

Krka
v medicini
in farmaciji

*Kompleksnost raziskav,
na katerih temelji ugled Krkinih zdravil
za uporabo v veterinarski medicini*




Krka v medicini in farmaciji

Krka se je v 60 letih iz majhnega farmacevtskega laboratorija razvila v eno od vodilnih generičnih farmacevtskih podjetij v svetu. Naša inovativna generična zdravila, tako imenovana generična zdravila z dodano vrednostjo, so plod lastnega znanja in izdelkom zagotavljajo ključne prednosti, ki jih omogočajo nove tehnologije za proizvodnjo učinkovin in farmacevtskih oblik. Razvijamo nove farmacevtske oblike (orodisperzibilne tablete, tablete s podaljšanim sproščanjem, kapsule s peletami itd.), ki so za bolnika primernejše in omogočajo nove načine jemanja. Pri oblikovanju svoje ponudbe pozorno sledimo obolenjem, ki najpogosteje pestijo sodobnega človeka. Ponujamo pester izbor kombinacij, jakosti in pakiranj. Terapevtsko enakovrednost izdelkov potrjujemo z bioekvivalenčnimi raziskavami in vivo.

S svojimi zdravili izvajamo mednarodne intervencijske raziskave (INTER-ARS, HEMERA, PAN-STAR, ESOLAS, ROSU-PATH, VICTORY), v katerih preverjamo odgovore na različna vprašanja. V neintervencijskih kliničnih raziskavah pa spremljamo bolnike v vsakdanji klinični praksi. Izbira zdravila, zdravljenja in preiskav ter spremljanje bolnikov ne odstopajo od ustaljenega načina zdravljenja. Izsledki raziskav z več kot 250.000 bolniki v 27 državah dokazujejo, da so Krkina zdravila učinkovita in varna pri širokem spektru bolnikov. Izsledke dokumentiramo in analiziramo ter objavljamo v mednarodnih strokovnih revijah. Tudi to prispeva k dejstvu, da strokovna javnost in bolniki Krkinim zdravilom zaupajo že desetletja.

V zbirki Krka v medicini in farmaciji smo izdali obsežno publikacijo, v kateri predstavljamo klinične raziskave s Krkinimi zdravili. Najdete jo na <http://www.krka.si/sl/za-strokovnjake/>. Pred vami je ponatis članka iz te publikacije. Upamo, da bo še utrdil vaše zaupanje v Krkina zdravila z dodano vrednostjo.



*Breda Barbič-Žagar
medicinska direktorica in glavna urednica*

Kompleksnost raziskav, na katerih temelji ugled Krkinih zdravil za uporabo v veterinarski medicini

Leon Ščuka,
Jernej Kužner,
Špela Miklič

Ključne besede

metaanaliza, raziskave *in vivo*, bioekvivalenca, ostanki zdravil, karenca, toleranca, flubendazol, fipronil, toltrazuril, enrofloksacin, prašiči, psi, mačke, bolhe, klopi, uši, teleta

Povzetek

Krkin program Veterina uporabnikom zagotavlja sodobne, učinkovite in varne veterinarske izdelke, ki so plod lastnega znanja in izkušenj ter dolgoletnega dela na področju veterinarske zdravstvene oskrbe. Ker regulatorni organi zahtevajo dokaze o varnosti in učinkovitosti naših zdravil za uporabo v veterinarski medicini, potekajo v okviru njihovega razvoja tudi raziskave *in vivo*. Vse raziskave *in vivo* izvajamo v skladu s predpisi, ki urejajo dobrobit živali, dobro laboratorijsko in klinično prakso ter navodili za izvajanje specifičnih raziskav.

Pri dokazovanju varnosti zdravila morata biti pri raziskavah *in vivo* izpolnjeni naslednji splošni zahtevi: zagotovljeni morata biti varnost potrošnikov, če bo veterinarsko zdravilo uporabljeno pri živalih, namenjenih za proizvodnjo hrane (raziskave ostankov), ter varnost živalske vrste, ki ji je zdravilo namenjeno (raziskave lokalne in sistemske tolerance). Za dokazovanje učinkovitosti morajo vse navedbe temeljiti na ugotovitvah raziskav *in vivo*. V Krki poleg teh raziskav uporabljamo več tehnik, s katerimi je mogoče raziskave *in vivo* nadomestiti z raziskavami *in vitro*, nadomeščamo pa jih tudi z znanstveno podprtimi mnenji.

Pregled raziskav *in vivo* razkriva veliko raznovrstnost raziskav, ki jih izvajamo v Krki, in omogoča vpogled v Krkine pristope na tem področju. Predstavljenih je nekaj nedavnih raziskav *in vivo*, ki so jih odobrili regulatorni organi in na izsledkih katerih temeljijo trditve v povzetkih glavnih značilnosti Krkinih zdravil.

Krkini strokovnjaki pripravljajo tudi metaanalize in sistematične preglede obstoječih raziskav, s katerimi preverjajo in združujejo njihove izsledke. Metaanalize omogočajo izpopolnjen način odkrivanja in proučevanja podatkov iz strokovne literature, dajejo verodostojne razlage ali celo odkrivajo novo znanje. Poleg tega nam lahko dajo praktične odgovore na sporna in nasprotujoča si klinična vprašanja ter prihranijo stroške dodatnih kliničnih testiranj.

Uvod

Krka znanje, ki ga pridobi pri razvoju zdravil za uporabo v humani medicini, vgradi v razvoj zdravil za uporabo v veterinarski medicini (veterinarskih zdravil). Namen raziskav *in vivo* je ustrezno dokazati varnost in učinkovitost Krkinih veterinarskih zdravil. Raziskave je treba izvajati v skladu z regulatornimi zahtevami in smernicami, dobro laboratorijsko in klinično prakso ter predpisi, ki urejajo dobrobit živali. Vsaka raziskava je velik projekt, ki ga sestavlja več kompleksnih postopkov, od zasnove in izvedbe do nadzora in zagotavljanja kakovosti. Nekatere postopke je treba za

raziskavo posebej razviti, na primer bioanalitični postopek, statistično analizo in provokacijske modele. V Krkinih raziskavah tesno sodelujejo strokovnjaki z več področij, ki si pri vsakodnevnem delu izmenjujejo znanje. V pregledu raziskav *in vivo* je opisanih nekaj raziskav, ki potekajo v Krki, in uporaba metaanalize kot učinkovitega orodja za kombinatno analizo raziskav *in vivo*, ki lahko privede do novih odkritij.

Novejše raziskave *in vivo*, na podlagi katerih Krka pridobiva dovoljenja za promet z veterinarskimi zdravili

Raziskave izločanja ostankov

Zaradi varovanja zdravja ljudi je treba pri vseh živalskih vrstah, ki so namenjene za proizvodnjo hrane in pri katerih bo uporabljeno veterinarsko zdravilo, določiti karenco. Podatek o karenci pove, koliko časa po uporabi zdravila mora preteči do začetka pridobivanja oziroma proizvodnje živil iz teh živali, da je zagotovljena varnost potrošnikov. Za določitev karence mora podjetje, ki je odgovorno za veterinarsko zdravilo, opraviti raziskave izločanja ostankov. S temi raziskavami določimo, kako hitro se iz užitnih tkiv, jajc, mleka ipd. izloči ostanek označevalca določene učinkovine in v kolikšnem času se raven ostanka označevalca zmanjša na vrednost, ki je pod določeno največjo mejno vrednostjo ostanka (maximum residue limit, MRL). Ker je Krka proizvajalka generičnih zdravil, lahko uporabimo obstoječe podatke in tako zmanjšamo število živali v poskusih (načelo treh R-jev) ter hkrati zagotovimo varnost potrošnikov. Takšen pristop z manjšim številom poskusnih živali je Krka uspešno uporabila v nedavnem postopku za pridobitev dovoljenja za promet za veterinarsko zdravilo. Ta tako imenovani potrditveni (konfirmativni) postopek še ni opisan v nobenih smernicah Evropske unije in je alternativni pristop, ki so ga predlagali Krkini strokovnjaki.

