

Cuvântul Editorului Editors' word

Prof. Dr. Romeo T. Cristina
Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

The *Medicamentul Veterinar/Veterinary Drug Journal's* last evolutions are presented with all IDB data bases where the publication is included in the aim of future and of quality articles presented.

Jurnalul *Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug* (Abr. *Med.Vet / Vet.Drug*) este singura publicație care are ca obiectiv principal medicamentul de uz veterinar și toate aspectele legate de acesta; de la biotehnologia obținerii, analiza sa, uzul și investigarea metaboliților acestuia, legislația domeniului etc. Analizând interesul suscitată de revista noastră am constatat că traficul de descărcare al unor articole poate fi considerat ridicat, publicarea lucrărilor originale în limba engleză, pentru varianta on-line a publicației fiind în opinia mea factorul care a stârnit acest interes.

Faptul că am identificat deja revista în numeroase baze de date justifică demersul meu de a vă îndemna să publicați rezultatele cercetărilor Dvs. în această revistă. Iar dacă sunteți doctorand sau tânăr cercetător, cu atât mai mult! Este primul pas pe care ar trebui să-l faceți!

Pentru cei care poate nu știu, doresc să le amintesc că: acest jurnal nu vă solicită (deocamdată) nici un fel de taxe pentru evaluarea și procesarea manuscriselor, lucrările originale interesante au prioritate la publicare, aveți șanse crescute de a fi citați, prin politica de publicare *open acces* și licența creative commons (by-nc-sa/3.0/ legal code) primită.

În loc de altă încheiere aș dori să vă prezint bazele de date în care apare revista pentru a înțelege potențialul ei de dezvoltare și consolidarea acesteia ca revistă BDI: CABI International; British Library Direct; WorldCat; The University of Hong Kong Libraries-HKUL Database; Vrije Universiteit Brussel-VUB e-journal list; AGRIS; Bielefeld Academic Search Engine (BASE); uOttawa Library; Directory of Open Access Journals (DOAJ); Canadian Periodicals (Gale Group); Romanian National Data Base; ASAP; Library of the University of Groningen; University of Michigan E-Journals; University of Saskatchewan E-Journals; Bayerische Staatsbibliothek; getCITED; etc.



Journal *Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug* (Abr. *Med.Vet / Vet.Drug*) is the sole publication that has as main objective the veterinary medicine and all aspects of it, from its' biotechnology, analysis, use and investigation of its metabolites, specific legislation domain etc. Analyzing the interest generated by our Journal we have found that the download traffic of some items may be considered high, the publishing of original papers in English, in the online version of the publication, being in my opinion, the factor that sparked this interest.

The fact that we have already identified our publication in numerous databases, justifies my approach to urge you to publish your original research results in this journal. And if you are a PhD student or young researcher, much more! It is the first step that you should do it!

For those who maybe may not know, I want to remember that: this journal don't asks you (until now) any fees for the manuscripts' evaluation and processing, the original works of interest have priority in publishing, authors have increased opportunities to be cited, through our's *open access* publishing policy and Creative Commons License (by-nc-sa/3.0/legal code) received.

Instead the other end I would like to present you databases identified where our publication appears, to understand its potential for development and consolidation as International Data Base (IDB) Journal: CABI International; British Library Direct; WorldCat; The University of Hong Kong Libraries-HKUL Database; Vrije Universiteit Brussel-VUB e-journal list; AGRIS; Bielefeld Academic Search Engine (BASE); uOttawa Library; Directory of Open Access Journals (DOAJ); Canadian Periodicals (Gale Group); Romanian National Data Base; ASAP; Library of the University of Groningen; University of Michigan E-Journals; University of Saskatchewan E-Journals; Bayerische Staatsbibliothek; getCITED; etc.

NOU!

FASCIOZONE

suspensie orală antiparazitară
OXICLOZANID

EFICIENT ÎN TRATAMENTUL ȘI CONTROLUL:

- ▶ **FASCIOLOZEI**
- ▶ **PARAMFISTOMOZEI**
- ▶ **CESTODOZELOR**



Timp de așteptare la lapte:

0
zile

FarmaVet[®]
Fondat 1955

Distribuitor: S.C. Farmavet S.A.
Calea Giulești nr. 333, Sector 6, 060269 București
Office@farmavet.ro
Tel. 021/221.99.60, 021/220.69.09 Fax 021/220.69.32



▼ *Educație continuă / Continuous education*

Farmacoterapia hipertiroidismului la pisici, Pharmacotherapy of hyperthyroidism in cats

Andreea Pap, Romeo T. Cristina

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Cuvinte cheie: *glanda tiroidă, endocrinopatii, tiroxina, triiodtironina, metimazol, carbimazol, iod radioactiv, acid iopanoic, tiroidectomie*

Keywords: thyroid gland, endocrinopathy, thyroxine, triiodtironine, methimazole, carbimazole, radioactive iodine, iopanoic acid, thyroidectomy

Rezumat

În prezent, hipertiroidismului felin dispune de trei tipuri de tratament, medicamentos, chirurgical și radioactiv, iar succesul acestor terapii constă în obținerea de rezultate favorabile, atât prin inhibarea secreției hormonilor tiroidieni, reducerea semnelor clinice și îmbunătățirea calității vieții, cât și prin lipsa efectelor secundare apărute în urma medicației administrate. Una din cele 3 terapii care îndeplinește aceste condiții și considerată ideală de clinicieni este terapia cu iod radioactiv. Alegerea acestei terapii nu depinde numai de disponibilitatea iodului radioactiv, a clinicilor licențiate sau prezența unui chirurg priceput ci și de starea clinică a pacientului sau intervenția afecțiunilor cardiovasculare sau renale.

Abstract

Currently, the feline hyperthyroidism possesses three types of treatment that includes medication, surgery and radioactive therapie. The success of these therapies consists in obtaining favorable results, by inhibiting thyroid hormone secretion, reducing clinical signs, improving the live's quality and by absence of side effects of administered medication. One of these three therapies that fulfill these conditions and considered ideal for clinicians is the radiation therapy. Choosing this therapy depends not only on the availability of radioiodine licensed clinics or the presence of a skilled surgeon but also on the patient's clinical condition, especially when a cardiovascular or renal disease is present in this review paper.

Introducere

Descrisă încă din anul 1979, hipertiroidismul este una dintre cele mai frecvente endocrinopatii diagnosticate în clinicile de animale mici, dar și cea mai frecventă afecțiune endocrină intalnită la pisici. La ora actuală nu se știe cu certitudine dacă incidența hipertiroidismului a crescut și nu este nici o îndoială faptul că această afecțiune este frecvent diagnosticată în Marea Britanie, Europa, Japonia și Statele Unite ale Americii (10).

1. Glanda tiroidă – funcții

Glanda tiroidă este localizată la nivelul gâtului, inferior de laringe și cartilajul

cricoidian, caudo-lateral de primele inele traheale. Ea este formată din 2 lobi situați de-o parte și de alta a traheei și separați de o bandă subțire numită istm glandular (33).

De obicei, lobul drept este mai vascularizat decât cel stâng și tinde să se mărească pe măsură ce patologia glandei se agravează (29).

La carnivore există și un lob inconstant, numit, lobul piramidal, legat de istm, care mai poartă și denumirea de "*piramida Lolovette*". Aceasta este mulată dorsal pe trahee, iar ventral vine în contact cu terminațiile mușchilor sternotiroidieni (33).

Tiroida este acoperită de o capsulă fibroasă, de țesut conjunctiv lax, din care se desprind septuri, cu conținut mare de

elastină care duc la divizarea glandei tiroide în lobuli (16, 33).

La pisici, lobi tiroidieni sunt fusiformi, de 10-20 mm lungime, 3-4 mm lățime și 2 mm grosime, pe suprafața lor se remarcă un desen lobular foarte fin. Lobul tiroidian drept poate fi localizat mai sus decât cel stâng. Aceștia sunt aderenți de trahee și sunt situați adânc în mușchii sternotiroidian și mușchii sternohioid (fig. 1).

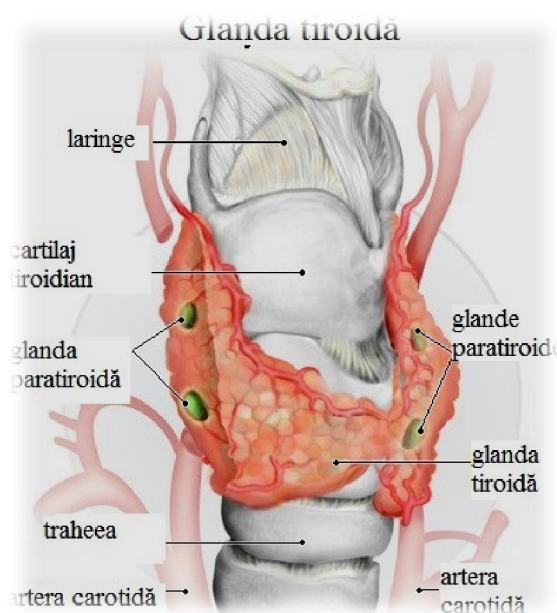


Figura 1. Glanda tiroidă

Sursa: Medicine Net. Inc. (2009) (39)

<http://vetbook.org/wiki/cat/index.php/File:Parathyroid1.jpg>

Vascularizația glandei tiroidiene este realizată prin intermediul a două artere principale:

- inferioară și
- superioară.

Artera tiroidiană inferioară este o ramură provenită din trunchiul tireocervical de la artera subclaviculară și artera tiroidiană superioară care reprezintă prima ramură a arterei carotide externe.

O a treia arteră, suplinește vascularizația istmului și se găsește în apropierea arcului aortic, însă poziția lui variază.

Glanda tiroidă este drenată de trei vene principale:

- vena tiroidiană superioară,
- vena tiroidiană inferioară și

- vena tiroidiană medială (33).

Glanda tiroidă este compusă, din punct de vedere histologic, dintr-un pachet de celule sferice, ce formează foliculul, unitatea funcțională a glandei tiroidiene (fig. 2).

Două tipuri de celule formează epiteliul folicular, reprezentate de **celulele foliculare principale** 90%, acidofile, care prezintă la polul luminal picături de coloid și **celulele parafoliculare (celule C)**, palid colorate și situate între celulele foliculare (16, 29).

În interiorul acestor foliculi se acumulează produsul de secreție denumit lichid coloidal, de natură proteică ce reprezintă constituentul major al masei tiroidiene (16, 29).

Acesta conține o glicoproteină, de dimensiuni mari (~660 kDa), denumită tiroglobulina (28).

Atunci când celulele foliculare sunt inactive, forma acestora devine cubică, de talie mare, cu epiteliu turtit, iar sub influența hormonului tirostimulant, acestea devin active, cu modificarea formei cubice în cea columnară, cu epiteliu înalt și dimensiune mică (15, 31).

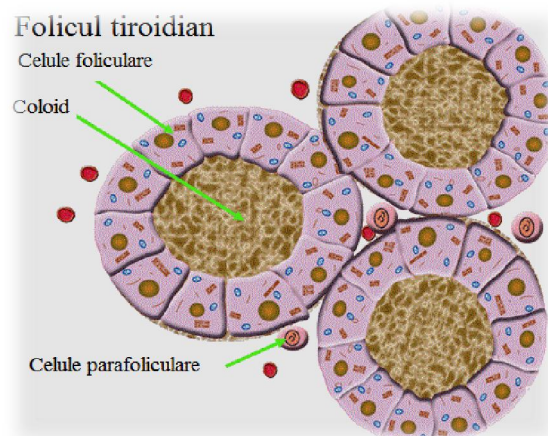


Figura 2. Tipurile de celule foliculare (37)

Sursa: <http://people.upei.ca/bate/html/notesonthyroidfunction.html>

Funcția glandei tiroide este direct proporțională cu cantitatea de hormoni tiroidieni produși și secretați (15).

Acești hormoni sunt reprezentați de **T₄** (tiroxina) și de **T₃** (triiodtironina), acesta din urmă fiind secretat într-o cantitate mult mai

mică (20%) decât T_4 și aproximativ 80% din concentrația sangvină de T_3 provine din deiodinarea periferică a hormonului T_4 (27).

Sinteza hormonilor tiroidieni se realizează prin mai multe etape succesive și fiecare etapă se află sub acțiunea hormonului hipofizar tirostimulant (TSH) după cum urmează (6, 32):

1. Captarea ionilor de iod (I^-) și transportul acestora din circulația sangvină este realizată printr-un transport activ cu ajutorul unui „carrier”, o **proteină membranară co-transportoare de sodiu și iod** (en. *sodium iodide symporter*, SIP). O altă proteină membranară, **pendrina**, facilitează transferul apical al iodului în celula foliculară.
2. Odată cu captarea ionilor de iod are loc și **sinteza glicoproteinei tiroglobulinice**, care prin procesul de exocitoză este eliminată în folicul.
3. Odată ajunși în celulă, **iodul anorganic este oxidat** în prezența peroxidului de hidrogen (H_2O_2) într-un reactiv intermediar, care este apoi încorporat în reziduurile de tirozină.
4. Pe măsură ce moleculele de iod se formează, **vor cupla unul câte unul cu reziduurile de tirozină**, care aparțin moleculei de tiroglobulină. Cuplarea I_2 la aceste molecule sub acțiunea peroxidazei tiroidiene, (TPO) duce la formarea **monoiodtirozinei (MIT)** și a **diiodtirozinei (DIT)**. Această iodinare a moleculelor de tiroglobulină se realizează la nivelul apical al celulei foliculare, pentru ca apoi să fie mutat prin exocitoză în coloidul folicular (fig. 3).
5. Formarea principalilor hormoni tiroidiei tiroxina (tetraiodtirozina, T_4) și triiodtironina (T_3) se realizează prin **cuplarea hormonilor MIT cu DIT**, astfel că două molecule de DIT formează T_4 , iar o moleculă de MIT și una de DIT formează T_3 .

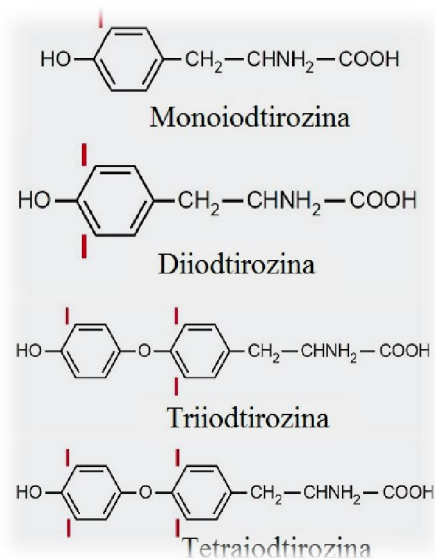


Figura 3. Hormonii tiroidieni

Sursa: Sohail Riaz (2012) (41)

<http://www.pharmalo.com/?p=754>

- Picăturile de coloid vor pătrunde apoi în celulele foliculare prin procesul de pinocitoză, unde se vor cupla cu lizozomii celulari.
- Aceștia suferă apoi un proces de hidroliză, sub influența proteazelor lizozomale. Digestia enzimatică a tiroglobulinei va duce la eliberarea moleculelor de MIT și DIT.
- Datorită faptului că T_3 și T_4 au proprietăți liposolubile vor difuza prin membrana plasmatică, în lichidul intracelular și apoi în plasmă. Concentrația plasmatică de T_3 este mult mai redusă comparativ cu cea a lui T_4 , acesta fiind format în proporție de 80% prin deiodinarea hormonului T_4 la nivel periferic.
- La nivelul sangelui aproximativ 99% din hormonii tiroidieni se cupleză cu proteinele transportoare, în special cu globulina de cuplare tiroxinică (en. TGB-tyroxine-binding globulin)
- Reglarea sintezei hormonilor tiroidieni se realizează prin intermediul axei hipotalamo-hipofizară, în principal de către tirotropina (TSH), o glicoproteină secretată la nivelul lobului anterior al hipofizei. TSH stimulează glanda tiroidă

prin interacțiunea cu receptorii specifici de la suprafața foliculilor celulari tiroidieni.

- Acesta stimulează procesul de pinocitoză de la marginea apicală al foliculilor celulari, accelerând astfel resorbția tiroglobulinei și implicit eliberarea hormonală (fig. 4).

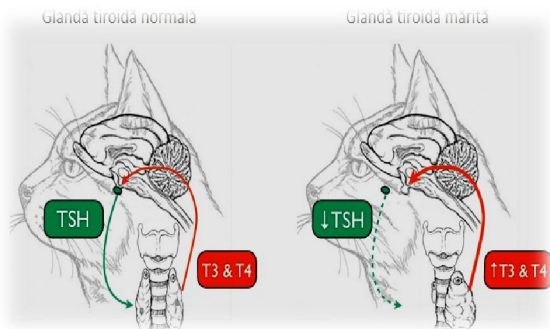


Figura 4. Dimensiunea normală și patologică a glandei tiroide la pisică și secreția de TSH
Sursa: Mark E. Peterson (35)
<http://animalendocrine.blogspot.ro/2013/06/transient-hypothyroidism-in-cats.html>

Secreția tireotropinei (TSH) este reglată, la randul ei, de hormonul de eliberare hipotalamic (TRH) dar și de concentrația sangvină a hormonilor tiroidieni, prin intermediul unui mecanism de tip feedback pozitiv (fig. 5) (28).

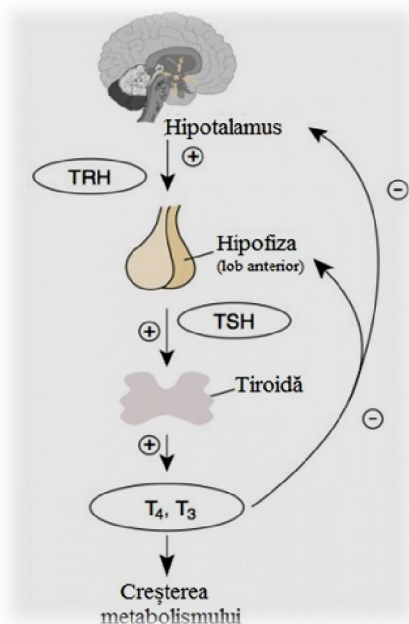


Figura 5. Axa hipotalamo-hipofizară (2012) (38)
Sursa: http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=File:HPT_axis.jpg

Fiziopatologia acestei afecțiuni multi-sistemice se datorează creșterii activității funcționale a glandei tiroide, manifestată prin excesul de producție și secreție al hormonilor tiroidieni (7, 21).

Din punct de vedere morfoclinic, se presupune că, hipertiroidismul se aseamănă cu goiterul nodular toxic (boala Plummer) întâlnit la oameni, caracterizat prin debut insidios, modificări nodulare hiperplazice și adenomatoase ale țesutului tiroidian (fig. 6).

Aproximativ 98-99% din pisicile diagnosticate cu hipertiroidism prezintă hiperplazia adenomatoasă al unuia (20%) sau ambilor (70) lobi tiroidieni, iar doar 1-2% prezintă forma malignă, carcinomul tiroidian (11, 21, 22).

Incidența hipertiroidismului este extrem de ridicată, 95% din pisicile diagnosticate depășind vârsta de 8-10 ani, cu o medie de 13 ani, iar în ceea ce privește predispoziția de rasă și sex nu a fost încă relatată (6, 23).

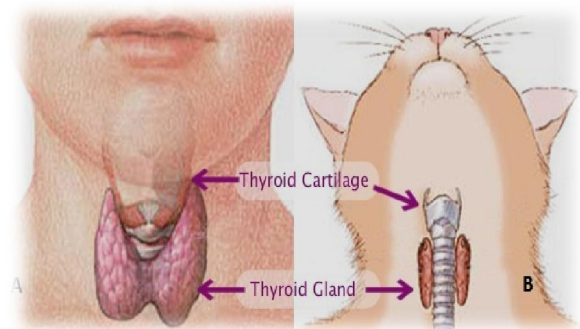


Figura 6. Poziția topografică a glandei tiroide la om (A) comparativ cu cea a pisicii (B)
Sursa: Mark E. Peterson (40)
<http://www.animalendocrine.com/yd/>

Etiopatogenia hipertiroidismului este considerată a fi complexă și multifactorială.

Unii autori susțin că utilizarea hranei sub formă de conserve sau a unei diete bazate în proporție de 50% în hrană umedă ce conțin **factori goitrogeni**, conținut crescut de soia, polifenoli sau resorcinol sau exces de iod. Se pare că acesta a contribuit la dezvoltarea hipertiroidismului datorită faptului că, de la sfârșitul anilor 1970, cantitatea de iod suplimentată din hrană a fost redusă.

Alte studii epidemiologice sugerează că anumiți *factori de mediu*, precum

- utilizarea literei,
- dormitul frecvent pe podea,
- bolile periodontale,
- diferite arome (în special de pește),
- vârsta înaintată,
- consumul de apă murdară,
- parazitismul cu purici,
- tratarea așternutului cu antiparazitare,
- conviețuirea exclusivă în casă, dar și
- eterul difenil polibrominat (PBDE)

pot favoriza apariția bolii, iar expunerea la fertilizanți, erbicide sau fum nu par a fi incriminați de apariția hipertiroidismului (6, 17).

Excesul de hormoni tiroxinici liberi determină disfuncții multisistemice cu afectarea întregului organism și intensifică rata metabolică și sensibilitatea la catecolamine.

Toate acestea se revarsă asupra aparatului cardiovascular și asupra metabolismului, dar în sens negativ.

Astfel că aproximativ 20% din pisicile cu hipertiroidism prezintă și insuficiență cardiacă congestivă (6).

Cele mai frecvente semne clinice sunt redate în Tabelul 1 și cuprinde, polidipsie, polifagie, poliurie, scăderea în greutate, hiperexcitație, vomă și diaree.

Ocazional, pisicile pot prezenta letargie, depresie, anorexie sau slăbiciune.

Aceasta este cunoscută sub denumirea de hipertiroidism apatic și este întâlnită în aproximativ 5-10% din cazuri.

Dispnea datorată insuficienței cardiace congestive apare în proporție de 10%, iar un număr redus de pisici pot prezenta ventroflexia gâtului datorită hipokalemiei.

Netratarea hipertiroidismului poate duce la cardiomiopatie tireotoxică și hipertensiune.

Ținând cont că peste 80% din pisici depășesc vârsta medie, hipertiroidismul este însoțit de cele mai multe ori și de o boală concurrentă, în special al aparatului renal sau cardiovascular (22).

Tabel 1.
Prevalența principalelor semne clinice întâlnite în hipertiroidism la pisici (7)

Semne clinice	Studiu pe 131 de pisici
Scădere corporală	87%
Polifagie	49%
Hiperactivitate	31%
Tahicardie	42%
Poliurie/Polidipsie	36%
Vomă	44%
Murmur cardiac	54%
Diaree	15%
Creșterea volumului de fecale	8%
Anorexie	7%
Respirație îngreunată	9%
Slăbiciune musculară	12%
Insuficiență cardiacă congestivă	2%
Creșterea excesivă a unghiilor	6%
Dispnee	10%
Alopecie	3%
Ventroflexia gâtului	1%
Tiroidă palpabilă	83%

În diagnosticarea hipertiroidismului un rol important îl joacă clinicienii veterinari care, în prezent, au devenit capabili să recunoască hipertiroidismul aflat în stadii mai timpurii, înainte ca semnele clinice să devină severe.

Confirmarea diagnosticului se va face prin coroborarea rezultatelor obținute la examenul fizic cu cele obținute la examenele parclinice (ex. prin *scanarea radionucleară, ultrasonografia cervicală și concentrația serică a hormonilor tiroidieni*) (23).

Tratamentul hipertiroidismului felin poate fi realizat atât pe o perioadă lungă de timp, folosind terapii medicamentoase, chirurgicale și radioactive, cât și pe o perioadă scurtă de timp, utilizând terapiile alternative ca medicația cu agenți beta-blocanți sau colecistografici. Terapia de scurtă durată este utilizată de cele mai multe ori premergător unei intervenții ce va permanentiza starea de eutoroidism.

2. Farmaco-terapia hipertiroidismului

2.1. Tionamidele

Înca de la descoperirea hipertiroidismului și până în prezent, tratamentul medical s-a

bazat pe utilizarea tionamidelor, un grup de medicamente antitiroidiene, care se asemănă din punct de vedere structural și derivate din compusul Tiouracil.

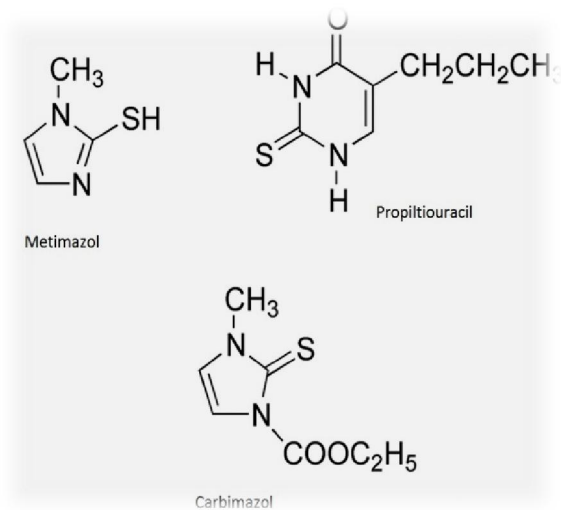


Figura 7. Formula chimică a medicamentelor din grupa tionamidelor

Sursa: Matjaz Humar (2007) (36)

<http://jpet.aspetjournals.org/content/324/3/1037/F1.extension.html>

Dintre acestea cele mai frecvent utilizate sunt:

- propiltiouracilul,
- metimazolul și
- carbimazolul.

Dar, datorită numeroaselor efecte adverse ale propiltiouracilului acesta a fost scos din uz, iar disponibilitatea celorlalte două este limitată, Carbimazol fiind disponibil în Europa, Japonia, Canada, Marea Britanie și Australia, iar Metimazolul în USA, dar și în UK licențiat sub denumirea Felimazole (18).

Mecanismul de acțiune al tionamidelor se caracterizează prin inhibarea sintezei hormonilor tiroidieni, acționând ca inhibitor al peroxidazei tiroidiene, dar și ca substrat competitiv față de această enzimă, ce intervine în procesul de oxidare al iodurii și în iodurarea reziduurilor de tirozină în tireoglobulină.

Interferează și cuplarea moleculelor de Monoiodtirozină (MIT) și Diiodtirozină (DIT) împiedicând formarea hormonii tiroidieni, Tiroxina (T_4) și Triiodtironina (T_3) (5, 15).

2.1.1. Propiltiouracilul (PTU)

Este un antitiroidian utilizat și menționat în literatura veterinară încă de la începutul descoperirii și tratării hipertiroidismului. Dar datorită efectelor adverse severe, ca anorexia, voma, letargia, anemia hemolitică mediata imun și trombocitopenia, a fost înlocuit cu Metimazolul, un produs antitiroidian din aceeași grupă (7).

2.1.2. Metimazolul

Metimazolul este considerat alegerea numărul unu al clinicienilor veterinari și reprezintă terapia cea mai ieftină și noninvazivă utilizată în terapia hipertiroidismului, mai ales atunci când alte terapii, ca cea chirurgicală sau radioactivă, nu sunt disponibile (26).

Administrarea acestuia se poate realiza atât oral, cât și transcutanat, iar durata tratamentului depinde de scopul urmărit putându-se realiza pe o perioadă scurtă sau lungă de timp.

Administrarea pe o perioadă scurtă de timp, se recomandă înaintea ablației chirurgicale pentru inducerea eutiroidismului, favorizând intervenția chirurgicală prin reducerea simptomatologiei, dar și pentru stabilirea impactului pe care îl are asupra funcției renale, după atingerea stadiului de eutiroidism, știindu-se faptul că metimazolul prin creșterea ratei de filtrare glomerulară, maschează insuficiența renală (20).

Totuși, acesta este recomandat și ca medicament pentru terapia de lungă durată, în special la pacienții la care tratamentul chirurgical sau radioactiv prezintă un risc crescut, datorită existenței organopatiilor renale sau cardiace (14, 15).

În ciuda administrării sale, metimazolul nu oprește creșterea lobilor glandei tiroidiene, el acționând prin inhibarea formării hormonilor tiroidieni, ci din contră, lobi tiroidieni se pot mări pe durata terapiei (13).

Bioavabilitatea metimazolului este destul de mare (45-98%), cu un volum a de distribuție de 0.12-0.84 L/kgc.

Timpul de înjumătățire este cuprins între 4-6 h, iar efectul farmacodinamic poate depăși 20 de ore datorită capacității sale cumulative (5, 26).

Doza recomandată de metimazol este cuprinsă între 1.25 și 2.5 mg/pisică de doua ori pe zi și poate fi crescută dacă după 2-4 săptămâni nu se constată nici un semn de ameliorarea condiției pacientului (13, 27)

Atunci când prezența efectele secundare nu este tolerată de către pacient, terapia trebuie sistată și înlocuită cu o medicație alternativă.

Efecte adverse

De-a lungul terapiei cu acest produs s-au observat numeroase efecte adverse care includ afecțiunile aparatului gastrointestinal, modificări hematologice, hepatotoxice, apariția excoriațiilor faciale dar și a Miasteniei gravis prin creșterea titrului de anticorpi anti-acetilcolinici.

Pe lângă acestea, prezența anticorpilor antinucleari pare a fi detectată la 50% din pisicile tratate mai mult de 6 luni cu metimazol însă fără asocierea semnelor de Lupus sau al altor efecte secundare (13).

Tabel 2.

Proporția semnelor clinice în tratamentul cu metimazol (26)

Afecțiuni GI	10%
Eozinofilie, limfocitoza	15% în primele 8 săptămâni de tratament
Excoriații	2,3%
Sângerări	2.3%
Hepatopatii	1.5%
Agranulocitoză	1.5%
Anticorpi antinucleari	50% din pacienți, după 6 luni de tratament
Trombocitopenie	2.7%

Printre afecțiunile gastrointestinale, observate la 10% din pacienții felini, se numără anorexia, voma și letargia, însă prezența acestora a fost observată doar în primele 4 săptămâni de tratament.

Atunci când afecțiunile gastrointestinale sunt prezente se poate recurge la administrarea topică a metimazolului, evitându-se calea digestivă (13, 26).

Modificările hematologice, înregistrate la aproximativ 15% din pisicile tratate (26), sunt reprezentate de leucopenie, neutropenie, limfocitoză, eozinofilie, trombocitopenie, anemie aplastică imuno-mediată și agranulocitoză (1,5%).

Apariția acestor efecte necesită sistarea tratamentului, iar recuperarea pisicilor se realizează în decurs de o săptămână de la sistarea acestuia.

Datorită numărului crescut de efecte adverse, pentru monitorizarea acestor parametri, se recomandă realizarea analizelor hematologice la fiecare 2 săptămâni, în cel puțin primele 3 luni de tratament (13, 18).

În cadrul unui studiu ce a urmărit efectele secundare ale metimazolului la nivelul rinichilor, dar și a oaselor, s-a descoperit că metimazolul poate produce alterații, atât la nivelul acestora, prin supresia formării osoase și prin stimularea resorbției, cât și la nivel renal, prin reducerea dimensiunii rinichilor, creșterea volumului de urină și creșterea excreției de potasiu prin creșterii ratei de filtrare glomerulară.

Acestea par a fi determinate de modificările balanțului antioxidant, cu creșterea stresului oxidativ și a producției de radicali liberi, precum și prin reducerea capacității de apărare antioxidantă a organismului.

Un remediu utilizat în acest studiu și care pare a avea efect, nu numai în restaurarea funcției renale, cât și în scăderea stresului oxidativ produs la nivelul țesuturilor, este administrarea unui supliment cu seleniu, în doza de 0.5 mg/kgc în dieta zilnică (1, 2).

Hepatopatiile (1,5%) semnalate consecutiv administrării metimazolului sunt datorate creșterii concentrației sanguine a enzimelor hepatice, reprezentate de fosfataza alcaline, alanin aminotransferaza (ALT), glutamat aminotransferaza (GLT) precum și a bilirubinei. Iar modificările morfopatologice întâlnite la acest nivel sunt reprezentate de necroza și degenerarea țesutului hepatic (12, 13).

Pentru a minimaliza efectele secundare apătute în cadrul tereapiei cu metimazol se recomandă reducerea dozei administrate, trecerea la o administrare topică, care reduce numărul și gravitatea efectelor secundare sau la o medicație alternativă, utilizând agenți beta-blocanți, iodul radioactiv sau realizarea tiroidectomie (23).

Administrarea topică a metimazolului, sub formă de organogel pleurolecitic, un produs similar administrat și la oameni (35) prezintă unele avantaje față de administrarea orală prin evitarea administrării zilnice la pisicile cu temperament mai dificil, evitarea primului pasaj al metimazolului prin bariera hepatică, astfel că o doză mai redusă este capabilă să producă aceeași concentrație plasmatică și aceleași rezultate, scăzând numărul efectelor adverse.

