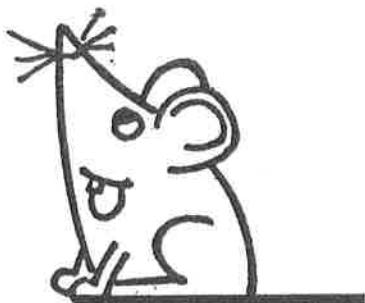


HRVATSKO DRUŠTVO FIZIOLOGA
Sekcija za laboratorijske životinje



ZBORNIK SAŽETAKA



1. SIMPOZIJ O LABORATORIJSKIM ŽIVOTINJAMA

ZAGREB 1984.

Organizator: Hrvatsko društvo fiziologa
Sekcija za laboratorijske životinje

Organizacioni odbor: D. Kello, Z. Marković, E. Palka
M. Radačić, Lidiya Šuman, D. Timet

Zbornik uredio: D. Kello

Tehnička obrada teksta: Mirjana Kello

S A D R Ž A J

POZVANA PREDAVANJA

J. Perić

Postojeći zakonski propisi u oblasti veterinarske djelatnosti koji se odnose na laboratorijske životinje

P-1

E. Pačka

Laboratorijske životinje u svjetlu zakonskih propisa o istraživanju lijekova i kemikalija

P-2

N. Ivančević i D. Kello

Propisi o primjeni laboratorijskih životinja u znanstvenim istraživanjima

P-3

S. Herrnan

Normativi za držanje pokusnih životinja

P-4

V. Đoković

Sagledavanje potreba i mogućnosti formiranja naučnog centra i osnivanja udruženja za unapređenje rada sa eksperimentalnim životnjama u SFRJ

P-5

D. Kello i P. Božičković

Problemi vezani uz proizvodnju i kontrolu hrane za laboratorijske životinje

P-6

I. Rajić

Osvrt na neka aktuelna pitanja ishrane laboratorijskih životinja

P-7

Lidija Šuman

Visokosrođeni sojevi miševa u Hrvatskoj

P-8

D. Kello

Uzgoj nesrođenih sojeva laboratorijskih životinja

P-9

V. Đoković

Uticaj kvaliteta životinja i stručnosti tima na valjanost rezultata u biomedicinskim istraživanjima

P-10

T. Wickerhauser

Značajniji paraziti laboratorijskih miševa i štakora

P-11

K. Čuljak

Kratak osvrt na utvrđenu patologiju laboratorijskih životinja

P-12

V. Đoković

Kontrola zdravstvenog stanja laboratorijskih životinja

P-13

REFERATI NA POSTERIMA

A. Genetske karakteristike naših sojeva laboratorijskih životinja

- Mirka Buben
Utjecaj veličine legla na napredovanje bijelih štakora A-1
- Antonija-Nada Ćabov
Spontane pojave hidronefroza, savijenih uretera i hidrouretera u fetalnom razvoju Wistar štakora A-2
- M. Hadžija i M. Slijepčević
Posljedice aplikacije aloksana na različite sojeve miševa A-3
- Mirjana Končar, Z. Mubrin, J. Lukač i Š. Spaventi
Imunološke osobitosti dva soja laboratorijskih štakora različitih uzgoja A-4
- A. Lavrič i V. Cotič
Kretanje bioloških parametara i histološke promjene organa kod Wistar štakora iz Instituta "Jožef Stefan" Ljubljana A-5
- Milica Murn, J. Turk i P. Pavković
Pregled kliničko-biohemskih i hematoloških vrijednosti Wistar štakora različitih izvora A-6
- Olga Pavlović, N. Popović, Blanka Bojović i Njegoslava Mijatović
Osnovni biohemijski parametri u serumu kunića rase činčila A-7
- Snježana Rubić i Lidija Šuman
Hematološki standardi za miševe visokosrođenih sojeva, koji se uzgajaju u Institutu "Ruder Bošković" A-8
- I. Vučak, Z.A. Nagy i J. Klein
Rekombinacija između lokusa E-beta i dupleksa A-alfa A-beta otkrivena u novim kongeničnim sojevima izvedenim od divljih miševa A-9

B. Eksperimentalne tehnike i modeli

- M. Boranić
Transplantabilni tumori miševa uzgajanih u Institutu "Ruđer Bošković" B-1
- D. Davila i Tatjana Davila
Primjena osmotskih minipumpa u farmakološkom istraživanju B-2
- V. Đoković
Laboratorijska svinja u biomedicinskim istraživanjima B-3
- Magdalena Eger
Uloga laboratorijskih životinja u testovima mutagenosti B-4
- D. Erdeljan, M. Albreht i D. Šćepanović
Svinja kao objekt istraživačkog rada iz oblasti ratne rane B-5
- R. Fuchs, A. Fajdetić i Maja Peraica
Uzorkovanje krvi piletina kaniliranjem vene cutaneae ulnaris B-6
- Jelka Gabrilovac, Maja Osmak i Ž. Županović
Određivanje aktivnosti prirođeno-ubilačkih (NK) stanica: izbor pogodne ciljne stanice B-7
- Jelka Gabrilovac, Maja Osmak, Ž. Županović i Jelka Tomašić
Peptidoglikan-monomer (PGM) stimulira aktivnost prirođeno-ubilačkih (NK) stanica u slezeni miševa in vivo B-8
- D. Ledić, H. Haller, M. Morović, P. Eberhardt i D. Rukavina
Indukcija kroničnog relapsirajućeg eksperimentalnog alergijskog encefalomijelitisa (CR-EAE) u štakora B-9
- E. Palka, Antonija-Nada Čabov i D. Anžiček
Primjenjivost nove hranilice za mjerjenje potrošnje hrane u biomedicinskim istraživanjima B-10
- E. Palka, M. Šehić i Polona Vodopivec
Istraživanje pasaže probavnog trakta kod pasa beagle rendgenološkom metodom B-11
- P. Pavković i E. Palka
Razređivanje serumu za kliničko-bioteknološke analize u pokusima na pacovima B-12
- D. Sušić i D. Kentera
Pacov kao životinjski model u kardiovaskularnim istraživanjima B-13

C. Bolesti naših laboratorijskih životinja

- H. Kovačić i M. Lacković
Leptospiroza u bijelih miševa C-1
- Z. Mijatović
Helmintofauna digestivnog trakta laboratorijskog miša,
pacova i zamorca C-2
- T. Naglić i M. Žilić
Mikoplazmozni otitis media et interna u miševa C-3
- N. Popović, D. Trailović, M. Lazarević i M. Urošević
Nasledno oboljenje kunića - Splay leg C-4
- Višnja Radman i Erika Arslanagić
Virusna diareja u laboratorijskih miševa C-5
- M. Škreblin
Trichosomoides crassicauda, nematod iz urogenitalnog
trakta u štakora C-6

D. Ishrana laboratorijskih životinja

- Č. Bogdanić, S. Petričević, A. Tomašić i I. Kadunc
Nutritivne potrebe u uzgoju laboratorijskih pasa D-1
- Z. Mijatović, I. Rajić, Nevenka Milivojević i D. Mamula
Ishrana laboratorijskih pacova D-2
- I. Rajić, Z. Mijatović i Nevenka Milivojević
Ishrana laboratorijskih miševa D-3
- I. Rajić, Z. Mijatović i Nevenka Milivojević
Ishrana laboratorijskih zamoraca D-4
- I. Rajić, Nevenka Milivojević i Z. Mijatović
Ishrana laboratorijskih kunića D-5

E. Uzgoj laboratorijskih životinja

- S. Đorđević, D. Rašić i S. Janković
Naša iskustva u gajenju laboratorijskih životinja E-1
- I. Kadunc, Marjeta Kincl, A. Tomašić i D. Živičnjak
Uzgoj pokusnih životinja na farmi tvornice lijekova KRKA E-2
- D. Kello, M. Zanki i Mirka Buben
Utjecaj starosti i sezonskih varijacija na reprodukciju štakora E-3
- Nevenka Milivojević, Z. Mijatović i I. Rajić
Mortalitet miševa, pacova, zamoraca i kunića u farmskim uslovima ishrane, nege i držanja E-4
- Marijana Peruzović, Sanja Milković-Kraus i Karmela Milković
Ugibanje štakorske mladunčadi u standardnim uvjetima uzgoja E-5

F. Slobodne teme

- A. Hudoklin, Milica Murn i E. Falka
Utjecaj dnevnog ritma na vrijednosti LD₅₀ kod miševa F-1
- M. Jakovina i Z. Marković
Dezinflamacije djelovanje Izosan-G i hibitane antiseptičke kreme za površinama odnosno na koži ruku osoblja u nastambi za pokusne životinje F-2
- B. Kampl
Aktivnost nekih enzima u serumu gravidnih kunića F-3
- Nela Lakić, Danka Peričić i H. Manev
Različiti odgovor kortikosterona plazme u mužjaka i ženki Wistar štakora nakon primjene diazepamima i pikrotoksina F-4
- A. Lenardić, Janja Urbančić Smerkolj i Polonca Grosman
Farmakokinetika teofilina pri kuncu F-5
- H. Manev, Tatjana Škrlec i Danka Peričić
Utjecaj spola na lokomotornu aktivnost i GABA sustav u mozgu štakora i miševa F-6

Danka Peričić i H. Manev
Utjecaj spola na pikrotoksinom izazvane konvulzije u štakora i miševa

F-7

M. Slijepčević i M. Hadžija
Ispitivanje hipoglikemijskog učinka različitih pripravaka na miševima tretiranim aloksanom

F-8

Đurđica Stubić
Etički pristup životinjama u znanstvenim istraživanjima

F-9

Janja Urbančič Smerkolj, A. Lenardič i Z. Kopitar
Določanje obsega absorpcije $^3\text{H-DHETX}$ iz posameznih segmentov črevesa podgane

F-10

SAŽECI POZVANIH PREDAVANJA

POSTOJEĆI ZAKONSKI PROPISI U OBLASTI VETERINARSKE DJELATNOSTI KOJI SE ODNOSE NA LABORATORIJSKE ŽIVOTINJE

J. Perić

Zavod za sudsko i upravno veterinarstvo, Veterinarski fakultet, Zagreb

"Životinje, prema ovom zakonu, jesu: kopitari (konji, mazge, magarci i mule), papkari (goveda, bivoli, ovce, koze i svinje), perad (kokoši, pure, guske, patke i druga domaća perad), ukrasne i egzotične ptice i životinje, psi, mačke, kunići, pčele, sviloprelje, ribe, rakovi, školjke, ježevi, kornjače, puževi, pijavice, divljač, zvijeri i laboratorijske životinje". Ovo je doslovce citirani 3. član (stav 1.) saveznog Zakona o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju cijelu zemlju. Iz gornjega proizlazi zaključak da su i laboratorijske životinje obuhvaćene legislativom iz oblasti veterinarstva saveznog, republičkog i pokrajinskog ranga. Međutim, postojećim propisima i iz njih proizašlih normativnih akata nije pobliže pojašnjen pojam laboratorijskih životinja. Zbog toga smatramo potrebnim ukazati na potrebu pobližeg definiranja pojma "laboratorijska životinja".

Laboratorijske životinje veoma često se nalaze i u prometu, pa prema tome i svi veterinarski propisi koji se odnose na promet životinja odnose se i na promet laboratorijskih životinja. Između ostalog to su propisi koji se odnose na uvoz, izvoz i prevoz pošiljaka laboratorijskih životinja.

Poznato je da su životinje u pravnom smislu stvari, što znači da se opći propisi koji se odnose na promet stvarima moraju obuhvatiti kada su u pitanju laboratorijske životinje.

LABORATORIJSKE ŽIVOTINJE U SVJETLU ZAKONSKIH PROPISA O ISTRAŽIVANJU LIJEKOVA I KEMIKALIJA

E. Palka

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto
Institut, Oddelek za predklinične raziskave

Područje istraživanja lijekova u svrhu određivanja efikasnosti i sigurnosti upotrebe, regulirano je u svijetu brojnim zakonima, propisima i uputstvima. Slični propisi postoje i za testiranje kemikalija, dodataka hrani itd.

U tim propisima problematika laboratorijskih životinja vrlo je različito zastupljena. Zakoni pojedinih zemalja svode tu problematiku samo na nabranje životinjskih vrsta potrebnih za istraživanja. Problematicu upotrebe laboratorijskih životinja šire obrađuju uputstva Svjetske zdravstvene organizacije - WHO, američki propisi GLP - dobre laboratorijske prakse, kao i uputstva OECD-a za testiranje kemikalija, koji, među ostalim određuju upotrebu laboratorijskih životinja za pojedina istraživanja, princip držanja i rukovanja sa životnjama, te daju uputstva za potrebni prostor, kadar, opremu itd.

U Jugoslaviji upotrebu laboratorijskih životinja u istraživanjima navode, prije svega, Preporuke za parametre predkliničkih istraživanja lijekova, te Kodeks dobre laboratorijske prakse. Problematica laboratorijskih životinja je nedovoljno obrađena u našim propisima. Stoga je neophodno potrebna ozbiljna i opširna dopuna postojećih zakonskih propisa.

PROPISI O PRIMJENI LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA U ZNANSTVENIM ISTRAŽIVANJIMA

N. Ivan čević i D. Kello

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

Usprkos impresivnom razvoju istraživačkih tehnika na kulturama tkiva, kao i drugih "in vitro" metoda, još je uvijek nemoguće zamisliti biomedicinska istraživanja bez laboratorijskih životinja. Kako je mala vjerojatnost da će u skoroj budućnosti doći do smanjenja opsega u istraživanjima na životnjama bez ugrožavanja razvoja biomedicinske znanosti, potrebno je uložiti posebne napore u unapređenje uvjeta uzgoja, držanja i eksperimentiranja na laboratorijskim životnjama.

Kako kod nas još nije zakonski regulirano tko, gdje i kako može uzgajati, držati i eksperimentirati na laboratorijskim životnjama, životinje su uglavnom prepuštene na milost i nemilost savjesti pojedinaca. Takva situacija dovodi u pitanje ne samo humano postupanje sa životnjama, nego i vrijednost dobivenih rezultata istraživanja. Prema tome, potrebno je ne samo iz humanih razloga, nego i zbog osnovnih principa znanstvene etike što prije sprovesti u život preporuke Internacionallnog komiteta za laboratorijske životinje (ICLA). Taj komitet preporučuje određeni broj osnovnih principa na kojima bi se trebalo osnivati zakonodavstvo iz područja uzgoja, držanja i istraživanja na laboratorijskim životnjama.

Svrha ovog izlaganja je da raspravi preporuke ICLA-e i predloži njihovu primjenu imajući u vidu neke specifičnosti naših uvjeta.

NORMATIVI ZA DRŽANJE POKUSNIH ŽIVOTINJA

S. Herman

Dipl.-Ing. W. Ehret GmbH, Emmendingen, SR Njemačka

Radi stvaranja optimalnih uslova za uzgoj i držanje pokusnih životinja pribeglo se standardizaciji opreme.

Standardizacija se sprovodi u Americi i Zapadnoj Evropi po sledećim propisima i preporukama:

- u okviru GLP-normi (Good Laboratory Practice)
- u okviru "strazburških preporuka"
- u okviru švajcarskog zakona o zaštiti životinja

GLP-norme prve predviđaju određene, minimalne površine kaveza za uobičajene vrste pokusnih životinja i određuju standarde držanja i nege. Kao baza ovih normi navodi se "Animal Welfare Act" iz 1966., kao i dopune i proširenja iz 1970. i 1976. godine^x.

