIOTT, J. A. (2005): Staging chronic kidney disease. In: ELLIOTT, J. A. and G. F. GRAUER: *BSAVA manual of canine and feline nephrology and urology*, 2nd ed, BSAVA, Gloucester (159-167).
13. ELLIOTT, J., H. M. SYME and P. J. MARKWELL (2003): Acid-base balance of cats with chronic renal failure: effect of deterioration in renal function. *J. Small. Anim. Pract.* 44, 261-268.
14. GOLDSTEIN, R., S. MARKS and P. KASS (1998): Gastrin concentrations in plasma of cats with chronic renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213, 826-828.
15. GRAUER, F. GREGORY (2008): Acute renal failure and chronic kidney disease. In: NELSON, W. R., C.

- G. COUTO: Small animal internal medicine, 4th ed., Mosby, St. Louis (645-659).
16. GUYTON, A. C. i J. E. HALL (2006): Medicinska fiziologija. Medicinska naklada, Zagreb.
 17. HEDGES, S. J., S. B. DEHONEY, J. S. HOOPER, J. AMANZADEH and A. J. BUSTI (2007): Evidence-based treatment recommendations for uremic bleeding. *Nature. Clin. Pract. Nephrol.* 3, 138-152.
 18. INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY: www.iris-kidney.com.
 19. KING, J. N., S. TASKER and D. A. GUNN-MORE (2007): Prognostic factors in cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 21, 906-916.
 20. MARTINEZ, I., R. SARACHO and J. MONTENEGRO (1997): The importance of dietary calcium and phosphorus in the secondary hyperparathyroidism of patients with early renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 29, 496-502.
 21. MATHUR, S., H. SYME and C. BROWN (2002): Effects of the calcium channel antagonist amlodipine in cats with surgically induced hypertensive renal insufficiency. *Am. J. Vet. Res.* 63, 833-839.
 22. MEYER, T., J. SCHOLEY and B. BRENNER (1991): Nephron adaptation to renal injury. In: RECTOR F.: The kidney, ed. 4th W. B. Saunders, Philadelphia (1871-1908).
 23. NAGODE, L., D. CHEW and M. PODELL (1996): Benefits of calcitriol therapy and serum phosphorus control in dogs and cats with chronic renal failure: both are essential to prevent or suppress toxic hyperparathyroidism. *Vet. Clin. North. Am.* 26, 1293-1330.
 24. POLZIN, D. J. (2009): Chronic kidney disease. In: ETTINGER, S. J., E. C. FELDMAN: *Veterinary internal medicine*, 7th ed., W. B. Saunders, Philadelphia (1990-2036).
 25. ROSS, S. J., D. J. POLZIN and C. A. OSBORNE (2005): Clinical progression of early chronic renal failure and implications for management. In: ANGUS, J. R: *Consultations in feline internal medicine*, 5th ed., Saunders, St. Louis (389-398).
 26. THE NATIONAL KIDNEY FOUNDATION DISEASE OUTCOMES QUALITY INITIATIVE BOARD (2002): Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Part 4. Definition and classification of stages of chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 39, S46-S75.

Chronic renal failure is one of the most

Feline Chronic Renal Failure

Karla ALAVANJA, DVM; Martina CRNOGAJ, DVM, Assistant; Nada KUČER, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

common health problems of geriatric cats and is characterized by progressive and irreversible cessation of kidney function.

Loss of function of $\frac{2}{3}$ of nephrons will lead to an inability to concentrate urine and loss of $\frac{3}{4}$ to uremia. However, the secretory and excretory functions may improve within months, due to the hypertrophy of the remaining functional nephrons. The prevalence of clinical signs is gradual and involves polydipsia and polyuria, decreased appetite, and poor coat quality. Often, the size of the kidneys is reduced due to replacement of functional kidney tissue with fibrous connective tissue, though the remaining functional part can be increased. Uremia is an important clinical syndrome that occurs with a loss of integrity of both kidneys. For more accurate prognosis and treatment, it is necessary to determine the stage of the disease. The concentration of creatinine plays an important role as an index of the glomerular filtration rate. However, it should be considered that chronic

kidney failure, like any chronic illness, leads to a loss of body mass, primarily of muscle mass, and that the creatinine concentration can be lowered without enhancing glomerular filtration. This disease develops under the influence of the primary cause, which as a result affects the kidneys, or both. Therefore the primary goal of any treatment is to slow progression of the disease and prevent the loss of the functional kidney. This includes all the mentioned therapeutic procedures, dietary therapy, antihypertensive treatment, mitigation of proteinuria and calcitriol therapy. Dietary therapy has proven to be very successful in mitigating symptoms and improving the quality of life for cats. Likewise, reducing hypertension and associated proteinuria significantly reduced mortality. It is very important to approach each patient individually, as although the clinical state of cats with chronic renal insufficiency is related, it certainly is not the same and cannot be treated uniformly.

Proteini akutne faze

Nejra Hadžimusić



Uvod

Odgovor akutne faze (engl. Acute phase response, APR) predstavlja sustavnu reakciju organizma na lokalne ili sistavne poremećaje homeostaze uzrokovane infektivnim agensom, parazitarom infestacijom, oštećenjem tkiva, traumom, kirurškim zahvatom, neoplastičnim rastom ili pak imunološkim poremećajem (Stadnyk i Gauldie, 1991., Gruys i sur., 1999.). Uloga odgovora akutne faze ogleda se u prevenciji daljnjeg oštećenja organa, izolaciji i uništavanju infektivnog agensa, uklanjanju štetnih molekula i debrisa te aktivaciji procesa obnavljanja, neophodnog za normalnu funkciju organa (Whicher i Westacott, 1992., Baumann i Gauldie, 1994.).

Jedan od sustavnih odgovora je promjena koncentracije određenog broja plazmatskih proteina poznatih kao proteini akutne faze (engl. Acute phase proteins, APP) (Eckersall i Conner, 1988., Baumann i Gauldie, 1994., Pannen i Robotham, 1995.). Proteinima akutne faze se smatraju oni proteini čija se koncentracija tijekom upale mijenja za 25% i više, bilo u pravcu smanjenja ili povećanja (Kushner, 1982.). Pri tom se proteini čije koncentracije rastu označavaju kao pozitivni proteini akutne faze, dok se oni čija razina opada nazivaju negativni proteini akutne faze (Eckersall, 1995.).

Danas je poznato oko 40 proteina akutne faze (Tabela 1).

Klasifikacija proteina akutne faze

Promjene koncentracije pojedinih proteina akutne faze se odvijaju različitim dinamikom, ali i različitim intenzitetom. Tako će koncentracija ceruloplazmina i komponente komplementa C3 i C4 porasti za približno 50%, dok koncentracija haptoglobina, kiselog alfa-1 glikoproteina, alfa-1 inhibitora proteaze, alfa-1 antihimotripsina i fibrinogena obično raste za 2-5 puta. Međutim, postoje znatne razlike u intenzitetu, ali i dinamici ovih promjena kod različitih vrsta životinja. Dva se glavna proteina akutne faze pasa i ljudi, C-reaktivni protein (CRP) i serum amiloid A (SAA) normalno u organizmu nalaze u tragovima. Međutim, njihove koncentracije tijekom odgovora akutne faze bilježe povećanje i od 1000 puta. S druge strane, kod goveda neće doći do porasta koncentracije CRP, ali će porasti koncentracija haptoglobina, SAA i nekih drugih proteina akutne faze.

Na osnovu dinamike i obima promjena Gruys i sur. (1999.) predlažu klasifikaciju proteina akutne faze u tri grupe, i to:

- povećanje koncentracije za približno 50%
- povećanje koncentracije dva do tri puta. Proteini se iz ove grupe mogu otkriti u cirkulaciji nakon osam sati od stimulusa
- brzo povećanje koncentracije do 1000 puta. Ovi se proteini u cirkulaciji mogu otkriti četiri

Mr. sc. Nejra HADŽIMUSIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH

Tabela 1. Neki proteini akutne faze i neke njihove uloge

Protein	Uloga
Kiseli alfa-1 glikoprotein	Interakcija s kolagenom Promocija rasta fibroblasta Vezivanje za neke metabolite
Alfa-1 antihimotripsinogen	Inhibitor proteaze
Alfa-1 antitripsin	Inhibitor proteaze Rastvaranje emfizema
Alfa-2 antiplazmin	Modulacija koagulacijske kaskade
Alfa-2 makroglobulin	Inhibitor nekoliko serum-proteaza i brojne druge funkcije
Antitrombin-3	Modulacija koagulacione kaskade
Apolipoprotein H (Beta glikoprotein 1)	Komponenta komplementa
C1 inhibitor	Negativna kontrola kaskade komplementa
C2	Komponenta komplementa
C4	Komponenta komplementa
C4 vezujući protein	Komponenta komplementa
C5	Komponenta komplementa
C9	Komponenta komplementa
C-reaktivni protein	Aktivacija komplementa i opsonizacija, interakcija s T-stanicama i B-stanicama
Ceruloplazmin	Transport bakra, uklanja reaktivni kisik
Faktor VIII	Stvaranje koagulumu
Faktor B	Komponenta komplementa
Feritin	Transport željeza
Fibrinogen	Stvaranje koagulumu
Fibronektin	Stvaranje koagulumu

sata nakon stimulusa i pri tom se najmanje 24 sata zadržavaju u maksimalnoj koncentraciji.

S druge strane, klasifikacija proteina akutne faze moguća je i na osnovu njihove funkcije. Takvu klasifikaciju su predložili Pepys i sur. (1989.), a ona podrazumijeva podjelu na pozitivne i negativne proteine akutne faze, gdje se u pozitivne ubrajaju sljedeći:

- inhibitori proteaze: alfa-1 antitripsin, alfa-1 antihemotripsin
- proteini koagulacije: fibrinogen, protrombin, faktor VIII, plazminogen
- transportni proteini: haptoglobin, hemopeksin
- drugi proteini: CRP, SAA, kiseli alfa-1 glikoprotein, ceruloplazmin.

Funkcije nekih proteina (CRP, SAA, kiselog alfa-1 glikoproteina) još uvijek

nisu u potpunosti razjašnjene te se stoga ne mogu svrstati u slične grupe.

U grupu negativnih proteina akutne faze, prema istim autorima, ubrajaju se:

- inhibitori proteaze: inter alfa-1 antitripsin
- proteini komplementa: properdin
- lipoproteini: lipoproteini visoke gustoće, lipoproteini niske gustoće
- drugi proteini: albumin, transeritritin (ranije poznat kao prealbumin), transferin.

Sinteza proteina akutne faze

Sinteza proteina akutne faze je regulirana proinflamatornim citokinima i to interleukinom-1 (IL-1), interleukinom-6 (IL-6) i faktorom nekroze tumora alfa (TNF- α), koji se otpuštaju s mjesta oštećenja i stimuliraju stvaranje APP-a, koji se otpuštaju 6-12 sati nakon stimu-

lansa. Glavno mjesto sinteze APP-a je jetra, međutim, neka istraživanja ukazuju da i druga tkiva poput pulmonalnog, adipoznog i intestinalnog mogu stvarati ove proteine (Yang i sur., 1995., Vreugdenhil i sur., 1999.). Nedavna su istraživanja pokazala da tijekom mastitisa mliječna žlijezda goveda lokalno stvara haptoglobin (Hp) (Hiss i sur., 2004.), SAA (Weber i sur., 2006.) i protein koji vezuje lipopolisaharid (engl. Lipopolysaccharide binding protein, LBP) (Bannerman i sur., 2003.).