Mecanismul de acțiune al acestuia se bazează pe creșterea permeabilității și implicit al absorbției medicamentului prin stratul cornos al pielii.

Chiar dacă s-a demonstrat că absorbția Metimazolului este mai redusă la pisici decât la oameni, s-a descoperit a fi eficient în tratamentul de lungă durată a hipertiroidismului, ducând la normalizarea serică a tiroxinei (12, 14).

Metoda de administrare constă în masarea acestui gel timp de 30-120 de minute la nivelul pavilionului auricular (7) alternând pavilionul auricular la fiecare administrare, cu mențiunea ca proprietarul să înlătore după administrare orice urmă de gel prezent în exces (11):

Doza administrată recomandată este de 2.5-5 mg/pisică la fiecare 12 h, iar eficacitatea acestuia poate fi observată după 4 sau chiar mai multe săptămâni (16, 30).

Această formulare, nu a dus însă la eliminarea efectelor adverse, ci doar la reducerea efectelor secundare, cum sunt cele gastrointestinale, în proporție de 4% comparativ cu cele apărute la administrarea orală, reprezentată de 24%.

Un efect secundar particular acestei administrări îl reprezintă eritemul feței interne

al ambelor pavilioane auriculare, acesta fiind diferit de escoriațiile faciale date de terapia orală. În ciuda apariției efectelor secundare, aproximativ toate pisicile prezintă îmbunătățirea condiției generale și a concentrației sangvine a Tiroxinei, favorizând apariția condiției de eutiroidism (12, 14).

În ciuda numeroaselor efecte secundare, Metimazolul reprezintă, și în prezent, principalul medicament antitiroidian utilizat în terapia hipertiroidismului la pisici, datorită vârstei înaintate, a lipsei clinicilor specializate în radioterapie și a riscului anestezic prezent în cadrul intervenției chirurgicale (13).

2.1.3. Carbimazolul

Carbimazolul este un derivat al metimazolului convertit rapid în metimazol în organism, fiind considerat de către clinicieni a doua opțiune în terapia medicamentoasă antitiroidiană.

Terapia a fost recomandată pentru a reduce numărul și gravitatea efectelor adverse apărute în urma tratamentului cu metimazol.

Datorită faptului că are o greutate moleculară mai mare decât cea a metimazolului, după administrarea carbimazolului se obține o concentrație sangvină cu 50% mai mică decât cea a metimazolului, se recomandă ca pentru obținerea unei doze de 3 mg de metimazol să se administreze o doză de 5 mg de carbimazol (12, 13).

Astfel că, doza de carbimazol recomandată este de 5 mg la fiecare 8 h, spre deosebire de metimazol la care doza recomandată este la fiecare 12 h, adică de două ori pe zi, față de carbimazol, care se administrează de 3 ori pe zi.

Atunci când se administrează carbimazol la 8 h, concentrația plasmatică a Tiroxinei se încadrează în limitele normale în decurs de 3 până la 15 zile și pe măsură ce tratamentul se perpetuează, numărul administrărilor poate să scadă la 12 h.

Efectele adverse

În decursul primelor 3 luni de tratament, efectele adverse ale carbimazolului se aseamănă cu efectele adverse întâlnite în terapia medicamentoasă cu metimazol și anume, vomă, anorexie, letargie, eozinofilie, leucopenie, limfocitoză, dar comparativ cu acesta, efectele severe ca trombocitopenia, agranulocitoza, și hepatopatiile nu au fost descrise (5, 12).

Tabelul 3.

Semnele clinice severe apărute în urma tratamentului cu carbimazol (25)

Excoriații	2.3%
Sângerare	2.3%
Hepatopatii	1.5%
Trombocitopenie	2.7%
Agranulocitoză	1.5%
Anticorpi antinucleari	50%

2.2. Farmaco-terapia alternativă

Datorită numeroaselor efecte adverse, precum și a unor contraindicații specifice, terapia cronică a hipertiroidismului, realizată prin administrarea medicamentelor antitiroide de tipul Carbamazolului și a Metimazolului, trebuie întreruptă și înlocuită cu o terapie alternativă.

Astfel se recurge la administrarea unei medicații diferite, dar a cărei acțiune este de scurtă durată și poate fi utilizată atât pentru tratarea simptomatică (atenolol, propranolol), cât și pentru inhibarea acțiunii hormonilor tiroidieni (acidul iopanoic și calciul ipododate).

Această terapie este recomandată a fi făcută doar pe o perioadă scurtă de timp, de cele mai multe ori, premergător terapiei de lungă durată sau permanentă, cum este intervenția chirurgicală (19, 20).

2.2.1. Agenții beta blocați

Propranololul și Atenololul

Aceștia sunt folosiți pentru diminuarea și controlarea simptomatologiei apărute odată cu modificările metabolice induse de excesul

hormonilor tiroidieni, și sunt reprezentate de tahicardie, aritmie, hiperactivitate, agresivitate și în rare cazuri, depresie.

Modul de acțiune al acestora se caracterizează prin inhibarea conversiei periferice a tiroxinei în triiodtironina (12, 13).

Propranololul poate fi folosit în terapia de scurtă durată a hipertiroidismului pentru pisicile ce nu tolerează medicația cu tionamide, dar și în combinație cu acestea pentru a asigura un răspuns mai rapid și eficient (20).

Datorită faptului că nu intervine în asimilarea iodului radioactiv, acesta poate fi folosit ca tratament premergător acestuia sau în cazul întâzierii revenirii la starea de eutiroidism după un tratament anterior.

Această formă de întrebuițare se datorează faptului că nici un agent din această grupă nu acționează direct asupra țesutului tiroidian (18).

În ciuda acestor acțiuni favorabile, Propranololul, fiind un blocant adrenergic neselectiv, poate determina apariția bronhospasmului, la pisicile ce au prezentat în trecut afecțiuni ale căilor respiratorii, astm sau la cele cu insuficiență cardiacă congestivă. Însă spre deosebire de acesta,

Atenololul este un antagonist beta-adrenergic selectiv recomandat în astfel de situații și prezintă avantajul că poate fi administrat de două ori pe zi (13, 20).

Doza de Propranolol recomandată este de 2.5-5 mg/pisică de 3 ori e zi, iar cea de Atenolol de 3.125 sau 6.25 mg/ pisică de două ori pe zi.

Deoarece, nici unul din acești farmaconi nu reduc concentrația serică a tiroxinei și nu previn scăderea în greutate, nu sunt recomandați pentru terapia de lungă durată a hipertiroidismului (12,13).

2.2.2. Agenții colecistografici,

Acidul iopanoic

Acidul iopanoic este un preparat medicamentos utilizat în tratarea

hipertiroidismului la subiecții umani, iar eficiența acestuia a fost evaluată și asupra hipertiroidismului la specia felină (8, 9) înlocuind preparatul **Calcium Iodate**, a cărei producție a fost sistată în anul 2001 (9, 19).

Mod de acțiune

Efectul principal al acidului iopanoic, este inhibarea deiodinazelor, enzime de tipul II și III, responsabile de conversia periferică a tiroxinei (T_4) în 3,5,3'-triodotironină (T_3) (8, 9).

Datorită faptului că aproximativ 80% din concentrația de T_3 provine din conversia periferică a hormonului tiroidian T_4 , implicația acidului iopanoic asupra procesului de deiodinare va duce implicit la o scădere a concentrației de T_3 (9).

Acidul iopanoic inhibă și captarea celulară de T_4 și T_3 , reducând astfel cantitatea de T_4 disponibilă pentru conversia în T_3 (8).

Eficacitatea acidului iopanoic a fost evaluată pe 13 pisici cu hipertiroidism indus prin administrarea subcutanată, zilnică, de levotiroxina, în doză de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ timp de 42 de zile. În ziua 28, aceste pisici au fost împărțite în 3 grupe cărora li s-au administrat diferite doze de tratament, de două ori pe zi.

Primei grupe i s-a administrat un placebo, celei de-a doua 50 mg de acid iopanoic, iar celei de-a treia 100 mg de acid iopanoic.

Rezultatul acestui studiu a relevat faptul că acidul iopanoic reduce concentrația de T_3 la pisicile cu hipertiroidism indus experimental. Pe lângă aceasta, s-a constatat îmbunătățirea masei corporale, în sensul creșterii acesteia, și a ritmului cardiac, dar care nu au fost destul de evidente deoarece studiul a fost realizat pe o perioadă scurtă de tratament (42 de zile).

Cu excepția unei singure pisici care a prezentat febră în prima săptămână, nici o alta pisică nu a prezentat efecte adverse, făcând tratamentul cu acid iopanoic să fie mai sigur decât cel cu metimazol.

Din păcate, nici un al doilea studiu, cu o durată de 120 de zile, nu a obținut rezultate

mai bune, ajungându-se la aceeași concluzie, și anume, acidul iopanoic poate fi utilizat ca metodă de tratament pe o perioadă scurtă de timp, înaintea tratamentului chirurgical sau radioactiv, precum și în cazurile speciale în care medicația cu metimazol nu este tolerată (8, 9).

Iodul radioactiv

Terapia radiactivă, cu utilizarea iodului radioactiv, are ca scop restaurarea stadiului de eutiroidism prin administrarea unei singure doze și reprezintă o metodă simplă, sigură și eficientă de tratament pentru pisicile cu hipertiroidism. Intervenția este recomandată cu succes la pisicile cu ambii lobi tiroidieni afectați sau la cere care prezintă țesut tiroidian ectopic, precum și la cele care forma malignă a hipertiroidismului, carcinomul, este prezentă (18, 19, 24).

Utilizarea acestui preparat prezintă numeroase *avantaje* față de terapia medicamentoasă antitiroidiană caracterizate prin faptul că, evită administrarea orală, zilnică a acestora, în special în cazul în care boala afectează pisicile cu o vârstă medie, iar proprietarii trebuie să administreze această medicație pe toată perioada de viață a pisicilor.

Un alt avantaj îl reprezintă dispariția efectelor secundare, care poate duce la întreruperea administrării acestei medicații, fiind necesară intervenția chirurgicală, dar care nu poate fi realizată datorită riscului anestezic dat de diferitele afecțiuni sistemice, întrucât hipertiroidismul afectează pisicile ce depășesc vârsta medie, la care frecvența organopatiilor este crescută (24).

Spre deosebire de celelalte terapii, tratamentul cu iod radioactiv înlătură riscul anestezic și apariția hipotiroidismului, apărute în cazul ablației chirurgicale, iar terapia antitiroidiană nu mai este necesară.

De asemenea, se recomandă ca tratamentul medicamentos cu tionamide să fie sistat cu 1-2 săptămâni înaintea administrării iodului (24).

Adoptarea acestei terapii prezintă însă *dezavantajele* unui număr redus de clinici disponibile și licențiate în realizarea acestui tratament, costul ridicat al intervenției, carantina ce trebuie realizată în primele 7-10 zile după tratament, dar și faptul că un număr redus de pisici (< 5%) nu răspund adecvat la prima intervenție radioactivă, necesitând o a doua intervenție (15, 24).

Mecanismul de acțiune al iodului radioactiv se bazează pe faptul că celulele tiroidiene nu diferențiază **iodul radioactiv** (I^{131}) de **iodul stabil** (I^{127}), singurul compus iodat utilizat la nivelul glandei tiroide pentru formarea hormonilor tiroidieni (7, 19, 24) și prin acțiunea distructivă a țesutului hiperactiv realizat atât prin radiațiile gamma, cât și prin particulele β , distrugând aproximativ 80% din țesutul afectat.

Distanța traversată la nivelul țesutului glandei tiroidiene este de maxim 2 mm, cu o medie de 400 μm și are beneficiul că țesutul sănătos, atrofiat și inclusiv cel al glandei paratiroide vor fi protejate de acțiune distructivă al acestora, iar riscul apariției hipotiroidismului es minim (7, 15, 18, 19, 24).

Atunci când este administrat, aprox. 20-70% din concentrația sangvină se va acumula în țesutul tiroidian (24).

Timpul de înjumătățire al acidului iopanoic este de 8 zile, iar eliminarea lui se face în mare parte pe cale renală și doar în mică măsură pe cale digestivă.

Prezența I^{131} în salivă, după administrare, favorizează contaminarea blănii prin acțiunile de curățare, face ca pisica să fie o sursă periculoasă de radiații, atât pentru oameni cât și pentru alte animale (23, 24).

În ceea ce privește eligibilitatea, nu toate pisicile pot beneficia de acest tratament, în special cele cu afecțiuni cardiace, renale, neurologice, gastrointestinale sau endocrine (diabet) la care monitorizarea este necesară, deoarece pacienții sunt supuși ulterior unei perioade de carantină de aproximativ 7-10 zile, făcând imposibilă monitorizarea.

Înainte începerii acestui tratament se recomandă realizarea testelor de rutină (profil biochimic, hematologic, determinarea concentrația serice de T_4), precum și a unei radiografii toracice în vederea evaluării stării generale de sănătate.

În unele cazuri, clinicianul poate opta pentru stabilizarea pisicilor, cu aproximativ câteva săptămâni sau chiar luni înainte, prin utilizarea medicației β blocante sau chiar a celor din clasa tiouracilului (24).

Premergător intervenției, tratamentul trebuie sistat cu aprox. 5 - 9 zile, deoarece medicamentele antitiroidiene interferează capacitatea tiroidei de a acumula și concentra moleculele de iod radioactiv crescând astfel riscul apariției hipotiroidismului (15).

În cele mai multe cazuri, administrarea unei singure doze de I^{131} determină restaurarea stării de eutiroidism în aproximativ 3 luni de la tratament, iar probabilitatea apariției hipotiroidismului este redusă la minim (2-5%) (15).

Doza necesară poate fi calculată prin mai multe metode însă eficacitatea lor este, în prezent, controversată.

Cea mai simplă metoda de calculare a dozei de iod radioactiv necesar, cu o eficiență de aproximativ 90%, se bazează pe corelarea rezultatelor date de sistemul de notare care ia în considerare severitatea semnelor clinice, concentrația serică de T_4 , precum și dimensiunea glandei tiroidiene.

Aceasta poate fi obținută prin palparea manuală, în cadrul examenului fizic sau prin realizarea unei imagini radiografice (18, 24).

Utilizând acest sistem de notare se pot obține doze mici, medii și mari de iod radioactiv necesar administrării, fără determinarea cineticii glandei tiroide, eliminând necesitatea unui echipament nuclear, a timpul necesar pentru determinarea acesteia, precum și lipsa anestezierii pacienților.

Astfel că, pisicile care prezintă semne clinice reduse, tumoră tiroidiană mică și o concentrație serică de T_4 ce depășește ușor

limita superioară de referință va primi o doză redusă de T^{131} (3mCi), făcându-le astfel pe cele cu semne clinice severe, tumori tiroidiene mari și concentrație serică cescută de T_4 să primească o doză mai mare de I^{131} (5-6 mCi).

Pisicile încadrate între aceste limite vor primi doze intermediare de I^{131} (4mCi) (24).

Administrarea I^{131} poate fi realizată pe cale intravenoasă, subcutanată și orală, preferându-se în prezent, calea subcutanată, datorită eficacității crescute, a metodei simple de administrare, a reducerii stresului pisicii în timpul manoperei, precum și a siguranței față de personal.

Această abordare e menită să favorizeze reducerea efectelor secundare gastrointestinale apărute în cazul administrării orale (18, 19, 24).

Efectele adverse ale acestui tip de tratament sunt foarte rare, iar atunci când apar sunt reprezentate de disfagie tranzitorie sau febră apărută imediat după administrare.

Singurul efect secundar important eăste reprezentat de instaurarea hipotiroidismului la câteva săptămâni după tratament, dar și acesta într-o proporție foarte redusă (7, 18, 19).

Totuși, într-un studiu realizat pe pacienții umani, s-a constatat că cei care prezentau anticorpi anti-peroxidaza înaintea terapiei, incidența hipotiroidismului era mult mai crescută comparativ cu cei care nu prezentau acești anticorpi, însă această incidență nu a fost relatată și la pacienții felini (4).

Datorită puținelor efecte adverse apărute în urma acestei terapii, timpul de supraviețuire al felinelor este considerat excelent.

Într-un studiu realizat pe 538 de pisici, media de supraviețuire a fost de 24 de luni, iar 89, 72, 53 și 34% din pisici au supraviețuit 1, 2, 3, respectiv 4 ani după tratament, cauza decesului fiind asociată cu efectele îmbătrânirii, cum ar fi, malignizarea țesutului tiroidian sau prezența afecțiunilor renale (7, 18, 19).

În ultima perioadă s-a demonstrat că după administrarea Iodului radioactiv, vindecarea hipertiroidismului este în aproximativ 95% din cazuri permanentă, existând cazuri rare, la mai puțin de 5% din pisici, în care boala reapare în aproximativ 3 ani de la tratament.

Apariția recidivei este suspicioasă de dezvoltarea unui nou țesut hiperplazic sau adenomatos hiperactiv, iar datorită acestui fapt, se recomandă ca funcția tiroidă a pacienților felini să fie monitorizată periodic chiar și după atingerea stării de eutiroidism (24).

2.2.3. Terapia homeopatică a hipertiroidismului

Datorită faptului că atât terapia medicamentoasă convențională, cât și cea permanentă induc anumite efecte secundare, mai mult sau mai puțin grave și chiar imposibilitatea de a le efectua, s-a dorit încercarea unor remedii homeopatice bazate în special pe extracte din:

- tiroidă animală (*Thiroidinum*),
- venin de șarpe (*Lachesis*),
- semințele plantei *Nux vomica*,
- sare marină (*Natrium muriaticum*).

Utilizarea celor 4 tipuri de remedii prin rotație, în funcție de semnele clinice manifestate de 4 pisici, au avut ca și rezultat remedierea graduală și individuală a semnelor clinice în decurs de 2-4 săptămâni, iar dintre cele patru pisici, doar una singură nu a prezentat normalizarea concentrației serice de T_4 , fiind supusă tratamentului cu *Natrium muriaticum*, dar la care semnele clinice au fost semnificativ reduse (29).

Pe lângă aceste terapii, din practica homeopatică umană au fost introduse și în terapia homeopatică veterinară anumite remedii pe bază de plante, dar a căror acțiune este îndreaptată mai ales asupra simptomatologiei reprezentată de hiperexcitabilitate (27).

Astfel, pentru inhibarea acesteia ar putea fi utilizate:

- păducelul,
- talpa gâștei,
- floarea pasiunii și
- lycopus,

Pentru pisicile care prezintă semnele insuficienței renale se recomandă:

- talpa gâștei,
- păducelul,
- lycopus și
- rehmannia (27).

Din păcate, tratamentul homeopatic în prezent nu este pe deplin cunoscut, iar acțiunea lor pare a se îndrepta spre normalizarea sau reducerea simptomatologiei acestei endocrinopatii.

2.4. Tiroidectomia

Alături de iodul radioactiv, tiroidectomia este considerată terapia ideală pentru tratarea hipertiroidismului și ca în orice intervenție chirurgicală este necesar ca preoperator să se realizeze anumite investigații pentru a decide dacă pacienții sunt eligibili și dacă existența unei boli concurente, cardiovasculare sau renale, care pune în pericol viața animalului este prezentă.

Ulterior, se va recurge la corectarea acestor organopatii, a hipokalemiei, dar și a tireotoxicozei (3, 23).

Prezența tireotoxicozei obligă supunerea pisicile unui tratament medicamentos antitiroidian (Metimazol) pentru a le induce starea de eutiroidism.

Sistarea acestui tratament este obligatoriu să fie oprită cu 7-10 zile înaintea intervenției chirurgicale. Dar, dacă această medicație nu este tolerată se poate recurge la administrarea agenților beta-blocanți, cu 1-2 săptămâni preoperator (6, 23).

Pisicile a căror simptomatologie este ușoară spre moderată nu trebuie supuse acestei premedicații (3).

Tiroidectomia la pisici se face prin abordarea chirurgicală a liniei mediane cervicale ventrală.

În literatură sunt descrise numeroase tehnici, unele abordând secționarea capsulei (disecție extracapsulară), pe când altele păstrează capsula (disecție intracapsulară).

Disecția intracapsulară însă este asociată cu o creștere a incidenței hipertiroidismului recurent deoarece în urma acestui tip de disecție țesutul hiperactiv nu este îndepărtat 100%.

Alternativa celor două abordări o reprezintă tiroidectomia bilaterală.

Aceasta reduce atât riscul de recidivă, cât și riscul apariției hipocalcemiei, cu mențiune că abordarea chirurgicală implică un singur lob, al doilea fiind îndepărtat câteva săptămâni mai târziu (3).

Ablația chirurgicală trebuie realizată cu atenție, iar tehnica chirurgicală aleasă astfel încât complicațiile intraoperatorii de tipul hemoragiei, dar și semnele clinice asociate cu distrugerea nervului laringian recurent, a paratiroidectomiei sau a distrugerii țesutului glandei paratiroidiene să fie minime (6, 23).

Postoperator e obligatorie monitorizarea calcemiei și a semnelor hipocalcemiei, reprezentate frecvent de durere sau spasm muscular, tremor sau spasm auricular și a musculaturii faciale, anorexie, depresie, urmate de colaps și tetanie, în special după o abordare bilaterală a tiroidei.

Dacă prezența hipocalcemiei este constatată se recomandă administrarea ușoară intravenoasă a **gluconatului de calciu 10%**, în doză de **0.5 mmol/kgc sau 0.5-1.5 ml/kgc** (la fiecare 10-20 min) și a vitaminei D, iar dacă aceasta persistă se recomandă administrarea orală de carbonat de calciu (15-20 mg/kg în hrană) și vitamina D (Calcitrol) în doză de 0.25 μg/pisică la 24 h.

În cazul apariției tetaniei se va administra subcutanat aceeași doză de calciu gluconat diluat însă într-o cantitate egală de soluție salină 0,9% (Ringer) de două ori pe zi (3, 6, 23).

Prognosticul este unul favorabil, pisicile prezintă îmbunătățirea comportamentului și ceșterea în greutate, iar recidiva hipertiroidismului apare rar, la 1-2 ani de la intervenție datorită creșterii adenomatoase postoperator (3).

Concluzii

În cadrul studiilor realizate până în prezent, prognosticul după înlăturarea cu succes a țesutului tiroidian hiperactiv, prin terapia radioactivă sau chirurgicală, este excelent, dar cu condiția ca afecțiunile concurente să nu fie prezente.

Tratamentul cu Metimazol și Carbimazol sunt eficiente, însă prognosticul depinde de prezența și gravitatea efectelor secundare date de acestea (22).

În România, din păcate, singurele opțiuni de tratament disponibile sunt terapiile medicamentoase și intervențiile chirurgicale.

Achiziționarea produselor de uz veterinar de tipul tionamidelor reprezintă și ea o problemă, clinicienii fiind obligați să utilizeze produse medicamentoase de uz uman (ex. Tyrozol) a căror eficacitate în cadrul hipertiroidismului felin nu este încă pe deplin cunoscută.

Bibliografie

- Amara B. Ibtissem, Troudi A, Garoui E, Hakim A, Boudawara T, Zeghal M.K, Zeghal N (2011). Protective effects of selenium on methimazole nephrotoxicity in adult rats and their offspring. *Experimental and Toxicologic Pathology* 63:553-361
- Amara B. Ibtissem, Troudi A, Soudani N, Guermazi F, Zeghal N (2012). Toxicity of methimazole on femoral bone in suckling rats: Alleviation by selenium. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64:187-195
- Birchard, J.S. (2006). Thyroidectomy in the Cat. *Clin Tech Small Anim Pract* 21:29-33
- Boj C.D., Lievano S.P., Navarro B.P., Sanz P.A., Castro H.P., Monreal V.M., Abos, O.D. (2011). Short-term results of treatment with I^{131} in patients with multinodular goiter: effect of the associated degree of hyperthyroidism and other variables. *Rev Esp Med Nucl* 30(3):156-161
- Boyd J., Mooney T.C. (2008). Drugs used in the management of thyroid and parathyroid disease. *Small Animal Clinical Pharmacology*, Ed. Saunders Elsevier, Missouri, USA; pp 498-508
- Catriona M. MacPhail (2013). Soft tissue surgery: Feline Hyperthyroidism. *Small Animal Surgery*, Ed. Elsevier. Missouri, USA, pp.670-679
- Fieldman C.E., Nelson R.W. (2004). Feline Hyperthyroidism (Thyrotoxicosis). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, Ed. Saunders, Missouri, USA, pp 153-219
- Gallagher E.A., Panciera D.L. (2009). Effects and safety of iopanoic acid in cats administered levothyroxine. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2009;11:69-75
- Gallagher E.A., Panciera D.L. (2011). Efficacy of iopanoic acid for treatment of spontaneous hyperthyroidism in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13:441-447
- HERRTAGE, M. E. (2010): Endocrine Disorders. *Clinical Medicine of the Dog and Cat*, second edition, Ed. Manson Publishing, London, England, p.451-504
- Jenifer Wakeling, Smith K, Scase T, Kirkby R, Elliot J, Syme H (2007). Subclinical Hyperthyroidism in Cats: A Spontaneous Model of Subclinical Toxic Nodular Goiter in Humans? *Thyroid*, 17:1201-1209
- Lauren A. Trepanier (2006). Medical Management of Hyperthyroidism. *Clin Tech Small Anim Pract* 21:22-28
- Lauren A. Trepanier (2007). Pharmacologic Management of Feline Hyperthyroidism. *Vet Clin Small Anim* 24: 775-788
- Lecuyer M., Sabrina Prini, Marylin E. Dunn, Michele Y. Doucet (2006). Clinical efficacy and safety of transdermal methimazole in the treatment of feline hyperthyroidism. *Can Vet J* 47:131-135
- Lurye C.J. (2006). Update On Treatment Of Hyperthyroidism. *Consultation in Feline Internal Medicine*, Ed. Saunders Elsevier, Missouri, USA, pp 199-205
- Mariana Șincai (2006) Glandele endocrine, Histologie veterinară, Țesuturi și organe, pp. 117-128
- MENSCHING, D. (2010)- Illinois Sustainable Technology Center, The feline thyroid gland-A model for endocrine disruption by polybrominated diphenyl ethers, Illinois, <http://www.wmrc.uiuc.edu/research/092910symposium/1145.pdf>
- Mooney C.T., Peterson M.E. (2004). Feline hyperthyroidism. *Manual of Canine and Feline Endocrinology*, Ed. BSAVA, Gloucester, England, pp 95-111
- Mooney C.T., Rand J.S., Fleeman L.M. (2004). The Endocrine System. *Feline Medicine and*

- Therapeutics. Ed. Blackwell, Iowa, USA pp 527-568
20. Mooney T.C. (2010). Hyperthyroidism. Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult vol 2, Ed. Saunders Elsevier, Missouri, USA, pp 1410-1436
 21. NELSON, R. (2009) - Disorders of the thyroid gland. În: Small Animal Internal Medicine, 4th edition, Ed. Mosby Elsevier, Missouri, USA, p. 724-763
 22. NORSWORTHY, G. D. (2006) - Hyperthyroidism in cats. The Feline Patient, 4th edition, Ed. Blackwell, Missouri, USA p. 256-259,
 23. Peeters M.E. (2013). Feline Hyperthyroidism. Small Animal Soft Tissue Surgery, Ed. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, pp.17-26
 24. Peterson M.E. (2006). Radioiodine Treatment of Hyperthyroidism. Clin Tech Anim Pract 2006;21:34-39
 25. Plumb D.C. (2008). Carbimazole. Plumb's Veterinary Drug Handbook, Ed. Blackwell, Iowa USA, pp.132-133
 26. Plumb D.C. (2008). Methimazole. Plumb's Veterinary Drug Handbook, Ed. Blackwell, Iowa USA, pp.588-589
 27. Poppenga R.H. (2007). Herbal Medicine: Potential for intoxication and interaction with conventional drugs. Veterinary Herbal Medicine, Ed. Mosby Elsevier, Missouri, USA, pp. 176-200
 28. Rijnberk A.D., et. al Thyroids. Clinical Endocrinology of Dogs and Cats, Ed. Schlutersche, Germany, 55-92
 29. Salvatore D., Terry F. Davies, Schlumberger M.J., Hay I.D., Larsen P.P. (2011). Section III. Thyroid. William textbook of endocrinology, Ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 333-482
 30. Sara F. Chapman (2011). Homeopathic and integrative treatment for feline hyperthyroidism-four cases (2006-2010). Homeopathy 100:270-274
 31. Sherry Ihle (2011). Hyperthyroidism. Clinical Veterinary Advisor, Dogs and Cats, Ed. Elsevier, Missouri, USA, pp 986-980
 32. Tortura G., Derrickson B. (2009). The endocrine system. Principles of anatomy and physiology, Ed. John Wiley and Sons, Inc, New Jersey, USA, pp. 642-689
 33. Vanda C. GANȚĂ., PENTEA, M. (2006) - Neurologie veterinară, Glande endocrine, Organe de simț, Ed. Mirton, Timișoara, România
 34. Wu X, Hong L, Xixing Z, Jun S, Yongquan Shi, Zhimin L, Mingjun G, Zhimin S (2013). Efficacy and safety of methimazole ointment for patients with hyperthyroidism. Environmental Toxicology and Pharmacology 36:1109-1112
 35. <http://animalendocrine.blogspot.ro/2013/06/transient-hypothyroidism-in-cats.html>
 36. <http://jpet.aspetjournals.org/content/324/3/1037/F1.expansion.html>
 37. <http://people.upei.ca/bate/html/notesonthyroidunction.html>
 38. <http://vetbook.org/wiki/cat/index.php/File:Parathyroid1.jpg>
 39. <http://www.animalendocrine.com/yd/>
 40. <http://www.pharmalo.com/?p=754>
 41. <http://www1.cgmh.org.tw/intr/intr5/c6g100/learning/pdf/20130731-%E9%9D%96%E8%8A%B3.pdf>



SUPER KILLER

INSECTICID CONCENTRAT



Super Killer combate:

gândacii ✓	muștele ✓
puricii ✓	moliile ✓
păduchii ✓	păienjenii ✓
ploșnițele ✓	țânțarii ✓
căpușele ✓	viespile ✓



Soluția de stropit se prepară astfel:

- Țânțari, păduchi, muște, furnici - 4ml Super Killer / 1litru apă.
- Gândaci, purici, păienjeni, molii, viespi, căpușe - 8ml Super Killer / 1 litru apă.

Se va utiliza numai soluția diluată, proaspăt preparată și bine omogenizată.

Remanență: 6 - 8 săptămâni.

ATENȚIE:

Nu se va utiliza la stropitul plantelor și semințelor destinate consumului uman.
Nu se aplică pe echipamentele electrice.
Produs autorizat conform avizului nr. 1328BIO/18/06.10

Distribuitor: S.C. Farmavet S.A.
Calea Giulești nr. 333, Sector 6 , București
Tel. +4021.221.99.60; Fax +4021.220.69.32
E-mail: office@farmavet.ro; Web: www.farmavet.ro



Despre utilizarea unor mijloace nano-terapeutice în medicină About the use of nano-therapeutic means in medicine

Andreia Bianca Chirilă, Romeo T. Cristina

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Cuvinte cheie: *mijloace nano-terapeutice, fluide magnetice, review*

Key words: *nano-therapeutic means, magnetic fluids, review*

Rezumat

Nanobiotehnologia este un câmp relativ nou de cercetare, constituind interfața dintre științele vieții și nanotehnologie. În acest domeniu unde dimensiunile cu care se lucrează sunt cuprinse între 1 nm și 100 nm se propune exploatarea calității biomoleculilor și a proceselor pe care le implică pentru dezvoltarea unor materiale sau dispozitive cu activitate certă în medicină. Prezenta abordare bibliografică propune o primă incursiune în utilizarea unor mijloace nano-terapeutice în medicină. Sunt prezentate sintetic principalele nanomateriale, proprietățile și posibilele lor utilizări în nanomedicină, fluidele magnetice, sinteza și stabilizarea lor precum și progresele recente în acest topic.

Abstract

Nanobiotechnology is a relatively new field of research, being the interface between the life sciences and nanotechnology. In this area where the work dimensions are between 1 nm and 100 nm the recovery of biomolecules' quality and the processes involved it is proposed, in the development of materials or devices with certain medical activity. This bibliographic approach proposes a first foray into nano-therapeutic resources use in the medical field. Are presented synthetically the main nanomaterials, their properties and potential applications in nanomedicine, magnetic fluids, their synthesis and stabilization as well as recent advances in this topic.

Nanobiotehnologia este un câmp nou de cercetare, constituind interfața dintre științele vieții și nanotehnologie. În acest domeniu unde dimensiunile cu care se lucrează sunt cuprinse între: 1 nm și 100 nm (1).

