

Intervju sa predavačem- Charles E. Short

Kardiologija - Kongenitalna kardiovaskularna oboljenja kod pasa i mačaka

Klinička citologija kućnih ljubimaca - Citologija limfnih čvorova

Hematologija - Hemoplazma mačaka

Epidemiološka studija - Diverzitet uzročnika lajmske bolesti u Srbiji

Klinička patologija - Osnovna pravila pregleda sedimenta urina

Mikrobiologija - Pravilno uzimanje i slanje uzoraka na mikrobiološki pregled

Telazija u maloj praksi

Aktivnosti SASAP u 2013. godini

Kalendar edukacija za 2014. godinu

PUREVAX®

Inovacije u vakcinaciji - od Merial -a.

*Nova verzija napredne vakcine
za mačke bez adjuvansa*

Zavirite u budućnost!



ROYAL VET
brine o vama
www.royalvet.rs

MERIAL
SANOFI COMPANY
www.merial.com

SASAP

Bilten Udruženja veterinara male prakse Srbije
Bulletin of Serbian Association of Small Animal Practitioners

Izdaje: Udruženje veterinara male prakse Srbije

REDAKCIJA BILTENA

Glavni odgovorni urednik

Milica Kovačević-Filipović

Članovi redakcije

Olgica Ivanović
Aleksandar Spasović
Nenad Milojković
Momčilo Arandjelović

Tehnički urednik

Dimitrije Filipović

Lektor

Irena Nježić

ORGANI UDRUŽENJA

Predsednik

Denis Novak

Upravni odbor

Denis Novak-po funkciji
Dimitrije Filipović
Ljubomir Čurčin
Saša Stokić
Nebojša Milivojević

Naučno-stručni odbor

Aleksandar Spasović
Milica Kovačević-Filipović
Nenad Milojković
Momčilo Arandjelović
Olgica Ivanović

Nadzorni odbor

Ivan Rakić
Rastko Belić
Goran Cvetković

KONTAKT

sasap_posta@yahoo.com

www.sasap.org.rs

Štampa

Naučna KMD, Beograd

Tiraž 1000

CIP- Каталогизacija u publikaciji
Narodna biblioteka Srbije, Beograd

619(497.11)

SASAP : bilten Udruženja veterinara male prakse Srbije - Bulletin of Serbian association of Small Animal Practitioners / glavni i odgovorni urednik Milica Kovačević-Filipović. - 2008, br.1 (febr.) - Beograd : Udruženje veterinara male prakse Srbije, 2008 - (Beograd : Naučna KMD). - 30 cm.

Polugodišnje. - Probni broj izašao 2007. godine
ISSN 2334-7503 = SASAP bilten
COBISS.SR-ID 197122828

ISSN 23347503



9 772334 750005

Sadržaj

- **Intervju sa predavačem**- Charles E. Short
- **Kardiologija** - Kongenitalna kardiovaskularna oboljenja kod pasa i mačaka
Ljubica Spasojević Kosić
- **Klinička citologija kućnih ljubimaca**: Citologija limfnih čvorova (Reprint članka iz časopisa "EJCAP")
E. Teske
- **Hematologija** - Pregled literature - Hemoplazma mačaka
Milica Kovačević Filipović, Jelena Francuski, Nenad Andrić
- **Epidemiološka studija** - Diverzitet uzročnika lajmske bolesti u Srbiji
Snežana Tomanović
- **Klinička patologija** - Osnovna pravila pregleda sedimenta urina
Jelena Francuski
- **Mikrobiologija** - Pravilno uzimanje i slanje uzoraka na mikrobiološki pregled
Dušan Mišić
- **Telazija u maloj praksi**
Marko Radičević
- **Aktivnosti SASAP u 2013. godini**
- **Kalendar edukacija za 2014. godinu**



SASAP
UDRUŽENJE VETERINARA MALE PRAKSE SRBIJE

Na osnovu odluke Skupštine UVMPS od 15. decembra 2013. godine, prvi autor svakog pozitivno recenziranog rada koji je namenjen publikovanju u BILTENU, dobija mogućnost jednodnevne edukacije u Srbiji, koja je u organizaciji UVMPS. Mogućnost jednodnevne edukacije ostvaruju autori koji su članovi udruženja.

Charles E. Short (SAD)



Charles E. Short, DVM, PhD, DACVAA, DECVA

Trenutne pozicije

Penzionisani profesor anesteziologije i kontrole bola, Odeljenje kliničkih nauka, Koledž veterinarske medicine, Univerzitet Kornel, Itaka, Njujork.

Penzionisani profesor anesteziologije, odeljenje anesteziologije, Medicinska škola Univerziteta Kornel, Njujork.

Obrazovanje

Doktor veterinarske medicine, Univerzitet Auburn, Auburn, Alabama, 1958; MS, Physiology-Bio. Med. Electronics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, 1971; PhD (with honors) Biochemistry and Pharmacy, Åbo Akademi University, Turku, Finland

Specijalistički sertifikati

Diplomata osnivačke povelje, Američki koledž veterinaranestezijologa – 1975 i diplomata Evropskog koledža Veterinarska anestezija i analgezija, 1996 (Počasni član, 2005)

Klinička anestezija

Šef, Odeljenje za anesteziologiju, Koledž veterinarske medicine, Univerzitet Misuri, 1967-1977.

Šef, Odeljenje za anesteziologiju, Koledž veterinarske medicine, Univerzitet Kornel, 1977-1990

Naučne publikacije

Ukupno 352 uključujući 153 novinarskih publikacija; udžbenici, Veterinarska anestezija, 1974; Principi i praksa u veterinarskoj anesteziji, 1987 i Bol kod životinja, 1991); poglavlja u knjigama i druge naučne publikacije.

Predavanja

Održao je 447 prezentacija i predavanja za profesionalne grupe u Americi i preko 250 u 44 druge države.

Važan trenutak u obrazovanju pre i posle diplomiranja koji je vodio u vaše dalje profesionalno opredeljenje?

Obuka na hirurškoj klinici Univerziteta Auburn koju sam ja pohađao vodio je dr Ben Hoerlein. On je prvi radio na razvoju hirurgije spinalnih diskusa kod pasa i to je samo jedna od procedura u hirurgiji malih životinja koje je taj čovek usavršio. Nakon diplomiranja pružila mi se prilika da se obrazujem pod mentorstvom A. S. Keatsa, doktora medicine koji je bio šef katedre za anesteziologiju na Medicinskom fakultetu Univerziteta Baylor. U to vreme nije bilo adekvatnih programa obuke na polju veterinarske anestezije.

Ako biste mogli da birate jednomesečnu obuku, gde bi to bilo i zbog čega?

U ovom trenutku Mayo klinika Medicinskog fakulteta Univerziteta John Hopkins, sa fokusom na neurološki deo anesteziologije. Za istočnoevropske zemlje program anestezije i urgentne medicine u Beču u Austriji. Oni imaju odlične ustanove, opremu i kadar i svest o stanju u vašem regionu.

Tri najbitnije veterinarske knjige po vašem mišljenju su?

Teško pitanje, ali mislim da bi trebalo pokriti tri oblasti: internu medicinu, hirurgiju i anesteziju/analgeziju. Ne moraju to biti obimna izdanja koja pokrivaju sve. Odaberite one za koje zauzeti veterinar može naći vremena da pročita.

Prema vašem mišljenju koje je najvažnije dostignuće u poslednjih deset godina u oblasti veterinarske anestezije?

Razvoj i poznavanje farmakologije i protokola za balansiranu anesteziju/preoperativnu analgeziju kod pacijenata u odabranim i u komplikovanim hirurškim procedurama.

Prema vašem mišljenju, šta je najvažnije razvijati ubuduće na polju veterinarske anestezije?

Dve stvari. Prvo, dostupnost neophodnih lekova i opreme u regionu za sprovođenje najnovijih tehnika nege pacijenata. Drugo, neophodna uputstva za to koje protokole koristiti u različitim situacijama i u zavisnosti od potreba pacijenata i kako koristiti lekove/opremu na bezbedan i efikasan način. Obe stvari su vezane jer, ukoliko nemate lekove ili opremu, to što umete da ih koristite nije od značaja. Ukoliko imate lekove i opremu, a ne umete da ih koristite to znači da se bojite da ih upotrebite ili ćete ih upotrebiti i naneti štetu.

Da li primećujete neke značajne trendove u veterinarskoj medicini?

U SAD neki od naših najbrilijantnijih umova odlaze u privatnu praksu nakon specijalizacije. Teško je održati visokokvalifikovan obrazovni kadar. Postoji nešto što mi zovemo "posivljavanje" fakulteta. Šta će se dogoditi kada se stariji profesori penzionišu? Specijalizovane prakse su zaista u porastu i postaju veliki referentni centri koji nude kvalitetne usluge.

Neki dobar savet budućim veterinarima?

Veoma je važno da se pored učenja iz literature, predavanja i časopisa stekne praktično kliničko znanje da bi se postao odličan veterinar. Ne zaboravite da laboratorijske analize ne zamenjuju klinički pregled životinje. Uzmite što opširniju anamnezu od vlasnika životinje. Pregledajte svakog pacijenta u cilju procene temperature, srčanog ritma, frekvence i zvukova srčanog rada, amplitude disanja i zvukova respiracija, krvnog pritiska (ili kvaliteta pulsa) i prisustva i nivoa bola. Da bi neko bio odličan veterinar to zahteva mnogo napornog rada, ali se taj trud na kraju isplati. Od pomoći je komunikacija sa kolegama veterinarima.

Kratak utisak o Srbiji?

Srbija je na mnogim poljima veoma napredovala u poslednjih 25 godina, više nego što sam ja očekivao. Bilo mi je zadovoljstvo da vidim toliko nasmejanih ljudi. Ljudi su druželjubivi, brižni i uvek spremni da pomognu. To je naročito prijatno za sedamdesetdevetogodišnjaka kao gosta. Hrana je bila odlična i aktivnosti prijatne. Svi su bili veoma radi da pomognu u organizaciji predavanja i posetioци su bili veoma posvećeni učenju. Organizacija skupa je bila odlična. Bila mi je velika čast da održim 12 predavanja. Ono za čime žalim je što nisam imao priliku da održim makar jedno predavanje na Fakultetu veterinarske medicine. Nakon predavanja imao sam zanimljiv razgovor sa nekoliko studenata koji su došli na simpozijum.

Sa engleskog prevela: Sanja Ćirković

Important moment in your education before graduating, and after graduating, leading to your professional orientation ?

My course in surgery at Auburn University was caught by Dr Ben Hoerlein. He was the first to develop spinal disc surgery in dogs among other advances in small animal surgery. After graduation, the opportunity to study with A.S. Keats, MD who was the head of anesthesiology at Baylor University College of Medicine. At the time, there were no appropriate training programs in veterinary anesthesia.

If you could choose where to spent 1 month learning – where would it be and why?

For me at this stage, it would be Mayo Clinic or Johns Hopkins University Medical Schools to concentrate on the neurosciences of anesthesia. For Eastern Europeans the anesthesia-critical care program in Vienna, Austria. They have excellent facilities, equipment and faculty/ staff and they are aware of conditions in your region.

Three most important vet books for you?

Hard question, but I suggest three fields be covered: internal medicine, surgery, and anesthesia/pain management. They don't need to be the large volume editions covering everything. Choose those the busy practitioner is most likely to read.

In your opinion, what is the most important achievement in last decade in veterinary anesthesiology?

The development and knowledge of the medications and protocols for balanced anesthesia/ perioperative pain management of the patient in elective and complicated surgeries.

In your opinion, what is the most important thing to develop in the future in veterinary anesthesia ?

Actually, it's two things. First, the availability of needed medications and equipment throughout the region to deliver currently advanced patient management. Second, the necessary instruction on what protocols to use for different patient needs and how to use the drugs/ equipment in a safe and effective way. If you don't have the drugs or equipment, it doesn't help to know how to use them. Just frustration! If you have drugs/equipment but not the knowledge you are either afraid to use and don't or you may plunge ahead and be dangerous.

Do you recognize any significant trends in veterinary medicine – educational or in practice?

In USA, some of our best "minds" are going into private practice after specialty training. It is more difficult to maintain a highly qualified faculty. There is what we refer to as a graying of the faculties. What happens when the older faculty stuff retires? Specialty practices are really growing and are becoming major referral centers offering great service.

Some good advice for the future veterinarians?

It is very important not only to use literature, lectures and journals but also to get as much clinical experience as possible to be an excellent practitioner. Don't forget to physically evaluate your patients as well as the clinical data (blood and serum chemistry, etc.). Get as much history as appropriate from owners. Measure temperature, heart rate, rhythm and sounds, respiratory rate and sounds, blood pressure (or pulse quality) and pain levels of each patient. It requires a lot of hard work to be an excellent veterinarian but the rewards are well worth the efforts. Communication with fellow veterinarians can be very helpful.

Have some fun in your life and don't forget your family. They need you also.

Short impressions of Serbia?

Serbia had made more progress during the last 25 years than I expected in many aspects. I was pleased to see so many open minded people. People were friendly, caring and helpful. This was especially nice for a 79 year old "visitor". The food was great, and the activities were very enjoyable

Everyone was helpful in setting up the lectures and the attendees were very dedicated to learning. The Conference management was super. It was a great honor to give 12 lectures to the group. With students, who did come to the conference, and I had great discussions after the lectures.

Kongenitalna kardiovaskularna oboljenja kod pasa i mačaka

Congenital Cardiovascular Diseases in Dogs and Cats

Ljubica Spasojević Kosić

Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu.



Doc. dr Ljubica Spasojević Kosić diplomirala je na Fakultetu veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, gde je odbranila i magistarsku tezu i doktorsku disertaciju iz oblasti kardiologije pasa. Uže oblasti interesovanja su kardiologija i interna medicina pasa i mačaka. Objavila je više naučnih i stručnih radova iz ovih oblasti. Zaposlena je na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu.

kardiologija
cardiology

Uvod

Pod kongenitalnim oboljenjima srca podrazumevamo postojanje defekta strukture srca pri rođenju jedinke ili postojanje sklonosti za razvoj lezije pri rođenju, dok se anatomski lezija razvija tek kasnije u životu jedinke. Osnovu za proširenje definicije kongenitalnih oboljenja srca čini postojanje familijarne hipertrofične kardiomiopatije kod ljudi i mačaka, bolesti kod koje se jedinke rađaju sa genetskom predispozicijom za poremećaj, iako se anomalija razvija kad jedinka odraste.

Za razliku od humane medicine gde se većina novorođenčadi pregleda odmah po rođenju, u veterinarskoj medicini u idealnim uslovima se veterinar prvi put susreće sa štencima i mačićima u vreme vakcinacije ili dehelmintizacije. Upravo zbog ove činjenice u veterinarskoj medicini nisu do sada opisane ozbiljne srčane mane kod pasa i mačaka.

Dijagnostika kongenitalnih srčanih oboljenja je značajna u proceni zdravstvenog stanja životinje, kao i oceni rasnih pasa i mačaka koje služe za priplod. Uloga veterinara u svakodnevnoj praksi je da dijagnostikuje kongenitalna oboljenja srca, sprovođenjem redovnih i potpunih kliničkih pregleda pasa i mačaka. Uz to kliničar mora da poznaje etiološku osnovu kongenitalnih oboljenja srca i mesto genetskih poremećaja u okviru njihove etiologije, kako bi pravilno posavetovao odgajivače.

Najvažnija kongenitalna oboljenja kod pasa i mačaka

Procenjuje se da kongenitalna oboljenja srca čine manje od 10% oboljenja srca kod pasa i mačaka. Kongenitalna oboljenja srca mogu da budu nasledna ili se javljaju spontano kao mutacija gena koja se prenosi na potomstvo, ali mogu da budu i posledica uzroka koji nije genetskog porekla (npr. talidomid kod mačaka prouzrokuje defekt međukomornog septuma i druge kongenitalne anomalije).

Tokom fetalnog perioda pulmonalne alveole su ispunjene amnionskom tečnošću, a razmena gasova se obavlja preko pluća majke. Metabolizam fetusa zavisi od umbilikalnih arterija i vena i ne zahteva veliki krvotok u plućima fetusa. Zbog svojstava fetalne cirkulacije fetus dobro podnosi većinu kongenitalnih oboljenja srca. Čak i većina ozbiljnih srčanih anomalija (hipoplazija levog srca) može dobro da se kompenzuje od strane fetalne cirkulacije. Fetalna cirkulacija, ne samo da omogućava nesmetan prenatalni period, već i nesmetan prelazak pri rođenju na postnatalni krvotok. Prelazak sa fetalnog na postnatalni krvotok podrazumeva najpre funkcionalno, a potom i anatomsko zatvaranje ductus venosus, ductus arteriosus i foramen ovale. Iako neposredni perinatalni period (promene pritiska u plućnom i sitemskom krvotoku zbog prestanka placentalnog krvotoka i prvog udisaja) označava vreme prelaska sa fetalne cirkulacije na postnatalni krvotok, cirkulatorne promene (promene pritiska u plućnom i sitemskom krvotoku) se dešavaju i posle rođenja, i mogu da imaju značajan hemodinamski uticaj na kongenitalna srčana oboljenja i njihovo kliničko ispoljavanje (npr. aortna stenoza i defekt međukomorne pregrade).

Među mnogobrojnim kongenitalnim srčanim manama (Tabela 1) kod pasa su najznačajnije otvoren arterijski kanal, aortna ili subaortna stenoza, pulmonalna stenoza, desnostrani aortni luk, defekt komornog septuma, malformacije atrioventrikularnih zalistaka, defekt pretkomornog septuma, tetralogija Falot. Kod mačaka su najznačajnije kongenitalne srčane mane: defekti komorne i pretkomorne pregrade, displazije atrioventrikularnih zalistaka, otvoren arterijski kanal i fibroelastoza endokarda.

Mada mnoge kongenitalne srčane mane izazivaju više od jednog fiziološkog poremećaja, korisno je fokusirati se na primarnu abnormalnost opterećanja srca u cilju njihove klasifikacije.

Tabela 1. Klasifikacija aritmija prema kliničkom značaju

Kongenitalno oboljenje srca Srpski naziv / Latinski naziv	Definicija poremećaja
Otvoren arterijski kanal <i>Ductus arteriosus Botalli persistens</i>	Komunikacija između aorte i plućne arterije
Defekt pretkomornog septuma <i>Defectus septi atriorum</i>	Komunikacija između leve i desne pretkomore
Defekt komornog septuma <i>Defectus septi ventriculorum cordis</i>	Komunikacija između leve i desne komore
Aortna stenozna <i>Stenosis ostium aoticum</i>	Postojanje fibroznog prstena na nivou aortnog zaliska koji ometa izlazak krvi iz leve komore.
Pulmonalna stenozna, stenozna plućne arterije <i>Stenosis ostium arteriae pulmonalis</i>	Postojanje fibroznog prstena na nivou zaliska plućne arterije koji ometa izlazak krvi iz desne komore.
Tetralogija Falot <i>Tetralogia Fallot</i>	Složena mana: pulmonalna stenozna, defekt komornog septuma, hipertrofija desne komore, aorta izlazi iz obe ili samo iz desne komore.
Displazija mitralnog zaliska <i>Dysplasia (insufficiencia) valvulae mitralis</i>	Malformacija mitralnih zalistaka i pripadajućih papilarnih mišića i hordi.
Displazija trikuspidalnog zaliska <i>Dysplasia (insufficiencia) valvulae tricuspidalis</i>	Malformacija trikuspidalnih zalistaka i pripadajućih papilarnih mišića i hordi.
<i>Cor triatriatum dexter</i>	Postojanje zaliska u sinus venosus koji deli desnu pretkomoru na kranijalni i kaudalni deo,
Desnostrani aortni luk <i>Arcus aortae dexter</i>	Perzistencija primitivnog desnog aortnog luka i involucija levog primitivnog luka tokom embrionalnog razvoja

I Kongenitalne mane koje dovode do povećanja volumena krvi u srcu

Glavna karakteristika oboljenja ove grupe je postojanje komunikacije između sistemske i plućne cirkulacije (levo-desni šant, tipično kretanje zbog razlike u pritisku između levog i desnog srca), što rezultira prelaskom potpuno oksigenizovane krvi natrag u pluća. Oboljenja koja pripadaju ovoj grupi su: otvoren arterijski kanal, defekt komorne pregrade, defekt pretkomorne pregrade, defekt atrioventrikularnog kanala. Pravac kretanja, kao i količina krvi pri postojanju ovakve komunikacije zavisi od veličine defekta, plućnih i sistemskih pritisaka, kao i vaskularnog otpora. Svi nabrojani faktori su dinamični i menjaju se sa starošću, kao i tokom trajanja oboljenja. Kod lezija sa levo-desnim šantom može doći do promene pravca šanta i razvoja desno-levog šanta sa posledicama poremećene oksigenacije krvi u plućima zbog zaobilazanja malog krvotoka. Svako stanje koje povećava pritisak sa desne strane srca do nivoa sistemskog krvotoka može prouzrokovati promenu pravca šanta (Ajzenmengerov sindrom).

II Mane koje dovode do dodatnog opterećenja srca krvlju (regurgitantne lezije atrioventrikularnih zalistaka i kardiomiopatije)

Regurgitacija se javlja kod kongenitalnih anomalija atrioventrikularnih zalistaka (displazija trikuspidalnih i mitralnih zalistaka). Regurgitacija atrioventrikularnih zalistaka se može javiti i kod pacijenata sa potpunim ili nepotpunim defektom atrioventrikularnog kanala. Za razliku od regurgitantnih lezija i lezija sa levo-desnim šantom, kod kojih je funkcija miokarda normalna ili čak povećana (dejavom kompenzatornih mehanizama), kod kardiomiopatija je funkcija miokarda oslabljena. Primer insuficijencije miokarda genetskog porekla je fibroelastoza endokarda, a javlja se kod burmanskih i sijamskih mačaka. Oboljenje se karakteriše dilatacijom leve pretkomore i komore, sa fokalnim zadebljanjem endokarda leve pretkomore, komore i mitralnih zalistaka.

III Mane bez cijanoze i šanta, kod kojih dolazi do povećanja pritiska unutar komora

Osnovna karakteristika ovih oboljenja je opstrukcija krvotoka leve ili desne komore. Najčešće se

javljaju opstrukcije izlaznog trakta leve ili desne komore (aortna stenoza, plućna stenoza), a mnogo ređe se javljaju opstrukcije pri ulasku krvi u srce (stenoza mitralne ili trikuspidalne valvule ili cor triatriatum dexter). Kompnezacija ovakvih stanja je praćena povećanjem debljine zida srca.

IV Mane koje se karakterišu cijanozom (sa povećanim ili smanjenim plućnim protokom krvi)

Tetralogija Falot predstavlja cijanotičnu manju sa smanjenim plućnim krvotokom, pri čemu stepen cijanoze zavisi od stepena opstrukcije plućnog krvotoka i stepena defekta komorne pregrade. Ako je opstrukcija blaga, cijanoza se javlja kod životinje prilikom fizičke aktivnosti, dok se kod ozbiljnih opstrukcija plućnog krvotoka cijanoza primećuje i prilikom mirovanja životinje. Cijanotične mane sa povećanim plućnim krvotokom obuhvataju složena kongenitalna oboljenja kod kojih postoji ili abnormalna veza između pretkomore i komore, ili potpuno mešanje sistemske venske ili pulmonalne venske krvi u srцу. Primer ovakve mane je transpozicija velikih krvnih sudova, pri čemu aorta izlazi iz desne komore, a a. pulmonalis iz leve komore. Preživljavanje jedinke je jedino moguće ako postoji komunikacija između paralelnih cirkulacija (formane ovale, ductus arteriosus, defekt komornog septuma). Drugi primer srčane mane sa mešanjem krvi je i truncus arteriosus i pseudotruncus arteriosus (postojanje zajedničke arterije za sistemski, plućni i koronarni krvotok). Kod ovih oboljenja deoksigenisana sistemska venska krv i oksigenisana plućna venska krv se kompletno mešaju u srću, dovodeći do podjednake saturacije kiseonikom u plućnoj arteriji i aorti.

Klinički pristup pacijentu

Podaci o starosti, rasi i polu životinje su od značaja pri postavljanju dijagnoze. Ako se pri pregledu životinje starosti 3-6 meseci otkrije postojanje poremećaja kardiovaskularnog sistema, može se pretpostaviti da se radi o kongenitalnoj anomaliji. Međutim, kongenitalna srčana oboljenja mogu da se registruju i kod starijih životinja (obično do 3 godine starosti), što zavisi od redovnosti i potpunosti kliničkih pregleda od strane veterinara, i od vrste kongenitalnog oboljenja, odnosno kompenzatornih mehanizama. Što se tiče rasne predispozicije, ona je dobro ispitana kod pasa. Interesantna je činjenica da se u različitim delovima sveta razlikuje rasna predispozicija za pojedina kongenitalna srčana oboljenja kod pasa. Kada su mačke u pitanju podaci nisu tako potpuni, mada je ustanovljeno postojanje rasne predispozicije za hipertrofičnu kardiomiopatiju (mejn kun, persijske, američke kratkodlake mačke), fibroelastozu endokarda (burmanske, sijamske) i otvoren ductus arteriosus (sijamske, persijske mačke). U našoj zemlji nema podataka o registrovanim kongenitalnim oboljenjima srca kod pasa i mačaka. Što

se tiče polne predispozicije za određena srčana oboljenja, ne može se isključiti njeno postojanje, pri čemu polna predispozicija svakako ne preovlađuje nad rasnom predispozicijom kod kongenitalnih oboljenja srca.

Često se dešava da kod pacijenata sa kongenitalnim oboljenjem srca nema istorije bolesti, niti postoje klinički simptomi kod pacijenta. Prva pomisao da pas ili mačka ima kongenitalno srčano oboljenje predstavlja nalaz srčanog šuma pri auskultaciji srca. Međutim, ako je u pitanju nešto starija životinja, iz anamneze se mogu dobiti podaci o postojanju dispnoje, tahipnoje, ascitesa, sinkope, cijanoze, slabog napredovanja u rastu ili gubitka telesne mase. Simptomi kao što su tahipnoja, dispnoja i ascites se javljaju kao posledica srčane insuficijencije. Do slabog napredovanja u rastu i razvoju životinje dovode srčane mane sa desno-levim šantom. Cijanoza se registruje kod pacijenta ako je oksigenacija krvi neadekvatna, što se kod pacijenata sa kongenitalnim srčanim oboljenjima javlja u slučaju tetralogije Falot, kao i kod menjanja pravca šanta kod defekta komorne pregrade ili otvorenog arterijskog kanala. Pacijenti sa desno-levim šantom i arterijskom hipoksemijom obično imaju i policitemiju. Povećan broj eritrocita dovodi do povećanja količine redukovane hemoglobina, što doprinosi pojavi cijanoze. Sinkopa se javlja kao posledica aritmija, kojima su naročito skloni pacijenti sa opstrukcijom izlaznog trakta srca (pulmonalna i aortna stenoza), kao i pacijenti sa cijanotičnim kongenitalnim srčanim oboljenjima. Na kraju, klinički simptomi kongenitalnih kardiovaskularnih oboljenja mogu biti i sasvim drugačijeg tipa, kao što je slučaj sa pojavom regurgitacije u slučaju postojanja desnostranog luka aorte.

Potpun klinički pregled životinje u momentu kada se veterinar prvi put susreće sa životinjom, odnosno u vreme prve dehelmintizacije i vakcinacije, je preduslov za dijagnozu kongenitalnih oboljenja srca. S obzirom na to da kongenitalna oboljenja srca predstavljaju strukturne defekte na srću ili velikom krvnim sudovima, najmarkantniji nalaz pri kliničkom pregledu svakako predstavlja nalaz prilikom auskultacije srca. Pored ovoga, kongenitalna srčana oboljenja mogu da utiču i na promenu frekvencije rada srca, frekvencije i karaktera disanja, arterijskog pulsa, boje sluzokože, sistemskih vena. U okviru pregleda vidljivih sluzokoža u dijagnostičkom smislu naročito je značajno uporediti izgled kranijalnih i kaudalnih vidljivih sluzokoža. Npr. u slučaju postojanja obrnutog šanta kod otvorenog ductus arteriosusa cijanoza je prisutna na kaudalnim sluzokožama, jer glava i prednji ekstremiteti dobijaju normalno oksigenisanu krv, dok kaudalni delovi tela dobijaju dezoksigenisanu krv. Pulsacija i distenzija vv. jugulares se susreće kod kongenitalne trikuspidalne insuficijencije, pulmonalne stenozе i plućne hipertenzije. Slab arterijski puls nalazimo u slučaju postojanja aortne stenozе i plućne stenozе, dok se jak i snažan puls nalazi kod otvorenog ductusa arteriosusa.