Potrditev karence za zdravilo Flimabend pri prašičih (1)

Flimabend vsebuje flubendazol, ki je benzimidazolski, metilkarbamatski antihelmintik s širokim spektrom delovanja, namenjen za peroralno dajanje prašičem, piščancem, puranom in divjim ptičam. Prisotnost flubendazola v užitnih tkivih po dajanju zdravila živalim, namenjenim za prehrano ljudi, ureja in nadzira Evropska komisija. Odbor za zdravila za uporabo v veterinarski medicini Evropske agencije za zdravila je določil MRL antihelmintika v prašičjem tkivu. Flubendazol je vključen v seznam snovi v Uredbi Komisije (EU) št. 37/2010 z 22. decembra 2009. Mejne vrednosti ostankov, ki zagotavljajo varnost potrošnikov, so navedene v tabeli 1.

Potrditveno raziskavo izločanja ostankov, s katero smo določili karenco za Flimabend, smo izvedli na prašičih. Dva zaporedna dneva smo uporabili po 2,5 mg flubendazola na kilogram telesne mase na dan. Zdravilo smo dajali šestim klinično zdravim kastriranim domačim prašičem, samcem in samicam, s telesno maso od 69,2 do 89,2 kg. Vse živali so oba dneva v 4 urah popile vso vodo s primešanim zdravilom. Vzorce tkiv smo v skladu s karenco referenčnega izdelka zbrali 96 ur po dajanju zdravila. Analizirali smo jih z bioanalitično metodo z uporabo ultra zmogljive tekočinske kromatografije s tandemsko masno detekcijo (UPLC-MS/MS) za določanje ostanka označevalca (flubendazola in (2-amino 1H-benzimidazol-5-il)(4fluorofenil)metanona). Podatki so prikazani v tabeli 1.

		Koncentracija ostanka označevalca (µg/kg)			
Karenca (dnevi)	Parameter	Mišice	Jetra	Ledvice	Koža in maščevje
4	razpon	< LOD do < LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LOD do < LLOQ
	LLOQ (µg/kg)	25	200	150	25
	MRL (µg/kg)	50	400	300	50

MRL (maximum residue limit) – največja mejna vrednost ostanka, Uredba Komisije (EU) št. 37/2010; LOD (limit of detection) – meja zaznavnosti; LLOQ (lower limit of quantification) – spodnja meja kvantitativne določitve

Tabela 1. Razpon koncentracij ostanka označevalca flubendazola v ciljnih tkivih

Količina ostanka označevalca flubendazola je bila 96 ur po dajanju zdravila v vseh tkivnih vzorcih precej manjša od MRL. Natančen pregled je pokazal, da je bila pod spodnjo mejo kvantitativne določitve. Koncentracije flubendazola so bile pri večini vzorcev pod mejo zaznavnosti, pri dveh od 24 vzorcev pa pod spodnjo mejo kvantitativne določitve. Koncentracije presnovkov flubendazola smo določili pri dveh od 24 vzorcev. Bile so v bližini spodnje meje kvantitativne določitve.

Opisana potrditvena raziskava izločanja ostankov dokazuje, da je 4-dnevna karencija, navedena za referenčno zdravilo, ustrezna tudi pri Flimabendu, če se za zdravljenje prašičev uporablja v odmerku po 2,5 mg flubendazola na kilogram telesne mase dva zaporedna dneva.

Raziskave varnosti

Raziskave varnosti veterinarskih zdravil morajo biti izvedene pri ciljnih živalskih vrstah (zdravilo je treba dati najbolj občutljivejši kategoriji ciljnih živalskih vrst, npr. mladim živalim). Takšne raziskave morajo biti zasnovane tako, da z njimi dobimo veljavno oceno varnosti zdravila (tudi pri prevelikem odmerjanju), in izvedene v skladu z regulatornimi zahtevami. Pri določanju parametrov za ocenjevanje varnosti, testiranjih in preiskavah ter pripravi statistične analize moramo biti zelo skrbni in natančni. Pri načrtovanju moramo upoštevati vse dosegljive (toksikološke) podatke o učinkovinah v zdravilu ter fiziološke lastnosti poskusnih živali (npr. hitro se spreminjajoče fiziološke vrednosti pri zelo mladih živalih v obdobju intenzivne rasti, občutljivost za določeno obliko stresa ali bolezni). Zaradi kompleksnosti, ki jo dodatno povečuje uporaba najbolj občutljivejših poskusnih živali, morajo biti njihova zasnova, spremljanje poteka in ocenjevanje podatkov pripravljene zelo natančno, da lahko zagotovimo nepristransko oceno varnostnih lastnosti zdravila.

Raziskava varnosti Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic za ciljno živalsko vrsto (2)

Fipronil je zdravilo za preprečevanje invazij psov in mačk z zunanjimi zajedavci. Varnost njegove uporabe smo preverjali s slepo nadzorovano raziskavo z vzporednimi skupinami naključno izbranih poskusnih živali iz ciljnih živalskih vrst. Pasjim mladičem pasme beagle obeh spolov (16 samičk in 16 samčkov), ki so bili ob prvi uporabi zdravila stari približno 8 tednov, smo zdravilo topikalno nanesli trikrat na 28 dni. Samičke in samčke smo razvrstili po telesni masi in jih naključno razporedili v kontrolno skupino in skupine, v katerih so prejeli odmerke, ki so bili enaki kot priporočeni odmerki oziroma trikrat in petkrat večji. Klinične spremembe, ki so se pojavile pri nekaterih živalih, smo odkrivali in prepoznali ter uvajali ustrezne ukrepe. Sočasni ukrepi in cepljenje niso vplivali na dobljene podatke, izvajali pa smo jih, ker so bili pri poskusnih živalih potrebni glede na njihovo starost in izvor. Pri ocenjevanju lokalnega prenašanja zdravila smo redno opazovali kožo živali, da bi odkrili znake vnetja ali spremembe videza. Pri posameznih živalih so se pojavile le manjše kozmetične spremembe, večinoma pri tistih, katerim smo nanašali petkratne priporočene odmerke zdravila. V skupini poskusnih živali, pri katerih smo uporabili priporočene odmerke zdravila, smo pri eni živali po prvem nanašanju opazili luščenje kože.

Pri ocenjevanju sistemske tolerance (varnostnega praga) smo redno spremljali določene parametre in dobljene podatke statistično analizirali. Telesna masa poskusnih živali se je povečala.

Povečanje srednje tedenske porabe hrane na žival je bilo v večini skupin podobno, le pri samičkah v eni skupini se je poraba hrane v prvih petih tednih zmanjšala. Po šestem tednu se je normalizirala. Preiskave so pokazale nekaj hematoloških in biokemičnih sprememb, ki so pri tej kategoriji živali (mladiči v dobi rasti) pričakovane:

- v eni skupini se je povečalo število trombocitov in bazofilcev (ne glede na dan);
- v eni skupini se je povečalo število belih krvničk in nevtrofilcev (ne glede na dan).

Med skupinami poskusnih živali in kontrolno skupino ni bilo statistično pomembnih razlik. Med samički in samičkami so bile razlike v teži izbranih organov (tkiv) in telesni masi. V nobenem organu ali tkivu ni bilo makroskopskih sprememb, ki bi lahko bile povezane z zdravilom. Analiza podatkov o sistemskega prenašanja je pokazala, da med poskusnimi skupinami in kontrolno skupino ni bilo statistično značilnih razlik.

Splošen sklep raziskave je bil, da je zdravilo pri 8 tednov starih pasjih mladičih varno tudi pri uporabi petkratnih priporočenih odmerkov.