Acest domeniu propune exploatarea calității biomoleculilor și a proceselor pe care le implică pentru dezvoltarea unor materiale sau dispozitive cu activitate certă în medicină. Medicamentele substanțe care, în general determină modificări favorabile în organism dar pot de asemenea fi nocive datorită mai ales a:

- ▶ efectelor nedorite,
- ▶ reziduurilor,
- ▶ fenomenelor de rezistență.

De exemplu, peste 70% dintre bacteriile care determină infecții intra-spitalicești sunt rezistente la cel puțin un antibiotic!

Cel mai cunoscut exemplu este cel al tulpinilor meticilino-rezistente (fig. 1) (1).

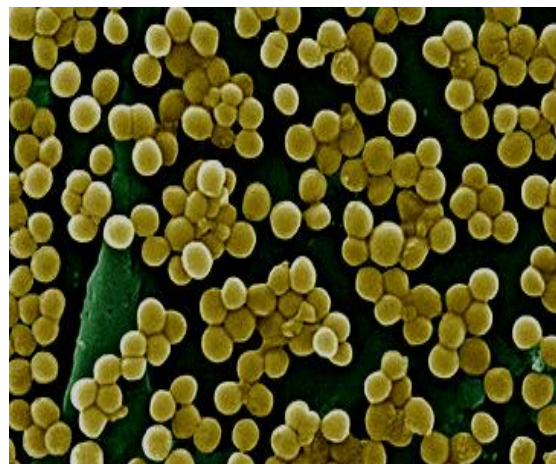


Figura 1. Tulpini Methicillin-Rezistente de *Staphylococcus aureus* (MRSA) evidențiate prin Scanning Electron Micrograph (SEM) Sursa: [http://img.timeinc.net/time/daily/2007/0706/a_lantibiotics_0618.jpg\(1\)](http://img.timeinc.net/time/daily/2007/0706/a_lantibiotics_0618.jpg(1))

Un alt mecanism de supraviețuire bacteriană este: „*Ply Sly mechanism*”, în

care bacteriile pot evita și mai apoi elimina antibioticul, pompându-l extracelular (fig. 2).

Deci microorganismele care pot genera rezistență, posedă forme de „inteligență”, așa că noile tipuri de substanțe active trebuie să

„identifice” acele căi care le fac „și mai inteligente”!

Acesta a fost începutul acestei științe (1).



How Bacteria Fight Back

Antibiotics kill bacteria by blocking necessary enzymes (see 1, above). But bacteria ply sly mechanisms for evading attack. They spew out enzymes to slice apart the antibiotic (2). They close off the cell wall to prevent penetration (3). They pump out the antibiotic before it can kill (4) or change the targeted enzyme to disable the drug (5). And they easily pass on the best tools to still other bugs.

Figura 2. mecanismul PlySly bacterian

(Sursa: http://s3.amazonaws.com/readers/healthmad/2007/07/22/43701_0.jpg) (1)

În acest context nanotehnologia terapeutică caută să ofere caracteristici specifice care pot reduce morbiditatea și mortalitatea la om și animale:

- ▶ o terapie invazivă minimală,
- ▶ funcții cu densitate înaltă,
- ▶ concentrarea în volume foarte mici.

FDA- definește un sistem de eliberare al farmaconilor ca fiind: „... un produs destinat diagnosticului, tratamentului, prevenirii, sau diminuării unei boli sau a condițiilor ei de apariție, sau care interferează o funcție sau structura organismului și care nu-și atinge efectul său primar ca urmarea unei interacțiuni chimice și care nu este metabolizat...” (1).

Aplicațiile inițiale, de pionierat ale nanobiotehnologiei au dat posibilitatea reformulării unor condiționări, considerate până atunci a fi toxice în formule sigure și mult mai eficiente (1).

Astfel nano-formulările din prima generație au inclus:

- ▶ nanoparticulele de tip albumin-bound,
- ▶ chelații (gadolinu),
- ▶ particulele oxido-feroase,
- ▶ nanoparticulele din argint,
- ▶ restorativele (în stomatologie) și

▶ lipozomii (ca primi reprezentanți ai celei de a doua generații).

Dintre numeroasele studii „on the topic” fluidele magnetice sunt considerate a fi printre primele aplicații verificate ale nanoștiințelor. Un bun exemplu este folosirea cu succes al fluidelor magnetice în SIDA (1).

Totuși aceste prime încercări au au demonstrat în timp numeroase neajunsuri, dintre care cele mai importante au fost:

- ▶ biodisponibilizarea nesatisfăcătoare,
- ▶ efectul limitat,
- ▶ potențiala citotoxicitate,
- ▶ tratamente de lungă durată, frecvente

Nanodispozitivele (sin. nanocarriers) au depășit aceste limitări. Acestea sunt capabile să:

- ▶ maximizeze activitatea terapeutică,
- ▶ minimizeze efectele toxice secundare,
- ▶ țintească celule specifice și nu țesuturile,
- ▶ permită mișcarea ușoară de suprafață

Numeroase grupări funcționale pot fi plasate pe nanodispozitive pentru:

- ▶ a crește / descrește solubilitatea,
- ▶ penetrația mai ușoară a membranelor
- ▶ creșterea imunocompatibilității,
- ▶ favorizarea asimilării celulare,

► stabilirea cu certitudine a destinației finale a farmaconului.

Astfel, a doua generație de nano-dispozitive a devenit mult mai sofisticată datorită studiilor la nivel molecular acest fapt permițând nano-dispozitivelor să:

1. țintească,
2. identifice,
3. elibereze precis substanța activă,
4. monitorizeze eficacitatea terapeutică

în timp real (1).

1.1. Nanotehnologia în biologie

Cele mai promițătoare tehnologii ale secolului 21 sunt biotehnologia și nanotehnologia.

Aceasta din urmă este știința structurilor nanometrice se ocupă cu crearea, investigarea și utilizarea sistemelor care sunt de 1000 de ori mai mici decât componentele utilizate în prezent în domeniul microelectronicii (3).

Convergența acestor două tehnologii rezultă în dezvoltarea nanobiotehnologiei, această combinație interdisciplinară poate crea multe echipamente inovatoare (3).

Nano-biotehnologia reprezintă unirea biotehnologiei și a nanotehnologiei.

Această disciplină hibridă, înseamnă deasemenea, producerea de dispozitive de dimensiuni atomice prin imitarea sau încorporarea sistemelor biologice la nivel molecular, sau construirea de instrumente minuscule pentru a studia sau modifica proprietățile structurale atom cu atom (3).

Nanobiotehnologia poate avea o combinație de microtehnologie clasică cu o abordare a biologiei moleculare.

Biotehnologia utilizează cunoștințele și tehnica din biologie pentru a manipula procese moleculare, genetice și celulare, ca să dezvolte produse și servicii; este utilizat în diverse domenii, de la medicină la agricultură (2).

Nanotehnologia este un nou domeniu al științei care implică lucrul cu materiale

(substanțe) sau dispozitive la nivel nanometric¹.

Nanotehnologia manipulează proprietățile chimice și fizice ale unei substanțe la nivel molecular.

Ea schimbă modul de gândire, estompează granițele dintre fizică, chimie și biologie, eliminarea acestei granițe ridică multe provocări și noi direcții pentru organizarea educației și cercetării (3).

Richard Feynman, în discursul din 1959, intitulat *"There is plenty of room at the bottom"* scoate în evidență următorul concept: *"Dacă mințile voastre înguste, pentru confort, divid acest univers în bucăți, fizică, biologie, geologie, astronomie, psihologie ș.a.m.d. amintiți-vă că natura nu știe asta!"* (2, 3).

1.1.1. Nanomedicina

Primele origini ale noțiunii de nanomedicină provin din ideea vizionară a lui Feynman a unor nanoroboți și a unor mecanisme asemănătoare care ar putea fi proiectate, construite, și introduse în organism pentru a efectua reparații celulare la nivel molecular (2, 3).

Odată cu cristalizarea priorităților medicinei secolului XX și mai ales XXI, și nanomedicina a luat avânt (Tabelul 1).

Tabelul 1.
Prioritățile medicinei de azi (Sinteză Cristina, 2009)(1)

Umană	Veterinară
Diabet ◀	► Procesul infecțios
Cancer ◀	► Zoonozele
Atacul de cord ◀	► Disfuncția hormonală
Disfuncția hormonală ◀	► Diabetul la câine
Modularea SNC ◀	► Celulele Stem (os)
Celulele Stem ◀	► Supresia imună
Supresia imună ◀	► Monitoring
Alergie ◀	
Deficiențele ochiului ◀	
Angioplastia ◀	
Monitoring ◀	

¹ Un nanometru este o miliardime dintr-un metru; este aproximativ 1/80.000 din diametrul firului de păr, sau de 10 ori diametrul unui atom de hidrogen.

În general miniaturizarea instrumentelor medicale va asigura abordări mai precise, mai controlabile, mai multilaterale, mai sigure, mai rapide pentru creșterea calității vieții.

Aceste idei au fost studiate și de către Drexler (cit. Freitas Jr.) în anii 1980-1990, în scrierile tehnice ale lui Freitas în 1990-2000, dar primul om de știință care a exprimat posibilitățile a fost fizicianul Richard P. Feynman laureat al premiului Nobel (2, 3).

Aplicațiile biomedicale ale nanotehnologiei sunt rezultate directe a astfel de convergențe; totuși provocările, cu care se confruntă cercetătorii și inginerii care lucrează în domeniul nanotehnologiei sunt, enorme și extraordinar de complexe.

Interesul crescut al nanotehnologiei în aplicații medicale a dus la apariția unei noi discipline cunoscute ca nanomedicină.

Pe larg, nanomedicina cuprinde procesul de diagnosticare, tratare și prevenire a bolilor și traumatismelor, eliminarea durerii, păstrarea și întărirea sănătății utilizând „unelte” moleculare și cunoștințe moleculare ale organismului.

Deci nanomedicina este de fapt aplicarea nanotehnologiei în medicină (2, 10).

Utilitatea nanotehnologiei în științele biomedicale impune crearea de materiale și dispozitive proiectate să interacționeze cu corpul la nivel subcelular, cu înalt grad de specificitate.

Utilizarea nanotehnologiei în științele biomedicale prezintă multe oportunități revoluționare în lupta împotriva cancerului, tulburărilor cardiace și neurovegetative, infecțiilor și altor boli.

Se așteaptă ca tehnologia să creeze inovații și să aibă rol vital în varii aplicații biomedicale, nu doar în transportul de substanțe medicamentoase și în terapia genică, dar și în imagistica moleculară, biomarkeri și biosenzori (11).

Nanotehnologia ar avea un rol mare în domeniul cercetărilor din terapia medicamentoasă cu specificitate de țintă și

în metodele de diagnostic timpuriu a patologiilor.

Simpozionul intitulat "Nanoscience and Technology: Shaping Biomedical Research" care a avut loc la Loyola College, Virginia, în 2000, s-a adresat în special nanoștiinței și nanotehnologiei din domeniile cercetării din biomedicină:

- Sinteza și utilizarea nanostructurilor
- Aplicarea nanotehnologiei în terapie
- Nanostructuri biomimetice și biologice
- Interfețe biologice electronice
- Dispozitive pentru detectarea precoce a bolilor
- Instrumente pentru studierea unei singure molecule
- Nanotehnologia și ingineria țesuturilor (3).

Nanomedicina variază de la aplicații medicale ale nanomaterialelor, la biosenzori nanoelectronici, și ca posibile aplicații viitoare ale nanotehnologiei moleculare.

Probleme curente ale nanomedicinii implică înțelegerea problemelor legate de toxicitatea și impactul asupra mediului a materialelor nanometrice.

1.2. Nano-materialele utilizate în biomedicină

Nanoparticulele sunt comparabile, ca dimensiune, cu proteinele.

Organismele vii sunt alcătuite din celule care au în general dimensiunea de 10 μm , componentele celulare sunt, ca dimensiune, din domeniul sub-micronic, iar proteinele sunt și mai mici, având, în general, în jur de 5 nm (6).

În figura 3 este redat gradul de mărime comparativ al nano-moleculilor.

Se cunosc deja numeroase materiale cu abilități în eliberarea medicamentelor.

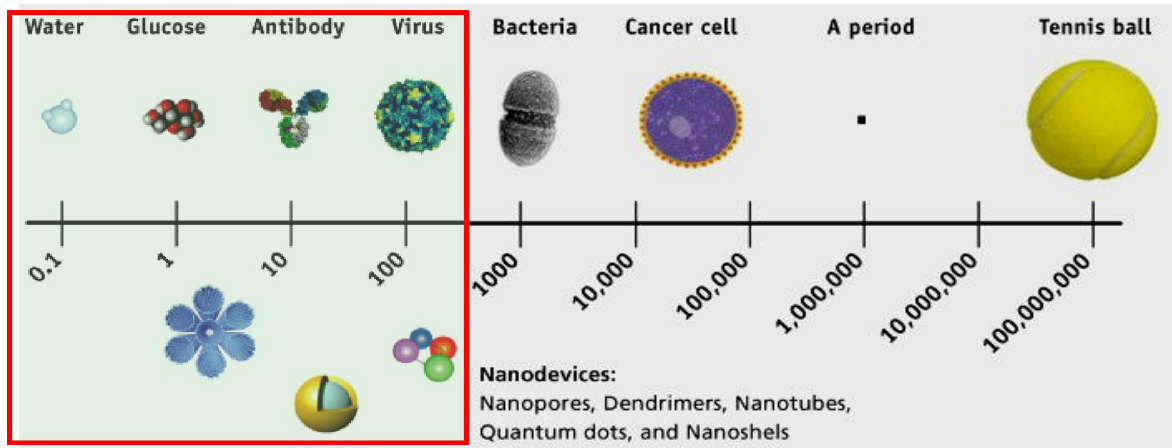


Figura 3. Gradul de mărime comparativ al nano-moleculor
(Sursa: www.fda.gov/consumer/updates/nanotech072507.html) (1)

Dintre acestea, primele substanțe cunoscute au fost polimerii care inițial aveau utilizări non-biologice, dar care au fost selectate și în medicină datorită numeroaselor proprietăți dezirabile, de exemplu (1):

- ▶ inert chimic,
- ▶ liber de impurități filtrabile,
- ▶ cu îmbătrânire minimă,
- ▶ ușor procesabil,
- ▶ cu structură adecvată.

Factorii care pot influența biodegradarea polimerilor pot fi (1):

Tipul polimerului	Caracteristica principală
Poliuretanii	- elasticitate
Polisiloxanii	- abilități de izolare
Polimetil-metacrilatii	- rezistență și transparență
Polivinil alcoolii	- hidrofile și rezistență
Polietilenele	- duritate și lipsa gonflării
Polivinil-pirolidonele	- suspensia

a. Specifici

- structura chimică,
- compoziția chimică,
- prezența grupărilor ionice,
- prezența formațiunilor (sau lanțurilor defecte),
- greutatea moleculară sau distribuția greutății moleculare,
- morfologia (amorfa / semi cristalină, microstructura etc.),
- prezența compușilor cu greutate moleculară mică.

b. Tehnologici

- condițiile de prelucrare
- procesele termice
- procesele de sterilizare
- stocaj
- formă

c. Medicali

- locul implantării
- compușii absorbiți și adsorbiți (apa, lipidele, ionii etc.),
- factori fizico-chimici (schimbul ionic, energia ionică, pH-ul)
- factori fizici (schimbări de formă și mărime, variații ale coeficienților de difuziune, stress-ul mecanic etc.),
- hidrolizele (enzime vs. apă).

Materialele biocompatibile care prezintă răspuns la câmpul magnetic extern și-au găsit multe aplicații interesante în arii variate ale bioștiințelor și biotehnologiei, incluzând diferite discipline medicale (10,11).

Pentru a interacționa cu o țintă biologică, este necesară atașarea unui strat biologic sau molecular care acționează ca o interfață bioanorganică; exemple de strat bio: anticorpi, biopolimeri (colagenul, diferite monostraturi de molecule care fac nanoparticula biocompatibilă).

Tehnicile de detectare optică sunt foarte răspândite în biologie, astfel că nanoparticulele ar trebui să aibe în plus un strat fluorescent sau unul care își schimbă proprietățile optice. Un material de succes folosit pentru nano-formulări trebuie să fie:

Comparația nanoparticulelor cu proteinele, dă o idee a utilizării acestor „sonde” foarte mici care ne permit spionarea

funcționării celulare, fără a produce prea multe interferențe.

Înțelegerea proceselor biologice la nivel nanometric, este o forță motrică puternică în spatele dezvoltării nanotehnologiei (6).

Pentru aplicații biologice, cele mai utilizate proprietăți sunt efectele optice și magnetice, pe lângă cele fizice.

Nanoparticulele formează de obicei centrul (mijlocul) nanobiomaterialelor.

Pot fi utilizate ca suprafețe pentru asamblare moleculară, și pot fi formați din material anorganic sau polimeric.

Se mai găsesc sub forma unor nano-vezicule înconjurată de o membrană sau un strat. Forma este de obicei sferică, dar poate fi și cilindrică, plată (discoidală), sau alte forme.

Dimensiunea și distribuția dimensiunii poate fi importantă, de exemplu atunci când este necesară traversarea unei membrane celulare.

Un control strict al dimensiunilor medii ale particulelor și o distribuție limitată a dimensiunilor a permis crearea unor sonde fluorescente care emit lumină, într-o gamă largă de lungimi de undă.

Acest lucru permite crearea unor biomarkeri cu multe culori bine definite (4).

Mijlocul însuși poate avea mai multe straturi și poate fi multifuncțional, de exemplu combinând straturi magnetice și luminescente, se pot detecta și manipula particulele.

Particula centrală este adesea protejată de mai multe monostraturi de materiale inerte, de exemplu siliciu, sau molecule organice care sunt adsorbite sau chemisorbite la suprafața particulei.

Peste se mai adaugă un strat adițional de molecule de legare pentru a fi funcțional.

Aceste molecule de legare sunt liniare și au grupări reactive la ambele capete, unul pentru a se atașa de particulă iar celălalt pentru atașarea diverselor grupări biocompatibile (anticorpi, fluorofori în funcție de aplicație) (6).

1.2.1. Materialele magnetice

Familia largă a materialelor controlabile prin câmp magnetic, includ atât nano-, cât și microparticule, structuri (nano-tuburi, nano-fire), pelicule subțiri etc. Pot servi ca exemple:

- ferofluidelor (fluidele magnetice),
- fluidele magnetoreologice,
- polimerii magnetici,
- materiale anorganice magnetice,
- structuri biologice modificate magnetic,
- particule magnetice cu biomolecule legate (5, 7).

În multe cazuri materialele composite sensibile magnetic, constau din particule magnetice mici (cel mai adesea formate din magnetită, maghemită sau diverși feriti), de la scară nanometrică la cea micrometrică, dispersați în polimeri, biopolimeri sau matrice anorganică; ca metodă alternativă particulele magnetice pot fi adsorbite pe suprafața externă a unei particule diamagnetice (nu conține electroni desperecheați și deci nu este atras de câmpul magnetic) (4, 5, 7).

În majoritatea cazurilor s-au dezvoltat nano-/microparticule sintetice sensibile magnetic, dar s-au produs cu succes și particule magnetice biologice (magnetozomi produși de o bacterie magnetotactică) care au fost utilizați cu succes în bio-aplicații (4, 5, 10).

Sinteza nanoparticulelor magnetice

Multe proceduri chimice s-au utilizat pentru a sintetiza nano-/ microparticule magnetice pentru bioaplicații, de exemplu:

- co-precipitarea clasică,
- reacții în medii constrânse (micro-emulsii),
- sintezele sol-gel,
- reacțiile sono-chimice,
- microunde,
- reacții hidro-termale,
- hidroliză și
- termoliza precursorilor (4, 5, 8).

Cea mai simplă și eficientă cale chimică de a obține particule magnetice este tehnica co-precipitării. Oxizii de fier, sub forma magnetitei (Fe_3O_4) sau maghemitei ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), sunt preparați prin „îmbătrânirea” mixturilor stoichiometrice de săruri feroase și ferice în mediu apos alcalin (*stoichiometria = ramură a chimiei care studiază raporturile cantitative dintre elemente, în combinații sau în reacții*)(4).



Magnetita (Fe_3O_4) nu este foarte stabilă și este sensibilă la oxidare ceea ce duce la formarea maghemitei ($\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Principalul avantaj al procesului de coprecipitare este că se pot sintetiza o cantitate mare de nanoparticule; totuși controlul distribuției dimensiunilor particulelor este limitat (4,5).

Adăugarea de anioni organici chelatanți (carboxilați, ioni de -hidroxicarboxilați, acid citric, a.gluconic sau oleic) sau agenți de suprafață complexanți (dextran, carboxidextran, amidon, polivinilalcool), în timpul formării magnetitei, poate ajuta controlul dimensiunii nanoparticulelor (4).

Potrivit raportului molar dintre ionii organici și sărurile de fier, chelația acestor ioni organici pe suprafața ionilor de oxid de fier, poate preveni nucleația și duce la formarea nanoparticulelor mai mari, sau inhibă creșterea nucleilor de cristal și duce la formarea nanoparticulelor mici.

Metoda de co-precipitare clasică generează o distribuție largă a dimensiunilor.

Sinteza unor nanoparticule de oxid de fier cu dimensiuni uniforme se poate face în nanoreactori sintetici și biologici, ca structuri micelare în solvenți non-polari, cuști de proteine de apoferritină, dendrimere, ciclodextrine și lipozomi (4, 9, 10).

Sinteza hidrotermală a nanoparticulelor de magnetită este efectuată în medii apoase în reactoare sau autoclave, unde presiunea poate fi mai mare de 2,000 psi (cca 13,8 Mpa), iar temperatura mai mare de 200°C. În acest proces, condițiile de reacție, cum ar fi

solventul, temperatura și timpul de obicei au efect asupra produsului. Dimensiunea, particulelor din pudrele de magnetită, a crescut odată cu prelungirea timpului de reacție și o cantitate mai mare de apă a rezultat în urma reacției de precipitare a particulelor mari de magnetită (4).

Procesul sol - gel este o cale umedă adecvată pentru sinteza oxizilor metalici nanostructurați. Acest proces se bazează pe hidroxilarea și condensarea precursorilor moleculari în soluții rezultând o soluție de particule nanometrice mai departe condensarea și polimerizarea anorganică duce la o rețea tridimensională de oxizi metalici de gel umed. Pentru că aceste reacții se efectuează la temperatura camerei, sunt necesare viitoare tratamente termice pentru a dobândi forma finală cristalină.

Principali parametri care afectează cinetica, reacția de creștere, hidroliza, reacțiile de condensare și prin urmare, structura și proprietățile gelului sunt: solventul, temperatura, natura și concentrația sărurilor precursore folosite, pH-ul și agitația (4, 8).

Procesul polioli este o abordare chimică versatilă pentru sinteza nanoparticulelor și microparticulelor cu forme bine determinate și dimensiuni controlate. Polioli selectați (polietilen glicol) folosiți ca solvenți prezintă constante dielectrice mari și pot dizolva compuși anorganici. Datorită punctului de fierbere relativ înalt, oferă o gamă largă de temperaturi de operare pentru prepararea compuşilor anorganici.

Polioli pot servi ca agenți reducători și deasemenea ca stabilizatori pentru controlul creșterii particulelor și preveneria agregării interparticulare.

Nanoparticulele de magnetită neagregate (7 nm diametru) au fost sintetizate în timpul reacției trietilenglicolului cu Fe, la o temperatură ridicată (4, 8).

Recent a fost dezvoltată o nouă metodă de sinteză a nanoparticulelor de magnetită – sinteza prin injectare în flux (*FIS = Flow Injection Syntesis*). Tehnica constă în

amestecarea continuă sau segmentară a reagenților în regim de flux laminar într-un reactor capilar. Tehnica prezintă avantajele: reproductibilitate mare și cauza curgerii în bloc și condițiilor laminare, omogenitate mare și oportunitate pentru un control extern precis al procesului (4).

Nanoparticulele de magnetită obținute au dimensiuni cuprinse între 2-7 nm.

Pirolizele (gr. *pyrolysis*) cu spray și laser sunt reprezentanți tipici ai tehnologiei cu aerosoli, sunt procese chimice continue care permit rata mare de producție a nanoparticulelor. Prin piroliza cu spray, o soluție de săruri ferice și un agent reducător în solvent organic este spray-at într-o serie de reactori, unde soluția de aerosoli condensează și solventul se evaporă. Evidența uscat rezultat este format din particule ale căror dimensiuni depinde de mărimea inițială a picăturilor originale (4).

Particulele de magnetită cu dimensiuni între 5 - 60 nm cu diferite forme au fost obținute utilizând diferiți precursori de săruri de fier în soluții alcoolice.

S-au studiat o gamă largă de reacții chimice accelerate prin iradiere cu microunde a reactanților. Recent s-a dezvoltat o metodă cu microunde, simplă, rapidă și eficientă pentru prepararea nanoparticulelor de magnetită relativ uniforme (80 ± 5 nm) direct din săruri de Fe^{2+} , formarea acestora necesită de la câteva secunde la câteva minute. De asemenea utilizând această procedură se pot obține nanoparticule de magnetită „umplute” cu nanoparticule de argint.

Pulberi de nanoparticule de magnetită se mai pot sintetiza pe cale mecano-chimică.

Măcinarea cu ajutorul morii cu bile a cloridului feros și feric cu hidroxid de sodiu a dus la o mixtură de magnetită și clorură de sodiu. Pentru a evita aglomerarea excesul de NaCl este adăugat precursorului înainte de moară. Pentru obținerea particulelor de diferite dimensiuni, pulberile măcinate au fost reîncălzite la temperaturi de la 100°C la 800°C timp de o oră (4, 5, 12).

Stabilizarea particulelor magnetice

Pentru a obține materiale sensibile magnetic biocompatibile de obicei este necesar să se stabilizeze nanoparticulele de oxid de fier prin modificarea suprafeței lor sau prin încorporarea în matrici biocompatibile corespunzătoare (4, 5).

Nanoparticulele magnetice modificate ar trebui să fie stabile contra agregării în mediul biologic și în câmpul magnetic. Mai mulți compuși cu grupări funcționale de carboxil, fosfat și sulfat sunt cunoscute că se leagă de particulele de magnetită și le stabilizează.

Acidul citric poate fi utilizat cu succes pentru stabilizarea fluidelor magnetice pe bază de apă prin coordonarea prin una sau două grupări reziduuri de carboxil; acesta lasă cel puțin o grupare de acid carboxilic să fie expus solventului, care ar trebui să fie responsabil pentru a face suprafața cu încărcarea negativă și hidrofilică. Alte ferifluidе pot stabilizate prin interacțiuni ionice, utilizând de exemplu acid percloric sau hidroxid de tetrametilamoniu.

În majoritatea cazurilor biopolimeri biocompatibili sunt utilizați pentru stabilizarea și modificarea particulelor magnetice. Materialele polimerice naturale sau sintetice utilizate pentru stabilizarea particulelor ar trebui să aibe proprietățile:

- să fie biocompatibile,
- biodegradabile,
- netoxice,
- netrombogene,
- non-imunogenice și
- ieftine (4, 5).

Nanoparticulele ideale, compozite polimer biocompatibile sensibile magnetic trebuie să aibe următoarele proprietăți:

- diametrul particulelor sub 100 nm,
- stabilitate în sânge,
- să nu activeze neutrofilele,
- să nu agregheze trombocitele,
- să evite sistemul reticuloendotelial,
- comportament neinflamator,
- timp de circulație prelungit,

- posibila imobilizare a compușilor biologici corespunzători (anticorpi) și
- producție ieftină.

Dextranul este un polimer de polizaharid compus exclusiv din unități de D-glucopironil cu diverse lungimi de lanț și ramificații; a fost utilizat ca înveliș de polimer mai ales pentru biocompatibilitatea excelentă (4, 5).

Formarea magnetitei în prezența dextranului 40.000 a fost raportată pentru prima dată în 1982. Această procedură s-a utilizat pentru prepararea agentului de contrast pentru MRI Ferumoxtran-10; acest material are un diametru hidrodinamic de dimensiuni mici, 15-30 nm și prezintă rezistență în sânge, ceea ce permite acestor particule foarte mici să acceseze macrofagele localizate adânc în țesuturile patologice.

Alți biopolimeri care servesc ca înveliș sunt formați din dextran carboximetilat, carboxidextran, amidon, arabinogalactan sau glicozaminogalactan, iar ca polimeri sintetici biocompatibili avem polietilen glicolul (PEG) și polivinil alcoolul (PVA).

Nanoparticulele magnetice adesea formează o parte magnetică dintr-un compozit de microparticule sensibile magnetic format din diferiți polimeri sintetici, biopolimeri, materiale anorganice, celule microbiale sau materiale vegetale.

Microparticulele superparamagnetice monodisperse compuse dintr-o matrice de polistiren cu nanoparticule de maghemită (cca. 8 nm diametru), cunoscute ca Dynabeads (Invitrogen), au fost utilizate la un număr mare de bioaplicații, mai ales în biologia moleculară, biologia celulară, microbiologie și izolarea proteinelor (4,5).

Progrese recente

Particulele sensibile magnetic au deja multe aplicații stabilite sau potențiale în variate domenii din bioștiințe, biotehnologie și tehnologiile mediului înconjurător (4,5).

Aplicațiile referitoare la biomedicină sunt bazate în special pe utilizarea unor proprietăți selectate, cum ar fi separarea

magnetică, țintirea magnetică, producerea de căldură, creșterea contrastului MRI.

Proprietățile magnetice a asemenea materiale au permis utilizarea lor în numeroase domenii.

Nano-/microparticulele pot fi separate din probele complexe utilizând un câmp magnetic extern (un separator magnetic, magnet permanent sau un electromagnet). Această proprietate este importantă pentru că majoritatea materialelor biologice au proprietăți diamagnetice care permit separarea selectivă eficientă a materialelor magnetice.

Particulele magnetice pot fi conduse și menținute la un loc anume utilizând un câmp magnetic extern. Supuse unui câmp magnetic alternativ cu frecvență înaltă, particulele magnetice, sunt capabile să genereze căldură. Acest fenomen este utilizat în special în timpul hipertermiei pe bază de fluide magnetice în tratamentul cancerului (de exemplu).

Nanoparticulele de oxid de fier magnetic generează un contrast T_2 negativ în timpul RMN-ului, au rol de agent de contrast. Acestea pot fi utilizate pentru modificarea diamagnetică a materialelor biologice (materiale derivate din celule sau plante), polimeri organici și materiale organice, pentru etichetarea magnetică a compușilor biologici activi (anticorpi, enzime, aptameri) (4, 5).

Diagnoza medicală și transportul adecvat și eficient al medicației sunt domeniile medicale unde particulele nanometrice și-au găsit aplicația practică.

Până în prezent sunt multe alte propuneri interesante pentru utilizarea instrumentelor nanomecanice în domeniul cercetărilor medicale și practică clinică (3).

Nanodispozitivele din științele medicale ar putea înlocui celule, care funcționează defectiv sau necorespunzător, de exemplu respiricile propuse de Freitas (2).

Aceste eritrocite artificiale teoretic sunt capabile să furnizeze (asigure) oxigen mai eficient decât un eritrocit natural. Ar putea

înlocui celulele roșii defecte din circulația sanguină. Aplicațiile respiratorilor ar putea include înlocuitori de transfuzii de sânge, tratamentul parțial al anemiei, probleme neonatale/prenatale și tulburările pulmonare (3). Nanodispozitivele ar putea administra medicamente direct în corpul pacientului. Asemenea nanostructuri ar putea transporta medicamente în locuri bine determinate, realizând un tratament mai precis.

Mecanisme similare cu „arme” specifice ar putea fi utilizate pentru îndepărtarea obstacolelor din sistemul circulator sau în identificarea și distrugerea celulelor tumorale.

Nanoroboții care funcționează în corp, ar putea monitoriza nivelul diferiților compuși și înregistra informația într-o memorie internă. Pot fi utilizați rapid în examinarea unui anumit țesut, prin controlarea caracteristicilor biochimice, biomecanice și histometrice ale acestuia (2, 3). Biotehnologia își extinde sfera și eficacitatea privind opțiunile tratamentelor disponibile din nanomateriale. Nanotehnologia moleculară va dezvolta eficacitatea, confortul și viteza viitoarelor tratamente medicale și în același timp le va scădea semnificativ riscul, costul și invazivitatea (3).

Biotehnologia permite fabricarea personalizată, biofarmaceutică și biotehnologică a medicamentelor pentru a învinge problemele asociate cum ar fi solubilitatea slabă, stabilitate chimică slabă după administrare in vivo și in vitro (perioada de înjumătățire scurtă), biodisponibilitate slabă și potențiale efecte secundare (3).