Prilikom auskultacije srca kliničar obraća pažnju na srčane tonove, srčane šumove i ritam srca. Ukoliko se čuju srčani šumovi, potrebno je da se oni definišu prema njihovoj pojavi u toku srčanog ciklusa (sistolni, dijasistolni, kontinuirani), prema njihovoj konfiguraciji (plato, krešendo-dekrešendo, dekrešendo), intenzitetu (od 1 do 6), mestu na grudnom košu gde se najintenzivnije čuju (levi apeks, leva baza, levi aksilarni region, desni apeks, desna baza), kao i prema njihovom prostiranju prema drugim mestima na grudnom košu. Na samom početku definisanja srčanih šumova

Falot). U ovakvim slučajevima šum izostaje ili zato što je defekt veliki, ili zbog postojanja policitemije, a oba stanja dovode do slabije turbulencije krvi.

Laboratorijska dijagnostika je značajna dijagnostička procedura, jer omogućava registrovanje smanjenja parcijalnog pritiska kiseonika, policitemije (eritrocitoze) i povećanja hematokrita (kod životinja koje nisu dehidrirane) kod životinja sa kongenitalnim srčanim manama.

Rendgenografija omogućava da se registruje odgovor srca i krvnih sudova na hemodinamske poremećaje,

Tabela 2. Srčani šumovi kod najčešćih kongenitalnih srčanih oboljenja pasa i mačaka

Nalaz	Vreme	Puncta optima
Otvoren ductus arteriosus (DAP)	kontinuirani	leva aksilarna regija
Defekt pretkomorne pregrade (ASD)	sistola ili dijasstola	leva baza srca ili desni apeks srca
Defekt komorne pregrade (VSD)	sistola	levi apeks ili baza i desna granica sternuma (dijagonalni tip šuma)
Stenoza plućne arterije (PS)	sistola	leva baza srca
Aortna, subaortna stenoza (AS, SAS)	sistola	leva baza srca
Displazija mitralne valvule (DMV)	sistola	levi apeks
Displazija trikuspidalne valvule (DTV)	sistola	desni apeks
Tetralogija Falot (TF)	sistola	leva baza i/ili dijagonalni tip šuma

potrebno je diferencirati fiziološke od patoloških srčanih šumova. Bezazleni fiziološki srčani šumovi koji se čuju kod mladih životinja su posledica disproporcije volumena krvi i veličine krvnog suda (sistolni ejskcionni šum), što proizvodi turbulenciju krvi ili u aorti, ili u plućnoj arteriji. Šum koji se pri tome čuje obično nije jakog intenziteta (stepen 1 ili 2), a čuje se na levoj bazi srca i ima krešendo-dekrešendo konfiguraciju. Ovakve šumove čujemo u vezi sa povišenim tonusom simpatikusa, anemijama, hipoproteinemijama, visokim tonusom simpatikusa i sl. Za razliku od patoloških šumova, oni menjaju svoj intenzitet pri uzbuđenju ili odmoru životinje, kao i pri promenama položaja tela životinje, a obično nestaju pri starosti životinje od 3-4 meseca. Kod kongenitalnih oboljenja srca obično se registruje šum intenziteta 3 ili većeg intenziteta, dok lokalizacija čujnosti, konfiguracija i puncta optima zavise od tipa strukturne promene srca (Tabela 2). Kod srčanih šumova velikog intenziteta (5 i 6), na mestu najjače čujnosti šuma, može se palpacijom osetiti i podrhtavanje grudnog koša (fremitus cordialis). Međutim, nekada i ozbiljne kongenitalne anomalije srca dovode do pojave blagog srčanog šuma (veliki defekt međukomorne pregrade), ili se čak srčani šum i ne čuje (desno-levi šant kod otvorenog ductusa arteriosusa, defekta komorne pregrade ili kod tetralogije

koji su nastali kao posledica postojanja srčane mane. Ovakav nalaz, zajedno sa prethodnim nalazom iz istorije bolesti i kliničkog pregleda životinje, nas može dovesti do verovatne dijagnoze. Ograničenje ove metode se sastoji u tome što ne može da otkrije blage ili osrednje defekte, jer ovakav stepen defekta ne mora da rezultira remodeliranjem srca ili velikih krvnih sudova.

Elektrokardiografija može da bude značajna dijagnostička procedura u okviru dijagnostike kongenitalnih oboljenja srca ukoliko registruje uvećanje srčanih šupljina i aritmije. Aritmije su česte kod pacijenata sa aortnom ili pulmonalnom stenozom, dok se uvećanja srčanih šupljina najčešće registruju u vezi sa otvorenim ductusom arteriosusom (kriterijumi uvećanja leve komore), pulmonalnom stenozom i tetralogijom Falot (kriterijumi uvećanja desne komore).

Ehokardiografija predstavlja dijagnostičku metodu izbora u slučaju kongenitalnih oboljenja srca. Anatomski detalji, o kojima nam pruža podatke ova metoda, su izvanredni. Uz pomoć dvodimenzionalne ehokardiografije moguće je izmeriti veličinu defekta, kao i proceniti postojanje i obim kompenzatornih promena na srcu u vidu dilatacije i

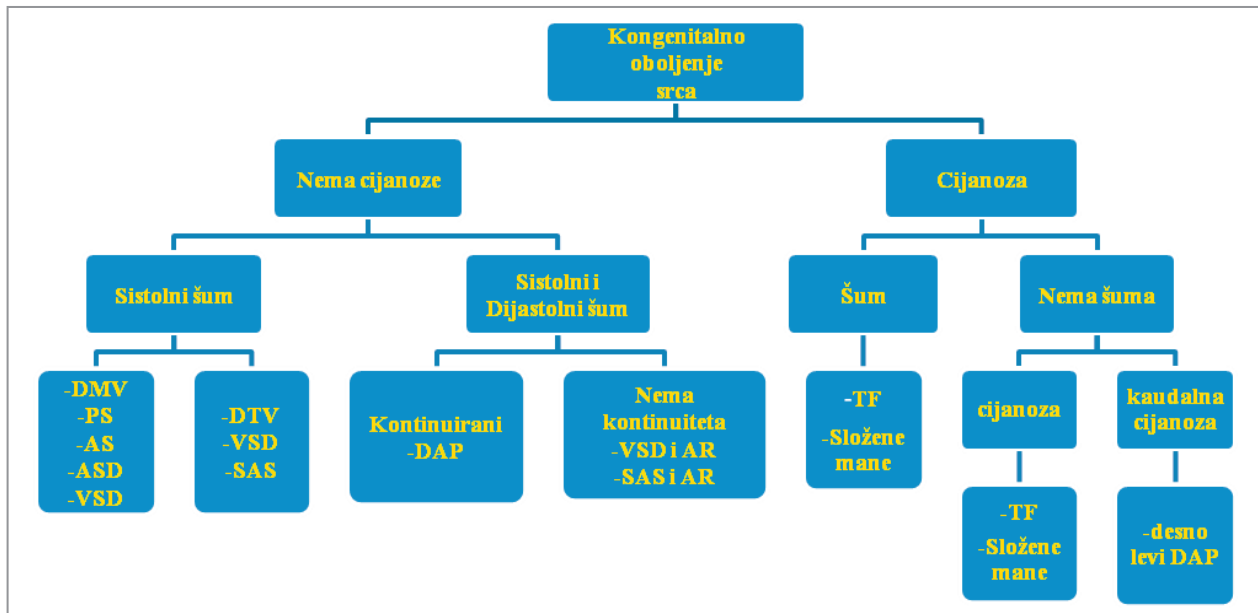
hipertrofije. Zahvaljujući primeni Dopler ehokardiografije, koja omogućava merenje protoka krvi i gradijenta pritiska, omogućeno je da se proceni ozbiljnost srčane mane, a samim tim i pomogne u izboru hirurškog postupka u terapiji ovakvih oboljenja. Ono što je takođe važno napomenuti kada je ehokardiografija kao metoda u pitanju, jeste i činjenica da ehokardiografija predstavlja neinvazivnu dijagnostičku metodu, te je u veterinarskoj kardiologiji gotovo potpuno zamenila invazivne dijagnostičke metode kao što su kateterizacija srca i angiokardiografija.

Osnovni principi lečenja kongenitalnih oboljenja srca

hirurških zahvata, lečenje kongenitalnih kardiovaskularnih mana se može sprovesti intervencijskom kateterizacijom (npr. balon kateterska dilatacija plućne arterije, transkatetersko zatvaranje defekta i sl.). Medikamentozna terapija kongenitalnih oboljenja srca se koristi u slučaju razvoja srčane insuficijencije ili ako postoje aritmije. U slučaju desno-levog šanta i fibroelastoze endokarda medikamentozna terapija je i jedina mogućnost koja kliničaru stoji na raspolaganju. U slučaju plućne hipertenzije i postojanja obrnutog šanta primenjuje se i periodična flebotomija sa ciljem kontrole vrednosti hematokrita.

Literatura:

Slika 1. Algoritam kliničkog pregleda pacijenta ako se sumnja da postoji kongenitalno oboljenje srca.



DVM – displazija mitralne valvule, PS – pulmonalna stenoza, AS – aortna stenoza, ASD – defekt pretkomornog septuma, VSD – defekt komornog septuma, DTV – displazija trikuspidalne valvule, SAS – subaortna stenoza, DAP – otvoren ductus arteriosus, AR – aortna regurgitacija, TF – tetralogija Falot

Iako postojanje kongenitalnog oboljenja srca ne znači obavezno da pacijent ima nasledno oboljenje, preporuka veterinara treba da bude da se životinje sa dijagnostikovanim kongenitalnim oboljenjem srca ne koriste za priplod. Prognoza kod pacijenta sa kongenitalnim oboljenjima srca zavisi od veličine defekta, složenosti anomalije i od iznosa vaskularnog otpora u plućima životinje.

Definitivna terapija za većinu kongenitalnih oboljenja srca je hirurška intervencija. Ovakav način terapije kod pasa i mačaka ima smisla u uslovima opremeljenosti i obučenosti hirurga za složene i specifične zahvate. Hirurški zahvati, koji ne podrazumevaju operacije na otvorenom srcu, potpuno rešavaju problem kao što je ductus arteriosus persistens. U slučaju kongenitalnih mana, kao što su defekt komorne pregrade i tetralogija Falot, da bi se izbegle operacije na otvorenom srcu u veterini su zaživele različite palijativne hirurške procedure. Osim klasičnih

- Bernstein D: The cardiovascular System – Congenital Heart disease. In Behrman R.E., Kliegman R.M., Jenson H.B. (eds.): Nelson Textbook of Pediatrics, WBSauders, Philadelphia, 2000.
- Brown D.J., Smith W.K.: Stenosis hemodynamics: from physical principles to clinical indices. J Vet Intern Med, 16, 650 – 657, 2002.
- Buchanan J.W., Patterson D.F.: Etiology of patent ductus arteriosus in dogs. J Vet Intern Med, 17, 167 – 171, 2003.
- Dunn J.K., Elliott, Herrtage M.E. Cardiovascular system. In Dunn J.K. (ed): Textbook of Small Animal Medicine, W.B. Saunders, 2000.
- Fujii Z., Fukuda T., Machida N et al.: Transcatheter closure of congenital ventricular septal defects in 3 dogs with a detachable coil. J Vet Intern Med, 18, 911 – 914, 2004.
- Jenni S., Gardelle O., Zini E. et al: Use of auscultation and Doppler echocardiography in Boxer puppies to predict development of subaortic or pulmonary stenosis. J Vet intern Med, 23, 81 – 86, 2009.
- Kittleson M.D.: The approach to the patient with cardia disease. In Kittleson M.D. Kienle R.D. (eds.): Small Animal Cardiovascular Medicine, Mosby, 1998.
- Rausch W.P., Keene B.W.: Spontaneous resolution of an isolated ventricular septal defect in a dog. J Am Vet Med Assoc, 223, 219 – 220, 2003.
- Tidholm A.: Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs. J Small Anim Pract, 38, 94 – 98, 1997.
- Ware W. A.: Congenital cardiovascular diseases. In Ware W.A. (ed): Cardiovascular disease in Small Animal Medicine, Manson Publishing/Veterinary Press, London, 2011.

Telazija - "Očni crv"

Ocular *Thelaziosis*

Marko Radičević, privatna veterinarska ambulanta "Radičević", Kragujevac



Marko Radičević, DVM, je diplomirao na Veterinarskom fakultetu u Beogradu 1998. godine. U Kragujevcu je 2001. godine osnovao veterinarsku ambulantu "Radičević" koja je posvećena lečenju kućnih ljubimaca. Učestvovao je u osnivanju prvog Doberman kluba u Kragujevcu 1994. godine, kao i osnivanju "Doberman magazina" 1996. godine. Završio je AO kurs za ortopediju. U SAD je 2011. godine završio kurs za čuvanje i zamrzavanje sperme u CLONE USA i postao ekskluzivni zastupnik te firme u Srbiji. Godine 2013. je završio ESAVS – European School for Advanced Veterinary Studies (Universite du Luxembourg) : Small Animal Reproduction I, Nant, Francuska. Član je upravnog odbora Šumadijskog regionalnog odbora Veterinarske komore Srbije.

Uvod

Thelazia (Thelazia callipaeda) je nematoda koja živi ispod trećeg očnog kapka, u konjunktivalnoj vreći i u suznom kanalu, zbog čega se u narodu naziva „očni crv“ (Slika 1). Kod pasa parazitira i *Th. Californiensis*. Oboljevaju životinje svih uzrasta i jednom inficirane ne stiču otpornost prema novoj infekciji.

Pojava ovog parazita u našim krajevima jeste iznenađenje, ali ne i čudna pojava. Iznenađenje je sama lokalizacija i osećaj koji imamo kada uzmemo u obzir pomnjanje parazita koji živi na oku. U vreme kada je putovanje kućnih ljubimaca i frekventan međunarodni saobraćaj postao uobičajena pojava, nije neočekivano da dođe do brzog i jednostavnog širenja infektivnih agenasa. Kako je ovaj parazit dospao u naše krajeve možemo samo da nagađamo, ali je sigurno da se ubrzano širi. Od prvog zabeleženog slučaja u našoj ambulanti – u novembru 2012.



Slika 1. Telazija u oku psa.

Slika preuzeta sa <http://dailyparasite.blogspot.com>

godine pa do skoro svakodnevnog pojavljivanja, prošlo je svega pola godine. Najveći broj pacijenata smo imali tokom leta i jeseni 2013. godine. Zaraženi psi su nam u početku dolazili samo iz okoline Kragujevca, da bi kasnije imali i pacijente iz Užica, Bajine Bašte, Gornjeg Milanovca, Jagodine, Kraljeva i Beograda.

Rasprostranjenost

Pravo stanište ovog parazita je Azija – Indija, Kina i Japan. Kao odrastao oblik, crv parazitira na oku pasa, mačaka, kao i divljih mesoždera (lisica, vukova, divljih mačaka), zečeva, majmuna, ali i čoveka. U Evropi se spominje poslednjih dvadesetak godina, i to u Italiji, Francuskoj, Švajcarskoj i Španiji. Prelazni domaćin je



Slika 2. Izvrtanje trećeg očnog kapka radi dijagnostike telazije.

parazitske bolesti parasitic diseases

ujedno i vektor širenja bolesti, i to je voćna muva (*Phortica variegata*) koja se hrani proteinima, koji se nalaze u suzama i očnom iscetku mesoždera i čoveka. Neki autori navode da samo mužjaci ove muve nose larve telazije.

Razvojni ciklus telazije

Infekcija životinja nastaje otprilike mesec dana nakon pojavljivanja muva, a razlog tome je što se uzročnik tokom zime zadržava samo u pravom domaćinu. Za nastanak nove infekcije potrebno je da muve u proleće unesu larve telazija. Muva se inficira kada sisajući lakrimalni sekret unese jaja sa larvama I stadijuma i u njoj se tokom perioda od 15 dana do 2 meseca razvije infektivna larva III stadijuma, koja se pri sisanju suza kroz rilo muve ponovo vraća na primarnog domaćina (psa, goveče, čovek, mesožderi i dr.) gde se transformiše u odrasle oblike. Odrasli oblici mogu da žive oko godinu dana.

U junu, julu i prvoj polovini avgusta na oku se nalaze mladi oblici telazija. Od polovine avgusta do oktobra, zajedno sa mladim, prisutni su i zreli oblici telazija, a od oktobra nalaze se samo zreli oblici parazita. Na taj način, u junu se obavlja smena generacija telazija, jer zreli oblici iščekavaju, a na njihovo mesto dolaze mladi kao rezultat novih infekcija.

Klinička slika

Simptomi su isti kao kod bilo kog zapaljenjskog procesa konjunktiva – pojačana lakrimacija, crvenilo, svrab, kornealni ulceri u kasnijim stadijumima bolesti.

Dijagnoza

Dijagnostika je relativno laka jer se parazit može uočiti kako se kreće po površini oka, izlazeći i ulazeći ispod trećeg oćnog kapka. U samom početku, kada se još nije razvio veliki broj odraslih oblika, paraziti se ne mogu videti običnim pregledom već je neophodno uraditi detaljniji pregled oka ako postoji sumnja na postojanje ovih parazita. Kod većine pasa ovakav pregled je moguće obaviti pod lokalnom anestezijom, povlaćenjem trećeg oćnog kapka pincetom i vizuelizacijom prostora između oćne jabučice i trećeg oćnog kapka gde se paraziti nalaze (Slika 2). Kod agresivnih pasa neophodno je uvesti ih u opštu anesteziju i onda, pored opisanog pregleda, izvršiti vađenje parazita. Takođe, treba obratiti pažnju na sezonalitet pojave ovog parazita, jer je vezan za aktivnost vektora – voćne muve.

Terapija

Lečenje kod ljudi se sprovodi fizičkim otklanjanjem parazita, a kod pasa i maćaka postoji, pored ovog načina, i mogućnost korišćenja topikalnih preparata na bazi imidakloprida i moksidektina. Na našem tržištu postoji preparat na bazi moksidektina koji smo mi koristili sa odličnim rezultatima. Moramo da naglasimo da ovaj preparat na našem tržištu nije registrovan kao terapija za ovo oboljenje.

Preventiva

Kao i kod svih oboljenja, a posebno kod parazitskih, najbolje je, ako je moguće, preporučiti zaštitu protiv potencijalne bolesti. U ovom slučaju imamo mogućnost da u određenom delu godine, posavetujemo vlasnike da zaštite svoje ljubimce *spot on* preparatima i na taj način izbegnemo ovo, više neprijatno, nego ozbiljno, oboljenje.

Zaključak

Po svemu sudeći tokom sledeće godine moraćemo da malo više povedemo računa o još jednoj potencijalnoj opasnosti koja vreba u obliku malih mušica i parazita koje one prenose.

Literatura:

- Otranto D, Dantas-Torres F, Brianti E, Traversa D, Petrić D, Genchi C, Capelli G. Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. *Parasit Vectors*. 2013; 6: 16.
- Motta B, Schnyder M, Solari Basano F, Nägeli N, Nägeli C, Schiessl B, Mallia E, Lia R, Dantas-Torres F, Otranto D. Therapeutic efficacy of milbemyacin oxime/praziquantel oral formulation (Milbemax®) against *Thelazia callipaeda* in naturally infested dogs and cats *Parasit Vectors*. 2012; 5: 85.

NARUČENI ČLANAK

Klinička citologija kućnih ljubimaca: Citologija limfnih čvorova

E. Teske (1)

UVOD

Od svih indikacija za citološki pregled aspirata (engl. fine needle aspiration biopsy – FNAB), uvećani limfni čvorovi su najzahvalnija indikacija. Periferni limfni čvorovi se lako fiksiraju jednom rukom i samim tim su laki za punktiranje, procedura nije previše bolna, a lista mogućih dijagnoza nije velika. Ne iznenađuje da istorijat citoloških pregleda limfnih čvorova seže do početka prošlog veka. Godine 1904. Greig i Gray su ovu metodu koristili da dokažu tripanozomu, a nakon publikovanja rada Guthrijea, 1921. godine, sistemske bolesti, kao što su limfomi, počele su da se dijagnostikuju na ovaj način. Citolog koji vrši pregled aspirata limfnog čvora mora da poseduje podatke o tome da li je limfni čvor bio normalne veličine, neznatno uvećan ili nesumnjivo uvećan. Neznatno uvećanje je teško ustanoviti kliničkim pregledom. Ukoliko je uvećanje limfnog čvora sumnjivo, a nema citoloških promena, nameće se zaključak da je limfni čvor normalan. Ukoliko je limfni čvor nesumnjivo uvećan, za to mora postojati razlog. Citolog će tada biti oprezniji u davanju negativnog nalaza i preporučiće histološki pregled. Može biti veoma teško razlikovati citološki nalaz normalnog limfnog čvora od nalaza visokodiferenciranog limfoma. Isto tako, citolog mora imati informaciju o tome da li je uzorak za FNAB uzet da bi se dobio odgovor na neko specifično pitanje. Ukoliko se sumnja na to da pacijent boluje od lajšmanioze, ili metastaze tumora, onda će se izvršiti detaljnija i specifičnija pretraga na prisustvo parazita ili tumorskih ćelija. Iz istog razloga, neophodno je znati da li su svi limfni čvorovi uvećani ili samo jedan, i da li postoji tumor u regiji tog limfnog čvora. Potrebno je znati koji limfni čvor je punktirani. Mandibularni limfni čvorovi su često reaktivni usled prisustva upalnog procesa u ustima velikog broja životinja. Ukoliko postoji generalizovano uvećanje limfnih čvorova, mandibularni limfni čvorovi će biti najmanje pogodni za uzimanje uzorka za citološki pregled. Na kraju, citolog mora biti informisan o eventualnoj terapiji koja je već data. Aplikovanje kortikosteroida uzrokuje limfocitolizu i imunosupresiju. Ovo može iskriviti stvarnu sliku o stanju limfnih čvorova.

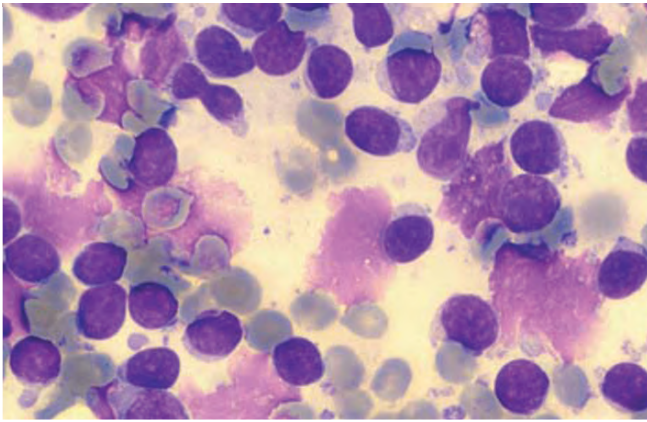
reprint reprint

Normalan izgled i benigne promene

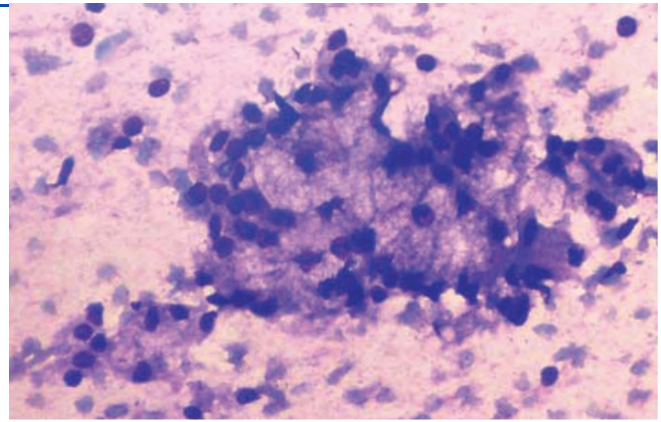
Iako se zdravi limfni čvorovi retko punktiraju za analizu, potrebno je upoznati se sa njihovom normalnom citološkom slikom u cilju raspoznavanja promena. Blaga antigena stimulacija je normalna pojava u zdravom limfnom čvoru pa se mogu naći svi stadijumi B i T limfocita. Najveći udeo ćelija (85-95%) su mali B-limfociti i T-limfociti. Ove ćelije karakteriše mala količina citoplazme, okruglo jedro bez jedarca i često gruba struktura hromatina (Slika 1). Po veličini (oko 10 µm) ove ćelije se nalaze između eritrocita i polimorfonukleara. Citoplazma ovih ćelija je nežna i može da se nađe u fragmentima po razmazu, koji

su poznati kao limfoglandularna telašca (Slika 1). Obojeni po May-Grünwald Giemsi ostaju svetlo plava. Limfoglandularna telašca su specifična za limfne čvorove i njihovo prisustvo može pomoći u razlikovanju limfoidnih ćelija od nediferenciranog sitnoćelijskog karcinoma. Zdrav limfni čvor takođe sadrži razvojne stadijume limfoidne loze, ali nikada više od 5-10% ukupnog broja ćelija. Druge nelimfoidne ćelije koje se pojavljuju u normalnom limfnom čvoru su polimorfonuklearni neutrofil i eozinofilni granulociti, makrofagi, histiociti, mastociti, eritrociti i monociti. Ove ćelije se pojavljuju samo sporadično. Pregled različitih ćelija koje se mogu javiti u normalnom limfnom čvoru dat je u Tabeli 1.

⁽¹⁾Department Clinical Sciences Companion Animals, Veterinary Faculty, Utrecht University, PO Box 80.154, NL- 3508 TD Utrecht. E-mail: e.teske@uu.nl



Slika 1. Aspirat normalnog limfnog čvora psa. Ujednačena populacija ćelija sitnih limfocita. Ljubičasti materijal između ćelija je razvučeni jedarni materijal poreklom iz oštećenih ćelija. Sitni plavi fragmenti su limfoglandularna telašca.



Slika 2. Nagomilane epitelijalne ćelije u acinoznoj strukturi sa sluzi u pozadini. Normalna slika pljuvačne žlezde.

Nelimfoidno tkivo

Najčešća greška pri dijagnostikovanju razloga uvećanja mandibularnog limfnog čvora uzrokovana je greškom u toku palpacije kada se u stvaru palpira mandibularna pljuvačna žlezda, bilo da je normalna, ili uvećana (Slika 2). Kod pasa i mačaka mandibularni limfni čvorovi su anatomski rostralno u odnosu na mandibularne pljuvačne žlezde, i obe strukture su jasno palpabilne. Čelije pljuvačne žlezde su mnogo veće od limfoidnih ćelija, sadrže više citoplazme, formiraju acinuse (žlezdane strukture). Nema limfocita niti limfoglandularnih tela. Kod gojaznih životinja moguće je stvoriti lažni utisak da je limfni čvor uvećan usled prisustva debljeg sloja masti oko njega. Aspirat može sadržati dosta masti. Treba imati na umu da se najveći deo masti rastvara pri fiksaciji u alkoholu, koji se koristi u većini metoda citoloških bojenja.

Reaktivna hiperplazija

Najčešći uzrok generalizovane limfadenopatije je reaktivna hiperplazija, kojom limfni čvorovi reaguju na antigeni stimulus.

Tabela 1. Tipovi ćelija normalnog limfnog čvora

Tip ćelije	Frekvencija (%)
Sitni, zreli limfociti	80-90
Prolimfociti	5-10
Mlade, blastne ćelije	<5
Plazma ćelije (plazmociti)	0-5
Eozinofilni granulociti	0,3
Neutrofilni granulociti	0,1
Mastociti	0,2
Makrofagi / monociti	0,4

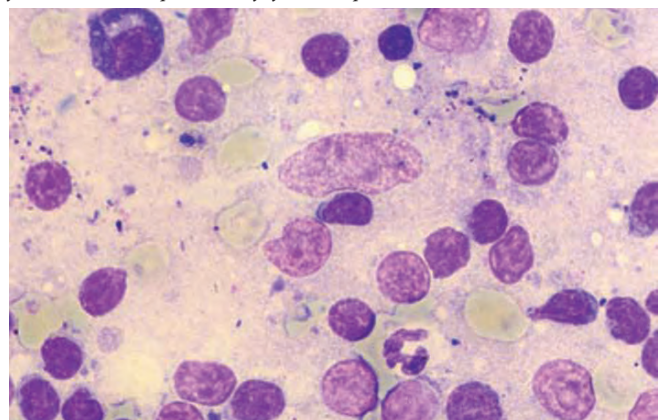
To može biti posledica virusne, bakterijske ili parazitske infekcije, ili reakcija na tumorske antigene, strano telo, kožno oboljenje, ili prisustvo raspadnih produkata inflamacione na nekoj drugoj lokaciji. Reaktivna hiperplazija se citološki karakteriše uvećanjem broja velikih blastnih ćelija kao što su imunoblasti i centroblasti, u poređenju sa brojem sitnih normalnih limfocita. Takođe, postoji veći broj mitotičkih procesa, kao i broj limfoplazmocitnih ćelija (prelazni stadijum između imunoblasta i plazmocita), a povećan je i broj plazmocita (Slika 3). Ponekad se javi i takozvana Raselova telašca unutar citoplazme plazmocita (tzv. Motove ćelije). To su vakuole ispunjene imunoglobulinima (Slika 4).