Glavni proteini akutne faze

C-reaktivni protein

C-reaktivni protein je otkriven 1930. godine u serumu pacijenata oboljelih od pneumonije kao faktor koji aglutinira s C-polisaharidom pneumokoka (Tillet i Francis, 1930.), po čemu je kasnije ovaj protein i dobio svoj današnji naziv. Aglutinirajući faktor je otkriven kao protein 1941. godine (Abernethy i Avery, 1941.). CRP je pentraksin, sastavljen od pet subjedinica (~20kDa) povezanih nekovalentnim vezama. Kao reakcija na bakterijsku infekciju CRP se veže za patogen i aktivira klasični put komplementa, dovodeći do opsonizacije bakterije. Vezivanje CRP-a za patogen djeluje na specifične receptore fagocita, dovodeći do produkcije antiinflamatornih citokina i modulirajući funkciju neutrofila (Du Clos i Mold, 2001.).

Haptoglobin

Haptoglobin (Hp) je glikoprotein, tetramer, sastavljen iz dvije alfa i dvije beta subjedinice. Molekularna težina alfa subjedinice iznosi 16-23 kDa, dok je molekularna težina beta subjedinice 35-40 kDa. Humani Hp ima tri subtipa (Hp1-1, Hp 1-2, Hp 2-2). Haptoglobin pasa je sličan humanom Hp 1-1, dok je govedi Hp sličniji humanom Hp 2-2. Haptoglobin se preživača bitno razlikuje od haptoglobina karnivora i omnivora, tako Hp nije prisutan u serumu zdravih preživača, nego isključivo tijekom

odgovora akutne faze te se stoga ubraja u glavne proteine akutne faze preživača.

Primarna uloga haptoglobina je vezivanje slobodnog hemoglobina u krvi. Naime, haptoglobin ima veći afinitet za hemoglobin od svih transportnih proteina (Bowman, 1992.). Uklanjajući slobodni hemoglobin iz cirkulacije, Hp sprječava oksidativno oštećenje tkiva (Yang i sur., 2003.). Nastali Hp-hemoglobin kompleks prepoznaje površinski receptor makrofaga CD163, koji ga potom brzo uklanja iz cirkulacije (Graversen i sur., 2002.).

Serum amiloid A

Serum amiloid A je hidrofobni protein molekulske težine 9-14 kDa. Kod ljudi su poznate četiri izoforme ovog proteina, gdje se SAA1 i SAA2 javljaju kao proteini odgovora akutne faze, dok se SAA4 normalno stvara u jetri u malim količinama. SAA3 se, pak, stvara nehepatično za vrijeme akutne faze inflamatornog odgovora u plućima (Wilson i sur., 2005.), adipoznom tkivu (Fasshauer i sur., 2004.), kao i u mliječnoj žlijezdi (Weber i sur., 2006.). Mamarna izoforma (M-SAA3) je pronađena u govedem kolostrumu (McDonald i sur., 2001.).

Kiseli alfa-1 glikoprotein

Kiseli alfa-1glikoprotein (AGP) je visoko glikoliziran protein molekularne mase od oko 43 kDa. Čak 45% ovog proteina čine monosaharidi, i to manozu, galaktozu i glukozu. Uloga AGP-a još nije detaljno razjašnjena. Poznato je da se veže za brojne metabolite poput heparina, histamina, serotonina, steroida i kateholamina (Israili i Dayton, 2001., kao i za bazične lijekove. Zabilježena je njegova uloga u sazrijevanju T- i B-limfocita (Hiss i sur., 2007.).

Negativni proteini akutne faze

Koncentracija nekih proteina akutne faze je redovito smanjena za najmanje 25% tijekom odgovora akutne faze na infekciju, upalu i traumu. U ove se negativne

proteine akutne faze ubraja **albumin**, čija koncentracija postupno opada te je smanjenje koncentracije albumina najuočljivije tijekom kroničnih upala. **Transferin** je isto tako negativni protein akutne faze i transportni je protein serumskog željeza. Kod svinja je otkriven **apolipoprotein A-1** (Navarro i sur., 2004.), čija se koncentracija unutar 24-48 sati smanji za čak 50-80%, što je ustanovljeno tijekom eksperimentalne infekcije sa *Streptococcus suis* ili *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Carpintero i sur., 2005.). Kod štakora je za vrijeme odgovora akutne faze otkriveno smanjenje koncentracije **transeritrina** (TTR) (Rosales i sur., 1996.). TTR je tirozin vezujući protein, koji je ranije u humanom serumu bio poznat kao prealbumin.

Odgovor akutne faze kod različitih vrsta životinja

Odgovor akutne faze je još uvijek nedovoljno istražen kod različitih životinjskih vrsta. Ipak, poznato je da kod **goveda** sintezu proteina akutne faze reguliraju IL-1, IL-6 i TNF (Godson i sur., 1995.). Prema Godson i sur. (1995.) tijekom odgovora akutne faze goveda ne dolazi do porasta koncentracije CRP-a, stoga se CRP ne ubraja u proteine akutne faze ove vrste životinja. Glavni protein akutne faze goveda je haptoglobin. Porast se koncentracije Hp uočava kod hepatične lipidoze, mastitisa, eksperimentalne upale te nakon aplikacije deksametazona. Prema navodima McNair i sur. (1997.) prisustvo haptoglobina u serumu može biti pokazatelj akutne upale, akutne infekcije i traumatskog retikulitisa. Proteini čije koncentracije rastu tijekom odgovora akutne faze goveda su fibrinogen, SAA, ceruloplazmin, alfa-1 antitripsin i AGP.

Hirvonen i sur. (1999.) su istraživali odgovor Hp i AGP-a kod mliječnih krava s postpartalnim akutnim metritisom. Koncentracije Hp seruma zdravih krava iznosile su manje od 0,05 g/L, dok su

znatno više vrijednosti (preko 0,7 g/L) ustanovljene kod krava s izraženim kliničkim znacima.

Kod **ovaca** je opisano nekoliko proteina akutne faze (Hp, ceruloplazmin i fibrinogen) čije koncentracije rastu tijekom endotoksemijskog šoka i nekih pulmonarnih oboljenja.

Istraživanja provedena kod **koza** ukazuju na znatno povećanje serumskog haptoglobina prilikom distocije.

Najznačajnijim proteinima akutne faze kod **svinja** smatraju se CRP i Hp. Porast koncentracije Hp ustanovljen je kod svinja s atrofičnim rinitisom (Eurell i sur., 1990.) i prilikom infekcije s *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Istraživanja provedena na **konjima** upućuju na znatan porast pojedinih proteina akutne faze. Tijekom upalnog procesa je naročito intenzivna sinteza fibrinogena, dok je koncentracija ceruloplazmina smanjena. Prilikom upalnih stanja dolazi i do promjene koncentracije SAA.

Kod **pasa** su glavni proteini akutne faze CRP i SAA.

Prilikom infektivnog peritonitisa **mačaka** primjećena je intenzivna sinteza nekih proteina akutne faze (Goitsuka i Ohashi, 1990.). Glavni proteini akutne faze kod mačaka su SAA, Hp, AGP i fibrinogen.

Kod **štakora**, za vrijeme upalnih procesa, dolazi do smanjenja koncentracije serumskog transferina. Većina poznatih proteina akutne faze kod štakora je klasificirana u dva tipa reakcije akutne faze:

- Tip 1 – proteini akutne faze regulirani s IL-6 ili IL-1/TNF- α : CRP, AGP, Hp, hemopeksin, SAA i proteini komplementa;
- Tip 2 – proteini akutne faze regulirani s IL-6: ceruloplazmin, fibrinogen, β 2-makroglobulin čiji je porast koncentracije 10 do 100 puta karakteristika ove vrste.

Kod **ptica** su određene više koncentracije SAA i transferina za vrijeme eksperimentalno izazvane upale.

Glavni protein akutne faze nađen kod velikog broja različitih vrsta **riba** je CRP. Funke i sur. (1997.) odredili su molekulsku težinu CRP kod tuljana (*Phoca vitulina*) koja iznosi 25 kDa. Sekvenca aminokiselina CRP-a tuljana je slična sekvenci aminokiselina kod drugih vrsta, ali i sisavaca.

U kliničkom i istraživačkom radu neophodno je poznavanje različitog intenziteta promjena proteina akutne faze različitih vrsta životinja. Međutim, nedovoljno poznavanje dinamike proteina akutne faze kod jedne vrste lako može dovesti do pogrešne interpretacije nalaza. Tako povišen nivo feritina u serumu koji se javlja kao posljedica upale može biti pogrešno protumačen kao velika zaliha željeza. Slično se smanjen nivo albumina u serumu može pogrešno interpretirati kao odraz pothranjenosti.

Sažetak

Rani odgovor organizma na traumatu, upalu ili infekciju, poznat kao odgovor akutne faze predstavlja kompleksan skup sustavnih reakcija, koje se zapažaju ubrzo nakon izlaganja štetnom agensu. Jedna od komponenti odgovora akutne faze je i promjena koncentracije pojedinih proteina akutne faze. Proteini akutne faze predstavljaju veoma heterogenu grupu proteina plazme. Egzaktni biološki učinci različitih proteina akutne faze ni danas nisu u potpunosti razjašnjeni, ipak se smatra da ovi proteini sudjeluju u urođenim obrambenim mehanizmima i u kontroli upalnih odgovora na infekciju preko vezivanja za strane tvari, opsonizacijom te modulacijom fagocitnih funkcija stanice.