Zapadna Evropa je na putu da "strazburškim preporukama" postigne standardizaciju uslova držanja pokusnih životinja za sve članice EZ. Čak i zemlje van EZ, kao npr. Austrija, Švedska, Norveška i Finska izjasnile su se za ove preporuke, tako da će se u budućnosti verovatno u celoj Evropi raditi po njima. "Strazburške preporuke" baziraju se na GLP-normama i predstavljaju evropsku varijantu ovih normi, proširenu i prilagođenu praktičnim uslovima i zahtevima u Evropi.

I "švajcarski zakon" je samo varijanta GLP-normi prilagođena opštem švajcarskom zakonu o zaštiti životinja.

Trenutno postoje još uvek razlike u interpretaciji normativa. Kroz prisike raznih društava za zaštitu životinja a i samih ljudi koji rade sa pokusnim životnjama, kristališe se potreba za jedinstvenom interpretacijom.

Proizvođači opreme, dobro upoznati sa zahtevima normativa, javljaju se sve češće kao koordinatori.

^xOvaj akt objavljen je u "Code of Federal Regulations" (CFR) Title 9. od strane "Offices of the Deputy Administrator, US Dept. of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection, Federal Building, 6505 Belvoir Road, Hyattsville, Maryland 20782.

SAGLEDAVANJE POTREBA I MOGUĆNOSTI FORMIRANJA NAUČNOG CENTRA I OSNIVANJA UDRUŽENJA ZA UNAPREĐENJE RADA SA EKSPERIMENTALNIM ŽIVOTINJAMA U SFRJ

V. Đoković

Institut za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije,
Beograd

Odavno je shvaćeno da loš kvalitet eksperimentalnih životinja nanosi velike štete biomedicinskim istraživanjima. Obezbeđivanje kvalitetnih životinja (dobar zdravstveni i poznat genetski status, ishrana, odgovarajući modeli, metodologija rada i sl.), danas je naučni zadatak i kompleksni tehnički problem od čijeg uspešnog rešavanja, dobrim delom, zavisi i budući razvoj medicine i zdravstva.

Da bi se to lakše, jedinstvenije i ekonomičnije postiglo, u mnogim zemljama sveta došlo je do formiranja naučnih centara, osnivanja stručnih udruženja i izdavanja časopisa koji se bave problematikom eksperimentalnih životinja. Prvi takav centar formiran je u Engleskoj na predlog udruženja patologa Velike Britanije i Irske 1942. godine.

I u našoj zemlji brojni istraživači, među kojima su poznati i priznati naučnici, bave se eksperimentalnim biomedicinskim istraživanjima. (naši poznati instituti, medicinska odelenja Akademija nauka i umetnosti, Medicinski, Stomatološki, Farmaceutski, Veterinarski, Prirodnomatematicki - biološka odelenja - fakulteti, fabrike lekova i druge ustanove). Formiranje i osposobljavanje naučnog centra (ili više ustanova sa specijalizovanom namenom) i osnivanje udruženja za unapređenje rada sa eksperimentalnim životnjama bilo bi od značaja za ta istraživanja. Lakše bi se dolazilo do jedinstveno kvalitetnih životinja, do jedinstvenih kriterija i mogućnosti za programsko obrazovanje stručnih i visokostručnih kadrova, razmene iskustava među istraživačima, jedinstvene dokumentacije, informatike, jedinstvene metodologije u radu, izbegavanja dupliranja zadataka i drugo. Za ovo su potrebna i materijalna ulaganja, naročito za podizanje savremene farme i transporta životinja do vivarija, što bi zahtevalo učešće svih zainteresovanih, a pogotovo fabrika lekova. U izlaganju se iznose i savremena gledišta o programskom školovanju visokokvalificiranog kadra u ovoj oblasti.

Diskusija po ovom pitanju sa predlozima i dopunama zainteresovanih, doprinela bi preduzimanju prvih koraka za sagledavanje ovog značajnog problema.

PROBLEMI VEZANI UZ PROIZVODNju I KONTROLU HRANE ZA LABORATORIJSKE ŽIVOTINJE

D. Kello¹ i P. Božičković²

¹Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

²Centar za peradarstvo, Veterinarski fakultet, Zagreb

Hrana je vrlo česta varijabla kojoj se u pokusima ne poklanja odgovara-juća pažnja, iako brojna istraživanja pokazuju da taj faktor može imati poseban značaj u biološkoj reakciji životinja. Standardizacija i kontrola kvalitete hrane osnovni je zahtjev u istraživanjima na laboratorijskim životnjama, jer i najmanja promjena u sastavu hrane mijenja uvjete pokusa što može imati presudnu ulogu u reproducibilnosti rezultata istraživanja, a potom i na njihovu znanstvenu vrijednost.

Na hranu za laboratorijske životinje postavljaju se dva osnovna zahtjeva: da sadrži sve esencijelne prehrambene sastojke u pravilnim proporcijama, te da održava kontaminante na minimumu. Ovisno o stupnju pre-rađenosti sirovina i kemijske čistoće, hrana za laboratorijske životinje može se klasificirati u tri osnovne kategorije: hrana na bazi prirodnih sirovina, hrana na bazi pročišćenih sirovina, te kemijski definirana hrana.

Brojne analize hrane za laboratorijske životinje su dokazale da bez odgovarajuće kontrole kvalitete ni najbolja receptura ne garantira kemijski i biološki kvalitetnu hranu. Istraživanja u svijetu pokazuju da odstupanja od kataloških vrijednosti za pojedine komponente hrane mogu biti veća i od standardne devijacije analiziranih uzoraka različitih serija iste hrane i istog proizvodača. Zbog toga je općenito prihvaćeno da samo stalna, stručna i stroga kontrola hrane može osigurati konstantan kemijski sastav i odsustvo štetnih bioloških i kemijskih noksi.

Svrha ovog saopćenja je da upozna našu znanstvenu javnost s naporima koji se čine u svijetu na osiguranju standardne i kvalitetne hrane za laboratorijske životinje, te da predloži realna rješenja prihvatljiva za naše uvjete proizvodnje hrane za laboratorijske životinje.

OSVRT NA NEKA AKTUELNA PITANJA ISHRANE LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

I. Rajić

Veterinarski fakultet, Beograd

Pravilna ishrana laboratorijskih životinja ima velik naučni i ekonomski značaj. Poznavanje potreba laboratorijskih životinja u hranjivim materijama i hemijskog sastava hrane preduslov je za pravilnu ishranu.

U tom cilju, u našoj zemlji je imperativno potreban organizovaniji naučni rad stručnjaka za ishranu laboratorijskih životinja radi: (1) planske provere literaturnih podataka o potrebama u hranjivim materijama svih vrsta laboratorijskih životinja, (2) skupljanja podataka o hemijskom sastavu, energetskoj i hranljivoj vrednosti domaćih hraniva, (3) utvrđivanja načina za obezbeđenje higijenski ispravnih hraniva bar za jednu proizvodnu godinu, (4) trajne orientacije na veći broj domaćih hraniva, (5) blagovremenog obezbeđivanja hraniva i ingredijenata na duži rok, (6) proizvodnje kompletnih krmnih smeša za laboratorijske životinje u fabrikama stočne hrane i drugim organizacijama (konzerve za pse i mačke) koje mogu da stvore posebnu liniju za takvu proizvodnju, (7) proizvodnje hrane na principu otvorenih formula, (8) određivanja laboratorijskih koja mogu da vrše toksikološke, mikrotoksikološke i vitamske analize hrane, (9) naučnog utvrđivanja uzroka bolesti, smanjene reprodukcije i mortaliteta, (10) podsticanja stručnjaka za izradu doktorskih teza iz oblasti ishrane laboratorijskih životinja, i (11) organizovanja jugoslovenske komisije za ishranu laboratorijskih životinja.

VISOKOSROĐENI SOJEVI MIŠEVA U HRVATSKOJ

Lidija Šuman

Institut "Ruder Bošković", OOUR EBM, Zagreb

Prvi visokosrođeni sojevi miševa došli su u Zagreb 1961. Nabavio ih je Allegretti iz: Radiological Research Unit, Harwell. To su sojevi: A/H, CBA/H, C3H/H i C57BL/Go.

1963. dobiven je iz Harwella soj CBA-T6T6.

1972. došla su u Zagreb tri nova soja, i to: soj RFM/Rij dobiven iz Radiological Institute TNO, Rijsvijk, soj BALB/c dobiven iz Institute of Experimental Biology and Genetics, Prague, te soj C3Hf/Bu dobiven iz Anderson Hospital and Tumor Institute, Huston.

1973. iz: National Institutes of Health, Bethesda, nabavio je Imunološki zavod, Zagreb, jezgru nesrođenih miševa soja N:NIH/S. Iz dijela ove jezgre uzgojen je do 1982. visokosrođeni soj NIH/Zgi.

1979. iz: National Institutes of Health, Bethesda, dobiven je soj CBA/N.

1981. iz: Max Planck Institute for Biology, Tübingen, dobiven je soj CBA-H-2^{ka}.

1982. iz: INSERM Hospital St. Antoine, Paris, dobio je Medicinski fakultet u Rijeci miševe soja: A/J, BALB/c, CBA i DBA/2.

1984. Klinički bolnički centar, Zagreb, kupio je od britanske firme Bantin and Kingman Ltd. miševe soja: BALB/c, C57BL/6 i DBA/2.

Danas se u Hrvatskoj visokosrođeni sojevi miševa uzgajaju u slijedećim ustanovama: Imunološki zavod, Zagreb, Institut "Ruder Bošković", Zagreb, Klinički bolnički centar, Zagreb, Zavod za animalnu fiziologiju, PMF, Zagreb, Zavod za fiziologiju, Medicinski fakultet, Zagreb, Zavod za fiziologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Rijeka.

UZGOJ NESROĐENIH SOJEVA LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

D. Kello

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

Reproducibilnost rezultata istraživanja je ključni uvjet da bi se neki istraživački rad mogao smatrati znanstvenim. Genetska varijabilnost laboratorijskih životinja ima poseban značaj na reproducibilnost rezultata u biomedicinskim istraživanjima. Međunarodnim konsenzusom je utvrđeno da se u cilju rješavanja tog problema uvede sistem registracije sojeva laboratorijskih životinja.

Uzgoj nesrođenih sojeva laboratorijskih životinja ima poseban značaj za istraživanja gdje se proučava mogući učinak neke ljekovite ili toksične supstance na humanu populaciju. Standardizacija nesrođenih sojeva koristi principe populacione genetike, pri čemu je cilj zadržati što duži niz godina heterozigotnost uz specifične genetske karakteristike uzgoja.

Ovaj prikaz predstavlja prilog općim naporima unapređenja uzgoja laboratorijskih životinja s ciljem da opiše osnovne principe uzgoja, standardizacije i registracije nesrođenih sojeva laboratorijskih životinja.

UTICAJ KVALITETA ŽIVOTINJA I STRUČNOSTI TIMA NA VALJANOST REZULTATA U BIOMEDICINSKIM ISTRAŽIVANJIMA

V. Đoković

Institut za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije,
Beograd

Ako se izuzmu vrlo ograničene mogućnosti eksperimentisanja na čoveku i u kulturi tkiva, opitna životinja je jedini biološki supstrat na kome se istražuje organski svet i njegove zakonitosti. Neophodno je dobro poznavanje opitne životinje, prvenstveno njenog zdravstvenog statusa.

Cilj je da se ukaže na značaj zdravstvenog statusa oglednih životinja i kvalifikovanosti stručnog tima u eksperimentalnim biomedicinskim istraživanjima.

U izlaganju iznose se karakteristike svih pet zdravstvenih klasa oglednih životinja. Brojne interkurentne bolesti uključujući i latentne infekcije, iziskuju posebnu opreznost. Ako ogledna životinja sa ovim bolestima uđe ili ih dobije u ogledu, istraživanja postaju bezvredna. Eksperimentator tada za dobijene rezultate ne može da tvrdi da li potiču od inokulata ili interkurentnog obolenja. Može doći do teških posledica. Ogledna životinja ako je interkurentno inficirana usled unakrsne reakcije organizma i prenagomilavanja titra prekriva učinak inokulata. U šemi opitnog modela govori se, pored ostalog, i o neophodnom učešću stručnjaka iz tri osnovne naučne discipline: humane, veterinarske medicine i bioloških nauka, što ne isključuje učešće i drugih stručnjaka. Ovi stručnjaci treba da poseduju verifikovana znanja o oglednim životinjama. Izlaganja su propričena i primerima iz prakse.

ZNAČAJNIJI PARAZITI LABORATORIJSKIH MIŠEVA I ŠTAKORA

T. Wikerhauser

Veterinarski fakultet, Zagreb

Od ektoparazita u laboratorijskih miševa i štakora značajnije su grinje *Myocoptes musculinus* i *Myobia musculi*, uši *Polyplax* spp. i buha *Nosophyllus fasciatus*. Mogu uzrokovati svrbež i oštećenje kože. Suzbijaju se kupkama u aluganu, amitrazu, malathionu i drugim. Od endoparazita česti su crijevni bičaši *Tritrichomonas muris*, *Giardia muris* i *Spironucleus muris*, a od drugih crijevnih protozoa dolazi *Entamoeba muris* i *Eimeria* sp. Većinom su slabo patogeni. Od helminata u crijevu su česti oksiuridi *Syphacia obvelata* i *Aspicularis tetraptera* i trakovice *Hymenolepis* spp., osobito *H. nana*. Mogu smanjiti kondiciju životinja. Za liječenje oksiurida korisni su piperazinski, benzimidazolski i organofosforni preparati, a protiv trakovica praziquantel. Od tkivnih parazita u muskulaturi dolaze mješinice *Sarcocystis* sp., a u jetri *Cysticercus fasciolaris* tj. ličinka mačje trakovice *Taenia taenieformis*. U urogenitalnom traktu štakora dolazi nematod *Trichosomoides crassicauda*.

KRATAK OSVRT NA UTVRDENU PATHOLOGIJU LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

K. Čuljak

Zavod za opću patologiju i patološku morfologiju, Veterinarski fakultet, Zagreb

Kontrolom zdravstvenog stanja nekoliko uzgoja i histološkom pretragom organa pokušnih grupa, prije svega miševa i štakora, susrećemo se s raznovrsnom patologijom, koju ukratko iznosimo po organskim sustavima.

U dišnom sustavu susrećemo najčešće promjene u plućima, kroničnog toka i oblika, kao bronhitis, limfoidna hiperplazija, intersticijska pneumonija i parcijalni emfizem. Mada je etiologija ovih promjena raznovrsna sa sigurnošću se može tvrditi da su posljedica nepovoljnog držanja laboratorijskih životinja.

U probavnom sustavu su također promjene kroničnog toka, kao što je limfoidna folikularna hiperplazija submukoze ili različite forme gastroenteritisa, ali i akutnog toka, posebice u formi akutne kataralno-deskvamativne upale crijeva. I ove promjene su često posljedica loših zoohigijenskih uvjeta, mada smo skloniji tvrdnji da odlučujući ulogu imaju živi uzročnici bolesti. Promjene u jetri se najčešće vide kao "hidropsna distrofija", koja je najčešće posljedica stresa, ali je potreban oprez da se ne zamjeni s masnom distrofijom. Kronične promjene u obliku intersticijskog hepatitisa, većinom s eozinofilima mogu se pripisati parazitarnim invazijama ili reakciji antigen-antitijelo.