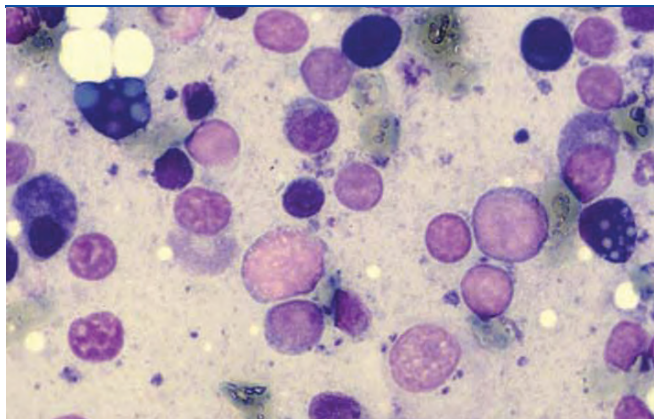
U zavisnosti od uzroka stimulacije, mogu biti prisutni i drugi tipovi ćelija, kao što su makrofagi, polimorfonuklearni granulociti, a naročito kod kožnih oboljenja, eozinofilni granulociti i mastociti.

Limfadenitis

Prisustvo velikog broja inflamatornih ćelija u aspiratu limfnog čvora naziva se limfadenitis. Diferencijacija na gnojni ili granulomatozni limfadenitis vrši se na osnovu tipa prisutnih inflamatornih ćelija.

Slika 3. Čelijska slika reaktivnog limfnog čvora psa. Mešavina limfoidnih ćelija sa nekoliko zrelih limfocita, nekoliko blastnih ćelija i jednim plazmocitom (gore levo). Ogoljeno jedro histiocitne (epitelne) ćelije je takođe prisutno.

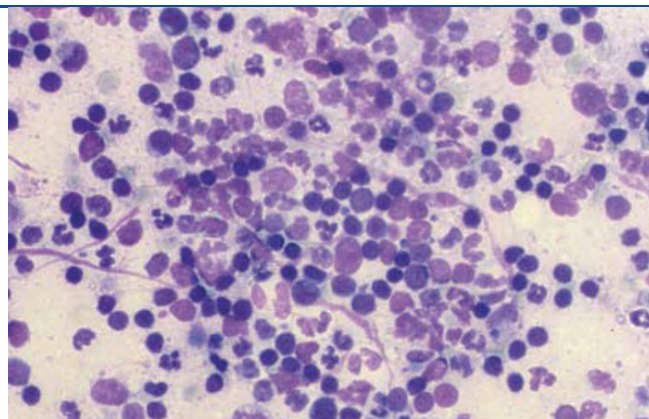
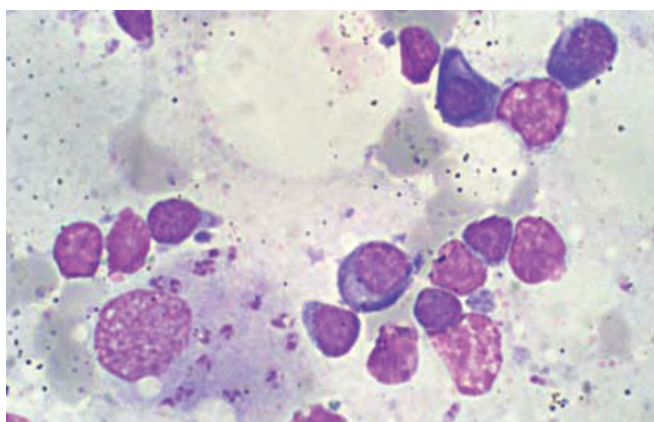




Slika 4. Aspirat reaktivnog hiperplastičnog limfnog čvora psa. Nekolicina plazmocita sa Raselovim telašcima je prisutna.

Purulentni (gnojni) limf adenitis se karakteriše prisustvom velikog broja polimorfonuklearnih granulocita, obično u kombinaciji sa blago reaktivnom populacijom limfoidnih ćelija i nekolicinom makrofaga. Nekada ga je teško razlikovati od reaktivne hiperplazije, ali, sa druge strane, razlika može biti veoma uočljiva u slučajevima bakterijskog limfangitisa. U slučaju bakterijskog limfangitisa prisutan je velik broj polimorfonuklearnih granulocita, nekroza, a nekada i bakterije (Slika 5). Limfoidne ćelije ne moraju biti prisutne uopšte. Uvećanje broja eozinofilnih granulocita sreće se uglavnom kod alergijskih dermatitisa i parazitskih oboljenja, kao što je lajšmanioza (Slika 6). Ukoliko su prisutne bakterije, nalaziće se u granulocitima, dok se paraziti uglavnom nalaze u makrofagima. Granulomatozni limfadenitis se takođe karakteriše blago reaktivnom limfoidnom slikom sa dodatkom uvećanja broja makrofaga, epiteloidnih ćelija i multijedarnih džinovskih ćelija. Epiteloidne ćelije su reaktivni histiociti sa izduženim ovalnim jedrom koje je obično pozicionirano na jednom polu i blago je granulirano. Epiteloidne ćelije često gube citoplazmu prilikom pripreme preparata. Nekada se ove ćelije pojavljuju u nakupinama i mogu da liče na metastazu karcinoma. Granulomatozni adenitis se sreće kod toksoplazmoze, gljivičnih infekcija i određenih bakterijskih infekcija (npr. infekcije *Mycobacterium* vrstama) (Slika 7).

Slika 6. Pas sa lajšmaniozom. Amastigoti su prisutni u velikim makrofagima, ali i pojedinačno, u pozadini razmaza. Prisutno je nekoliko plazmocita.



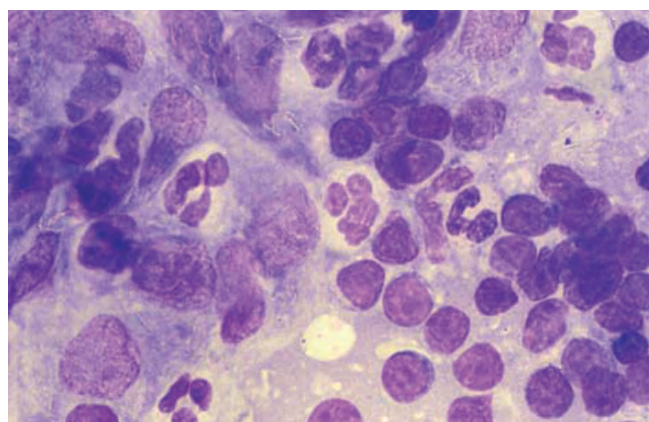
Slika 5. Gnojni limfadenitis. Mešavina sitnih limfocita i mnogobrojnih neutrofila. U pozadini su tragovi degenerisanog jedarnog materijala.

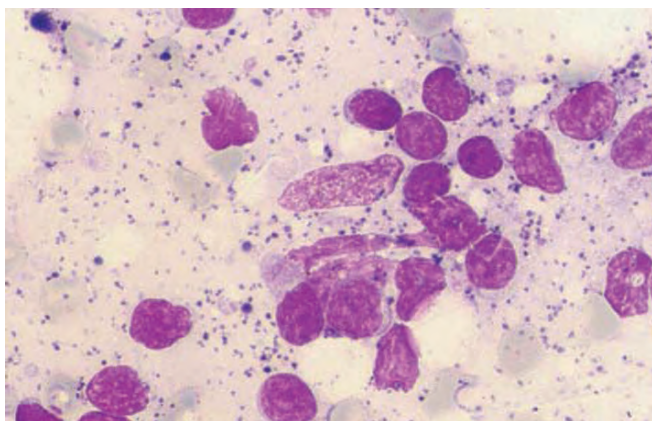
Dermatološka limfadenopatija je granulomatozni limfadenitis koji se javlja kod bolesti kože koje su praćene izraženim simptomima svraba, perutanja i oštećenja kože. Čelijska slika sadrži mnogobrojne braon-crne čestice melanina i mali broj eozinofilnih granulocita. Takođe se mogu videti dendritične ćelije. To su izduženi histiociti sa retikularnim jedrom i karakterističnim prstenom oko jedra (Slika 8).

Maligne promene

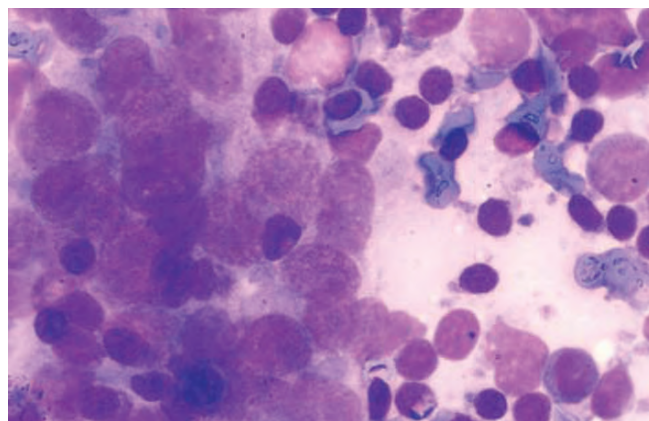
Limfni čvorovi filtriraju limfu poreklom iz određenog dela tela i uklanjaju strane čestice iz nje. Tumorske ćelije takođe mogu dospeti u limfne čvorove na ovaj način. U samom limfnom čvoru imunološki sistem može da prepozna specifične antigene koje eksprimira tumorska ćelija i da zatim eliminiše tumoršku ćeliju. Nekada, tumorske ćelije izbegnu "imunološki nadzor" i krenu da se razmnožavaju u samom limfnom čvoru. Potom se mogu pojaviti metastaze u drugim delovima tela. Osim metastaza tumorskih ćelija u limfne čvorove, oni sami mogu postati primarno tumorski izmenjeni kao posledica neoplazije ćelija hematopoetskog sistema, koje se normalno nalaze u limfnom čvoru. U ovom delu posvetiće se više pažnje tim dvema kategorijama maligniteta vezanim za limfni čvor.

Slika 7. U ovom aspiratu granulomatoznog limfadenitisa mačke, nastalom usled *Mycobacterium* infekcije, vidi se nekoliko velikih histiocita sa neobojenim štapičastim bakterijama na levoj strani slike.





Slika 8. Limfadenopatija psa zbog dermatoloških promena. Vidi se nekoliko braon-crnih granula melanina u pozadini, nekoliko zrelih limfocita i veliko jedro dendritične ćelije.

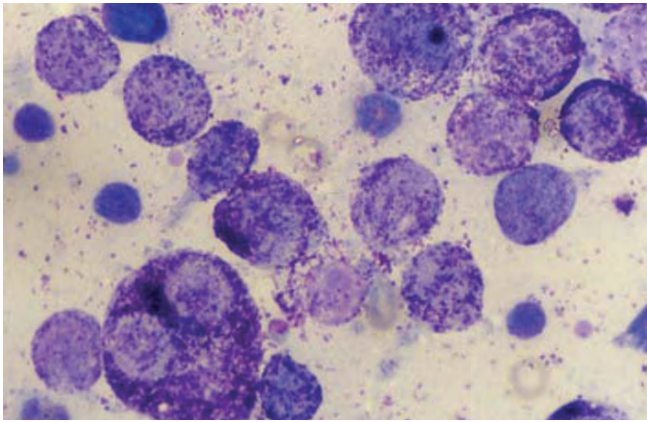


Slika 9. Metastaza adenokarcinoma mlečne žlezde u preskapularnom limfnom čvoru psa.

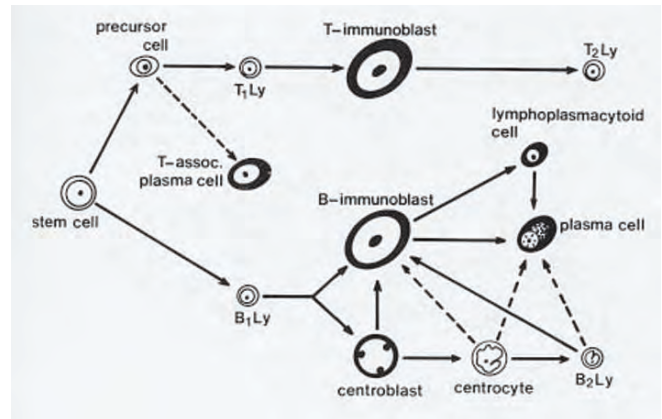
Metastatski maligniteti

Kompletno nabranje metastatskih maligniteta u limfnim čvorovima nije smisleno, jer se, u principu, svi maligni tumori mogu širiti preko limfnog sistema. Neke vrste tumora metastaziraju ranije od drugih u regionalni limfni čvor. Sarkomi generalno metastaziraju preko hematogenim nego limfogenim putem. Ustanovljeno je da karcinomi, melanomi i mastocitomi često metastaziraju u limfni čvor, mada to isto zavisi i od histološkog podtipa. U principu, svaki citološki preparat uzet iz limfnog čvora koji sadrži ćelije, koje normalno ne pripadaju limfnom čvoru, smatra se sumnjivim na metastatski malignitet. Mora se imati u vidu da se pri aspiraciji iz limfnog čvora u preparatu mogu naći i ćelije iz okolnog tkiva. Iz tog razloga prvo valja ustanoviti maligne osobine "stranih" ćelija pre nego što se slika proglašuje malignitetom. Isto tako je moguće istovremeno aspirirati primarni tumor i limfni čvor, a da se to proglašuje metastazom. Ovo se može desiti pri aspiraciji uzorka iz supramamarnih limfnih čvorova ukoliko se to radi simultano sa aspiracijom najkaudalnijih mamarnih kompleksa zahvaćenih tumorom. Pored abnormalnih ćelija, citološka slika limfnog čvora sa metastazom može sadržati i benigne promene koje su rezultat imunološke reakcije na tumorske ćelije. Broj makrofaga, plazmocita i mladih limfoidnih ćelija je često uvećan kada postoje metastaze u limfnom čvoru. Citološka slika metastaze u limfnom čvoru zavisi umnogome od histološkog tipa primarnog tumora. Kod anaplastičnog karcinoma prevladavaju odvojene ćelije, koje po tipu ne pripadaju limfnom čvoru, i one mogu znatno varirati po veličini. Najčešće se mogu sresti ćelije, koje su po broju zastupljenije od limfoidnih ćelija i lako se uočavaju na malom uveličanju. Može biti prisutno više indikatora maligniteta, kao što je varijabilnost u odnosu jezro: citoplazma, veliko jedro, visoki mitotički indeks i više jedaraca. Kod diferenciranijih karcinoma, kao što je adenokarcinom, sreću se nakupine ćelija, pa čak ponekad i strukture acinusa (Slika 9). Nakupine ili sincicijumi makrofaga i epitelioidnih ćelija mogu

da podsete na nakupine ćelija metastatskog karcinoma, pa ih je neophodno razlikovati, da ne bi došlo do zabune. Još jedna vrsta karcinoma koja se lako može prepoznati je karcinom skvamoznih ćelija. Kod ovog tumora mogu se videti nakupine sitnih kanceroznih ćelija sa malom količinom citoplazme, koja se boji plavo među krupnijim ćelijama sa većom zapreminom citoplazme u različitim stadijumima keratinizacije. Keratinizacija je prepoznatljiv faktor pri May-Grünwald Giemsa bojenju kao plavo ili plavo boja citoplazme koja ponekad sadrži nekoliko sitnih "kopljica". Karakteristika koja razlikuje kancerozne od normalnih keratinizovanih epitelnih ćelija, u procesu keratinizacije, je da njihovo jedro ne podleže degeneraciji već ostaje prisutno. Nekolicina mastocita je normalan nalaz u limfnom čvoru u uslovima fiziološke ravnoteže ili u onom koji je benigno izmenjen. Prema literaturi, međutim, procenat ovih ćelija ne prelazi 3%. Uvećan broj mastocita može ukazivati na metastazu mastocitoma ili mastocitnu leukemiju. Mastociti mogu sadržati mnoštvo ljubičasto-plavih granula, kojih nekada ima toliko, da mogu da zamaskiraju jezro. Ćelije, isto tako, mogu biti slabo granulisane ili potpuno bez granula (Slika 10). U slučaju mastocitne leukemije, same ćelije često nisu dovoljno diferencirane da bi se prepoznale citološkim pregledom. Još jedan tumor koji ponekad metastazira u limfni čvor je maligni melanom. Ćelije ovog tumora su krupnije od limfoidnih ćelija, po obliku mogu varirati od okruglih do vretenastih i imaju blago ovalno jedro. Neobični oblici jedra i veći broj jedara se često sreću kod malignih melanoma. Jedarca nisu uvek vidljiva. Ćeliju obično karakteriše pojava crnih do braon-crnih granula u citoplazmi. Postoje, takođe, i bezmelanotični melanomi. Oni sadrže malo ili nimalo granula melanina i teški su za identifikaciju. Melanofagi se mogu pomešati sa melanocitima. Melanofagi su ćelije, koje su fagocitovale pigment i pojava vaju se u limfnim čvorovima u velikom broju, naročito kod kožnih oboljenja praćenih svrabom i oštećenjima kože. Obično se ove ćelije raspoznaju po tome što imaju blago vakuolizovanu citoplazmu koja, pored melanina, sadrži i drugi fagocitovani materijal. Pored toga, nemaju karakteristike maligniteta.



Slika 10. Metastaza mastocitoma u limfnom čvoru. Mastociti su mnogobrojni, variraju u veličini i imaju uočljiva jedarca. Mogu se videti i dvojedarne ćelije.



Slika 11. Šema transformacije normalnih limfocita po Lennertu (Van Heerde P. – Maligni limfomi i histiocitomi. Citologija i druge dijagnostičke metode. Thesis, Uitg Rodophi, Amsterdam, 1984).

Limfoidni maligniteti

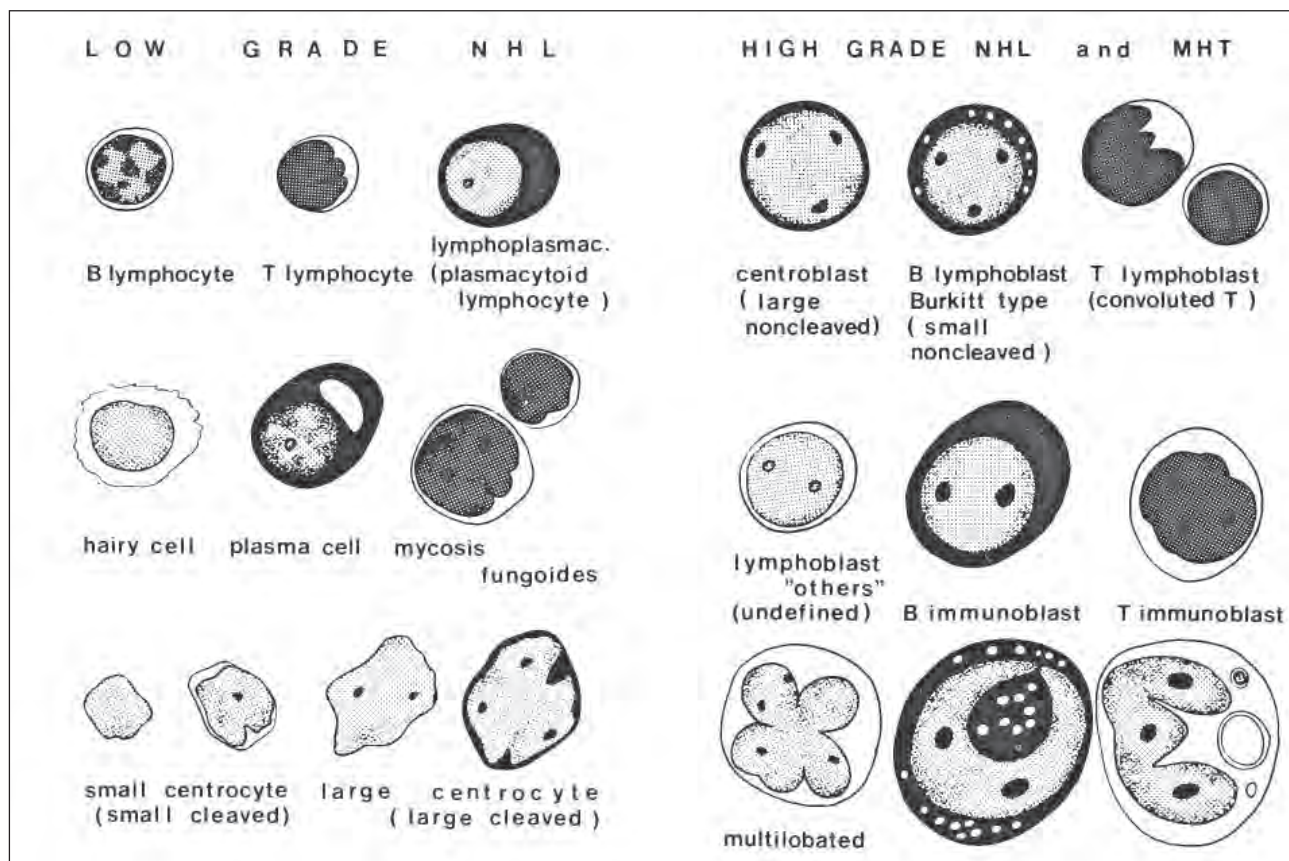
Primarno maligna promena limfnog čvora obično podrazumeva promenu ćelija limfoidnog sistema. Ćelije, kao što su epitelioidne ili histiociti, su retko uključene. Kod pasa i mačaka ovakvi limfoidni tumori nazivaju se maligni limfomi ili limfosarkomi. Mogu se uporediti sa Ne-Hodžginovim limfomima kod ljudi. Pošto Hodžginov limfom nikada nije sa sigurnošću dokazan kod pasa i mačaka, limfoidni tumori se kod ovih životinja jednostavno nazivaju maligni limfomi.

Citološka slika malignog limfoma može varirati od pacijenta do pacijenta. Limfoidna ćelija može postati maligna u bilo kojoj fazi svog razvoja, bilo blokadom dalje diferencijacije, ili autonomnom proliferacijom određenog tipa ćelija (Slika 11). Tipovi ćelija koji se pojavljuju u malignom limfomu se ne

Tabela 2. Pojednostavljena klasifikacija limfoma na osnovu tipa ćelija, zasnovano na Kiel klasifikaciji prema Lennertu, 1974.

Limfocitni
Imunocitni
Plazmocitni
Centrocitni
Centroblastični/ Centrocitni
Centroblastični
Čisti centroblastični
Anaplastični centrocitni
Polimorfni centroblastični
Limfoblastični
Imunoblastični
Drugi
Histiocitni
“višelobularno” ćelijski

razlikuju po izgledu od limfoidnih ćelija. Jedina citološka razlika je u uniformnosti ćelijske populacije, dok se u nepromenjenom limfnom čvoru nalaze limfoidne ćelije u svim fazama razvoja. Za Ne-Hodžkinov limfom kod ljudi razrađeno je više šema klasifikacije. Kiel klasifikacija (Lennert, 1974) je potpuno zasnovana na šemi transformacije normalnih limfocita i veoma je pogodna za citološke pretrage (Tabela 2) (Slika 12). U literaturi, Kiel klasifikacija je uspešno primenjena na maligne limfome kod pasa. Još uvek ne postoje informacije o primenljivosti ove klasifikacije na limfome kod mačaka. Detaljni opis različitih tipova limfoma je prikazan ispod za sve one koje to interesuje (Slika 12). Ovo je zanimljivo, kako sa naučnog aspekta, tako i iz razloga što može da dočara razlike u formi, u kojoj se maligni limfom pojavljuje, međutim, sa praktičnog stanovišta, dijagnoza malignog limfoma i njegove podklase kao niskog ili visokog stepena je sasvim dovoljna. Ukoliko je nalaz ćelijske populacije uglavnom sastavljen od karakterističnih blastnih ćelija, dijagnostikovanje malignog limfoma neće biti teško. Međutim, postoje oblici limfoma u kojima je tumorsku ćeliju teško razlikovati od zrelog limfocita, naročito ako je u pitanju citolog sa malo iskustva. Ovo može biti slučaj kod limfocitnih i centrocitnih limfoma. Problemi se isto mogu javiti i ako limfom sadrži više tipova ćelija, kao kod imunocitnih ili centroblastno/centrocitnih limfoma. U mnogim slučajevima kombinacija ćelija uvećanog limfnog čvora i slika nereaktivnih ćelijskih tipova su odlučujući, posebno ako je populacija ćelija uniformna. U sumnjivim slučajevima, kada postoji više plazmocita ili drugih inflamatornih ćelija, treba potražiti pomoć od nekog iskusnijeg, ili zatražiti hiruršku biopsiju radi slanja materijala na histološki pregled. Nekada preparat sadrži gotovo u celosti samo pojedinačna degenerisana jedra i razvučen jedarni materijal. Ovo može biti posledica nestručnog razvlačenja materijala po pločici, ali može biti i posledica nekroze. Ako se ovakav preparat detaljno pregleda, sa naročitim osvrtom na margine preparata, može se pronaći i deo sa neoštećenim ćelijama. Ponekad većina oslobođenih jedara sadrži ostatke jedaraca. Ovo liči na maligni limfom, ali ne treba bazirati dijagnozu samo na tome.



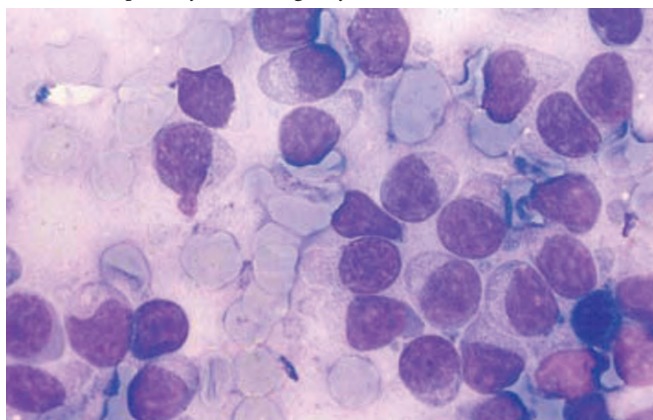
Slika 12. Šematski prikaz malignih limfoma prema Kiel klasifikaciji po Lennertu (Van Heerde P. – Maligni limfomi i histiocitomi. Citologija i druge dijagnostičke metode. Thesis, Uitg Rodophi, Amsterdam, 1984)

Morfologija limfoma pasa, zasnovana na Kiel klasifikaciji

Limfocitni limfom

Ovaj tip limfoma se sastoji od ujednačene populacije sitnih, zrelih limfocita. Citološku sliku je često teško razlikovati od nereaktivnog, normalnog limfnog čvora. Ukoliko se ovakav nalaz pojavi kod definitivno uvećanog limfnog čvora, bez znakova reaktivnosti, vjerovatnoća da je u pitanju ovaj tip limfoma je velika. Ukoliko limfocitni limfom sadrži pretežno

Slika 13. Limfoplazmocitni limfom. Nekoliko malih limfoidnih ćelija sa obilatim citoplazmom i blago ekscentrično postavljenim okruglim jedrom.

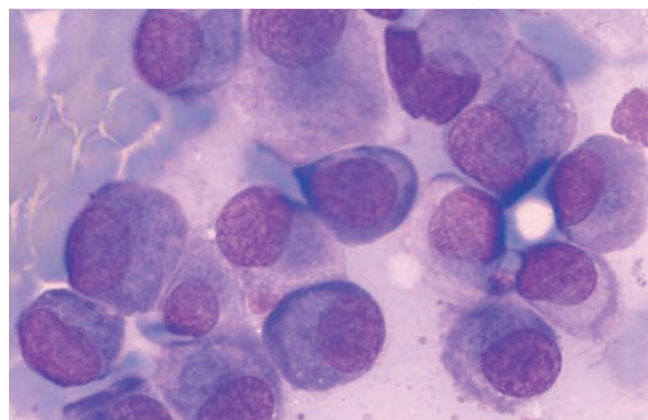


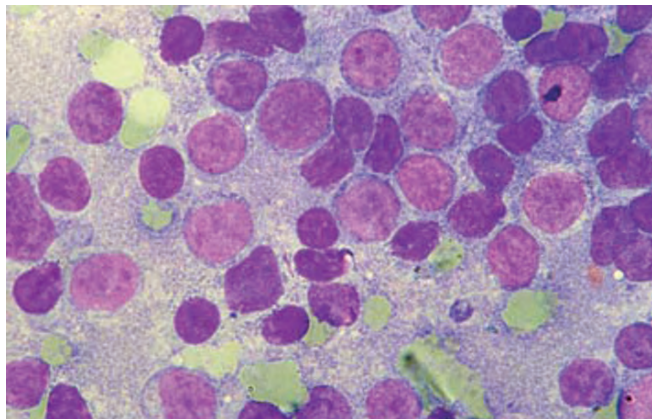
B-limfocite, koji se jedino imunotipizacijom mogu sa sigurnošću identifikovati, onda su jedra obično okrugla sa blago grubim izgledom hromatina. Ovo je drugačije od T-limfocitnog limfoma, kod kog su jedra malo pomešana i imaju zgusnut hromatin. Oba tipa limfoma pokazuju mali broj deoba ćelija. Limfocitni limfom se retko javlja kod pasa.