Nanoparticulele transportoare au fost dezvoltate ca o soluție pentru a depăși problemele de transport – nanocristale de substanțe medicamentoase, nanoparticule solide de lipide (SLN), transportoare lipidice nanostructurate (NLC), nanoparticule din conjugate medicament-lipid (LDC) (3).

Transportorii (cărăuși), după cum a arătat Muller și col.(cit.de Herbert Ernest și Shetty Rahul), sunt adecvați pentru a rezolva

problemele de livrare a medicamentelor cu solubilitate diferită (3).

Quantum Dot (punctul cuantic) cu nanoparticule de o culoare specifică, poate oferi o verificare ieftină și ușoară, a unei probe de sânge, pentru prezența în același timp a diferite virusuri. În ceea ce privește cercetarea, capacitatea de a eticheta mai multe biomolecule, atât în exteriorul cât și în interiorul celulei, ar putea permite cercetătorilor să vadă schimbări celulare complexe și evenimente asociate cu boala, furnizând indicii valoroase pentru dezvoltarea viitoarelor produse farmaceutice și terapeutice (3).

Prima nanosită artificială cu porți voltaice a fost fabricată de Martin și col. la Colorado State University în 1995 (2, 3). Membrana lui Martin conține o matrice din nanotubi cilindrici de aur cu diametrul de 1,6 nm. Când tubii sunt încărcăți pozitiv, sunt excluși ionii pozitivi și pot trece cei negativi, iar când membrana primește voltaj negativ, pot trece doar cei pozitivi. Pentru a obține un nanodispozitiv similar, dar cu specificitate moleculară semnificativă, ar putea combina porțile voltaice cu dimensiunile și forma porilor pentru a obține control asupra ionilor transportați (2, 5).

Domeniul multidisciplinar al aplicațiilor nanotehnologice pentru descoperirea de noi molecule și manipularea celor disponibile în mod natural, ar putea fi orbitoare în potențialul său de a îmbunătăți îngrijirea sănătății. Pe viitor, ne putem imagina o lume în care nanodispozitivele medicale sunt implantate în mod curent sau chiar injecta în circulația sanguină pentru a monitoriza sănătatea și a participa automat în repararea sistemelor care au deviat de la funcționarea normală.

Avansarea continuă în domeniul nanobiotehnologiei biomedicale este stabilirea și colaborarea grupurilor de cercetare din domeniile complementare. Asemenea colaborări trebuie menținute nu doar la nivelul domeniilor de specialitate ci și la nivel internațional. Ar trebui menționat

faptul că nanotehnologia însăși nu este o disciplină unică în curs de dezvoltare ci mai degrabă un punct de întâlnire a științelor tradiționale cum ar fi chimia, fizica, biologia pentru a aduce împreună cunoștințe colective și expertiza necesară dezvoltării acestei noi tehnologii.

În **tabelul 2** se regăsesc câteva domenii de aplicare ale nanotehnologiei (3).

Abilitatea de a structura materiale și dispozitive la nivel molecular aduce beneficii imediate și va revoluționa cercetarea și practica medicală. S-au început experimente teoretice și practice asupra biocompatibilității nanomaterialelor și nanodispozitivelor (2).

Tabelul 3 oferă o privire de ansamblu asupra acestui domeniu cu expansiune rapidă (2).

Tabelul 2
Aplicabilitatea nanotehnologiei (după: Herbert Ernest și Rahul Shetty, 2005) (3)

Nanomateriale brute	Simulare și diagnostic celular	Cercetare biologică
Învelișul nanoparticulelor	Chip-uri celulare	Nanobiologie
Materiale nanocristaline	Simulatoare celulare	Nanoștiința în științele vieții
Materiale nanostructurate	Manipulare ADN, secvențializare, diagnostic	Transportul medicamentelor
Peptide ciclice	Testări genetice	Descoperirea de medicamente
Dendrimere	Micro-matrice ADN	Biofarmaceutice
Agenți detoxifianți	Secvențiere ADN ultra-rapidă	Încapsularea de medicamente
Fulerene	Manipulare și control ADN	Medicamente "inteligente"
Transportori de medicamente		
Nanoparticule pt. Scanare MRI	Instrumente și diagnosticare	Medicină moleculară
Nano-coduri de bare	Sisteme de detectare bacteriană	Terapie genetică
Nano-emulsii	Bio-chip-uri	Farmacogenomice
Nano-fibre	Imagistică biomoleculară	Enzime artificiale și controlul lor
Nano-particule	Biosenzori și biodetectare	
Nanoshell	Aplicații de diagnostic și apărare	Manipularea și controlul enzimelor
Nano-tubi de carbon	Roboți de endoscopie / microscopie	
Nano-tubi noncarbon	Senzori bazați pe fulerene	Nanoterapeutice
"puncte cuantice" (quantum dots)	Imagistică	Nanoparticule antibacteriene și antivirale
	Laborator pe un chip	Farmaceutice bazate pe fulerene
Locuri artificiale de fixare	Monitorizare	Terapie fotodinamică
Anticorpi artificiali	Nanosenzori	Radiofarmaceutice
Enzime artificiale		
Receptori artificiali	Micro-matricea proteinelor	Biologie sintetică și nano-dispozitive primitive
Polimeri imprimați molecular	Scanare microscopică prin sondare	Tecto-dendrimere
		Nanoplatforme dinamice "nanozomi"
Controlul suprafețelor	Dispozitive intracelulare	Celule și lipozomi artificiali
Adezivi de suprafață artificiali	Analize (teste) intracelulare	Micelii polimerice
	Biocomputere intracelulare	
Suprafețe biocompatibile	Senzori/reporteri intracelulari	Biotehnologie și biorobotică
	Implante în celule	Terapie virală biologică
Suprimarea biofilmului	BioMEMS (micro-electro-mechanical systems)	Hibridi bazați pe viruși
Suprafețe prelucrate	Materiale și instrumente implantabile	Celule stem și clonarea
Suprafețe model		
Înveliș filmat	BioMEMS, chip-uri, electrozi implant	Ingineria țesuturilor
	Ajutoare senzoriale (retină artificială)	Organe artificiale
Nanopori	Micromatrice	Nanobiotehnologia
	Senzori bazați pe micro-structuri	Biorobotică și bioboți
Imunoizolare	Microfluide	Nanorobotică
Site și canale moleculare	Micro-ace	Nanoroboți și dispozitive ADN
Membrane nanofiltrante	MEMS medical	Nanoroboți bazați pe diamante
Nanopori	Instrumente chirurgicale MEMS	Dispozitive de reparare a celulei
Separare		

Tabelul 3

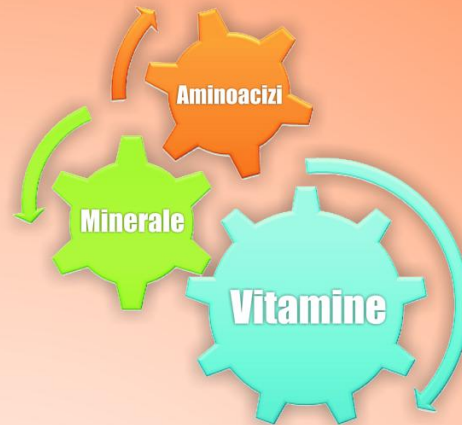
Lista aplicabilitatea nanotehnologiei în științele biomedicale (după Freitas Jr., 2004)(2)

Nano-aplicații
Biodetectarea patogenilor
Detectarea proteinelor
Cercetarea structurii ADN-ului
Ingineria țesuturilor
Distrușterea prin căldură a tumorilor (hipertermia)
Studii fagocinetice
Intensificarea contrastului MRI
Separarea și purificarea biomoleculilor și celulelor
Markeri biologici fluorescenți
Transportul de medicamente și gene
Celule artificiale
Construcția de proteine pentru transportul eficient de electroni, sau cu proprietăți mecanice
Biosenzori
Nanobiomotori
Biomineralizare
Nanorobotică
Nanocomputere

Bibliografie

- Cristina R T.** – Noutăți în nanomedicină, <http://www.veterinarypharmacon.com/docs/585-NANOMEDICINA.pdf>, 2009
- Freitas RA. Jr.** – What is nanomedicine. 1(1) 2-9, 2004
- Herbert E., Shetty R** (2005). Impact of Nanotechnology on Biomedical Sciences: Review of Current Concepts on Convergences of Nanotechnology with Biology.
- Safaric I, Hiska K, Safarikova M** (2011). Magnetic Nanoparticles for Biomedicine, in: Intracellular delivery: Fundamentals and Applications, Fundamental Biomedical Technologies, Ed. Prokop. Springer Bv, 363-372
- Safaric I, Safarikova M** (2009). Magnetic nanobiocomposites and their possible applications, NanoCon 20.-22.10.2009, Rožnov pod Radhoštěm, Česká Republika
- Salata OV** (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine, Journal of Nanobiotechnology, 2 (3).
- Sayed ZM, Telang SD, Ramchand CN** (2003). Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedicine, *BioMagnetic Research and Technology*, [:http://www.biomagres.com/content/1/1/2](http://www.biomagres.com/content/1/1/2)
- Silva A, Silva-Freitas E et al.** (2012). Magnetic particles in biotechnology: from drug targeting to tissue engineering, Advances in Applied Biotechnology, Ed. InTech, 237-258
- Șincai M, Vulpe AI** (2003). Observații asupra efectului protector al unor nanocompuși magnetici asupra pielii în condiții de expunere prelungită la UVR, Lucrare de diplomă, 2003
- Șincai M, Lupescu RC.** – Efectul UV protector al unor compuși cu nanoparticule, Lucrare de diplomă, 2007
- ***Nanomedicine – Wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanomedicine>, 2013
- ***Nanofluidics – Wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanofluidics>, 2013
- ****http://img.timeinc.net/time/daily/2007/0706/a_1_antibiotics_0618.jpg
- ***http://s3.amazonaws.com/readers/healthmad/2007/07/22/43701_0.jpg
- ***<http://www.fda.gov/consumer/updates/nanotech072507.html>

NOU!



SOLUȚIE ORALĂ

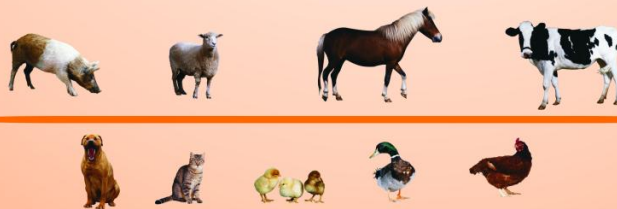
SELEVIT SOL

COMPLEX DE VITAMINE, MINERALE, AMINOACIZI, SELENIU



**RECOMANDAT
PENTRU:**

- * Lipsa de vitamine/oligoelemente
- * Situații de stres, stări de convalescență
- * Stimularea sistemului imunitar
- * Obținere de parametri superiori de producție
- * Creșterea fertilității
- * Prevenirea/tratamentul atrofiilor musculare



FarmaVet[®]
Fondat 1955

Distribuitor: S.C. Farmavet S.A.
Calea Giulești nr. 333, Sector 6, 060269 București
Office@farmavet.ro
Tel. 021/221.99.60, 021/220.69.09 Fax 021/220.69.32



producător
Pasteur
Filipești
ROMÂNIA

Raport privind controlul calitatii microbiologice a produselor farmaceutice veterinare in anul 2012

Report regarding the microbiological quality control of the veterinary pharmaceutical products during 2012

Simona Sturzu, Daniela Tirsinoaga, Ioana Tihulca, Mariana Dumitrache, Alina Draghici

Institute for Control of Veterinary Biological Products and Medicines

Cuvinte cheie: produs farmaceutic, control microbiologic, Farmacopea europeana

Key words: pharmaceutical product, microbiological control, European pharmacopoeia

Rezumat

Contaminarea microbiană a produselor farmaceutice poate avea consecințe majore asupra caracteristicilor fizico – chimice, siguranței și eficacității produselor medicinale, precum și asupra costurilor asociate rechemării produselor neconforme. Controlul calitatii produselor farmaceutice trebuie să fie un obiectiv major atât pentru industria farmaceutică cât și pentru laboratoarele oficiale pentru controlul calitatii, iar rezultatele finale ale acestor controale trebuie să ofere date cât mai exacte asupra siguranței și eficienței produselor farmaceutice controlate. În acest raport se prezintă rezultatele obținute în anul 2012 în cadrul laboratorului Control microbiologic în urma efectuării controlului calitatii produselor ținând cont de formele farmaceutice și grupa terapeutică a produselor testate.

Abstract

The microbiological contamination of pharmaceutical products could have major consequences on the physical – chemical characteristics, safety and efficiency of the medicinal products and also on the out of specification products recall-associated costs. Quality control of the pharmaceutical products should be a major objective for both the pharmaceutical industry as well as for the official quality control laboratories and the final results of these tests should provide most accurate data regarding the safety and the efficiency of the controlled pharmaceutical products. This report is presenting the results which were obtained in 2012 in the Microbiological Control Laboratory following the quality control of the products according to their pharmaceutical form and therapeutical class.

Domeniul microbiologiei farmaceutice constituie unul din cele mai importante domenii ale industriei farmaceutice și are un rol major în stabilirea principalelor obiective cheie în garantarea siguranței pacienților și a calitatii produsului. Farmacopeea Europeană stabilește un set de cerințe asupra metodologiilor de testare, standardizate și specificații clare referitoare la calitatea și controlul microbiologic al produselor medicinale.

În laboratorul Control microbiologic, din cadrul I.C.B.M.V., se efectuează o serie de analize atât pentru produsele farmaceutice sterile cât și pentru produsele farmaceutice nesterile, după cum urmează:

1. determinarea substanțelor active prin metoda difuzimetrică - produsele farmaceutice sterile și nesterile
2. determinarea numărului total de bacterii aerobe - produsele farmaceutice nesterile
3. determinarea numărului total de fungi - produsele farmaceutice nesterile
4. determinarea numărului bacterii gram negative bila tolerante - produsele farmaceutice nesterile
5. determinarea patogenilor specifici (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Salmonella*, bacterii gram negative bila tolerante) - produsele farmaceutice nesterile

6. controlul sterilității produselor farmaceutice injectabile, oftalmice, injectoare intra-mamare, etc

Unul dintre principalele obiective al laboratorului Control microbiologic pentru anul 2012 a fost efectuarea controlului calitatii pentru parametrii microbiologici pentru produsele farmaceutice veterinare cuprinse in Planul de prelevare si testare, in conformitate cu cerintele Farmacopeei europene, in conditiile respectarii standardelor si procedurilor privind asigurarea calitatii rezultatelor.

Pe langa obiectivul mentionat anterior, un alt obiectiv important l-a constituit controlul calitatii produselor farmaceutice veterinare aflate in diferite etape ale procedurii de obtinerea autorizatiei de comercializare. Pentru realizarea obiectivelor privind controlul calitatii produselor primite in laboratorul de microbiologie s-a studiat specificatia parametrilor de calitate inclusa in documentatia tehnica a fiecarui produs in parte, s-au efectuat analizele de laborator in conformitate cu cerintele

Farmacopeei europene, s-au analizat rezultatele obtinute si s-au intocmit buletinele de analiza. Astfel in 2012 au fost primite pentru control de laborator un numar total de 91 serii produse (273 probe), din care 56 serii au fost prelevate si testate in carul Programului de supraveghere si control, iar

un numar de 35 serii au fost testate in etapa de obtinere a autorizatiei de comercializare a produselor respective. In urma centralizării situatiei privind rezultatele obtinute la controlul microbiologic, s-a constatat ca din totalul celor 91 serii controlate, 2 serii de produse au fost neconforme: o serie pentru parametru sterilitate si cealalta serie pentru parametrul contaminare microbiana.

S-a remarcat, de asemenea, ca activitatea de laborator a crescut in 2012, fata de 2011 cu 23,68 %. Produsele farmaceutice veterinare testate in cadrul Programului de supraveghere si control a reprezentat în anul 2012, 61,53% din totalul produselor farmaceutice veterinare controlate in cadrul laboratorului control microbiologic. Diferenta de 36,18 % fiind reprezentata de produse farmaceutice veterinare aflate in diferite etape ale procedurii de obtinere a autorizatiei de comercializare (Figura 1).

In ce priveste structura analizelor microbiologice in functie de forma farmaceutica (Figura 2) s-a constatat ca in anul 2012: 37,36 % au fost produse parenterale, 19,78% au fost comprimate si tablete, 1,09% au fost suspensii intramamare, 8,79% au fost unguente si creme de uz topic, 15,38% au fost pulberi, 16,48% au fost solutii/suspensii orale si 1,09% au fost premixuri.

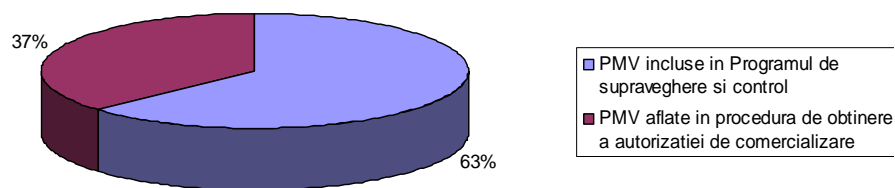


Figura 1. Situația comparativă a controlului microbiologic pentru produsele testate în anul 2012

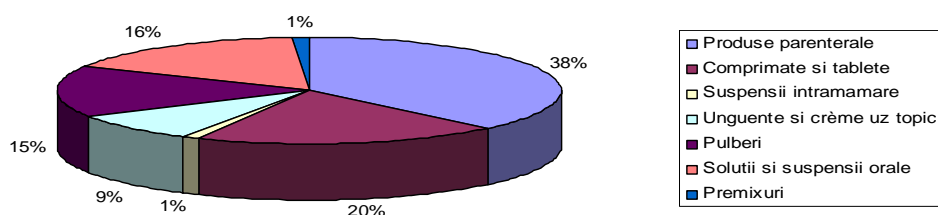


Figura 2. Situația comparativă a controlului microbiologic în funcție de forma farmaceutică aferentă produselor testate în anul 2012

Sub aspectul structurii analizelor de laborator in functie de grupa terapeutica (Figura 3) situatia pentru anul 2012 este urmatoarea: 54,94% au fost antibiotice, 2,19% au fost chimioterapice, 6,59% au fost hormonale, 13,18% au fost antiparazitare, 3,29 au fost sedative, 4,33% au fost antiinflamatoare si 14,28% au fost incadrate ca alte medicamente

Analiza produselor farmaceutice aflate in control de laborator in anul 2012, tinand cont de parametrii microbiologici controlati (Figura

4), a stabilit ca din totalul a 645 determinari microbiologice, 3,72% au fost determinari de substante active prin metoda difuzimetrica, 19,06% pentru controlul sterilitatii, 23,25% pentru determinarea numarului total de germeni, 23,25% pentru determinarea numarului total de fungi, 19,53% pentru evidentierea *Escherichia coli*; 3,25% pentru evidentierea *Staphylococcus aureus* si 3,25% pentru evidentierea *Pseudomonas aeruginosa*.

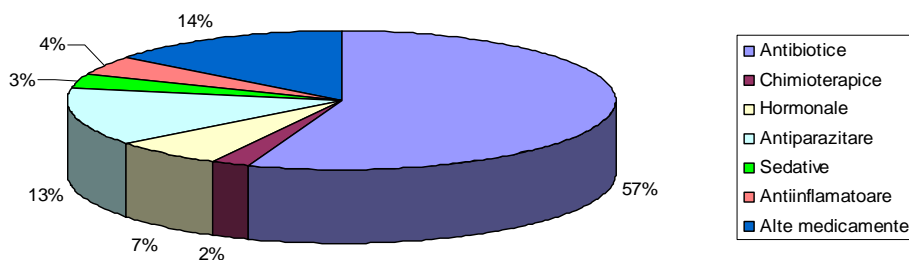


Figura 3. Situatia comparativa a controlului microbiologic in functie de grupa terapeutica aferenta produselor testate in anul 2012

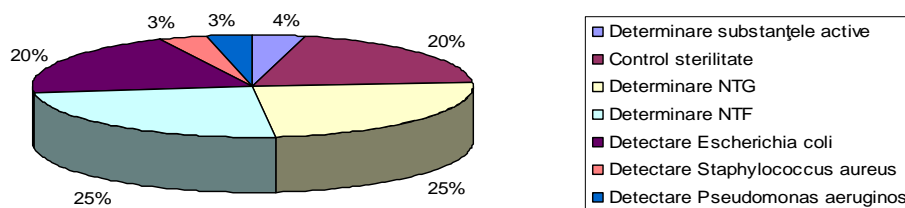


Figura 4. Situatia comparativa a controlului de laborator in functie de determinarile microbiologice aferente produselor testate in anul 2012

In cadrul laboratorului se efectuează controlul microbiologic pentru toate formele farmaceutice si pentru toate categoriile terapeutice de produse, în conformitate cu cerințele stipulate in Farmacopeea europeană.

Analistii din cadrul laboratorului au participat la o serie de instruirii in laboratoare de profil in Germania pentru următoarele metode: testul de sterilitate, determinare numar total de bacterii aerobe, determinare numar total de fungi, identificarea microorganismelor specific patogene, validarea metodelor microbiologice, verificarea sterilitatii si eficientei mediilor de cultură.

Laboratorul de Microbiologie a obținut acreditarea de către RENAR pentru toate metodele de control microbiologic a produselor farmaceutice, iar in octombrie 2012, a fost auditat de catre expertii desemnati de catre Directoratul european pentru calitatea medicamentelor (EDQM).

De asemenea, din 2008, specialistii din cadrul laboratorului participa la activitățile rețelei Laboratoarelor Oficiale de Control a Medicamentelor (OMCLnet):

- studii colaborative, studii de comparare interlaboratoare,
- prelevare si testare produse farmaceutice veterinare in cadrul programelor europene de control,
- audit reciproc (MJA), etc.

Bibliografie

1. Farmacopeea Europeana, editia a 7 a
2. Ordin ANSVSA nr. 187/2007 pentru aprobarea Normei sanitare veterinare privind Codul produselor medicinale veterinare
3. Ordin ANSVSA nr. 62/20012 privind modificarea Ordinului președintelui Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor nr. 187/2007 pentru aprobarea Normei sanitare veterinare privind Codul produselor medicinale veterinare
4. Hotărârea de Guvern nr. 341/2012, care aprobă Programului acțiunilor de supraveghere, prevenire, control și eradicare a bolilor la animale, a celor transmisibile de la animale la om, protecția animalelor și protecția mediului, de identificare și înregistrare a bovinelor, suinelor, ovinelor și caprinelor pentru anul 2012
5. Ordin ANSVSA nr. 43/2012 pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Programului de supraveghere și control în domeniul siguranței alimentelor
6. Testarea produselor medicinale pe baza analizei riscului - PA/PH/OMCL (07) 6R /Rețeaua Laboratoarelor Europene Oficiale de Control (OMCL network)



**PRODUSE ALE
INSTITUTULUI DE
CERCETARE-DEZVOLTARE
PENTRU APICULTURĂ**



VARACHET-FORTE produs medicinal de uz veterinar: se utilizează la albine pentru combaterea varroozei , parazitoză externă produsă de acarianul *Varroa destructor*.
Se administrează sub formă de fumigații prin urdiniș, iar dozarea produsului se face în funcție de tipul de stup folosit.



MAVRIROL produs medicinal de uz veterinar: se utilizează la albine pentru combaterea varroozei și braulozei, parazitoze externe produse de acarianul *Varroa destructor* și dipterul *Braula coeca*.
Se administrează sub formă de benzi textile impregnate cu substanță activă, care se introduc în stup transversal deasupra ramelor.

SOLUȚIA EFICIENTĂ PENTRU PĂSTRAREA SĂNĂȚII FAMILIILOR DE ALBINE



Rombendazol 2,5%

Suspensie orală, Antihelmintic cu spectru larg

Rombendazol 10%

Suspensie orală, Antihelmintic cu spectru larg

Rombendazol Plus

Suspensie orală, Antihelmintic cu spectru larg

Levamisol

Soluție injectabilă, Antihelmintic cu spectru larg

Fasciocid

Suspensie orală, Antihelmintic

RomIvermectin 1%

Antihelmintic cu spectru larg, Acaricid

RomAvermectin B,1% Plus

Trematocid, nematocid, acaricid, insecticid

Romfenbendazol 10%

Suspensie orală, Antihelmintic



**Distrugătorii tuturor paraziților!
Pentru oi, vaci și capre!**

Grafică: stalicu.catalina@gmail.com



Romvac
TRADITIE ȘI INOVAȚIE ÎN SĂNĂTATEA ANIMALSILOR

Șos. Centurii nr.7, Voluntari, jud. Ilfov; Tel.: 021 350 31 11, 021 350 31 09; Fax: 021 350 31 10; www.romvac.ro, romvac@romvac.ro

▼ *Lucrări originale / Original papers*

Metoda HPLC pentru determinarea simultana a oxitocinei și clorbutanolului din solutii injectabile

HPLC method for simultaneous determination of oxytocin and clorobutanol in injectable solutions

Ana Csuma, Despina Niță, Ana Cișmoleanu și Luciana Paraschiv

S.N. Institutul Pasteur S.A.

Cuvinte cheie: *Oxitocina, clorbutanol, soluții injectabile, metoda HPLC-UV.*

Key words: *Oxytocin, clorobutanol, injectable solutions, HPLC-UV method.*

Rezumat

Obiectivul lucrării a fost stabilirea și validarea unei metode HPLC cu detecție în ultraviolet (UV) pentru determinarea simultană a oxitocinei și clorbutanolului din produse medicinale veterinare injectabile. Metoda se bazează pe prescripțiile din monografia pentru soluție concentrată de oxitocină din Farmacopeia Europeană. Separarea cromatografică s-a făcut pe o coloană Syn Chropack RP100 C18 (250 x 4,6mm, 5 μm) cu fază mobilă compusă din soluție A: tampon fosfat acid de sodiu 0,13 M și soluție B: acetonitril-apă (1:1, v/v) cu gradient de eluție (30 % B pentru 1 min, 30 % la 60 % B în 30 min, revenire la concentrația inițială și echilibrare 15 min înainte de înjecția următoare), la un debit de 1 ml/min și detecție la 220 nm. Timpul de retenție pentru oxitocină și clorbutanol au fost de circa 15 min și respectiv 26 min. Producții de degradare al oxitocinei au eluat la timpi de retenție mai mici de 14 min. Rezoluția dintre oxitocină și cel mai apropiat pic s-a încadrat în cerințele Farmacopoeii de minim 1,5. S-a evaluat linearitatea metodei între 2,5 UI/ml – 20 UI/ml oxitocină și 1,25 mg/ml – 10 mg/ml clorbutanol. În aceste domenii metoda s-a dovedit lineară pentru ambii componenți, coeficienții de corelație ai curbelor de calibrare fiind mai mari de 0,9950. Metoda a fost validată în termeni de selectivitate, linearitate, exactitate și fidelitate.

Abstract

The objective of this work was to establish and validate a HPLC method with UV detection for simultaneous determination of oxytocin and clorobutanol in veterinary injectable formulations. The method is based on European Pharmacopoeia monograph for oxytocin concentrated solution. Chromatographic separation was achieved on a Syn Chropack RP100 C18 column (250 x 4,6mm, 5 μm) with a mobile phase consisting of solutia A: sodium dihydrogen phosphate buffer 0,13 M and solution B: acetonitrile-water (1:1, v/v) with gradient elution (30 % B for 1 min, 30 % B to 60 % B in 30 min, return to initial concentration and equilibration for 15 min before the following injection), at a flowrate of 1 ml/min and detection at 220 nm. The retention times for oxytocin and clorobutanol were about 15 min and 26 min respectively. The degradation products of oxytocin eluted at retention times smaller than 14 min. The resolution between oxytocin and the nearest impurity fulfilled the USP monograph requirements of at least 1,5. The linearity of the method has been settled from 2,5 UI/ml to 20 UI/ml for oxytocin and 1,25 mg/ml to 10 mg/ml for clorobutanol. In these ranges the correlation coefficients were higher than 0,9950. The method allows the separation of oxytocin from degradation products and clorobutanol and could be applicable to quality control of injectable products containing oxytocin and clorobutanol. The method was validated in terms of selectivity, linearity, precision and accuracy.

Introducere

Oxitocina este o nanopeptidă obținută prin sinteză cu structură similară hormonului produs de lobul posterior al glandei pituitate. Este utilizată în medicina veterinară, sub

formă de soluții injectabile, în principal, ca stimulent asupra uterului și favorizant al ejeției lactante. În general soluțiile injectabile sunt formulate pentru a conține 5 UI/ml până la 10 UI/ml oxitocină și 5 mg/ml clorbutanol cu rol de conservant.

Metodele HPLC cu detecție UV și detecție fluorescentă după derivatizare s-au dovedit selective și sensibile pentru determinarea oxitocinei.

Separări corespunzătoare ale oxitocinei de alte polipeptide s-au obținut pe coloane cu fază inversă de diverse dimensiuni și mărimi ale particulelor, în regim izocrat sau cu gradient, folosind în general ca fază mobilă tampon fosfat/acetonitril și detecție la 210-220 nm.

Clorbutanolul este unul din agenții antimicrobieni aprobat pentru utilizare în produse farmaceutice.

Cerința Farmacopoei este de a declara conținutul de agent antimicrobian și de a demonstra că acesta este prezent în cantitatea declarată în limite de $\pm 20\%$.

Majoritatea metodelor publicate pentru determinarea clorbutanolului sunt metode GC. Metodele HPLC constituie o alternativă și s-au dovedit lineare și selective.

Scopul lucrării este stabilirea și validarea unei metode HPLC de determinare simultană a oxitocinei și clorbutanolului din soluții injectabile, aptă pentru controlul de rutină al preparatelor veterinare.

Material și metodă

Standarde și reactivi

S-a folosit oxitocină Ph.Eur. (PN 70002) conținând oxitocină acetat cu o activitate de 524 UI/mg, clorbutanol de la Sigma, acetonitril HPLC gradient grade de la Merck, fosfat acid de sodiu p.a. de la Merck.

Apa ultrapură (rezistivitate $\leq 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) s-a obținut cu sistemul Ultra Clear TWF (SG GmbH, Germania).

Soluții standard

S-a preparat separat soluție etalon stoc de oxitocină (circa 100 UI/ml) în tampon fosfat acid de sodiu 0,13 M și soluție etalon stoc de clorbutanol (12,5 mg/ml) în acetonitril/apă (1:1, v/v). S-a cântărit cca 10 mg oxitocină substanță de referință, cu exactitate de 0,1 mg, în balon cotate de 50 ml

s-a dizolvat și s-a adus la volum cu tampon fosfat acid de sodiu S-a calculat concentrația exactă de oxitocină, în UI/ml, ținând cont de conținutul declarat de oxitocină al substanței de referință.

S-au cântărit 625 mg clorbutanol substanță de referință, cu exactitate de 0,1 mg, în balon cotate de 50 ml, s-a dizolvat în acetonitril-apă (1:1, v/v) prin sonicare, s-a diluat la volum și s-a omogenizat.

S-au preparat soluții etalon mixte de calibrare prin pipetare în baloane cotate de 10 ml de cote părți de 0,25 ml, 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml și respectiv 2 ml soluție etalon stoc de oxitocină și 1,0 ml, 2,0 ml, 4,0 ml, 6,0 ml și respectiv 8,0 ml de soluție etalon stoc de clorbutanol și completare la semn cu tampon fosfat acid de sodiu.

S-a calculat conținutul exact de oxitocină în UI/ml și clorbutanol în mg/ml. Concentrațiile de oxitocină și clorbutanol din soluțiile de calibrare au corespuns cu circa 25 % până la 200 % din concentrația declarată în produsul comercial.

Analiza HPLC

Analiza HPLC s-a efectuat pe un cromatograf de lichide de înaltă performanță Waters 2695, echipat cu sistem automat de injecție, termostat cu temperatura controlată, sistem de pompe cu gradient ternar, degazor de solvenți, autosampler, detector PDA (Waters 2998).

Separarea cromatografică s-a făcut pe o coloana analitică Syn Chropack RP100 C18 (250mm x 4,6mm, 5 μm), menținută la 30 °C.

Faza mobilă a constat din fosfat acid de sodiu 0,13 M (solvent A) – acetonitril:apă (1:1, v/v) (solvent B) cu următorul gradient de concentrație: 30 % B pentru 1 min, 30 % – 60 % B în 30 min, revenire la concentrația inițială și echilibrare 15 min înainte de injecția următoare, la un debit de 1 ml/min. Volumul de injecție a fost de 25 μl .