Literatura

1. ABERNETHY, T. J. and O. T. AVERY (1941): The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C-polysaccharide of *Pneumococcus*. J. Exp. Med. 73, 173-182.
2. BANNERMAN, D. D., M. J. PAAPE, W. R. HARE and E. J. SOHN (2003): Increased levels of LPS-binding protein in bovine blood and milk following bacterial lipopolysaccharide challenge. J. Dairy Sci. 86, 3128-3137.
3. BAUMANN, H. and J. GAULDIE (1994): The acute phase response. Immunol. Today 15, 74-80.
4. BOWMAN, B. H. (1992): Hepatic Plasma Proteins. Academic Press, New York. 159-166.
5. CARPINTERO, R., M. PINEIRO, M. ANDRES, M. ITURRALDE, M. A. ALAVA, P. M. H. HEEGAARD, J. L. JOBERT, F. MADEC and F. LAMPREAVE (2005): The concentration of apolipoprotein A-I decreases during experimentally induced acute-phase processes in pigs. Infect. Immun. 73, 3184-3187.
6. DU CLOS, T. W. and C. MOLD (2001): The role of C-reactive protein in the resolution of bacterial infection. Curr. Opin. Infect. Dis. 14, 289-293.
7. ECKERSALL, P. D. (1995): Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. Comp. Haematol. Inter. 5, 93-97.
8. ECKERSALL, P. D. and J. G. CONNER (1988): Bovine and canine acute phase proteins. Vet. Res. Commun. 12, 169-178.
9. EURELL, T. E., W. F. HALL and D. P. BANE (1990): Purification of swine haptoglobin by affinity chromatography. Canadian Vet. Res. 54, 501-503.
10. FASSHAUER, M., J. KLEIN, M. KRALISCH, U. KLIER, M. LOSSNER, M. BLUHER and R. PASCHKE (2004): Serum amyloid A3 expression is stimulated by dexamethasone and interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. J. Endocrinol. 183, 561-567.
11. FUNKE, C., D. P. KING, R. M. BROTHERRIDGE RM and J. L. ADELUNG (1997): Harbor seal (*Phoca Vitulina*) C-reactive protein (C-RP): purification, characterization of specific monoclonal antibodies and development of an immuno-assay to measure serum C-RP concentrations. Vet. Immunol. Immunopathol. 59, 151-162.
12. GODSON, D. L., M. E. BACAESTRADA, A. G. VANKESSEL, H. P. A. HUGHES and M. A. MORSY (1995): Regulation of bovine acute phase responses by recombinant interleukin-1. Canadian Vet. Res. 59, 249-255.
13. GOITSUKA, R. and T. OHASHI (1990): IL-6 activity in feline infectious peritonitis. J. Immunol. 144, 3195-3199.
14. GRAVERSEN, J. H., M. MADSEN and S. K. MOESTRUP (2002): CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma. International J. Biochem. Cell Biol. 34, 309-314.
15. GRUYS, E., M. J. M. TOUSSAINT, W. J. M. LANDMAN, M. TIVAPASI, R. CHAMANZA and L. van VEEN (1999): Infection, Inflammation and Stress Inhibit Growth. Mechanisms and Non-specific Assessment of the Processes by Acute Phase Proteins. In: WENSING, T. (Ed.), Production Diseases in Farm Animals. 10th

- International Conference, 1998. Wageningen Press, Wageningen. 72-87.
16. HIRVONEN, J., G. HUSZENICZA, M. KULCSAR and S. PYORALA (1999): Acute phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Vet. Bull.* 69, 1194-1198.
 17. HISS, S., M. MIELENZ, R. M. BRUCKMAIER and H. SAUERWEIN (2004): Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. *J. Dairy Sci.* 87, 3778-3784.
 18. HISS, S., U. MUELLER, A. NEU-ZAHREN and H. SAUERWEIN (2007): Haptoglobin and lactate dehydrogenase measurements in milk for the identification of subclinically diseased udder quarters. *Vet. Med.* 52, 245-252.
 19. ISRAILI, Z. H. and P. G. DAYTON (2001): Human Alpha-1- Glycoprotein and its Interactions with Drugs. *Drug Metabol. Rev.* 33, 161-235.
 20. KUSHNER, I. (1982): The phenomenon of the acute phase response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 389, 39-48.
 21. McDONALD, T. L., M. A. LARSON, D. R. MACK and A. WEBER (2001): Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary- associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 83, 203-211.
 22. McNAIR, J., D. G. KENNEDY and D. G. BRYSON (1997): Evaluation of competitive immunoassay for the detection of bovine haptoglobin. *Res. Vet. Sci.* 63, 145-149.
 23. NAVARRO, M. A., S. ACIN, M. ITURRALDE, L. CALLEJA, R. CARNICER, M. A. GUZMAN-GARCIA, N. GONZALEZ-RAMON, P. MATA, B. ISABEL, C. J. LOPEZ-BOTE, F. LAMPREAVE, A. PINEIRO and J. OSADA (2004): Cloning, characterization and comparative analysis of pig plasma apolipoprotein A-IV. *Gene* 325, 157-164.
 24. PANNEN, B. H. J. and J. L. ROBOTHAM (1995): The acute phase response. *New Horiz.* 3, 183-197.
 25. PEPYS, M. B., M. L. BALTZ, G. A. TENNENT, J. KENT and P. D. ROSSDALE (1989): Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet. J.* 21, 106-109.
 26. ROSALES, F. J., S. J. RITTER, R. ZOLFAGHARI, J. E. SMITH and A. C. ROSS (1996): Effects of acute inflammation on plasma retinol, retinol-binding protein, and its mRNA in the liver and kidneys of vitamin A-sufficient rats. *J. Lipid Res.* 37, 962-971.
 27. STADNYK, A. W. and J. GAULDIE (1991): The acute phase protein response during parasitic infection. *Parasitol. Today* 7, 7-12.
 28. TILLET, W. S. and T. FRANCIS (1930): Serologic reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.* 52, 561-571.
 29. VREUGDENHIL, A. C. E., M. A. DENTENER, A. M. P. SNOEK, J. W. M. GREVE and W. A. BUURMAN (1999): Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J. Immunol.* 163, 2792-2798.
 30. WEBER, A., A. T. WEBER, T. L. McDONALD and M. A. LARSON (2006): Staphylococcus aureus lipoteichoic acid induces differential expression of bovine serum amyloid A3 (SAA3) by mammary epithelial cells: Implications for early diagnosis of mastitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 109, 79-83.
 31. WHICHER, J. T. and C. I. WESTACOTT (1992): The acute phase response. In: WHICHER, J. T., EVANS S. W. (eds.) *Biochemistry of Inflammation*. Kluwer Academic, London. 243-271.
 32. WILSON, T. C., C. J. BACHURSKI, M. IKEGAMI, A. H. JOBE and S. G. KALLAPUR (2005): Pulmonary and systemic induction of SAA3 after ventilation and endotoxin in preterm lambs. *Ped. Res.* 58, 1204-1209.
 33. YANG, F. M., W. E. FRIEDRICHS, A. L. NAVARIJOASHBAUGH, L. A. DeGRAFFENRIED, B. H. BOWMAN and J. J. COALSON (1995): Celltype- specific and inflammatory-induced expression of haptoglobin gene in lung. *Lab. Invest.* 73, 433-440.
 34. YANG, F. M., D. J. HAILE, F. G. BERGER, D. C. HERBERT, E. van BEVEREN and A. J. GHIO (2003): Haptoglobin reduces lung injury associated with exposure to blood. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 284, 402-409.

Acute phase proteins

Nejra HADŽIMUSIĆ, DVM, MSc, Senior Assistant, Veterinary Faculty, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Early response to trauma, inflammation or infection, known as the acute phase response (APR) is a complex set of systemic reactions observed shortly after exposure to harmful insult. One of the most interesting features of the acute phase response is a change in the concentration of certain acute phase proteins (APP). APPs are a heterogeneous

group of plasma proteins. The exact biological effects of various acute phase proteins is not completely understood, though it is considered that these proteins are involved in innate defensive mechanisms in the control of inflammatory response to infection by binding to the substance, opsonisation activity and modulation of phagocytic cell function.

Strana tijela kao uzrok poremećaja u prohodnosti probavnog trakta u psa i mogućnosti njihovog uklanjanja - prikaz iz prakse

Marijan Sabolić



Uvod

Gutanje stranih tijela nije česta pojava u pasa, ali svakodnevna praksa svjedoči određenoj učestalosti. Strana tijela veoma često prolaze pasivno kroz probavni trakt i odlaze *per rectum in naturam*. Ipak, nerijetko zastanu u nekom dijelu probavnog sustava, od usne šupljine do rektuma, izazvavši pritom teške zdravstvene probleme.

Gutanje stranih predmeta najčešće je posljedica neprirodnog apetita, odnosno poremećaja u metabolizmu mineralnih tvari (*allotriophagia*), ali i probavnih poremećaja (Forenbacher, 1983.). Strani predmeti mogu dospjeti u probavni trakt psa i u igri (Lisicin i Potočnjak, 2008.).

Probavni sustav započinje usnom šupljinom koja je omeđena apikalno usnama (*labium maxillare et mandibulare*), lateralno obrazima (*buccae*), dorzalno tvrdim nepcem (*palatum durum*) koje se kao meko nepce (*palatum molle*) kaudoventralno nastavlja u ždrijelnu šupljinu, ventralno jezikom i podjezičnim prostorom i kaudalno ždrijelnim tjesnacom (*isthmus faucium*) (Zobundžija i Babić, 1985., Rebesko i sur., 1986.).

U ustima zastaju poglavito oštra strana tijela, poput igle za šivanje, udice za ribolov, drvenih ivera ili kosti. Na

jeziku nisu rijetkost prstenasta strana tijela poput gumenih prstena, žičanih omči ili hrskavični prsteni dušnika koji uzrokuju utegnuće jezika (*strangulatio linguae*) (Silbersiepe i Berge, 1950.). Strana tijela poput kamenja, koštica, gumenih ili plastičnih loptica, komada dječjih igračaka dakako mogu biti progutana, ali i zaustavljena već u jednjaku i to u njegovu vratnom, prsnom ili trbušnom dijelu. Budu li progutana dolaze u želudac. Propasira li strano tijelo želudac slijedeće mjesto zastoja može biti već duodenum. Ipak, najčešće mjesto zastoja stranih tijela u crijevu su tanka crijeva jejunum ili pak ileum, ileocekalno područje te iznimno kolon kao i sva ona mjesta gdje od ranije postoje na crijevnoj stjeci promjene različite etiologije koje svojim utiskivanjem u lumen crijeva uzrokuju crijevnu stenozu ili okluziju (Forenbacher, 1983.).

Materijal i metode

U razdoblju od 2000.-2008. godine u ambulantu za prevenciju i liječenje bolesti malih životinja Veterinarske stanice Varaždin, pregledano je 15.175 pasa. Pretraživanjem datoteka u istom razdoblju utvrđeno je da je 336 pasa

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

predvedeno u ambulantu sa simptomima poremećaja u prohodnosti probavnog sustava. Starije datoteke nisu dostupne.

Pacijenti su bili psi različitih pasmina, dobi i tjelesne mase.

Dijagnoza je postavljena temeljem anamnestičkih podataka, kliničkog pregleda, radiološke dijagnostike i dijagnostičke laparotomije.

Pacijenti su zbrinuti konzervativnim tretmanom (Ringerova otopina s ili bez natrijeva laktata, 0,9% otopina NaCl s/c ili i/p, spazmolitici, parafinsko ulje, laneno ulje), manualnom ekstrakcijom uz pomoć laringoskopa i dugačkih savijenih hvataljki, manjim kirurškim zahvatima te gastrotomijom, enterotomijom i resekcijom crijeva.

Svi operacijski zahvati obavljani su u općoj anesteziji (Rompun, Ketaminol, Apaurin, Atropin).

Rezultati i rasprava

Kliničkim pregledom pacijenata sa stranim tijelom u usnoj šupljini (sl. 1, 2, 3, 4, 5) utvrdilo se slinjenje, podražaj na povraćanje ili povraćanje (*salivatio, vomitus, vomituritio*). Povraćanje uzrokuje refleksni podražaj upućen iz područja ždrijela (*isthmus faucium*) centru za povraćanje u produženoj moždini, odnosno senzoričnim jezgrama vagusa odakle se impulsi odvođe u motorična središta za mišićje koje sudjeluje u procesu povraćanja (Forenbacher, 1983.). Pacijenti su bili uznemireni ili pak apatični, očitovali su različiti stupanj boli. Radi napora pri učestalim pokušajima povraćanja očne spojnice bile su intenzivno crvene. Stekne se dojam egzoftalmije. Često su bili otvorenih čeljusti. Šapama su nastojali ukloniti strano tijelo iz usne šupljine i jezika. Najčešće radi boli i uplašenosti, nisu dozvolili pregled pa je bila nužna sedacija ili opća anestezija. U pacijenta

koji je navukao gumeni prsten (sl. 3) do baze jezika, opažen je otok i plavilo jezika, dakako kao posljedica staznog edema i stazne hiperemije uzrokovanih kompresijom krvožilja jezika. Strana tijela iz usne šupljine uklonjena su u općoj anesteziji nakon manjih kirurških zahvata na jeziku, mekom nepcu i unutarnjoj strani obraza. Rane su očišćene, rekonstruirane i sašivene. Gumeni prsten kojim je stranguliran trup jezika psa (*strangulatio corporis linguae*) uklonjen je prerezivanjem prstena.