Limfoplazmocitni / Imunocitni limfom

Najvažniji tip ćelija ovde su imunociti, sitne limfoidne ćelije sa više citoplazme nego što imaju ćelije limfocitnog limfoma i blago ekscentrično postavljanim okruglim jedrom. Ovaj tip ćelija je diferenciraniji, u pravcu plazmocita. Ovakav

Slika 14. Plazmocitom. Velike, atipične plazma ćelije.





Slika 15. Centroblastični/centrocitni limfom. Mešovita populacija krupnih centroblasta, malih centrocita (ćelije u deobi) i limfocita.

limfom je nazvan limfoplazmocitni (Slika 13). Pored ovog tipa ćelija mogu se sresti nekolicina centrocita, imunoblasta i malo plazmocita. Najveći deo ćelija su, naravno, sitni limfociti. Ovakav tip nazvan je imunocitni limfom.

Plazmocitni limfom

Pojava plazmocitoma u limfnim čvorovima je ekstremno retka (Slika 14). Kod ovog tipa limfoma većina ćelija koje se sreću su atipične plazma ćelije u različitim stadijumima razvoja.

Centrocitni limfom

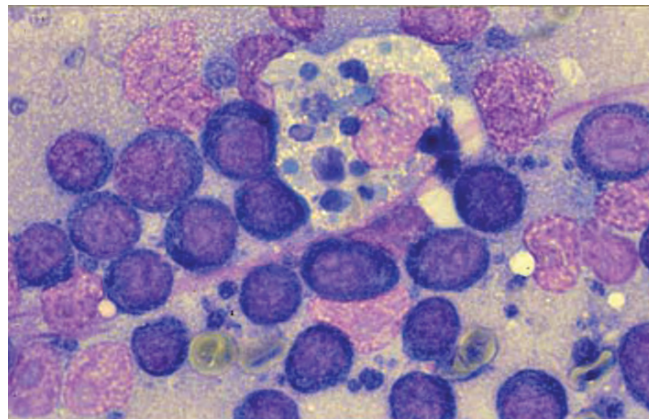
Ovaj limfom se sastoji pretežno od centrocita. Centroцити su male ćelije sa nepravilnim, ponekad i izmeštenim jedrom. Citoplazme uglavnom nema ili je veoma bleđa. Hromatinski materijal je jasan i obično nema vidljivih jedaraca.

Centroblastično/centrocitni limfom

Kao što ime govori, ovaj tip limfoma se sastoji od obe vrste ćelija, centrocita i centroblasta (Slika 15). Centroblasti imaju u velikom okruglo jedro sa više jedaraca koja su obično raspoređena uz membranu jedra. Citoplazma se vidi kao tanki, tamno plavi obod. Veliki broj mitotičkih procesa se može uočiti. Ako procenat centroblasta prelazi 30-50% limfom se zove centroblastični.

Centroblastični limfom

Najveći deo prisutnih ćelija su centroblasti ali se može sresti i poneki centroцит. Postoje dve posebne forme. Ukoliko su pored centroblasta prisutni i imunoblasti, tumor se naziva "polimorfni centroblastični" limfom (Slika 16). Ukoliko je prisutno preko 50% imunoblasta, smatra se da tumor pripada imunoblastičnom limfomu (videti ispod). Druga specifična forma je "anaplastični centrocytic" limfom. Anaplastični centroцити su veliki centroцити sa velikim nepravilnim jedrom. Citoplazma je obično bleđa nego ona u centroblastima.



Slika 16. Polimorfni centroblastični maligni limfom. Uniformna populacija ćelija okruglih centroblasta (sa više malih jedaraca). takođe se mogu uočiti "zvezdano nebo" makrofagi sa ćelijskim debrisom i obojenim telašcima (fagocitovane čestice).

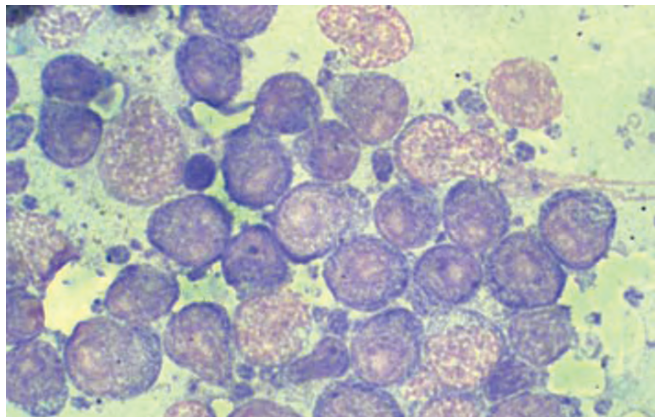
Centroblastični, polimorfni centroblastični i anaplastični centrocytic limfomi su najčešći tipovi limfoma kod pasa. Slika 16. Polimorfni centroblastični maligni limfom. Uniformna populacija ćelija okruglih centroblasta (sa više malih jedaraca). takođe se mogu uočiti "zvezdano nebo" makrofagi sa ćelijskim debrisom i obojenim telašcima (fagocitovane čestice).

Limfoblastični limfom

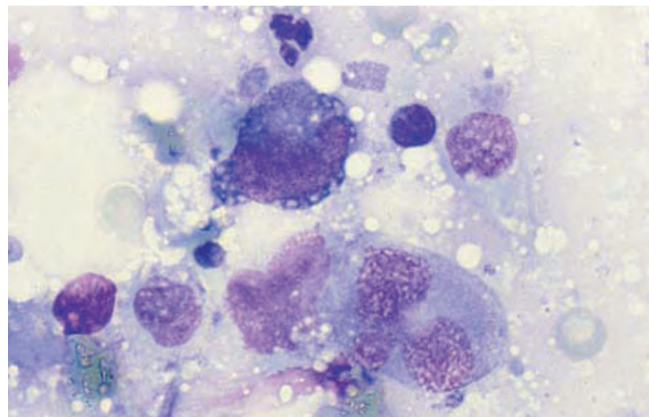
Limfoblastični limfom je redak kod pasa. Limfoblasti su srednje veličine, okruglog do ovalnog jedra sa rubom svetlo do umereno bazofilne citoplazme, koja je ponekad vakuolizovana. Jedro ima fin izgled hromatina sa nekolicinom malih jedaraca. Dosta mitotičkih oblika se može videti. Kod ljudi ova vrsta limfoma ponekad sadrži "zvezdano nebo - makrofoage" (Slika 16), za koje se smatralo da su karakteristični za određeni podtip, tzv. "Burkitov limfom". Kod pasa se ovakvi makrofagi (krupni, vakuolizovani, koji su fagocitovali razne vrste materijala) sreću kod različitih tipova limfoma.

Imunoblastični limfom

Ukoliko minimum od 50% ćelija na preparatu predstavljaju imunoblasti, onda se dijagnostikuje imunoblastični limfom (Slika 17). Imunoblasti su velike ćelije sa velikim okruglim jedrom, često ekscentrično postavljeno. Ovo jedro se karakteriše jednim centralno postavljenim jedarcom. Imunoblasti imaju debeli obod plave citoplazme. Osim velikih imunoblasta sa blago ekscentrično postavljenim jedrom i dosta citoplazme, kod pasa postoji i manji tip imunoblasta sa sitnijim jedrom postavljenim centralno u ćeliji. Česta pojava kod krupnih imunoblasta je veliko, centralno postavljeno, jedarce.



Slika 17. Imunoblastični limfom psa. Osim nekoliko ogoljenih jedara uočava se uniformna populacija imunoblasta koje karakteriše veliko centralno postavljeno jedarce.



Slika 18. Aspirat limfnog čvora sa histiocitnim sarkomom. Velike ćelije, nekada sa veoma sitnim citoplazmatskim vakuolama i vrlo neujednačenim oblicima jedra. Takođe se mogu javiti fagocitoza i prstenasta jedra (na ovoj slici nisu prisutni).

Ostali tipovi

Ostali tipovi limfoma koji se mogu sresti su Mycosis fungoides ("gljivična mikoza"), histiocitni limfom (Slika 18) i višelobarni limfom. S obzirom na njihovo retko pojavljivanje, nisu obrađeni ovom prilikom.

Predlog literature

Fournel-Fleury C, Magnol JP, Guelfi JF. Colour atlas of cancer cytology of the dog and cat. Conference Nationale des Veterinaires Specialises en Petits Animaux, Paris, 1994, 221-321.

Messick JB. The lymph nodes. In: Cowell RL, Tyler R.D, Meinkoth JH., Denicola DB. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. 3rd Ed. Mosby Elsevier, St. Louis. 2008; p179-192.

Mills JN. Lymph node cytology. Vet Clin North Am, Small Anim Pract. 1989; 19: 697-717.

Teske E, Wisman P, Moore PF, van Heerde P. Histological classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas. Unexpected high frequency of T-cell Lymphomas with B-cell morphology. Experimental Hematology.

1994; 22: 1179-1187.

Teske E, van Heerde P. Diagnostic value and reproducibility of fine-needle aspiration cytology in canine malignant lymphoma. Veterinary Quarterly. 1996; 18: 112-115.

van Heerde P. Malignant lymphomas and histiocytic tumours. Cytology and other diagnostic methods. Thesis, Uitg Rodophi, Amsterdam, 1984.

Thrall MA. Cytology of lymphoid tissue. Comp Cont Ed Pract Vet. 1987; 9: 104-111.

Zinkl JG, Keeton KS. Lymph node cytology - I., California Veterinarian. 1979; 33(1): 9-11.

Zinkl JG, Keeton KS. Lymph node cytology - II., California Veterinarian. 1979; 33(4): 20-23.

Zinkl JG, Keeton KS. Lymph node cytology - III, Neoplasia. California Veterinarian. 1981; 35(5): 20-23.

Sa engleskog jezika prevela Sanja Ćirković, DVM

Novi vid zaštite



protiv buva i krpelja u trajanju do 8 meseci



Ima repelentno dejstvo na krpelje,
ubija buve i krpelje u trajanju do 8 meseci

- **Inovativna ogrlica** obezbeđuje kontinuiranu zaštitu za mačke i pse
- Polimerni matrix obezbeđuje sporo i kontinuirano oslobađanje imidakloprida i flumetrina **u niskim dozama**
- **Smanjuje rizik transmisije** vektorskih bolesti
- **Vodootporna ogrlica bez mirisa**

Do **8**
meseci
zaštite

Foresto ogrlica za mačke i male pse, 1x1, (br. dozvole 365-2010-14-01-001 od 13.10.2011, datum revizije teksta Oktobar 2011.). **Foresto ogrlica za velike pse**, 1x1 (br. dozvole 366-2010-14-01-001 od 24.10.2011., datum revizije teksta oktobar 2011.). **Način izdavanja:** lek se može izdavati samo na recept veterinaru. **Indikacije:** tretman i prevencija infestacije buvama tokom 7 do 8 meseci. Kod infestacije krepeljima, proizvod ima postojanu akaricidnu i repelentnu efikasnost tokom 8 meseci. Za tretman infestacije pavašima (*Trichodectes canis*). **Kontraindikacije:** Ne koristiti kod mačića mlađih od 10 nedelja i štenadi mlađe od 7 nedelja. Ne koristiti u slučaju poznate preosetljivosti na aktivne supstance ili na bilo koju pomoćnu supstancu. **Neželjena dejstva:** Kod životinja koje nisu navikle na nošenje ogrlice, u prvih nekoliko dana nakon postavljanja može doći do pojave blagog svraba i/ili eritema. Može doći do pojave neznatnog opadanja dlake i blagih kožnih reakcija na mestu postavljanja, koje obično nestaju u okviru 1 do 2 nedelje, bez potrebnog skidanja ogrlice. U pojedinačnim slučajevima, preporučljivo je privremeno uklanjanje ogrlice do nestanka simptoma. Kod mačaka se, na početku, retko mogu javiti blage i prolazne reakcije kao što su depresija, promene u uzimanju hrane, salivacija, povraćanje i dijareja. Kao i u slučaju bilo kog proizvoda koji se topikalno primenjuje, kod preosetljivih životinja može se javiti alergijski kontaktni dermatitis.

Za detaljnije informacije pogledati uputstvo za korisnike

foresto

Do 8 meseci zaštite protiv buva i krpelja

Samo za stručnu javnost



(samo psi)

Hemoplazma mačaka

Feline Haemoplasmosis

Milica Kovačević Filipović, Jelena Francuski, Nenad Andrić

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

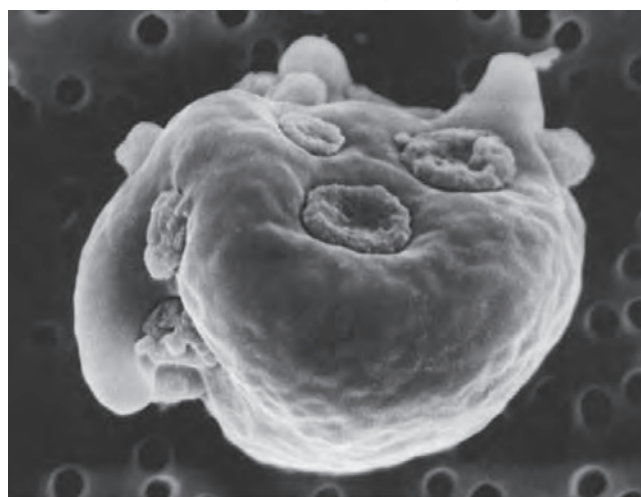


Prof. dr vet. sci. **Milica Kovačević Filipović**, je zaposlena na Fakultetu veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Katedra za patološku fiziologiju. Glavne oblasti istraživanja su joj biologija matičnih ćelija i odgovor akutne faze. Takođe radi na razvoju kliničke patologije domaćih životinja. Postdoktorske studije u trajanju od 18 meseci je obavila na Institutu za hemiju prirodnih supstanci u Francuskom nacionalnom istraživačkom centru i u Francuskom centru za krv.

Uvod

Hemotropne mikoplazme ili hemoplazme su gram-negativne bakterije koje parazitiraju priljubljene uz spoljašnju membranu eritrocita (Slika 1). Mogu da izazovu infekcije kod svih do sada ispitivanih vrsta domaćih i divljih sisara: mačaka, pasa, goveda, svinja, ovaca i koza, divljih mačaka, pacova, medveda, kamila, lisica i kod ljudi. U hemoplazme spadaju *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum*, *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma suis*, *Mycoplasma wenyonii*, *Mycoplasma haemobovis*, *Mycoplasma ovis* i dr. Najčešće ne dovode do klinički manifestinih znakova bolesti, ali ukoliko su životinje na neki način imunokompromitovane, hemoplazme mogu da ispolje svoj patogeni efekat koji se ogleda u ubrzanoj hemolizi i posledičnoj anemiji. Pretpostavlja se da su neke od hemoplazmi nađenih kod životinja zoonotski agensi, mada za to još uvek ne postoje čvrsti dokazi. Ipak, u ruralnim krajevima Kine u kojima je kod svinja i kod goveda prevalenca hemoplazme oko 80%, jako je visoka prevalenca ovog infektivnog agensa i kod ljudi – oko 40 do 50% (Yuan i sar., 2009).

Osim te studije, 2008. godine je detaljno prikazan slučaj HIV obolelog pacijenta sa limfadenopatijom, blagom anemijom, leukopenijom i trombocitopenijom, koji je živeo sa 5 mačaka kojima je dopuštao ga da grizu i grebu. Uz negativne nalaze brojnih mikroorganizama koji mogu da izazovu teške infekcije kod imunodeficientnih osoba, kod ovog pacijenta su iz uvećanih limfnih čvorova bile izolovane *Bartonella* sp. (uzročnik bolesti mačije ogrebotine) i *M. haemofelis*. Osim toga, dve mačke (od pet) su takođe bile



Slika 1. Hemoplazme adehirarne na sopljašnu stranu eritrocita. Skening elektronski mikroskop. Slika preuzeta iz revijalnog rada o hemotropnim mikoplazmama: Messik, 2004.

pozitivne na *M. haemofelis* (dos Santos i sar., 2008).

Među kućnim ljubimcima, hemoplazma je važna kao uzročnik infektivne anemije mačaka. Iako prvi rad koji beleži pojavu infektivne anemije mačaka datira još iz 1959. godine, interesovanje za ove bakterije je zapravo obnovljeno 1998. godine, odnosno od kada je lančana reakcija polimeraze (engl. Polymerase Chain Reaction – PCR) postala dostupna za dijagnostiku ovog infektivnog agensa (Messik i sar., 1998). PCR je zlatni standard za detekciju ovih mikroorganizama koji se ne mogu kultivisati u laboratorijskim uslovima. U eri pre PCR-a, dijagnozu infektivne anemije bilo je moguće postaviti samo na osnovu pregleda krvnog razmaza obojenog May-Grünwald Giemson ili drugim tipom Romanovski bojenja. Ta metoda, koja je i danas u upotrebi, iako jednostavna i ekonomična i neobično važna u veterinarskoj medicini, ipak nije pogodna za detekciju hemoplazmi, s jedne strane zbog male veličine

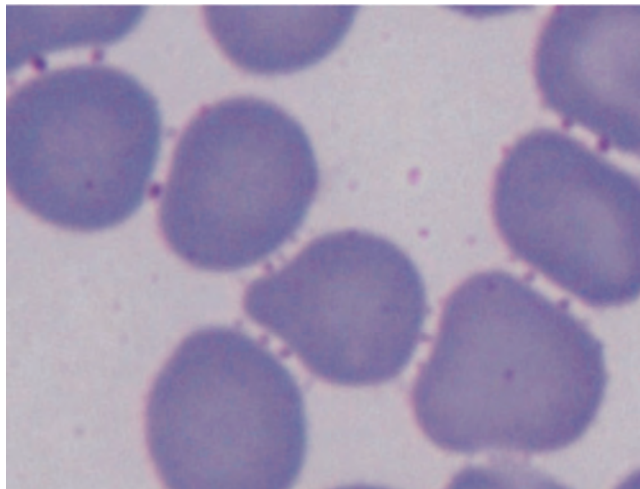
ovih bakterija (0,2 do 2 μ m) i njenog teškog uočavanja na razmazu (slika 2), a sa druge strane zbog toga što se hemoplazme ne nalaze uvek u perifernoj cirkulaciji i lako se odvajaju od zida eritrocita ukoliko krv duže stoji pre pravljenja razmaza. Od 1998. godine objavljeno je oko 100 radova u kojima se mogu naći podaci o prevalenci ovog infektivnog agensa kod mačaka i drugih sisara, ali relativno mali broj radova je posvećen patogenezi anemije. Uvođenje PCR dijagnostike je dovelo i do reklasifikacije hemoplazmi. Naime, do 2002. godine se smatralo da uzročnici infektivne anemije spadaju u riketcije (Rickettsiales), a stari i napušteni nazivi za ove bakterije su Hemobartonella i Eperythrozoon. Po novoj klasifikaciji ove bakterije spadaju u mikoplazme (Mycoplasma) (Messik, 2004).

Hemoplazmoza mačaka

Danas je poznato da postoje tri vrste hemoplazmi koje izazivaju infekcije kod mačaka: *Mycoplasma haemofelis*, *M. haemominutum* i *M. turicensis*. *M. haemofelis* se jedina smatra patogenom, mada neka istraživanja pokazuju da je hronična infekcija sa *M. haemominutum* možda povezana sa renalnom insuficijencijom (Willi i sar., 2006). Kod mačaka se prevalenca kreće od oko 10 do 30%. Češće se sreće kod odraslih mužjaka koji žive van kuće, odnosno koji su u spoljašnjoj sredini. U studiji izvedenoj u Srbiji, u kojoj je sakupljeno 380 uzoraka krvi mačaka, pokazano je da su 62 (16%) mačke bile pozitivne na hemoplazmu. Od tog broja (62 mačke koje su bile pozitivne) 9 (14,2%) mačaka je bilo anemično. Od toga je 8 mačaka bilo blago anemično (Hematokrit = 19,7 \pm 4%, srednja vred \pm standar d. dev.), a samo jedna je imala Ht=11%. Među mačkama koje nisu imale hemoplazmu (293 mačke) bilo je 18 (6%) anemičnih mačaka, od čega su dve bile teško anemične (Ht<11%). Vrstom *M. haemominutum* je bilo inficirano 46 mačaka, vrstom *M. turicensis* 20 mačaka i vrstom *M. haemofelis* 2 mačke. Ukupno je 4 mačke inficirano svim trima hemoplazmama od čega su 2 bile anemične, a dve nisu bile anemične. 14 mačaka je bilo inficirano dvema vrstama hemoplazmi (neobjavljeni rezultati proizašli iz međulaboratorijske saradnje Katedre za patološku fiziologiju Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Srbija i Laboratorije za vektorski prenosive bolesti u Langfordu, Veterinarski Fakultet u Bristolu, Velika Britanija). Ovo podaci ukazuju na to da je prevalenca hemoplazme ujednačena širom sveta.

Hemoplazma može da se nađe na velikom broju eritrocita i da u roku od jednog sata svi mikroorganizmi nestanu iz cirkulacije. Hemoplazme najčešće izazivaju ekstravaskularnu hemolizu, odnosno eritrofagocitozu

u slezini i jetri. Hemoliza često nije značajnog stepena, te će infekcija ostati inaparentna. Kod mačaka se klinički vidljiva anemija najčešće dešava u slučajevima poremećaja imuniteta zbog koinfekcije virusom mačije leukemije ili mačije imunodeficijencije.



Slika 2. Mikoplazme na krvnom razmazu mačke, obojenom May-Gruwald Giemson.

Skoro neverovatno, ali još uvek nema jasnog stava koja se sve antitela mogu naći u krvi pacijenata/mačaka sa hemoplazmom i kada su ta antitela zaštićena, a kada se dešava da dejstvom antitela zapravo dođe do pogoršanja anemije. Neki autori pominju da se antitela stvaraju na proteine membrane eritrocita koji su pre infekcije bili „skriveni“, što je primer klasične sekundarne autoimune hemolitičke anemije (revijalno: Messik, 2004). Drugi autori navode da se antitela stvaraju na antigene same hemoplazme zakačene na eritrocite. Naime, posle eksperimentalne infekcije mačaka vrstom *M. haemofelis* nastaje anemija, i to odmah po infekciji (Tasker i sar., 2009). Prvo je opadala koncentracija hemoglobina, a tek su se posle 8 do 22 dana od infekcije javljala antitela koja su dovođila do aglutinacije eritrocita (pozitivan Coombsov test). Ova antitela su se gubila tokom antibiotske terapije. To sve govori u prilog tome da sama antitela zapravo nemaju nezavisnu ulogu u hemolizi, već se verovatno razvijaju na antigene hemoplazme koja se nalazi vezana za eritrocite. Osim antitela, ulogu u hemolizi ima i aktivacija komplementa koji može dovesti ili do intravaskularne hemolize, ili do opsonizacije inficiranih eritrocita i njihove fagocitoze (Congbin i sar., 2010).

Prenošenje: Putem buva i krpelja, mada način prenošenja nije u potpunosti ispitan. Kako su hemoplazme nađene i u pljuvački i u fecesu, pretpostavlja se da se mogu preneti i peroralnim putem (Willi i sar, 2007). Takođe se pretpostavlja da postoji mogućnost prenošenja hemoplazmi između glodara, mačaka i pasa (Willi i sar., 2007).

Klinička slika: Nekomplikovana infekcija vrstom *M. haemofelis* prolazi kroz četiri stadijuma (1) prepatentni, (2) akutni, (3) oporavak i (4) kliconoštvo (Harvey i Gaskin, 1977). Prepatentni period za eksperimentalno izazvane infekcije iznosi dve do tri nedelje. Klinički znaci se mogu javiti u to vreme, ali mogu i tek posle četiri do šest nedelja. Znaci bolesti su nespecifični i obuhvataju letargiju, anoreksiju, groznicu (kod oko 50% mačaka) i anemiju. Groznica je intermitentna i javlja se kada je broj hemoplazmi u samoj cirkulaciji visok. Povremeno se mogu sresti splenomegalija i ikterus.

Kada postoji, anemija je najčešće regenerativna, a krvni razmaz karakterišu anizocitoza i polihromazija. Apsolutan broj retikulocita je povećan. Anemija je najteža dve nedelje posle eksperimentalne infekcije (Tasker i sar., 2006). Kada postoji teška infekcija hematokrit može pasti ispod 20% (fiziološki 24 do 45%). U svežoj krvi se može nekad uočiti aglutinacija i laboratorijski pokazati pozitivan Coombs-ov test.

Infekcija samo vrstama *M. haemominutum* i *M. turicensis* praktično ne izaziva nikakve kliničke znake kao ni značajne hematološke promene.

Kancerogeni potencijal hemoplazmi: pre dva meseca je objavljen interesantan slučaj u kome je, 14 godina staroj mački, bez kliničkih simptoma, sa dijagnozom multiplog mijeloma, utvrđeno i prisustvo mikroorganizama *Anaplasma platys*, *Bartonella hensale*, *Bartonella koehlerae* i *M. haemominutum*. U diskusiji su postavljene dve hipoteze: jedna se odnosi na mogućnost da je primarni poremećaj multipli mijelom zbog koga je životinja sa kompromitovanim imunitetom inficirana svim navedenim bakterijama, a druga mogućnost je da zapravo infekcija ovim bakterijama može u hroničnom toku bolesti da dovede do nastanka neoplazije (Qurollo i sar., 2014). Iako ovaj tip ispitivanja još uvek nije dovoljno prisutan u veterinarskoj medicini, u humanoj medicini ima sve više dokaza da je infekcija različitim mikoplazmama uzrok nastanka različitih tipova tumora, od kojih je najprisutniji rak prostate (Rogers, 2011).

Terapija: terapija se sprovodi tetraciklinima. Ukoliko se koristi doksiciklin (10mg/kg/dan PO) primenjuje se tokom 4-6 nedelja. Enrofloksacin 5-10mg/kg PO, svakih 24 sata tokom 14 dana. Podaci koji se odnose na primenu kortikosteroida su kontradiktorni. Dilema leži u činjenici da pojava anititela ubrzava hemolizu i pogoršava anemiju, ali imunosupresija, koja je posledica dejstva kortikosteroida, može da dovede do aktivacije eventualno prisutnog herpes ili kalici virusa. Postoje autori koji su kod pacijenta sa Ht=8% primenili imunosupresivne doze deksametazona (Rapidexon® 0,4mg/kg 1x dnevno pareneteralno) uz nastavak terapije sa Prednisolonom® (1mg/kg 2x dnevno PO) do pojave apetita (Geffen i sar., 2012) i zaključili uspešno lečenje. Drugi autori smatraju da primena kortikosteroida nije preporučljiva, jer je pokazano

da se autoantitela gube kada postoji tretman samo sa antibioticima, a registrovani su i slučajevi pogoršanja bolesti ukoliko životinja prima istovremeno antibiotike i kortikosteroide (Willi i sar., 2005). Zbog toga ovi autori preporučuju terapiju kortikosteroidima samo ako se sumnja na autoimunu hemolitičku anemiju, a hemoplazma nije dokazana (Willi i sar., 2007). Bez obzira na terapiju, moguće je da inficirane mačke ostanu (nosioci) kliconoše do kraja života (Messik, 2004, Willi i sar., 2007).

Zahvalnica

Autori se zahvaljuju na saradnji i velikoj pomoći pri prikupljanju uzoraka kolegama: Milanu Biseniću, Violi Hamder Vuković, kolegama u privatnim veterinarskim ambulantomama dr Dulić, Intervet, Vet-Centar, Novak i Klinici za male životinje Fakulteta veterinarske medicine Univeziteta u Beogradu. Osim toga se zahvaljujemo kolegama u Velikoj Britaniji, Kostasu Papasouliotisu i Severini Tasker, koji su uradili PCR dijagnostiku na krvnim uzorcima mačaka iz Srbije. U ovom radu su prikazani samo preliminarni rezultati i očekuje se objavljivanje njihove detaljne analize.