Promjene srčane muskulature su relativno česte. Uobičajen je nalaz jake punokrvnosti i perivaskularne ekstravazacije te parenhimske i hijaline degeneracije, što mnogi autori pripisuju postupku žrtvovanja životinja. Interesantno je da se te promjene i po intenzitetu i po karakteru razlikuju među uzgajivačima. Upravo zbog toga smo mišljenja da su te promjene posljedica prije svega nutritivne deficijencije oligoelemenata (Se i dr.) i vitamina (E i dr.), pogotovo što su popraćene miopatijom tjelesne muskulature. Nisu rijetka ni odeblijanja krvnih žila, koja mnogi autori pripisuju starosti životinja, što treba uzeti s izvjesnom rezervom.

U bubrežima se često susreće diseminirana nefroza i intersticijski nefritis, što se može pripisati infektivno-toksičnim agensima.

Iako rijetko, susrećemo i promjene u CNS-u koje su često posljedica nutritivne deficijencije, ali i one koje su posljedica živih uzročnika bolesti.

Dosta često se utvrde i promjene na koži, obično kao diseminirana alopecija, krustozni dermatitis ili kao raščupana i slabo sjajna dlaka. Ovakve promjene su u pravilu posljedica lošeg smještaja, ektoparazita i nutritivnog deficit-a.

KONTROLA ZDRAVSTVENOG STANJA LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

V. Đoković

Institut za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije,
Beograd

Jedan od bitnih faktora za uspeh u eksperimentalnim biomedicinskim istraživanjima je pre svega i kvalitetan zdravstveni status laboratorijske životinje.

Cilj je da se ukaže na potrebu stalne zdravstvene kontrole, mogućnosti infekcije eksponiranog ljudstva, obolenja i pomora zapata, kao i isključivanja interkurentnih obolenja koja istraživanja mogu učiniti bezvrednim, jer falsifikuju nalaze pokrivajući dejstvo inokulata.

Laboratorijska životinja treba u ogled da uđe zdrava, što se kontroliše savremenim medicinskim postupcima kao i da za sve vreme opita ostane oslobođena interkurentnih i latentnih infekcija. Zdravstvena kontrola bazira na patomorfološkim, mikrobiološkim i kliničko-laboratorijskim ispitivanjima. Ova ispitivanja se preduzimaju na farmi i vivarijumima, neposredno pre, kao i za vreme trajanja ogleda. Uginule, bolesne i žrtvovane laboratorijske životinje kao i 10% zdravih jedinki sa farmi podležu patomorfološkim istraživanjima. U izlaganju se detaljnije govori o zdravstvenoj kontroli svih pet klasa laboratorijskih životinja, sa posebnim osvrtom na SPF, gnotobiotske i konvencionalne životinje. Iznose se histomorfološke specifičnosti, normalne kliničko-biohemijske vrednosti, te infektivne bolesti, uključujući i parazitoze, sa naglaskom na zoonoze u različitim vrsta laboratorijskih životinja. Izlaganje je popraćeno i primerima iz prakse.

SAŽECI REFERATA NA POSTERIMA

**A - GENETSKE KARAKTERISTIKE NAŠIH
LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA**

UTJECAJ VELIČINE LEGLA NA NAPREDOVANJE BIJELIH ŠTAKORA

Mirka Buben

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

Svrha je ovog rada bila ispitati da li (i koliko) težina tek okočenih bijelih štakora i njihovo kasnije napredovanje ovisi o broju mlađih u leglu. U ispitivanje su uzeta 74 legla sa 5 do 12 mlađih. Težina štakora praćena je tokom tri tjedna - od okočenja do odbijanja od majčinog mlijeka. U tom su intervalu životinje vagane sedam puta: na dan okočenja ("0" dan), trećeg, sedmog, desetog, četrnaestog, osamnaestog i dvadesetprvog dana starosti. Utjecaj veličine legla na težinu mlađih štakora očit je već na dan okočenja. Uspoređujući, naime, težine mlađih po leglima sa prosječnom težinom svih izvaganih životinja toga dana (603) značajno su bile teže životinje sa 5 i 6 mlađih ($P < 0.01$) odnosno lakše sa 10 do 12 mlađih ($P < 0.05$) u leglu. Težine mlađih sa 7 do 9 u leglu nisu se razlikovale od prosjeka.

Značajne razlike u napredovanju mlađih štakora - ovisno o veličini legla - prisutne su i u kasnijim intervalima. Od sedmog do četrnaestog dana starosti ne razlikuju se tjelesne težine 6 do 9 mlađih u leglu, ali su od svih značajno teži oni sa 5 ($P < 0.001$), odnosno lakši oni sa 10 do 12 mlađih u leglu ($P < 0.001$). U trećem tjednu života utjecaj veličine legla još je izrazitiji. Tako se 21-og dana starosti težine svih grupa mlađih štakora značajno međusobno razlikuju ($P < 0.001$), osim onih sa 7 i 8 mlađih u leglu.

Zaključak je da bijeli štakori značajno najbolje napreduju ako ih ima samo 5 u leglu, te da bi se postigla težinska ujednačenost ne bi smjelo biti u leglu manje od 6 i nikako više od 9 mlađih.

SPONTANE POJAVE HIDRONEFROZA, SAVIJENIH URETERA I HIDROURETERA U FETALNOM RAZVOJU WISTAR ŠTAKORA

Antonija-Nada Ćabov

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto
Institut, Oddelek za predklinične raziskave

Razvojem metodologije u teratološkim istraživanjima primjećena je sve veća učestalost pojave hidronefroza, hidrouretera i savijenih uretera, u kombinaciji ili pojedinačno, u svim eksperimentalnim grupama. Do danas taj problem nije objašnjen, bez obzira na napore koje su uložili različiti istraživači, te ih, sa sadašnjeg stanovišta naučnog istraživanja, smatramo kao sporadične spontane pojave.

Cilj ovog rada je prikaz učestalosti navedenih pojava u kontrolnim grupama naših teratoloških istraživanja, koje su bile tretirane per os pomoću metalne želučane sonde sa 3% sluzi kukuruznog škroba. Rađeno je na Wistar štakorima od privatnog uzgajivača i Instituta "Ruđer Bošković".

Princip teratoloških istraživanja je, da se testirana supstancija aplicira u periodu organogeneze tj. od 7. do 16. dana graviditeta. Na 22. dan graviditeta fetusi se vade carskim rezom pri anesteziji sa uretanom, odreduje im se lokalizacija u uterusu, broj i mjesto implantacija, broj i mjesto resorpcija, te pokretljivost. Makroskopski se pregledaju, odredi im se spol, tjelesna težina i težina placenti. Po 2/3 fetusa iz svakog legla eviscerira se i pripremi nizom metoda za pregled stupnja osifikacije kostura. Preostali fetusi 1/3 fiksira se Bouin-ovom otopinom i pregleda pod stereomikroskopom, da bi se utvrdile promjene na unutrašnjim organima.

Hidronefroze se pojavljuju uglavnom udružene sa savijenim ureterima (30-40% po kontroli), savijeni ureteri kao pojedinačna pojava također su učestali i pojavljuju se sa cca 20% po kontroli, podjednako u svim pokusima. U jednom primjeru imamo učestaliju pojavu hidrouretera i hidronefroza.

Sva dosadašnja evropska istraživanja pojave hidronefroza u kontrolnim skupinama nisu dala objašnjenje za taj problem.

POSLJEDICE APLIKACIJE ALOKSANA NA RAZLIČITE SOJEVE MIŠEVA

M. Hadžija i M. Slijep čević

Institut "Ruder Bošković", OOUR EBM, Zagreb

Eksperimentalna šećerna bolest laboratorijskih glodavaca može se izazvati na više načina, ili se javlja spontano. Jedan od načina je aplikacija kemijski aktivnih tvari koje specifično oštećuju beta-stanice Langerhansovih otočića. U našim ispitivanjima koristili smo aloksan (2, 4, 5, 6 tetraoksoheksahidropirimidin). Rezultati primjene pokazuju da ista količina aloksana ubrizgana intravenozno može imati različite posljedice s obzirom na starost, spol i soj miševa. Tako se pokazalo da su na istu dozu aloksana najosjetljiviji bili miševi soja A i to muškog spola, stari oko četiri mjeseca. Također su od najviših doza aloksana najbrže i u najvećem broju stradavali miševi soja RF (oko 68%). Letalna doza za sve sojeve miševa bila je oko 150 mg/kg težine tijela. Ovi nalazi upućuju na zaključak da u našim uvjetima u dobivanju modela eksperimentalne šećerne bolesti treba voditi računa o kojem se soju miševa radi.

IMUNOLOŠKE OSOBITOSTI DVA SOJA LABORATORIJSKIH ŠTAKORA RAZLIČITIH UZGOJA

Mirjana Končar, Z. Mubrin, J. Lukač i Š. Spaventi

Imunološki odsjek Klinike za nuklearnu medicinu i onkologiju Kliničke bolnice "Dr M. Stojanović", Zagreb i RO Istraživački institut, SOUR Pliva, Zagreb

Ispitani su neki opći, hematološki i imunološki pokazatelji u štakorskih sojeva Fisher i Wistar iz različitih uzgoja, sa svrhom određivanja pogodnosti njihove upotrebe u eksperimentalnoj imunologiji. Značajne razlike između sojeva su nadene za metaboličke pokazatelje: potrošnju hrane i vode, količinu izlučevina i prirast tjelesne težine. Hematološki pokazatelji: ukupan broj leukocita, diferencijalna krvna slika osim segmentiranih neutrofila i monocita, također su se bitno razlikovali. Imunološke razlike su nadene u relativnom broju B-limfocita, indeksu fagocitoze te pri blastičnoj pretvorbi limfocita pod utjecajem T i B staničnih mitogena.

Statistička analiza rezultata dobivenih u grupi štakora visokosrodenog soja Fisher iz dva različita uzgoja pokazala je ujednačenost vrijednosti, a razlike na razini $p < 0.05$ nadene su samo u relativnom broju B-limfocita, indeksu fagocitoze i blastičnoj pretvorbi limfocita pri najvećoj koncentraciji B-staničnog mitogena.

Rezultati istih ispitivanja kod štakora soja Wistar nesrodenog standardiziranog i nestandardiziranog zatvorenog uzgoja su se značajno razlikovali u više osnovnih parametara: potrošnji hrane, broju leukocita i indeksu fagocitoze te blastičnoj pretvorbi limfocita pod utjecajem staničnih mitogena.

U zaključku možemo reći da ne samo soj već i vrsta i način uzgoja utječe na vrijednosti i varijabilnost osnovnih općih i posebnih pokazatelja.

KRETANJE BIOLOŠKIH PARAMETARA I HISTOLOŠKE PROMJENE
ORGANA KOD WISTAR ŠTAKORA IZ INSTITUTA "JOŽEF STEFAN"
LJUBLJANA

✓ A. Lavrič i V. Cotič

LEK, TOZD Razvoj in raziskave, Ljubljana i Institut "Jožef Stefan",
Ljubljana

U periodu od 1978 - 1984 godine pratili smo neke biološke parametre kod mužjaka Wistar štakora uzgojenih na Institutu "Jožef Stefan" u Ljubljani. Biološki podaci u toku posljednjih sedam godina dosta su homogeni. Od bioloških parametara promatrani su tjelesna težina, težina organa, potrošnja hrane, eritrociti, leukociti, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, K, Na, Cl, urea, glukoza, kreatinin, AST, ALT, LDH, CK, ekskrecija urina, pH i spec. tež. urina, te bjelančevine i urobilinogen u urinu. Male razlike u nekim biokemijskim parametrima odnose se na promjenu u metodologiji određivanja.

Histološkim pregledom organa štakora (jetra, bubreg, srce, slezena, mozik, želudac, tanko crijevo, pluća, nadbubrežna žljezda i testis) ustanovljene su slijedeće promjene:

- peribronhialni i intersticijski limfocitarni infiltrati u 90% životinja
- periportalno zamašćenje (+ do++) u 80% životinja
- lipidi u nadbubrežnoj žljezdi (+ do +++) u 80% životinja
- vakuolizacija sjemenskog epitela u nekim tubulima u 1% životinja.

Biološki parametri štakora dosta su homogeni. Visok procenat peribronhialnih i intersticijskih infiltrata u plućima štakora najvjerojatnije su posljedica nekvalitetne prostirke, gdje životinje udišu male čestice prašine, što bi se dalo ukloniti odgovarajućom separacijom hoblovine.

PREGLED KLINIČKO-BIOKEMIJSKIH I HEMATOLOŠKIH VRIJEDNOSTI WISTAR ŠTAKORA RAZLIČITIH IZVORA

Milica Murn, J. Turk i P. Pavković

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto
Institut, Oddelek za predklinične raziskave

Kvaliteta laboratorijskih životinja je jedan od glavnih faktora koji utiču na rezultate toksikoloških istraživanja.

Kliničko-biohemiske i hematološke pretrage krvi predstavljaju važne parametre u pokusima subakutne i kronične toksičnosti.

Cilj naših ispitivanja je bila usporedba uobičajenih kliničko-biohemiskih i hematoloških vrijednosti kod Wistar štakora iz dva različita izvora: Instituta R. Bošković i privatnog uzgajivača.

Određivani su slijedeći kliničko-biohemiski i hematološki parametri sa standardnim laboratorijskim metodama: glukoza, proteini, AF, SGOT, SGPT, kreatinin, urea, kalij, natrij, elektroforeza proteina, protrombinsko vrijeme, broj eritrocita i leukocita, hemoglobin, hematokrit i diferencijalna krvna slika.

Rezultati kliničko-biohemiskih analiza pokazuju da postoje razlike u vrijednostima pojedinih parametara (glukoza, SGOT, kreatinin) među štakorima oba izvora. Nismo našli razlike u hematološkim parametrima.

Naši rezultati pokazuju, da u većini parametara nema razlike, ali i da postoje određene posebnosti životinja iz pojedinih izvora, što treba uzeti u obzir kod izbora životinja za specifične pokuse u okviru pretkliničkih istraživanja.

OSNOVNI BIOHEMIJSKI PARAMETRI U SERUMU KUNIĆA RASE ČINČILA

Olga Pavlović, N. Popović, Blanka Bojović i Njegoslava Mijatović

Veterinarski fakultet, Beograd i Vojno medicinski centar, Novi Beograd

Autori su kroz ovaj rad ispitali osnovne biohemijeske vrednosti krvnog sera kunića rase Činčila, uzrasta 10 meseci, gajenih u istim uslovima i približno iste telesne mase. Kod 20 životinja ženskog pola i 20 životinja muškog pola, ispitana je koncentracija glukoze, ureje, kreatinina, ukupnih proteina i proteinских frakcija, holesterola, triglicerida i mokraćne kiseline, zatim enzimska aktivnost SGOT, SGPT i alkalne fosfataze. Također su ispitane koncentracije kalijuma, natrijuma, kalcijuma i neorganskog fosfora. Dobijene vrednosti su statistički obradene (X , Sd , Cv) i upoređene sa rezultatima drugih autora.

Kako su ova ispitivanja obavljena na homogenom materijalu, primenom standardizovanih metoda rada (kit sistemi za ispitivanje koncentracije i enzimske aktivnosti pojedinih sastojaka krvnog seruma i plazme na densitometru "Corning"), autori smatraju da će dobijene vrednosti biti koristan prilog određivanju biohemijskih normativa za kuniće rase Činčila, kao i za komparativnu biohemiju.