Detecția s-a făcut la 220 nm. Evaluarea ariilor, analiza de regresie a curbei etalon și calculul concentrațiilor s-a făcut cu programul Waters - Empower.

Rezultate și discuții

Separarea

În prima fază s-au optimizat condițiile de lucru în termeni de coloană analitică, pH-ul fazei mobile, debitul fazei mobile, pentru a obține o formă a picurilor și o separare corespunzătoare între oxitocină, produșii de degradare ai oxitocinei și clorbutanol.

S-a încercat separarea pe mai multe coloane cu fază inversă.

O rezoluție bună și o formă simetrică a picurilor celor doi compuși principali, oxitocina și clorbutanol, s-a obținut pe

coloana Syn Chropack RP100 C18 (250 x 4,6mm, 5 μm), la un pH al fazei mobile A de 3,0 și un debit de 1 ml/min. În condițiile alese s-a obținut un timp de retenție pentru oxitocină de 15,4 min și pentru clorbutanol de 26,2 min.

O cromatogramă tipică este dată în figura 1. Această coloană asigură o rezoluție de 3,1 între picul de oxitocină și cel mai apropiat pic (figura 3), mai mare decât cerința din monografia USP de min 1,5.

Rezoluția dintre oxitocină și clorbutanol este semnificativă ($R = 7,1$).

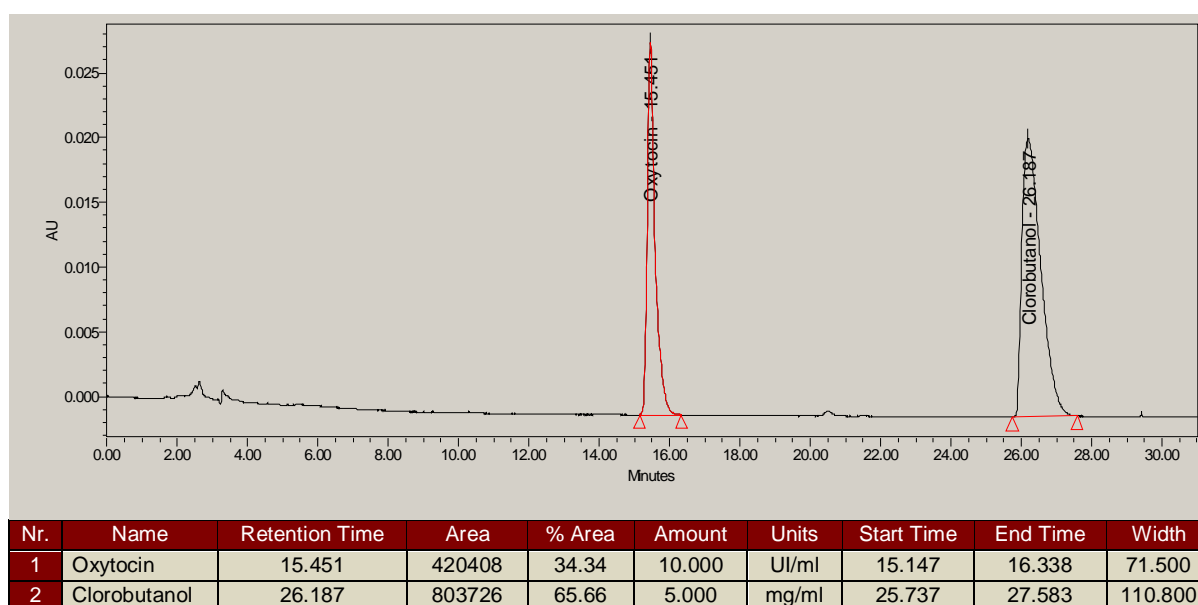


Figure 1 - Cromatograma unei soluții etalon conținând 10 UI/ml oxitocină și 5 mg/ml clorbutanol

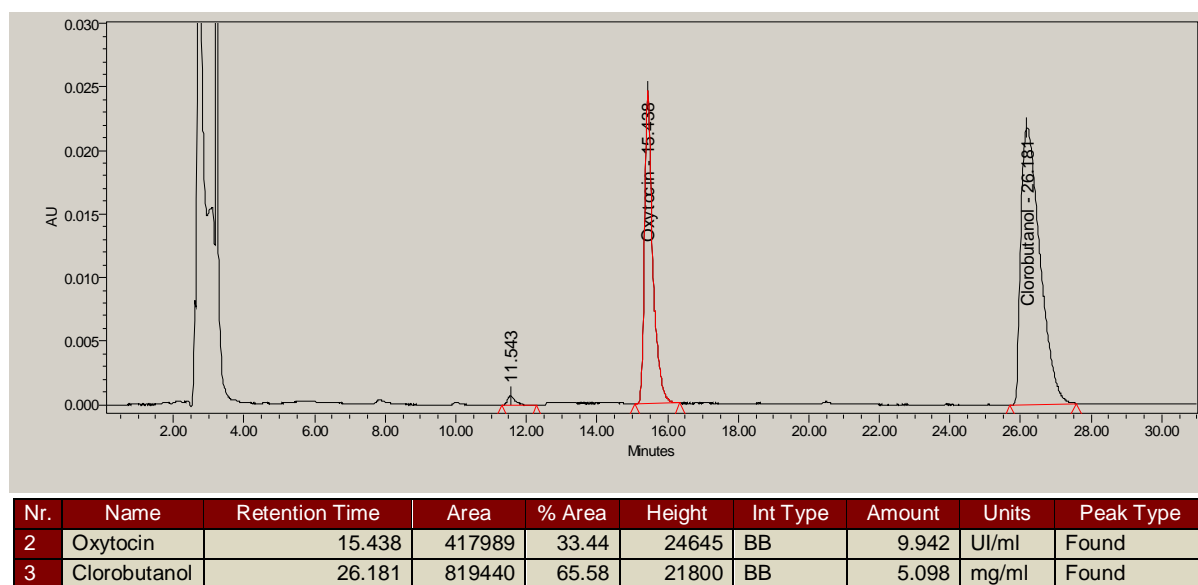


Figure 2 - Cromatograma unui produs comercial de oxitocină soluție injectabilă

În figura 2 se dă cromatograma unui produs comercial formulat pentru a conține 10 UI/ml oxitocină și 5 mg/ml clorbutanol.

Validarea metodei

Metoda s-a validat pentru următorii parametri: selectivitate, linearitate și domeniu de linearitate, exactitate și fidelitate.

Selectivitate

Selectivitatea metodei s-a demonstrat pentru interferențe cu alți excipienți prezenți în produsul formulat. S-au analizat probe

martor ale matricei (toate componentele produsului comercial mai puțin substanța activă (oxitocină) și conservantul (clorbutanol) și nu s-au observat interferențe la timpul de retenție al oxitocinei (cca. 15 min) și al clorbutanolului (cca 26 min).

De asemenea s-a supus un produs comercial la condiții de stres prin expunere la radiații UV. Producții de degradare rezultate (6,25 min și 13,12 min) nu au interferat cu picul de oxitocină și clorbutanol (figura 3).

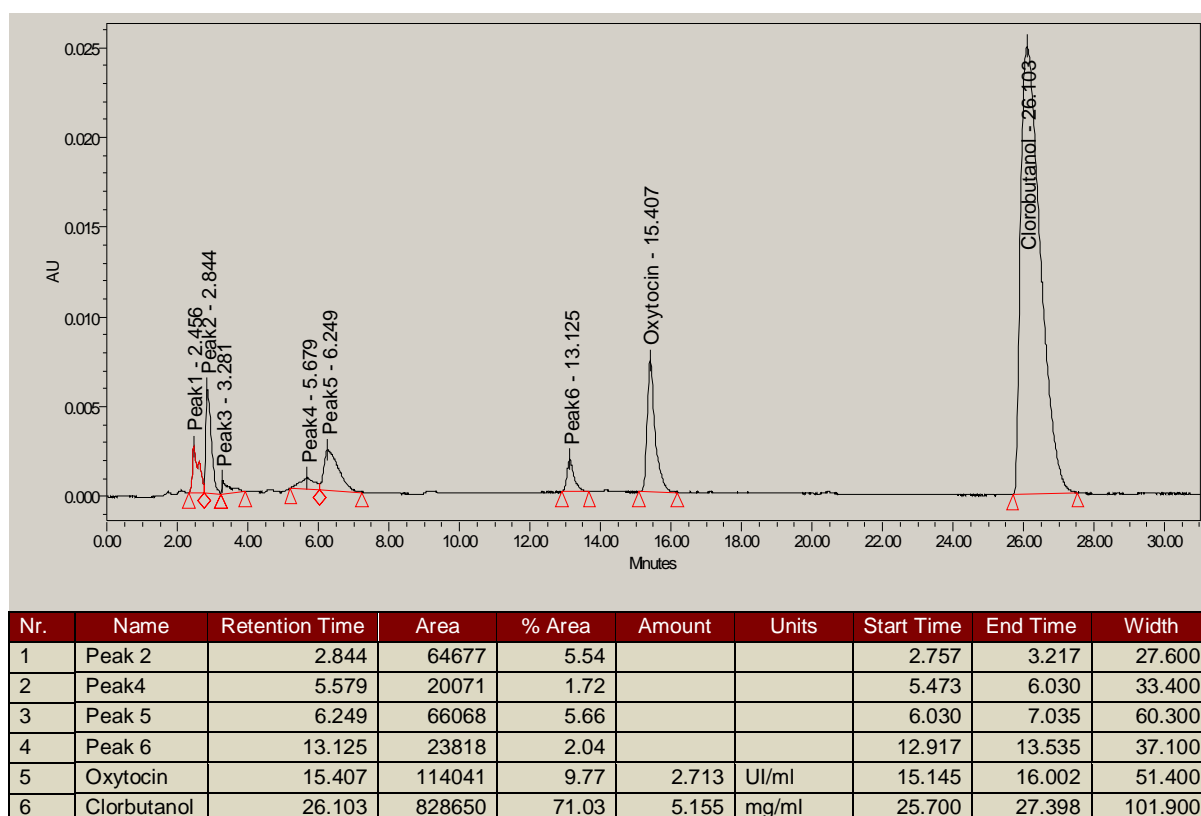


Figura 3 - Cromatograma unui produs supus degradării

Linearitate și domeniu de linearitate

Linearitatea metodei s-a evaluat prin analiza a 5 concentrații diferite de soluții etalon reprezentând 25 % până la 200 % din valorile predictibile ale produselor injectabile pe bază de oxitocină.

Rezultatele sunt prezentate în tabelul 1.

Coeficienți de corelare (R^2) ai curbelor de calibrare (figura 4 și 5) sunt mai mari de 0,9950, ceea ce denotă o linearitate corespunzătoare pentru domeniile alese (Miller & Miller, 1993).

Tabelul 1

Linearitate și domeniu de linearitate

Component	Domeniu	Ecuția de regresie lineară	Coefficient de regresie lineară (r^2)
Oxitocină	2,5 UI/ml – 20 UI/ml	$y = 4.53e+004 x + 1.03e+004$	0.999676
Clorbutanol	1,25 mg/ml – 10 mg/ml	$y = 1.79e+005 x - 1.93e+004$	0.999982

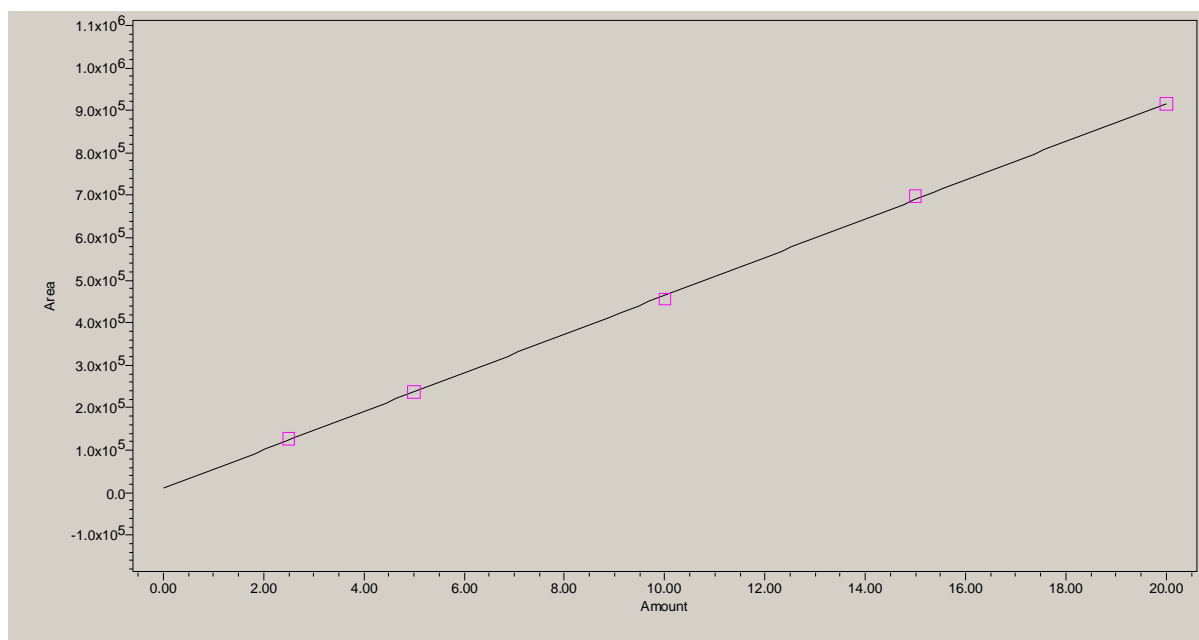


Figura 4. Curba de calibrare pentru oxitocină între 2,5 UI/ml – 20 UI/ml

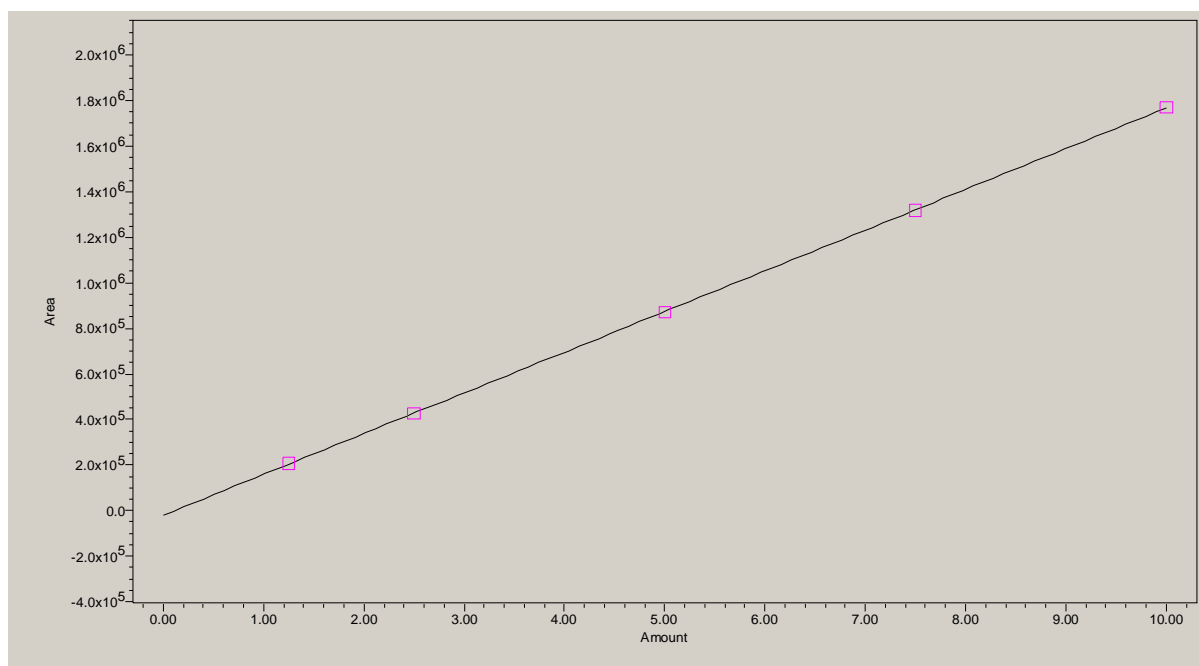


Figura 5. Curbe de calibrare pentru clorbutanol în domeniul 1,25 mg/ml – 10 mg/ml

Exactitate și fidelitate

Exactitatea metodei s-a evaluat prin analizarea a 6 probe diferite în aceeași zi și în zile diferite.

Abateră standard relativă a repetabilității (RSD_r) și a reproductibilității intermediare (RSD_R) au fost sub 2,0 % (tabelul 2 și 3).

Fidelitatea metodei s-a stabilit prin experimente de recuperare. Pentru aceasta la proba martor (soluție placebo conținând

0,4 g clorură de sodiu și 0,035 g acid acetic la 100 ml apă) s-au adăugat cantități cunoscute de oxitocină și clorbutanol pentru a obține concentrații în domeniul 25%-200% din concentrația teoretică a produselor injectabile comerciale. S-au calculat recuperările care s-au situat între 98,3%-102,6% pentru oxitocină și 97,2%-102,1% pentru clorbutanol cu RDS_R mai mici de 2,0 % (tabelul 4)

Tabelul 2
Rezultatele testului de repetabilitate

Componenți	Proba						Media	S _r	RDS _r %
	1	2	3	4	5	6			
Oxitocină, UI/ml	9,89	10,25	10,12	9,98	10,07	10,15	10,08	0,127	1,27
Clorbutanol, mg/ml	4,88	5,08	5,06	4,95	4,92	5,01	4,98	0,08	1,60

Tabelul 3
Rezultatele testului de reproductibilitate intermediară

Componenți	Ziua 1	Ziua 2	Ziua 3	Ziua 4	Ziua 5	Ziua 6	Media	S _R	RDS _R %
Oxitocină, UI/ml	10,25	10,11	9,86	10,05	10,24	9,91	10,07	0,46	1,62
Clorbutanol, mg/ml	5,08	4,98	5,14	5,12	5,03	4,88	5,04	0,10	1,93

Tabelul 4
Recuperările pentru diferite nivele de fortificate ale probei martor

Componenți	Nivel de fortificare (% din valoarea teoretică a produsului)					Recuperarea medie %	S _R	RDS _R %
	25 %	50 %	100 %	150 %	200 %			
Oxitocină, UI/ml	102,6	99,8	98,3	101,5	98,8	100,2	1,82	1,81
Clorbutanol, mg/ml	102,1	99,8	100,3	98,2	97,2	99,8	2,00	2,00

Concluzii

Metoda de analiză a oxitocinei și clorbutanolului prin tehnica HPLC a permis o separare corectă a oxitocinei de clorbutanol și de substanțele de degradare ale oxitocinei.

Metoda a prezentat selectivitate și față de celelalte ingrediente ale formulării.

Metoda permite determinarea simultană a oxitocinei și clorbutanolului printr-o singură injecție în HPLC.

Metoda s-a dovedit lineară atât pentru oxitocină cât și pentru clorbutanol, permițând determinarea cu precizie a ambilor componenți.

Metoda nu este afectată de variații mici ale debitului, temperaturii coloanei și pH-ului fazei apoase și poate fi folosită pentru controlul calității produselor injectabile pe bază de oxitocină.

Bibliografie

1. **The European Pharmacopoeia 7.0** (2008), Monograph of oxytocin concentrated solution 01/2008:0779.

2. **US Pharmacopoeia 31**, (2008). Oxytocin monograph.
3. **DIONEX Application Note 234**. Simultaneous Determination of Pharmaceutical Peptides and Acetate by HPLC with UV Detection using the Acclaim Mixed-Mode WAX-1 column, 2009.
4. **Wang G, Miller RB, Melendez L, Iacobus R** (1997). A stability-indicating HPLC method for the determination of oxytocin acetate in oxytocin injection, USP, synthetic, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* 20: 567-581.
5. **Suresh K, Kavitha MP, Dharuman J, Dhandapani B** (2010). RP-HPLC method development and validation for the estimation of oxytocin in milk, *International Journal of ChemTech Research*, 2,(2): 1340-1343.
6. **Sudhakar Ryali, Varaprasad Bobbarala** (2011). Development and validation of a stability-indicating analytical method for the quantitation of oxytocin, *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 2(10): 1222-1225.

Sănătate fără frontiere!



Romvac
TRADIȚIE ȘI INOVAȚIE ÎN SĂNĂTATEA ANIMALELOR

ECVIROM & ECVIROM I sunt 2 produse complementare care tratează toți paraziții la cabaline. Folosite prin rotație, împiedică apariția fenomenului de rezistență a paraziților la substanțele din compoziție.



ECVIROM

Suspensie orală
Antihelmintic cu
spectru larg
pentru cabaline
de agrement



ECVIROM I

Suspensie orală
Antihelmintic cu
spectru larg
pentru cabaline



Romvac
TRADIȚIE ȘI INOVAȚIE ÎN SĂNĂTATEA ANIMALELOR

Șos. Centurii nr.7, Voluntari, jud. Ilfov; Tel.: 021 350 31 11, 021 350 31 09; Fax: 021 350 31 10; www.romvac.ro, romvac@romvac.ro

grafica: stalicu.catalina@gmail.com

O abordare alternativă în tratamentul epilepsiei la pisică – Presentare de caz

An alternative approach to cat's epilepsy treatment – Case report

Liliana Cărpinișan¹, Laura Rațiu², J. Degi¹, Alina Ghișe¹

¹ Faculty of Veterinary Medicine Timișoara

² Clinica veterinară "Bassy" Timișoara

Cuvinte cheie: *pisică, epilepsie, fenobarbital, anemie, homeopatie*

Key words: *cat, epilepsy, phenobarbital, anemia, homeopathy*

Rezumat

Angel, o pisică femelă din rasa British Shorthair, a primit recomandarea de eutanasiere din partea a trei medici veterinari, după ce a manifestat crize de epilepsie începând de la vârsta de șapte luni. Datorită proprietarului și a unui medic veterinar, pisica a supraviețuit mai multor crize epileptice și unui episod de anemie aregenerativă, pentru încă cinci ani de la declanșarea primei crize. Reacția adversă apărută în timpul utilizării fenobarbitalului a impus schimbarea conduitei terapeutice. Suplimentele mineralo-vitaminice și medicația homeopată au îmbunătățit calitatea vieții. Tratamentul alternativ a asigurat cu succes o viață normală pentru Angel, pentru încă un an.

Abstract

Angel, a female British Shorthair cat, would be euthanized at the recommendation of three veterinarians, after she manifested epileptic seizures starting from seven months old. Due to her owner and one veterinarian love and effort, she well passed through many seizures and a non-regenerative anemia episode and she survived for five years from the onset of the disease. The mineral-vitamin supplements improved the life quality for four years and the homeopathic therapy successfully removed the seizures for one more year.

Introducere

Epilepsia este o boala neurologică cronică, dificil de pus în evidență la pisici. Aceasta se datorează suprapunerii cu alte boli secundare, care solicită investigații suplimentare și multă muncă din partea medicului veterinar (3, 5, 6).

În ultima perioadă s-a observat o creștere a numărului de pisici diagnosticate cu epilepsie, fenomen datorat creșterii interesului proprietarilor pentru animalele de companie și a implicării lor în monitorizarea corespunzătoare a acestora.

Lucrarea de față își propune să ofere o alternativă în managementul terapeutic al epilepsiei, cu scopul de a evita eutanasierea, în cazul în care medicația alopatică uzuală nu poate reprezenta o opțiune.

1. Materiale și metode

Angel, o pisică British Shorthair femelă, s-a născut în aprilie 2003, împreună cu alți 7 pui, după o fătare de 13 ore. Toți puii au primit suplimentar hrană super premium timp de două luni. Vaccinările și tratamentele antiparazitare au fost făcute conform protocoalelor uzuale. Angel a locuit în casă, alături de alte 10 pisici și doi câini. A fost o pisică timidă și dominată (foto 1).



Debutul bolii a survenit la vârsta de cinci luni, când pisica manifestat bruxism. În luna ianuarie 2004 Angel a fost sterilizată, iar la patru luni de la acest eveniment a apărut prima criză epileptică. Începând din acest moment, proprietarul a monitorizat cu rigurozitate pisica.

2. Rezultate și discuții

Observarea pisicii a relevat simptome specifice tuturor fazelor cunoscute ale epilepsiei: prodromală, *ictus*, *post-ictus* și *inter-ictus* (3, 5, 6).

În *faza prodromală* pisica a prezentat pentru câteva ore agitație și dromomanie.

Faza de *ictus* a debutat brusc, în timpul somnului (frecvent), și a persistat pentru aproximativ 30 de secunde.

În cazurile în care pisica a fost vigیلă la declanșarea crizei, s-au observat: căderi laterale, masticății în gol, hipersalivație, nistagmus și contracții tonico-clonice generalizate. Finalul crizelor a fost marcat de incontinență urinară (frecvent) și emisiuni

necontrolate de materii fecale (uneori) și, de asemenea, prostratie (frecvent).

În faza *post ictală* s-a observat revenirea rapidă la starea normală, urmată de o perioadă de aproximativ 30 de minute în care pisica cerea atenție și afecțiune din partea proprietarului.

Pisica a interacționat cu alte pisici și câini din anturaj, a manifestat polidipsie și creșterea apetitului pentru câteva ore și a dormit bine.

În *inter-ictus* Angel era retrasă și timidă, dormea sau observa comunitatea de animale. De asemenea, se spăla, își ascuțea ghearele, consuma apă și hrană, urina și defeca fiziologic. Uneori se juca singură sau cu jucăriile, dar nu îi plăcea să fie ținută în brațe (normal pentru rasa ei).

Pe baza semnelor clinice, a duratei fazelor, a comportamentului dintre crize și a parametrilor hematologici și biochimici (Tabelul 1), patru medici veterinari au pus diagnosticul de epilepsie (idiopatică).

Tabelul 1.
Evidența parametrilor hematologici la pisica Angel

Parametru	UM	Normal*	16.08.2005	03.09.2005	23.09.2005	19.10.2005	19.12.2005	02.02.2009
Hematii	mil/mm ³	6-10	1,91	2,95	2,93	5,73	8,6	10,38
Hemoglobină	g/dl	9.5-15	5	5	5,6	33	14,3	14,3
Hematocrit	%	29-45	17,1	17,3	18,6	33	38,9	50,2
Leucocite	1000/mm ³	5.5-19.5	14,1	1,5	3,8	12,7	16,6	13,19
Trombocite	1000/mm ³	150-600	264	40	0,7	394	155	410
VEM	fl	41-54	90	60	-	58	45	48,4
HEM	pg	13.3-17.5	24,7	17,1	-	17,9	16,7	13,8
CHEM	%	31-36	28	21,6	-	31,1	36,8	28,5
Neutrofile	%	35-75	13	22	64	62	45	76
Limfocite	%	20-55	62	72	28	28	42	17
Monocite	%	1-4	2	4	6	2	1	5
Eozinofile	%	2-12	2	2	2	8	12	2
Bazofile	0-1	0	0	0	0	0	0	0
Reticulocite	%	-	-	1	1	2	2	1
Trigliceride	mg/dl	20-90	-	-	-	-	-	162
Glucoză	mg/dl	70-150	-	-	-	-	-	50
Uree	mg/dl	15-34	16,2	10,4	-	-	17,4	42
Creatinină	mg/dl	0.8-2.3	0,7	0,84	-	-	1,01	1,16
Colesterol	mg/dl	82-218	-	-	-	-	-	172
GPT	U/l	28-76	72,3	68,6	-	-	45	45
Amilazemie	U/l	500-1500	1850	1300	-	-	-	1278
Proteine totale	g/l	59-85	87,2	90,2	-	-	71,6	82,8
Bilirubina directă	mg/dl	0-0.1	-	-	-	-	-	0,01
Bilirubină totală	mg/dl	0-0.4	-	-	-	-	-	0,19
Fosfataza alcalină	U/l	0-62	16	-	-	-	88	43

* Parent, J.M. (2008)(4)

Conform practicii medicale (3, 6), lui Angel i s-a recomandat fenobarbital, în doză de: 2,5 mg/kgc/q12h.

Creșterea frecvenței crizelor în timpul tratamentului cu fenobarbital a impus mărirea dozei la 3,5 mg/Kg/q12h.

Conform studiilor care evidențiază riscul de apariție a crizelor la animale de companie vaccinate regulat (7, 8), în iunie 2005 s-a luat decizia de a se întrerupe protocolul de vaccinare.

Pentru o perioadă scurtă de timp Angel a primit interferon (pentru imunostimulare) și enrofloxacin (consecutiv unei infecții).

În august 2005 Angel a manifestat astazie, inapetență și dispnee. Valorile hematologice au relevat parametri fiziologici pentru ficat și rinichi, dar și anemie severă (aregenerativă). Ca intervenție de urgență s-a recurs la oxigenoterapie (6-8 ore) și transfuzie (de la un frate). Având în vedere posibilitatea ca anemia să fie din cauza fenobarbitalului (1, 2), medicul veterinar și proprietarul au decis renunțarea la terapia alopată.

După două luni fără fenobarbital, valorile hematologice au revenit la normal (Tabelul 1). Timp de trei ani începând din această etapă crizele epileptice au avut o frecvență de două sau trei pe lună, iar Angel a primit doar supliment mineralo-vitaminic (Natural Cat Daily).

În septembrie 2008 crizele au revenit cu intensitate mai mare și s-a decis începerea unui tratament homeopat, cu o tinctură de plante (Ease-Sure: *Passiflora incarnata*, *Scutellaria laterifolia*, *Hyoscyamus* 30C, *Belladonna* 30 and *Cuprum metallicum* 30C), în doză de 2-3 picături /q12h.

La patru luni de la administrarea medicației homeopate crizele s-au redus, până la dispariția completă. După nouă luni de terapie homeopată Angel și-a redobândit controlul, a fost mai activă, afectivă și participativă.

Din nefericire, în 6 mai 2009 Angel a murit în urma unui atac cerebral.

3. Concluzii

În cazul pisicii Angel, diagnosticată cu epilepsie de la vârsta de șapte luni, declanșarea unui episod de anemie în perioada tratamentului cu fenobarbital a dus la întreruperea terapiei.

Datorită dragostei și dăruirii celor implicați în acest caz, prima opțiune nu a fost eutanasia, ci aplicarea de metode alternative.

Timp de încă cinci ani pisica avut o viață normală doar cu susținere de tip mineralo-vitaminic, iar în ultimul an crizele au dispărut complet sub terapie homeopată.

Având în vedere cele prezentate, se recomandă și abordarea terapiilor alternative ca metodă de prelungire a duratei și calității vieții animalului de companie.

Bibliografie

1. **Berendt, M. (2004).** Epilepsy. In: Clinical neurology in small animals: Localization, Diagnosis and Treatment, Ed. Braund, K.G., International Veterinary Service, Ithaca, New York, USA.
2. **Kojima, S., Nakashima, N., Harada, T., Sasaki, J., Tomita, M., Saka, M., Ishizuka, K., Kawakatsu, H., Yoshida, T., Kosaka, T., Enomoto, A., (2009).** Multiple organ toxicity, including hypochromic anemia, following repeated dose oral administration of phenobarbital (PB) in rats. *The Journal of toxicological sciences*, **34**, 5, 527 – 539.
3. **Pakozdy, A., Sarchahi, A.A., Leschnik, M., Tichy, A.G., Halasz, P., Thalhammer, J.G., (2013).** Treatment and long-term follow-up of cats with suspected primary epilepsy, *Journal of Feline Medicine And Surgery*, **15**, 4, 267 – 273,
4. **Parent, J.M. (2008).** Five Minute Consult Drug Formulary. In: Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: canine and Feline, Edit. Tiley L.P. and Smith F. W. K.Jr., Wiley- Blackwell Publishing.
5. **Shell, L.G., (1998).** Seizures in cats, *Veterinary Medicine*, **93**, 6, 541-552.
6. **Thomas, W.B., (2012).** Idiopathic epilepsy in dogs and cats, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **40**,1, 161-179.
7. www.dogsadversereactions.com/scienceVaccineDamage.html
8. www.squidoo.com/rabiesvaccine#module16185226



S.C. VETOREX S.R.L.



**VĂ OFERĂ LA CEA MAI BUNĂ
CORELAȚIE CALITATE - PREȚ**

FOSBAC PLUS T antibiotic si bioenergizant

Compoziție:

Calciu fosfomycin.....20%
Tylosin tartrat 5%
Fructoză 1,6 difosfat 18%
Fosfat de sodiu15%
Sulfat de magneziu....10%
Clorură de sodiu q.s. 100%.



Fosbac plus T este activ față de bacterii Gram pozitive, Gram negative și micoplasme, inclusiv față de unele specii bacteriene rezistente la alte antibiotice. Medicamentul se recomandă în prevenirea și combaterea colibacilozei, salmonelozei (tifoza, puloroză), pasteurelozei, sindromului BRC în fermele de pui de carne și tineret înlocuire, stafilocociei, pseudomonoziei etc.