Literatura

- Congbin Y, Aibin L, Congli Y, Juan X, Lanjun B, Weiping Z, Zhibiao Y, Xiuguo H, Overexpression of complement receptor type I (CR1, CD35) on erythrocytes in patients with hemoplasma infection, *Microbiol Immunol*, 2010, 54, 460-5.
- dos Santos AP, dos Santos RP, Biondo AW, Dora JM, Goldani LZ, de Oliveira ST, de Sá Guimarães AM, Timenetsky J, de Moraes HA, González FH, Messick JB, Hemoplasma infection in HIV-positive patient, Brazil, *Emerg Infect Dis*, 2008, 14, 1922-4.
- Harvey JW, Gaskin JM, Experimental feline haemobartonellosis, *J Am Anim Hosp Assoc*, 1977, 13, 28-38.
- Messick JB, Berent LM, Cooper SK, Development and evaluation of a PCR-based assay for detection of *Haemobartonella felis* in cats and differentiation of *H. felis* from related bacteria by restriction fragment length polymorphism analysis, *J Clin Microbiol*, 1998, 36, 462-6.
- Messick JB, Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential, *Vet Clin Pathol*, 2004, 33, 2-13.
- Qurollo BA, Balakrishnan N, Cannon CZ, Maggi RG, Breitschwerdt EB. Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae*, *Bartonella koehlerae* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' in a cat diagnosed with splenic plasmacytosis and multiple myeloma, *J Feline Med Surg*. 2014, in press.
- Rogers MB, *Mycoplasma* and cancer: in search of the link, *Oncotarget*, 2011, 2, 271-3.
- Tasker S, Lappin MR, *Haemobartonella felis*: recent developments in diagnosis and treatment, *J Feline Med Surg*, 2002, 4, 3-11.
- Tasker S, Peters IR, Papasouliotis K, Cue SM, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Gruffydd-Jones TJ, Knowles TG, Day MJ, Helps CR, Description of outcomes of experimental infection with feline haemoplasmas: Copy numbers, haematology, Coombs' testing and blood glucose concentrations, *Vet Microbiol*, 2009, 139, 323-32.
- Yuan CL, Liang AB, Yao CB, Yang ZB, Zhu JG, Cui L, Yu F, Zhu NY, Yang XW, Hua XG, Prevalence of *Mycoplasma suis* (Eperythrozoon suis) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China, *Am J Vet Res*, 2009, 70, 890-4.
- van Geffen C, Coinfection with *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' in a cat with immune-mediated hemolytic anemia in Belgium, *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 2012, 224-228.

Diverzitet uzročnika lajmske bolesti u Srbiji

Diversity of the causative agent of Lyme disease in Serbia

Dr Snežana Tomanović, viši naučni saradnik

Laboratorija za medicinsku entomologiju, Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu



Dr Snežana Tomanović, viši naučni saradnik, diplomirala je na Biološkom fakultetu u Beogradu 1996 godine. Od 2005. godine je zaposlena na Institutu za medicinska istraživanja, Univerziteta u Beogradu. Rukovodilac je Laboratorije za medicinsku entomologiju i saradnik Centra izuzetnih vrednosti za toksoplazmozu i medicinsku entomologiju. Vodi uslužnu delatnost mikroskopske i molekularne detekcije prisustva patogena u krpeljima sa animalnih i humanih domaćina. Dobitnik je Nagrade grada Beograda za 2012. godinu, kao jedan od autora monografije "Krpelji (Acari: Ixodidae, Argasidae) Srbije".

Lajmska bolest je krpeljski prenosiva zoonoza, čije uzročnike, spirohete, iz kompleksa *Borrelia burgdorferi sensu lato*, prenose vrste krpelja koje pripadaju *Ixodes ricinus* kompleksu. Na području Evrope to je pretežno krpelj *Ixodes ricinus*, u Aziji *Ixodes persulcatus*, dok se u Severnoj Americi kao vektori javljaju *Ixodes scapularis* i *Ixodes pacificus*. Održavanje uzročnika oboljenja u prirodi se odvija enzootskim ciklusima koji uključuju krpelje kao vektore i divlje životinje kao kičmenjačke rezervoare. Lajmska bolest je multisistemska oboljenje ljudi i životinja, koje je prvi put opisano 1975. godine u Americi, u gradu Lajmu, a danas je u Evropi i Severnoj Americi to najčešće oboljenje ljudi koje prenose artropodni vektori. Uzročnik je prvi put izolovan 1981. godine u Americi. U vreme kada je *Borrelia burgdorferi* otkrivena i opisana smatralo se da je to uniforman organizam. Međutim, usavršavanjem metoda izolacije i kultivacije dobijeni su brojni izolati poreklom iz krpelja, kičmenjačkih

domaćina i pacijenata obolelih od lajmske bolesti.

Genotipska i fenotipska istraživanja ovih izolata ukazala su na njihove međusobne različitosti koje uveliko prevazilaze intraspecijsku varijabilnost, te je danas u okviru ovog kompleksa poznato 19 vrsta. Bakterije *Borrelia burgdorferi* s.l. kompleksa su rasprostranjene širom severne hemisfere i postoje znatne razlike u pogledu regionalnog diverziteta. Na području Evrope je do sada registrovano 9, dok je u Severnoj Americi opisano 7 vrsta. Geografska distribucija *B. burgdorferi* s.l. na području Evrope je veoma varijabilna. Analiza podataka preko 50 različitih istraživanja pokazala je da se *B. afzelii* i *B. garinii* pojavljuju naizmenično kao dominantne vrste u većini Evropskih zemalja u kojima su istraživanja vršena, *B. burgdorferi* s.s. je ranije konstatovana uglavnom u zemljama zapadne Evrope, dok novija istraživanja ukazuju na njeno prisustvo i u regionima centralne i istočne Evrope. Za *B. valaisina*, koja je prvi put izolovana u Švajcarskoj, smatralo se da je manje zastupljena vrsta. Međutim, prema novijim istraživanjima *B. valaisina* se ubraja među tri najdominantnije vrste *B. burgdorferi* s.l. kompleksa u Evropi. Prema dosadašnjim saznanjima *B. lusitanae* je značajnije zastupljena samo na Apeninskom poluostrvu, dok je u nekoliko drugih evropskih zemalja konstatovana sa malom učestalošću.

Svi predstavnici ovog kompleksa ne pokazuju podjednak patogeni potencijal i zato je od izuzetnog značaja imati uvid u to koji genospecijesi cirkulišu u enzootskim ciklusima na određenom području. Do sada je za 7 vrsta utvrđeno da u određenoj meri izazivaju lajmsku bolest kod ljudi i domaćih životinja, mada su od većeg kliničkog i epidemiološkog značaja tri (***Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii***). Pored humane patologije, gde izazivaju različite kožne, neurološke, kardiološke manifestacije i promene na koštanom sistemu, borelije, najčešće ***Borrelia burgdorferi* s. s. i *Borrelia afzelii***, su uzročnici oboljenja izvesnog broja domaćih životinja, pretežno pasa, konja, goveda, a ređe i mačaka. Različite vrste *B. burgdorferi* s.l. kompleksa pokazuju različiti organotropizam i povezani su sa različitim kliničkim manifestacijama lajmske bolesti kod ljudi. Bolest se najčešće razvija kroz tri faze, prva dva stadijuma odgovaraju ranoj, a treći kasnoj fazi infekcije. Kod humanih slučajeva lajmske bolesti za prvu, lokalizovanu, fazu je karakteristično prisustvo kožne lezije *erythema migrans*, koja se smatra prepoznatljivim kliničkim znakom. Međutim, kod pasa ova kožna promena se najčešće ne javlja ili je teško uočljiva, što značajno otežava dijagnostiku borelioze pasa. Poznavanje geografske distribucije različitih

vrsta *B. burgdorferi* s.l. je od izuzetnog značaja, kako u kliničkoj praksi, tako i za bolje razumevanje ekologije i epidemiologije lajmske bolesti.

U želji da istražimo specijiski diverzitet borelija u Srbiji, u okviru Laboratorije za medicinsku entomologiju Instituta za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu, sprovedena je studija na 18 ekološki različitih lokaliteta širom Srbije. Kod ulovljenih krpelja *I. ricinus* izvršena je molekularna detekcija prisustva borelija, a zatim i karakterizacija detektovanih bakterija.

Prisustvo borelija je detektovano u 42,5% analiziranih krpelja sa područja Srbije. Prevalencija *B. burgdorferi* u krpeljima *I. ricinus* u Evropi kreće se od 0% na Tirenskoj obali u Italiji do 75% koliko je utvrđeno na jednom lokalitetu u Portugalu, sa srednjom stopom inficiranosti 13,7%. Analizirajući istraživanja inficiranosti *I. ricinus* vrstom *B. burgdorferi* s.l. u različitim regionima Evrope uočava se trend porasta stope inficiranosti krpelja od zapada ka istoku. Visoka prevalencija *B. burgdorferi* u krpeljima *I. ricinus* koja je u korelaciji sa rezultatima našeg istraživanja utvrđena je u zemljama u okruženju: Bugarska – 32,7%, Hrvatska – 45%, Nemačka – 36,2%, Slovačka – 43,3% i Švajcarska – 49%. Prema klasifikaciji po kojoj na području Evrope uočavamo regione sa niskim, visokim i ekstremno visokim (>30%) stopama inficiranosti krpelja *I. ricinus* vrstom *B. burgdorferi* s.l., određene oblasti Srbije se mogu smatrati regionima sa ekstremnom prevalencijom borelija u krpeljima, i potencijalno visokim rizikom od lajmske bolesti za populaciju čoveka i životinja.

U toku našeg istraživanja, metodama genotipske karakterizacije, po prvi put je na području Srbije detektovano prisustvo pet vrsta *B. burgdorferi* s.l. kompleksa. Potvrđeno je prisustvo tri prethodno konstatovane vrste i po prvi put na području Srbije detektovane su *B. valaisiana* i *B. lusitaniae*. Ovo je prvo istraživanje prevalencije i distribucije *B. burgdorferi* s.l. u Srbiji koje je u analizu uključilo veliki broj krpelja *I. ricinus* sa brojnih lokaliteta širom zemlje, te dobijene rezultate možemo smatrati relevantnim i indikativnim.

U pouzdanoj dijagnostici i efikasnoj prevenciji oboljenja koja uzrokuju patogeni tako kompleksnog životnog ciklusa kao što je slučaj sa *B. burgdorferi* s.l., poznavanje genetičke varijabilnosti u određenom području je od ključnog značaja. **Prema dosadašnjim istraživanjima četiri vrste *B. burgdorferi* s.l. kompleksa (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, i *B. lusitaniae*), od pet detektovanih u Srbiji, su dokazano povezane sa patološkim poremećajima kod ljudi i pasa.**

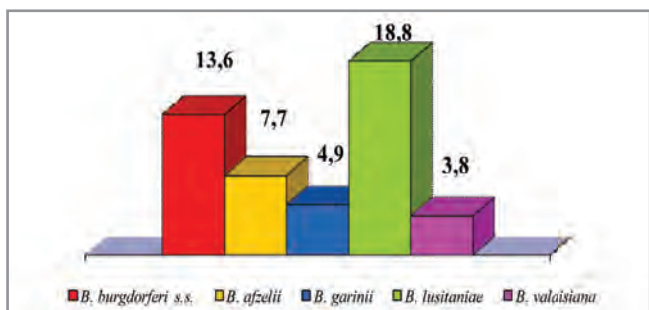
Utvrđeno je takođe, da različite vrste uzrokuju različite kliničke manifestacije lajmske bolesti. Infekcija vrstom *B. burgdorferi* s.s. daje kliničku sliku sa simptomima artritisa, *B. garinii* uzrokuje neurološke komplikacije, *B. afzelii* promene na koži. Patologija *B. lusitaniae* još uvek nedovoljno poznata, mada se prisustvo ove vrste kod

ljudi povezuje sa nespecifičnim i dugotrajnim kliničkim manifestacijama na koži.

Distribucija različitih vrsta *B. burgdorferi* s.l. kompleksa u Evropi je veoma varijabilna i razlike u prevalenciji mogu biti prisutne čak i u okviru malih oblasti u relativno kratkim vremenskim intervalima. Smatra se da su ove razlike rezultat variranja brojnosti i stukture zajednica kičmenjačkih domaćina. Uočene su određene asocijacije vrsta *B. burgdorferi* s.l. kompleksa i rezervoara u enzootskim ciklusima u prirodi. Kao rezervoari *Borrelia afzelii* se najčešće javljaju sitni glodari, za *B. valaisiana* i *B. garinii* su to ptice, dok se *B. burgdorferi* s.s. javlja i kod ptica, i kod glodara. Iako je smatrano da gmizavci poseduju zooprofilaktička svojstva, potvrđena je njihova uloga u enzootskom ciklusu *B. lusitaniae*. Diverzitet *B. burgdorferi* s.l. kompleksa, utvrđen u analiziranim krpeljima *I. ricinus* u Srbiji, ukazuje na visok stepen diverziteta kičmenjačkih domaćina koji učestvuju u enzootskim ciklusima kruženja ovog patogena na istraživanim lokalitetima.

Dobijeni rezultati takođe ukazuju na *B. lusitaniae* i *B. burgdorferi* s.s kao najdominantnije vrste na teritoriji Srbije (Slika 1), što nije bilo očekivano, s obzirom na to da se u zemljama u regionu, Sloveniji, Hrvatskoj i Bugarskoj, kao najučestalija vrsta javlja *B. afzelii*, dok je *B. lusitaniae* detektovana samo u Bugarskoj u 2% analiziranih krpelja. Smatrano je da je *B. lusitaniae* dominantna u krpeljima *I. ricinus* mediteranskog basena – Portugala, Tunisa i severne Afrike, međutim novija istraživanja ukazuju na prisustvo i u krpeljima *I. ricinus* u Slovačkoj i Poljskoj. **Rezultati dobijeni u toku našeg istraživanja govore u prilog globalnoj distribuciji *B. lusitaniae*, vrste sa pokazanim, ali još uvek nedovoljno razjašnjenim patogenim potencijalom.**

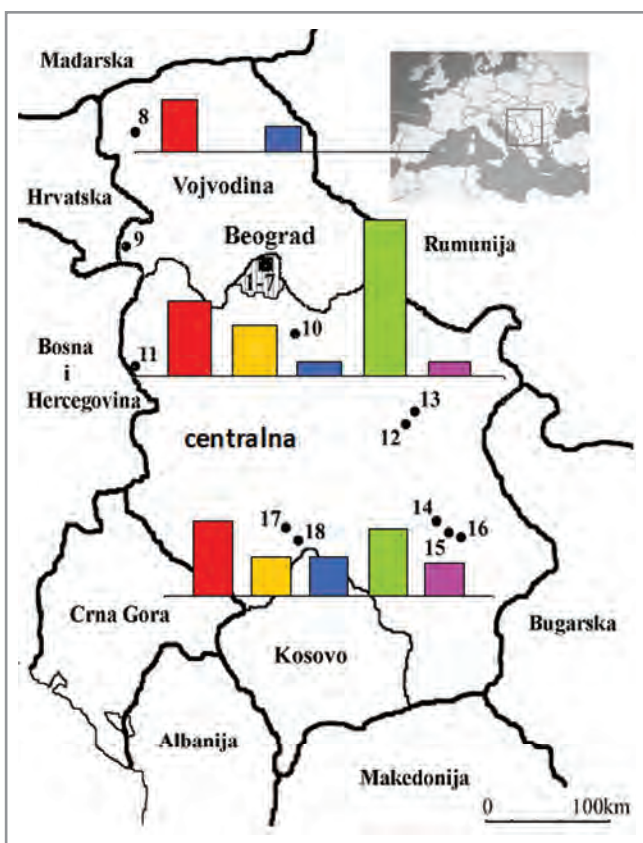
Iako je *B. lusitaniae* utvrđena kao najučestalija



Slika 1. Zastupljenost vrsta *B. burgdorferi* s.l. u analiziranom uzorku krpelja u Srbiji

u analiziranim krpeljima, njena distribucija u Srbiji je lokalizovanija u odnosu na najrasprostranjeniju, i prema dosadašnjim saznanjima znatno patogeniju *B. burgdorferi* s.s., koja je prisutna na 15 od 18 istraživanih lokaliteta. Široka rasprostranjenost *B. burgdorferi* s.s. na istraživanim lokalitetima u Srbiji može se tumačiti kao nespecifičnost ove vrste u odnosu na kičmenjačke rezervoare, s obzirom na to da se javlja, kako kod ptica, tako i kod sitnih glodara.

Na osnovu dobijenih rezultata uočene su razlike u prevalenciji i distribuciji vrsta *B. burgdorferi* s.l. kompleksa u različitim regionima u Srbiji (Slika 2). Značajno manja prevalencija patogena u analiziranim krpeljima, kao i prisustvo samo dve vrste (*B. burgdorferi* s.s. i *B. garinii*), konstatovani su na području Vojvodine, na lokalitetima predstavljenim ekotonima šumostepa i agroekosistema, koje karakteriše relativno siromašna vegetacijska struktura i zoocenoza potencijalnih domaćina. Na lokalitetima u beogradskom regionu i centralnoj Srbiji, koje karakteriše kompleksnije biocenoze, konstatovano je svih pet vrsta *B. burgdorferi* s.l., a prevalencija patogena u krpeljima bila je veća u odnosu na Vojvodinu. Kao najdominantnija vrsta na području Beograda izdvaja se *B. lusitaniae* detektovana u 30,6% analiziranih krpelja, dok je prisustvo *B. garinii* i *B. valaisiana* utvrđeno u svega 2,5% analiziranih krpelja. Učestalost *B. burgdorferi* s.s. i *B. afzelii* na području Beograda je umerena i njihovo prisustvo je zabeleženo u 14,9% odnosno 9,9% analiziranih krpelja. Prisustvo *B. afzelii* i *B. burgdorferi* s.s. ukazuje na značaj glodara kao rezervoara, a naročito pacova i zečeva, čije populacije na urbanim staništima dostižu veliku brojnost.



Slika 2. Distribucija vrsta *B. burgdorferi* s.l. u analiziranim krpeljima *I. ricinus* na istraživanim lokalitetima Srbije (crveno – *Borrelia burgdorferi* s.s., žuto – *Borrelia afzelii*, plavo – *Borrelia garinii*, zeleno – *Borrelia lusitaniae*, ljubičasto – *Borrelia valaisiana*).

U analiziranom uzorku krpelja sa lokaliteta u centralnoj Srbiji uočavamo ujednačeniju zastupljenost vrsta *B. burgdorferi* s.l. Kao dominantni se izdvajaju *B. burgdorferi* s.s. i *B. lusitaniae* sa 12,8% i 11,4%, dok su *B. afzelii* i *B. garinii* zastupljeni sa 6,7%, a *B. valaisiana* sa 5,4% u analiziranim krpeljima. Istraživane lokalitete karakteriše ekosistemi sa većom prosečnom nadmorskom visinom i manjim antropogenim pritiskom u odnosu na lokalitete u regionu Beograda i Vojvodini. Zoocenoze na ovakvim staništima odlikuje kompleksnost i heterogenost vrsta potencijalnih rezervoara, što može usloviti ujednačenije prisustvo više različitih vrsta *B. burgdorferi* s.l. Veća prevalencija *B. garinii* i *B. valaisiana* na ovom području ukazuje na značaj ptica kao potencijalnih rezervoara.

U Srbiji do sada nema značajnih podataka o prevalenciji različitih kliničkih manifestacija lajmske bolesti, ali na osnovu prevalencije i distribucije određenih vrsta *B. burgdorferi* s.l. utvrđenih u analiziranim krpeljima u Srbiji, možemo očekivati veću učestalost pacijenata obolelih od lajmske bolesti sa specifičnim i nespecifičnim kožnim promenama, kao i sa simptomima artritisa. **Takođe, u značajnom procentu utvrđeno je prisustvo dve vrste (*Borrelia burgdorferi* s.s. i *Borrelia afzelii*) za koje je potvrđeno da izazivaju boreliozu pasa u Srbiji.**

Kao jedan od vidova prevencije i blagovremene dijagnostike lajmske bolesti u Laboratoriji za medicinsku entomologiju se sprovodi molekularna detekcija prisustva borelija u krpeljima skinutim sa humanih i animalnih pacijenata. Informacije o stadijumu nasisanosti, kao pokazatelju vremena pričvršćenosti krpelja za domaćina, kao i prisustvo borelija u krpeljima, pokazale su se kao dobar prognostički parametar u određivanju eventualne terapije i daljeg tretmana pacijenta.

Literatura

- Milutinović M, Radulović Ž, Tomanović S, Petrović Z. (2012) Krpelji (Acari: Ixodidae, Argasidae) Srbije. Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd.
- Tomanović S (2009). Molekularna detekcija i karakterizacija bakterija *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Francisella tularensis* u krpeljima *Ixodes ricinus* na području Srbije. Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
- Savić, S, Vidić B, Lazić S, Lako B, Potkonjak A, Lepšanović Z (2010). *Borrelia burgdorferi* in ticks and dogs in the province of Vojvodina, Serbia. Parasite, 17, 357–361.

Osnovna pravila pregleda sedimenta urina

Basics of urinary sediment analysis

Jelena Francuski DVM, student doktorskih studija
Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Katedra za patološku fiziologiju.



Jelena Francuski je diplomirala 2008. godine na Fakultetu veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu i trenutno je student doktorskih studija na istom fakultetu. Oblast interesovanja - klinička patologija.

Uvod

Analiza urina je vrlo značajna laboratorijska i dijagnostička metoda koja se često izostavi nakon opšteg kliničkog pregleda i hematoloških i biohemijskih pretraga krvi. Informacije koje se dobijaju ovim pregledom su važne za postavljanje dijagnoze različitih poremećaja urinarnog trakta i nekih sistemskih oboljenja. Brzo i lako uzorkovanje, minimalna cena analize i veliki broj informacija koje pruža ova analiza, stavlja je na vrh liste opštih rutinskih analiza. Ipak, da bi se adekvatno interpretirali rezultati pregleda urina potrebno je imati na umu sve prednosti i mane korišćenih metoda pregleda, kao i veliki broj preanalitičkih i analitičkih grešaka koje utiču na dobijanje validnih rezultata, a koje želimo da istaknemo u ovom radu.

Za koje vreme treba izvršiti analizu urina? Gde se greši?

Analizu urina uvek treba vršiti na svežen uzorku, u idealnom slučaju u roku od pola sata nakon uzorkovanja, maksimalno do sat vremena, a ukoliko to nije moguće, uzorak treba čuvati u frižideru u neprozirnoj hermetički zatvorenoj epruveti da bi se izbeglo razlaganje organskih i neorganskih komponenti (ne sme se zamrzavati). Na sobnoj temperaturi, razgradnja organskog dela sedimenta, naročito cilindara i ćelija, je potpuna za 6 do 24h po uzorkovanju (*Stockham i Scott, 2008*), smanjuje se količina

glukoze, ketonskih tela i bilirubina, pH se povećava, jer se urea konvertuje u amonijak, bakterije se umnožavaju i potencira se stvaranje kristala. Stvaranje kristala je najizraženije čuvanjem uzorka u frižideru. Iz tog razloga, uzorke koji su čuvani u frižideru potrebno je zagrejati 20 minuta na sobnoj temperaturi i blago promešati kako bi se sve čestice resuspendovale i homogenizovale pre vršenja pregleda (*Meuten, 2012*).

Kako vršiti pregled urina?

Fizičko-hemijski, biohemijski i mikroskopski pregled urina predstavljaju ključne komponente pregleda urina.

U fizički pregled urina ubrajamo: boju, prozirnost i specifičnu težinu urina (ST) određenu refraktrometrom.

Hemijski pregled obuhvata upotrebu tračica za urin kojima se dobija semikvantitativna analiza pojedinih sastojaka, a **biohemijski** određivanje odnosa ukupnih proteina i kreatinina u urinu.

Pregled sedimenta podrazumeva mikroskopski pregled urina kojim se utvrđuje prisustvo kristala, cilindara, eritrocita, leukocita, bakterija, parazita i njihovih jaja.

Da bi se adekvatno interpretirao nalaz urina potrebno je naznačiti/imati u vidu kako je urin uzorkovan: slobodnim uriniranjem, manuelnim pritiskom na mokraćnu bešiku, kateterizacijom ili cistocentezom, i da li je to prva jutarnja mokraća ili urin uzet tokom dana. Prva jutarnja mokraća je uglavnom maksimalno koncentrovana i može sadržati epitelne ćelije i bakterije poreklom iz genitalnog trakta. Uzorak uzet kateterizacijom može sadržati veći broj epitelnih ćelija poreklom iz uretre, kao i malu količinu krvi koja se može uočiti i u uzorku uzetom cistocentezom. Zato se za mikrobiološku analizu preporučuje uzorkovanje urina cistocentezom.

Ako se na osnovu fizičko-hemijskog pregleda urina ne uoče odstupanja od fizioloških vrednosti, pregled sedimenta urina nije esencijalan zato što je rezultat pregleda sedimenta retko patološki (*Meuten, 2012*).

Pregled sedimenta urina

Sediment se dobija centrifugovanjem 5-10 ml

svežeg urina na 1000 do 1500 rpm, 5 minuta. Količina urina koja se koristi za dobijanje sedimenta je varijabilna, jer zavisi od načina i mogućnosti uzorkovanja, ali se smatra da je količina 5-10 ml standardna. Nakon centrifugiranja, supernatant se odlije i na dnu epruvete ostaje oko 0,5 ml sedimenta (taloga) koji treba resuspendovati (protresti epruvetu) i jednu kap preneti na mikroskopsku pločicu, pokriti je ljuspicom i mikroskopirati nakon par minuta. Par minuta je potrebno da se ćelije i masne kapi zalepe za staklo i zaustavi „kretanje tečnosti“. Sediment se pregleda na malom (10×) i velikom uvećanju objektiv (40×), a nalaz interpretira kao broj prisutnih komponenti organskog i neorganskog sedimenta koji se uočava na malom (uvećanje okulara 10× i uvećanje objektiv 10× = uvećanje 100×) i velikom uvećanju (uvećanje okulara 10× i uvećanje objektiv 40× = uvećanje 400×) (Tabela 1). Želimo da istaknemo da širina vidnog polja može da varira zbog razlika u širini okulara koja je najčešće 10mm, ali može biti i 20mm ili 25mm u zavisnosti od tipa mikroskopa. To je izuzetno važno, jer od toga zavisi broj komponenti sedimenta koji će se uočiti. Na primer, širina vidnog polja okulara od 25mm je za oko 50% veća od širine vidnog polja okulara od 20mm, pa bi se iz tog razloga prilikom pregleda istog sedimenta na velikom uvećanju sa okularom od 25mm uočilo 15 leukocita, a sa okularom od 20mm 10 leukocita (*Stockham i Scott, 2008*). Da bi se nalaz sedimenta adekvatno interpretirao važno je voditi računa o karakteristikama okulara i objektiv mikroskopa koji se koristi.

Može se vršiti pregled neobojenog (nativnog) i obojenog sedimenta. Rutinski se radi pregled nativnog sedimenta, ali kombinacija obe tehnike može dati bolji uvid i lakšu diferencijaciju pojedinih komponenti sedimenta urina, naročito ćelija.

Pregledom sedimenta urina može se uočiti prisustvo neorganskih (kristali) i organskih komponenti (ćelije, cilindri, bakterije, paraziti i njihova jaja). Ukoliko postoji inflamacija urinarnog trakta (cistitis, pijelonefritis, neoplazije, urolitijaza, prostatitis, itd.) u sedimentu urina se uočava prisustvo leukocita, eritrocita i/ili bakterija, a takav sediment se označava kao „aktivni sediment“. Ukoliko se pregledom sedimenta urina ne uoče ćelije koje označavaju prisustvo inflamacije, takav sediment označavamo kao „neaktivni sediment“.