U pacijenta s prekidom u prohodnosti jednjaka koji je uzrokovala koža od suhe slanine (sl. 6), vlasnik je opazio slinjenje i snažan podražaj na povraćanje. Budući vlasnik nije odmah potražio pomoć proces je potrajao, pas je postao apatičan zauzevši stav raširenih prednjih nogu, spuštene glave i ispruženog vrata. Prije nego je zatražio pomoć, vlasnik je pretpostavio da je došlo do zastoja kože u jednjaku pa je psu ponudio hranu koju je pas odbio. Pri tom je vlasnik bio uvjeren da će pas sa zalogajem hrane sve zajedno progutati. Pas je odbio i ponuđenu vodu čime je vjerojatno izbjegnuto zagrcnuće ili posljedična aspiracijska pneumonija (Silbersiepe i Berge, 1950.). Dijagnoza je postavljena palpacijom vratnog dijela jednjaka, a vizualizacija stranog tijela *in situ* laringoskopom u maksimalnoj ekstenziji vrata. Koža je uklonjena pažljivim izvlačenjem dugačkim povijenim peanom sa zubom. Zahvat je izveden u općoj anesteziji. Ista klinička slika zabilježena je i u dva pacijenta koji su nakon aplikacije spazmolitika progutala strana tijela.

Strana tijela dospjela u želudac dijagnosticirali smo u četiri psa. Pacijenti nisu pokazivali kliničke simptome akutne bolesti. Tek pažljivo uzeta anamneza potaknula je sumnju na strano tijelo u želudcu. Povremeno povraćanje, promjenljiv apetit i mršavljenje bila su zapažanja vlasnika. Ovo pak ukazuje na kronicitet patološkog procesa u

želudcu kojemu je mogući uzrok i strano tijelo. Konačna dijagnoza postavljena je rengenološkom pretragom. Pronađena strana tijela bila su velike gustoće sjene što ih je činilo i lako prepoznatljivim na rengenskoj slici. Strana tijela koja ostavljaju slabu i neprepoznatljivu sjenu su najčešće predmeti od gume, spužve, špagi i slično. Vidljiva su ako su u želudcu okružena plinom. Metalna strana tijela iz naših primjera otkrivaju se bez obzira je li u želudcu sadržan plin. Dakako, sonografija gastrointestinalnog sustava može upotpuniti pretrage koje će dovesti do objektivne dijagnoze (Šehić, 2004.). U 3 psa strana tijela iz želudca uklonjena su laparo-gastrotomijom u općoj anesteziji (sl. 7, 8, 9). U četvrtog psa strano tijelo je nakon konzervativnog tretmana evakuirano iz probavnog trakta prirodnim putem. Jedan pas uginuo je drugi dan poslije operacije.

Vrlo često strana tijela iz želudca prolaze kroz pilorus u tanka crijeva. Potpomognuta crijevnom peristaltikom, ako su primjerenog oblika i veličine, mogu spontano izaći *per rectum*. Obznanjena istraživanja na klinički zdravim psima i psima kojima je prethodno učinjena resekcija crijeva i latero-lateralna anastomoza ukazuju na činjenicu da strana tijela poput kamenja u pravilu pasiraju probavni sustav prirodnim putem (Capak i Butković, 1991.). U 3 naša pacijenta, strana tijela zastala u crijevima (sl. 10, 11, 12) izazvala su, radi prekida prohodnosti crijeva (*obturatio s. obstructio intestini*), simptome akutnog abdomena, odnosno ileusa. Anamnestički i klinički utvrdi se učestalo povraćanje ili samo podražaj na povraćanje, nemir i bolovi u trbuhu, proširen i napeti trbuh, zgrbljen stav, tenezam pri pokušaju defeciranja, izrazita osjetljivost na palpaciju trbušne stijenke, potpuni gubitak apetita, izlučivanje sluzi s primjesama krvi *per rectum*, dehidracija različitog stupnja. Kamen iz ileuma psa (sl. 10) izvađen je nakon laparo-enterotomije. Da bi uklonili dio gumene igračke (sl. 11) iz tankog

crijeva psa, zbog opsežnih promjena na stjenici crijeva bili smo primorani učiniti resekciju dijela crijeva. Rekonstrukcija crijeva učini se termino-terminalnom anastomozom. Traka za brtvljenje navoja pri vodoinstalaterskim radovima (sl. 12) uklonjena je nakon enterotomije. Iz anamneze smo saznali da pas ne jede, povraća, očituje tenezam, stenje, maše repom, vrti se u krug kao da želi uhvatiti rep, povremeno kao da nešto uspije uhvatiti što bezuspješno povlači uz očitovanje boli. Pregledom smo utvrdili da uistinu iz anusa „nešto“ visi. Oprezno povlačenje nije dalo rezultata. Nativna profilna rengenografija dala je nedefiniranu sjenu poput sjene mekih česti. Odlučili smo učiniti dijagnostičku laparotomiju. Pregledom trbušne šupljine uočili smo da u cijeloj dužini crijeva od prijelaza duodenuma u jejunum postoji



Slika 1. Padobranska kopča iz usne šupljine psa (7x3 cm)



Slika 2. Igla i konac iz jezika psa



Slika 3. Gumeni prsten s jezika psa (3,5 cm)



Slika 4. Udica za ribolov iz usne šupljine psa



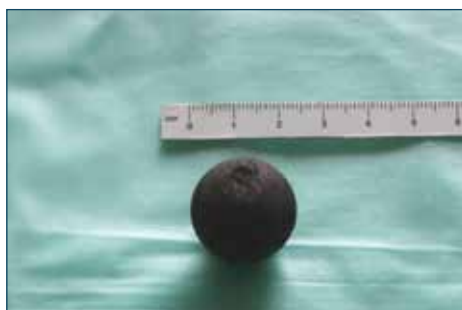
Slika 5. Udica za ribolov iz usne šupljine psa



Slika 6. Koža od slanine iz jednjaka psa



Slika 7. Kamen iz želudca psa (3,5x2x2,5 cm, tž. 28 gr.)



Slika 8. Metalna kugla iz želudca psa (2,5 cm, tž. 46 gr.)



Slika 9. Metalni predmet iz želudca psa (2,5x3,5 cm, tž. 88 gr.)



Slika 10. Kamen iz tankog crijeva psa (5x4x2,5 cm, tž. 86 gr.)



Slika 11. Komad igračke za pse iz tankog crijeva psa (3x2,5 cm)



Slika 12. Vodoinstalaterska traka (u cijeloj duljini probavnog sustava psa)

nekakva čvrsta traka koja u konačnici visi iz anusa. Nakon enterotomije izvukli smo svitak trake koju smo laganim povlačenjem pokušali izvući. Međutim, uočili smo da nam na jednom mjestu prijete artifično uvrnuće ileuma (*invaginatio s. intussusceptio*). Na tom mjestu učinili smo još jednu enterotomiju. Ingestiranu traku potom smo prerezali. Jedan po jedan komad trake laganim smo povlačenjem izvukli na mjestima gdje su učinjene enterotomije. Učini se rekonstrukcija crijeva i operacijske rane. Sva tri psa su se uspješno oporavila. U 29 pacijenata sa stranim tijelom u crijevima liječenje peroralnom aplikacijom laksancija, spazmolitika, infuzijskih tekućina i antimikrobnih lijekova omogućilo je evakuaciju stranih tijela prirodnim putem.

U preostala 292 pacijenta radilo se o koprostazi, odnosno zastoju ekskremenata ponajprije u kolonu i rektumu izazvanom najčešće grješkom u hranjenju i držanju pasa. Devet je pasa zbrinuto enterotomijom, a 283 konzervativnom obradom. Dva psa su nakon enterotomije uginula dok su svi psi podvrgnuti konzervativnom liječenju uspješno izliječeni. Uočeno je da su od začepa crijeva u najvećem dijelu obolijevali stariji psi osobito oni koji se nedovoljno kreću. Jednolična prehrana, prečesta prehrana kostima ili odviše kostiju u obroku najvažniji je etiološki čimbenik. Prema Forenbacheru

(1983.) začep crijeva najčešće je simptom drugih bolesti napose promjena u području ano-rektalnog sklopa. Na drugom mjestu po učestalosti je začep alimentarnog podrijetla dok je megakolon rijetko oboljenje iako i ne tako rijetko kako se općenito drži. Svi pacijenti podvrgnuti su tretmanu kojemu je primarni zadatak bio nadoknada tjelesnih tekućina Ringerovom otopinom s ili bez natrijeva laktata, 0,9% otopinom NaCl, spazmoliticima i antimikrobnim lijekovima. Osim onih pasa koji su podvrgnuti enterotomiji svi ostali su peroralnim putem dobili i parafinsko ili laneno ulje.

Relativno mali broj pasa u kojih smo dijagnosticirali zastoj stranih tijela u probavnom sustavu, različitost u pasminskoj pripadnosti, različitost dobnih kategorija te lokalizacije zastoja stranih tijela ne omogućava nam zaključke o mogućim predispozicijama. Capak i sur. (2001.) pak izvješćuju da je okluzivni ileus dijagnosticiran u 0,62% pacijenata. Najučestalije se pojavio u križanaca, a potom dobermana, pudla, koker španijela, njemačkih ovčara i rotvajlera. Prema istim istraživanjima najčešće mjesto zastoja je tanko crijevo i želudac. Najčešće progutana strana tijela su kamenje, plastični i gumeni predmeti. Većina pacijenata liječena je u lipnju i listopadu.

Radi zastoja stranih tijela u različitim dijelovima probavnog trakta u jednog je

psa strano tijelo uklonjeno manualnom ekstrakcijom dok je jedanaest pasa kirurški zbrinuto. Donosimo slikovni prikaz stranih tijela koja su pohranjena u našoj zbirci.

Hoće li strano tijelo pasirati kroz probavni trakt ili ne uvelike ovisi o njegovoj veličini i obliku, materijalu i njegovoj težini, ali i o fiziološko-morfološkim suženjima u cijelom probavnom traktu. Dakako moguća su i pato-morfološka suženja poput onih koja nastaju kao posljedica upalnih procesa, divertikula, dobroćudnih ili zloćudnih novotvorina koje uzrokuju okluziju crijeva, odnosno akutni ili subakutni ileus (Forenbacher, 1983.).

Organizam posjeduje učinkovite mehanizme kojima nastoji ukloniti strano tijelo iz probavnog trakta od usporavanja crijevne peristaltike do refleksne relaksacije crijevne muskulature kojima eliminira primjerice oštre predmete (Lisicin i Potočnjak, 2008.).