HEMATOLOŠKI STANDARDI ZA MIŠEVE VISOKOSRODENIH SOJEVA, KOJI SE UZGAJAJU U INSTITUTU "RUĐER BOŠKOVIC"

Snježana Rubić i Lidija Šuman

Institut "Ruđer Bošković", OOUR EBM, Zagreb

Određen je broj eritrocita i leukocita u krvi, te diferencijalna krvna slika za sojeve: CBA/HZgr, C3Hf/BuZgr, C57BL/GoZgr i RFM/RijZgr. Sve životinje bile su odrasle, u dobi od 11 do 13 tjedana (izuzetak su bili miševi soja C3Hf, stari 9 tjedana). Vrijednosti su odredene zasebno, s obzirom na spol. U svakoj grupi bilo je deset životinja.

Prosječni broj eritrocita u litri krvi iznosi $(9262 \pm 1721) \times 10^9$. Nema razlike u broju eritrocita između spolova, niti između navedenih sojeva.

Broj leukocita je promjenljiv. U litri krvi u prosjeku iznosi $(12742 \pm 2679) \times 10^6$. U odnosu na ženke u sojevima C3Hf i C57BL mužjaci imaju značajno povećani broj leukocita. S obzirom da se svi sojevi u Institutu "Ruđer Bošković" uzgajaju u konvencionalnim uvjetima, vrijednosti za leukocite, dobivene prilikom ovog mjerjenja, ne predstavljaju konačni prosjek.

& $\bar{X} \pm SD$

REKOMBINACIJA IZMEĐU LOKUSA E-beta I DUPLEKSA A-alfaA-beta
OTKRIVENA U NOVIM KONGENIČNIM SOJEVIMA IZVEDENIM OD
DIVLJIH MIŠEVA

I. Vučak, Z.A. Nagy i J. Klein

Zavod za fiziologiju, Medicinski fakultet, Zagreb i Max-Planck-Institut
für Biologie, Abteilung Immungenetik, Tübingen, SR Njemačka

Lanci alfa i beta u molekulama A i E na površini stanica određeni su lokusima A-alfa,A-beta i E-alfa,E-beta unutar mišjeg glavnog kompleksa gena tkivne podudarnosti H-2. Među standardnim visokosrođenim sojevima miševa nađene su rekombinacije između lokusa E-alfa i E-beta, ali nikada između lokusa E-beta i A-alfa ili A-beta. Smatralo se da se ta tri gena nasljeđuju zajedno. Lokus E-beta označava se A-e da se istakne da je to lokus subregije A čiji je proizvod dio molekule E.

Križanjem divljih miševa ulovljenih na različitim mjestima s miševima soja B10.BR ($H-2^k$) proizvedena su 33 kongenična soja B10.W. U tim sojevima nalazimo gene kompleksa H-2 od divljeg praroditelja ("W" od engl. wild=divlji) na genskoj osnovi visokosrođenog praroditelja. Upoznatih 27 novih haplotipova $H-2^{W1-W27}$ predstavljaju prirodne rekombinante u kojima se poznati aleli nalaze u novim kombinacijama ili u kombinacijama s novim, dosad nepoznatim alelima.

Za test celularne limfolize odabrane su takve kombinacije sojeva u kojima nastaju citotoksični limfociti sposobni prepoznati antigenske determinante na molekuli E (lancu E-beta) ciljnih stanica.

Ispitivanje soja B10.STA62 ($H-2^{W27}$) u testu celularne limfolize u tim kombinacijama sojeva pokazalo je da je to prva rekombinacija između lokusa E-beta i dupleksa gena A-alfa,A-beta. Time je potvrđeno da se lokus E-beta nalazi na telomeričkom odsječku kromosoma 17 u odnosu na gene A-alfa i A-beta. Nepotreban je naziv A-e za lokus E-beta kao i podjela na subregije.

B - EKSPERIMENTALNE TEHNIKE I MODELI

B - I

TRANSPLANTABILNI TUMORI MIŠEVA UZGAJANIH U INSTITUTU
"RUĐER BOŠKOVIC"

M. Boranić

Institut "Ruđer Bošković", OOUR EBM, Zagreb

U miševa koji se uzgajaju u Institutu, sporadično se opažaju spontano nastali tumori. Nekoliko tumora uspjelo se održati kao trajne linije, te služe kao modeli za istraživanja u eksperimentalnoj onkologiji. To su: limfatička leukemija miševa soja A, retikulosarkom miševa soja C57BL, mamarni karcinom miševa soja A, i planocelularni karcinom soja A. U obliku plakata (postera) pokazat će se osnovna svojstva spomenutih tumora: patološko-anatomska i histološka slika, brzina rasta, smrtnost domaćina i sl.

PRIMJENA OSMOTSKIH MINIPUMPA U FARMAKOLOŠKOM ISTRAŽIVANJU

D. Davila i Tatjana Davila

PLIVA Istraživački institut, Odjel medicine, Zagreb i
Institut za farmakologiju, Medicinski fakultet, Priština

Američka firma ALZA, Palo Alto, CA razvila je minijaturnu pumpu za male eksperimentalne životinje - ALZET osmotska minipumpa. Ova minipumpa se implantira u životinju. Samoproizvedenom snagom minipumpa tada oslobada otopinu s ispitivanom supstancijom. Ovo oslobođanje ovisno o vrsti minipumpe traje kontinuirano 1-4 tjedana. Pri tome nema nikakvih vanjskih veza između životinje i minipumpe, tako da je životinja budna, ona se slobodno kreće, hrani, pije vodu i slično. Minipumpa je cilindričnog oblika i sastoji se od kolapsibilnog rezervoara (fleksibilni i nepropusni materijal). Oko ovog rezervoara nalazi se sloj osmotskog sredstva u cilindru od semipermeabilne membrane. Ako se ovakva napunjena minipumpa izloži vodenoj sredini (=tjelesna tekućina) osmotsko sredstvo privlači vodu brzinom koja ovisi o semipermeabilnoj membrani. Privučena voda razvije hidrostatski tlak koji djeluje na fleksibilni rezervoar kojega postepeno pritiskuje. Na taj način otopina konstantnim tokom izlazi iz minipumpe kroz otvor s moderatorom protoka. Minipumpa je pogodna da se uvede subkutano ili intraperitonealno u miša ili štakora. Njome se postižu konstantni nivoi ispitivane supstancije u krvi ili tkivu tokom duljeg perioda. Na taj se način izbjegavaju ekstremne fluktuacije koncentracija koje se opažaju ako se supstancije daju u obliku tableta, kapsula, injekcija i slično. Razvoj ovih minijaturnih implantabilnih minipumpa omogućio je znatno širu istraživačku primjenu lijekova, hormona, peptida za koje je ovakav način aplikacije od presudnog značenja. Upotrebom ovih minipumpa može se na primjer veoma precizno kontrolirati mikroperfuzija tkiva, proučavati tolerancija i ovisnost, proučavati recepture, omogućava se pristup istraživanju biološke aktivnosti hormona, njihovih metabolita i analoga, omogućena je primjena tvari i lijekova u fetus. Osim toga upotrebom ovih minipumpa mogu se nadalje vršiti radiološka istraživanja, intraarterijska infuzija, infuzija u cerebrospinalni likvor, može se imitirati cirkadijalni ritam, vršiti farmakokinetska proučavanja, istraživati "rebound" fenomeni nakon prestanka davanja na primjer antihipertenziva, vršiti toksikološka ispitivanja, postavljati nove eksperimentalne modele. Ovim minipumpama primjenilo se do sada više od 300 različitih supstancija ili lijekova. Do danas je objavljeno preko 800 publikacija koje govore o upotrebi ovih minipumpa u farmakologiji, toksikologiji, fiziologiji, onkologiji, endokrinologiji, neurološkim znanostima, eksperimentalnoj psihologiji i zoologiji.

LABORATORIJSKA SVINJA U BIOMEDICINSKIM ISTRAŽIVANJIMA

V. Đoković

Institut za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije,
Beograd

Zbog šire primene u biomedicinskim istraživanjima, domaća svinja (*Sus scrofa domesticus*), još od davnina privlačila je pažnju brojnih istraživača. Blagodareći uticaju naučnika ukrštanjem se uspelo od domaće dobiti laboratorijska životinja.

Cilj izlaganja je upoznavanje sa odlikama i njene upotrebe kao modela u eksperimentalnim biomedicinskim istraživanjima. Iznete su i potrebno je da se znaju, normalne kliničko-biohemische vrednosti, histomorfološke osobenosti i infektivne bolesti sa osvrtom na zoonoze. Dobijanjem putem ukrštanja bele nepigmentovane patuljaste laboratorijske svinje ograničene telesne mase, uz očuvanje ranijih svojstava, pored ostalog, omogućena je i lakša manipulacija. Upotreba prasića kao modela dovela je do napretka u perinatologiji. Prasići kao modeli primenjuju se naročito u embriologiji, teratologiji, imunologiji, fiziologiji metabolizma, za ispitivanje različitih patogenih stanja u dece spontane i jatrogene prirode, za dobijanje kvalitetnog mleka i njegovih supstituenata kod novorođenčadi, za ispitivanje modela kod obolenja Kwashiorkor i Marazmusa. Laboratorijska svinja je u upotrebi u brojnim medicinskim istraživačkim centrima sveta.

ULOGA LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA U TESTOVIMA MUTAGENOSTI

Magdalena Eger

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

Postoji više test sistema za ocjenu mutagenosti kemijskih supstanci a najvažnije su one koje mogu dati relevantne podatke za ekstrapolaciju na čovjeka. Od laboratorijskih životinja najviše se koriste miševi i štakori kao integralni organizmi ili homogenati organa (jetra, testisi, bubrezi) te urin.

Jedna od glavnih metoda je "metoda posredstvom domaćina", ili tzv. "host-mediated assay". To je relativno jednostavna tehnika koja je razvijena sa ciljem da odredi sposobnost organizma da potencira ili detoksificira mutagено djelovanje neke supstance. Mikroorganizmi, kao indikator organizmi koji se ovdje koriste, su mutantni čije mutirano svojstvo može biti izmijenjeno ukoliko se tretiraju mutagenim agensom. Najčešće upotrebljavani su: bakterije *Salmonella typhimurium* i kvasac *Saccharomyces cerevisiae*. Metoda se sastoji u slijedećem: životinji se aplicira ispitivana supstanca i odmah zatim ubrizga indikator organizam. Nakon određenog inkubacionog vremena mikroorganizam se izdvaja iz organizma i zasijava na selektivnu podlogu da bi se odredila frekvencija eventualne mutacije. Na taj način reakcija ispitivane supstance i mikroorganizma odvija se posredno, u živom organizmu, za razliku u in vitro sistemu gdje je supstanca u direktnom kontaktu s indikator organizmom. Ako se, usporedbom efekata dobivenih u sistemima in vitro i posredstvom domaćina, pokaže mutageni efekt jedino posredstvom domaćina, zaključujemo da je došlo do biotransformacije supstance koja je tek metabolizmom sisavca iz promutagenta postala mutagen. Metoda ima više varijanti jer se agens i indikator organizam može unositi u životinju na različite načine. Aplikacija agensa može biti peroralno, intravenozno ili subkutano, a indikator organizam se unosi u peritonealnu šupljinu, jetru ili testise.

Ovom metodom dobiva se važan podatak za ocjenu podobnosti kemijskih supstanci u proizvodnji hrane, lijekova ili u druge svrhe kojima se unose takve supstance u organizam čovjeka.

SVINJA KAO OBJEKT ISTRAŽIVAČKOG RADA IZ OBLASTI RATNE RANE

D. Erdeljan, M. Albreht i D. Šćepanović

Vojno medicinska akademija, Beograd i Vojnotehnički institut, Beograd

Ispitivanje balističkih osobina referentnih vojničkih pušaka na živi cilj.

Dosadašnja ispitivanja balističkih osobina pušaka, sa kratkim kanalom rane, nisu se pokazala kao pogodna. Puščana zrna sa kratkim kanalom rane, približno se isto ponašaju sa manjim opsegom oštećenja tkiva. Puščani projektili dejstvuju predajom svoje kinetičke energije. Najveća predaja energije u funkciji dubine penetracije tj. dužine streljnog kanala, po činje desetak santimetara od ulaza i tada se pojavljuje oštra diferencijacija između projektila i pušaka različite proizvodnje i porekla.

U eksperimentu su korištene svinje rase Landrace 4 meseca stare 58-66 kg telesne mase. Pre ulaska u eksperiment svinje su anestezirane. Za premedikaciju je korišten sedativ Stresnil 4 mg/kg telesne mase i/m, a za anesteziju sedativ Hypnodil 10 mg/kg telesne mase i/v. Svinje su ostavljene na spontanom disanju. Na cilj su postavljene leđima na dole, vezanih i lako suspendovanih zadnjih nogu. Za cilj je obeleženo mesto u zadnjem donjem kvadratu buta, u gluteofemoralnoj regiji, tako da je pravac zrna bio perpendikularan na obe butine. Na ovaj način je postignuta dužina kanala rane od oko 22 cm. Na kožu je pre gađanja nanesena bakterija marker u tačno određenoj koncentraciji. Brzina zrna na ulazu i izlazu iz cilja je merena na principu fotočelija. Zaključak o stanju zrna posle izlaska iz cilja je donošen na osnovu prodora kroz paravan iza cilja. U kasnijem toku su uzimani brisevi i isečci tkiva radi mikrobioloških i patohistoloških analiza. Posle 6 časova vršena je primarna hirurška obrada rane.

Predaja energije kao i razaranje tkiva, progresivno raste posle 10 cm dužine kanala rane.

Svinja je pogodna za ovakva istraživanja jer postoji mogućnost ostvarivanja kanala rane željene dužine.

UZORKOVANJE KRVI PILETA KANILIRANJEM VENE CUTANAE ULNARIS

R. Fuchs, A. Fajdetić i Maja Peraica

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

U farmakokinetskim i biokemijskim istraživanjima često se nameće potreba uzimanja višekratnih uzoraka krvi pokušnih životinja u učestalim vremenskim razmacima. U takvim istraživanjima u peradi, pokazalo se da je opetovano vađenje krvi iz krilnih vena, i to u razmacima od svega nekoliko minuta, otežano stvaranjem obilnih hematomata. Zbog toga smo razradili metodu kaniliranja vene cutaneae ulnaris u piletu.

U pokušu smo uzeli bijele Leghorn piliće teške u prosjeku 1,5 kg, dobijene sa peradarske farme, a za kaniliranje smo upotrijebili polietilensku kanilu PE-90 firme CLAY ADAMS. U eterskoj narkози ispreparirali smo venu cutaneu ulnaris, njen distalni kraj podvezali i na proksimalnom kraju pripremili dva šava u razmaku od 1-2 mm za fiksiranje kanile. Škaricama za iris načinili smo otvor na veni i uveli kanilu u smjeru prema srcu, te je fiksirali prije pripremljenim šavovima. Prije uvođenja odrezali smo vrh kanile koso u dužini od nekoliko mm čime se sprečava prijanjanje venske stijenke na otvor kanile prilikom uzimanja uzorka. Da bi se spriječilo zgrušavanje krvi kanilu smo nakon svakog uzimanja uzorka ispunili 0,1% otopinom heparina u fiziološkoj otopini. Slobodan kraj kanile zatvorili smo skraćenom braunilom čime se sprečava spontano oticanje krvi i olakšava uzimanje uzorka. Za uzimanje svakog uzorka potrebno je pripremiti dvije štrcaljke, pri čemu jedna služi za uklanjanje heparina i prvih nekoliko kapi krvi, a druga za uzimanje uzorka. Da ne bi došlo do oštećenja vene, a time i ispadanja kanile, piletu smo fiksirali krila platnenim povojem.