BEDGEN 40

antitoxic, hepatoprotector și promotor
de creștere natural

Bedgen 40 lichid

Compoziție 100g conțin:
Extract de Cynara..... 15g
Choline chloride 70%...15g
Factor antitoxic hepatic ..2g
Nipagin..... 5mg
Nipasol..... 1mg
Apă distilată până la...100g



Bedgen 40 premix sfa

Compoziție
Extract de Cynara..... 15%
Choline chloride 70%30%
Carbonat de calciu pana la .100%



Bedgenul se recomandă în tratamentul sindromului ficatului gras la păsări, precum și în intoxicațiile de orice natură inclusiv cele cauzate de micotoxine și aflatoxine. Se recomandă de asemenea ca adjuvant în toate disfuncțiile hepatice.

FARMAVIT AMINOCOMPLEX

soluție orală

Compoziție/litru

VITAMINA A.....15.000.000 UI
VITAMINA D3.....200.000 UI
VITAMINA B1.....1.800 mg
VITAMINA B2.....1.300 mg
VITAMINA B6......800 mg
VITAMINA B12......12 mg
VITAMINA C.....22.000. mg
VITAMINA E......8.000. mg
VITAMINA K3.....1.000. mg
VITAMINA PP.....12.500. mg
ACID FOLIC......250. mg
ACID pantotenic.....5.000. mg
LIZINĂ.....85.170 mg
ARGININĂ.....4.150 mg
TREONINĂ.....5.050 mg
ACID GLUTAMIC...150.000 mg
GLICINĂ......5.025 mg
ALANINĂ.....43.050 mg
METIONINĂ.....12.500 mg
LEUCINĂ.....4.500 mg
TRIPTOFAN.....12.600 mg
HISTIDINĂ.....6.200. mg
ACID ASPARTIC...17.500. mg
SERINĂ......6.000. mg
PROLINĂ.....4.500. mg
CISTINĂ......9.100. mg
VALINĂ.....41.080. mg
IZOLEUCINĂ.....5.100. mg



Acest premix lichid integrează vitamine și aminoacizi, fiind utilizat profilactic și terapeutic în situații de stres și hipovitaminoze, pentru creșterea producțiilor și a sporului de creștere.

FARMAVIT AD₃E + KC

soluție orală

Compoziție / litru :

VITAMINA A.....20.000.000 UI
VITAMINA D₃..... 400.000 UI
VITAMINA K₃......1.000 mg
VITAMINA C......5.000 mg
VITAMINA E......8.000 mg



Este un produs sub forma unei microemulsii de vitamine lipo și hidrosolubile într-o concentrație foarte mare. Este indicat în situații speciale de stres, hipovitaminoze, în profilaxie și terapie. Influențează pozitiv fecunditatea, fertilitatea, sporul de creștere, producția de ouă, eclozionabilitatea. Testele efectuate indică un tratament de cel puțin o săptămână, în situații speciale necesitând reluarea tratamentului din 3 în 3 săptămâni. Concentrația ridicată de vitamine permite administrarea unor doze mari de vitamine în cantități mici de apă.

Strada Răsăritului Nr. 64C Buftea, Jud. Ilfov Tel.: 351 42 24, Fax: 021/490 04 90, Mobil: 0744 63 14 28

Validarea metodei de determinare a furazolidonei și oxitetraciclinei în prezența substanțelor înrudite prin cromatografie de lichid de înalta performanță

A validated HPLC method for determination of furazolidone and oxytetracycline in the presence of related substances

Violeta Giugiu
Romvac Company S.A.

Cuvinte cheie: metoda HPLC, determinare simultană, furazolidonă, oxitetraciclină, 4-epioxitetraciclină, α -apooxitetraciclină, tetraciclină, β -apooxitetraciclină

Keywords: HPLC method, simultaneous determination, furazolidone, oxytetracycline, 4-epioxytetracycline, α -apooxytetracycline, tetracycline, β -apooxytetracycline

Rezumat

Obiectivul acestui studiu a fost dezvoltarea unei metode simple, precise, rapide și exacte de determinare a furazolidonei, oxitetraciclinei și substanțelor înrudite din produsele farmaceutice veterinare. Produsul farmaceutic a fost supus degradării accelerate în următoarele medii: acid, basic, oxidant, degradare termică și în prezența luminii. Metoda de separare simultană a furazolidonei și oxitetraciclinei a fost realizată pe o colonă Hypersil BDS RP-C₁₈, (250mmx4.6mm, i.d. 5 μ m diametrul particulei) folosind drept fază mobilă amestecul metanol - fosfat de potasiu dibasic 80 mM pH 7,5 (20/80). Gradientul folosit pentru elutie este prezentat în tabelul 1. Debitul de 1 mL/min și lungimea de undă de 254 au fost folosite în validarea metodei urmărind parametrii: liniaritate, limită de detecție și cuantificare, specificitatea, acuratețe și precizie.

Abstract

The objective of the current study was to develop a simple, precise, rapid and accurate reverse phase liquid chromatographic method for the quantitative determination on furazolidone, oxytetracycline and related substances in veterinary formulation. This formulation was submitted to accelerated degradation studies under acidic, alkaline and oxidative conditions, exposure to light and thermal stability. The separation of furazolidone, oxytetracycline and degradation products was achieved on BDS Hypersil C18 (250mmx4.6mm, i.d. 5 μ m particle size) with gradient mobile phase containing methanol and 80 mM dipotassium phosphate pH 7,5 (20/80). The flow rate was 1.0 mL/min and detection was set at 254 nm, at 25 °C. The developed method was validated with respect to linearity, limits of detection and quantification, specificity, accuracy, and precision.

Introducere

Oxitetraciclina este un antibiotic cu spectru larg, utilizat în medicina veterinară pentru a inhiba sinteza bacteriilor gram- pozitive și gram-negative.

Comunitatea Europeană a aprobat folosirea oxitetraciclinei pentru o gamă variată de specii: pisici, câini, oi, capre și porci.

Atât oxitetraciclina, cât și oxitetraciclina hidroclorică conțin impurități, care în materia primă nu trebuie să depășească limitele impuse de Farmacopeea Europeană.

Furazolidona este un medicament antibacterian, din clasa nitrofuranilor, care conține în structura moleculară 5 grupari nitro.

Acest grup de compuși au o activitate antibacteriană și antiparazitară largă și din acest motiv sunt larg utilizați în tratamentul infecțiilor gastrointestinale la pasărilor de colivie, pisici și câini.

Scopul acestui studiu este de a dezvolta o nouă metodă HPLC pentru evaluarea furazolidonei, oxitetraciclinei și substanțelor înrudite din produsele veterinare.

1. Materiale și metodă

1.1. Materiale de referință și reactivi

Standardele de oxitetraciclină, 4-epi-oxitetraciclina, tetraciclina clorhidrat, α -apo-oxitetraciclina, β -apo-oxitetraciclina au fost achiziționate de la Farmacopeea Europeană.

Standardul de furazolidona a fost achiziționat de la USP.

Produsul farmaceutic supus studiului, Oxifuran Vitaminizat- pulbere a fost furnizat de **Romvac Company**. La prepararea tuturor soluțiilor s-a folosit apă ultrapură, obținută in-house cu un sistem Milli-Q (Millipore, USA).

Metanolul, grad HPLC, a fost furnizate de Merck.

Fosfatul de potasiu dibazic grad HPLC și acidul clorhidric au fost furnizate de Fluka.

Acidul ortofosforic 85%, folosit pentru ajustarea pH-ului, a fost achiziționat de la Merck. *N,N-dimetilformamida*, a fost achiziționată de la Sigma Aldrich.

1.2. Sistem și condiții cromatografice

Sistemul cromatografic folosit LC Surveyor (Thermo Electron Corporation, USA) este echipat cu pompă cuaternară, autosempler, bucla de 25 μ L, termostat pentru coloană, termostat pentru autosampler și detector UV-VIS– diode array.

Întregul sistem cromatografic este controlat cu softul ChromQuest.

Separarea s-a realizat pe o coloană A Hypersil BDS RP-C18 column (250 mm x 4,6 mm x 5 μ m particle size) folosind drept fază mobilă metanol - fosfat de potasiu dibazic 80 mM, pH 7,5.

Gradientul folosit pentru eluție este prezentat în tabelul 1.

Tabelul 1
Programul gradientului folosit pentru separare

Time (min)	% solvent B HK ₂ PO ₄	% solvent C Methanol
0.00	80.00	20.00
5.00	60.00	40.00
15.00	60.00	40.00
20.00	80.00	20.00
30.00	80.00	20.00

Debitul de 1 ml/min, lungimea de unda de 254 nm și volumul de injecție de 10 μ L sunt parametri setați pentru această metodă.

1.3. Prepararea soluțiilor standard

Soluția standard stoc de furazolidonă (0.32 mg/mL) a fost preparată dizolvând o cantitate de standard în DMF. Soluția standard stoc de oxitetraciclină (1mg/mL) a fost preparată dizolvând o cantitate de standard în HCl 0,01 M.

Soluțiile stoc de 4-epioxitetraciclină (1 mg/mL), tetraciclină clorhidrat (1mg /mL), alfa-apo-oxitetraciclină (0,12 mg/mL), beta-apo-oxitetraciclină (0,12 mg/mL) au fost preparate dizolvând, separat cantitățile necesare în HCl 0,01 M

Stocurile soluțiilor standard au fost păstrate la frigider.

1.4. Prepararea soluțiilor de probe

Într-un balon cotat de 50 mL au fost cântărite 0.286 g de Oxifuran Vitaminizat – pulbere, cantitatea fiind echivalentă cu 40 mg de oxitetraciclină și 11.44 mg de furazolidona. Peste această cantitate s-au adăugat 15 mL de HCl 0,01M și 16 mL DMF, iar soluția obținută s-a ultrasonat timp de 10 minute. După răcire, volumul de 50 mL a fost completat cu HCl 0,01M și soluția a fost filtrată pe hârtie de filtru calitativă, tip 1289.

Într-un balon cotat de 10 mL, 0.64 mL de au fost diluați cu HCl 0,01 M. Soluția a fost agitată bine, filtrată prin filtru PVDF 0,45 μ m și injectată în sistemul cromatografic

1.5. Validarea metodei cromatografice

Această metodă a fost validată urmărind parametrii liniaritate, limita de detecție și cuantificare, precizie, acuratețe și degradare în diferite medii.

1.5.1. Studiul de degradare

Studiul de degradare a fost realizat pentru a evalua specificitatea metodei analitice în prezența impurităților și a produșilor de degradare.

În studiul de degradare forțată, produsul Oxifuran Vitaminizat a fost analizat în următoarele medii: acid (0.1 M HCl), bazic (0.1 M NaOH), oxidant (3% H₂O₂), în prezența luminii (Vision 30W, UV-C, 253nm), și a temperaturii (60°C).

1.5.2. Linearitatea

Pentru stabilirea liniarității curbelor de calibrare, o serie de cinci concentrații în domeniul 10%-200% au fost preparate din soluțiile stoc de furazolidonă și oxitetraciclina. Curbele de calibrare efectuate au fost folosite pentru determinarea limitelor de detecție și de cuantificare

1.5.3. Precizie și acuratețe

Precizia metodei a fost determinată prin injectarea a șase probe individuale de Oxifuran Vitaminizat.

Acuratețea metodei poate fi evaluată prin procentul de recuperare al furazolidonei și oxitetraciclinei.

Studiul de recuperare a fost realizat folosind soluții de probă cu concentrațiile în domeniul 80%-120%.

2. Rezultate și discuții

Obiectivul acestei metode a fost de a concepe o metodă HPLC, care să permită separarea furazolidonei, 4-epioxitetraciclinei, oxitetraciclinei, tetraciclina clorhidrat, α-apo-oxitetraciclina și β-apo-oxitetraciclina.

Experimentul a fost efectuat folosind ca fază mobilă metanol-fosfat de potasiu dibasic 80 mM, pH 7,5 (20/80 v/v) pe o colonă BDS C₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 μm-dimensiunea particulelor).

Cromatograma amestecului format din standardele de furazolidona, oxitetraciclina și impurități este prezentată în figura 1.

Rezoluția, asimetria, timpul de retenție și talerele teoretice, parametrii calculați automat cu ajutorul soft-ului, sunt prezentați în tabelul 2.

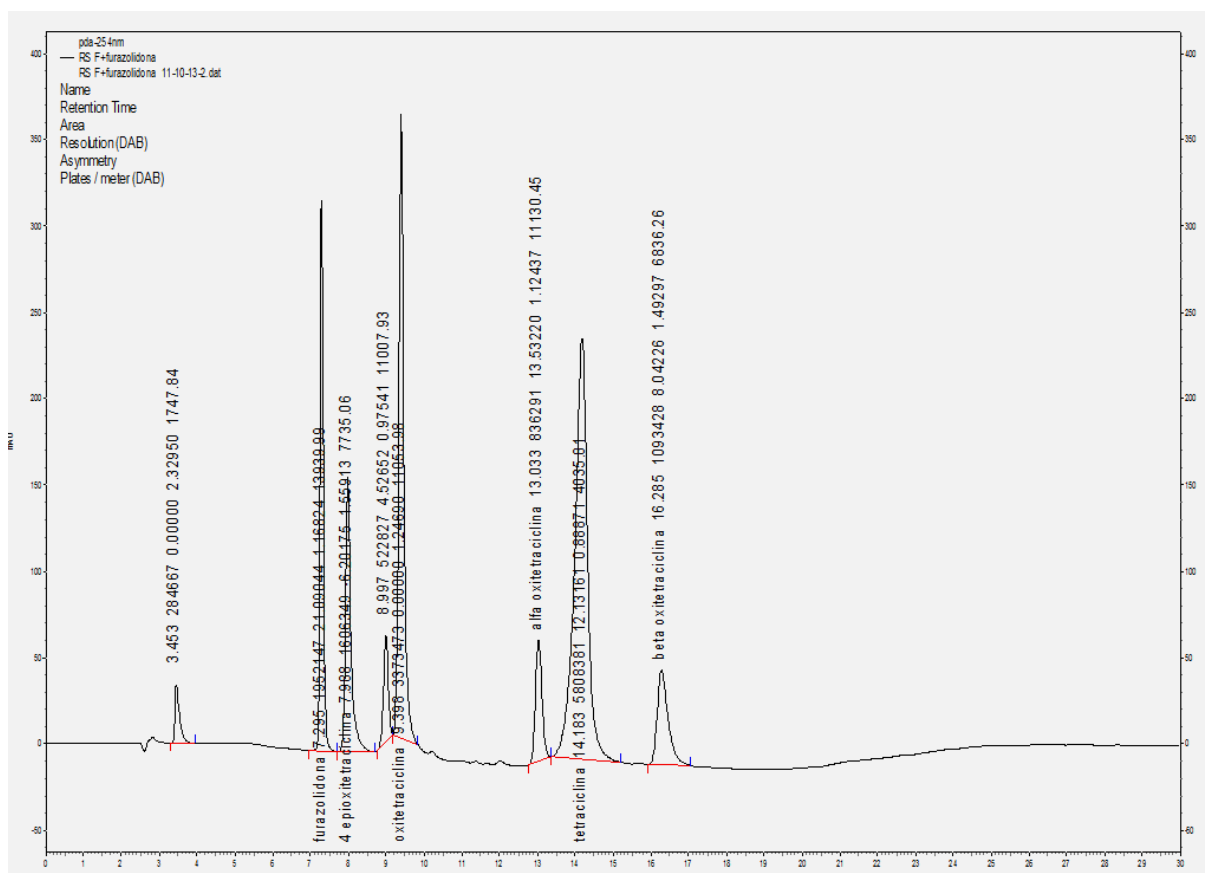


Figura 1. Cromatograma amestecului format din furazolidona, 4-epioxitetraciclinei, oxitetraciclinei, tetraciclina clorhidrat, α-apo-oxitetraciclina și β-apo-oxitetraciclina

Tabelul 2
Parametrii calculați pentru amestecul din figura 1.

Name	Timp de retenție	Rezoluție EP	Asimetrie	Talere teoretice	Factor de capacitate
Furazolidonă	7.295	21.09044	1.17	13939.99	13.59000
4 epioxytetracyclină	7.988	-6.20175	1.56	7735.06	14.97667
Oxytetracyclină	9.398	0.00000	1.25	11053.98	17.79667
α -apooxytetracyclină	13.033	13.53220	1.12	11130.45	25.06667
Tetracyclină	14.183	12.13161	0.89	4035.81	27.36667
β -apooxytetracyclină	16.285	8.04226	1.49	6836.26	31.57000

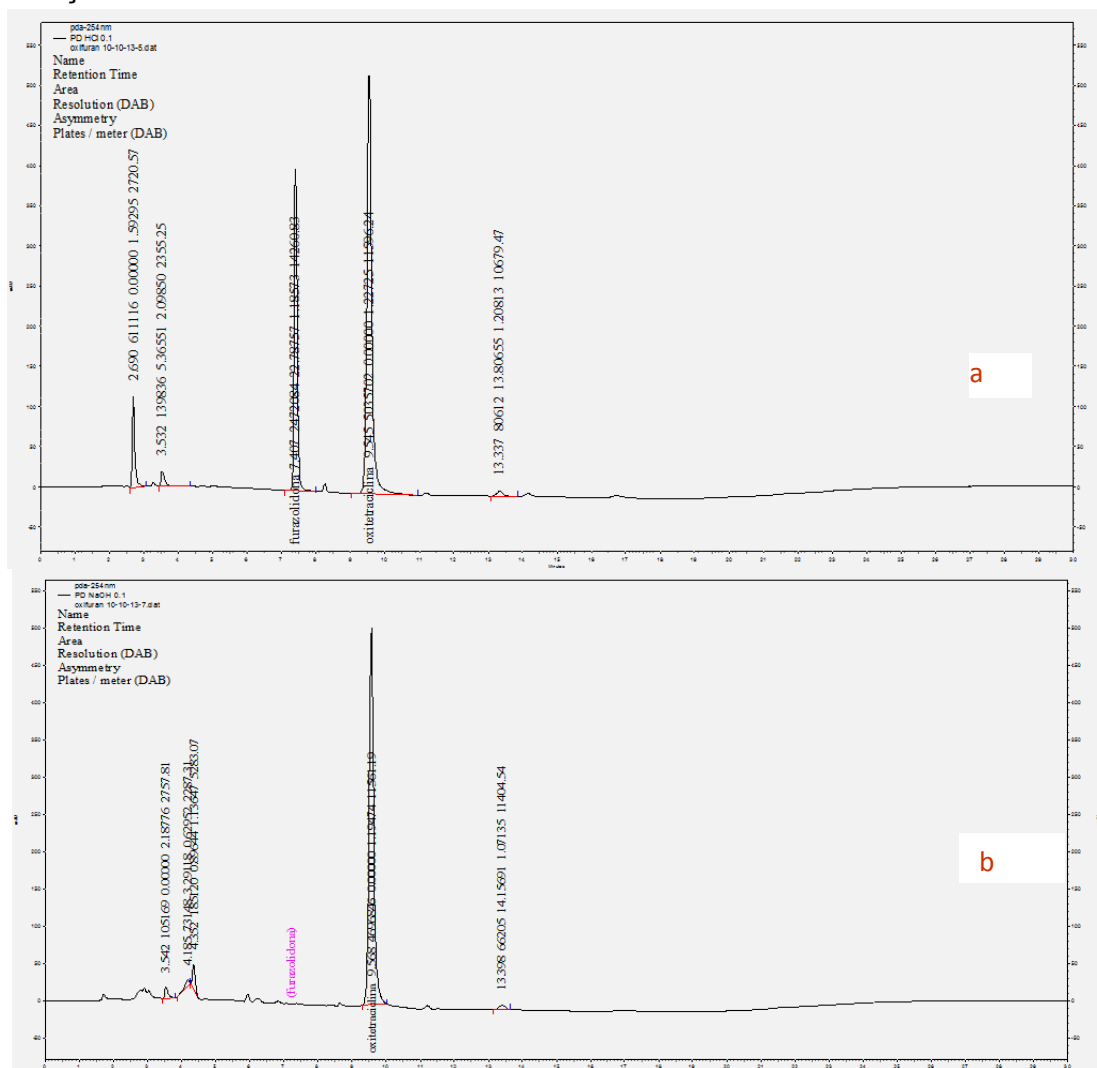
În studiul de degradare forțată, produsul **Oxifuran vitaminizat** - pulbere a fost analizat mediu acid, mediu bazic, mediu oxidant, în prezența luminii și a temperaturii, iar cromatogramele obținute sunt prezentate în figurile 2a-2e.

Metoda propusă se poate utiliza pentru determinarea catitativă a furazolidonei și oxitetraciclinei în diferite medii. Faza mobilă propusă și debit 1.0 mL/min s-au dovedit a fi

adecvata pentru separarea furazolidonei ($t_R=7.2$ min) și oxitetraciclinei ($t_R=9.3$ min) de substanțele inrudite.

Volumul de 10 μ L, lungimea de undă de 254 nm și temperatura de 25 $^{\circ}$ C s-au dovedit a fi potrivite pentru această metodă.

Rezultatele obținute în mediile de degradare folosite, sunt prezentate în tabelele 3-4.



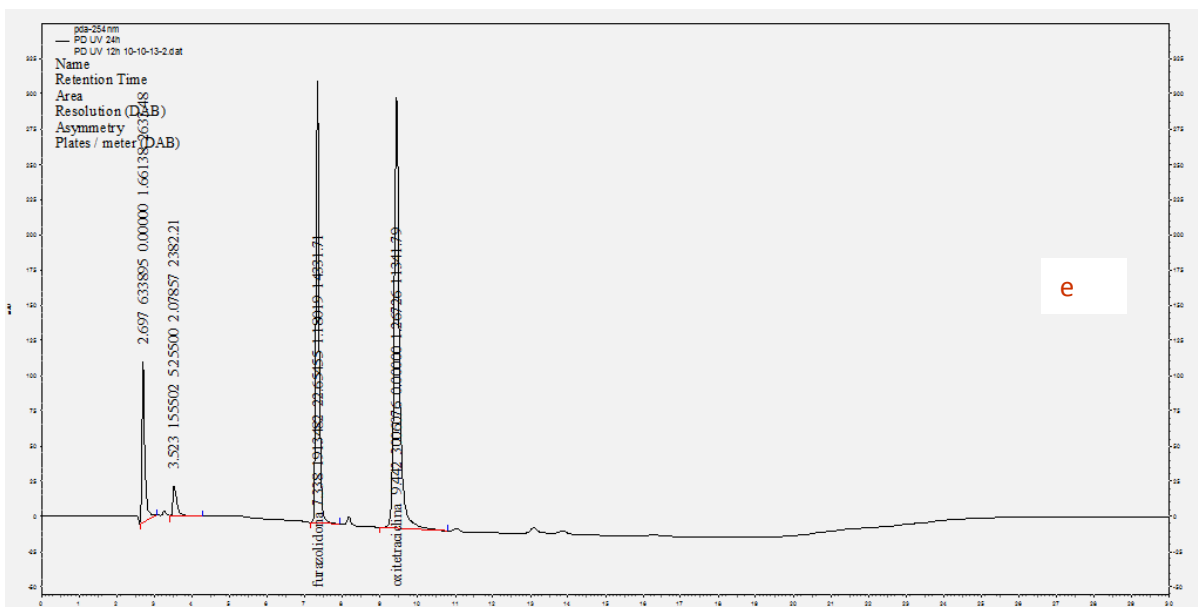
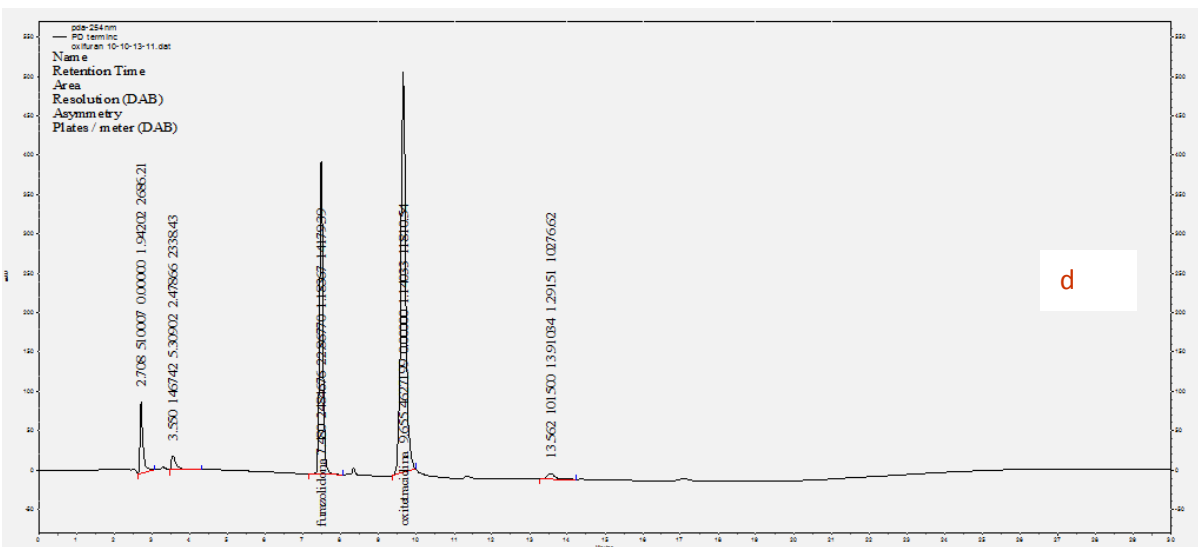
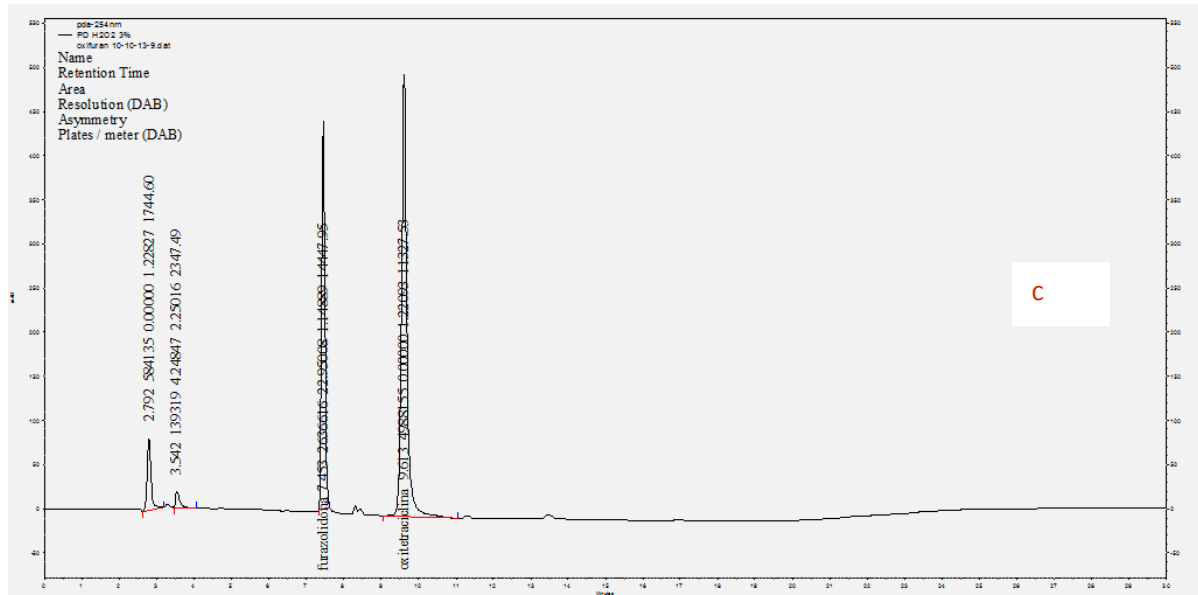


Figura 2. Cromatogramele obținute pentru produsul Oxifuran Vitaminizat în diferite medii de degradare (a) mediu acid, (b) mediu bazic, (c) mediu oxidant, (d) radiații UV, (e) degradare termică

Tabelul 3.

Rezultatele obținute cu metoda propusă în diferite medii de degradare.

Substanțe	Parametrii de degradare		Durata de degradare						Parametri calculați		
	Furazolidona	Arie furazolidona dupa degradare	Arie furazolidona	% recuperare	% degradare	Timp de retenție	Asimetria	Talere/m			
oxifuran vitaminizat	10 min	-	2667425	100	0	7.4	1.18	14379.24			
PD HCl 0.1 N	90 min	2452178	2667425	91.93	8	7.4	1.18	14281.91			
PD NaOH 0.1N	90 min	0	2667425	0.00	100	0.0	0.00	0			
PD H ₂ O ₂ 3%	90 min	2636062	2667425	98.82	1	7.5	1.17	14452.09			
PD terminc	60 min	2478007	2667425	92.90	7	7.5	1.18	14186.18			
PD UV 24h	24 h	1896760	2667425	71.11	29	7.3	1.18	14347.38			

Tabelul 4.

Degradarea oxytetraciclinei in produsul Oxifuran Vitaminizat

Substanțe	Parametrii de degradare		Durata de degradare						Parametri calculati		
	Oxitetraciclina	Arie oxitetraciclina dupa degradare	Arie oxitetraciclina	% recuperare	% degradare	Timp de retenție	Asimetria	Talere/m			
oxifuran vitaminizat	10 min	4759968	4759968	100	0	9.5	1.18	11698.28			
PD HCl 0.1 N	90 min	4753817	4759968	99.87	0	9.5	1.18	11711.71			
PD NaOH 0.1 N	90 min	4645805	4759968	97.60	2	9.6	0.00	11632.01			
PD H ₂ O ₂ 3%	90 min	4663116	4759968	97.97	2	9.6	1.17	11583.75			
PD terminc	60 min	4580245	4759968	96.22	4	9.7	1.18	11874.39			
PD UV 24h	24 h	2733119	4759968	57.42	43	9.4	1.18	11640.43			

Liniaritatea curbelor de calibrare a fost investigată pe domeniile (0,0014-0,028 mg/mL furazolidona, 0,005-0,1 mg/mL oxitetraciclina) iar coeficientul de corecție obținut a fost mai mare de 0,999.

Rezultatele indică o excelentă corelare între aria peak-urilor și concentrațiile analitilor. Curbele de calibrare prezentate mai sus au fost folosite pentru determinarea limitelor de detecție și de cuantificare.

Limitele de detecție gasite sunt:

- 0,029 µg/mL, furazolidona și
 - 0,086 µg/mL, oxitetraciclina,
- iar limitele de cuantificare:
- 0,097 µg/mL furazolidona și
 - 0,286 µg/mL oxitetraciclina.

Precizia metodei a fost verificată atât din punct de vedere al repatabilității, cât și al reproductibilității intermediare prin calcularea deviației standard.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 5.

Tabelul 5.
Rezultatele măsurării preciziei metodei

Substanța	Furazolidona (g%)		Oxytetracyclina (g%)	
	Intraday repeatability	Interday repeatability	Intraday repeatability	Interday repeatability
1	3.879	3.934	13.324	13.642
2	3.874	3.897	13.369	13.567
3	3.881	3.924	13.479	13.668
4	3.858	3.892	13.429	13.564
5	3.862	3.916	13.465	13.674
6	3.867	3.879	13.548	13.548
Media	3.870	3.907	13.436	13.611
RSD%	0.247	0.537	0.599	0.419

Acuratețea, exprimată ca procent de recuperare a substanțelor active, a fost calculată comparând valorile concentrației obținute cu valorile așteptate.

Procentele de recuperare obținute pe domeniul de concentrații 80% - 120%, a fost 99.59% pentru furazolidona și respectiv de 99,87% pentru oxitetraciclina (tabelul 6).

Tabelul 6.
Acuratețea metodei

Substanțe active	Concentrație Teoretică (g%)	Concentrație găsită*(g%)	Procent de recuperare(%*)	Medie procent de recuperare(%)
Furazolidona	3.2	3.1746	99.2	99.59
	4	4.036	100.9	
	4.8	4.7366	98.68	
Oxitetraciclina	11.2	11.04	98.25	99.8791
	14	14.21	101.5024	
	16.8	16.78	99.88492	

Concluzii

Dezvoltarea metodelor analitice de determinare a substanțelor active joacă un rol important în cercetarea analitică datorită importanței în controlul de calitate. În controlul analitic, timpul și costurile pentru dezvoltarea și validarea metodelor sunt foarte importante.

Rezultatele obținute indică o corelare bună între timpii de retenție ai standardelor de furazolidonă și oxitetraciclina cu proba de Oxifuran Vitaminizat.