Nerijetko vlasnici pasa ne zatraže pomoć odmah osim u slučajevima kada se radi o stranim tijelima u usnoj šupljini i jednjaku. Strana tijela u želudcu ostaju nezapažena često dosta dugo dok će crijevo propasirati za nekoliko sati ili će nastati ileus.

Uporaba fleksibilnih optičkih endoskopa i različitih hvataljki za uklanjanje stranih tijela jest metoda izbora. Endoskopskim postupcima učinjeno je uklanjanje stranih tijela iz probavnog trakta psa minimalno invazivnim ili značajno manje invazivnim od esofago-, gastro- i enterotomije ili pak enterotomije. Ipak, kirurški zahvat je u slučajevima akutnog ileusa te spontanih ili artifičnih perforacija dijelova probavnog trakta nužan. U takvim slučajevima je endoskopsko uklanjanje stranih tijela kontraindicirano (Lisicin i Potočnjak, 2008.).

Budući nemamo mogućnost endoskopskog uklanjanja stranih tijela, naši pacijenti u kojih je bilo nužno

ukloniti strana tijela, zbrinuti su kirurški. U jednom slučaju učinjena je manualna ekstrakcija stranog tijela iz jednjaka. Dakako, kirurški zahvat izbjegnut je u svim slučajevima kada se pretpostavljalo da će evakuacija stranog tijela biti moguća konzervativnim pristupom, odnosno uporabom emetika, laksancija, spazmolitika, infuzijskih tekućina. U konzervativnom tretmanu, dijetalna prehrana od naročitog je značaja zbog njezinog svekoliko korisnog učinka, a posebice potpore funkciji sluznice probavnog trakta, poticanja fiziološke peristaltike crijeva te kupiranja upalnog procesa u probavnom traktu (Mežnarić i Potočnjak, 2008.).

U kirurškom zbrinjavanju pacijenata korištene su standardne operacijske tehnike kao i anesteziološki postupci.

Od ukupno dvadeset operiranih pacijenata, što radi stranog tijela što radi začepa ekskrementima, egzistirala su tri (15%). Prema izvještajima Kahn i sur. (2005.) kod kirurških zahvata na crijevima zabilježen je mortalitet do 12%. Prema istim autorima peritonitis povećava mortalitet i do 31%.

U poslijeoperacijskom tijeku bilo je nužno pribjeći restitucijskom liječenju čija je svrha bila da se nakon uklanjanja uzroka bolesti, u ovom slučaju stranih tijela, potaknu prvobitne funkcije probavnog sustava poticanjem njegove cjelovite motoričke, sekretorne, probavne i resorptivne aktivnosti. To je uključivalo poseban režim ishrane i opskrbu tekućinom, odnosno suzbijanje dehidracije. Nutritivna svojstva Prescription Diet i/d i a/d komercijalnih proizvoda iskorištena su u strategiji potpune opskrbe organizma potrebnim tvarima, a jednako tako i radi zaštite ugrožene želučano-crijevne funkcije zbog dugotrajno oslabljenog apetita. Uspostava eubioze crijeva, odnosno obnova i održanje fiziološke crijevne mikropopulacije veoma je važna (Forenbacher, 1983., Mežnarić i Potočnjak, 2008.). Dijetalna prehrana i/d

komercijalnim proizvodima pokazala se iznimno učinkovitom pri liječenju bolesti probavnog trakta u pasa (Mežnarić i Potočnjak, 2008.). Vlasnici operiranih pasa bili su neskloni pripremanju dijetalnih obroka zbog potrebitog vremena za pripremu uvijek svježih obroka, a naročito s razloga duže poslijeoperacijske rekonvalescencije (8-17 dana). Ovakav način prehrane primijenjen je i u svih pasa u kojih je zastoj stranih tijela ili koprostaza podvrgnut konzervativnim liječenjem.

U operiranih pacijenata nužno je bilo i simptomatsko liječenje usmjereno k ublažavanju poslijeoperacijskih bolova. Dakako, poslijeoperacijski tretman uključivao je i antimikrobnu terapiju.

Neovisno od činjenice da je konzervativna terapija vrlo često učinkovita, u što smo se i sami u praksi više puta uvjerali, ipak držimo da je u svim slučajevima akutnog ileusa uzrokovanog stranim tijelom, nužno bez odgode pribjeći operacijskom zahvatu. Dakako, ako nemamo mogućnost uklanjanja stranog tijela uz pomoć fleksibilnog endoskopa s forcepsima ili je ona kontraindicirana. Svaka odgoda kirurškog zbrinjavanja povećava rizik od intra ili postoperacijskih komplikacija koje mogu ugroziti život pacijenta.

Sažetak

U razdoblju od godine 2000.-2008. u ambulantni za prevenciju i liječenje bolesti malih životinja pregledano je 15.175 pasa. Radi poremećaja u prohodnosti probavnog trakta liječeno je 336 pasa. U 44 slučaja poremećaj u prohodnosti probavnog trakta uzrokovan je stranim tijelom. U jednog psa strano tijelo iz jednjaka uklonjeno je manualnom ekstrakcijom, u 5 pasa strana tijela uklonjena su iz usne šupljine nakon manjih operacijskih zahvata, u tri psa učinjena je gastrotomija, u dva psa enterotomija dok je u jednog psa učinjena resekcija crijeva. U 32 pasa strana tijela su uz konzervativnu obradu propasirala probavni sustav. Od preostala 292 pacijenta koji su liječeni radi zastoja ekskremenata, 283 psa podvrgnuta su konzervativnom tretmanu dok

je u devet pasa učinjena enterotomija. Smrtnost u poslijeoperacijskom tijeku je dosegla 15%. Autor prikazuje nekoliko primjera stranih tijela uklještenih u različitim dijelovima probavnog sustava psa. Procjena o mogućem konzervativnom tretmanu u cilju evakuacije stranog tijela iz želudca i crijeva *per rectum* mora biti razborita i utemeljena. U protivnom operacijski zahvat je nužan što je u opisanim slučajevima i učinjeno. Ekstrakcija stranih tijela iz probavnog trakta psa manje invazivnim tehnikama pretpostavlja posjedovanje fleksibilnih endoskopa u kombinaciji s različitim forcepsima za strana tijela. Ukoliko ova pretpostavka nije zadovoljena, a evakuacija *per rectum* uz pomoć medikamenata je upitna, operacijski se zahvat drži nužnim bez odgode kako bi se izbjegle moguće komplikacije.

Literatura

1. CAPAK, D. and V. BUTKOVIĆ (1991): On the etiology of foreign body induced ileus in dogs. Vet. arhiv 61, 297-306.
2. CAPAK, D., M. ŠIMPRAGA, D. MATIČIĆ, R. BALI and BIGGI JANOŠKA (2001): Incidence of foreign-body-induced ileus in dogs. Berl. Munch. Tierarztl. Wschr. 114, 290-296.
3. FORENBACHER, S. (1983): Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja. Zagreb: JAZU i Sveučilišna naklada Liber.
4. KAHN, M. CYNTHIA, S. LINE, DANA G. ALLEN, D. P. ANDERSON, L. B. JEFFCOTT, KATHERINE E. QUESENBERRY, O. M. RADOSTITS, P. T. REEVES and ALICE M. WOLF (2005): The Merck Veterinary Manual. 9th Edition. In: Diseases of the stomach and intestines in small animals. Merck and co., inc. Whitehouse Station, N. J. USA, 332-333.
5. LISICIN, TEA i D. POTOČNJAK (2008): Endoskopsko uklanjanje stranih tijela iz probavnog trakta psa. Vet. stn. 39, 41-50.
6. MEŽNARIĆ, MAJA i D. POTOČNJAK (2008): Dijetalna prehrana kod bolesti probavnog trakta u pasa. Vet. stn. 39, 351-358.
7. REBESKO, B., L. RIGLER, M. ZOBUNDŽIJA i Ž. JANKOVIĆ (1986): Slikovni priručnik anatomije domaćih životinja. Ljubljana-Zagreb-Beograd: Državna Založba Slovenije.
8. SILBERSIEPE, E. i E. BERGE (1950): Specijalna kirurgija za veterinare i studente. Zagreb: Nakladni Zavod Hrvatske.
9. ŠEHIĆ, M. (2004): Bolesti organa i organskih sustava abdomena i toraksa u domaćih životinja. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
10. ZOBUNDŽIJA, M. i K. BABIĆ (1985): Primjenjena anatomija domaćih životinja. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Foreign Bodies as a Cause of Obstruction of Gastrointestinal Tract and Options for their Removal – Case Study

Marijan SABOLIĆ, MSc, DVM, Veterinary Station, Varaždin

In the period 2000-2008, at the Clinic for the Prevention and Therapy of Diseases in Small Animals, 15,175 dogs were examined. There were 336 dogs treated for obstructions in gastrointestinal tract. In 44 cases, obstruction in gastrointestinal tract was caused by a foreign body. In 1 dog, foreign body was removed from the esophagus by manual extraction, in 5 dogs foreign bodies were removed from the mouth after minor surgeries, in 3 dogs gastrotomy was done, in 2 dogs enterotomy was performed, while in 1 dog bowel resection was done. In 32 dogs, foreign bodies were sifted by the gastrointestinal tract with the conservative treatment. Among other 292 patients who were treated due to blockage of excrement, 283 dogs were subject to a conservative treatment, while enterotomy was done in 9 dogs. Post-surgical mortality rate reached 15%.

The author presents several examples of foreign bodies wedged in various parts of the gastrointestinal system of a dog. Estimate about the possibility of conservative treatment for evacuation of a foreign body from the stomach and intestines per rectum must be reasonable and well argued. Otherwise a surgery is necessary, which has been done in the described cases. Extraction of foreign bodies from the gastrointestinal tract of a dog with less invasive methods requires the possession of flexible endoscopes in combination with various forcepses for foreign bodies. If this requirement is not fulfilled, and evacuation per rectum by means of medicaments is questionable, a surgery is required without delay to avoid possible complications.



FIZIOVET

ekskluzivni zastupnik i distributer za

VETERINARY INSTRUMENTATION

Opremanje veterinarskih ambulanti

Kompletna oprema i instrumentarij za:

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

Anestezija i monitoring
Dijagnostička oprema

www.vetinst.com



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

INDI_SHEEP TRADI_CHEESE, europski istraživački projekt: održiva proizvodnja tradicionalnih sireva od mlijeka lokalnih pasmina ovaca u regiji:

1. poboljšanje reproduktivnog managementa populacija autohtonih pasmina ovaca,
2. osiguranje higijene i kakvoće sira

J. Grizelj, S. Vince, Branimira Ževrnja, T. Dovenski, Lidija Kozačinski, M. Lazarević, Ekaterini Theodosiadou i Foteini Samartzi



INDI_SHEEP TRADI_CHEESE predstavlja europski istraživački projekt kofinanciran kroz okvirni program FP7 (SEE-ERA.NETPlus) koji je u konzorciju okupio 5 istraživačkih partnera iz 4 zemlje regije (Grčka, Hrvatska, Makedonija i Srbija).

Proizvodnja je sira tipična za svako zemljopisno područje što je činjenica prepoznata kroz sireve zaštićene zemljopisnim podrijetlom. Potrošači su prepoznali tradicionalne sireve po njihovim jedinstvenim svojstvima kvalitete, a pri tome zahtijevaju higijenske certifikate njihove proizvodnje. To su sirevi koji se mahom proizvode preradom sirovog mlijeka koje je u sebi sačuvalo specifične arome koje proistječu od kvalitetnih, očuvanih nedirnutih pašnjaka.