U pokušima praćenja koncentracije mikotoksina u krvi, uzimali smo po 0,5 ml krvi svakih 10 minuta unutar 2 sata.

Metoda se pokazala vrlo uspješnom za višekratno uzimanje krvi u piletu, pri čemu je, čini se, veličina pileteta odnosno količina krvi limitirajući faktor u smislu uzimanja broja uzoraka.

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI PRIROĐENO-UBILAČKIH (NK) STANICA:
IZBOR POGODNE CILJNE STANICE

Jelka Gabrilovac¹, Maja Osmak¹ i Ž. Županović²

¹OOUR Eksperimentalna biologija i medicina, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb

²OOUR Centar za medicinske znanosti, Klinički bolnički centar, Zagreb

U nemogućnosti da nabavimo staničnu liniju mišjeg T limfoma YAC-1, koja se u svijetu koristi kao standardna metoda za određivanje aktivnosti NK stanica u miševa, ispitivali smo podobnost stanica triju trajnih linija koje se održavaju u našem laboratoriju, da se koriste kao ciljne stanice. Ispitivane su stanice slijedećih linija: K-562 (eritromijeloidna leukemija čovjeka), MOLT-4 (T leukemija čovjeka), te HeLa (karcinom cerviksa čovjeka). Efektorske stanice (NK) bile su stanice slezene miševa različitih sojeva.

Rezultati su pokazali slijedeće: (1) HeLa stanice najosjetljivije su na lizu NK stanica miševa, (2) intenzitet lize HeLa stanica proporcionalan je broju efektorskih stanica, (3) specifična liza HeLa stanica raste s vremenom inkubacije, a najranije se može otkriti nakon 18 sati, (4) u literaturi opisana NK aktivnost o dobi miševa zamijećena je pri visokom omjeru efektorskih i ciljnih stanica (200:1), (5) opažena je u literaturi opisana razlika nivoa NK aktivnosti u različitim sojevima miševa.

Na temelju navedenog smatramo da se stanice HeLa linije mogu koristiti kao pogodne mete za određivanje aktivnosti NK stanica u miševa, iako je specifična liza niža nego što je to opisano sa stanicama linije YAC-1.

PEPTIDOGLIKAN-MONOMER (PGM) STIMULIRA AKTIVNOST
PRIROĐENO-UBILAČKIH (NK) STANICA U SLEZENI MIŠEVA
IN VIVO

Jelka Gabrilovac¹, Maja Osmak¹, Ž. Županović² i Jelka Tomašić³

¹OOUR Eksperimentalna biologija i medicina, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb

²OOUR Centar za medicinske znanosti, Klinički bolnički centar, Zagreb

³Imunološki zavod, Zagreb

Peptidoglikan-monomer djeluje antitumorski usporavajući rast primarnog tumora i smanjujući broj metastaza u miševa (1). Kako u obrani organizma protiv tumora, kao i u sprečavanju metastaziranja, važnu ulogu igraju prirođeno-ubilačke stanice (2), ispitivano je da li je antitumorski učinak PGM-a posljedica aktivacije tih stanica. Za ispitivanje NK aktivnosti kao ciljne stanice korištene su stanice trajne linije HeLa (3).

Rezultati su pokazali (a) da jednokratna i/v injekcija PGM-a, u dozi koja djeluje antitumorski, pojačava aktivnost NK stanica u slezeni, (b) da se stimulatorni učinak ispoljava 1-2 dana nakon injekcije PGM-a, (c) da je stimulatorni učinak PGM-a na aktivnost NK stanica ovisan o dozi, (d) istovremeno sa pojačavanjem aktivnosti NK stanica injekcija PGM-a izaziva i splenomegaliju, praćenu pojačanjem sintezom DNA u slezeni.

Kako PGM ne djeluje direktno mitogeno (4), može se pretpostaviti da je splenomegalija izazvana indirektno, stimuliranjem makrofaga da luče IL-1, koji pak podstiče lučenje IL-2 - faktora rasta T limfocita, ali i stimulatora aktivnosti NK stanica.

Rezultati su dakle pokazali da PGM in vivo stimulira NK aktivnost u slezeni miševa. Aktivacija NK stanica mogla bi biti jedan od mehanizama njegovog antitumorskog djelovanja. Pri tome djelovanje PGM-a na NK stanice može biti direktno i/ili indirektno putem aktivacije makrofaga.

1. Hršak I., Tomašić J. and Osmak M. Immunotherapy of B-16 melanoma with peptidoglycan monomer. Eur.J.Cancer Clin.Oncol., 19:681, 1983.
2. Herberman R.B. Review article: Significance of natural killer (NK) cells in cancer research. Human Lymph. Differ., 1:63, 1981.
3. Gabrilovac J., Osmak M., Županović Ž. Određivanje aktivnosti prirođeno-ubilačkih (NK) stanica u miševa: izbor pogodne ciljne stanice. 1. Simpozij o lab. životinjama, 24 i 25. 9. 1984., Zagreb.
4. Hršak I., Tomašić J., Pavelić K. and Benković B. On the mechanism of immunostimulatory activity of monomeric peptidoglycans. Period.

INDUKCIJA KRONIČNOG RELAPSIRAJUĆEG EKSPERIMENTALNOG ALERGIJSKOG ENCEFALOMIJELITISA (CR-EAE) U ŠTAKORA

D. Ledić, H. Haller, M. Morović, P. Eberhardt i D. Rukavina

Zavod za fiziologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Rijeka

Najprikladniji eksperimentalni model za proučavanje patogeneze demijelinizacijskih bolesti, posebno multiple skleroze, je EAE, osobito njegov kronični relapsirajući oblik, kojega su prvi put 1977. godine uspjeli izazvati kod zamorčadi Wisnievski i Keith.

Budući da je uspjeh izazivanja CR-EAE ovisan o načinu senzibilizacije, vrsti, soju i dobi eksperimentalnih životinja (senzibilizacija homogenatom bijele tvari mozga u kompletnom Freundovom adjuvansu, višekratna kod majmuna, jednokratna kod nezrele zamorčadi soja 13 i Hartley), pokušali smo uspostaviti ponovljiv model CR-EAE kod štakora sojeva Y-59, AO, DA i F₁ generacije AOxDA. CR-EAE uspjeli smo izazvati samo kod štakora F₁ generacije AOxDA, koje smo senzibilizirali jednokratno u dobi od 6 do 11 tjedana, sa po 0,1 ml homogenata goveđeg mozga u CFA i sterilnoj fiziološkoj otopini subkutano u dorzum svake stražnje šape. Simptome i tok bolesti pratili smo tijekom 25 tjedana. Bolest je verificirana nalazom histopatoloških lezija CNS-a: perivaskularne infiltracije mononuklearima s demijelinizacijom.

Rezultati prikazanog dijela pokusa pokazuju da je kod štakora odabranih genetskih svojstava i nezrelog imunološkog i središnjeg živčanog sustava moguće jednokratnom senzibilizacijom izazvati kronični relapsirajući oblik EAE-a koji po svim svojim karakteristikama odgovara modelu ove bolesti u drugih eksperimentalnih životinja, te predstavlja dobar model za proučavanje patogeneze demijelinizacijskih bolesti kod ljudi.

PRIMJENJIVOST NOVE HRANILICE ZA MJERENJE POTROŠNJE HRANE U BIOMEDICINSKIM ISTRAŽIVANJIMA

E. Palka, Antonija-Nada Ćabov i D. Anžiček

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto
Institut, Oddelek za predklinične raziskave

Praćenje potrošnje hrane kod laboratorijskih životinja je jedan od obaveznih parametara u toksikološkim pokusima.

Od posebne važnosti je svakodnevno praćenje potrošene hrane u istraživanjima supstancija ugradenih u hranu.

Za mjerjenje potrošene hrane postoje posebne hranilice, koje su skupe i teško dostupne našim istraživačima.

Konstruirali smo jednostavnu hranilicu, koja je sastavljena iz dva lako sklopljiva dijela, a pričvršćuje se na žičani poklopac kaveza.

Primjenjivost nove hranilice ispitana je za praćenje potrošnje hrane kod štakora u trajanju od 21 dan, komparativno sa uobičajenim načinom hranjenja. 60 štakora soja Wistar (30 mužjaka i 30 ženki) držano je u plastičnim kavezima sa žičanim podom u standardnim laboratorijskim uvjetima. Svakodnevno je mjerena potrošnja i rasap hrane kod hranilica, kao i kod uobičajenog načina hranjenja. Hranilica se pokazala kao vrlo jednostavna i praktična za punjenje, vaganje, čišćenje i pričvršćivanje na poklopac kaveza.

Naša hranilica, radi svoje praktičnosti u rukovanju, te jednostavnosti i relativno lage izvedbe, može se s uspjehom koristiti u biomedicinskim istraživanjima u kojima je potreban parametar mjerjenja potrošnje hrane.

ISTRAŽIVANJE PASAŽE PROBAVNOG TRAKTA KOD PASA BEAGLE RENDGENOLOŠKOM METODOM

E. Palka, M. Šehić i Polona Vodopivec

KRKA tovarna zdravil, Institut, Oddelek za predklinične raziskave,
Novo Mesto i Zavod za rendgenologiju, Veterinarski fakultet, Zagreb

Brzina pasaže probavnog trakta je bitan faktor u procesu apsorpcije oralnih oblika lijekova. Brzina apsorpcije i postotak apsorbirane doze su osnovni parametri u ocjeni biološke upotrebljivosti lijekova, koja se vrši na ljudima i na laboratorijskim životinjama.

Cilj našeg rada je bilo određivanje vremena pasaže probavnog trakta kod pasa u uvjetima pokusa biološke upotrebljivosti. Tretman je bio izvršen na grupi 10 mužjaka hranjenih i natašte, metodom unakrsnog pokusa. Svaki pas dobio je po 5 želatinoznih kapsula ispunjenih BaSO_4 .

Sudbina apliciranog kontrastnog sredstva praćena je dijaskopski i rendgenografski pomoći poluvalnog pokretnog rendgenskog aparata u toku 24 sata nakon aplikacije.

Brže bubrenje i raspad kapsula u želucu kao i brže punjenje tankog crijeva kod pasa natašte nastaje oko 45 minuta nakon aplikacije.

Pasaža tankog i debelog crijeva je brža kod hranjenih pasa i iznosi 90 minuta za tanko i 4 sata za debelo crijevo.

Naši rezultati ukazuju na znatno kraće vrijeme raspoloživosti za resorpciju kod hranjenih pasa, dok kod pasa natašte raspoloživost je prisutna u toku 2 sata nakon aplikacije.

Dobiveni podaci su bitna osnova za oblikovanje biološke upotrebljivosti, kao i drugih farmakokinetičkih i predkliničkih studija kod pasa.

RAZREDIVANJE SERUMA ZA KLINIČKO-BIOKEMIJSKE ANALIZE U POKUSIMA NA PACOVIMA

P. Pavković i E. Palka

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto
Institut, Oddelek za predklinične raziskave

U dugotrajnim toksikološkim ispitivanjima lekova na pacovima potrebno je za određivanje kliničko-biokemijskih parametara višekratno oduzimanje krvi tokom pokusa. Pri tom jednokratno oduzeta količina krvi mora što manje uticati na fiziološko stanje životinja i na odaziv organizma na ispitivani lek. U našem istraživanju proučavali smo mogućnost da razredivanjem seruma smanjimo količinu oduzete krvi.

U pokusima smo primenili tehniku oduzimanja krvi kapilarom iz okularnog pleksusa u eterskoj anesteziji. Serum smo razredivali sa fiziološkom otopinom u razmeri 1:1, a za paralelne analize razređenog i nerazređenog serumu upotrebili smo uobičajene analitske tehnike.

Nadena je dobra korelacija između vrednosti dobijenih u razređenom i nerazređenom serumu za sledeće parametre: glukoza, kreatinin, bilirubin, proteini i alkalna fosfataza.

Smatramo, da je razredivanje serumu prikladan način za određivanje kliničko-biokemijskih parametara u pokusima sa višekratnim oduzimanjem krvi.

PACOV KAO ŽIVOTINJSKI MODEL U KARDIOVASKULARnim ISTRAŽIVANJIMA

D. Sušić i D. Kentera

Institut za medicinska istraživanja, Beograd

U radu koristimo nekoliko modela: 1. pacovi sa spontanom hipertenzijom (Okamoto-Aoki soj), 2. pacovi sa urođenom hidronefrozom i atrofijom medule bubrega (kao negativni model za ispitivanje uloge bubrega, posebno medule, u regulaciji arterijskog pritiska), 3. pacovi rezistentni na hipertenziju izazvanu solju (odgojeni u Institutu) i 4. sopstveni model hronične hipoksične plućne hipertenzije u pacova. Relativno jednostavno se u budnih i anestetisanih pacova mogu meriti arterijski pritisak (indirektnom metodom u repnoj arteriji i direktnom metodom posle postavljanja katetera u femoralnu ili karotidnu arteriju), frekvenca srca, minutni volumen srca (metodom dilucije indikatora), pritisak u plućnoj arteriji (merenje sistolnog pritiska u desnoj komori posle postavljanja katetera kroz jugularnu venu), volumen plazme (dilucija indikatora) i ekstracelularnog prostora (distribucioni volumen inulina), pritisak intersticijalne te čnosti (tehnika implantiranih kapsula), i iz dobijenih vrednosti mogu se izračunati razni izvedeni parametri kao npr. ukupni periferni i plućni sudovni otpor. Zbog lakog uzgoja pacova i srazmerno niske cene, mogućnosti da se stvore analozi patoloških stanja u ljudi (pacovt sa spontanom hipertenzijom smatraju se najboljim eksperimentalnim analogom esencijalne hipertenzije dok su pacovi sa hroničnom hipoksičnom plućnom hipertenzijom i hipertrofijom desne komore najpribližniji analog hroničnoj opstrukciji bolesti pluća i hroničnom plućnom srcu), i mogućnosti merenja osnovnih hemodinamskih parametara, pacove smatrano odličnim životinjskim modelom u kardiovaskularnim istraživanjima.

C - BOLESTI LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

C - I

LEPTOSPIROZA U BIJELIH MIŠEVA

H. Kovačić i M. Lacković

Veterinarski institut, Zagreb

U radu iznosimo rezultate bakterioloških pretraga na leptosirozu organa bijelih miševa jednog uzgoja.

Kod ispitivanja neškodljivosti jedne vakcine u laboratoriju koristili smo bijele miševe. Međutim, prilikom ispitivanja vakcine dolazilo je do ugibanja miševa, a da istovremeno vakcina nije izazivala nikakvih promjena u jednodnevne prasadi za koju je bila namijenjena. Uobičajenim patološko-anatomskim i bakteriološkim pretragama lešina miševa nismo mogli utvrditi uzrok ugibanja. Tragajući za uzrokom uginuća nakon razudbe lešina uginulih ili utamanjenih miševa, uzeli smo bubrege radi pretrage na leptosirozu. Bubrege smo nasadili na Korthofovo gojilište i inkubirali na 28°C. Mikroskopskom pretragom nasadenog gojilišta nakon izvjesnog vremena otkriven je rast leptospira. Serološkom metodom determinacije utvrđeno je da izolirane leptospire pripadaju serotipu sejroe. Iz rezultata pretraga proizlazi da su leptospire serotipa sejroe potpomognute aplikacijom vakcine bile uzrok uginuća bijelih miševa. Nadalje, dobiveni rezultati upućuju na to da kod pokusa želimo li dobiti valjane rezultate i spriječiti da osoblje koje radi s njima ne bude izloženo opasnosti od infekcije, moramo koristiti bijele miševe iz uzgoja slobodnih od leptosiroze. Usporedimo li nalaze serotipa leptospira u bijelih miševa s našim ranijim nalazima kod mišolikih sisavaca vidimo da se oni podudaraju.