Studiul de degradare confirmă stabilitatea furazolidonei și oxitetracilinei în diferite medii deoarece nu apar interferențe datorate produșilor de degradare. Deci se poate concluziona faptul că metoda poate separa furazolidona și oxitetraciclina de produșii de degradare.

Rezultatele obținute în acest studiu, indică faptul că metoda HPLC propusă

pentru este specifică, precisă și exactă pentru determinarea limitelor substanțelor înrudite și dozarea oxitetracilinei din produsul Oxifuran Vitaminizat

Bibliografie

1. **C.G.Smyrniotakis, Helen A. Archontaki** (2007). C 18 columns for the simultaneous determination of oxytetracycline and related substances by reversed-phase high performance liquid chromatography and UV detection.
2. **Katarzyna Pietruszka, Malgorzata Olejnik, And Bartosz Sell** (2007). Development and validation of liquid chromatography method for the determination of nitrofurans in water.
3. **Rajyalakshmi. Ch, benjamin. T and rambabu. C Katarzyna Pietruszka, Malgorzata Olejnik, And Bartosz Sell** (2013).forced degradation study on dronedarone and application of validated stability-indicating HPLC-UV method in stability testing of dronedarone tablets.
4. European Pharmacopoeia 7.0 (2011), 2651-2653.
5. www.ich.org

În războiul cu paraziții, el nu ia prizonieri. Îi anihilează!

pentru
câini și pisici



PARAKILL

antiparazitar extern



• Soluție spot-on pe bază de fipronil, un puternic insecticid cu spectru larg care blochează sinapsele la nivelul sistemului nervos central

• Din cauza hiperexcitării nervilor și mușchilor insectelor, acestea mor



Se administrează:

• 1 picătură / kg g.v. la animalele de talie mică

• 2 picături / kg g.v. la animalele de talie mare



Grafică: stacucatalina@gmail.com



▼ *Varia / Varia - original papers*

O analiză a probelor de apă din împrejurimile fermelor de suine din județul Timiș – Un ghid practic

An analysis of water samples surrounding swine farms in Timis County – A practical guide

Crina Laura Moşneag¹, Ordodi V.L.², Cristina R.T.¹

¹USAMVB Timisoara, Facultatea de Medicină Veterinară

²UMF Timișoara, Institutul de Imunofiziologie al Spitalului Județean Timișoara

Cuvinte cheie: probe apă, poluare, ferme suine, cloruri, nitrați, fosfați, GC-MS, Timiș
Key words: water samples, pollution, pigs farm, chlorides, nitrates, phosphates, GC-MS, Timis.

Rezumat

Rolul cel mai important în poluarea biologică a solului este al apelor reziduale neepurate provenite de la fermele de animale, în special de suine utilizate pentru fertilizarea solului. Aplicarea unor măsuri arbitrare, nerespectarea legislației naționale și europene face ca aceasta să devină adesea o problemă de sănătate publică prin impactul deosebit pe care îl poate genera și să creeze probleme mari în zona marilor aglomerări umane și animale. Dejecțiile au capacitatea de a afecta calitatea mediului în principal prin: protoxid de azot, amoniac, metan, hidrogen sulfurat, componente organice volatile etc. acestea diluate și administrate în soluri adesea poate genera aspecte de ordin epizootologic și epidemiologic, cât și cele referitoare la protecția mediului, fiind necesar ca în toate fermele zootehnice să se aplice anumite măsuri de tratare adecvată a dejecțiilor, diferențiat de specia de animale de la care provin și dependent de sistemul de colectare și de evacuare utilizat. Lucrarea de față este o lucrare de cercetare originală care se dorește a fi și un ghid practic de urmat pentru cei interesați în cercetarea de teren a poluării mediului. Sunt prezentate metodologiile de investigare curente ale calității apelor din limitrofia unor ferme de suine din județul Timiș. În patru subcapitole, sunt prezentate metodologia analizei primare a apelor, determinarea clorurilor, nitraților și fosfaților pentru fiecare substanță fiind prezentate metodologia de lucru, kiturile și reactivii specifici necesari, rezultatele obținute și interpretarea lor precum și concluziile pentru fiecare studiu în parte. Ultimul subcapitol a fost alocat descrierii determinărilor compușilor potențial poluanți prin tehnica GC-MS.

Abstract

The most important role in biological soil pollution is allocated to the untreated waste water used to ground's fertilization from livestock farms, and in particular of swine units. Applying of arbitrary measures, and national and European legislation's non-compliance are main factors that often makes from this issue a public health problem by the great impact it can generate and create in large agglomerations and animals. The diluted manures are able to affect the quality of the environment mainly by: nitrous oxide, ammonia, methane, hydrogen sulphide, volatile organic compounds, etc. and they, being administered in soils, may cause epizootic and epidemiological aspects and also those relating to environmental protection. In this respect it rise the need for all livestock farms to apply appropriate measures for certain manure treatment, different to species of animals and depending on the collection and discharge systems used. This paper is an original research work and it intends to be also a practical guide to follow for those interested in field research of environmental pollution. There are presented current investigation methodologies of water's quality from swine farms vicinity in Timis County. In four chapters are presented: primary water analysis methodology, the determination of chlorides, nitrates and phosphates for each substance being presented methodology, kits and reagents necessary specific results and their interpretation and conclusions for each study. The last chapter was allocated to the description of the potentially polluting compounds determination by GC-MS technique.

Poluarea cu dejecții a apelor și solului - Impactul dejecțiilor asupra mediului

Deoarece solul reprezintă o componentă importantă a biosferei, un rol important îl are capacitatea acestuia de a susține:

- productivitatea,
- calitatea apei și
- sănătatea animalelor.

Impactul managementului dejecțiilor provenite din exploatarea de creștere a suinelor asupra contaminării bacteriene a drenajului subteran este dificil de evaluat pe teren.

Bacteriile din dejecții pot polua apa, solul și vegetația, constituind o amenințare asupra mediului și sănătății umane.

La nivelul apelor curgătoare, bacteriile patogene din dejecții pot fi transportate de vânt, insecte și rozătoare (39).

Dejecțiile animalelor nu corespund întocmai necesităților de micronutrienți care asigură creșterea și dezvoltarea plantelor (18, 51) cât și migrării fosforului din sol în apele de suprafață ceea ce duce la eutrofizare și la pierderea calității mediului (59)

Dejecțiile sunt deversate zilnic în lagune de colectare anaerobe și utilizate pentru fertilizare timp de mai mulți ani (31).

Aplicarea dejecțiilor pe sol un timp îndelungat duce la creșterea nivelurilor de potasiu, magneziu și fosfor, producând dezechilibre ale profilului nutritiv al solului.

Dejecțiile au capacitatea de a afecta calitatea aerului prin descărcarea de N_2O , NH_3 , CH_4 , H_2S și componente organice volatile (2, 26, 56, 58, 68).

Solurile cu capacitate infiltrativă crescută vor absorbi apa cât și substanțele asociate cum sunt nutrienții și pesticidele, absorbția realizându-se mai repede decât în solurile cu capacitate infiltrativă redusă. Dejecțiile de suine sunt utilizate ca fertilizanti deoarece sunt surse de materie organică.

Acestea se supun unor tratamente biologice aerobe și îndepărtării ulterioare a azotului prin nitrificare (figura 1) și denitrificare ca o alternativă a surplusului de azot (3, 13, 23).

Dejecțiile au capacitatea de a transporta compușii fenolici derivați din descompunerea proteinelor în intestinul suinelor, amoniacului, nitriților și surfactanților.



Foto 1. Biofiltre de nitrificare în ferma de suine (73)

Aplicarea dejecțiilor pe sol a îmbunătățit capacitatea solului de reținere a apei și rezistența la compactare (35).

Compoziția chimică a solului suferă modificări datorită aplicării dejecțiilor lichide și influenței unor factori ca textura solului, timpul și metoda de aplicare a dejecțiilor, cantitatea de precipitații, creșterea recoltei și momentul de prelevare a probelor (3).

Adaosul de sare sau aditivi în alimentația suinelor pot modifica compoziția dejecțiilor și acestea se pot acumula în sol. Nivelurile crescute de sare din furaje poate duce la creșterea conținutului de Na din dejecții și la o încărcare a solului cu sodiu (63).

Dejecțiile provenite de la porcii hrăniți cu doze mari de Cu duc la o creștere a nivelurilor de cupru, zinc, calciu și magneziu în sol (32, 33).

Bernal și Kirchmann (1992) au demonstrat că dejecțiile de porc pot cauza salinizarea în zonele aride și semiaride (4).

Bacteriile prezintă o mobilitate sporită în dejecțiile lichide, având tendința de a contamina uniform masa fecaloidă spre deosebire de dejecțiile solide. Chiar dacă animalele nu prezintă simptome, patogenii pot fi prezenți în dejecții. Deși probele de dejecții de la unele animale nu sunt contaminate, dejecțiile stocate pot să conțină germeni patogeni proveniți de la un număr restrâns de animale (7, 24).

Bacteriile supraviețuiesc o perioadă mai lungă de timp în solurile cu capacitate mare de reținere a apei (21).

Factorii care influențează mișcarea bacteriilor în sol sunt:

- 1) caracteristicile de flux, dependente de dimensiunile mediului poros și de

structura solului care împreună controlează porozitatea. Putem încorpora partiția apei pe suprafața solului la deversare și infiltrare ca factor esențial în mișcarea bacteriilor.

- 2) Efectele filtrării dependent de microporii solului, prin obstrucția colul microporilor cât și a filtrelor produsă de componentele solide din dejecții în corelație cu dimensiunea celulelor microbiene.
- 3) Infiltrarea în straturile de materie organică formate la suprafața solului, care reprezintă o însumare a filtrării și retenției electrochimice la nivelul suprafețelor organice.
- 4) Retenția în sol a celulelor bacteriene și a particulelor organice prin absorbție și adeziune, rezistența ionică a substanțelor din sol fiind foarte importantă. Retenția este rezultatul interacțiunilor complexe dintre celulele bacteriene, sol și soluțiile în suspensie din sol (66).
- 5) Microorganismele afectează calitatea solului, fiind totodată indicatori ai sănătății solului. Calitatea reprezintă un indicator al agriculturii sustenabile (27).

Studiile microbiologice arată originea organică sau microbiologică a poluării (12).

Tipul și numărul microorganismelor din dejecții depinde de specia animalului, vârstă, tipul de așternut, metoda de stocare (solidă sau lichidă) și perioada de stocare (34, 43).

Poluarea apei și solului poate indica prezența agenților zoonotici (tuberculoză, bruceloză, antrax, tetanos) (6, 49).

Petkov și Baykov (1978) au demonstrat că solurile aflate la circa un metru de lagunele de colectare a dejecțiilor, indiferent de sezon, sunt contaminate (numărul de microorganisme cultivabile situat între log₅ și log₆ UFC/g sol), iar solurile aflate la o distanță de 30m de lagune sunt ușor contaminate (numărul de microorganisme cultivabile situat între log₄ și log₅ UFC/g sol) (49). Numărul de bacterii coliforme din dejecțiile stocate este mai mare pe timpul verii (la o temperatură de 21.7°C) și s-a mai

demonstrat și că *E.coli* supraviețuiește mai bine la 5°C decât la 25°C (9, 50).

Gessel (2004) a inoculat *Salmonella anatum* în dejecțiile de suine, completând studiile lui Johnston (1996) care au dovedit că acest patogen supraviețuiește în sol cel puțin 27 de zile, în corelație cu diferite adâncimi ale solului (22, 29).

Dejecțiile de suine reprezintă o sursă de 5% azot și 3% fosfor și adesea această cantitate depășește necesitățile plantei, astfel putând deveni un potențial poluant pentru apele de adâncime și cele de suprafață. Fosforul migrează împreună cu solul erodat în apele de suprafață, alterând calitatea acesteia (11).

Râmele din sol tind să aibă un impact prin reducerea *Salmonella enteritidis* în sol cât și asupra florei bacteriene normale din sol (40),

Bacteriile din fecale supraviețuiesc o lungă perioadă de timp după aplicarea dejecțiilor pe sol și după pătrunderea lor în apele subterane, perioada putându-se prelungi pâna la câteva luni (24).

Studiile realizate de Sjogren și Gibson (1981) arată că lacurile, deși medii diluate, asigură condiții viabile pentru bacteriile provenite din fecale (60).

Calitatea apei reprezintă un element esențial în gestionarea practicilor agricole. Studiile științifice arată că fertilizanzii anorganici au o acitivitate microbiană redusă în comparație cu fertilizanzii organici (15, 36, 46, 47, 52).

Efluenții proveniți de la suine duc la o scădere a pH-ului proporțională cu creșterea frecvenței aplicărilor pe sol, nefiind influențată de adâncimea de aplicare în sol (15).

Substratul potențial poluant al reziduurilor din fermele de suine

Reziduurile provenite de la animale produc modificări prin creșteri ale conținutului de carbon, azot și fosfor din biomasa microbiană, activității enzimelor

microbiene, nivelurilor populaţionale şi structurilor observabile (1, 48).

Creşterea activităţii sau a biomasei microbiene este corelată cu o creştere a azotului mineral, carbonului organic, degradării celulozei şi a materiei organice din sol (17, 37, 45, 53, 55).

Dejecţiile de porcine îmbunătăţesc structura solului datorită valorii crescute de nutrienţi conţinuţi: azot şi potasiu, cât şi a dezavantajului de a avea un conţinut ridicat de metale grele şi sodiu ca potenţiali contaminanţi.

Eficienţa agriculturii, cât şi reducerea riscului de poluare a mediului constă în eficientizarea managementului dejecţiilor.

Consecinţele utilizării dejecţiilor de suine ca parte componentă a fertilizării solului constă în calitatea materiei organice, nutrienţi, micronutrienţi şi alţi factori adiţionali cum sunt aditivii, produsele zoo-sanitare şi farmacologice. Dejecţiile provenite de la animale constituie un factor important în răspândirea bolilor astfel că algoritmul de evaluare a reziduurilor animale are scopul de a proteja apele şi solul din punct de vedere igienic şi epizootic (30, 45, 66, 67, 70).

Microorganismele din sol transformă masa de gunoi de grajd în humus, modificând condiţiile de viaţă ale bacteriilor batogene şi potenţial patogene (50).

Bacteriile se infiltrează în sol dependent de configuraţia fizică a solului, chimia solului şi proprietăţile celulelor microbiene, fiind dependente de fluctuaţia macroporilor şi de interacţiunea particulelor. Modificările din sol afectează interacţiunea dintre celulele bacteriene şi sol în mai multe moduri:

- creşterea filtrării,
- modificarea cineticii interacţiunilor fizico-chimice între suprafeţele încărcate şi
- modificarea competiţiei pe situsurile de fixare între componentele solubile şi pulberi.

Cercetările realizate asupra apelor din fântâni au arătat că procentul fântânilor contaminate cu bacterii fecaloide este sporit

în fermele unde dejecţiile sunt împrăştiate pe terenuri, decât în fermele unde se utilizează fertilizanţi minerali, demonstrând că dejecţiile reprezintă o sursă remarcabilă pentru contaminarea apelor din fântâni cu nitraţi şi bacterii.

E.coli şi *Enterococcus spp.* provenite din dejecţii pot supravieţui pe sol chiar şi 40 - 68 de zile după aplicare. Rata de supravieţuire depinde de sursă, specia microbiană şi de metoda de aplicare a dejecţiilor.

La nivelul depozitelor de dejecţii solide se percep diferite temperaturi datorate digestiei materiei organice (aerobă la periferie tinzând spre anaerobă spre centru).

Microorganismele au rate de supravieţuire în aceste zone, cele din apropierea periferiei au şanse mai mari să supravieţuiască şi să formeze surse de contaminare (66).

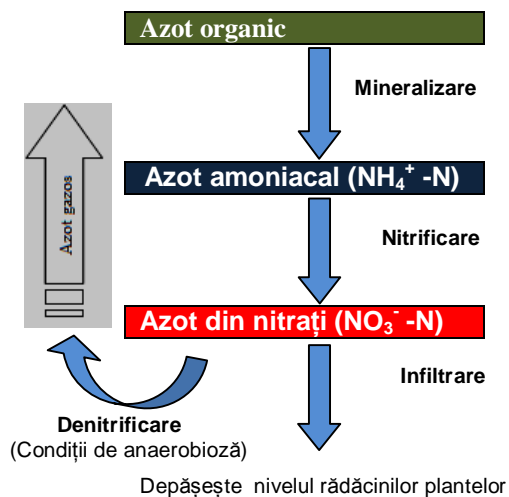
Poluarea cu azotaţi şi azotiţi asupra homeostaziei mediului

În dejecţii o parte din azotul existent se regăseşte în moleculele proteice complexe ale furajului digerat. Azotul amoniacal este forma cea mai accesibilă pentru plante după convertirea acestuia în nitrat de către bacteriile din sol. Pentru managementul azotului este necesară cunoaşterea cantităţii de azot amoniacal din azotul total.

Pentru a nu se înregistra pierderea azotului amoniacal prin volatilizare se impune încorporarea dejecţiilor şi nu aplicarea lor pe suprafaţa terenurilor fără încorporare. Factorii care influenţează gradul de volatilizare sunt:

- temperatura atmosferică şi a solului,
- umiditatea atmosferică şi
- curenţii de aer în momentul aplicării,
- modul şi perioada de aplicare
- corelată cu perioada optimă de preluare a azotului de către plante (65).

Temperatura este un factor important, deoarece cu cât este mai cald solul cu atât mai repede va contribui la transformarea azotului amoniacal în nitrat (19).



Schema 1. Transformarea azotului în sol (19).

Aplicarea dejecțiilor pe sol evidențiază creșterea cantității de azot, perturbând echilibrul nitrogenului din sol. Efectele utilizării dejecțiilor de suine ca fertilizanți sunt importante pentru investigarea oxidării azotului amoniacal în sol (8, 16).

Deși în sol se găsesc trei forme de azot, plantele pot utiliza doar două:

- amoniacul și
- nitratul.

Plantele pot utiliza azotul organic după intervenția microorganismelor din sol. Când se aplică dejecții lichide pe sol, cele două forme de azot străbat solul la joasă adâncime fiind urmate de transformarea azotului amoniacal în nitrat.

Concentrațiile crescute de nitrați au efecte distructive în apele de adâncime fiind în interdependență cu perioada ploioasă.

Acesta tinde să dobândească concentrații crescute în zonele secetoase datorită faptului că efectul de diluare este redus. Excesul de nitrat din apă, poate accelera creșterea algelor și a plantelor în lacuri și cursuri de apă, ducând la epuizarea sursei de oxigen.

Concentrațiile de nitrați din apele de băut pot afecta animalele tinere sau copiii mici. Creșterea nitraților din apa de băut cauzează methemoglobinemie, sau sindromul copilului albastru (blue baby syndrome), apărând la copii cu vârste sub șase luni (28).

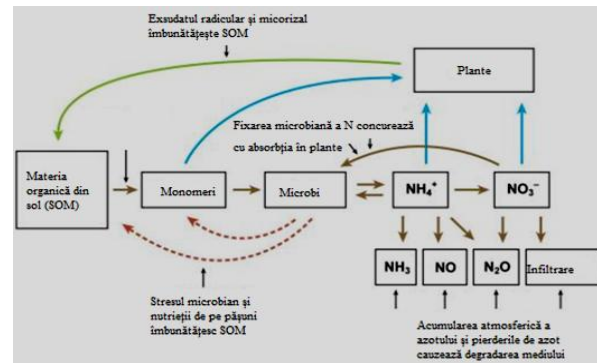


Figura 3. Reacțiile azotului în sol (27, 57).

Spalding și Exner (1993) evidențiază faptul că un consum de apă contaminată cu nitrați poate fi corelată cu hipertensiunea arterială, defecte congenitale, forme tumorale și mortale infantile (61).

Afecțiunile pluriorganice ale azotaților încep iritant și apoi congestiv asupra mucoasei tubului digestiv cu manifestări gastro-intestinale diareice. Efectul iritant la nivel renal se manifestă prin poliurie și hematurie. Prin reducerea capacității de fixare a oxigenului, diminuarea respirației tisulare și a fosforilării oxidative, apare hipoxia și apoi anoxia conturându-se efectul methemoglobinizant.

Tulburările organice fizice și funcționale ale acțiunii azotaților sunt reprezentate prin insuficiență respiratorie severă, tahicardie, mucoase aparente cenușii - brun - gălbui, sânge colorat roșu - ciocolatiu.

Sistemul nervos este sever afectat prin paralizia centrilor vasomotori, producând vasodilatația vaselor de calibr mic, alături de hipotensiune și colaps.

Forma **acută și supraacută** evoluează cu semne de asfixie.

Forma **cronică** se manifestă, datorită efectului methemoglobinizant limitat, cu simptomatologie mai ștearsă: hipotiroidism, reducerea depozitelor de vitamina A, exprimat prin reducerea ritmului de creștere și a producției de lapte.

Afectarea **aparaturii reproducător** este de un real interes, putând genera pagube economice evidențiindu-se manifestări de genul: montelor repetate, endometrite dificil de tratat, avorturi. Leziunile pluriorganice

încep inițial printr-o congestie fiind urmate de degenerescență în ficat, rinichi, creier, pulmon, cord, testicule (65).

Plantele furajere pot avea un conținut de nitrați dependent de factori dependenți de plantă (specia, partea din plantă și stadiul de maturitate), modul de recoltare și conservare, măsurile și condițiile pedo-climatice.

Cu toate că nitrații se acumulează în special în părțile subterane ale plantei, există și o predispoziție de specie pentru acumularea azotaților: sfecla, orzul verde, ovăzul verde, porumbul, secara, sorgul, meiul, lucerna, soia, grâul. De asemenea, putem întâlni cantități crescute de azotați în partea inferioară a tulpinii.

În funcție de stadiul de dezvoltare, putem aprecia că cantitatea de azotați este crescută în plantele tinere, se reduce adesea la cele aflate la maturitate și crește doar dacă condițiile pedo-climatice sunt favorabile acumulării.

Umiditatea reprezintă un factor esențial datorită faptului că după ploaie crește cantitatea de azotați din plante.

Datorită dezvoltării bacteriilor reducătoare crește nivelul nitraților mai ales prin tocarea și păstrarea în grămezi a furajelor verzi. O manoperă eficientă de reducere a nivelului de nitrați cu până la 40-60% este însilozarea.

Consecințele azotaților și azotiților se văd mai ales la animalele tinere datorită acțiunii oxidante a acestora asupra hemoglobinei fetale.

Modul de hrănire al animalelor influențează toxicitatea, mai ales furajele amestecate care prezintă un risc scăzut comparativ cu furajarea nedirijată a animalelor.

Amestecarea furajelor uniformizează cantitatea de nitrați ingerați pe 24 ore.

Utilizarea concentratelor în rație conferă un aport energetic care reduce efectul toxic al azotaților. O acumulare a azotaților poate să apară datorită carenței în microelemente

implicate în conversia azotaților în amoniac (65).

Deng (2006) a evidențiat faptul că după utilizarea amoniacului anhidru, a crescut cantitatea de nitrați în timp ce s-au redus activitățile chimice și microbiologice (15).

Dejecțiile sporesc cantitatea de nitrați (20, 42), activitatea enzimatică (47) și microbiană (46, 51).

Metabolismul microbial este redus datorită privării de hrană, temperaturilor joase și disponibilitatea scăzută a nivelurilor de apă.

Chiar și unele modificări neînsemnate ale mediului pot duce la reactivarea și accelerarea multiplicării celulelor bacteriene (66).

Microorganismele din sol, cum sunt protozoarele, nematodele și *Bdellovibrio bacterium* distrug bacteriile din sol și implicit pe cele introduse o dată cu dejecțiile (25).

Un exces de produse care conțin azot duce la eliberarea unui potențial poluant în aer, ceea ce are consecințe prin deversarea nitraților în apă, devenind un factor de risc major pentru public și sănătatea animalelor.

Cromwell subliniază faptul că azotul este prezent în dejecțiile de porc datorită neutilizării proteinei digestibile sau prin pierderea proteinelor din organism.

Există mai multe metode de reducere a excreției de azot prin reducerea nivelurilor de proteine ingerate cu furajele deoarece excesul de aminoacizi din proteină vor fi transformați în uree și apoi excretați (11).

Sursele de proteină greu digerabile din furaje duc la o excreție masivă de azot.

Prin menținerea temperaturii ambientale din adăposturi în zona de confort a suinelor și prin controlul bolilor se poate îmbunătăți eficiența furajării și totodată reducerea excreției azotului (11).

Datorită utilizării intensive a dejecțiilor în procesul de fertilizare a solului este posibilă apariția unor cantități sporite de azot rezidual, sub diferite forme, deversarea nitraților în apă sau a emisiilor de amoniac (15, 71, 72).

Tabelul 1.

Azotul disponibil în sol corelat cu perioada aplicării și numărul de zile până la încorporarea în sol (65)

Azot disponibil %		Momentul aplicării (luna)	Zile până la încorporare
NH ₄	Organic		
50	33	11-02	<5
25	33	11-02	>5
50	33	03-04	<3
25	33	03-04	>3
75	33	05-06	<1
25	33	05-06	>1
75	15	07-08	<1
25	15	07-08	>1
25	33	09-10	<1
15	33	09-10	>1

Activitatea enzimatică și procesele de biotransformare din sol sunt asociate frecvent cu pH-ul din mediu. Procesul biochimic al mineralizării azotului organic include diferite enzime ca L-asparaginaza, L-glutaminaza, amidaza și ureaza (15, 64).

Tratamentele cu efluent suin nu perturbă semnificativ activitatea L-asparaginazei și a L-glutaminazei dar reduce activitatea ureazei și amidazei (15).

Activitățile biochimice și microbiologice care se referă la ciclul azotului din agrosistemele semiaride depind de tratamentele realizate asupra terenurilor, cât și a eficienței utilizării carbonului.

Conținutul în carbon al dejecțiilor poate fi corelat cu conținutul de substanță uscată al acestora. Niveluri crescute de amoniu combinate cu un nivel redus de carbon în dejecțiile lichide se reflectă în mediu prin abundența azotului (66). Agro-ecosistemele susțin producția agricolă conservând în același timp calitatea mediului (15).

Trif (2009) evidențiază elementele necesare prevenirii poluării triadei *om-animal-mediul*:

- utilizarea standardizată a îngrășămintelor azotate; determinarea periodică a conținutului din furaje înainte de introducerea în consum, cât și a celui din apa potabilă;
- administrarea componentelor cu conținut ridicat de azotați sub forma concentratelor
- însilozarea să se facă abia după terminarea fermentării; furajele cu conținut ridicat de azotați-azotiți se vor introduce

treptat în rație, echilibrarea proteino-vitamino-minerală a rațiilor;

- administrarea tratamentului înainte și după absorbție: cărbune medicinal, purgative saline, albastru de metilen, vitamina C, adrenalină, cofeină, glucoză dependent de simptomatologia apărută (72).

Rolul metalelor grele în poluarea mediului

Metalele toxice pot fi prezente în apele reziduale din fermele de suine, putând avea un impact negativ asupra mediului.

Steinmetz (2009) a observat că în dejecțiile suinelor concentrația metalelor variază în timp dependent de modificările în producția acestora, ținând cont de alimentația și numărul animalelor (62).

Aceste metale provin în mare parte din furaje datorită numărului mare de săruri anorganice adăugate în rație, nu doar ca nutrienți esențiali, ci și ca suplimente pentru îmbunătățirea stării de sănătate ci și pentru eficientizarea conversiei hranei.

O mare parte din metalele ingerate de suine este excretată prin urină și fecale și în consecință, concentrația metalelor prezente în dejecții este dependentă în primul rând de constituția din rație. Un procent de 90% din Cu administrat în rație se regăsește excretat în fecale (33).

Între cantitatea de cupru și zinc din rație și cea din dejecții există o relație directă de proporționalitate prin faptul că o doză crescută în rație semnifică o prezență crescută în dejecții (41, 69).

Arsenul, cadmiul, cromul și fierul sunt administrate ca markeri metabolici pentru creșterea în greutate a animalelor, deși peste anumite concentrații sunt toxice putând avea impact negativ asupra populațiilor microbiene din mediile acvatice (5). Utilizarea dejecțiilor sporește disponibilitatea substratului de carbon și a nutrienților minerali, cum sunt ionii de amoniu, fosfat, potasiu, sodiu, magneziu, calciu, metale ca zincul și cuprul, modificând rata de supraviețuire a bacteriilor

și totodată stimulând activitatea biologică a solului (66).

Caracterul poluant al dejecțiilor

Pentru managementul dejecțiilor este necesară existența anuală, pentru fiecare fermă a unui plan de fertilizare, pe baza unor studii agrochimice, structurii culturilor, numărului de animale, modului de stocare, tehnicilor de prelucrare și a modalității de dispersare a gunoiului. Nu se indică aplicarea dejecțiilor pe sol în perioada 1 septembrie - 1 februarie pe fânețe sau terenuri cultivate în culturi de toamnă și între 1 august- 1 februarie pe altfel de terenuri.

În stabilirea capacității de depozitare a unei ferme se va avea în vedere un procent de 6% din greutatea vie a animalului ca fiind cantitatea de dejecții ce rezultă pe zi de la un porc, indiferent de categorie. Capacitatea de stocare a bazinelor sau lagunelor trebuie să fie de 2,5 mai mare decât volumul de dejecții eliminat. Această capacitate fiind necesară pentru a depăși cele șase luni de stocare obligatorie, cât și pentru a menține dejecțiile în condiții optime, ținând cont de faptul că datorită proceselor fermentative volumul dejecțiilor crește pe perioada depozitării. Un exces de azotați în sol apare datorită: aplicării masive de îngrășăminte chimice azotate sau îngrășăminte organice; temperaturii ridicate care favorizează nitrificarea sub acțiunea bacteriilor din sol și a carenței solului în molibden (30, 65).

Obiectivele existente în aplicarea dejecțiilor pe suprafața solului sunt reprezentate de: asigurarea utilizării maxime a nutrienților de către vegetație și minimalizarea hazardului de poluare a apei.

Factorii care limitează cantitatea de dejecții care trebuie aplicate pe terenurile agricole sunt: capacitatea fertilă a solului, conținutul în nutrienți al dejecțiilor, necesarul de nutrienți al culturilor, spațiul limitat, panta de înclinare, potențialul de spălare și potențialul de levigare. Factorii dependenți de management care pot împiedica

pătrunderea dejecțiilor în cursurile de apă sunt:

- construirea unei bande tampon de-alungul cursului de apă în dreptul porțiunii unde potențialul de scurgere a dejecțiilor în cursul de apă este ridicat, putând reduce cantitatea de dejecții care ajunge în cursul de apă;
- starea suprafeței solului este importantă în cazul solului cu suprafață denivelată sau acoperită reducând gradul de scurgere a dejecțiilor în cursul de apă comparativ cu solul cu suprafață netedă sau neacoperit;
- caracteristicile dejecțiilor, rata de aplicare, metoda de aplicare influențează dejecțiile lichide aplicate în cantități mai mari decât rata de infiltrare în sol sau capacitatea de reținere a apei de către sol, putând favoriza scurgerea dejecțiilor;
- statusul nutrienților solului înainte de aplicarea dejecțiilor implică existența unei cantități crescute de nutrienți favorizând pierderile de nutrienți, după aplicarea dejecțiilor în mai mare măsură decât atunci când cantitățile sunt mai mici;
- drenajul de la suprafață sau subteran se referă la instalațiile de drenaj în stare de funcționare care pot reduce potențialul de scurgere sau deversare directă a dejecțiilor aplicate pe terenurile agricole.

Factorii de risc ai poluării solului cu nitrați sunt:

- permeabilitatea solului pentru apă și capacitatea de reținere a apei;
- conținutul de nitrați în soluri și cantitățile preluate de plantele de cultură;
- metoda de irigare practică și cantitatea de apă utilizată pentru irigare.

Terenurile cu capacitate maximă de poluare cu nitrați cu soluri sunt cele cu textură grosieră și mijlociu grosieră care dispun de permeabilitate mare și capacitate mică de reținere a apei. Aceasta este mai mare în cazurile când nivelul pânzei freatice este situat la adâncime mică (circa doi metri), iar terenurile sunt cultivate periodic

aplicându-se doze mari de îngrășăminte azotate. Terenurile irigate în învelișul cărora predomină formațiunile cu textură mijlocie și fină și cu nivel al apei freatiche sub doi metri se caracterizează printr-un risc redus de disipare a nitraților în mediul ambiant.

Tabelul 2.