Raziskave učinkovitosti

Raziskave učinkovitosti so potrebne, ker z njimi določimo in potrdimo pravilno uporabo zdravil pri posameznih odobrenih indikacijah. V industriji generičnih zdravil se pri večini zdravil najprej izvede bioekvivalenčna raziskava, ki pa ni primerna za vsa zdravila. Pri zdravilih za preprečevanje invazij z zunanjimi zajedavci so za dokazovanje učinkovitosti predpisane potrditvene raziskave o ustreznosti odmerjanja pri ciljnih živalskih vrstah (npr. psih in mačkah). Ker ni ustrezno validiranih metod *in vitro*, s to vrsto raziskav dobimo podatke, s katerimi potrdimo učinkovitost zdravila pri ciljnih živalskih vrstah. Izvajati jih je treba kot slepe in nadzorovane raziskave, ki zagotovijo zanesljive podatke o učinkovitosti zdravila. Če invazijo povzročimo umetno (pri tej vrsti raziskav je tak način lahko primernejši), je treba uporabiti zajedavce (npr. bolhe in klope) brez bolezni, ki se širijo s prenašalci, ker bi jih lahko prenesli na poskusne živali. V laboratoriju imamo več generacij kolonij zajedavcev, redno pa jih obnavljamo z divjimi sevi, da odražajo situacijo na terenu. Tovrstne raziskave so zelo zahtevne, ker je treba sočasno uporabiti dve vrsti poskusnih živali (ciljno živalsko vrsto in zajedavca). Učinkovitost je potrjena, če se v primerjavi z nezdravljenimi kontrolnimi živalmi invazija s klopi zmanjša za več kot 90 %, invazija z bolhami pa za več kot 95 %. Da bi dobili veljavno in zanesljivo oceno učinkovitosti, morajo biti kontrolne živali v vseh kontrolnih časovnih točkah invadirane z dovolj velikim številom zajedavcev (50 % bolh ali 25–50 % klopo, ki so bili uporabljeni za invazijo). Takojšnja učinkovitost se določa do 48 ur po uporabi zdravila (pri invadiranih živalih). Pri določanju dolgotrajne učinkovitosti se živali invadirajo enkrat na teden (provokacijska metoda), nato pa se po 48 urah preostali zajedavci odstranijo in preštejejo.

Kot primer raziskave učinkovitosti zdravila pri hišnih živalih so v nadaljevanju predstavljene raziskave s Krkinim fipronilom v obliki kožnih kapljic (priporočena je uporaba enkrat na mesec). Poskusi na mačkah so še posebej zahtevni zaradi znanih težav, ki so povezane z uporabo mačk kot poskusnih živali (npr. zaradi intenzivne nege dlake).

Potrditev učinkovitosti Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic pri zdravljenju in preprečevanju invazij z bolhami, klopi in grizočimi ušmi pri psih (3)

Takojšnje in dolgotrajno delovanje Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic smo ocenili v več laboratorijskih raziskavah, v katerih smo potrdili njegovo učinkovitost proti bolham (*Ctenocephalides felis*), klopom (*Rhipicephalus sanguineus* in *Dermacentor reticulatus*) in grizočim ušm (*Trichodectes canis*) pri psih ter najmanj enomesečno delovanje (tabela 2). Preizkušano zdravilo smo na dan 0 nanesli v priporočenih odmerkih (najmanj 6,7 mg fipronila na kilogram telesne mase) in na priporočen način (nanos na eno ali dve mesti med lopaticama). Zdravilo pri nobeni poskusni živali ni imelo neželenih učinkov.

	Raziskava A	Raziskava B	Raziskava C
Skupine poskusnih živali	Kontrolna skupina (n = 8), PVZ (n = 8), RVZ (n = 8)		
Vrsta zajedavca (število, uporabljeno za invazijo; izvor)	<i>Ctenocephalides felis</i> (100; Južna Afrika in Evropa) <i>Dermacentor reticulatus</i> (50; Evropa) <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (50; Evropa)	<i>Ctenocephalides felis</i> (100; Evropa)	<i>Trichodectes canis</i> (naravna invazija, ≥ 10 živih odraslih uš ali ≥ 2 živi uši + za življenje sposobna jajčeca pri ocenjevanju pred zdravljenjem; Evropa)
Podatki o živalih	24 psov (obeh spolov) starost: ≥ 4 mesece telesna masa: 11–18,6 kg	24 psov (obeh spolov) starost: 8–84 mesecev telesna masa: 10,3–18,4 kg	24 psov (obeh spolov) starost: odrasli telesna masa: 8,6–18,1 kg
Invazija	2 dni pred raziskavo, 7., 14., 21., 28. dan raziskave	2 dni pred raziskavo, 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56. dan raziskave	naravna invazija
Štetje zajedavcev	2., 9., 16., 23., 30. dan raziskave	2., 9., 16., 23., 30., 37., 44., 51., 56. dan raziskave	2., 7., 14., 21., 28., 35. dan raziskave

PVZ – preizkušano veterinarsko zdravilo; RVZ – referenčno veterinarsko zdravilo

Tabela 2. Raziskave za potrditev učinkovitosti Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic proti bolham, klopom in grizočim ušm pri psih

Pri določanju protiparazitskega delovanja preizkušane zdravila na odrasle oblike zajedavcev in primerjavi njegovega učinka z učinkom referenčnega zdravila ter podatki za kontrolne živali smo vse živali umetno invadirali z zajedavci in na koncu zajedavce prešteli. Srednja števila zajedavcev smo izračunali kot geometrične srednje vrednosti. Učinkovitost v primerjavi s kontrolno skupino smo izračunali po Abbottovi formuli:

$$\text{učinkovitost (\%)} = \frac{\text{kontrola} - \text{zdravljeni}}{\text{kontrola}}$$

Kontrola: srednje število živih zajedavcev v skupini nezdravljenih živali
Zdravljeni: srednje število živih zajedavcev v skupini zdravljenih živali

V raziskavah s klopi smo vrednotili žive nepritrjene klope ter pritrjene klope iz kategorij živi, ne-napiti; živi, napiti; mrtvi, napiti.

	Bolhe		<i>D. reticulatus</i>		<i>R. sanguineus</i>		<i>T. canis</i>	
	Kontrolna skupina	PVZ	Kontrolna skupina	PVZ	Kontrolna skupina	PVZ	Kontrolna skupina	PVZ
2. dan	77	0	27	2	25	2	37	5
Po 1 tednu	70	0	31	0	24	0	35	0
Po 2 tednih	67	0	30	0	22	0	32	0
Po 3 tednih	72	0	25	0	27	0	28	0
Po 4 tednih	58	0	36	1	34	3	27	0
Po 5 tednih	73	0	/	/	/	/	27	0
Po 6 tednih	82	0	/	/	/	/	/	/
Po 7 tednih	72	0	/	/	/	/	/	/
Po 8 tednih	77	2	/	/	/	/	/	/

PVZ – preizkušano veterinarsko zdravilo

Tabela 3. Učinkovitost (na podlagi geometrične sredine števila zajedavcev) Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic proti bolham, klopom (*D. reticulatus* in *R. sanguineus*) in ušem (*T. canis*) pri psih

Z raziskavo pridobljeni podatki dokazujejo, da Krkin fipronil v obliki kožnih kapljic pri priporočeni uporabi pri psih hitro zmanjša invazijo z bolhami, klopi in grizočimi ušmi. Zdravilo je zagotovilo do 8-tedensko zaščito pred ponovno invazijo z bolhami in do 4-tedensko zaščito pred invazijo s klopi in ušmi.