HELMINTOFAUNA DIGESTIVNOG TRAKTA LABORATORIJSKOG MIŠA, PACOVA I ZAMORCA

Z. Mijatović

Farma laboratorijskih životinja Instituta za eksperimentalnu medicinu Vojno medicinske akademije, Beograd

Parazitske infekcije spadaju među značajnije probleme u uzgoju laboratorijskih životinja iz razloga što one mogu štetno uticati na zdravstveno stanje i produkciju životinja, sa ovim u vezi svakako i na ishod eksperimentirana za koje se one koriste.

Parazitološkom sekcijom 280 belih miševa ustanovljena je infekcija sa *Hymenolepis nana*, *Syphacia obvelata* i *Aspicularis tetraptera*. Ove vrste javile su se već kod životinja u drugom mesecu života i prisutne su bile sve do kraja njihovog ekonomskog veka.

Ekstenzitet infekcije sa *H. nana* i *S. obvelata* najviši je bio kod životinja starih od dva do pet meseci, a sa *A. tetraptera* u sedmom mesecu života.

Parazitološka sekcija 300 belih pacova ukazala je na infekciju sa *Hymenolepis nana* i *Syphacia muris*. Ove vrste po prvi put se pojavljuju u starosti od mesec dana i održavaju se do kraja ekonomskog polnog veka laboratorijskog pacova.

Ekstenzitet infekcije svoje maksimalne granice sa *S. muris* dostiže u periodu od prvog do četvrtog meseca života, a sa *H. nana* od trećeg do četvrtog.

Koprološkom pretragom 10 zamoraca u periodu od prve do osamdesete nedelje starosti, ustanovljena je infekcija sa *Paraspidodera uncinata*. Najveći broj inficiranih bio je tokom sedmog meseca života.

MIKOPLAZMOZNI OTITIS MEDIA ET INTERNA U MIŠEVA

T. Naglić¹ i M. Žilić²

¹Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti domaćih životinja,
Veterinarski fakultet, Zagreb

²Zavod za opću patologiju i patološku morfologiju,
Veterinarski fakultet, Zagreb

U jednom uzgoju specijalnih linija mlađih miševa što su služili za istraživanje tumora pojavili su se znakovi oboljenja dišnog sustava i poremećaja u kretanju. U početku bolesti pojedini su miševi šmrcali, šapicama trljali njušku i oči, imali su serozni iscijedak iz nosa, a ponekad i znakove konjunktivitisa. Kako je bolest napreduvala i širila se u uzgoju životinje su sve slabije uzimale hranu, imale su povećani trbuh, a koža na ekstremitetima i repu u pojedinih bila je cijanotična. U opri-like 12% životinja mogli su se zapaziti izraziti znakovi upale srednjeg i unutarnjeg uha: tortikolis uz kretanje u krug. Postotak uginuća među pojedinim linijama iznosio je od 5 do 15%. Patohistološkom pretragom uginulih ili žrtvovanih miševa redovito se mogao utvrditi rhinitis i upala srednjeg, odnosno unutarnjeg uha, a samo u nekoliko životinja ustanovljena je blaga intersticijska upala pluća i gnojni meningitis. Bakteriološkom pretragom u crijevu, jetri i plućima utvrđene su jedino ubikvitarnе bakterije (alfa ili beta hemolitički streptokoki, Escherichia coli i druge), ali ne u svih životinja. Pretrage obrisaka vanjskog slušnog kanala dale su negativan rezultat, a u mozgu su rijetko utvrđeni streptokoki. Parazitološkom pretragom isključena je invazija uzročnicima šuge. Materijali 6 žrtvovanih miševa pretraženi su na mikoplazme. Ti su mikroorganizmi ustanovljeni u punktacijama srednjeg uha svih pretraženih miševa, te u mozgu 2 i u plućima 3 miša. Na osnovi fizio-loških svojstava i serološkom reakcijom inhibicije rasta identificirani su kao Mycoplasma pulmonis. Nakon odstranjivanja životinja s izrazitim znakovima upale uha, liječenja antibiotikom tilozinom i poduzimanja odgovarajućih zoohigijenskih mjera uspjelo se djelomično sanirati uzgoj. Na osnovi kliničkih znakova, patomorfoloških nalaza, te izdvajanja i identifikacije uzročnika smatra se da su miševi bolovali od mikoplazmoze.

C - 4

NASLEDNO OBOLJENJE KUNIĆA - SPLAY LEG

N. Popović, D. Trajlović, M. Lazarević i M. Urošević

Veterinarski fakultet, Beograd i PIK "Tamiš", Pančevo

U ovom radu je opisano nasledno oboljenje kunića, od strane američkih autora označeno kao "Splay leg". Ovaj deskriptivni naziv (u slobodnom prevodu "iš čašena noge"), odnosi se na bolesno stanje pri kome kunić nije sposoban da izvrši abdukciju ekstremiteta i postavi se u uspravan položaj. Kako u literaturi ne postoji jedinstveno mišljenje o prirodi patološkog procesa koji dovodi do pomenute kliničke slike, autori su ob servirali veći broj bolesnih životinja, izvršili klinički i rendgenografski pregled, a kod manjeg broja životinja sa posebno izraženim manifestacijama oboljenja, uradili i biohemijske pretrage krvnog seruma.

VIRUSNA DIAREJA U LABORATORIJSKIH MIŠEVA

Višnja Radman i Erika Arslanagić

Imunološki zavod, Zagreb

Diareja laboratorijskih miševa predstavlja veliki problem u kolonijama miševa. Dosadašnja istraživanja u svijetu i u nas bila su usmjerena na proučavanje pojave, u čestalosti i etiologije diareje.

Pojavom diareje u našem uzgoju NIH sojeva laboratorijskih miševa isptali smo kretanje te bolesti u pojedinim mjesecima, prateći oscilacije temperature i relativnu vlagu u prostoriji. Izvršili smo histološka ispitivanja crijeva uginulih i žrtvovanih životinja, a elektronsko-mikroskopski pretražili smo stolicu bolesnih životinja.

Utvrđili smo da se virusna diareja javlja u miševa starih 10-15 dana, i to u prvom leglu, rijede u drugom dok se u trećem i četvrtom leglu ne pojavljuje. Virusna diareja javlja se sezonski (krajem jeseni do početka proljeća) u vrijeme najvećih oscilacija relativne vlage i temperature u prostoriji.

Histološkom pretragom crijeva uginulih životinja utvrđili smo kataralne do nekrotične promjene na crijevima. Elektronsko-mikroskopskom pretragom sadržaja tankog crijeva dokazali smo prisustvo virusnih čestica.

Naša zapažanja upućuju nas na zaključak da bolest ima skriveni tok i uvjetovana je stresom (veće oscilacije temperature i relativne vlage). Zato u sprečavanju virusne diareje miševa treba bezuslovno osigurati i odgovarajuće mikroklimatske i higijenske uvjete, te u toku eksperimentalnog i proizvodnog rada na njima voditi računa o mogućnosti provokacije bolesti. Ovo je posebno značajno za točnu interpretaciju rezultata rada na laboratorijskim miševima.

TRICHOSOMOIDES CRASSICAUDA, NEMATOD IZ UROGENITALNOG TRAKTA U ŠTAKORA

M. Škreblin

"PODRAVKA - Istraživanja i razvoj", Sektor za kemijsku sintezu i farmakologiju, Zagreb

Uzgoj laboratorijskih životinja, pa tako i štakora, u nas se većinom još uvijek odvija u konvencionalnim uvjetima. Zato se relativno često, uz bolesti laboratorijskih životinja razne etiologije, javljaju i parazitarne bolesti koje nerijetko ostanu neotkrivene.

Tijekom histološke pretrage organa pokusnih i kontrolnih štakora iz pokusa subakutne toksičnosti jednog preparata u blago hiperplastičnom, prelaznom epitelu mokraćnog mjehura nađeni su presjeci parazita *Trichosomoides crassicauda*.

T. crassicauda je relativno nepatogeni parazit koji u štakora ne izaziva klinički vidljive znakove bolesti. Osim u stijenci mokraćnog mjehura, javlja se u bubrežnoj zdjelici, uterusu i vagini divljeg i laboratorijskog štakora. U nekim kolonijama učestalost pojave tog parazita može biti i 100%. Životni ciklus mu je izravan. Ne prelazi na čovjeka.

Jajašca dospijevaju u probavni trakt, razvijene larve dospiju u krv, a odatle u pluća i druge organe. Krvotokom ulaze u bubreg i nastavljaju put u mokračni mjehur gdje parazitiraju.

U infestiranih životinja nije uočena erozija epitela, mokračni kamenci ili tumor mokraćnog mjehura što su neki autori dovodili u vezu sa *T. crassicauda*.

Činjenica da prvi nalaz tog parazita u nas datira iz 1953. (V. Benko), ukazuje da i danas treba raditi na boljoj profilaksi koja se sastoji u striktnoj izolaciji i onemogućavanju dodira životinje s vlastitom ili tuđom mokraćom.

D - ISHRANA LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

NUTRITIVNE POTREBE U UZGOJU LABORATORIJSKIH PASA

Č. Bogdanić, S. Petričević, A. Tomašič i I. Kadunc

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto

Obradene su specifične potrebe s obzirom na zahtjeve ispitivanja lijekova na laboratorijskim psima pasmine "beagle" u farmaceutskoj industriji. Poseban osvrt napravljen je na kategorije laboratorijskih pasa - rasplodne životinje, mladunčad i odrasli psi. Prikazana je nutritivna problematika, zdravstveni problemi vezani uz nju, te osnovni principi hraničbe s obzirom da postojeća gotova hrana na našem tržištu ne odgovara potrebama životinja za specifične namjene u farmaceutskoj industriji.

Tabelarno su prikazane potrebe kao i principijelna rješenja pojedinih manjkavosti kao i prijedlozi tehničkih postupaka na formiranje kompletnih obroka za različite kategorije pokusnih pasa.

Posebno je potrebno podvući koliko je pravilan pristup nutritivi laboratorijskih pasa važna karika u ispitivanjima lijekova. Pravilna hranidba i izbalansiran obrok ne samo da ima upliva na zdravlje i razvoj mladih životinja već i na odstupanja rezultata u toksikološkim, farmakodinamskim i farmakokinetskim ispitivanjima lijekova za humanu i veterinarsku upotrebu.

ISHRANA LABORATORIJSKIH PACOVA

Z. Mijatović, I. Rajić, Nevenka Milivojević i D. Mamula

Farma laboratorijskih životinja Vojno medicinske akademije, Beograd,
Veterinarski fakultet, Beograd i Veterinarski zavod, Beograd

Pacovi su monogastrične životinje i svaštojedi sa kratkim organima za varenje. Ne sintetišu esencijalne aminokiseline. Zbog enzimskog tipa varenja hrane ne podnose mnogo celuloze. Kod pacova se javlja koprofagija. Teško podnose glad.

Sadržaj najvažnijih hranljivih sastojaka u hrani za pacove koji prevenira simptome nedostatka u % iznosi: proteini 18-25, mast 5, celuloza 5, esencijalne aminokiseline oko 10, Ca 0.50, P 0.04, Na 0.05, Cl 0.05, Mg 0.04, K 0.36, S 0.03, mikroelementi u mg/kg: Cu 5, F 1, J 0.15, Fe 35, Mn 50, Se 0.10 i Zn 12, vitamin A 4.000 i D 1.000 IU/kg, u mg/kg hrane: E 30, K 50, holin 1.000, folna kiselina 1, pantotenska kiselina 8, niacin 8, B₁ 4, B₂ 3, B₃ 6 i B₁₂ 0.050 (NRC, 1978).

Primer odgovarajuće potpune peletirane smeše za pacove u %: kukuruz 40.5, ovas 10, ječam 10, sojina sa čma 15, brašno dehidrovane lucerke 2, stočni kvasac 5, ribilje brašno 7, mesno brašno 5, dikalcijum-fosfat 1, so 0.5, mineralno-vitaminski dodatak 1 i pinotan 3. Šmesa sadrži 22% proteina.

Pacovi jedu dnevno u proseku 15 g koncentrovane hrane. Hrane se po volji, a napajaju iz automatskih pojilica.

ISHRANA LABORATORIJSKIH MIŠEVA

I. Rajić, Z. Mijatović i Nevenka Milivojević

Veterinarski fakultet, Beograd i Farma laboratorijskih životinja Vojno medicinske akademije, Beograd

Miševi su monogastrične životinje i svaštojedi. Imaju kratak digestivni trakt siromašan mikroflorom. Ne sintetišu esencijalne aminokiseline. Hranu vare posredstvom enzima. Ne podnose mnogo celuloze u hrani. Kod miševa postoji koprofagija.

Poznavanje potreba u hranljivim materijama i hemijskog sastava hrane čini osnov pravilne ishrane. Potrebe nisu dovoljno izučene, a odnose se na nekoliko desetina hranljivih sastojaka. Sadržaj najvažnijih hranljivih sastojaka u hrani sastavljenoj od prirodnih hraniva kreće se u % u granicama: proteini 16-24, mast 4-12, BEM 45-55, celuloza 3.5-5, Ca 0.4-1.23, P 0.4-0.99, Na 0.36, Cl 0.12, vitamin A 500-15.000 i D 150-5.000 IU/kg (NCR, 1978).

Primer odgovarajućeg sastava kompletne peletirane krmne smeše za miševe u %: kukuruz 20, ovas 20, ječam 10, pšenično brašno 10, sojina sa čma 12, brašno dehidrovane lucerke 3, stočni kvasac 5, riblje brašno 5, obrano mleko u prahu 5, biljno ulje ili mast 2.5, stočna kreda 1, dikalcijum-fosfat 1.5, so 1, mineralno-vitaminski premiks 1 i pinotan 3.

Miševi konzumiraju SM hrane oko 15% od svoje telesne mase, a piju 2 dela vode na 1 deo SM hrane. Napajaju se po volji.

ISHRANA LABORATORIJSKIH ZAMORACA

I. Rajić, Z. Mijatović i Nevenka Milivojević

Veterinarski fakultet, Beograd i Farma laboratorijskih životinja
Vojno medicinske akademije, Beograd

Zamorci su monogastrični biljojedi koji se u prirodi hrane zelenim hranivima i plodovima. U laboratorijskim uslovima držanja hrane se suvom hranom. Ne sintetišu vitamin C i najidealnije su životinje za izučavanje skorbuta. Podnose visok sadržaj celuloze u hrani.

Potrebe zamoraca u svim hranjivim sastojcima se ne poznaju dovoljno. Sadržaj najvažnijih hranjivih materija u hrani sastavljenoj od prirodnih hraniva u % iznosi kako sledi: proteini 18-20, nezasićene masne kiseline do 1, celuloza 9-18, Ca 0.8-1, P 0.4-0.7, Mg 0.1-0.3, K 0.5-1.4, mikroelementi u mg/kg hrane: Zn 20, Mn 40, Cu 6, Fe 50, I 1, Se 0.1 i Cr 0.6, vitamini u mg/kg hrane: A 7, D 1.000, E 50, K 5, C 200, niacin 10, pantotenska kiselina 20, holin 1.000-1.500, folna kiselina 4, biotin 0.3, B₁ 2, B₂ 3, B₆ 3 i B₁₂ 0.010 (NCR, 1978).