Kristali nastaju precipitacijom soli natrijuma, kalijuma i kalcijuma u urinu. Neki kristali imaju sklonost da se stvaraju u alkalnom urinu i rastvaraju se u kiseloj sredini, dok drugi imaju sklonost stvaranja pri kiselom pH i rastvaraju se u alkalnoj sredini. Vrsta i broj stvorenih kristala zavisice od pH mokraće, koncentracije soli i

temperature. Čest nalaz predstavljaju kristali: amonijum biurata, kalcijum oksalat mono i dihidrata, amonijum-magnezijum-fosfata, bilirubina i amorfnih kristali fosfata i urata. Ređe se uočavaju kristali holesterola, ksantina, hipurne kiseline i masnih kiselina. Nalaz kristala cistina, tirozina i leucina ukazuje na poremećaj u metabolizmu ovih aminokiselina u jetri i uočen je kod pojedinih rasa (bul mastifa, engleskog buldoga, čivave i jazavičara) kao urođeni defekt. Kristali se mogu uočiti u maloj količini u urinu zdravih životinja, ali njihov povećan broj može ukazivati na prisustvo patološkog procesa koji dovodi do promene pH mokraće i koncentracije soli. Ustanovljeno je da prisustvo ili odsustvo kristalurije nije pouzdan pokazatelj prisustva urolitijaze, ali se smatra da je kristalurija faktor rizika za njen nastanak (*Stockham i Scott 2008*).

Kristali amonijum biurata (pH obično ≤ 7) se mogu uočiti u sedimentu zdravih jedinki, obično kod dalmatinaca i engleskih buldoga čija je mokraća bogata uratima. Njihovo prisustvo u većoj količini ukazuje na oboljenje jetre ili portosistemski šant.

Kristali bilirubina (pH obično < 7) se javljaju kod obimne bilirubinurije, kada u plazmi poraste koncentracija konjugovanog bilirubina. Kod pasa se može javiti i kod povećanog obima hemolize, jer epitelne ćelije tubula mogu da konjuguju bilirubin i eliminišu ga putem mokraće.

Kristali kalcijum-oksalat-mono i dihidrata (pH obično ≤ 7) mogu se javiti kod zdravih životinja, a njihova količina raste ukoliko postoji hiperkalciurija i oksalurija koja se javlja kod trovanja etilen-glikolom (antifrizom).

Kristali kalcijum-fosfata (pH obično ≥ 7) se uočavaju u sedimentu zdravih jedinki, kod urolitijaze i kod alkalnog urina. Zapažanja autora ovog teksta su da kod mačaka sa opstrukcijom uretre u sedimentu urina postoji povećana količina kristala kalcijum-fosfata i struvitnih kristala (*Francuski i sar., 2013*).

Amonijum-magnezijum-fosfat - struvit (pH obično ≥ 7) uočavamo u alkalnom urinu zdravih pasa i mačaka i može biti udružen sa prisustvom bakterija u urinu koje stvaraju ureazu (*Staphylococcus spp. i Proteus spp.*). Kod mačaka njihov nastanak nije povezan sa infekcijom (Figura 1F i 1G)

Amorfne fosfate vrlo često uočavamo u alkalnom urinu (pH obično ≥ 7) kao precipitat amornog izgleda (Figura 1D). U baznoj sredini smanjena je solubilnost kalcijum-fosfata usled čega dolazi do njegove precipitacije u vidu amorfne mase. Mogu se javiti u velikoj količini, ali nemaju klinički značaj. Morfološki se vrlo teško mogu razlikovati od **amornih urata** koji se često uočavaju

Tabela 2. Parametri za razlikovanje hematurije, hemoglobinurije i mioglobinurije na osnovu pregleda urina

	Hematurija	Hemoglobinurija	Mioglobinurija
Boja urina	Crvena	Crveno-braon	Crveno-braon-crna
Krv (test tračica)	4+	4+	4+
Eritrociti*	Masa	Negativno/u tragu	Negativno/u tragu
Leukociti*	Masa	Negativno/u tragu	Negativno/u tragu
Cilindri*	Negativno	Prisutni/br.varijabilan	Prisutni/br.varijabilan
Boja urina nakon centrifugiranja	Žuta, ružičasta	Crvena	Crveno-braon
Najčešća etiologija	Urolitijaza, trauma, tumori, biopsija	Hemolitičke i imunološki posredovane anemije, trovanje vodom, bakrom, cinkom	Rabdomioliza, tromboza aorte

Napomena *U sedimentu urina

pri kiselom pH urina. Razlikovanje amorfnih fosfata od amorfnih urata vrši se najčešće na osnovu pH mokraće ili na osnovu boje taloga urina nakon centrifugiranja, koji je kod prisustva amorfnih fosfata bele boje, a amorfnih urata ružičaste.

Cilindri predstavljaju jedan od najznačajnijih nalaza prilikom pregleda sedimenta urina, jer njihovo prisustvo predstavlja apsolutnu potvrdu da postoji patološki

Tabela 2. Parametri za razlikovanje hematurije, hemoglobinurije i mioglobinurije na osnovu pregleda urina

Parametri	Nalaz na uvećanju objektiva 40×
Leukociti	0-5
Eritrociti	0-5
Epitelne ćelije	0 – nekoliko*
Kristali	Varijabilno
Cilindri	<2*hijalina cilindra
Bakterije	0 – nekoliko

Napomena *Na uvećanju objektiva 10×

proces na tkivu bubrega. Njihov broj nije u korelaciji sa stepenom oštećenja, a negativan nalaz ne isključuje mogućnost postojanja patološkog procesa na bubrezima. Prema građi i obliku razlikujemo hijaline, ćelijske, fino i grubo granulirane, voštane i masne cilindre, koji se stvaraju u distalnim tubulima bubrega. Fiziološki, u malom broju, se mogu naći samo proteinski ili hijalini cilindri, sastavljeni od denaturisanih proteina oblikovanih prema lumenu tubula (Tabela 1). Ako su tubuli zdravi, cilindri su uski, a ako su

oštećeni, pa su izgubili epitel, cilindri su obično deblji. Hijalini cilindri su bleđi i prozirni, homogene strukture, i u većem broju se mogu naći kod proteinurije. Epitelni cilindri nastaju kada se na hijalinu masu zalepe ćelije epitela tubula, dok eritrocitni i leukocitni cilindri nastaju kada se na hijalinu masu nalepe eritrociti tj. leukociti. Granulirani cilindri sadrže proteinska zrnca od delimično razgrađenih ćelija, prethodno inkorporiranih u hijalinu masu cilindara. Masni i voštani cilindri se mogu javiti kod lipidurije, hroničnog oboljenja bubrega, nefrotskog sindroma, degeneracije ili nekroze.

Eritrocite možemo uočiti u sedimentu urina zdravih životinja (Tabela 1) kao male, okrugle ćelije bez jedra (Figura 1B). Međutim, u nativnom sedimentu ponekad ih je teško razlikovati od leukocita i u razređenom urinu bubre, pa se onda vide samo njihove konture. Bojenje sedimenta urina može pomoći u morfološkoj diferencijaciji uočenih ćelija. Eritrociti mogu biti lizirani ukoliko je urin značajno razređen ili minimalno koncentrovan i ukoliko je pH urina vrlo alkalno. Prisustvo većeg broja eritrocita u sedimentu uočava se kod: krvarenja iz urogenitalnog trakta (inflamacija, neoplazme, uroliti, infarkt bubrega, hemoragična dijateza) i u manjem broju kod glomerulonefritisa. Ukoliko se u sedimentu urina uoči prisustvo eritrocita u većem broju reakcija na tračici za urin treba da bude pozitivna. Parametri za razlikovanje hematurije od hemoglobinurije i mioglobinurije dati su u Tabeli 2.

Leukocite uočavamo kao male okrugle ćelije sa jedrom, a najčešći nalaz predstavljaju neutrofilni. Prečnika su oko 10 μm i veći su od eritrocita (Figura 1A). Jedra leukocita se bolje mogu uočiti ako se pod pokrovno staklo doda kap 1,66 mol/L sirćetne kiseline. U alkalnom urinu

leukociti se degenerišu i izgledaju kao prozirne ćelije bez jedra, ili se sasvim raspadaju, pa se vide kao gusta sluzava masa sa jedrima. Javljaju se u većem broju kod inflamacija, neoplazmi i urolita. Nalaz većeg broja leukocita u urinu se naziva **piurija**.

Epitelne ćelije možemo uočiti u sedimentu urina zdravih jedinki u malom broju (Tabela 1), jer se ostarele epitelne ćelije redovno zamenjuju novim ćelijama. Postoje tri vrste epitelnih ćelija urinarnog trakta i to: ćelije bubrežnog epitela, ćelije prelaznog epitela i skvamozne epitelne ćelije (Figura 1C). Ćelije bubrežnog epitela su kuboidnog oblika, ali prolaskom kroz niže partije urinarnog trakta mogu promeniti svoj oblik i tako da u sedimentu urina uočimo ćelije okruglog oblika. Ćelije prelaznog epitela koje oblažu pelvis bubrega i proksimalni deo uretre su okruglog oblika, dok su skvamozne ćelije, koje su prisutne u distalnim delovima uretre, okruglog do poligonalnog oblika. Zbog toga je razlikovanje ovih ćelija u sedimentu urina vrlo teško i skoro nemoguće. U nativnom sedimentu urina takođe je vrlo teško razlikovati makrofage od epitelnih ćelija pa se zato preporučuje bojenje sedimenta urina. Veliki broj epitelnih ćelija može se uočiti kod inflamatornih, hiperplastičnih i neoplastičnih procesa na urogenitalnom traktu.

Bakterije, paraziti i njihova jaja

Utvrđivanje kliničkog značaja bakteriurije obuhvata razmatranje prisustva ili odsustva piurije, načina uzorkovanja urina, koncentraciju bakterija i prisustvo ostalih pokazatelja inflamacije urinarnog trakta. Odsustvo nalaza bakterija u sedimentu urina ne isključuje mogućnost prisustva urinarne infekcije. Ukoliko se sumnja na prisustvo bakteriurije neophodno je uraditi mikrobiološki pregled urina. Da bi se u sedimentu urina detektovalo prisustvo bakterija, mora da ih bude više od 10.000 /ml urina za štapičaste bakterije i 100.000 /ml urina za kokoidne bakterije.

U sedimentu urina, osim bakterija, mogu se naći i gljivice, jaja parazita koji su prisutni u digestivnom traktu ili specifično jaja parazita koji naseljavaju bubrege kod pasa (*Dioctophyma renale*) i bešiku kod pasa i mačaka (*Capillaria plica*). Jaja parazita *Capillaria plica* se lako mogu pomešati sa jajima *Trichuris sp.* pa je zato vrlo važno razlučiti moguću sekundarnu kontaminaciju urina izmetom. Osim toga, u urinu se mogu naći i mikrofilarije *Dirofilaria sp.* čije prisustvo je najčešće udruženo sa hematurijom.

Pregledom sedimenta urina mogu se uočiti i materije koje su od malog dijagnostičkog značaja ili nemaju nikakvu važnost. Takve materije su polen, spermatozoidi

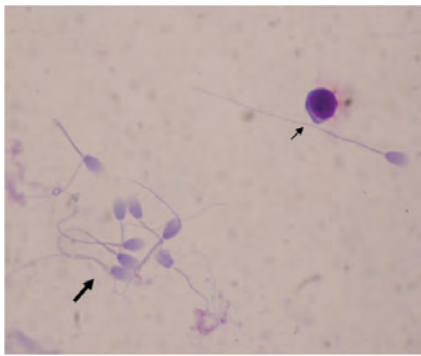
(najčešće nakon parenja) (Figura 1A), sluz (iz genitalnog trakta) i masne kapi (Figura 1E), koji mogu stvoriti dilemu oko interpretacije nalaza (na primer, amorfni kristali mogu ličiti na masne kapi, a ukoliko su zbijeni u gomili mogu ličiti na sluz). Masne kapi se najčešće uočavaju u sedimentu urina mačaka, jer se trigliceridi skladište u epitelnim ćelijama tubula bubrega.

Zbog velike nestabilnosti komponenti urina, njegova analiza se mora izvršiti u što kraćem vremenskom roku. Poteškoće se javljaju ukoliko se uzorak šalje sa terena u neku laboratoriju, jer se njegova analiza ne može izvršiti u kratkom vremenskom periodu. Preporuka je da se neposredno po uzorkovanju urina odrede njegove fizičke karakteristike i specifična težina refraktrometrom. Potom, uzorak skladištiti u frižideru i u što kraćem vremenskom periodu dostaviti laboratoriji. Prilikom slanja uzorka u laboratoriju vrlo je važno radi dobijanja što validnijih rezultata pregleda napisati kako je urin uzorkovan i da li je to prva jutarnja mokraća ili urin uzet tokom dana i da li je uzorak skladišten u frižideru i koliko dugo. Poštovanje ovih principa omogućiće adekvatno tumačenje dobijenih rezultata.

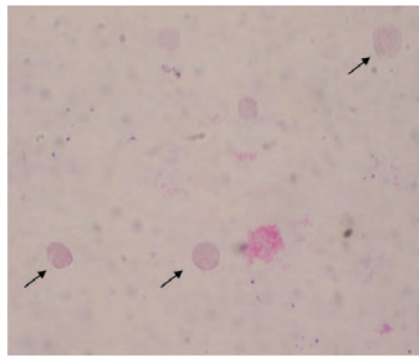
Iako naizgled jednostavna metoda, pregled sedimenta urina je tehnika koja zahteva adekvatno obučeni stručni kadar sa iskustvom.

Zaključak

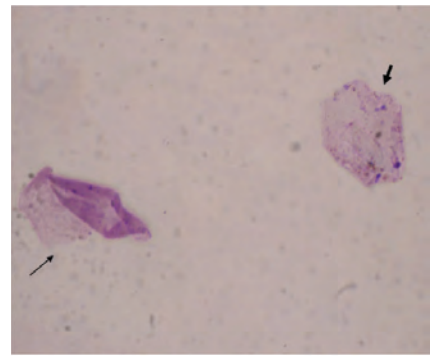
Pregled urina predstavlja metodu čiji se potencijal nedovoljno koristi u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Iako zapostavljen i u senci hematoloških i biohemijskih ispitivanja, ne treba precenjivati njegovu važnost. Rezultati dobijeni pregledom urina moraju se interpretirati zajedno sa hematološkim i biohemijskim nalazima pacijenta. Preporuka je da tek nakon uvida u opšte zdravstveno stanje pacijenta koje obuhvata opšti klinički pregled, pregled krvne slike, urina i elektrolita treba odlučiti koje će se biohemijske analize vršiti.



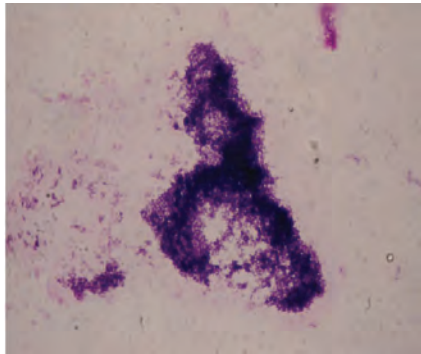
A



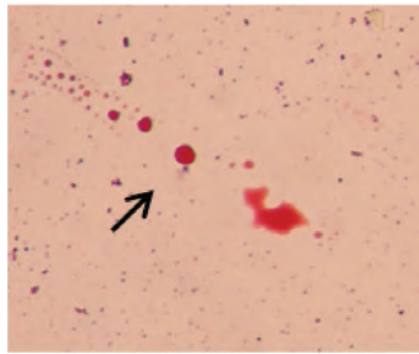
B



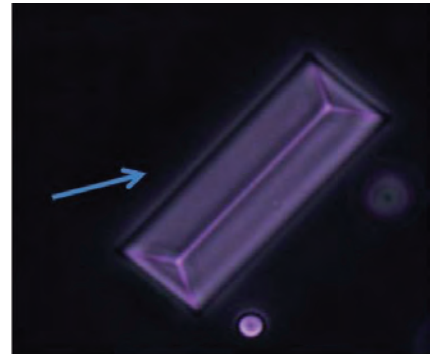
C



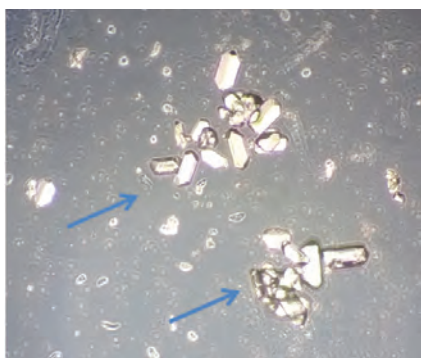
D



E



F



G

Slika 1. Sediment urina obojen May-Grünwald Giemsom
A-D (imerzija, uveličanje 10× 100), Oil redom **E** i
nativni sediment **F-G** (invertni mikroskop)

Legenda: **A)** Spermatozoidi (velika strelica) i leukocit (mala strelica), **B)** Eritrociti, **C)** Skvamozne epitelne ćelije, **D)** Masa amornih kristala, **E)** Masne kapi, **F)** i **G)** Struvitni kristali.

Zahvalnica

Autor se zahvaljuje Neveni Stefanović, studentkinji Fakulteta veterinarske medicine na pomoći pri prikupljanju uzoraka urina čije su slike prikazane u okviru ovog rada.

Literatura

1. Meuten D, 2012, in second edition of Veterinary hematology and clinical chemistry
2. Francuski J, Andrić N, Ilić V, Jovanović M, Lazarević Macanović M, Krstić V, Kovačević Filipović M. Retrospektivna analiza kliničko patološkog nalaza kod opstrukcije donjih mokraćnih puteva mačaka. Veterinarski glasnik Beograd, 2013, 76 (1-2): 117-128
3. Graff L, 1983, A handbook of routine urinalyses
4. McBride Lj, 1998, Textbook of urinalyses and body fluids
5. Macdougall DF, Gurd GJ 2000, Urine collection and complete analyses in: Bainbridge J, Elliott J, eds. BSAVA Manual of feline and canine nephrology and urology, 1st edition
6. Osborne CA, Stevens JB 1999, Urinalyses: A clinical guide to compassionate patient care
7. Stockman and Scott 2008, in 2nd edition of Fundamental of veterinary clinical pathology
8. Teiz NW, 1995, Clinical Guide to laboratory tests, 3th edition



FUJIFILM

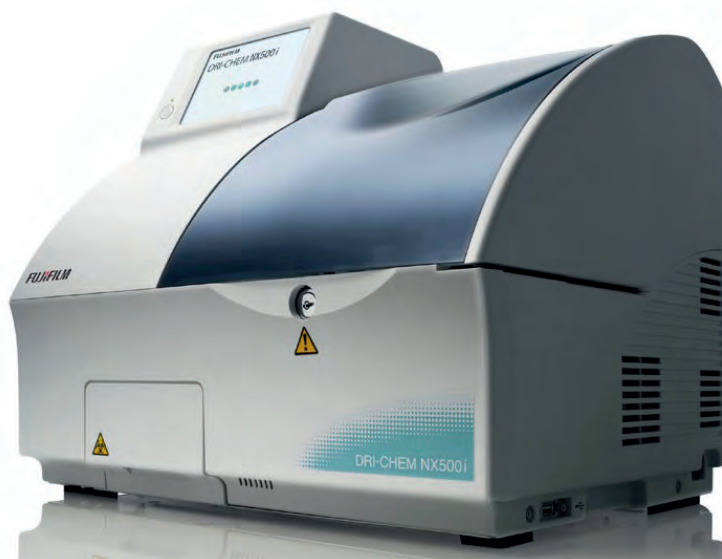
www.fujifilm.eu

NAJMODERNIJI BIOHEMIJSKI I ELEKTROLIT ANALIZATOR FDC NX 500 iE

- Radi 12 parametara za samo 9 minuta
- Jednostavna upotreba: pojedinačni parametri ili specifični dijagnostički profili
- Brzina: rezultati za nekoliko minuta

NOVO!

DVA APARATA U JEDNOM!
MADE IN JAPAN



MEK-6450 - za upotrebu u veterinarskoj medicini

NIHON KOHDEN HEMATOLOŠKI ANALIZATOR

MADE IN JAPAN

**NEMOJTE PLAĆATI ANALIZE NA DRUGIM ANALIZATORIMA
I DO 10 PUTA SKUPLJE!**

Celltac α

Hematology Analyzer
MEK-6450J/K

**CENA PO
ANALIZI
SAMO 0,5 EUR**

**KOMPAKTAN, POUZDAN,
JEDNOSTAVAN ZA POTREBU!**



SUPERLAB®
Your Lab - Our Passion



Milutina Milankovića 25, 11070 Novi Beograd
Tel./Fax 011 22 22 222 E-mail: superlab@super-lab.com www.super-lab.com

Pravilno uzimanje i slanje uzoraka na mikrobiološki pregled

Proper microbiological sampling and sending techniques

Dr Dušan Mišić, docent, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu



Dr Dušan Mišić je rođen 11.10.1969. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu, srednju školu i Fakultet veterinarske medicine. Na Katedri za mikrobiologiju FVM u Beogradu zaposlen je od 1999. godine, od 2009. godine u zvanju docenta. Magistrirao je i doktorirao iz oblasti rezistencije bakterija na antibiotike. Rukovodilac je laboratorije za bakteriologiju i mikrobiologiju pri Katedri za mikrobiologiju FVM. Do sada je objavio 17 naučnih radova u međunarodnim časopisima sa SCI liste i preko 20 radova u nacionalnim naučnim i stručnim časopisima, kao i na domaćim i međunarodnim skupovima. Osim oblasti rezistencije na antibiotike, bavi se i primenom molekularnih metoda u kliničkoj mikrobiologiji.

Uvod

Najveći procenat bolesti sa kojima se kliničari susreću u svakodnevnoj praksi su infektivna oboljenja. Počev od najobičnijeg rinitisa preko ozbiljnih stanja kao što su infekcije hirurških rana, septikemije ili zoonozne infekcije. Kada se sumnja na infektivno oboljenje, ili, da bi se isključila infekcija, postavljanje dijagnoze započinje uzorkovanjem patološkog materijala od obolelih jedinki i transportom uzoraka do mikrobiološke laboratorije. Tačna mikrobiološka dijagnoza može se postaviti samo ako je od životinje uzet *pravi uzorak*, u *pravo vreme* i ako je transportovan i čuvan na *pravi način*. Može se činiti besmislenim zašto se postavlja pitanje pravog uzorka: naravno da će kod konjunktivitisa biti uzet bris oka, a ne

uha, ali pokazalo se da to u svakodnevnoj praksi nije tako jednostavno pitanje i da se upravo kod ovakvih banalnih slučajeva (bris oka, uha, itd.) događaju greške, koje u potpunosti onemogućavaju postavljanje tačne dijagnoze. Ukoliko je uzorak uzet i transportovan na pravilan način, mikrobiološki rezultati će biti tačni i biće gotovi u najkraćem mogućem vremenskom roku. Loše uzet uzorak (pogrešan uzorak, nepravilno čuvan i transportovan uzorak) onemogućava dobijanje precizne mikrobiološke dijagnoze. Drukčije rečeno, mogu se dobiti lažno pozitivni nalazi (nađen mikroorganizam koji *nije* izazvao infekciju), lažno negativni nalazi (nije nađen mikroorganizam koje je izazvao infekciju), produžava se vreme trajanja laboratorijske dijagnostike (pacijent pati, mogućnost fatalnog ishoda, nervozni vlasnici, reputacija veterinara...), ukoliko se radi o čitavom leglu mogući su i veliki ekonomski gubici, pa na kraju svega i sudski sporovi. U interesu je i veterinara kliničara i mikrobiološke laboratorije da se izbegnu svi nabrojani neželjeni efekti koji su posledica lošeg načina uzorkovanja.

Normalna mikrobiološka flora – mikrobiom

Termin *normalna* ili *fiziološka flora* odnosi se na bakterije koje naseljavaju neke delove organizma životinja i ljudi, i tu su permanento prisutne (koža, nos, ždrelo, debelo crevo, slepo crevo, genitalni organi). Novi naziv za fiziološku floru je *mikrobiom*. Određene vrste kvasaca su takođe pripadnici mikrobioma (*Candida albicans*), dok se virusi ne smatraju pripadnicima mikrobioma, mada mogu da budu prisutni kod jedinki sa asimptomatskom infekcijom. Broj i vrsta mikroorganizama mikrobioma razlikuje se u zavisnosti od regije organizma, od vrste životinje i njenog načina ishrane (mesojedi, biljojedi, svaštojedi), ali i od starosti jedinke (sisinčad, odrasle jedinke). Kada se sadržaj creva odraslog čoveka u potpunosti očisti od fecesa, crevnih sokova, epitelnih ćelija i drugog detritusa, ostaje čistih 1,2 kg mikroorganizama! Ili u 1 gramu fecesa čoveka živi oko milijardu bakterija. Ovde neće biti reči o tome koje su funkcije mikrobioma, samo će biti nabrojane regije koje normalno sadrže mikroorganizme (Tabela 1). Ti mikroorganizmi su ili saprofiti (nikada ne izazivaju bolest), ili su u većem broju slučajeva oportunistički patogeni vrste, koje izazivaju oboljenja samo onda kada za to dobiju priliku (reč „oportunistički“ izvedena je od engleske reči

„oportunita“ što znači „mogućnost“). Tako je na primer *E. coli* normalno prisutna u crevima kod ljudi, gde ne izaziva nikakve smetnje, naprotiv, korisna je. Međutim ako *E. coli* iz lumena creva pređe u tkiva ili organe gde joj nije mesto, izazvaće ozbiljna oboljenja. Najbanalniji primer je prodor *E. coli* u urinarni sistem i uzrokovanje zapaljenja bešike (*cystitis*), što je banalna infekcija. Drastični primeri su izlazak *E. coli* iz lumena creva u peritonealanu šupljinu prilikom traumatskih povreda i posledična pojava peritonitisa ili septikemije. Zašto je potrebno da sve ovo kliničaru znaju? Kada se u mikrobiološku laboratoriju dostave uzorci uzeti iz regija tela na kojima normalno žive mikroorganizmi, tada je mikrobiološka interpretacija rezultata značajno teža. Mikrobiolog treba da proceni da li su prisutni oportunistički patogeni mikroorganizmi zaista i doveli do infekcije ili nisu. Mnogobrojni su faktori na osnovu kojih se donosi definitivni mikrobiološki zaključak, međutim, jedan od značajnijih pokazatelja toga da li je prisutni mikroorganizam i izazvao infekciju jeste dominacija jedne vrste (uzročnik infekcije je prisutan u mnogo većem broju u odnosu na druge prisutne mikroorganizme, ili je prisutan u čistoj kulturi – nema drugih vrsta mikroorganizama, potisnuti su). Međutim, ako prilikom uzimanja uzorka iz regije koja je normalno naseljena mikroorganizmima, kliničar dodatno kontaminira uzorak, ili ga čuva nepravilno, narušiće se broj i odnos prisutnih mikroorganizama u uzorku. To će mikrobiologu onemogućiti preciznu procenu toga šta se tu događa: da li je neka od prisutnih vrsta mikroorganizama izazvala infekciju ili nije. Posledica je pogrešna mikrobiološka dijagnoza, a to ne žele ni kliničar, ni pacijent. Tipičan primer je uzimanje brisa tonzila od životinje. Ako u pokušaju da brisom dodirne krajnike kliničar nehotice ili nepažnjom dotakne unutrašnje strane obraza ili jezika, mikrobiološka flora jezika i obrazina će u potpunosti da prerastu i maskiraju mikroorganizme sa tonzila (na unutrašnjim stranama obraza živi oko 600 vrsta bakterija). Posledično, uslediće nalaz da u materijalu nije ustanovljeno prisustvo patogenih mikroorganizama. Druga vrsta problema je što je u takvim slučajevima kliničar nezadovoljan mikrobiološkim nalazom i smatra da je laboratorija loše odradila analize, a mikrobiološka laboratorija se brani činjenicom da je materijal nepravilno uzorkovan, odnosno dodatno kontaminiran. Neke humane mikrobiološke laboratorije, iz preventivnih razloga, svaku očiglednu kontaminaciju uzorka izveštavaju u rezultatima kroz određene napomene. Na primer, ako se u uzorku urina nađu 3 različite vrste crevnih bakterija, to je siguran znak kontaminacije uzorka, a ne infekcije i tada se na rezultatima nalazi napomena: „nađen je veliki broj mešanih vrsta bakterija crevne flore – potrebno je ponoviti uzorkovanje“ i slično. Naravno, najlakši su oni slučajevi kada se u uzorku nađe striktno patogeni mikroorganizam koji se inače ne

sme naći kod zdravih životinja, tada je mikrobiološka procena mnogo lakša, jer prisustvo normalne mikroflore ne



Slika 1. Krvni agar nakon 24h inkubacije. Na podlogu je zasejan uzorak mleka uzet od kuje trećeg dana nakon porođaja. Zbog uginuća štenadi veterinar je uzeo uzorak mleka kuje kako bi se proverilo da li je uzrok uginuća neki infektivni agens koji je poticao iz mleka. Uzorak je jako kontaminiran pripadnicima mikrobioma kože – vidi se gust porast najmanje 6 različitih vrsta bakterija tipičnih za kožu. U ovom slučaju u uzorku nisu bile nađene patogene bakterije, što ne znači da ih nije bilo, postoji mogućnost da su patogeni uzročnici bili potisnuti i nisu mogli da izrastu zbog prisutnih kontaminanata.

utiče na interpretaciju rezultata. Na Slici 1 može se videti kako izgleda kontaminiran uzorak mleka uzet od kuje 3 dana nakon porođaja.