Učinkovitost Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic pri zdravljenju in preprečevanju umetne invazije mačk z odraslimi mačjimi bolhami (*Ctenocephalides felis*) in gozdnimi klopi (*Ixodes ricinus*) (4)

V dveh kliničnih raziskavah smo ocenili učinkovitost zdravila proti mačjim bolham (*Ctenocephalides felis*) in klopom (*Ixodes ricinus*) po umetni invaziji mačk (tabela 4). Mačkam smo topikalno nanesli priporočeni odmerek zdravila. Predpisani enkratni odmerek je bil 50 mg fipronila za eno žival (10,6–23,8 mg/kg), nanesli smo ga na dve mesti, na dno lobanje in 2 do 3 cm niže. Vse poskusne živali so zdravilo dobro prenašale in v nobeni raziskavi niso imele nikakršnih z zdravilom povezanih reakcij. Pojavile so se le prehodne kozmetične spremembe (npr. zamaščen videz ali zlepljene dlake) na mestu uporabe, vendar so pri večini živali minile v 48 urah.

	1. raziskava	2. raziskava
Skupine poskusnih živali	Kontrolna skupina (n = 8), PVZ (n = 8)	
Vrsta zajedavca (število zajedavcev pri vsaki invaziji; izvor)	<i>Ctenocephalides felis</i> (100; Evropa)	<i>Ixodes ricinus</i> (60; Evropa)
Podatki o živalih	16 mačk (obeh spolov) starost: ≥ 4 mesece telesna masa: 2–3,5 kg	16 mačk (obeh spolov) starost: > 8 mesecev telesna masa: 2,2–5,3 kg
Invazija	2 dni pred raziskavo, 7., 14., 21., 28., 35. dan raziskave	2 dni pred raziskavo, 7., 14., 21., 28., 35. dan raziskave
Štetje zajedavcev	2., 9., 16., 23., 30., 37. dan raziskave	2., 9., 16., 23., 30., 37. dan raziskave

PVZ – preizkušano veterinarsko zdravilo

Tabela 4. Raziskave za potrditev učinkovitosti Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic proti bolham in klopom pri mačkah

	Bolhe		<i>I. ricinus</i>	
	Kontrolna skupina	PVZ	Kontrolna skupina	PVZ
2. dan (takojsnja učinkovitost)	77	0	27	2
Po 1 tednu	70	0	31	0
Po 2 tednih	67	0	30	0
Po 3 tednih	72	0	25	0
Po 4 tednih	58	0	36	1
Po 5 tednih	73	0	/	/

PVZ – preizkušano veterinarsko zdravilo

Tabela 5. Učinkovitost (na podlagi geometrične sredine števila zajedavcev) Krkinega fipronila v obliki kožnih kapljic proti bolham in klopom (*I. ricinus*) pri mačkah

Pri kontrolnih živalih smo kljub znanim težavam pri uporabi mačk kot poskusnih živali zagotovili ustrezno stopnjo invadiraniosti. Raziskave so potrdile, da Krkin fipronil v obliki kožnih kapljic pri priporočenem odmerjanju pri mačkah hitro zmanjša invadiraniost z bolhami in klopi ter preprečuje ponovno invazijo z bolhami do 5 tednov, ponovno invazijo s klopi pa do 4 tedne.

Bioekvivalenčne raziskave

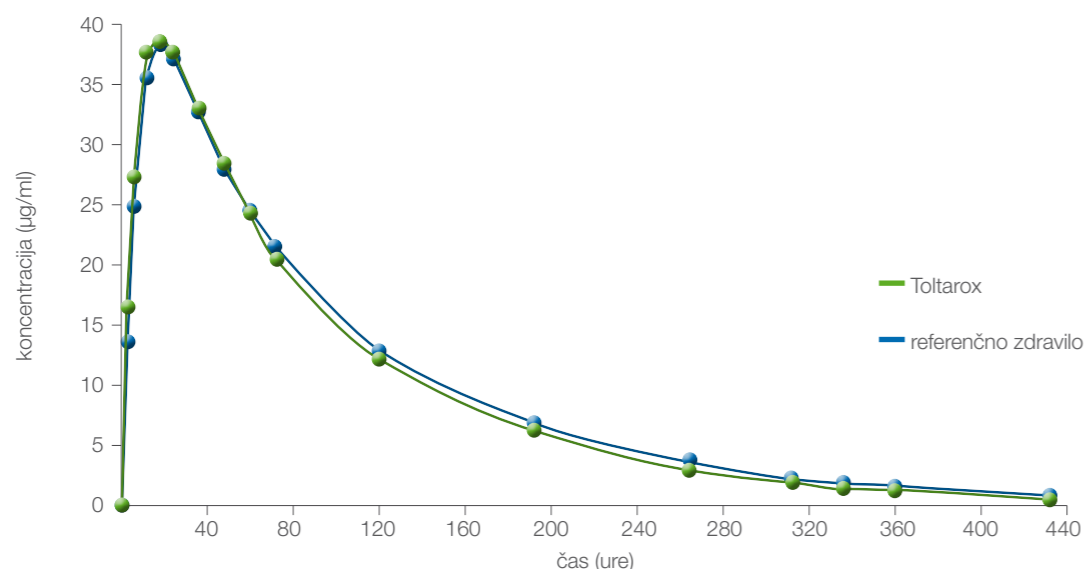
Pri generičnih veterinarskih zdravilih je treba dokazati, da je njihov profil v plazmi podoben profilu referenčnega zdravila pri vseh živalskih vrstah, ki jim je zdravilo namenjeno. Tovrstne raziskave pri živalih so precej zahtevne, ker morajo potekati v visoko standardiziranih razmerah, hkrati pa je treba natančno upoštevati dobrobit živali. V Krki na podlagi vseh dosegljivih podatkov izračunamo minimalno število živali, ki še zagotavlja zanesljive izide. Dodatna težava se pojavi, če je zdravilo namenjeno ciljni populaciji, ki se anatomsko in fiziološko bistveno razlikuje od odraslih živali, zato je raziskavo treba opraviti na mladičih.

Bioekvivalenčna raziskava Toltaroxa na teletih (5)

Toltarox vsebuje zdravilno učinkovino toltrazuril, derivat triazinona s kokcidiocidnim delovanjem na kokcidije iz rodov *Isoospora* in *Eimeria*, ki je namenjen za peroralno dajanje pujskom, teletom in jagnjetom. Bioekvivalenčno raziskavo *in vivo*, s katero smo dokazali biološko enakovrednost Toltaroxa in referenčnega zdravila, smo izvedli s ciljno živalsko populacijo – teleti, ki še ne prežvekujejo (starimi 8–32 dni, s telesno maso 38,5–74 kg). Zaradi dolge razpolovne dobe izločanja zdravilne učinkovine smo morali uporabiti obliko raziskave z vzporednima skupinama. Preizkušana zdravila smo živalim dali v enkratnem odmerku po 15 mg toltrazurila na kilogram telesne mase. Pri dajanju smo uporabili sesalni refleks, ki smo ga spodbudili tako, da smo jim v gobček potisnili prst. Živali so med raziskavo dobile priporočeno količino mleka, začetna krmna mešanica in voda pa sta jim bili na voljo po potrebi, razen v standardiziranem obdobju odmerjanja preizkušane zdravila. Ker je prandialno stanje vir velike variabilnosti, smo v dnevih odmerjanja zdravila uporabili naslednjo standardizacijo: živali smo eno noč pred dajanjem zdravila postili (najmanj 10 ur) in jih nahranili eno uro po dajanju zdravila. Tekočino smo jim odtegnili le eno uro pred vsakim dajanjem zdravila in jim jo dali že eno uro po odmerku.

Zaradi kompleksnosti raziskave, saj je bila razpoložljivost telet odvisna od pogostosti porodov, in zaradi dolge razpolovne dobe izločanja zdravilne učinkovine je klinična faza raziskave potekala približno štiri mesece.