Cilj ovog projekta je pružiti potporu lokalnim proizvođačima u izradi sigurnih i certificiranih tradicionalnih sireva od mlijeka autohtonih pasmina

ovaca. Takav će se cilj ostvariti kroz osiguranje opskrbe mlijekom autohtonih pasmina ovaca te osiguranjem higijene i naglašavanjem kvalitativne nadmoći tradicionalnih sireva.

Radni plan projekta strukturiran je kroz 4 istraživačka i 1 management radni paket (tzv. work packages). U istraživačkim će se paketima provoditi istraživanja s ciljem optimizacije različitih predloženih protokola, dok peti radni paket uključuje financijsku, znanstvenu i administrativnu koordinaciju.

Opskrba tržišta ovčjim mlijekom i mliječnim proizvodima te janječim mesom izrazito je sezonska. Tradicionalni je uzgoj autohtonih pasmina ovaca nisko produktivan. Ukoliko ovčari žele odgovoriti zahtjevima modernog tržišta i opskrbljivati ga svojim proizvodima tijekom cijele godine, nužno je provoditi reproduktivni management stada koji je temelj ovog europskog projekta.

Dr. sc. Juraj Grizelj, dr. med. vet., docent, dr. sc. Silvijo Vince, dr. med. vet., viši asistent, Branimira Ževrnja, dr. med. vet., znanstvena novakinja, dr. sc. Lidija Kozačinski, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski Fakultet, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Toni Dovenski, dr. med. vet., redoviti profesor, Fakultet veterinarske medicine, Skoplje, Makedonija; dr. sc. Miodrag Lazarević, dr. med. vet., redoviti profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Srbija; dr. sc. Ekaterini Theodosiadou, Fakultet veterinarske medicine, Škola javnog zdravstva, Karditsa, dr. sc. Foteini Samartzi, Nacionalni fond za poljoprivredna istraživanja, Veterinarski istraživački institut, Solun, Grčka

Projekt ima za zadatak osigurati europskom mliječarskom ovčarstvu inovativnu, gospodarski i okolišno održivu tehnologiju neophodnu za nehormonalnu proizvodnju ovčjeg mlijeka i srodnih proizvoda kao što je sir. Isto se ima ostvariti umjetnim osjemenjivanjem (UO) kojim će se kontrolirati rasplodivanje tijekom cijele godine, bez egzogene uporabe hormona.

Ova će tehnologija omogućiti europskom ovčarstvu da djeluje u potpunom suglasju s legislativom Europske komisije koja ograničuje korištenje egzogenih hormona u sinkronizaciji stada, posebice izvan sezone spolne aktivnosti, a koja će biti dodatno pooštrena u vrlo bliskoj budućnosti.

U tom će smislu projekt omogućiti održivost ovčarstvu kako s gospodarskog tako s ekološkog aspekta. Nadalje, omogućit će se europskom ovčarstvu da odgovori na povećanu potražnju za ovčjim mliječarskim proizvodima uključujući organski proizvedene proizvode putem kontinuirane opskrbe nehormonalno proizvedenog mlijeka tijekom cijele godine.

Radni paketi posloženi su kako slijedi:

1. OSIGURANJE OPSKRBE MLIJEKOM AUTOHTONIH PASMINA

U ovom će se radnom paketu analizirati reproduktivne karakteristike i osobitosti nekih lokalnih pasmina ovaca (ovčepoljska pramenka u Makedoniji, dalmatinska i lička pramenka u Hrvatskoj, sjenička pramenka u Srbiji

i lezbo iz Grčke) od čijeg se mlijeka proizvode tradicionalni sirevi u svrhu dobivanja uvida o mogućnostima povećanja produktivnosti autohtonih pasmina ovaca. Uvid će se dobiti detaljnom analizom reproduktivnih svojstava i osobitosti na osnovu kojih će biti moguće stvoriti unaprijeđene reproduktivne programe kojima će se moći ostvariti povećana produktivnost stada, ukoliko potrebu za povećanjem produktivnosti stada izraze ovčari ili njihove udruge.

Pristup I: Ovaj pristup orijentiran je primjeni metoda potpomognute reprodukcije u radu s autohtonim pasminama ovaca. U ovom će se dijelu projekta proučavati mogućnosti poboljšanja i unaprijeđenja produktivnosti autohtonih pasmina primjenom umjetnog osjemenjivanja i MOET postupaka (multipla ovulacija i embriotransfer).

Cilj je ovog dijela projekta utvrditi, standardizirati i prilagoditi MOET protokole uvjetima proizvodnje i uzgoja autohtonih pasmina ovaca, a napose bi se pozornost usmjerila istraživanju smrzivosti ovnovskihejakulata (različitim krioprotektorima i protokolima) i zametaka. Podnošenje smržavanja ejakulata provjerit će se laparoskopskim umjetnim osjemenjivanjem otapanjem sjemeni pohranjenog u kontejneru s tekućim dušikom.

Svi su gore opisani protokoli bitni za formiranje banke biološkog materijala navedenih pasmina u budućnosti.



Slike 1 i 2. Lička pramenka na pašnjaku OPG Nikola Flanjak, Hrvatski Blagaj

II: Ovaj je pristup posvećen primjeni prirodnih nehormonalnih metoda kontrole estrusa i povećanja plodnosti stada koje su primjerene ekstenzivnom i poluekstenzivnom, ekološki prihvatljivom ovčarenju. Prije nego li se primjene nehormonalne metode kontrole estrusa potrebno je vrlo precizno odrediti pasminske reproduktivne profile (karakteristike spolnog ciklusa, sezone spolne aktivnosti i anestrusa i dr.) ovaca, ali jednako tako i ovnova. Na osnovu dobivenih rezultata dobit ćemo spoznaje kada se u terenskim uvjetima mogu primijeniti nehormonalne metode sinkronizacije stada („utjecaj mužjaka“, primjena svjetlosnih režima) i flushing (pojačana hranidba 3-4 tjedna prije planiranog pripusta) koje su u skladu s rastućom potražnjom za organskim, ekološkim proizvodima na tržištu EU. Opisanim je metodama moguće

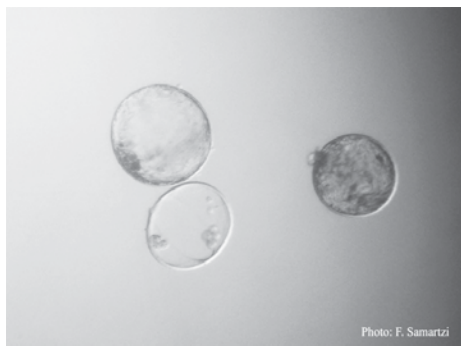
ostvariti raniji početak sezone mrkanja i pripusta ovaca, odnosno inducirati sezonu spolne aktivnosti u skladu sa zahtjevima tržišta tijekom cijele godine.

2. OSIGURANJE HIGIJENE I NAGLAŠAVANJE IZNIMNE KAKVOĆE TRADICIONALNIH SIREVA

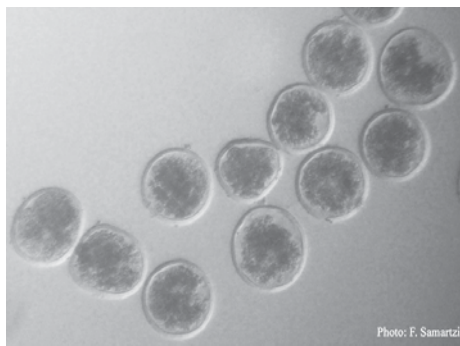
Pozornost će se ovog radnog paketa usmjeriti prema produkciji četiri tradicionalna sira iz regije (Ladotyri Mytilinis iz Grčke, Sir iz mišine iz Hrvatske, Ovčo belo sirenje iz Makedonije i Sjenički sir iz Srbije). To su sirevi izvrsne kakvoće zahvaljujući tome što se tijekom njihove proizvodnje ne gube jedinstvene arome s nedirnutih pašnjaka, visoke razine izvornih bakterija mliječne kiseline i mliječne bjelancevine denaturirane tijekom termičke obrade mlijeka. U proizvodnji ovakovih sireva soljenje, sušenje i porast



Slika 3 i 4. Postupak ispiranja ovčje maternice (vidljivi superovulirani jajnici s više žutih tijela)



Slika 5. Ovčji zametci dobiveni ispiranjem maternice (ekspanzirane blastociste)



Slika 6. Ovčji zametci dobiveni ispiranjem maternice (morule)



Slika 7. Ovan ličke pramenke s pregačom



Slika 8. Ovce lička pramenka u oboru

kiselosti su postupci tijekom kojih dolazi do eliminacije ili redukcije na sigurne razine bilo kojeg eventualno prisutnog nepoželjnog mikroorganizma. To pak udvostručuje potrebu za higijenom tijekom svih postupaka proizvodnje te za kakvoćom sirovog mlijeka. U isto vrijeme varijabilnost proizvoda, kao posljedica heterogenosti izvorne mikroflore, je mana u proizvodnji tradicionalnih sireva.

Analize će se provoditi počevši od inicijalnog supstrata tj. sirovog mlijeka, a zatim i sira.

I. Evaluacije kakvoće mlijeka: mikrobiološka pretraga i kemijska analiza mlijeka te

II. Evaluacije kakvoće sira: mikrobiološka pretraga, učinak pasterizacije mlijeka na mikrobní razvoj, sastav NSLAB (nestarterske bakterije mliječne kiseline) tijekom zrenja, razvoj patogena, kemijske i biokemijske analize sira tijekom zrenja te organoleptička evaluacija sira.

Sirevi koji će se analizirati svojstveni su i specifični za pojedine regije.

Neka od njihovih svojstava su sljedeća:

Ladotyri Mytilinis je sir koji se tradicionalno proizvodi na grčkom otoku Lezbu (Mytilini je najveći grad na tom otoku). To je svijetlo žuti, slani tvrdi sir snažnog okusa koji zrije i čuva se u maslinovom ulju (lado=ulje; tyri=sir). Detaljno će se analizirati tradicionalna tehnologija proizvodnje sira tijekom koje će se redovito uzorkovati sir kako tijekom zrenja (90 dana) tako i tijekom pohrane u ulju (1 godina).

Sir iz mišine je bijeli do svijetložuti sir, s nijansu tamnijom površinom koji se proizvodi od sirovog punomasnog ili obranog ovčjeg mlijeka u Dalmaciji tijekom ljetne ispaše, a karakterizira ga specifični ugodni miris i umjereno slani okus. Sir je nepravilnog oblika, a ima nekoliko ovalnih nepravilno raspoređenih šupljina. Sir je poseban i po tome što zrije u kožnoj janjećoj mješini. Traje 4-6 mjeseci. Sir će se uzorkovati tijekom 30-50 dana zrenja na uzornom Obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu OPG Skovrlj Mira iz Razvođa kod Drniša.

Ovčo belo sirenje (ovčji bijeli sir) predstavlja bijeli meki sir koji se proizvodi tijekom ljetnih mjeseci u planinskim područjima Makedonije. Zrenje u rasolu traje 3 mjeseca kako bi sir dobio svojstven okus i aromu. Uzorci će se uzimati s dva planinska područja tijekom trajanja zrenja sira.