Za razliku od svega do sada rečenog, određeni organi i regije su sterilni, i uvek moraju biti sterilni. To su krv, parenhimatozni organi (jetra, slezina, bubrezi) i nervni sistem (likvor). U krvi se ponekad mogu naći mikroorganizmi takozvane *tranzitne* (prolazne, naletne) mikroflore, ali to je u ovom slučaju nebitna činjenica. Dakle, bilo koji oportunistički patogeni mikroorganizam ako se nađe u krvi, likvoru ili parenhimatoznim organima, smatra se *uzročnikom infekcije* i obavezno se prijavljuje u mikrobiološkim rezultatima. Ne postoji mogućnost da mikrobiolog razazna da li je prisutna vrsta kontaminant ili je „pravi“ uzročnik infekcije, čak i ako se radi o saprofitnim vrstama, jer su zabeležene septikemije kod imunokompromitovanih ljudi izazvane saprofitima. Dakle, u primarno sterilnim regijama SVAKI MIKROORGANIZAM smatra se uzročnikom infekcije. Stoga je izuzetno važno da kliničar ne kontaminira uzorke iz primarno sterilnih regija tela, jer će dobiti lažno pozitivan nalaz. Osim toga, kontaminacija uzoraka poreklom iz primarno sterilnih regija može da dovede do veoma delikatnih i neprijatnih situacija, što je naročito često izraženo u humanoj medicinskoj praksi. Tipičan primer su slučajevi oboljenja centralnog nervnog sistema kod ljudi. Ako osoba ima

Tabela 1. Pripadnici fiziološke flore (mikrobioma) i njihova anatomska lokalizacija u organizmu domaćina (životinja i ljudi)

Anatomska lokalizacija	Vrsta mikroorganizama
Koža	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Bacillus</i> vrste, neke <i>Streptococcus</i> vrste, <i>Enterococcus</i> vrste, <i>Candida albicans</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Corynebacterium</i> vrste, <i>Aspergillus</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Penicillium</i> , itd. Kod životinja i razne <i>Enterobacteriaceae</i> koje potiču iz okoline.
Nos	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Streptococcus</i> vrste, <i>Moraxella</i> vrste, <i>Pasteurella</i> vrste, <i>Corynebacterium</i> vrste, razne vrste plesni, itd.
Usta	Nekoliko stotina vrsta bakterija uključujući i anaerobne bakterije (<i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Actinomyces</i> , itd.)
Ždrelco	Alfa hemolitične (viridans) streptokoke, <i>Moraxella</i> vrste, <i>Pasteurella</i> vrste, <i>E.coli</i> i druge <i>Enterobacteriaceae</i> (životinje u igri svašta stavljaju u usta, loptice i granje sa zemlje itd).
Debelo crevo (sadržaj)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , itd.
Vagina i prepucijum	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Bacillus</i> , itd.

nervne simptome i sumnja se na zapaljenje mozga ili tumor na mozgu, da bi se isključila infekcija mora se uzeti uzorak likvora (cerebrospinalne tečnosti) i poslati na mikrobiološku analizu. Vađenje likvora je vrlo neprijatna, bolna i invazivna intervencija. Ukoliko se u mikrobiološkoj laboratoriji iz likvora izoluje neki mikroorganizam, on se smatra i uzročnikom infekcije, jer je likvor primarno sterilna tečnost. Odmah se radi i antibiogram i izveštaj se šalje pacijentu, odnosno kliničaru. Kliničar uključuje antibiotik po antibiogramu, ali šta ako nema ozdravljenja? Da li je pronađen mikroorganizam bio kontaminant? Čija je greška? Ko nije oprao ruke? To se može proveriti samo ponavljanjem uzorkovanja koje je, kako je rečeno, bolno i opasno. Pacijenti će sigurno negodovati, jer je u pitanju maltretman, naročito ako se radi o deci. Ako za ponovljeni uzorak od istog pacijenta iz mikrobiološke laboratorije stigne negativan nalaz (*uzorak likvora je sterilan*), a pacijent pri tome ima identične simptome, ili mu se klinička slika još i više pogoršala, to znači da je prethodni uzorak bio kontaminiran i da se uopšte i ne radi o infektivnom procesu. Pacijenti u takvim slučajevima imaju pravo da podnesu krivičnu prijavu protiv klinike. Ne samo što je pacijent pretpreo bolno uzorkovanje 2 puta, nego je i izgubio na vremenu, jer je prvobitno postavljena dijagnoza bila netačna.

Opšti principi uzimanja uzoraka za mikrobiološki pregled

1) Uzorci se uzimaju isključivo pre početka antibiotske terapije.

Iako će većina čitalaca tvrditi da je ovo dobro poznata i logična stvar, te da se naglašavanjem ovog pravila vređaju percepcija i znanje čitalaca, u praksi se pokazuje da nije tako. Može se reći da je u Srbiji ovo ozbiljan i vrlo zastupljen problem. Koji su to razlozi da kliničari ipak uzmu uzorak od životinje koja je već pod antibiotikom? Najčešće se ispostavi da veterinari nisu ni znali da je pacijent lečen. Najveći problem su „šetajući pacijenti“, odnosno životinje koje se leče najpre kod jednog, pa onda kod drugog, pa trećeg, itd. veterinara. Ne ulazeći detaljnije u razloge zbog kojih vlasnici menjaju veterinare (drugo mišljenje, životinji nikako nije bolje, cene usluga, itd.), „prvi“ veterinar, ako nije uzeo uzorak za mikrobiologiju, sigurno je stavio životinju na terapiju antibiotikom. Kada vlasnik promeni veterinara, često „krije“ da je životinja već pod lekom. Nisu retki slučajevi da vlasnici dođu kod novog veterinara i otvoreno kažu da je životinja pod antibiotikom, ali zbog rivaliteta između veterinara i njihovih neraščišćenih međuljudskih odnosa, novi veterinar uzima bris da bi namerno ukazao vlasniku na grešku koju je učinio prethodni veterinar koji je „zaboravio“ da uzme bris, i to uprkos zabezegnutim izrazima lica vlasnika koji i sami znaju da je to nepravilno (vlasnici se posle požale osoblju u laboratoriji). Nisu retki slučajevi da vlasnici sami daju antibiotike ljubimcima, a kada izostane terapijski uspeh uplašeni dovode životinju kod veterinara i prećutkuju da je antibiotik već apliciran. Ponekad sami veterinari uspaničeni teškom kliničkom slikom posegnu najpre za antibiotikom, a onda se naknadno sete da bi trebalo uzeti i bris. Osim toga i platežna moć vlasnika ima značajnog uticaja – ako vlasnik ne može da plati mikrobiološku analizu, veterinar empirijski uključuje antibiotik, pa tek ako nema efekta vlasnik ipak nalazi novac i za mikrobiološki pregled, itd. Ne mora se raditi samo o antibiotiku, može biti reči i o nekom dezinficijensu, naročito kod oboljenja kože, očiju i ušiju (borna kiselina, hlorheksidin, jod). Sve ove nabrojane situacije nisu problem samo između kliničara i vlasnika, već se itekako tiču i mikrobiološke laboratorije, evo zašto. Ukoliko je uzorak uzet *nakon* aplikacije antibiotika ili dezinficijensa, rezultati će biti negativni (sterilan bris, nema prisutnih mikroorganizama). Ovo često otvara neslaganja između kliničara i same mikrobiološke laboratorije, kliničari umeju naporno da insistiraju na tome da je „nemoguće da u brisu nema ničega“ prebacujući pri tome težište greške na mikrobiološku laboratoriju. Potrebno je znati da ako je na brisu prisutna bakterija ona će *neminovno* da izraste na

hranljivoj podlozi. Ako na hranljivim podlogama ne izraste ništa, dakle nema prisutnih mikroorganizama na brisu, ili je njihov rast nečim inhibiran. Mikrobiolog ne može da izmisli mikroorganizme. To „nešto“ što inhibira rast najčešće su antibiotici ili dezinficijensi. Jedini slučaj gde antibiotik neće ometati mikrobiološku analizu jeste kada je uzročnik rezistentan na primenjeni antibiotik.

1) Oprati i dezinfikovati ruke pre i posle uzorkovanja.

Ako ne operu ruke pre uzorkovanja, kliničari nehotice mogu da kontaminiraju uzorke mikroorganizmima sa svojih ruku. Kontaminanti na rukama mogu poticati i sa prethodnih pacijenata ili instrumenata. Ova „napomena“ o obaveznom pranju ruku nije kritika i nije usmerena na nekakvu „ličnu“ higijenu samih kliničara. Može se dogoditi da kliničarima u ambulantom bude velika gužva i buka, naročito ako postoje hitni slučajevi i ako su prisutni uspaničeni vlasnici veterinar u žurbi i nervozi, može jednostavno zaboraviti da opere ruke. Cena toga je netačan mikrobiološki rezultat. Ovo se češće događa kada vlasnici sami uzimaju uzorke za laboratoriju.

1) Uzorkovani materijal mora biti smešten u sterilnu posudu.

Zanimljivo je da u Srbiji kod vlasnika ljubimaca, ali i nekih kliničara, postoji praksa da kada nemaju sterilan bris pri ruci umesto toga koriste štapiće za čišćenje ušiju koji se kupuju u samoposlugama. Ti štapići *nisu sterilni* i na sebi nose mikroorganizme sa mašina i radnika koji su ih pakovali. Osim toga, nakon uzimanja „brisa“ vlasnici te štapiće pakuju u kesice za zamrzivač koje takođe *nisu sterilne*. To je nedopustivo uzorkovanje i laboratorija bi trebalo da odbije takve uzorke. Dakle, bris mora biti sterilan i mora biti spakovan u svoje sopstveno pakovanje koje je takođe sterilno. Sve ambulante bi uvek morale biti uredno snabdevene dovoljnim količinama sterilnih briseva. Isto važi i za druge vrste uzoraka. Urin ne mora neminovno biti uzet u čašicu za urin koja je kupljena u apoteci, može i u flašicu od sirupa, čašicu od senfa, teglicu ili slično, ali te posude moraju dobro biti oprane deterdžentom, isprane vrelom vodom i dezinfikovane alkoholom koji pre uzorkovanja mora skroz da ispari. U protivnom, u mikrobiološkoj laboratoriji izrašće mikroorganizmi iz senfa ili kupatila, i slično tome. Ovo je naročito izraženo u terenskoj, seoskoj veterinarskoj praksi, kod uzimanja uzoraka mleka od krava sa mastitisom. Na toj vrsti terena kliničari često pribegavaju improvizacijama koje su ok ako se postupi na način kako je opisano.

Što se tiče gradske veterine tj. male prakse, smešne improvizacije i teške greške se događaju gotovo isključivo kada veterinari prepuste uzorkovanje vlasnicima, pa se vlasnici sami snalaze da pronađu posude za uzorkovanje i uzmu materijal. **Najbolji način da kliničar promaši mikrobiološku dijagnozu jeste taj da prepusti vlasniku da sam uzorkuje materijal od životinje.**

1) Posuda mora biti dobro zatvorena da ne dođe do kontaminacije.

Kako je već rečeno, ako je veterinar prepustio vlasniku da sam uzme i donese uzorak u laboratoriju, događalo se da uzorci urina budu doneti u otvorenim teglama, jer vlasnik nije mogao da nađe poklopac. Ozbiljni kliničari će samostalno izvršiti uzorkovanje (i to će naplatiti) I NIŠTA neće prepustiti vlasniku.

a) Uzorak mora što pre da stigne u laboratoriju (za 1-4h).

Ukoliko nisu u transporthnom medijumu, mikroorganizmi „na suvom“ vrlo brzo umiru. Kliničari najčešće nemaju vremena da odmah odnesu bris u laboratoriju, pre toga odrade sve pacijente koji su na redu, a to se najčešće završi uveče, na kraju radnog vremena. Nisu retke situacije da veterinarima brisevi prenoće u fizideru ili na radnom stolu. Tokom tog vremena, bez vode i hranljivih materija, bakterije u potpunosti propadaju. Naročito brzo propadaju gljivice koje ne trpe isušivanje. Sledeće netačan mikrobiološki rezultat i svi problemi koji idu sa tim. Ako kliničar pri sebi nema bris sa transportnom podlogom, može da ubaci u epruvetu od brisa (tj. u ležište od brisa) nekoliko mililitara sterilnog fiziološkog rastvora u koji će biti potopljen sam bris. To je opravdan način samo onda kada nema drugog rešenja. Najcivilizovaniji način da se izbegne isušivanje uzorka je da se bris potopi u transportni medijum (detalji će biti opisani u daljem tekstu).

b) Do stizanja u laboratoriju uzorak se drži na temperaturi od 4°C

Time se sprečava da se bakterije razmnožavaju u uzorku koji je uzet. Ovo se naročito odnosi na punktate, urin i feces. To su sredine pune vode i hranljivih materija i veoma su pogodne za razmnožavanje bakterija. Na primer, prisustvo u bakterija urinu u broju od samo 1-10 bakterije/ml urina je daleko od infekcije, to je samo

kontaminacija. Stajanjem urina na sobnoj temperaturi tokom 2-3h, ovaj početni broj može se pretvoriti u ozbiljnih milion bakterija/ml, što se tumači kao jaka infekcija i time će nalaz biti pogrešno interpretiran, naravno na štetu pacijenta i reputacije kliničara. Osim potpuno promašene mikrobiološke dijagnoze koja kliničara i pacijenta može da odvede u ćorsokak, ovo je naročito sporno kada su životinje zdrave pa se uzorci uzimaju radi nekakve rutinske kontrole ili su već lečene antibiotikom, pa se uzima kontrolni uzorak (kada se očekuje negativan mikrobiološki nalaz). Mikrobiološka laboratorija može na neki način da ustanovi kontaminaciju, ali ne uvek. U mikrobiološkoj laboratoriji se u uzorku uvek nađe ono što je prisutno i u broju u kome je prisutno. Važno je da u uzorke ne dospeju novi mikroorganizmi (kontaminacija) i da se broj i međusobni odnos prisutnih mikroorganizama ne poremeti (nepravilno čuvanje uzoraka).

Pravi uzorak u pravo vreme

Pravi uzorak

Uzorak mora da odgovara vrsti oboljenja na koje se sumnja. Kod sumnje na pneumoniju, uzorak je sputum, ne pljuvačka, ne bris grla! Kod sumnje na tonsilitis, uzorak je bris krajnika, ne bris korena jezika, ne bris mekog nepca. Beta-hemolitični *Streptococcus canis* koji izaziva gnojno zapaljenje krajnika, nalazi se striktno na krajnicima, nema ga na nepcu, unutrašnjim stranama obraza, na korenu jezika. Nekada je ovo pravilo teško ispoštovati zbog agresivnosti životinje. Mačke su naročito neprijatni pacijenti za precizan bris grla. Agresivne velike, snažne rase pasa takođe. Česta slika po srpskim veterinarskim ambulancama je da veterinar nema tehničara tj. nema pomoć oko fiksacije životinje, u takvim uslovima, mala je verovatnoća da će biti uzet pravi bris – životinja se migolji, i u tom pomeranju brisom se nehotično dotiče sve drugo što ne bi trebalo.

Tipično i obavezno za farmsku i veliku veterinarsku praksu, a samo u manjoj meri za kliničku praksu pasa i mačaka jeste *obavezno postavljanje sumnje na konkretno oboljenje*. Kod sistemskih oboljenja, naročito kada je zahvaćen veliki broj životinja i kod velikog broja smrtnih slučajeva, u laboratoriju se šalje uzorak unutrašnjih organa, ili čak i celog leša (ptice), ali u *uputu mora biti naglašeno na šta konkretno se sumnja*. Tada laboratorija traži samo onog uzročnika na koga se sumnja. Od preko 800 registrovanih patogenih mikroorganizama, laboratorija nema vremena da traži svakog posebno, niti tu analizu iko može da plati. To je najveći problem kod uzorkovanja u slučajevima ozbiljnih oboljenja i zoonoza: znanje i iskustvo

veterinara. Veterinar mora da zna koji mikroorganizam izaziva koja oboljenja i kakvi su simptomi tih oboljenja, da bi tako mogao i da postavi sumnju. Ako veterinar ne zna šta je moglo izazvati kliničku sliku kod njegovog pacijenta, on onda ne zna na šta da posumnja. Takvi uzorci, bez uputa su nesvrshodni. Šta da se traži? Koji uzročnik? Tuberkuloza? Bruceloza? Antraks? U uzorku može biti prisutno bilo šta, a svaki od zoonoznih uzročnika ima svoj poseban protokol izolacije. Kod pasa i mačaka sumnja najčešće nije neophodna, radi se o relativno malom broju bakterija koje se mogu naći u uzorcima koji se uzimaju od ovih vrsta životinja.

Pravo vreme

Ovaj deo se odnosi na sporne situacije kod *post mortem* uzimanja uzoraka, pogotovu ako se sumnja na anaerobne infekcije. Samo 5 sati nakon smrti životinje anaerobni uzročnici iz creva (*Clostridium* vrste uključujući *Clostridium tetani* i *Clostridium botulinum*, čije se spore normalno mogu naći u fecesu kod biljojeda i svaštojeda) isključavaju, razmnožavaju se i šire po lešu. Nije neobičan nalaz *Clostridium perfringens*-a u mozgu mrtve životinje samo 5-8 sati nakon njene smrti trovanjem ili zbog pada (neinfektivni razlozi). Zato se savetuje oprez kod uzorkovanja materijala od uginulih životinja. Ako je leš stariji od 5 sati, ne uzorkovati ništa, sve bakterije iz creva su se prenamnožile i proširile, kontaminacija može biti tolika da potpuno onemogućiti rad u laboratoriji. Najbolje je uzeti uzorke odmah nakon smrti životinje. U seoskim uslovima i na farmama, kada je vidljivo da životinja neće preživeti infekciju, pacijent se namerno žrtvuje radi kvalitetnog uzorkovanja.

Brisevi

Brisevi su *najneadekvatnija* vrsta uzoaka u mikrobiologiji. Uzimaju se kod infekcija grla, nosa, oka, uha, kože, rane, prepucijuma, glans penisa, vagine, cerviksa, apscesa.

Vrlo su česte greške vezane za briseve (loše uzet bris zbog agresivnosti životinje, velika mogućnost isušivanja, česta kontaminacija, neravnomerna raspoređenost bakterija u tkivu, dotaknuto pogrešno tkivo, itd.). Uprkos tome, brisevi su najčešća vrsta mikrobioloških uzoraka. Najveći problem kod uzimanja briseva jeste brzina kojom ih kliničar uzima i neravnomerna raspoređenost bakterija u tkivu. Što se brzine tiče, prebrzo uzimanje briseva za posledicu ima to da se na brisu ne nađe ni jedan mikroorganizam. Bris se ne sme uzeti tako što se samo površno i prekratko dotakne tkivo koje je inficirano.

Naprotiv, potrebno je nekoliko puta preći brisom preko inficirane površine. Drukčije rečeno, bris se mora uzimati relativno polako, odnosno dugo, makar 5 sekundi. Posebno ako se radi o ranama, treba pustiti da se bris natopi gnojem, limfom tj. "sokovima" iz rane. Kada se radi o neravnomernoj raspoređenosti bakterija u tkivu najveći problem su krajnici. Gnojni čepovi koji se pojavljuju kod gnojne angine neravnomerno su raspoređeni po krajnicima, nekada ih ima samo na jednom krajniku, ne na oba. Sve zavisi koji je krajnik dotaknut brisom i u kojoj meri. Kliničar treba dobro da osmotri gde se tačno nalaze promene, nekada je prisutan samo jedan gnojni čep na jednom mestu jednog krajnika, brisom se precizno prelazi preko tog mesta. Dakle, može se dogoditi da se brisom i ne dotakne mesto na kome se nalaze bakterije – uzročnici bolesti.

Kod briseva kože, suvim brisevima se ne smeju uzimati uzorci sa suvih promena na koži. Potrebno je prethodno bris natopiti sterilnim fiziološkim rastvorom.

Kod genitalnih briseva (posebno kod ženskih životinja i žena) definitivni mikrobiološki nalaz se ne sme izdati bez prethodnog razmazivanja brisa po pločici, bojenja i mikroskopiranja. Konačni mikrobiološki nalaz se značajno bazira i na nalazu mikroskopskog preparata – traži se prisustvo i broj neutrofilnih granulocita, prisustvo i broj laktobacila, kod ljudi i prisustvo *Trichomonas vaginalis* ili *Neisseria gonorrhoeae* koji se ne mogu izolovati na standardnim hranljivim podlogama. Pa se tek onda gleda i porast na hranljivim podlogama. Upoređivanjem ova dva nalaza, izdaje se konačni mikrobiološki nalaz. U tom smislu, pitanje je šta prvo uraditi: zasejati genitalni bris na hranjive podloge – nakon toga ne ostaje ništa za mikroskopski razmaz, ili prvo razmazati brisom po pločici i značajno smanjiti broj bakterija i pri tome kontaminirati sam bris. Naravno, prvo se zasejavaju hranjive podloge, ali baš zbog ovoga u državama EU i SAD obavezno je uzimanje parnih, ili čak i trostrukih briseva kod pregleda genitalnih organa.

Za pregled fecesa na prisustvo bakterija (*Salmonella*, *Shigella*, i sl.) kliničari često uzimaju rektalni bris, jer ne mogu da čekaju da životinja defecira. Rektalni bris je neprihvatljiv uzorak za ispitivanje na prisustvo *Salmonella* vrsta – Salmonele se ne mogu detektovati u brisu. MORA se uzeti najmanje 5 grama fecesa, a od krupnijih životinja 45 grama. Iako isto pravilo važi i za humanu praksu, u humanim laboratorijama rektalni brisevi uzeti od bolesnih ljudi biće obručke prihvaćeni iz čisto komercijalnih razloga (svaki dinar je dobrodošao). Isto je ako se sumnja na anaerobne uzročnike – ako se ne koristi transportni medijum za anaerobe, kiseonik će za manje od 15 minuta ubiti sve anaerobne vrste na brisu, umesto toga mora

se uzeti feces, u unutrašnjosti uzorka fecesa anaerobne bakterije su zaštićene od delovanja kiseonika.

Što se tiče rana, bilo da su one nastale kao posledica traume ili su posledica hirurških intervencija, bris drena ili katetera umesto brisa rane neprihvatljivo je rešenje. Kateteri i drenovi su u gotovo 100% slučajeva kontaminirani i bris katetera daće pogrešan nalaz. Kontaminanti "prerastu" prave uzročnike infekcije i oni ostanu nedetektovani. Mora se uzeti bris rane koliko god to bolelo životinju, a ako se u kolektoru sakuplja eksudat uzimanje bilo kakvog uzorka IZ kolektora je neprihvatljivo, potrebno je naći drugi način da se eksudat uzme pravilno (direktno u mesto gde se pojavljuje eksudat).

Bris nosa za sinusitis je takođe relativno neadekvatan uzorak kod životinja zbog prejake kontaminacije. Životinja stalno njuškaju po tlu, logičan je nalaz bakterija sa zemlje i iz okruženja u nosu životinje. U tom smislu, bris nosa je vrlo neprijatan uzorak za mikrobiologe, UVEK ima kontaminanata u velikom broju. Ako se traži uzročnik sinusitisa, brisom je potrebno ući mnogo dublje u nosne hodnike. U humanoj praksi, kod teških zapaljenja sinusa, maksilofacijalni hirurzi (stomatolozi) uzimaju briseve nosa dubokim, potpunim zavlacenjem brisa u hoane dok god prsti lekara koji drži bris ne dodirnu nozdrve pacijenta. Naravno, ovo može i sme da radi samo stručno, obučeno lice. Tako su brisevi nosa kod životinja, statistički najčešće negativni na prisustvo patogenih mikroorganizama, uprkos upadljivim simptomima. Eventualno prisustvo obilnog iscetka iz nosa može doprineti uspešnoj izolaciji uzročnika.

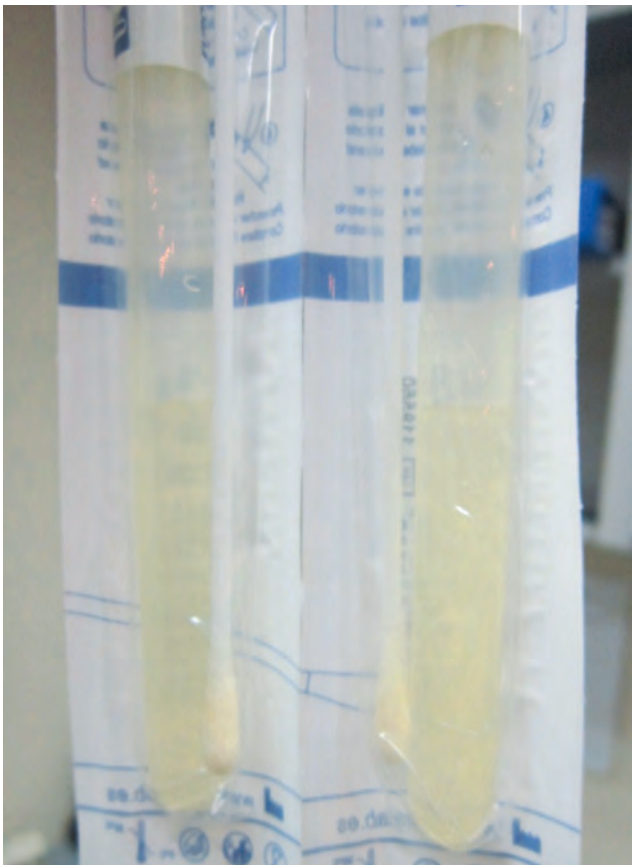
Što se tiče brisa oka kod konjunktivitisa strogo treba paziti da se prilikom uzimanja brisa dotakne samo konjunktiva. Ni slučajno se ne smeju dotaći trepavice ili koža na spoljašnjoj strani kapka, jer tu žive bakterije koje su normalni deo mikrobioma kože, ali isto tako su mogući uzročnici konjunktivitisa. Mikrobiolog će nalaz tih bakterija prijaviti kao da su uzročnici zapaljenja, a možda je samo kontaminacija sa trepavica!

O brisevima se može još puno toga reći, ali su ostale stvari vezane uglavnom za veliku praksu. Potrebno je napomenuti na kraju ovog dela teksta da se danas na tržištu (uključujući i srpsko tržište) mogu naći razni brisevi sa transportnom podlogom u koju se potapa štapić. To je najelegantniji i najbezbedniji način uzimanja brisa. Transportni medijumi u sebi, osim hranljivih materija i vode koji održavaju bakterije vijabilnim, sadrže i konzervans (natrijum-azid ili timerosal) koji sprečava razmnožavanje prisutnih bakterija, time se održava pravi, realni broj bakterija u brisu i njihov realni međusobni odnos. Problem je što su takozvani transportni brisevi višestruko skuplji

od običnih briseva. Osim toga, postoje brisevi sa raznim vrstama transportnih podloga, pitanje je šta kliničaru treba. Na primer: najširu primenu imaju transportni brisevi sa *Amies* i *Stewart* transportnim medijumima, oni su za sve aerobne bakterije, a dobro služe i za anaerobe. *Cary-Blair* transportni medijum se upotrebljava za koprokulture,



Slika 2. Specijalni bris za *Chlamydia* vrste sa transportnom podlogom. U pakovanju su dva brisa, zavisi odakle se uzima uzorak, manji bris je namenjen za uzimanje uretralnih briseva.



Slika 3. Transportni bris sa *Amies* transportnim medijumom – transportna podloga za široku upotrebu.

naročito ako se sumnja na prisustvo *Campylobacter* vrsta. Takođe se mogu naći posebni brisevi sa transportnim podlogama za *Mycoplasma* vrste i *Chlamydia* vrste, ali su namenjeni samo za ljude. Mada, ti brisevi su tanji (manji) nego obični brisevi jer služe za uzimanje uzoraka iz uretre, tako se mogu iskoristiti za manje vrste (rase) životinja (Slika 2 i 3).