Primer odgovarajućeg sastava kompletne peletirane krmne smeše za zamorce u %: ovas 24, ječam 10, pšenične makinje 10, sojina sačma 20, brašno dehidrovane lucerke 30, dikalcijum-fosfat 0.5, mineralno-vitaminski premiks 1 i pinotan 4.

Zamorci jedu dnevno 8-12 g hrane na 100 g telesne mase. Piju 3-7 delova vode na 1 deo SM hrane. Deo vode podmiruju iz zelene hrane.

ISHRANA LABORATORIJSKIH KUNIĆA

I. Rajić, Nevenka Milivojević i Z. Mijatović

Veterinarski fakultet, Beograd i Farma laboratorijskih životinja
Vojno medicinske akademije, Beograd

Kunići su monogastrični glodari i tipični biljojedi sa želudcom koji ima slepu vreću i cekumom velike zapremine. Koprofagija je fiziološka osobina kunića, koja se smatra zamenom za preživanje. Kunići jedu samo meki izmet. Imaju izrazito visoke potrebe u celulozi.

Potrebe kunića telesne mase 4 kg u KJNE procenjene su na 1.884 za skotne i 1.967 za dojne ženke: u proteinima u % hrane za skotne 17 i dojne ženke 19, a mlade u porastu i tovu, negravidne ženke i priplodne mužjake 16, celulozi za sve kategorije 12-14%, Ca 0.6-0.7, P 0.5-0.6 i NaCl 0.5%, vitamin A 10.000 i D 1.000 IU/kg. Kunići dnevno jedu 4% SM hrane računato od telesne mase, a piju 70 ml vode na kg telesne mase.

Kao biljojedi upućeni su na velik broj hraniva, prvenstveno zelena, gruba suva, zrnasta, korenasta i krtolasta.

U laboratorijskim uslovima držanja mogu se hraniti kompletnim krmnim peletiranim smešama, čiji primer sastava za mlade kuniće u porastu može ovako da izgleda: kukuruz 15, ječam 10, ovas 5, mekinje 10, stočno brašno 10, sojina sačma 15, brašno grube lucerke 20, brašno kukuruzne biljke 12, stočna kreda 1, dikalcijum-fosfat 0.5, so 0.5 i vitaminsko-mineralni dodatak 1%. Smeša sadrži proteina 16.11, celuloze 13.55, Ca 0.85 i P 0.50%

E - UZGOJ LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

NAŠA ISKUSTVA U GAJENJU LABORATORIJSKIH ŽIVOTINJA

S. Đorđević, D. Rašić i S. Janković

Fabrika farmaceutskih i hemijskih proizvoda "Zdravlje", Leskovac

Na bazi tridesetogodišnjeg rada na uzgoju laboratorijskih životinja izneta su naša iskustva o uslovima koje treba obezbediti za uspešan rad.

U prvom delu dat je kratak opis objekta, prostorija i ostalih uslova u kojima odgajamo životinje kao i način i vrsta ishrane.

U drugom delu rada, na dijagramima prikazana je produkcija laboratorijskih životinja (kunića, zamoraca i miševa) za poslednjih pet godina.

Posebna pažnja posvećena je problemima koji se javljaju kod uzgoja laboratorijskih životinja a naročito bolesti kokcidioze koja se u našoj dosadašnjoj praksi pokazala kao najveći problem.

Na kraju dat je način medikamentognog tretiranja životinja, preveniranje i dezinfekcija prostorija - svih mera koje se primenjuju u suzbijanju kokcidioze.

UZGOJ POKUSNIH ŽIVOTINJA NA FARMI TVORNICE LIJEKOVA KRKA

I. Kadunc, Marjeta Kincl, A. Tomašič i D. Živičnjak

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto

Na posteru su prikazani uvjeti uzgoja i držanja pokusnih životinja na vlastitoj farmi i to posebice pasa, kunića i laboratorijskih miševa. Prikazane su također prostorije i oprema sa posebnim osvrtom na zoohigijenske prilike i mogućnosti preventive.

Podjelom postera na tri tematska dijela prikazana su rješenja posebice za pojedine vrste životinja. Naglasak je dan na domaćoj opremi i vlastitim rješenjima, koji su proizvod rada domaćih stručnjaka.

Slikovito i tabelarno su prikazane pojedine faze rada na uzgoju, kao i rutinski zahvati koji se redovito sprovode.

Naravno nije zaboravljeno da se prikaže i efekat uzgoja s obzirom na morbiditet i mortalitet u uzgoju.

UTJECAJ STAROSTI I SEZONSKIH VARIJACIJA NA REPRODUKCIJU ŠTAKORA

D. Kello, M. Zanki i Mirka Buben

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

Sve šira primjena laboratorijskih životinja u reproduktivnim i teratološkim studijama uvjetovala je ova istraživanja sa ciljem da se utvrdi u kojoj mjeri godišnje doba i životna dob utječu na fertilitet štakora.

Analizirani su podaci o reproduktivnim svojstvima 14.244 ženki iz kolonije nesrođenog Wistar štakora uzgojenog u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, u razdoblju od 1965. do 1979. godine. Vitalna statistika pokazuje da se fertilitet u tom 15-godišnjem razdoblju kretala u rasponu od 57 do 72%, s prosjekom od 65%. Analiza rezultata hi-kvadrat testom ukazuje da kod mlađih ženki postoje statistički značajna odstupanja u odnosu na fertilitet u pojedinim mjesecima od očekivanih frekvencija ($P < 0,001$). Kod ženki mlađih od godinu dana ustanovljen je veći postotak trudnoća u ljetnim, a manji u zimskim mjesecima. Kod ženki starijih od godinu dana nije uočeno da godišnje doba ima utjecaja na fertilitet. Međutim, starost životinja imala je statistički značajan utjecaj ($P < 0,001$) na reprodukciju. Dok je u najmladoj grupi štakora, s prosjekom starosti od 5 mjeseci, postotak trudnoća bio na razini od 70%, dotle je u najstarijoj grupi, gdje su ženke bile stare oko 14 mjeseci, fertilitet pao na 53%.

Ova istraživanja pokazuju da godišnje doba i starost životinja imaju značajan utjecaj na reprodukciju štakora, čemu je potrebno posvetiti posebnu pažnju u reproduktivnim i teratološkim studijama.

MORTALITET MIŠEVA, PACOVA, ZAMORACA I KUNIĆA U FARMSKIM USLOVIMA ISHRANE, NEGE I DRŽANJA

Nevenka Milivojević, Z. Mijatović i I. Rajić

Farma laboratorijskih životinja Vojno medicinske akademije, Beograd
i Veterinarski fakultet, Beograd

Na osnovu ispitivanja uginuća mладунaca miševa, pacova, zamoraca i kunića do odlučivanja u toku I., II., III. i IV. kočenja majki držanih u konvencionalnim uslovima, a hranjenih potpunim peletiranim krmnim smešama (miševi, pacovi, kunići) i obrocima od zrna, sena i mrke (zamorci) utvrđen je visok mortalitet (tabelarni prikaz).

Pregled mortaliteta mладунaca do odbijanja

Broj ženki	Koće-nje	Broj rod.	Uginulo Broj	%	Pojedeno Broj	%	Uginule ženke Broj	%
Miševi:								
630	I	3.304	1.008	30,50	-	-	59	9,36
630	II	3.300	929	28,15	-	-	56	8,88
630	III	2.931	775	26,45	-	-	20	3,17
210	IV	888	275	30,96	-	-	-	-
Pacovi:								
600	I	4.214	1.613	38,27	265	6,28	-	-
600	II	4.654	1.186	25,48	201	4,31	1	0,16
600	III	4.235	760	17,94	331	7,81	-	-
420	IV	2.282	502	21,99	99	4,33	-	-
Zamorci:								
1.122	I	2.214	915	41,32	-	-	-	-
1.039	II	2.170	689	31,75	-	-	-	-
927	III	1.897	816	41,01	-	-	-	-
720	IV	1.362	648	47,57	-	-	-	-
Kunići:								
30	I	233	94	40,34	-	-	-	-
30	II	218	64	29,35	-	-	-	-
30	III	242	65	26,85	-	-	-	-
30	IV	228	58	25,43	-	-	-	-

Jalovost ženki miševa u sva četiri kočenja bila je 24,14, a ženki pacova

UGIBANJE ŠTAKORSKE MLADUNČADI U STANDARDNIM UVJETIMA UZGOJA

Marijana Peruzović, Sanja Milković-Kraus i Karmela Milković

Zavod za biologiju, Medicinski fakultet, Zagreb

Od 1970. godine užgajamo štakore soja Fisher u klimatiziranoj prostoriji sa kontroliranom vlažnošću i ishranom. U tim uvjetima smrtnost intaktne mladunčadi manja je od 3%. Međutim, u proljeće 1981. godine naglo se povećala smrtnost mladunčadi. U ovom radu prikazujemo rezultate ritma i moguće uzroke ugibanja.

Stelja u plastičnim kavezima sastoji se od drvenih strugotina (90% smreka i jela, 10% iverica). U traženju uzroka ugibanja po čeli smo prosijavati stelju. Navodimo rezultate preživljavanja u tri različita dobra raspona na neprosijanim i prosijanim strugotinama. Rezultate smo analizirali jednofaktorskom analizom varijance.

Iz podataka je vidljivo da kod štakorske mladunčadi na neprosijanoj stelji ugibanje započinje 10-tog dana života i povećava se do 16-tog dana, kad se veličina legla stabilizira. Oboljele životinje pokazivale su poremetnje disanja i simptome gušenja. Za čepljene nosnice pokušali smo ispirati fiziološkom otopinom. Pluća nismo analizirali. Sve je govorilo za to da su životinje ugibale od gušenja. Ugibanje je uslijedilo u doba kad se životinje počnu slobodnije kretati u kavezu i hraniti hranom majke. Pretpostavili smo zato da prašina u strugotinama izaziva ugibanje. Ugibanje štakorske mladunčadi nakon prosijavanja strugotina je bilo neznatno.

U zaključku naglašavamo da je kvaliteta strugotina bitan faktor u razvitku mladunčadi štakora i da bi se o tom pitanju trebalo voditi računa ukoliko želimo zdrave eksperimentalne životinje, dobre i pouzdane rezultate.

F - SLOBODNE TEME

UTJECAJ DNEVNOG RITMA NA VRIJEDNOSTI LD₅₀ KOD MIŠEVA

A. Hudoklin, Milica Murn, E. Palka

KRKA tovarna zdravil, Novo Mesto
Institut, Oddelek za predklinične raziskave

Na vrijednosti LD₅₀ utječu različiti brojni faktori, među ostalim uvjeti okoline, fiziološko stanje i kondicija životinja, te fizikalna svojstva substance. Biološki ritam je jedan od važnih faktora koji može utjecati na rezultate biomedicinskih istraživanja.

Ispitivali smo utjecaj dnevnog ritma na vrijednosti LD₅₀ acetilsalicilne kiseline (ASK) kod miševa.

Vrijednosti LD₅₀ su određivane kod miševa soja NIH oba spola, nakon oralne aplikacije ASK ujutro (6⁰⁰) i navečer (8⁰⁰). Usporedno su bile određivane koncentracije ASK u plazmi u različitim intervalima u toku 12 sati nakon aplikacije jedne od upotrebljenih doza. Koncentracije ASK u plazmi su određivane metodom po Trinder-u kao prisutnost salicilne kiseline. Vrijednosti LD₅₀ ASK kod miševa dobivene nakon jutarnje i večernje aplikacije se razlikuju. Isto tako razlikuju se i koncentracije salicilne kiseline u plazmi, koje su više navečer. Maksimalne koncentracije zabilježene su 1 sat nakon obje aplikacije.

Rezultati ukazuju da dnevni ritam ima bistveni utjecaj na vrijednosti LD₅₀ kod miševa: toksičnost ASK je viša u večernjim satima.

DEZINFICIRAJUĆE DJELOVANJE IZOSAN-G I HIBITANE ANTISEPTIČKE KREME NA POVRŠINAMA ODNOSNO NA KOŽI RUKU OSOBLJA U NASTAMBI ZA POKUSNE ŽIVOTINJE

M. Jakovina i Z. Marković

"PLIVA" Istraživački institut, Zagreb

U nastambi za pokusne životinje različite površine dezinficirane su vodenom otopinom preparata Izosan-G, koja je sadržavala oko 100 mg/l aktivnog klora u obliku NOCl. Površine podova i zidova u toj nastambi nakon mehaničkog čišćenja i ispiranja vodom višekratno prebrisavane sružvom natopljenom u spomenutu otopinu Izosana-G.

Staklene pojilice za životinje nakon ispiranja vodom bile su višekratno ispirane također spomenutom otopinom Izosana-G. Nakon toga dobro su isprane čistom vodom kako bi se uklonile rezidue klornog preparata.

Opisani postupak dezinfekcije podova, zidova i pojilica preparatom Izosan-G rezultirao je redukcijom broja bakterija na njima za oko 95%. Određivanje broja bakterija na spomenutim površinama i pojilicama izvršeno je uobičajenim bakteriološkim metodama uz pomoć tehnike briseva.

Redukcija broja bakterija na koži ruku (šake) osoblja koje radi s pokusnim životnjama izvršena je pomoću Hibitane antiseptičke kreme. Osoblje je prije rada sa životnjama na sapunom opranu i potom osušenu kožu šake nanosilo sloj spomenute kreme. Isti tretman ruku poduzimalo je i nakon rada sa životnjama.

Postotak redukcije broja bakterija na koži tako tretirane šake iznosio je gotovo 100%. Kontrola ove redukcije izvršena je pomoću tehnike otiska vršaka prstiju šake na agaru.

Spomenuti postupci dezinfekcije površina i pojilica Izosanom-G te kože šake Hibitane antiseptičkom kremom nezaobilazni su faktori u održavanju visokog higijenskog standarda u nastambi za pokusne životinje.

AKTIVNOST NEKIH ENZIMA U SERUMU GRAVIDNIH KUNIĆA

B. Kampf

Zavod za reprodukciju i klinika za porodiljstvo,
Veterinarski fakultet, Zagreb

U svrhu upoznavanja promjena metabolizma u pojedinim fazama gravidi-teta istražena je aktivnost transaminaza (GOT i GPT), laktat dehidro-genaze (LDH) i alkalne fosfataze (ALP) u serumu gravidnih kunića 1-og, 19-og i 30-tog dana graviditeta. Uočen je značajan pad aktivnosti ALP u prvoj polovici graviditeta ($P < 0,02$) i pred sam porod ($P < 0,001$). Aktivnost LDH raste kontinuirano tijekom graviditeta - u prvoj polovici statistički neznačajno, dok je taj porast u drugoj polovici značajan ($P < 0,005$). Aktivnost transaminaza je uglavnom konstantna tijekom cijelog graviditeta. Rezultati su uspoređeni sa vrijednostima drugih autora za negravidne i muške kuniće, gravidne štakore, govedo i čovjeka. Dobi-veni rezultati ukazuju na poseban značaj opisanih metoda u funkciji razvoja modela istraživanja na laboratorijskim životinjama za razumije-vanje kompleksa reproduktivnih procesa u životinja i ljudi.