Sjenički se sir proizvodi od sirovog mlijeka u južnom dijelu Srbije (Sandžak), a da bi dobio svojstvenu strukturu i aromu zrije najkraće 4-5 mjeseci, a čuva se u rasolu. I u ovom će se slučaju pratiti tradicionalna tehnologija proizvodnje te će se uzorkovanja provoditi tijekom cijelog razdoblja zrenja.

Sagledat će se i utjecaj biljnog sastava pašnjačkih površina (ovisno o području, godišnjem dobu) i proučiti utjecaj biljnog sastava pašnjaka na kemijska, mikrobiološka i organoleptička svojstva sira.

Dobiveni će rezultati biti od važnosti u smislu ostvarenja prepoznatljivosti autohtonih sireva na



Slika 9. Mišine sa sirom tijekom zrenja

tržištu dobivanjem oznake proizvoda zaštićenog geografskog podrijetla (PGI) ili proizvoda zaštićenog oznakom izvornosti (PDO). Dobiveni rezultati mogu koristiti u svrhu stvaranja parametara za kontrolu kakvoće i sigurnosti, parametara samog tijeka proizvodnje kako bi se dobio kvalitetan proizvod, a potrošači bi tako dobili certificirani kvalitetan proizvod.

3. RAZVOJ BAZE PODATAKA O SUSTAVIMA RUKOVOĐENJA

Projekt će posvetiti pozornost rizicima koje nosi uzgoj autohtonih pasmina ovaca (zdravlje, dobrobit, biološka raznolikost, okoliš, uzgoj i držanje, hranidba, ponašanje, marketing, legislativa, itd.) i opisati različite proizvodne sustave.

Razvit će se baza podataka temeljena na ekonomskim, okolišnim i socijalnim parametrima proizvodnje koja može poslužiti u sagledavanju potencijalnih rizika, donošenju odluka te sagledanju perspektiva održivog uzgoja ovaca.

Oredit će se svi parametri i sakupljati podatci povezani s očuvanjem autohtonih pasmina i tradicionalnih sireva na razini farme te će se oformiti baza podataka o sustavima rukovođenja takovih uzgoja. Analizom podataka bit će moguće razviti simulacijske statističke modele i predviđanja o održivoj proizvodnji tradicionalnih sireva dobivenih od mlijeka autohtonih pasmina.

Na kraju projekta (listopad 2012.) očekujemo ostvarenje sljedećih rezultata:

- znanstveno izvješće o indukciji superovulacije i njenoj standardizaciji za lezbo i ovčepoljsku pramenku te protokoli smrzavanja sjemena i zametaka
- znanstveno izvješće o učinkovitosti metoda za kontrolu rasplodivanja koje nisu temeljene na korištenju hormonalnih spušvica (utjecaj mužjaka, implantati melatonina) u ličke i sjeničke pramenke u terenskim uvjetima koji će se temeljiti na podatcima o rasplodnim osobitostima prethodno dobivenim u ovom projektu
- znanstveno izvješće o kakvoći i higijenskom statusu proizvodnje tradicionalnih sireva, utjecaju različitih faza laktacije, zemljopisnog položaja (različiti klimatski i pašni uvjeti) i pasterizacije mlijeka na kvalitativna svojstva sira te standardizacija tradicionalne proizvodnje sira korištenjem novih tehnologija
- izvješće o anketi i analizi rizika za lezbo pasminu.

Očuvanje tradicionalnih pasmina i ekstenzivnog ovčarenja očuvat će ili povećati površinu zemlje uključenu u tradicionalnu, organsku proizvodnju, što se smatra važnijim od manje količine dobivenog proizvoda ovim načinom uzgoja. Zajednička istraživanja autohtonih pasmina ovaca u regiji pomoći će utvrđivanju njihovog statusa, komparativnih prednosti i nedostataka.

Rezultat vrjednovanja ovakovog načina uzgoja i proizvodnje trebalo bi ohrabriti ovčare da nastave uzgajati autohtone pasmine ovaca koje neće mijenjati s produktivnijim pasminama koje imaju tendenciju dominiranja u zemljama Europe tijekom zadnjih desetljeća. Ovo ujedno osigurava očuvanje biodiverziteta regije.

Sve informacije vezane uz rad na ovom europskom projektu mogu se dobiti i na mrežnoj stranici projekta www.indisheep-tradicheese.gr.



Hrvatski veterinarski institut

Hrvatski veterinarski institut

10000 Zagreb, Savska cesta 143

tel.: (01) 6123 -600

www.veinst.hr



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

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

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

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

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

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

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

Veterinarski priručnik, 6. izdanje

Urednici: *Vlasta Herak-Perković, Željko Grabarević, Josip Kos*

ISBN: 978-953-176-438-4

Izdavač: *Medicinska naklada, Zagreb 2012.*

Cijena Priručnika iznosi 1.200,00 kn, a možete ga naručiti putem telefona 01/3779-444 ili kupiti *online*, u web knjižari Medicinske naklade.

Izdavački pothvat

Zašto je objavljivanje ovoga sveučilišnog priručnika pravi izdavački pothvat? Zbog opsežnosti građe, izuzetno velikoga broja autora i suradnika, uložених sredstava te činjenice da nas od prethodnog izdanja dijeli više od 20 godina. Vremenski odmak uvjetovao je posve novu koncepciju i izgled Priručnika. Mnogim kolegama dobro poznati debeli plavi priručnik je odavna rasprodan i zastario, jer su u veterini, kao i u cjelokupnoj biomedicini, zabilježene velike promjene, osobito u području farmakologije, genetike i dijagnostike.

Odlučili smo njegovati tradiciju objavljivanja hrvatskog izdanja dugu gotovo 60 godina i napraviti suvremenu knjigu uz uvažavanje specifičnosti naše sredine. Zato nam prevođenje Merckovog veterinarskog priručnika nije bilo primjereno. Svijest da kolege već dugo s nestrpljenjem iščekuju novi Veterinarski priručnik ponijela je autore i urednike te smo napravili knjigu koja tematski obuhvaća sva područja veterinarske djelatnosti i ogledalo je cjelokupne hrvatske veterinarske struke.

Timski rad

Presedan u pisanju ovoga izdanja je u tome što su, uz nastavnike Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu, sudjelovali i



stručnjaci Hrvatskoga veterinarskog instituta, Ministarstva poljoprivrede i drugih ustanova te istraživačkih centara koje je imenovao Urednički odbor sastavljen od devetnaest članova. Stručno i jezično-stilsko usklađivanje tekstova više od 120 autora bilo je pravo umijeće i iziskivalo je doista mnogo truda. Uostalom, slobodno se zapitajte koliko je projekata s tolikim brojem sudionika u našoj struci rezultiralo konkretnim proizvodom, i to za samo tri godine?

Izgled knjige

Ovo, šesto izdanje Veterinarskog priručnika ima praktični format i tvrdi uvez, a zbog velikog broja stranica (gotovo 3000) nužno je bilo otisnuti ga na tankom biblijskom papiru. Finoća odabranog papira i svijetla boja korica ne trebaju brinuti čitatelja jer se radi o iznimno kvalitetnim, uvoznim materijalima, otpornim na habanje. Omot je napravljen od umjetne kože (iako se doima kao tekstilni) koju, po potrebi, možete primati mokrim rukama i prebrisati. Vedra narančasta boja pridonosi lakoj uočljivosti i unosi tračak optimizma u doba teških uvjeta poslovanja veterinarskih organizacija.

Sadržaj knjige

Osnovna podjela građe je na opći i specijalni ili klinički dio unutar kojih se nalaze 23 poglavlja svrstana abecednim redoslijedom. Preglednosti i pritupačnosti materije pridonio je dvobojni tisak i 230 tabličnih te 47 shematskih prikaza kao i uporaba ikonice za svaku životinjsku vrstu. Naime, novost u ovom izdanju je prikaz građe prema životinjskim vrstama unutar određenih područja. Uz velike i male domaće životinje, u fokusu interesa ovoga Priručnika našla se i divljač te egzotične i laboratorijske vrste.

U Općem dijelu Priručnika govori se o animalnoj proizvodnji i biotehnologiji, hranidbi i dijetetici životinja, dobrobiti, etologiji, a objašnjena je i nova filozofija veterinarskoga javnog zdravstva. Tu je i poglavlje o međunarodnim organizacijama koje propisuju standarde u veterinarstvu. Po prvi puta, u ovoj su knjizi obrađene i teme koje su tek doskora dobile na važnosti i o kojima još nema izdanja na hrvatskom jeziku. Tako je uz posebnu pažnju posvećenu dobrobiti životinja, opisano i njihovo ponašanje te

veza između čovjeka i životinje, osobito odnos doktora veterinarske medicine prema vlasniku životinje, obrađena je i problematika eutanazije.

U Kliničkom dijelu knjige nalaze se poglavlja o kirurgiji, kliničkoj toksikologiji, rasplodu i porodništvu, unutarnjim, parazitarnim te zaraznim bolestima s tabličnim pregledom zoonoza. Istaknut je zoonotski potencijal bolesti i njihovo značenje za javno zdravstvo. Najveća je novina što ovo izdanje Veterinarskog priručnika sadržava poglavlja o hitnoj veterinarskoj medicini i intenzivnoj skrbi, kliničkoj imunologiji te kliničkoj patologiji i dijagnostičkim postupcima. Tu su i poglavlja o načinima uzgoja i proizvodnji te patologiji divljači, peradi, pčela, riba, rakova i školjakaša te ono o laboratorijskim i egzotičnim životinjama (akvarijskim ribama, kaveznim pticama i gmazovima). U okviru specijalna dijela knjige nalazi se i poglavlje o veterinarsko-medicinskim proizvodima s naglaskom na antimikrobnim lijekovima. Opisana je problematika rezidua farmakološki aktivnih tvari te istaknuta uloga veterinara u sprječavanju širenja bakterijske rezistencije. Na kraju knjige nalaze se Dodatci s brojnim referentnim vrijednostima svrstanima prema životinjskim vrstama. Nazivi svih bolesti, dijagnostičkih pretraga te strukovnih međunarodnih organizacija u ovoj su knjizi navedeni i na engleskom jeziku kako bi se čitatelju osiguralo daljnje pretraživanje internetskih stranica ili literature pod sigurno ispravnim imenom.

Poznato je da razvoj svake struke počiva na edukaciji koja podrazumijeva kvalitetne stručne knjige. Vjerujem da će kolege prepoznati Veterinarski priručnik kao takvu te ju preporučiti jedni drugima.

Vlasta HERAK-PERKOVIĆ

Svečana večera u sklopu 24. znanstvenog kongresa europskog udruženja za embriotransfer

U gradu Pau, na jugozapadu Francuske 12. i 13. rujna 2008. godine održan je međunarodni znanstveni skup europskog udruženja za embriotransfer (A.E.T.E.). Od stručnjaka iz Hrvatske skupu su nazočili doc. dr. sc. Martina

Karadjole i prof. dr. sc. Marko Samardžija. Tom prigodom nastala je i priložena fotografija.