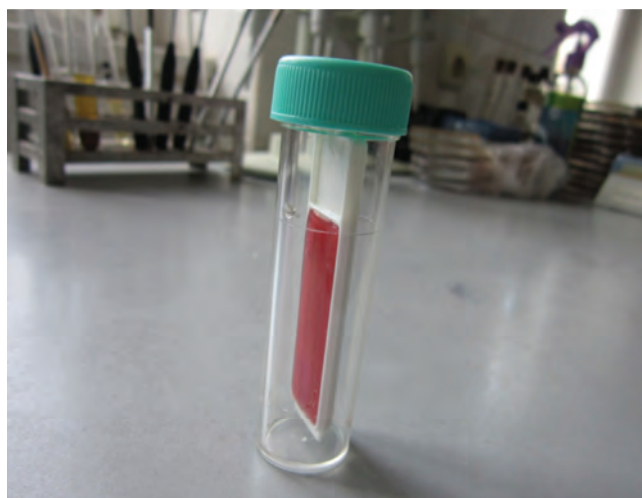
Urin

U normalnim okolnostima urin zdrave životinje je sterilan. Međutim, niži delovi uretre, kao i koža genitalija, kolonizovani su velikim brojem vrsta bakterija od kojih mnoge mogu da izazovu urinarne infekcije. Kako je urin veoma pogodna sredina za rast i razmnožavanje bakterija, adekvatno, aseptično uzorkovanje urina ima naročit značaj u odnosu na druge vrste uzoraka. *Uvek se uzima srednji mlaz urina i uzorak mora biti transportovan do laboratorije za najmanje 1 sat od momenta uzorkovanja* s obzirom na to da će eventualno prisutne bakterije nastaviti da se razmnožavaju. U suprotnom, kako je već rečeno, može da se dobije pogrešna slika o ukupnom broju bakterija po mililitru urina, a poznato je da je to veoma značajan podatak za procenu toga da li je u pitanju infekcija ili ne. *Stoga je u veterinarskoj medicini poželjnije uzorkovati urin kateterizacijom ili cistocentezom*, jer je tada znatno smanjena mogućnost kontaminacije. Osim toga, pogrešno je da veterinar dozvoli vlasniku da uzorkuje urin, jer vlasnici ne vode računa i često kontaminiraju urin tako što posudom za uzorak dotiču druge delove tela životinje.

Takođe je pogrešna praksa da se upoređuju nalazi pregleda sedimenta urina sa nalazom urinokulture. U sedimentu urina se **UVEK** vide bakterije. One potiču sa kože ili sluznica genitalnih organa i to NISU bakterije koje su izazvale infekciju. Skroz je pogrešno očekivati da, ako se u sedimentu vide koke ili štapići, da je neophodno i da nalaz uirunokulture bude pozitivan na prisustvo tih vrsta bakterija. Svakako, kada je u pitanju infekcija bešike tada će se i u sedimentu urina videti masa bakterija, ali poenta je da se ova dva nalaza ne moraju neminovno podudarati.

Osnovni problem kod urinarnih infekcija su kontaminanti. Pozanto je da je su statistički najčešći uzročnici urinarnih infekcija kod životinja i ljudi pripadnici familije *Enterobacteriaceae*, najpre *Escherichia coli*, a potom i *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* vrste, itd. Problem je što ovi uzročnici normalno nastanjuju feces i ima ih svugde gde ima fekalne kontaminacije (ulice, tlo, itd). Jasno je da životinje kretanjem po ulicama, sedenjem i ležanjem na tlu, ali i prostim mahanjem repom lako razmazuju fekalne bakterije po svojoj koži i dlaci. Prilikom najopreznijeg držanja čašice za urin ispod mlaza tokom uriniranja, neke

od bakterija sa dlake mogu da upadnu u uzorak i da ga kontaminiraju, tj. maskiraju da izgleda kao infekcija. Slično tome, u humanoj mikrobiološkoj praksi su vrlo problematični uzorci urina poreklom od beba. Zbog pelena, deca STALNO imaju fekalne bakterije po genitalijama, bez obzira na higijenu. Posebno su ozloglašene kesice za uzimanje urina, one neminovno dodiruju i analnu regiju i praktično služe kao sakupljači više vrsta fekalnih bakterija, zbog čega tumačenje i interpretacija rezultata dečijih urinokultura ume da bude mučan proces. Slično je i sa gerijatrijskim pacijentima koji zbog starosti nisu u mogućnosti da se dovoljno saviju i na pravilan način uzmu uzorak, ili čak i obave osnovne higijenske radnje, kontaminacija je kod



Slika 5. Drieden čašica za urinkulturu podloga mikroorganizma.

vrlo nepopularan, jer se u njemu bakterije izuzetno brzo razmnožavaju (zbog prisustva podloge). Time se broj bakterija od momenta uzorkovanja do donošenja u laboratoriju drastično uvećava, pa urikult može da bude razlog nepreciznih i loših mikrobioloških nalaza. Osim toga, urin iz urikulta se mora na klasičan način zasejati i na hranjive podloge u laboratoriji, kako bi se odredila vrsta i precizan broj, jer na urikultu ne rastu svi uzročnici urinarnih infekcija (na primer *Streptococcus agalactiae*). Urikult daje samo *pretpostavku* o vrsti i broju bakterija, posebno ako je uleteo kontaminat, tada je urikult beskoristan. I na kraju, sa urikulta nije moguće uraditi antibiogram. Zato, bolje je urin uzeti u sterilnu, praznu, običnu čašicu za urin sa poklopcem.



Slika 4. Specijalni vakutejneri (Becton Dickinson) za uzimanje uzoraka urina za urinokulturu (sprečava se nepoželjno razmnožavanje bakterija tokom stajanja urina do dospeća u laboratoriju).

takvih pacijenata redovna stvar. U veterinarskoj praksi jaka kontaminacija urina se događa prilikom uzimanja uzoraka od paralizovanih pacijenata.

U skorije vreme su se na tržištu pojavili vakutejneri za uzimanje urina za urinokulturu. To nisu vakutejneri u pravom smislu te reči, didaktički se tako nazivaju jer liče. To su obične epruvetice sa poklopcem koje u sebi sadrže konzervans (natrijumovu so borne kiseline), pa se tako sprečava razmnožavanje bakterija. Ovi vakutejneri mogu da se nađu i na našem tržištu (Becton Dickinson, Slika 4).

Takođe je poznato da se u apotekama mogu kupiti specijalne čašice za urinokulturu, takozvani „urikult“ (Slika 5). U tim čašicama se nalaze hranjive podloge, *MacConkey agar* (roze podloga za procenu vrste i broja Enterobakterija) i *Cled agar* (zelena podloga za procenu prisustva *Enterococcus* vrsta). Novije verzije urikulta imaju i treću podlogu za detekciju kvasaca. Urikult se mora potopiti u čašicu (sterilnu) sa urinom. To je svakako nepotrebno komplikovanje uzorkovanja urina. Iako će svaka mikrobiološka laboratorija bezuslovno primiti urin

Sputum

Za izolaciju uzročnika infekcija donjih delova respiratornog trakta, jedini prihvatljiv uzorak je sputum, posebno ukoliko se sumnja na *Mycoplasma* vrste. Realnost je da u najvećem broju slučajeva od životinje nije moguće uzeti ovu vrstu uzorka. Jedina prihvatljiva zamena za sputum je transtrahealni aspirat (ukoliko je uzet na adekvatan način). Bez obzira što kod slučajeva pneumonije životinje često mogu da imaju i obilan iscedak iz nosa, bris nosa nije dobra zamena za sputum i nije adekvatan uzorak za uzročnike pneumonije. Razlozi za to već su opisani (prisustvo velikog broja kontaminanata). Ako se sumnja na prisustvo *Mycoplasma* vrsta, sputum ODMAH mora u laboratoriju i ne sme se držati u frižideru.

Feces

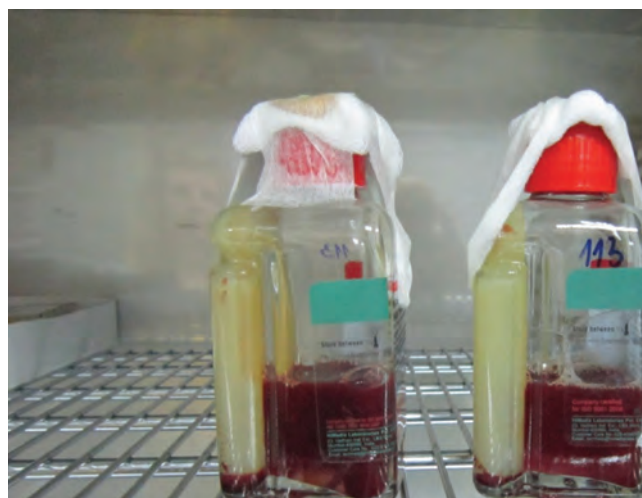
Za postavljanje tačne etiološke dijagnoze infektivnih dijareja, uzorci fecesa treba da budu uzeti u početnim fazama bolesti. Za najveći broj uzročnika proliva kod životinja, rektalni bris je neprihvatljiv uzorak. Feces i urin se ne smeju mešati. Feces se ne sme uzorkovati sa

pada ili zemlje. Ukoliko se sumnja na infekciju *Salmonella* vrstama potrebno je uzorkovati najmanje 5 grama fecesa poreklom od malih, odnosno 45 grama fecesa od velikih životinja. Uzorak fecesa se mora dostaviti u laboratoriju u roku od 4 sata nakon uzorkovanja. Ukoliko se sumnja na prisustvo *Campylobacter* ili *Clostridium* vrsta, feces se mora dostaviti najkasnije za 1 sat u laboratoriju, u suprotnom, mora se koristiti transportni medijum. Mnoge uzročnike proliva kod životinja nije moguće izolovati iz fecesa, već je za postavljanje dijagnoze potrebno poslati deo creva sa sadržajem, ali to je već pitanje rada sa velikim životinjama (dizeneterija svinja, hemoragični proliv svinja, itd). Ako se sumnja na prisustvo *Clostridium* vrsta, feces se ne sme ostavljati u frižideru, jer klostridije propadaju. Najjasniji znak da je veterinar uzeo uzorak fecesa od životinje koja je već pod antibiotikom je izostanak rasta bakterija tj. sterilna podloga nakon inkubacije! Bez obzira na vrstu oboljenja, u fecesu uvek dominira *E.coli* i ona MORA da se pojavi na podlogama. Ovo može da bude pokazatelj namernih pokušaja prikrivanja prisustva uzročnika od strane vlasnika ili veterinara i to je česta radnja u živinarstvu (pokušaj maskiranja prisustva *Salmonella* vrsta).

Krv i krvni serum

Puna krv se uzima kod sumnje na septikemiju. Neobično je važno da se pre vađenja krvi koža životinje na mestu vađenja ošiša i dezinfikuje. Krv ne sme da se zgruša nakon vađenja, jer u protivnom ne može biti adekvatno zasejana na hranljive podloge. Stoga je obavezno dodavanje antikoagulanasa. Natrijum citrat i EDTA nisu prihvatljivi antikoagulansi, jer imaju izraženo antibakterijsko delovanje. Heparin takođe inhibiše rast nekih gram-pozitivnih bakterija i kvasaca, ali je pogodan ukoliko se puna krv šalje na virusološku analizu. Najpogodniji antikoagulans je *natrijum polietanol sulfonat* i na našem tržištu se mogu naći vakutejneri koji sadrže upravo ovu supstanciju. U srpskim uslovima kliničari često donesu krv u špricu kojim je krv izvađena. Oni snalažljiviji, odmah skinu iglu nakon vađenja i na plamenu zatope vrh šprica. Ukoliko ostane igla, moguća je kontaminacija. Međutim, krv se na ovaj način u špricu zgruša pa laboratorija mora ili da odbije uzorak ili da pomoću mađioničarskih trikova razbija taj ugrušak kako bi krv mogla biti zasejana na hranljive podloge. Što je veći broj radnji oko krvi, to je veća mogućnost kontaminacije. U humanoj mikrobiološkoj praksi to je rešeno na vrlo praktičan način: koriste se posebne staklene boce sa podlogom za hemokulturu (Slika 6). U bocama se nalaze i tečna i čvrsta podloga. Postoje posebne boce za aerobne, posebne za anaerobne uzročnike. Odmah nakon vađenja krvi, iz istih stopa, krv se ubrizgava u te podloge. Drukčije rečeno, krv se zasejava momentalno nakon vađenja. Nema nošenja epruveta ili špriceva po autobusima i autima, nema zamajavanja sa antikoagulansima i ugrušcima. Dakle, boce sa podlogom za hemokulturu su te koje se prenose do laboratorije, slično kao i brisevi. Boce se nalaze u bolnicama i ambulancama, kada se pacijentu izvadi krv i ubaci u bocu sa podlogom, boca se donosi do laboratorije radi dalje identifikacije uzročnika i antibiograma.

Kada se krv uzima radi izdvajanja krvnog seruma



Slika 6. Podloge za hemokulturu u koje se krv zasejava momentalno nakon vađenja.

i slanja uzoraka na serološku analizu, antikoagulansi se ne smeju dodavati i krv ne sme biti izvađena u špric, već u posebne staklene bočice. Krv ne sme biti hemolizirana!

Biopsijski materijal i punktati

Za mikrobiološku analizu najpogodniji materijali su tkivo uzeto biopsijom, kao i punktati telesnih šupljina. Ove vrste uzoraka uzimaju se tako da retko dolazi do kontaminacije. Osim toga, ovi uzorci se mogu uzeti u većoj količini, što je takođe prednost pri izolaciji uzročnika. *Biopsijski materijal ne sme biti stavljen u formalin ukoliko se planira mikrobiološko ispitivanje*. Formalin je izuzetno jak dezinficijens, spada čak u sterilizante – ubija sve prisutne mikroorganizme i spore bakterija.

Prpratni akt

Pored osnovnih informacija o vlasniku, vrsti životinje i uzorku, prpratni akt mora da sadrži i informacije o starosti životinje, graviditetu, kao i o vremenu (u koliko sati) kada je uzorak uzet. Starost i graviditet su važni zbog izbora antibiotika u antibiogramu, a vreme uzorkovanja zbog procene ukupnog broja bakterija i razmatranja kontaminacije. U prpratnom aktu bi trebalo da se navedu svi podaci koji mogu da utiču na procenu mikrobiološkog nalaza.

Umesto zaključka

Ako ne zna kako da uzme uzorak ili ako nema transportnu podlogu, veterinar treba da se obrati laboratoriji sa kojom saraduje. Osooblje laboratorije mu može objasniti kako se uzimaju posebne vrste uzoraka i laboratorija mu može obezbediti transportnu podlogu ili transportne briseve.

Reference

1. Henry D. Isenberg. Clinical microbiology procedures handbook, second edition, ASM Press, USA, 2004.
2. Elmer W. Koneman et al. Konemans's color atlas and textbook of diagnostic microbiology, sixth edition, Lippincott Williams and Wilkins, USA, 2006.
3. P.J. Quinn and B.K. Markey. Concise review of veterinary microbiology, first edition, Blackwell Publishing, UK, 2003.



Zaštita na pravom mestu!

FYPRYST®

fipronil

Rastvor za lokano nakapavanje na kožu
(ATC vet kod: QP53AX15)

Efikasno deluje na



Samo za stručnu javnost

Za upotrebu u veterinarskoj medicini

Pre propisivanja leka pročitajte
kompletan sažetak karakteristika leka.

Sastav: Pipeta od 0,67 ml sadrži 67 mg fipronila. Pipeta od 1,34 ml sadrži 134 mg fipronila. Pipeta od 2,68 ml sadrži 268 mg fipronila. Pipeta od 4,02 ml sadrži 402 mg fipronila. Pipeta od 0,50 ml sadrži 50 mg fipronila. **Indikacije:** Lečenje i prevencija infestacije buvama (*Ctenocephalides* spp.) i krpeljima (*Rhipicephalus* spp., *Dermacentor* spp., *Ixodes* spp.) kod pasa i mačaka. Lečenje i kontrola alergija na ujed buva (FAD) kod pasa i mačaka. Prevencija i lečenje infestacije pavašima (*Mallophaga*) kod pasa i mačaka. **Ciljne životinjske vrste:** Psi. Mačke. **Kontraindikacije:** Pošto ne postoje podaci o upotrebi ovog leka, ne upotrebljavajte ga kod štenaca mladih od 8 nedelja ili lakših od 2 kg te kod mladunaca mačaka mladih od 8 nedelja ili lakših od 1 kg. Nemojte primenjivati ovaj lek na obolelim životinjama (sistemska oboljenja, temperatura) niti na životinjama u periodu oporavka. Nemojte koristiti na zečevima zbog opasnosti od neželjenih dejstava ili čak i smrti. Lek za pse, zbog opasnosti od predoziranja, ne upotrebljavajte kod mačaka. **Farmakoterapijska grupa:** Ektoparaziticid za lokalnu primenu. Izdaje se samo na recept veterinara. **Broj rešenja:** 323-01-122-10-001 od 05.04.2011. godine. **Datum revizije teksta:** April 2011.

KRKA-FARMA d.o.o. BEOGRAD, Jurija Gagarina 26v/II, 11 073 Beograd, Telefon 011 22 88 722, Telefaks 011 22 88 729, E-mail: belgrade@krka.biz

2011-0014615



Naše inovacije i naša znanja posvećeni su zdravlju. Naša odlučnost, istrajnost i iskustvo zajedno služe jednom cilju – razvoju efikasnih proizvoda najvišeg kvaliteta.



SIMPOZIJUM VETERINARA MALE PRAKSE
SIVEMAP 2013.
10-13. oktobar 2013.

Deseti jubilarni Simpozijum veterinara male prakse – SIVEMAP 2013. održan je u Beogradu u periodu od 10. do 13. oktobra ove godine. Kao i svake godine, delegatima su predstavljeni renomirani predavači i istaknuti stručnjaci u svojim oblastima. Ove godine Simpozijumu je prisustvovalo preko 270 delegata, od čega su skoro polovinu činili delegati iz Amerike, Francuske, Švajcarske, Nigerije, Rumunije, Bugarske i zemalja bivše Jugoslavije. Veliko zadovoljstvo bilo je videti puno mladih kolega željnih unapređenja svog znanja.

U okviru prekongresa, 10. oktobra, održana su paralelna predavanja iz oblasti veterinarske medicine egzotičnih ljubimaca i anestezije i stomatologije. Predavanja o veterinarskoj medicini reptila vodile su kolege **Marco Cavazzoni** (Exotic DVM, Italija) i **Emanuele Lubian** (Exotic DVM, Italija) i kolega iz Francuske, **Norin Chai**. Delegati koji su prisustvovali ovoj sesiji predavanja imali su prilike da steknu osnovne informacije o klasifikaciji, anatomiji i fiziologiji reptila, zatim osnove nege i kako raditi sa istima, uvid u najčešće bolesti kao i anesteziologiju i hirurgiju.

U isto vreme uvodna predavanja iz anestezije vodio je **Charles E. Short** (DVM, PhD, DACVAA, DECVA, profesor emeritus, Univerzitet Kornel, Njujork, SAD), dok je u nastavku programa **Cedric Tutt** (Diplomate EVDC, Južnoafrička republika) vodio radionicu Dentalna radiografija, nakon čega je sledio prikaz kliničkih slučajeva iz stomatologije.

Prvi dan Simpozijuma otvorio je profesor **Charles E. Short**, a teme predavanja su se odnosile na preanesteziju, injekcione i inhalatorne anestezije, upotrebu i pogrešnu upotrebu istih, kontrolu bola, balansiranu anesteziju, praćenje stanja pacijenta tokom anestezije, kao i kontrolu u kritičnim situacijama.

Istog dana, predavanje je održao i kolega **Norin Chai**, zamenik direktora i šef veterinarskog odeljenja zooškog vrta u Parizu, *Jardin des Plantes*. Prisutni delegati su imali prilike da steknu uvid u život i rad veterinara divljih životinja.

Ispred kompanije Merial, **Bruno Courta**y je održao predavanje vezano za vakcinaciju i neželjene reakcije.

Drugi dan Simpozijuma posvećen je temama iz oblasti hirurgije mekih tkiva i ortopedije pasa i mačaka. Profesor **Gilles Dupré** (dipl. ECVS), specijalista hirurgije mekih



Predsednik Udruženja, Denis Novak sa učesnicima SIVEMAP iz Nigerije: s leva na desno - Dr Abubakar Bala Muhammed, Dr Abah Grace John, Dr Aishatu - Abubakar.

tkiva sa Univerziteta u Beču, održao je predavanja koja su obuhvatala brahicefalični sindrom, laringealnu paralizu, sindrom pada mačaka sa velike visine, traumatu toraksa i disajnih puteva, ključ za uspeh u terapiji kod traume urinarnog trakta i laparoskopsku ovarijektomiju kao našu budućnost.

U nastavku dana, delegati su imali prilike da odslušaju tri predavanja iz ortopedije koja je vodio **Alessandro Piras** (DVM, MRCVS), specijalista veterinarske hirurgije. Iznete teme su se odnosile na standarde u dobroj ortopedskoj praksi, tehničke greške i kako ih izbeći, kao i na

prepoznavanje i lečenje različitih oblika hromosti prednjih i zadnjih udova.

Tema poslednjeg dana ovogodišnjeg SIVEMAP-a odnosila se na stomatologiju pasa i mačaka. Kolega **Cedric Tutt** održao je osam predavanja. Delegati su imali prilike da steknu uvid kako opremiti stomatološku ordinaciju, kako obaviti rutinski pregled i procenu usne duplje, zatim su im prezentovane tehnike vađenja zuba, manja oralna hirurgija i lokalna anestezija, kao i oralne bolesti i tumori kod pasa i mačaka, i stomatologija kod zečeva i glodara.

Istog dana, ispred generalnog sponzora Simpozijuma, kompanije Mediport, predavanje na temu *Otitis externa – Praktični pristup* održala je kolegica **Natalija Milčić**.

Uz veliku podršku kompanija Mediport, PlusPlus, Bayer, Krka, Royal Vet, Superlab i Zoo Hobby opravdana je reputacija i poverenje u kvalitet SIVEMAP-a.

Komentari delegata na predavače, kvalitet predavanja i organizaciju su bili pohvalni. Predavači su zadovoljni odzivom delegata, kao i gostoprimstvom koje Beograd pruža.

Sumirajući utiske, možemo zaključiti da je, uz dobru organizaciju i pomoć sponzora, izuzetne predavače i veliki broj, kako domaćih, tako i stranih delegata, Simpozijum protekao uspešno.

Izveštaj sastavila

Ana Stanković

Poslovni sekretar UVMPS/SASAP

UDRUŽENJE VETERINARA MALE PRAKSE SRBIJE
SERBIAN ASSOCIATION OF SMALL ANIMAL PRACTITIONERS


www.sasap.org.rs

Internacionalni projekat
The Blue Dog



Plavi Pas
Program namenjen deci
za smanjivanje rizika od psećih ujeda

Štampana brošura i CD sa interaktivnom kompjuterskom igricom
Posebna cena za članove udruženja
sasap_posta@yahoo.com
www.thebluedog.org

Sednica Izborne skupštine UVMPS/SASAP

15. decembra 2013. godine

- IZVEŠTAJ -

Sednica Izborne skupštine UVMPS / SASAP održana je 15. decembra 2013. godine u hotelu Slavija Lux u Beogradu. Pokrenuta je inicijativa i upućen poziv svim članovima kako bi se što više zainteresovanih kolega angažovalo u radu organa Udruženja. Na početku sednice konstatovan je broj prisutnih i zaključeno da postoji kvorum za donošenje odluka.

Jednoglasno su usvojeni: dnevni red, zapisnik sa prethodne sednice, izveštaj o radu i finansijski izveštaj za 2013. godinu. Usvojen je predlog izmene statuta tako što Skupština bira četiri člana Upravnog odbora, dok je predsednik Udruženja peti član i predsednik UO.

Na funkcije Udruženja izabrani su:

Predsednik Udruženja – Denis Novak

Upravni odbor – Ljubomir Ćurčin, Dimitrije Filipović, Saša Stokić, Nebojša Milivojević, Denis Novak po funkciji predsednika.

Nadzorni odbor – Ivan Rakić, Goran Cvetković, Rastko Belić.

Naučno-stručni odbor – Milica Kovačević Filipović, Olgica Ivanović, Aleksandar Spasović, Momčilo Arandžević, Nenad Milojković.

Utvrđen je plan o daljem radu, odnosu i komunikaciji Udruženja sa relevantnim strukovnim organizacijama u Srbiji i inostranstvu. Posebna pažnja posvećena je partnerima i sponzorima, odnosno veterinarskoj industriji, čija je podrška neophodna za kvalitetno organizovanje edukacija i seminara.

Projekat Plavi pas nastavlja sa radom, i u cilju razvijanja projekta rad će biti usmeren i na pronalaženje evropskih partnera.

U izradi su novi sajt, kompletiranje i potpuna automatizacija baze podataka članstva, koja će omogućiti jednostavniju i bržu registraciju na skupovima koje organizuje SASAP. Kako bi se stimulisao rad članova u izdavačkoj delatnosti UVMPS, doneta je odluka da svako čiji tekst bude objavljen 2014. godine, a član je Udruženja, dobija besplatnu kotizaciju za određenu edukaciju, dok oni koji nisu članovi dobijaju besplatnu članarinu za 2014. godinu.

Sledeća redovna Skupština se održava u martu ove godine, tada će biti podneseni izveštaji o radu, plan i program, kao i budžet za tekuću godinu.

Beograd, 04.02.2014.

Izveštaj sastavila Ana Stanković

Poslovni sekretar UVMPS/SASAP

Kalendar edukacija u 2014. godini

Udruženje veterinara male prakse Srbije sa velikim zadovoljstvom najavljuje predstojeće edukacije u 2014. godini:

9. mart 2014. godine WSAVA jednodnevni seminar Citologija u svakodnevnoj praksi

Otkrijte mogućnosti koje vam citologija pruža, saznajte kako uzeti kvalitetan uzorak, osnove interpretacije nalaza i kako izbeći propuste koje ponekad pravimo.

23-25. maj 2014. godine BVNC Beogradska Konferencija Veterinarske Neurologije 2014.

Ovaj stručni skup namenjen je veterinarima praktičarima i specijalistima neurolozima sa ciljem proširenja znanja i kompetentnosti u kliničkoj neurologiji.

Ne propustite priliku da od vodećih stručnjaka iz ove oblasti saznate najnovija dostignuća i tehnike rada, kao i pregled kliničkih tema iz svakodnevne prakse.

Kontinuirana edukacija u maloj praksi

U saradnji sa kompanijom Bayer Animal Health Care u procesu je organizacija nastavka niza edukacija koja je započeta u Smederevu prošle godine.

Očekuju vas atraktivne teme i veliki broj primera iz prakse.

SIVEMAP 2014, 2.-5. oktobar, Beograd.

Sve dodatne informacije vezano za najavljenje događaja, predavače, program predavanja i cene kotizacija možete pronaći na sajtu Udruženja www.sasap.org.rs

Napravite korak napred, podignite svoju praksu na viši nivo i pridružite nam se!

www.sasap.org.rs



BVNC Beogradska Konferencija Veterinarske Neurologije 23 – 25. maj 2014.

Hotel Crowne Plaza, Vladimira Popovića 10
Beograd, Srbija

www.sasap.org.rs



Richard A. LeCouteur

BVSc, PhD, DACVIM DECVN
Profesor Neurologije i
Neurohirurgije
Škola veterinarske medicine
Kalifornijskog Univerziteta
SAD



Marc Vandeveld

Prof. DVM, PhD
Dipl ECVN
Odelek za neurologiju životinja
Fakulteta Vetsuisse
Univerzitet u Bernu
Švajcarska



Thomas Flegel

PD Dr. M.S.Dipl. ACVIM
(Neurology)Dipl. ECVN
Klinika za male životinje
Univerzitet u Lajpcigu
Nemačka



Holger A. Volk

DVM, PhD, PGCAP
DipECVN, FHEA, MRCVS
Profesor veterinarske neurologije i
neurohirurgije.
Velika Britanija

CERTIFECT

DOLE SA BUVAMA I KRPELJIMA!
NE DOZVOLITE DA SE OPASNOST
ZAKAČI NA VAŠEG PSA



- **Brz i moćan:** nedostižna brzina ubijanja krpelja od 2 sata



- **Vidljiva efikasnost:** uklanjanje zakačenih krpelja i prevencija od kačenja novih do 5 nedelja



- **Zaštita bez premca:** dokazano smanjenje rizika od bolesti koje prenose krpelji



- **Optimalna kontrola buva:** ubija odrasle oblike, jaja i larve



Promenite ljubimcu hranu Transformacija telesne mase



™ Robne marke u vlasništvu Hill's Pet Nutrition, Inc. ©2013

Uvoznik i distributer za RS: Zoo Hobby Int., Omladinskih brigada 102, Novi Beograd, 011/222-77-17, www.zoo-hobby.eu



Pitajte svog veterinara za **Metabolic**
Advanced Weight Solution