Vzorci plazme smo analizirali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) s fluorimetrično detekcijo. Podatke smo dobili pri 55 živalih, ki so bile naključno razvrščene v dve skupini: v eni smo uporabili Toltarox, v drugi pa referenčno zdravilo. 90-odstotni interval zaupanja za razmerji (med preizkušanim in referenčnim zdravilom) srednjih vrednosti (dobljenih po metodi najmanjših kvadratov iz analize ANOVA) logaritemsko inverzno transformiranih farmakokinetičnih parametrov AUC_t in c_{max} je znotraj intervala od 80 do 125 %, kar velja za dokaz bioekvivalence. Podobnost profilov primerjanih zdravil v plazmi je tako potrjena in je razvidna tudi iz diagrama (slika 1).



Slika 1. Primerjava srednjih profilov toltrazurila v plazmi po dajanju Toltaroxa in referenčnega zdravila teletom

Metaanaliza in sistematični pregled

Uvod

Metaanaliza je metoda pregledovanja in kombiniranja rezultatov več neodvisnih kliničnih poskusov. (6) Raziskovalcem omogoča, da združujejo rezultate in dognanja več raziskav. Posebno pomembna je pri potrjevanju učinkovitosti zdravljenja, ker posamezne raziskave ne omogočajo pregleda nad celotno obravnavano problematiko, navadno so tudi narejene na premajhnih vzorcih,

zato ne morejo kvantitativno opredeliti, kakšen je vpliv zdravljenja, niti testirati ničelne hipoteze. Pred uporabo metaanalize so izsledke raziskav primerjali opisno, kar pa je bilo lahko zavajajoče in subjektivno.

Kratek povzetek metaanaliznih postopkov zajema naslednje:

1. definicijo problema in merilo za vključitev raziskav;
2. pozicioniranje raziskav, klasifikacijo in kodiranje značilnosti posameznih raziskav ter kvantitativne meritve njihovih značilnosti (lestvica);
3. združitev podatkov in primerjavo z značilnostmi raziskav (analiza in razlaga izsledkov);
4. poročilo o izsledkih. (7–10)

Postavka	Opisni pregled	Sistematični pregled
Namen	pogosto široko zastavljena vprašanja	točno določena klinična vprašanja
Viri in način pregledovanja	niso točno določeni, lahko so pristranski	izčrpni viri in definirana strategija pregledovanja
Izbira	običajno ni specificirana, lahko je pristranska	temelji na merilih, enotna uporaba
Ocena	variabilna	stroga kritična ocena
Sinteza	kvalitativna	kvalitativna ali kvantitativna (metaanaliza)
Povzetki	včasih podprti z dokazi	običajno podprti z dokazi

Tabela 6. Razlike med opisnim in sistematičnim pregledom (10)

V preteklih dveh desetletjih se je uporaba metaanalize razširila na vsa znanstvena področja. Posebej pogosto jo uporabljajo v medicini, kjer sta pogosti še dve drugi metodi – sistematični pregled in uporaba z dokazi podprte medicine. Predvsem v medicini sta se razvili še analiza odločanja ter analiza stroškov in učinkovitosti. Vse te metode so povezane, zadnji dve pa sta nadgradnja prvih dveh. (8–13). Sistematični pregledi so natančni povzetki najboljših dokazov, ki se nanašajo na točno določena klinična vprašanja. Po vsem svetu so ustanovili celo posebne centre, npr. Kohranova središča, ki opravljajo sistematične preglede strokovne literature in svoje izsledke objavljajo v bazah, ki hranijo podatke o najprimernejšem zdravljenju določenih bolezni. Tako so v pomoč pri sintezi najboljših dokazov za zdravljenje oziroma vzpostavljanje najboljše zdravniške prakse. Rečemo lahko, da gre za metaanalizo v širšem smislu, saj jo sicer definirajo samo kot statistično metodo združevanja izsledkov raziskav. V veterinarski medicini je ta stroka še v povojih, saj takšnih centrov še ni. (14)

Sistematični pregled in metaanaliza podatkov o učinkovitosti enrofloksacina v zdravljenju domačih živali (15)

V naši raziskavi smo pregledali strokovno literaturo, v kateri je opisana uporaba enrofloksacina pri domačih živalih. Poleg metaanalize smo opravili sistematični pregled in na koncu ovrednotili glavne ugotovitve.

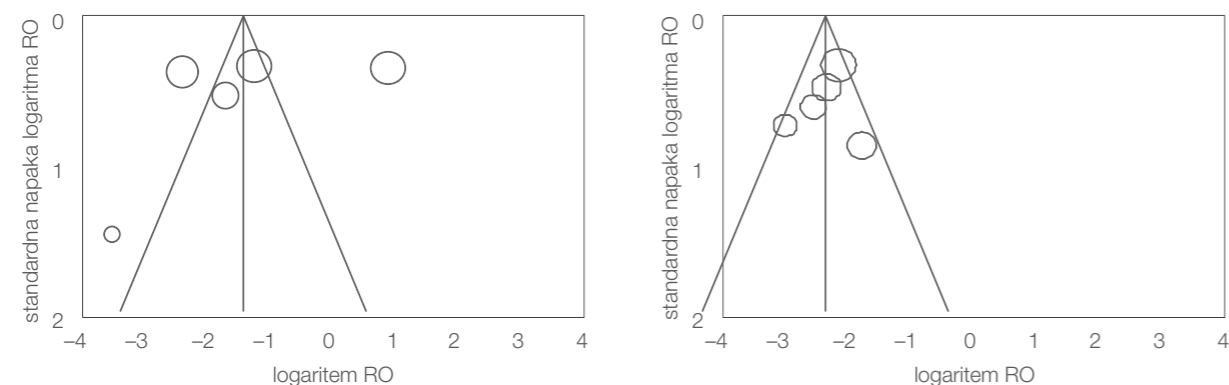
Pred približno 28 leti so v klinično veterinarsko medicino uvedli fluorokinolone, ki so napovedovali novo obdobje v razvoju protimikrobnih zdravil. Zaradi širokega spektra delovanja in odličnih, klinično pomembnih farmakokinetičnih lastnosti ter majhne toksičnosti – kar je bila velika prednost pred drugimi skupinami antibiotikov – so veljali za skoraj idealna protimikrobna zdravila.

Dobili smo 919 člankov, kar je bila naša začetna zbirka raziskav. Po kritičnem pregledovanju in vrednotenju smo za pregled izbrali 237 raziskav: 110 iz zdravstvenega varstva prašičev, 67 iz zdravstvenega varstva prežvekovalcev in 60 iz zdravstvenega varstva perutnine.

Za posamezne živalske vrste smo pri raznih okužbah pregledali in ovrednotili učinkovitost zdravljenja z enrofloksacinom. Za vsako zdravljenje smo naredili posebno metaanalizo in jo grafično prikazali. Kot velikost učinka smo v večini primerov izbrali razmerje obetov (RO).

Pripravili smo 19 metaanaliz o uporabi in učinkovitosti enrofloksacina v zdravljenju bolezni prašičev, perutnine in prežvekovalcev (pretežno goveda) in v sedmih primerih poleg tega izračunali velikosti učinka (RO) za specifične parametre.

S sistematično metodo pregledovanja smo zagotovili ponovljivost metaanalize. Homogenost raziskav smo grafično ocenili z lijakastim diagramom (slika 2). Pri heterogenih metaanalizah smo poleg tega izračunali skupno velikost učinka, za kar smo uporabili model naključnega izračuna.



RO – razmerje obetov

Slika 2. Lijakasta diagrama – primer heterogenosti (levo) in homogenosti (desno)

Poleg podatkov iz kliničnih raziskav smo pregledali tudi podatke o občutljivosti bakterij za enrofloksacin *in vitro*. Tudi izsledke tega pregleda smo upoštevali pri končnem mnenju o izsledkih posameznih metaanaliz učinkovitosti enrofloksacina. V sistematičnem pregledu smo učinkovitost enrofloksacina primerjali z učinkovitostjo drugih protimikrobnih zdravil. (15)

Izsledki

Enrofloksacin je bil zelo učinkovit v zdravljenju vseh okužb z *E. coli* in salmonelami pri prašičih in perutnini ($p < 0,001$). Izsledki so poleg tega pokazali, da bodo potrebne nadaljnje raziskave o kolibacilozi in salmonelozi pri govedu. Pri govedu je bilo *in vitro* proti enrofloksacinu odpornih 11,8 % sevov *E. coli* ($n = 195$), 1,8 % sevov *E. coli*, izoliranih iz vimena ($n = 1695$), in 8,4 % sevov salmonelle ($n = 1211$).