RAZLIČITI ODGOVOR KORTIKOSTERONA PLAZME U MUŽJAKA I ŽENKI WISTAR ŠTAKORA NAKON PRIMJENE DIAZEPAMA I PIKROTOKSINA

Nela Lakić, Danka Peričić i H. Manev

OOUR Eksperimentalna biologija i medicina, Institut "Ruđer Bošković",
Zagreb

Diazepam, lijek koji potiče transmisiju inhibicijskog neurotransmitora gamaaminomaslačne kiseline (GABA-e) u mozgu, u dozi od 1.0 mg/kg izaziva pad razine kortikosterona u plazmi ženki, ali ne i mužjaka štakora Wistar soja. Primjena diazepama u dozi od 10.0 mg/kg uzrokuje izrazitiji porast razine kortikosterona (812% od kontrole) u ženki, nego u mužjaka Wistar štakora (264% od kontrole). Pikrotoksin, lijek koji blokira GABA-ergičku transmisiju, također povisuje razinu kortikosterona u oba spola štakora. Međutim, ako u mužjaka želimo postići sličan porast razine kortikosterona onome u ženki (više od 500%), potrebno je primijeniti tri puta veću dozu pikrotoksina.

Postojeće razlike u reaktivnosti mužjaka i ženki štakora na lijekove koji mijenjaju GABA-ergičku transmisiju mogle bi biti od značenja u lječenju poremećaja GABA-sustava.

FARMAKOKINETIKA TEOFILINA PRI KUNCU

A. Lenardič, Janja Urbančič Smerkolj in Polonca Grosman
LEK, TOZD Razvoj in raziskave, Ljubljana

Pri razvoju nove formulacije, četudi iz znane učinkovine, je potrebna določitev njene biološke uporabnosti. Na novo razvita formulacija je bil Teofilin sirup (10 mg/ml), ki smo ga primerjali z Aminophyllinum 100 mg tableto. Za izračun absolutne biološke uporabnosti pa smo teofilin aplicirali še intravensko.

Za pokus smo uporabili tri skupine po pet do šest belih novozelandskih kuncev. Živalim smo po štiriindvajsetnem stradanju zjutraj na tešče aplicirali po dve tablet na koren jezika. Sirup je bil apliciran po sondi, intravenske injekcije pa v ušesno marginalno veno, od koder smo tudi jemali vzorce krvi. Teofilin v plazmi smo analizirali spektrofotometrično.

Površine pod krivuljami plazemskih koncentracij smo izračunali po trapezoidnem pravilu C_{max} , t_{max} smo ocenili iz eksperimentalnih podatkov, konstante eliminacije pa iz linearne regresije premice $\ln C/t$.

Primerjave rezultatov, dobljenih pri obeh naših preizkušanih peroralnih formulacijah, so pokazale, da se formulaciji v obsegu in hitrosti absorpcije statistično signifikantno ne razlikujeta. Pri obeh smo dobili primerno biološko uporabnost.

Kunci v opisanih eksperimentalnih pogojih niso idealen model, ki bi dovoljeval direktno aplikacijo rezultatov na človeka. Ker pa gre le za primerjavo nove formulacije z že znano menimo, da je za orientacijo vrednosti biološke uporabnosti njihova uporaba upravičena.

UTJECAJ SPOLA NA LOKOMOTORNU AKTIVNOST I GABA SUSTAV U MOZGU ŠTAKORA I MIŠEVA

H. Manev, Tatjana Škrlec i Danka Peričić

OOUR Eksperimentalna biologija i medicina, Institut "Rudjer Bošković", Zagreb

Lijekovi koji djeluju na inhibitorni GABAergički neurotransmitorski sustav izazivaju različite efekte u mužjaka i ženki pokusnih životinja (1,2). S druge strane, poznato je da gamaaminomaslačna kiselina (GABA) može utjecati i na lokomotornu aktivnost. Brojanjem individualnih prelaza s jedne na drugu polovicu kaveza, unutar vremenskog intervala od 1 min., naišli smo na veću lokomotornu aktivnost u ženki nego u mužjaka Wistar štakora (33-63%), dok je kod CBA miševa nalaz bio obrnut (25-41% više prelaza u mužjaka). Ova razlika između spolova je bila vidljiva kod štakora starijih od 2 mjeseca. Iako kod mlađih štakora (40 dana) nije bilo razlike u lokomotornoj aktivnosti između spolova, oni su bili aktivniji od starijih štakora (80 dana). Mjerenjem koncentracije GABAe u pojedinim moždanim regijama (hipotalamus, cingularni korteks, cerebelum, nukleus kaudatus, hipofiza) nismo kod mlađih štakora našli nikakve razlike između spolova. Kod starijih životinja obaju spolova došlo je do porasta koncentracije GABAe u hipotalamu, te njenog pada u hipofizi. Pad koncentracije GABAe u hipofizi je bio veći u starijih mužjaka, te su oni imali 36% manju koncentraciju GABAe nego starije ženke.

Pokazane razlike između spolova, kao i utjecaj dobi na njihovo manifestiranje, zajedno sa različitom reaktivnošću životinja na GABAergičke lijekove (1,2), upućuju na potrebu da se o njima vodi računa u eksperimentalnom radu, kao i da se ispita njihovo eventualno značenje za humanu terapiju.

1. Lakić N., D. Peričić, H. Manev: Različiti odgovor kortikosterona plazme u mužjaka i ženki Wistar štakora nakon primjene diazepama i pikrotoksina. Prvi simpozij o laboratorijskim životnjama, Zagreb, 1984.

2. Peričić D., H. Manev: Utjecaj spola na pikrotoksinom izazvane konvulzije u štakora i miševa. Prvi simpozij o laboratorijskim životnjama, Zagreb, 1984.

UTJECAJ SPOLA NA PIKROTOKSINOM IZAZVANE KONVULZIJE U ŠTAKORA I MIŠEVA

Danka Peričić i H. Manev

OOUR Eksperimentalna biologija i medicina, Institut "Ruder Bošković",
Zagreb

Tijekom višegodišnjeg rada s lijekovima koji mijenjaju GABAergičku transmisiju (transmisiju posredovanu inhibicijskim neurotransmiterom gamaaminomaslačnom kiselinom - .GABA) zamijetili smo da mužjaci i ženke Wistar štakora različito reagiraju na primjenu ovih lijekova. U ovom smo radu htjeli detaljnije ispitati razlike u reaktivnosti jednako starih mužjaka i ženki štakora (Wistar) i miševa (CBA) na primjenu pikrotokksina, lijeka koji blokira GABA receptore, te stoga izaziva konvulzije. Pikrotoksin, primjenjen intraperitonealno u dozi 2,5 mg/kg bio je subkonvulzivan za mužjake, a u 92% slučajeva konvulzivan za ženke štakora. Dok u mužjaka ni 100% konvulzivna doza (6,0 mg/kg) nije izazvala ugibanje, u ženki je dolazilo do ugibanja i nakon primjene znatno nižih doza. Primjenjen miševima pikrotoksin je izazvao drugačiji učinak. Doza od 3,0 mg/kg bila je 100% konvulzivna u mužjaka, a u 42% slučajeva konvulzivna u ženki. Do ugibanja je dolazilo u mužjaka, ali ne i u ženki CBA miševa. I latencija pikrotoksinskih konvulzija bila je duža u ženki nego u mužjaka ovih miševa. Zbog spomenutih razlika u reaktivnosti spolova na primjenu GABAergičkih lijekova valjalo bi ispitati postoje li slične razlike i u ljudi, te da li su stoga miševi ili štakori pogodniji eksperimentalni model za ispitivanje ovih lijekova.

ISPITIVANJE HIPOGLIKEMIJSKOG UČINKA RAZLIČITIH PRIPRAVAKA NA MIŠEVIMA TRETIRANIM ALOKSANOM

M. Slijepčević i M. Hadžija

Institut "Ruđer Bošković", OOUR EBM, Zagreb

S odgovarajućom količinom aloksana može se u laboratorijskih miševa izazvati stanje trajne hiperglikemije uz relativno dugo preživljavanje (duže od šest mjeseci) uz poseban način timarenja. Takvi su miševi pogodni za ispitivanje hipoglikemijskog učinka različitih pripravaka koji se mogu aplicirati bilo parenteralno ili per os. Modificirali smo fotometrijsku metodu za dokazivanje glukoze tako da se koristi svega 0.025 mikrolitara krvi po uzorku. Tako je moguće odrediti životinje uzeti po nekoliko uzoraka u narednih nekoliko sati. Rezultati ispitivanja inzulinskih pripravaka, kao i biljnih ekstrakata, pokazuju da se može izazvati sniženje razine glukoze u krvi za dvadeset ili više posto, ili dapače, svesti koncentraciju glukoze na razinu glukoze u krvi zdravih miševa. Osim toga, može se odrediti i vremensko trajanje takvog učinka. Istovremeno, na ovom modelu može se ispitati i relativna toksičnost primjenjenih pripravaka.

ETIČKI PRISTUP ŽIVOTINJAMA U ZNANSTVENIM ISTRAŽIVANJIMA

Durdica Stubičan

Veterinarski fakultet, Zagreb

U većini znanstvenih istraživanja koriste se kao sredstvo i supstrat eksperimentiranja različite vrste i kategorije životinja, uključujući i one, koje su za taj rad već standardizirane.

Znanstveni i stručni radnici, od njih posebno veterinari, a zatim svi ostali, koji su na bilo koji način u vezi sa eksperimentalnim životinjama, moraju usmjeriti svoje djelovanje tako da, uvezši općenito, doprinesu poboljšanju života i dobrobiti i ljudi i životinja, za korist kojih se istraživanja i vrše. Odluke službenih organizacija to i zahtijevaju.

Dugi niz godina nastoji se eksperimentalne životinje zaštiti propisima, koji su odraz stupnja razvijenosti veterinarske profesije kao i socio-ekonomskih i društveno-političkih odnosa određene zemlje.

Opća načela tih propisa usmjerena su na područje uzgoja, držanja, njegovanja i prometa eksperimentalnih životinja, razmatrajući istovremeno i područja istraživanja u kojima se koriste životinje.

U stručnoj literaturi predmeti etičkih razmatranja o eksperimentalnim životinjama uključuju objašnjenja prava životinja kao živih bića zbog zajedničke geneze sa čovjekom, te humani odnos čovjeka prema njima. Zatim, točno se određuju razlozi vršenja znanstvenih istraživanja i jasno opisuju uvjeti pod kojima se eksperimenti vrše. Velika pažnja posvećena je problemu osjeta болji u životinja, anesteziji i načinima i uvjetima eutanazije životinja. Također u vezi s time, u svijetu su izražene smjernice za manju upotrebu živih životinja u eksperimentalne svrhe, i povećano je iznalaženje izbora drugih mogućnosti umjesto njihove upotrebe. U zaključnim etičkim razmatranjima izražava se potreba neprekidnog stručnog obrazovanja veterinara i svih ostalih profila ljudi potrebnih za područje eksperimentiranja sa životnjama, kao i neposredno informiranje stručnih krugova i javnosti općenito o poduzetim mjerama u smislu zaštite životinja, koje se upotrebljavaju u istraživanjima i obrazovanju.

DOLOČANJE OBSEGA ABSORPCIJE ^3H -DHETX IZ POSAMEZNIH SEGMENTOV ČREVESA PODGANE

Janja Urbančič Smerkolj, A. Lenardič in Z. Kopitar

LEK, TOZD Razvoj in raziskave, Ljubljana

Eden od pogojev, da lahko učinkovino uporabimo za pripravo formulacije z upočasnjenim sproščanjem, je tudi ta, da poteka absorpcije vzdolž vsega prebavnega trakta. Cilj študije je bil ugotovljanje plazemskih koncentracij s tritijem markiranega dihidroergotoksina (^3H -DHETX) po aplikaciji v izolirane segmente črevesa, izračun procentov absorpcije ter ocena enterohepatičnega ciklusa.

Uporabili smo Wistar podgane - Inštitut Jožef Stefan, obeh spolov, povprečne teže 260 g. Skupinam živali smo v etrovi anesteziji podvezali posamezne segmente črevesa, hkrati pa všili polietilenko cevko za aplikacijo učinkovine. Pri tem smo polovici živali žolčevode ohranili, polovici pa kanulirali.

Krvne vzorce smo jemali iz retrobulbarnega venskega pleteža s pomočjo hepariniziranih kapilar. Analizirali smo jih z merjenjem aktivnosti na beta scintilacijskemu števcu.

Pri skupinah živali s kanuliranimi žolčevodi smo ocenjevali procente absorpcije. Absorpcija je po obsegu primerljiva vzdolž celotnega prebavnega trakta in je največja v dvanajstniku. Izjema je želodec, kjer nismo ugotovili merljivih količin aktivne substance.

Ocena enterohepatičnega ciklusa pri živalih z ohranjenimi žolčevodi je pokazala, da je ta precej velik v dvanajstniku in upada distalno.

AUTORSKI INDEKS

A

Albreht M. B-5
Anžiček D. B-10
Arslanagić E. C-5

E

Eberhardt P. B-9
Eger M. B-4
Erdeljan D. B-5

B

Bogdanić Č. D-1
Bojović B. A-7
Boranić M. B-1
Božičković P. P-6
Buben M. A-1, E-3

F

Fajdetić A. B-6
Fuchs R. B-6

C

Cotič V. A-5

G

Gabrilovac J. B-7, B-8
Grošman P. F-5

C

Čabov A. A-2, B-10

H

Hadžija M. A-3, F-8
Haller H. B-9
Herman S. P-4
Hudoklin A. F-1

Č

Čuljak K. P-12

I

Ivančević N. P-3

D

Davila D. B-2
Davila T. B-2

J

Jakovina M. F-2
Janković S. E-1

Đ

Đoković V. B-3, P-5, P-10, P-13
Đorđević S. E-1

K

Kadunc I. D-1, E-2
Kampf B. F-3

Kello D. E-3, P-3, P-6, P-9
Kentera D. B-13
Kincl M. E-2
Klein J. A-9
Končar M. A-4
Kopitar Z. F-10
Kovačić H. C-1

L

Lacković M. C-1
Lakić N. F-4
Lavrič A. A-5
Lazarević M. C-4
Ledić D. B-9
Lenardič A. F-5, F-10
Lukač J. A-4

M

Mamula D. D-2
Manev H. F-4, F-6, F-7
Marković Z. F-2
Mijatović Z. C-2,D-2,D-3,D-4,D-5,E-4
Mijatović Nj. A-7
Milivojević N. D-2,D-3,D-4,D-5,E-4
Mirković K. E-5
Milković-Kraus S. E-5
Morović M. B-9
Mubrin Z. A-4
Murn M. A-6, F-1

N

Naglić T. C-3
Nagy Z.A. A-9

O

Osmak M. B-7, B-8

P

Palka E. B-10,B-11,B-12,F-1,P-2
Pavković P. A-6, B-12
Pavlović O. A-7
Peraica M. B-6
Perić J. P-1
Peričić D. F-4, F-6, F-7
Peruzović M. E-5
Petričević S. D-1
Popović N. A-7, C-4

R

Radman V. C-5
Rajić I. D-2,D-3,D-4,D-5,E-4,P-7
Rašić D. E-1
Rubić S. A-8
Rukavina D. B-9

S

Slijepčević M. A-3, F-8
Spaventi Š. A-4
Stubičan D. F-9
Sušić D. B-13

Š

Šćepanović D. B-5
Šehić M. B-11
Škreblin M. C-6
Škrlec T. F-6
Suman L. A-8, P-8

T

Tomašić J. B-8
Tomašić A. D-1, E-2
Traillović D. C-4
Turk J. A-6

U

Urbančič Smerkolj J. F-5, F-10
Urošević M. C-4

V

Vodopivec P. B-11
Vučak I. A-9

Z

Zanki M. E-3

Ž

Žilić M. C-3
Županović Ž. B-7, B-8
Živičnjak D. E-2

W

Wikerhauser T. P-11