Martina KARADJOLE



S lijeva na desno: dr. sc. Nuno Louis Costa Borges, dipl. biol., doc. dr. sc. Marko Samardžija, dr. med. vet., dr. sc. Carlos Alcibadaes Gimenez-Diaz, dr. med. vet. i doc. dr. sc. Ebru Emsen, dr. med. vet.

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

IN MEMORIAM

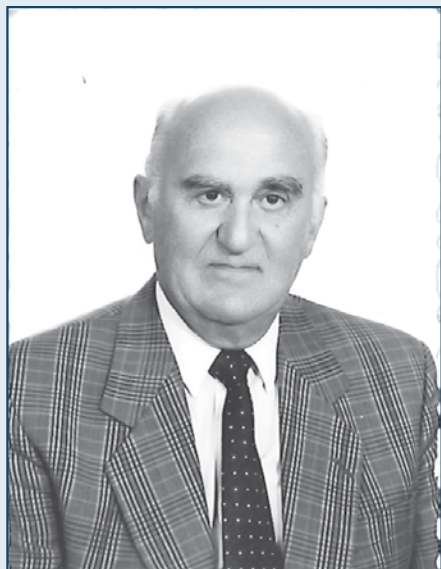
Dr. sc. Marijan VUČKO dr. med. vet., rođen je u Drinovcima- Ljubuški 18. rujna 1937. godine. Osnovnu je školu završio u Komletincima – Županja, a klasičnu je gimnaziju pohađao u Zagrebu i realnu gimnaziju u Vinkovcima. Studij veterine završio je 1966. godine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Magistrirao je na Veterinarskom fakultetu u Beogradu 1980. godine s radom „Indukcije laktacije kod zasušениh krava i junica pomoću hormona“. Doktorsku disertaciju obranio je 1984. godine na Veterinarskom fakultetu u Beogradu s temom „Prilog rješenju problematike etiopatogeneze, dijagnostike i pareteralne terapije endometritisa“. Od 1. srpnja 1966. godine radio je u PIK-u Županja pogon Drenovci, a od 1970. godine u PIK-u Vinkovci na poslovima reprodukcije i umjetnog osjemenjivanja. Od 1980. do 1984. godine bio je voditelj veterinarske službe na farmi goveda PIK-a Vinkovci gdje je 12. XI. 1982. obavio prvi embriotransfer. Sam i u suradnji s drugim autorima objavio je 62 stručna i znanstvena rada. Radio je kao vanjski suradnik – honorarni profesor

na Srednjoj poljoprivednoj školi u Vinkovcima. U mirovinu je otišao 1996. godine. Posjedovao je svinjogojsku farmu u selu Privlaci kod Vinkovaca. Umro je 1. studenoga 2011. i sahranjen je u Vinkovcima.

Vlado PETRINOVIĆ dr. med. vet., rođen je 1. siječnja 1940. godine u Vinkovcima. Osnovnu je školu i gimnaziju završio u Vinkovcima. Na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao je 1966. godine. Od 1. listopada 1967. godine zaposlen je u svinjogojskoj farmi u Senkovcu PPK „Karaula“ iz Podravske Slatine. Godine 1968. zapošljava se u Osiguravajućem Zavodu Croatia u Belom Manastiru. Godine 1970. dolazi u Vinkovce gdje postaje općinski sanitarni inspektor, a zatim obavlja poslove općinskog komunalnog inspektora. Kao Županijski veterinarski inspektor u mirovinu odlazi 2007. godine. Umro je 2. studenoga 2011. godine i sahranjen je u Vinkovcima.

Marko KRZNARIĆ

In memoriam - dr. sc. Božidar Šimunić, dr. med. vet.



Dr. sc. Božidar Šimunić se rodio 21. listopada 1921. godine u Krapini, gotovo tisućljeće starom gradiću u dolini rijeke Krapinice u Hrvatskom Zagorju. Osnovnu školu i gimnaziju pohađao je u Zagrebu. Godine 1940. upisao se na Veterinarski fakultet u Zagrebu. Diplomirao je 22. svibnja 1946. godine kao prvi i najbolji na svojoj godini.

Godine 1943. svi su hrvatski sveučilištarci pozvani na služenje vojnog roka u Hrvatsko domobranstvo. Studenti veterine i medicine, a među njima i Božidar Šimunić, otpremljeni su u vojarne „Petar Zrinski“ i „Petar Svačić“ u Varaždinu. Nakon novačke obuke kao i većina studenata veterine premješten je u Zagreb u Veterinarsku središnjicu Domobranske vojske gdje mu je kao i ostalima omogućeno da nastavi studij. Godine 1945. nakon što je

apsolvirao studij, pada u zarobljeništvo nove vlasti. Vihor poraća Drugog svjetskog rata odnio ga je na Križni put od Zlatara preko Petrovaradina pa sve do Vršca.

Vratio se neslomljena duha, da bi godine 1946. diplomirao i zaposlio se kao kotarski veterinar u Slavenskoj Orahovici, a potom u Gospiću.

Dvije godine kasnije na zahtjev dr. sc. Nikole Fiolića odlazi u Veterinarski zavod Križevci gdje osniva eksperimentalnu Stanicu za umjetno osjemenjivanje i suzbijanje steriliteta goveda.

Godine 1950. na traženje Porodiljske klinike Veterinarskog fakulteta dolazi na Kliniku na mjesto asistenta sa zadatkom izobrazbe kadrova za praktični rad na suzbijanju steriliteta i primjeni umjetnog osjemenjivanja u praksi.

Ponovno se vraća u Veterinarski zavod Križevci 1953. godine. Eksperimentalnu Stanicu za umjetno osjemenjivanje unapređuje u naš prvi Centar za umjetno osjemenjivanje.

Godine 1954. dolazi u Veterinarsku stanicu Varaždin gdje se i dalje intenzivno bavi suzbijanjem steriliteta i umjetnim osjemenjivanjem goveda. Izgrađuje suvremeni Centar, uvodi umjetno osjemenjivanje kao obveznu i jedinu metodu rasplodivanja goveda. Godine 1961. započinje istraživanja na području umjetnog osjemenjivanja svinja. Za te potrebe osniva 1962. godine prvi Centar za umjetno osjemenjivanje svinja u Jugoslaviji. Pod njegovim vodstvom razrađena je tehnologija razrjeđivanja i distribucije

sjemena nerastova, izrađen je potreban pribor, održani su prvi tečajevi za izobrazbu potrebitih kadrova. U isto vrijeme dr. sc. Božidar Šimunić organizira i Stanicu za progno testiranje rasplodnih bikova, a 1974. godine i prvu performans testnu Stanicu za proizvodnju rasplodnih bikova za sve Centre za umjetno osjemenjivanje u Hrvatskoj. Inicijator je sporazuma o zajedničkoj proizvodnji sjemena bikova za centre u Križevcima, Zagrebu i Varaždinu u Centru za umjetno osjemenjivanje u Križevcima.

Godine 1968. postaje direktor Veterinarske stanice Varaždin. Bio je nepresušno vrelo ideja kako proširiti djelatnost Veterinarske stanice Varaždin u medicinskom i stočarsko proizvodnom području. Pod njegovim se vodstvom ostvaruju čvrsti kontakti s Veterinarskim fakultetom kao i Veterinarskim institutom u Zagrebu, veterinarskim organizacijama širom Hrvatske, ali i izvan granica naše zemlje. Vrlo uska i uspješna suradnja ostvarena je s najvećim Centrom za umjetno osjemenjivanje u Njemačkoj u Neustadt/Aischu.

Usavršavao se u Danskoj i SSSR-u. Njegov rad, posebice na umjetnom osjemenjivanju svinja, zapažen je i izvan granica naše zemlje. Slijedom toga bio je pozvani predavač na tečajevima u Italiji i Čehoslovačkoj. Aktivno je sudjelovao na Svjetskim kongresima za reprodukciju u Parizu i Trentu. Dr. sc. Božidar Šimunić je bio veliki pobornik prijenosa znanosti u praksu. Znanje i iskustva stečena u mnogobrojnim kontaktima rado je prenosio na mlađe kolege i u praktičnu primjenu. U mlađih je kolega naročito cijenio sklonost k znanosti i njezinoj primjeni u praksi. Utemeljio je bogatu biblioteku s preko pet stotina knjiga s područja veterinarske medicine i srodnih

disciplina. Biblioteka je redovito primala trideset stručnih časopisa što domaćih, što s engleskog ili njemačkog govornog područja. Svoje osobno bavljenje znanošću okrunio je disertacijom. Promoviran je 27. veljače 1953. godine. Godinu dana kasnije slijedi izbor u zvanje „naučni suradnik“, a 1977. izbor u zvanje „znanstveni savjetnik veterinarske medicine“. Publicirao je više od 180 znanstvenih i stručnih rasprava, članaka, zapisa i popularnih štiva prenoseći spoznaje svojih istraživanja znanstvenoj, stručnoj i široj javnosti.

Dr. sc. Božidar Šimunić je dobitnik Priznanja Ministarstva poljoprivrede NRH, Ordена rada III. reda, Ordена rada sa zlatnim vijencem, statue „Ždrijebe u propnju“, niza plaketa i priznanja Društva veterinara SRH i SFRJ, Veterinarskog fakulteta, Stočarskog selekcijskog centra SRH, Poslovne zajednice veterinarskih stanica itd.

Godine 1983., 1. kolovoza, Božidar Šimunić otišao je u zasluženu mirovinu. Posvetio se svojoj obitelji, svojem imanju u Zagorju, svojem vinogradu.

Dr. sc. Božidar Šimunić ostavio je neizbrisiv trag u veterinarstvu Hrvatske. Njegovo ime i osoba ostati će trajno zabilježeni u povijesti Veterinarske stanice Varaždin čije je ime pronio i izvan granica naše domovine.

Umro je u Varaždinu 13. siječnja 2011. godine.

Ispraćen od obitelji, sugrađana, prijatelja i kolega sahranjen je na zagrebačkom groblju Mirogoj 17. siječnja 2011. godine.

Nek' mu vječna hvala za sve što je učinio. Nek' mu je lahka ova napućena hrvatska gruda.

Marijan SABOLIĆ

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

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

- A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959): African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).
3. **disertacija:** KRSNIK, B. (1972): Utjecaj buke na ponašanje svinja u industrijskoj proizvodnji, napose s obzirom na lako oksidirajuće tvari kao biokemijskom parametru. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
4. **zbornik referata:** SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
5. **zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezskoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).
6. **časopis:** LANCASTER, M. B. (1973): The occurrence of *Streptocara* sp. in Ducks in Britain. Vet. Rec. 92, 261 - 262.
7. **časopis u kojem svaki broj počinje sa stranicom 1:** PAVUNA, H. i R. ŠIĆ (1983): Utjecaj genetskih čimbenika na plodnost goveda. Vet. str., 14 (4) 1-7.
8. **neka druga rasprava:** BOLLWAHN, W. und B. KRUEDEWIG (1972): Die symptomatische Behandlung der Gratschstellung neugeborener Ferkel. Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 229 - 231. (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI, H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H. KÖNIG und J. NICOLET: Vorkommen und Bedeutung von Schweinekrankheiten: Analyse eines Sektionsguts (1971 - 1973) Schweiz. Arch. Tierheilk. 118, 105 - 125, 1976).
9. **sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe Vet. J. 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

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

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

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

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu.

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