Iz podatkov je razvidna velika učinkovitost enrofloksacina v zdravljenju okužb dihal pri vseh domačih živalih ($p < 0,01$). Pregled vseh ugotovitev (*in vivo* ter *in vitro*) je pokazal, da je enrofloksacin učinkovit v zdravljenju mikoplazemskih okužb perutnine in prašičev, da pa bodo pri govedu potrebne nadaljnje raziskave.

Metaanaliza podatkov o uporabi enrofloksacina pri perutnini je pokazala, da je učinkovit v zdravljenju pastereloze pri puranih ($p < 0,001$) ter kužne korice, stafilokokoze in okužbe z *R. anatipestifer* pri racah ($p < 0,001$). Navedene podatke so potrdile ugotovitve o veliki občutljivosti teh povzročiteljev za enrofloksacin *in vitro*.

V primerjavi s kontrolno skupino je bilo zdravljenje prašičev z enrofloksacinom v preizkušani skupini pomembno učinkovitejše pri sindromu mastitisa, metritisa in agalaktije (sindrom MMA; $p = 0,002$), okužbah sečil ($p < 0,05$) in streptokoknih okužbah (manj poginov, $p = 0,045$). Te podatke so potrdili izsledki o veliki občutljivosti teh povzročiteljev za enrofloksacin *in vitro*. Pri Gläserjevi bolezni razlika med zdravljeno in kontrolno skupino ni bila značilna ($p = 0,25$), vendar je bil povzročitelj (*H. parasuis*, $n = 124$) stoddostno občutljiv za enrofloksacin. Pri eksudativnem epidermitisu prašičev je bila občutljivost povzročitelja *S. hyicus* za enrofloksacin velika (98,3 %, $n = 744$).

Da bi lahko odgovorili na kompleksna vprašanja o mastitisu pri govedu, bi morali izvesti še eno ali dve dodatni raziskavi o enrofloksacinu, ker podatki, ki smo jih pridobili do zdaj, kažejo, da enrofloksacin ni učinkovitejši od zdravil, ki so jih uporabili v kontrolnih skupinah (fiksni model: RO = 0,3, $p = 0,5$; naključni model: RO = 1,19, $p = 0,79$). Toda podatki o občutljivosti povzročiteljev mastitisa *in vitro* so ugodni. Zaradi neznačilne razlike med zdravljeno in kontrolno skupino ($p = 0,9$) bi bila tudi o zdravljenju endometritisa pri govedu potrebna dodatna raziskava, čeprav so bili izsledki v prid zdravljenju z enrofloksacinom. (15)

Sistematični pregled in metaanaliza podatkov o učinkovitosti enrofloksacina pri okužbah perutnine z *E. coli*

Analiza je zajela 20 raziskav, od katerih smo jih osem vključili v metaanalizo, druge pa smo uporabili za oblikovanje profila občutljivosti bakterij za enrofloksacin.

Sistematični pregled je zajel 21.948 živali, od katerih jih je bilo 11.303 vključenih v skupine, ki so v različnih raziskavah dobivale enrofloksacin, 10.645 pa v ustrezne kontrolne ali alternativne skupine. (16–36)

Iz podatkov v grafu je razvidno, da je enrofloksacin učinkovit v zdravljenju okužb perutnine z *E. coli* ($p < 0,001$).

Kombinirali smo tudi podatke o občutljivosti posameznih mikrobov za enrofloksacin *in vitro* in ocenili minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK) v raziskavah, ki jih je zajela metaanaliza. Iz pregleda podatkov lahko vidimo, da je enrofloksacin zelo učinkovit v zdravljenju vseh okužb perutnine z *E. coli* ($p < 0,001$) (tabela 7).




Kategorija	MIK ₅₀	MIK ₉₀	MIK – razpon	Odporni sevi (odporni/vsi)
Brojlerji 	0,03–0,2	0,06–0,78	0,015–1	10 % (1820/18.238)
Purani 	0,03	0,06–0,13	≤ 0,03–8	19,7 % (285/1445)
Nesnice 	< 0,1	0,2	< 0,1–1,6	10,7 % (2105/19.683)

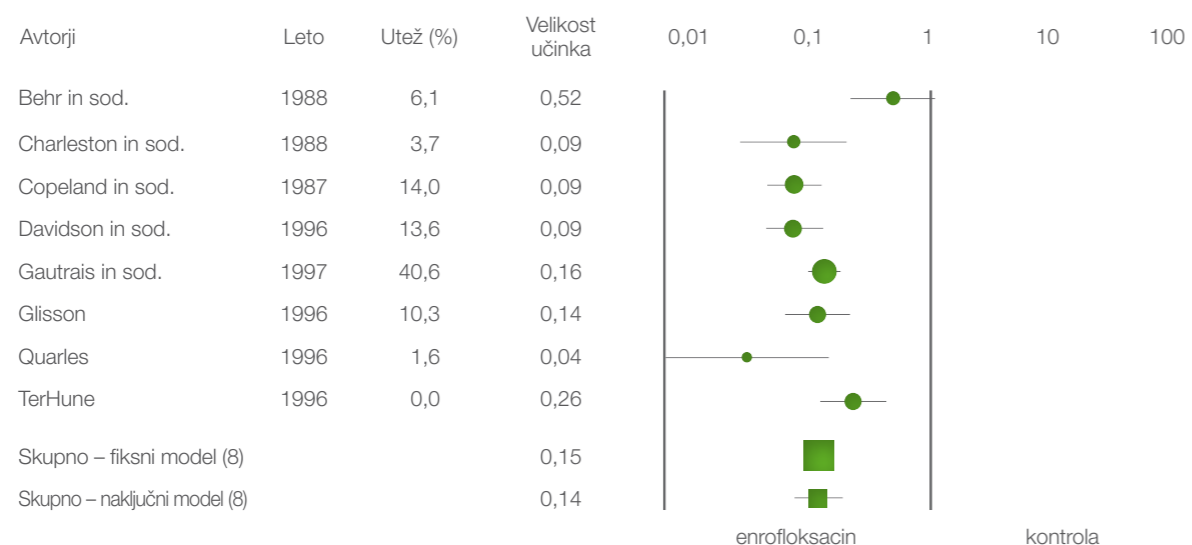
Tabela 7. Občutljivost *E. coli in vitro* (pri perutnini) – sistematični pregled

Na sliki 3 so zbrani podatki o avtorjih posameznih raziskav, letu objave ali poteku raziskave, številčni primerjavi zdravljenih in kontrolnih skupin ter srednjih vrednostih velikosti učinka s 95-odstotnimi intervali zaupanja. RO smo uporabili kot magnitudno lestvico za velikost učinka. Pri RO vrednost 1 pomeni, da določeno zdravljenje ni učinkovito. Vrednosti pod 1 kažejo, da je preizkušano zdravljenje (v našem primeru z enrofloksacinom) boljše od kontrole ali primerjalnega zdravljenja. Vrednosti nad 1 kažejo na boljši izid v kontrolni skupini ali pri primerjalnem zdravljenju.

Skupna velikost učinka je vedno odvisna od uteži posameznih raziskav, zato pri metaanalizi govorimo o tehtani skupni vrednosti velikosti učinka, ki je enako kot v posameznih raziskavah navedena s srednjo vrednostjo in intervali zaupanja. Na sliki so uteži posameznih raziskav prikazane s pikami (●). Raziskave z manjšimi utežmi imajo manjše pike, raziskave z večjimi utežmi pa večje. Skupna velikost učinka je prikazana s pravokotnikom (■).

Iz podatkov na sliki 3 se vidi, da je enrofloksacin v zdravljenju okužb perutnine z *E. coli* učinkovit ($p < 0,001$).

Proučili smo tudi podatke o občutljivosti *E. coli* za enrofloksacin *in vitro* in MIK v kliničnih raziskavah, ki sta jih zajela metaanaliza in ta pregled, ter naredili metaanalizo zbranih podatkov. Potrdila je, da je enrofloksacin pri zdravljenju vseh okužb perutnine z *E. coli* zelo učinkovit.



Slika 3. Okužbe perutnine (brojlerjev) z *E. coli* (37)

Uporabnost izsledkov

Izsledki naših raziskav koristijo raziskovalcem, doktorjem veterinarske medicine, zaposlenim v veterinarski praksi in rejcem, prav tako pa tudi proizvajalcem veterinarskih zdravil in vladnim organom.

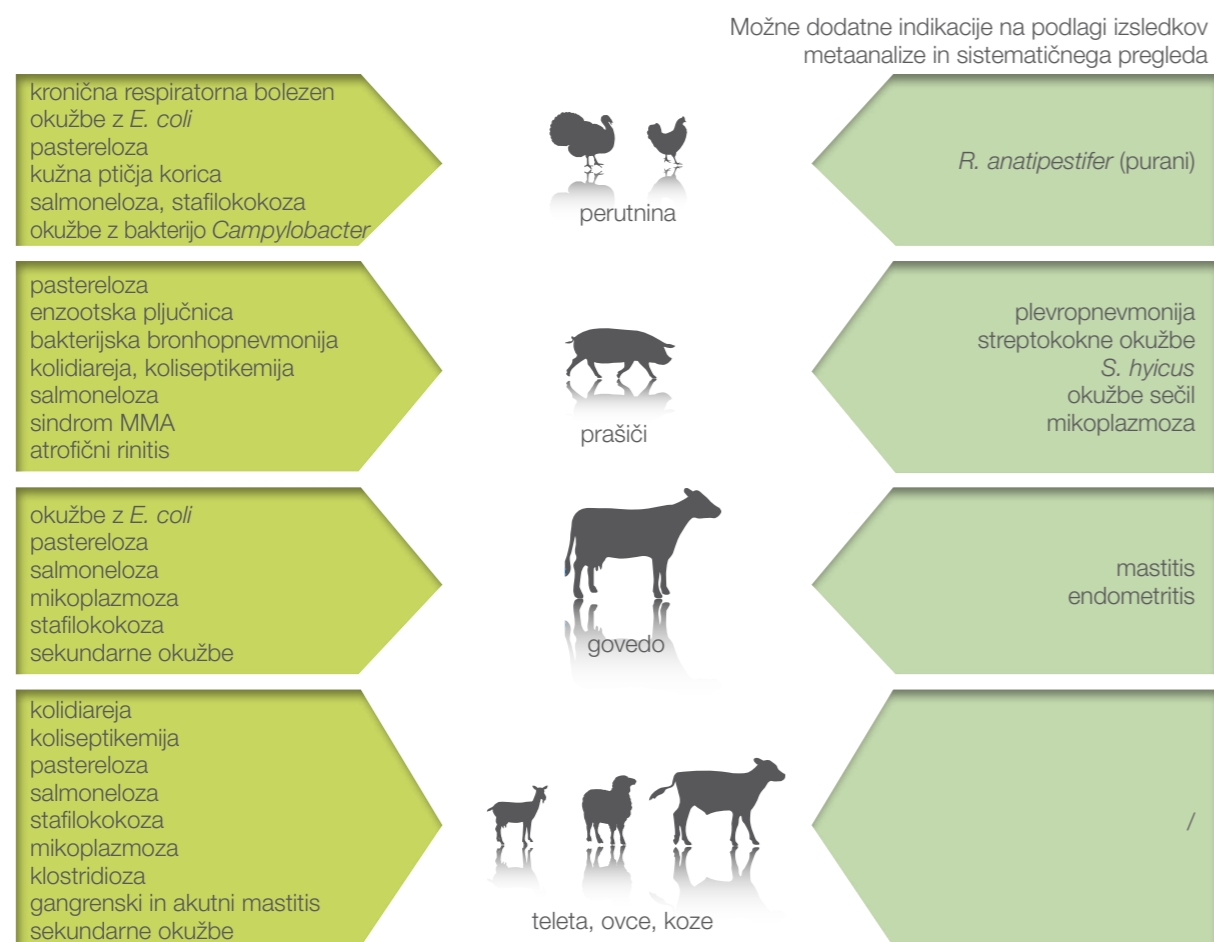


Tabela 8. Primerjava izsledkov sistematičnega pregleda in uradnih indikacij (2003)

Naše delo ima poleg tega velik ekonomski pomen, saj predstavlja celovito analizo zanimivega področja raziskav in smernice za nadaljnje raziskave.

Dobro izvedena metaanaliza lahko odkrije praktične odgovore na sporne klinične teme in prihrani stroške za dodatne klinične raziskave ter ustvari pogoje za nove indikacije za uporabo učinkovin (tabela 8).

Ugotovitve

Pregled kaže, da so raziskave *in vivo*, na katerih temelji razvoj veterinarskih zdravil, zelo raznoliko in precej zahtevno področje. Hitro se spreminja, vsa prizadevanja pa so usmerjena v nadomeščanje poskusov *in vivo* s poskusi *in vitro*. Po tej možnosti posežemo, kadar se le da. Krkini strokovnjaki za sisteme *in vitro* so bili pri takšnem nadomeščanju že zelo uspešni, čeprav uporaba teh postopkov še ni regulatorno urejena.

V Krki pri razvoju zdravil uporabljamo poseben organizacijski sistem, v katerem večina strokovnjakov, ki delujejo v razvoju zdravil za humano uporabo, sodeluje tudi v razvoju veterinarskih zdravil. Takšno sodelovanje omogoča vgrajevanje znanja, pridobljenega pri razvoju zdravil za humano uporabo, v razvoj veterinarskih zdravil. Delež prodaje veterinarskih zdravil v skupni prodaji izdelkov skupine Krka znaša le 3,6 %. Kljub temu razvoj veterinarskih zdravil s svojimi posebnostmi (prilagojene farmacevtske oblike in specifične biofarmacevtske lastnosti posameznih živalskih vrst in kategorij) predstavlja veliko priložnost za poglobljanje znanja vseh sodelujočih strokovnjakov. Krka je edinstvena tudi zaradi izvedene metaanalize in sistematičnega pregleda uporabe enrofloksacina in njegove učinkovitosti pri domačih živalih.

Literatura

- Confirmation of withdrawal period in pigs administered flubendazole 100 mg/g oral suspension for pigs and chickens in drinking water. Podatki iz dokumentacije. Krka, d. d., Novo mesto, Slovenija, 2012.
- Target animal safety study of fipronil spot-on solution in dogs (puppies). Podatki iz dokumentacije. Krka, d. d., Novo mesto, Slovenija, 2010.
- Kužner J et al. Confirmation of the efficacy of a novel fipronil spot-on for the treatment and control of fleas, ticks and chewing lice on dogs. *Vet Parasitol* [internet]. 2012. [citirano 2012 Nov 6]. Dosegljivo na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vrtpar.2012.11.006>
- Kužner J et al. Efficacy of a novel fipronil spot-on for the treatment and control of induced infestations with adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and castor bean ticks (*Ixodes ricinus*) on cats. *Parasitol Res* 2013; 112: 365–72.
- Single-dose, parallel bioequivalence study of two toltrazuril 50 mg/ml oral suspensions in calves. Podatki iz dokumentacije. Krka, d. d., Novo mesto, Slovenija, 2012.
- Huque MF. Experience with meta-analysis in NDA submissions. In: *Proc Biopharmac Sec Am Stat Assoc* 1988; 2: 28–33.
- Sacks HS, Berrier J, Reitman D, Ancona-Berk VA, Chalmers TC. Meta-analyses of randomized controlled trials. *New Engl J Med* 1987; 316: 450–5.
- Hunt M. How science takes stock. The story of meta-analysis. New York: Russell Sage Foundation, 1997: 20–60.
- Lipsey MW, Wilson DB. *Practical meta-analysis*. Thousand Oaks: Sage Publications, 2000: 34–72.
- Geyman LP, Deyo RA, Ramsey SD. *Evidence-based clinical practice: concepts and approaches*. Boston: Butterworth Heinemann, 2000: 1–11.
- Mulrow C, Cook DC. *Systematic reviews. Synthesis of best evidence for health care decisions*. Philadelphia: American College of Physicians, 1998: 5–12.
- Sacks HS, Berrier J, Reitman D, Ancona-Berk VA, Chalmers TC. Meta-analyses of randomized controlled trials. *New Engl Med* 1987; 316: 450–5.
- Petitti DB. *Meta-analysis, decision-analysis and cost-effectiveness analysis*. New York, Oxford: Oxford University Press, 2000: 4–252.
- Ščuka L. Pomen metaanalize v medicini (Meta-analysis in medicine). *Zdr Vest* 2005; 74 (1): 39–48.
- Ščuka L. Enrofloxacin – meta analysis of the efficacy of treatment in domestic animals. *Slov Vet Res* 2004; 41 (2): 104–6.
- Glisson JR. The efficacy of enrofloxacin (Baytril) in the treatment of coli bacillosis in chickens and turkeys and fowl cholera in turkeys. In: *Proceedings of the 45th Western Poultry Disease Conference*. Cancun, 1996: 222–4.

17. Froyman R. The antibacterial activity of Baytril and its value in disease control in poultry. In: Proceedings of the Seminar of Antibacterials & Bacteria. Hanover, 1991: 3 pages.
18. Charleston B, Gate JJ, Aitken IA, Berndt S, Froyman R. Comparison of the efficacies of three fluoroquinolone antimicrobial agents: given as continuous or pulsed-water medication, against Escherichia coli infection in chickens. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42 (1): 83–7.
19. Copeland DD, Schultz RH, Davidson JN. The efficacy and optimum dosage of Bay Vp 2674 for the control of E. coli infection in chickens. Poultry Sci 1987; 66: 85.
20. Gautrais B, Copeland D. Use of enrofloxacin against coli bacillosis in chickens. In: Proceedings of the 46th Western Poultry Disease Conference. Sacramento, 1997: 222-4: 79–80.
21. Gautrais B, Copeland D. Use of enrofloxacin in turkeys: a worldwide experience. In: Proceedings of the 46th Western Poultry Disease Conference. Sacramento, 1997: 222-4: 79.
22. Behr KP, Friederichs M, Hinz KH, Lünders H, Siegmann O. Klinische Erfahrungen mit dem Chemotherapeutikum Enrofloxacin in Hühner- und Putenherden. Tierärztl Umsch 1988; 43: 507–15.
23. Anon. NADA 140-828 (Baytril, enrofloxacin) Freedom of information summary: FDA, Center for Veterinary Medicine [internet]. 1996 [citirano 2014 Apr 9]. NADA 140-828: 64 pages: Dosegljivo na: <http://www.fda.gov/cvm/efoi/section2/140828100496.html>
24. Pirro, De Jong A, Froyman R, Greife HA, Schmeer N. Resistenz-Monitoring am Beispiel eines zugelassenen Fluorchinolons. Tierärztl Prax 1999; 27: 329–43.
25. Abdelkader A, Zakia Z, Bouzoubaa K. Antibioresistance of Escherichia coli strains isolated in Morocco from chickens with coli bacillosis. Vet Microb 1995; 43: 325–30.
26. Botero LAH. Evaluacion de la sensibilidad y resistencia de los principales antibacterianos usados en avicultura frente a cepas respiratorias de Escherichia coli. In: Proceedings of the 45th Western Poultry Disease Conference. Cancun, 1996: 224–7.
27. Roliński Z, Kowalski C, Wlaź P, Furmaga R. Efekt łącznego stosowania kolistyny i tilozyny stosunku do mikroflory patogennej. Med Wet 1996; 52 (4): 242–5.
28. Krstulović F, Šimpraga B, Nemanič A. Osjetljivost bakterija izdvojenih iz peradi prema antimikrobnim lijekovima. Praxi Vet 1998; 46 (1/2): 127–34.
29. Scheer M, Froyman R, De Jong A, Altreuther P. Antibacterial sensitivity monitoring of avian Escherichia coli isolates over 5 years. J Vet Pharmacol Therap 1997; 20 (suppl 1): 181–218.
30. Marsh TE, Thayer SG. Fluoroquinolone MIC50 and susceptibility of Escherichia coli isolates from northeast Georgia processed poultry. In: Proceedings of the 45th Western Poultry Disease Conference. Cancun, 1996: 382–3.
31. Salmon SA, Watts JL. Minimum inhibitory concentration determinations for various antimicrobial agents against 1570 bacterial isolates from turkey poults. Avian Dis 2000; 44: 85–98.
32. Yoshimura H. Quinolone usage and resistant bacteria in chickens in Japan. In: Use of quinolones in food animals and their potential impact on human health. Geneva, WHO: 1998: 133–7.
33. Goren E. Colibacillose bij pluimvee: etiologie, pathologie en therapie. Tijdschr Diergeneeskde 1991; 116: 1122–9.
34. Vandemaele F, Vereecken M, Derijcke J, Goddeeris BM. Incidence and antibiotic resistance of pathogenic Escherichia coli among poultry in Belgium. Vet Rec 2002; 151: 355–6.
35. Burch DGS. Antimicrobial Sensitivity Data for the major poultry bacterial pathogens. [internet]. 2002, 8 pages. Octagon Services Ltd. [citirano 2014 Apr 10]. Dosegljivo na: www.octagon-services.co.uk/articles/poultry_pathogens.htm
36. Burch DGS. Antimicrobial sensitivity data for the major poultry bacterial pathogens. In: Proceedings of the 8th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT). Jerusalem, 2000: 73.
37. Ščuka L. Enrofloksacin – metaanaliza učinkovitosti zdravljenja obolenj pri domačih živalih. [doktorsko delo]. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2003.

Avtorji

dr. Leon Ščuka, dr. vet. med.
Krka, d. d., Novo mesto, Dunajska cesta 65, 1000 Ljubljana

dr. Jernej Kužner, dr. vet. med.
Krka, d. d., Novo mesto, Dunajska cesta 56, 1000 Ljubljana

dr. Špela Miklič, dr. vet. med.
Krka, d. d., Novo mesto, Dunajska cesta 56, 1000 Ljubljana

Krka
v medicini
in farmaciji

Krka v medicini in farmaciji

Izdaja

Krka, d. d., Novo mesto
Šmarješka cesta 6
8501 Novo mesto

Glavna in odgovorna urednica

Breda Barbič-Zagar

Ščuka L, Kužner J, Miklič Š. Kompleksnost raziskav, na katerih temelji ugled Krkinih zdravil za uporabo v veterinarski medicini. Krka Med Farm 2014; 26 (39): 150–162.

Dosegljivo na <http://cobiss6.izum.si/scripts/cobiss?command=DISPLAY&base=99999&rid=3760753&fmt=11&lani=si>

ISSN 0351-6040

Krkina zdravila se na trgih tržijo pod različnimi blagovnimi znamkami.

Nekateri izdelki zaradi še vedno veljavne patentne zakonodaje niso na voljo v vseh državah.

Vse informacije o izdelkih so na voljo v povzetkih glavnih značilnosti zdravil. Najdete jih na www.krka.si.

Krka
v medicini
in farmaciji