Măsurile organizatorice și agro-pedologice necesare pentru evitarea poluării apelor (44)

Măsuri organizatorice	Măsuri agro-pedologice
amenajarea antierozională a terenurilor și evitarea eroziunii irigaționale	adaptarea unei metode de irigare potrivită cu solul și topografia terenului, cu cantitatea și calitatea apei disponibile, cu exigențele culturii și condițiile climatice din zonă;
excluderea din agricultura irigabilă a terenurilor cu risc de eroziune și de solifluxiuni	evitarea compactării de suprafață și a celei de mică adâncime care poate cauza bătărea apei și formarea scurgerilor de suprafață;
evitarea fenomenului de supraîncărcare cu nitrați a solului cu risc de eroziune	evitarea formării în cadrul terenurilor irigate a benzilor puternic și moderat compactate care favorizează formarea scurgerilor de suprafață și hipodermice;
evitarea scurgerilor superficiale din cadrul terenurilor irigate și deplasarea materialului în ape;	excluderea proceselor de degradare fizică a solurilor și evitarea formării unor zone cu exces de apă, unde pot apărea scurgeri de suprafață;
alegerea tehnicii de irigare și a cantităților de apă aplicate în funcție de caracteristicile solului;	neadmiterea fenomenelor de fisurare adâncă a solurilor ducând la apariția căilor preferențiale de curgere a apei, la creșterea exagerată în primele etape a vitezei de infiltrație a apei și în consecință la pierderea apei din stratul activ de sol, afectând regimul hidrologic. În acest fel are loc levigarea nutrienților dar și a potențialilor poluanți în apele freatiche, contribuind indirect la poluarea apelor de mare adâncime și la modificarea regimurilor de nutriție;
aplicarea irigării cât mai uniform posibil pentru a evita formarea unor zone cu exces de apă, unde pot apărea scurgeri de suprafață; nivelarea terenurilor și asigurarea distribuției uniforme a apei pe suprafața solurilor evitând astfel scurgerile de suprafață;	pe soluri cu permeabilitate mare este contraindicată irigarea prin curgere gravitațională. Pe astfel de soluri se recomandă irigarea localizată prin picurare sau cu miniaspersoare;
momentul irigării să fie astfel ales încât cultura să sufere de un ușor deficit hidric, pentru că, într-o asemenea situație, apa aplicată se consumă foarte intens;	
stimularea formării unui sistem radicular foarte bine dezvoltat, capabil să exploreze un volum mai mare și să utilizeze mai intens apa și nutrienții;	

Stabilizarea și decontaminarea dejecțiilor

Deversarea apelor reziduale și a dejecțiilor în râuri și bazine piscicole poate determina intoxicația acestora sau slăbirea rezistenței peștilor și evoluția rapidă a hidropiziei infecțioase a crapului.

Avându-se în vedere aspectele de ordin epizootologic și epidemiologic, cât și cele referitoare la protecția mediului, este necesar ca în toate fermele zootehnice să se aplice anumite măsuri de tratare adecvată a dejecțiilor, diferențiat de specia de animale de la care provin și dependent de sistemul de colectare și de evacuare utilizat.

Stabilizarea dejecțiilor se poate realiza prin grăbirea proceselor de mineralizare, oprirea degradărilor sau prin inhibarea florei microbiene, pentru ca dejecțiile să poată fi introduse într-un ciclu biologic util din punct de vedere economic (14).

Stabilizarea nepoluantă a dejecțiilor la nivelul adăposturilor

Stabilizarea dejecțiilor semilichide prin fermentare aerobă reprezintă un procedeu utilizat în fermele care prezintă evacuarea hidraulică a dejecțiilor, prin canale acoperite cu grătare și care nu dispun de teren propriu suficient pentru amenajarea unei stații de epurare.

Gradul de aerare a dejecțiilor din canale este important deoarece condiționează viteza proceselor de oxido-reducere.

Aerarea bazală se aseamănă cu aerarea artificială a acvariilor utilizând o rețea de tuburi perforate amplasate la baza canalelor cu dejecții, prin care se introduce aer sub presiune. Bulele de aer andrenează și mențin dejecțiile într-o suspensie continuă și favorizează dezvoltarea bacteriilor aerobe.

Eficiența sistemului depinde de mărimea bulelor de aer și de grosimea stratului de dejecții, care influențează gradul de oxigenare al mediului. Sistemul necesită o supraveghere permanentă și nu poate fi aplicat în adăposturile cu capacitate mare.

Aerarea de suprafață constă în introducerea forțată a aerului în straturile de dejecții sau proiectarea în apă a apei uzate. Aeratorul cu sucțiune și aeratorul turbo-mixer determină o bună aerare și o circulație continuă a dejecțiilor semilichide în canale.

Aeratorul se compune dintr-o elice propulsoare fixată la capătul unui tub și montată direct la un motor electric. Aerul este aspirat prin tub și transmis sub formă de jet în masa lichidului, prin acțiunea elicei, sub un anumit unghi.

Un singur aerator poate fi suficient pentru un adăpost cu 180 de scroafe gestante, 60 de scroafe cu purcei, 360 de purcei înțărcați sau 180 de porci la îngrășat. Pentru folosirea acestui sistem de aerare este necesară cuplarea canalelor, două câte două, prin canale semicirculare de comunicare la capete, astfel încât să se obțină unu sau două circuite complete.

Îndepărtarea reziduurilor stabilizate se poate face prin sifoane de evacuare sau trape pentru preaplin amplasate la extremitatea canalelor.

Reziduurile deversate se colectează în bazine situate în afara adăposturilor, unde are loc sedimentarea rapidă și separarea fazei lichide de cea solidă.

Faza solidă putând fi dirijată spre paturile de uscare, iar o parte de 35% se poate reintroduce în canalele de aerare, pentru reînsămânțarea acestora cu microorganisme aerobe.

Faza lichidă poate fi trimisă într-o lagună exterioară fermei sau într-un iaz biologic, unde continuă procesele de autopurificare naturală. Din acestea apa epurată se deversează fără riscuri într-un emisar sau se utilizează pentru fertilizare, pentru spălarea periodică a canalelor și la nevoie pentru completarea apei evaporate din canale, astfel încât să se mențină în canale un raport constant între apă și substanța uscată.

Din punct de vedere economic, stabilizarea reziduurilor în canale este avantajoasă, printr-o bună aerare se realizează transformarea materiilor organice

din dejecții în proteină microbiană, prin dezvoltarea unor culturi mixte de bacterii, actinomicete, ciuperci și protozoare (până la 200.000 protozoare/ml). Astfel se asigură conservarea unei părți importante din azotul din dejecții, care s-ar putea pierde sub formă de amoniac, în cazul fermentării anaerobe (14).

Metode de epurare a apelor uzate

Epurarea primară (mecanică)

Realizează separarea unor poluanți, având la bază procese fizice de separare: *sedimentarea* (decantarea naturală). Astfel are loc reținerea corpurilor plutitoare cât și a sedimentelor decantabile. Sedimentarea naturală permite decantarea particulelor cu diametre mai mari de 0.1 mm, iar utilajele folosite sunt, în ordinea parcursului urmat de apă de la intrarea în stație, grătare, site, desnisipatoare și decantoare primare.

Grătarele și sitele îndepărtează materialele grosiere cu dimensiuni mai mari de 1 mm, la o viteză a apei de 0,3-1 m/s.

Prin decantare gravitațională în desnisipatoare, la o viteză de circulație a apei de 0,3-0,4 m/s, se sedimentează particulele cu diametrul peste 0,1 mm, pe parcursul a 2-3 minute. În decantoarele primare se dăruie restul de suspensii decantabile și o parte din substanțele aflate în stare coloidală, apa fiind reținută 2-3 ore.

Epurarea mecano-chimică îndepărtează poluanții aflați sub formă de sedimente nedecantabile, rămași în suspensie nedecantați. Astfel poluanții sunt transformați în alte substanțe, mai ușor de separat, cu nocivitate scăzută sau susceptibile de a fi îndepărtate prin alte procese de epurare.

Cele mai frecvente procese sunt:

- **neutralizarea,**
- **oxido-reducerea,**
- **precipitarea,**
- **coagularea (flocularea) și**
- **schimbul ionic.**

Separarea sedimentelor nedecantabile prin procese chimice presupune tratarea apei

cu coagulanți (sulfat de aluminiu, clorură ferică, substanțe chimice macromoleculare). Flocoanele rezultate au o greutate specifică mai mare și vor sedimenta mai repede în decantor.

Epurarea mecano-biologică elimină poluanții organici biodegradabili.

Substanțele organice pot fi îndepărtate din apă de către microorganisme, care le utilizează drept hrană, respectiv sursă de carbon. Cea mai uzuală variantă de epurare în care microorganismele sunt suspendate în apă sub formă de flocoane este procesul cu nămol activ. Apa uzată este introdusă într-un bazin de aerare care conține o suspensie de flocoane biologice în care se administrează oxigenul necesar respirației. În afară de bacterii, în aceste bazine se înmulțesc algele care, în urma fotosintezei eliberează oxigen și valorifică azotul din apă, contribuind la epurarea apei (54).

Metode clasice de depoluare a solului

Decontaminarea prin biodegradare se bazează pe acțiunea microorganismelor existente (bacterii, ciuperci) de a descompune poluanții organici care conțin carbon, fiind recomandată pentru solurile cu conținut ridicat de poluanți organici: fenoli, hidrocarburi policiclice aromatice.

Biodegradarea în vrac are ca principiu de funcționare decontaminarea solului prin compostare, realizându-se excavarea solului poluat și dispunerea acestuia în vecinătatea locului de excavare cu scopul inițierii și desfășurării procesului de biodegradare aerobă naturală.

Biolixivierea (leșierea bacteriană) constă în extracția prin biosolubilizare a elementelor metalice din solul poluat. Astfel se separă poluanții de mediul contaminat fără distrugerea lor.

Bioacumularea

Realizează decontaminarea solurilor poluate cu metale grele.

Bioacumularea pasivă are loc prin fixarea elementelor poluante la suprafața anumitor microorganisme sau plante.

Bioacumularea activă constă în asimilarea poluanților de către celulele microorganismelor și plantelor. Se consideră bioacumulare activă procesul în urma căruia concentrația poluanților din interiorul celulelor vii este mai mare decât cea din exterior (54).

Studiul poluării apelor

1. Recoltarea și analiza primară a probelor de apă

Probele de apă s-au recoltat în recipiente speciale din material plastic, alb opac, și au fost depozitate în frigider la temperatura de 4°C până la momentul realizării determinărilor.

Probele utilizate în testare au provenit din ape curgătoare preluate din localități diferite: **Pădureni, Parța, Voiteni, Peci Nou, Ciacova, Chevereșu Mare.**

Recoltarea probelor s-a făcut cu înregistrarea coordonatelor GPS, a orei recoltării probei, temperaturii apei în momentul recoltării, temperaturii ambientale, presiunii atmosferice, a stării vremii, umidității relative, a conductivității, salinității, pH-ului și oxigenului dizolvat (Tabelul 1, figurile 1-5). Stabilirea locațiilor de recoltare a probelor s-a făcut dependent de regiunile învecinate fermelor de suine în scopul determinării unei eventuale poluării (fig. 6).



Figura 1. Aparat pentru detectarea temperaturii și oxigenului dizolvat model YSI 55

Oxigenometrul YSI55 - măsoară în condiții de teren oxigenul dizolvat cu posibilitatea selectării procentuale sau în mg/L utilizând un senzor polarografic static cu o sensibilitate între 0-20 mg/L (0-200% saturația aerului), acuratețe ±0,3 mg/L (±2% saturație).



Figura 2. Aparat pentru determinarea oxigenului dizolvat, model Elmetron CO-401

Oxigenmetrul Elmeron CO-401 are o sensibilitate cuprinsă- între 0-60 mg/L (0-600%) și o acuratețe de $\pm 0,1$ mg/L ($\pm 1\%$).



Figura 3. Aparat pentru detectarea conductivității, salinității și temperaturii, model Orion 115

Conductivimetrul Orion 115 are o sensibilitate între 0-1999 μ S și o acuratețe $\pm 0,5\%$ (pentru determinarea conductivității), o sensibilitate între 0-80% și o acuratețe de $\pm 0,5\%$ (pentru salinitate).



Figura 4. Tehnica de determinare a conductivității în condiții de teren

Conductivimetrul Orion 115 prezintă următorii parametri pentru determinarea temperaturii: sensibilitate între -5 și -105 $^{\circ}$ C, acuratețe relativă $\pm 1^{\circ}$ C și rezoluție 0,1 $^{\circ}$ C.



Figura 5. Ph-metru: pH/ EC/ TDS Waterproof Family utilizat în cadrul experimentului (Hanna Instruments)

Ph-metrul EC/ TDS Waterproof Family cu o acuratețe pentru temperatură de $\pm 0,5^{\circ}$ C și pentru pH de $\pm 0,01$.

Tabelul 1.

Parametrii fizici și electrochimici ai probelor de apă

Probe de apă	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
Coordonate GPS ale locației	Long. 45°62'75" Lat. 21°1'30"	Long. 45°40'0" Lat. 21°28'59"	Long. 45°45'6" Lat. 21°1'05"	Long. 45°45'6" Lat. 21°1'66"	Long. 45°46'66" Lat. 21°1'33"	Long. 45°51'65" Lat. 21°1'49"	Long. 45°46'66" Lat. 21°1'33"	Long. 45°45'6" Lat. 21°1'66"	Long. 45°51'65" Lat. 21°1'49"	Long. 45°45'6" Lat. 21°1'05"	Long. 45°62'75" Lat. 21°1'30"
Ora recoltării	10.30	9.20	10.58	11.15	11.35	12.05	12.10	12.35	13.02	13.40	14.15
Temperatura apei	8,2 $^{\circ}$ C	7,3 $^{\circ}$ C	7,1 $^{\circ}$ C	7,0 $^{\circ}$ C	6,4 $^{\circ}$ C	7,8 $^{\circ}$ C	9,7 $^{\circ}$ C	8,1 $^{\circ}$ C	9,4 $^{\circ}$ C	8,8 $^{\circ}$ C	6,9 $^{\circ}$ C
Temp. ambientală	3 $^{\circ}$ C	2 $^{\circ}$ C	3 $^{\circ}$ C	3 $^{\circ}$ C	3 $^{\circ}$ C	3 $^{\circ}$ C	7 $^{\circ}$ C	7 $^{\circ}$ C	8 $^{\circ}$ C	7 $^{\circ}$ C	7 $^{\circ}$ C
Pres. atmosferică	1048 hPa	1048 hPa	1048 hPa	1048 hPa	1048 hPa	1048 hPa	1012 hPa	1012 hPa	1012 hPa	1012 hPa	1012 hPa
Starea vremii	Ploaie ușoară	Ploaie ușoară	Ploaie ușoară	Ploaie ușoară	Ploaie ușoară	Ploaie ușoară	Cer înnorat	Cer înnorat	Cer înnorat	Cer înnorat	Cer înnorat
Umiditate relativă	98%	98%	98%	98%	98%	98%	63%	63%	63%	63%	63%
Conductivitate							466 μ S	538 μ S	737 μ S	509 μ S	109,2 μ S
Salinitate							0,2 ‰	0,3 ‰	0,4 ‰	0,2 ‰	0,1 ‰
pH	7,5	7,6	8,7	8,2	8,3	8	7,1	7,5	7,7	8,6	7,9
Oxigen dizolvat	4,9 mg/L	6 mg/L	4,4 mg/L	4,7 mg/L	5,9 mg/L	4,7 mg/L	7,34 mg/L	4,62 mg/L	3,45 mg/L	3,75 mg/L	1,66 mg/L

Legenda:

P1 = Parța; P2 = Chevereșu Mare; P3 = Peciu Nou; P4 = Pădureni; P5 = Voiteni; P6 = Ciacova; P7 = Voiteni; P8 = Pădureni; P9 = Ciacova; P10 = Peciu Nou; P11 = Parța



Figura 6. Stabilirea locațiilor de recoltare a probelor, dependent de regiunile învecinate fermelor de suine

2. Determinarea clorurilor din apă

S-a utilizat kitul de testare HI³⁸¹⁵ produs de Hanna Instruments.

2.1. Componentele kitului de testare

Materiale incluse în kit (fig. 7):

- indicator difenilcarbazonă, o sticlă cu picurător (15 ml)
- soluție de acid nitric, o sticlă cu picurător (30 ml)
- soluție de nitrat mercuric HI³⁸¹⁵⁻⁰, o sticlă (120 ml)
- două vase de calibrare (10 și 50 ml)
- seringă de calibrare cu vârș.



Figura 7. Kit de determinare a clorurilor HI³⁸¹⁵ (Hanna Instruments)

2.2. Utilitatea testării

Specificații: Metoda de analiză a fost de titrare a nitratului mercuric. Cantitatea de probă a fost cuprinsă între 5 ml și 50 ml.

Importanță: Ionii de clor constituie o majoritate a anionilor anorganici din ape și ape reziduale. Deși nu se cunoaște o toxicitate a concentrațiilor mari de cloruri asupra oamenilor, ajustarea concentrației depinde de gust.

Este esențială monitorizarea concentrației clorurilor în sistemele de fierbere pentru a preveni degradarea părților metalice. Un nivel prea crescut al clorurilor are efect coroziv asupra oțelului inoxidabil și poate fi toxic asupra plantelor.

2.3. Reacția chimică

Nivelul clorurilor în mg/L (ppm) s-a determinat prin titrarea nitratului mercuric. Valoarea pH-ului este adusă la 3 prin adăugarea de acid nitric. Ionii de mercur au reacționat cu ionii de clor pentru a forma clorura mercurică.

În prezența unui exces de ioni de mercur, aceștia au format un complex cu difenilcarbazona rezultând o soluție de culoare violet. Variația culorii s-a făcut de la galben la violet evidențiind momentul final al titrării.

2.4. Modul de lucru

S-au introdus 5 ml probă într-un vas de calibrare iar prin orificiul prezent la nivelul capacului vasului de calibrare s-au adăugat două picături indicator difenilcarbazonă, omogenizând prin mișcări circulare ale vasului. Soluția obținută a avut o culoare roșie-violetă. S-a adăugat apoi soluție de acid nitric, agitând continuu vasul, până la obținerea culorii galben (9, 10).

S-a preluat cu seringă de titrare o cantitate de soluție de nitrat mercuric HI^{3815-0} până la atingerea gradației de 0 ml de pe corpul seringii apoi s-a adăugat soluția de

titrare prin orificiul capacului vasului de calibrare, agitând pentru omogenizare după fiecare picătură.

Manopera s-a continuat până la virarea culorii de la galben la violet (fig. 8). S-a citit gradația în mililitri a soluției de titrare pe scala seringii și s-a înmulțit cu 1000 pentru a obține valoarea clorurilor în mg/L (ppm).

2.5. Rezultate și discuții

Rezultate obținute sunt prezentate în tabelul 2. Din datele prezentate se observă că în urma repetării determinărilor, în condiții meteorologice diferite (umezeală 100%, respectiv vreme înnorată dar fără precipitații), valorile clorurilor din apă diferă semnificativ, astfel că în patru din cinci locații se înregistrează creșteri ale clorurilor iar într-o singură locație valorile sunt mai reduse la a doua determinare (Graficul 1).

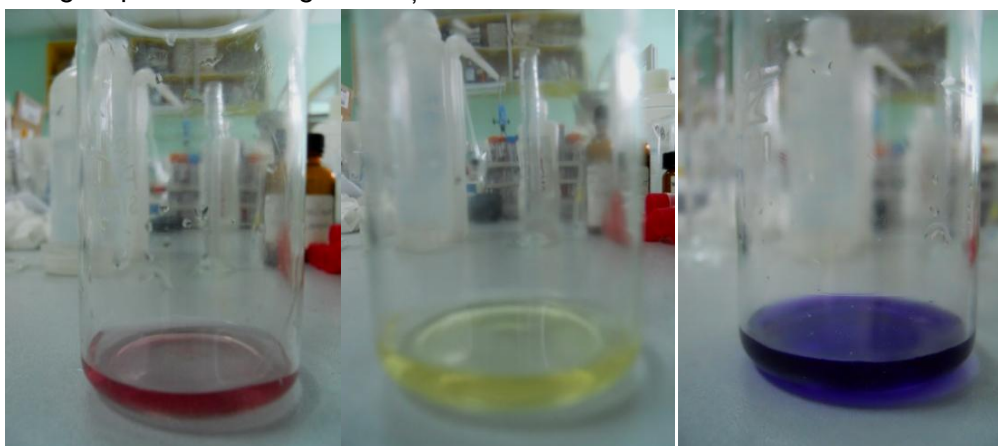


Figura 8. Virajul culorilor în timpul testării

Tabelul 2.
Valoarea clorurilor din apele de test

Probe de apă	Nivelul de cloruri determinat în urma testării (ppm)
P1 (Parța)	38
P2 (Șurgani)	30
P3 (Peciu Nou)	21
P4 (Pădureni)	31
P5 (Voiteni)	65
P6 (Ciacova)	12
P7 (Voiteni)	50
P8 (Pădureni)	100
P9 (Ciacova)	120
P10 (Peciu Nou)	130
P11 (Parța)	150

Valoarea maximă s-a înregistrat la Parța (150 ppm) iar minimum de cloruri la Ciacova (12 ppm). Toate rezultatele privind clorurile din probele de apă se încadrează în limita maximă admisă conform legislației în vigoare (250 ppm, reprezentând limita de cloruri în concordanță cu **Legea nr. 458 din 8 Iulie 2002 privind calitatea apei potabile completată cu Legea nr. 311/2004**)(82).

Pentru determinarea oxigenului dizolvat, în condiții de laborator s-a utilizat kitul HI^{3810} produs de Hanna Instruments (figurile 9-10).



Figura 9. Kit de determinare a oxigenului dizolvat HI3810 (Hanna Instruments)

Tabelul 3.
Parametrii de calitate în bazinele piscicole pe durata a mai multe luni consecutive

Elemente / Luni de testare	Ian.	Feb.	Mar.	Apr.
Compuși organici totali (mg/L)	35,1	35,5	47,2	108,7
Turbiditate	0,496	1,63	0,509	0,77
Oxigen dizolvat (mg/L)	11,1	11,7	11,3	8,7
Temperatura (°C)	9,4	10,7	12,7	20
pH	7,15	7,13	7,2	6,62

Graficul 1.

Cantitatea de cloruri în funcție de locul de prelevare a probelor

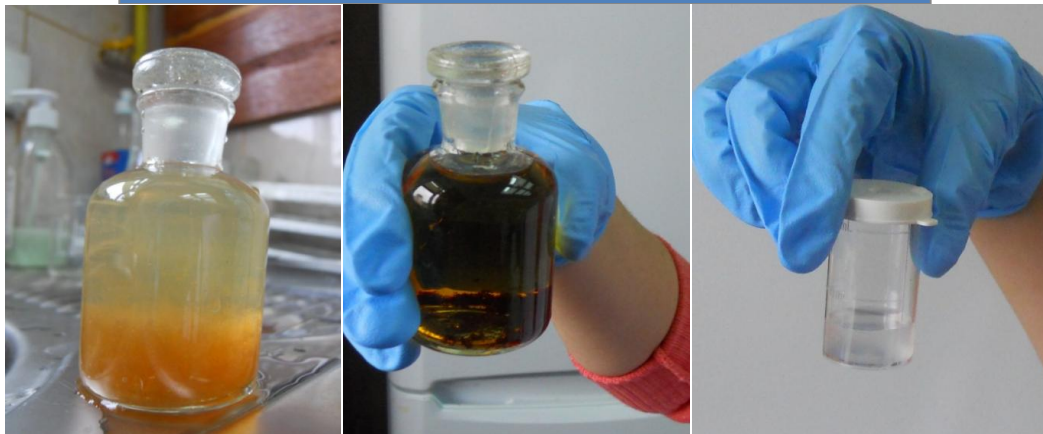
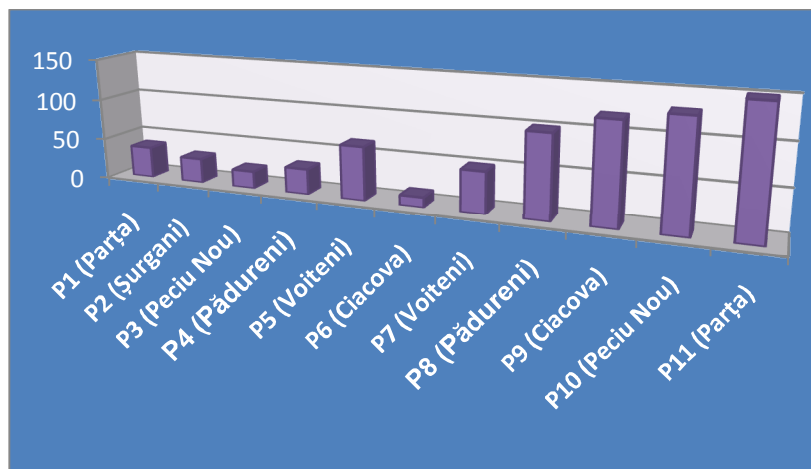


Figura 10. Etapele testării oxigenului dizolvat din probe



Figura 11. Aparat Lange SC1000 pentru înregistrarea parametrilor din bazinele piscicole

Înregistrarea parametrilor de calitate a probelor din bazinele piscicole se face zilnic, cu stocarea datelor în eventualitatea utilizării acestora și pentru detectarea unor defecțiuni care poate afecta bunăstarea peștilor din bazine (Tabelul 3, fig. 11).

Conform **Organizației Mondiale a Sănătății** (1996) valorile obținute în Marea Britanie între anii 1974-1981 pentru clorurile

din ape au fost de 14-42 ppm iar în zonele nepoluante cu valori între 1-10 ppm (77).

Conform Agenției de Protecția Mediului SUA valoarea maximă a clorurilor din ape este de 250 ppm. (78).

2.6. Concluzii

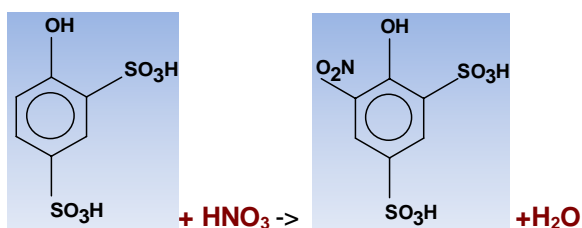
- Prelevarea probelor în condiții meteorologice diferite a avut impact asupra cantității de cloruri prin creșterea valorii acestora în patru locații de recoltare.
- Valoarea maximă a clorurilor s-a înregistrat la Parța și a fost de 150 ppm. Cantitatea minimă de cloruri s-a detectat în comuna Ciacova, cu o valoare de 12 ppm.
- Cantitatea de cloruri prezentă în apele testate s-a încadrat în limitele maxime admise de legislația în vigoare.

3. Determinarea nitraților din apă

3.1. Principiul metodei

S-a utilizat o metodă spectrofotometrică bazată pe proprietatea nitraților de a reacționa cu acidul fenol-2,4-disulfonic cu formare de nitroderivați de culoare galbenă, a cărei intensitate este proporțională cu concentrația nitraților din probă (38).

Formula chimică:



3.2. Reactivii

- acid fenol-disulfonic: s-a preparat din 1,2 g fenol cristalizat dizolvat în 14,4 g H₂SO₄ concentrat (7,8 ml);
- amoniac, soluție 25%;
- sulfat de aluminiu, soluție 10%;
- soluție etalon pentru azotați: s-au cântărit 0,1631 g azotat de potasiu care s-au adus

cantitativ într-un flacon cotat de 100 ml (figurile 12-13).

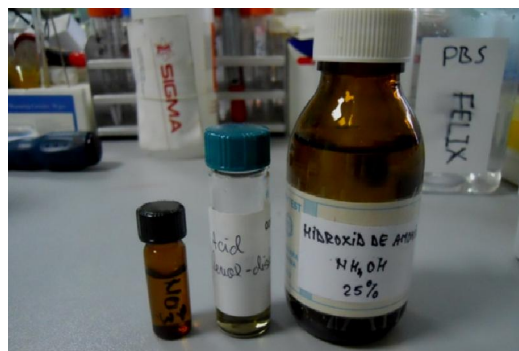


Figura 12. Reactivi utilizați în determinare



Figura 13. Balanțe analitice utilizate pentru cântărirea reactivilor

3.3. Modul de lucru

- 1 ml H₂O (probă) se evaporă la sec (figurile 14-15).
- 0,1 ml acid disulfonic
- repaus 15 min
- adăugare 0,2 ml apă bidistilată
- adăugare 1 ml hidroxid de amoniu NH₄OH 25%
- citire 410 nm (figurile 14-19).



Figura 14. Evaporarea probelor în creuzete până la sec



Figura 15. Dispozitiv utilizat pentru evaporare, setat la 95°C



Figura 16- (ansamblu)



Figura 17. (detaliu panel). Spectrofotometru Benchmark utilizat pentru citirea probelor

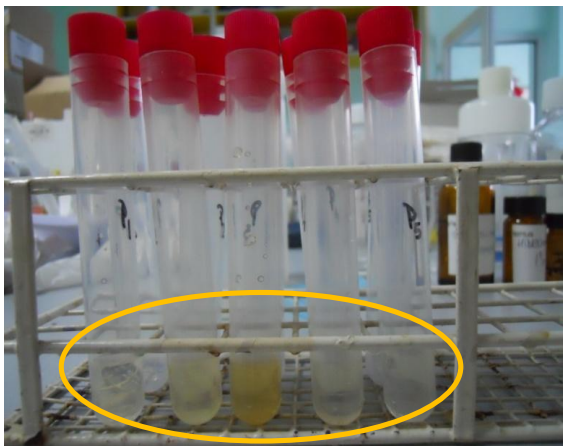


Figura 18. Variația culorii galben în funcție de concentrația nitraților din probe

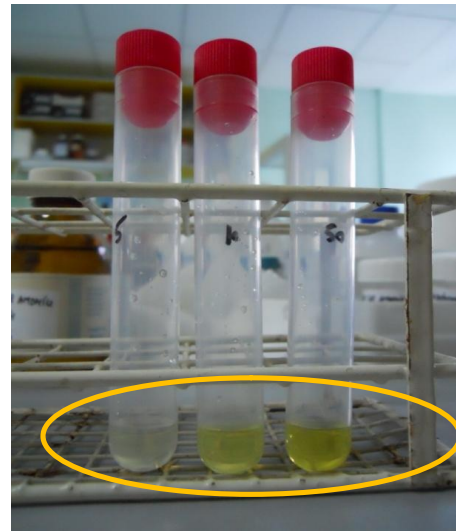


Figura 19. Standarde de nitrați (5-10-50)

3.4. Rezultate și discuții

În vederea realizării curbei de etalonare s-au ales trei standarde, a căror absorbanțe au fost citite la spectrofotometru împreună cu probele iar rezultatele redată în tabelul următor (Tabelele 4-5, Graficul 2).

Citirea absorbanțelor s-a realizat pentru fiecare probă / standard în dublu (Graficele 3-4)

Tabelul 4.

Absorbanțele înregistrate la spectrofotometru

Standarde	Std (P1-P6)	Std (P1-P6)	Std (P7-P11)	Std (P7-P11)
5	0,160	0,166	0,136	0,137
10	0,265	0,270	0,854	0,799
50	1,879	1,961	2,257	2,109
P 1	0,363	0,371		
P 2	0,066	0,066		
P 3	0,221	0,222		
P 4	0,029	0,030		
P 5	0,023	0,026		
P 6	0,145	0,142		
P 7			0,246	0,257
P 8			0,043	0,043
P 9			0,078	0,083
P 10			0,035	0,036
P 11			0,166	0,170

Calculul rezultatelor

Concentrația azotaților din proba analizată s-a calculat conform formulei:

$$\text{NO}_3^- = \text{mg/dm}^3 = (\text{C}_x \times \text{V}) / \text{V}_p \quad (\text{formula 1})$$

Unde:

C_x = conținutul de azotați din proba fotometrată în $\mu\text{g/ml}$

V = volumul balonului cotaț în ml

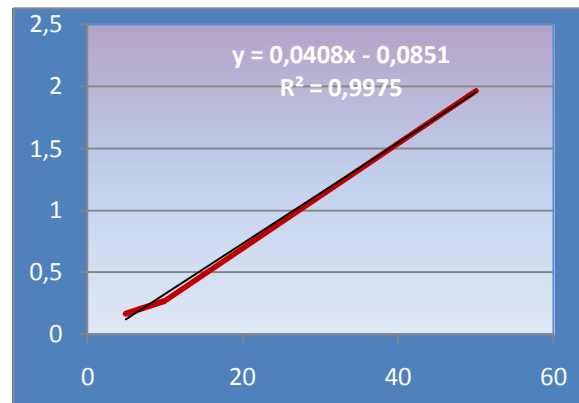
V_p = volumul de apă luată în analiză, în ml

Tabelul 5.
Azotații din probele de testare

Probe	Cantitatea de nitrați din probă (mg/dm ³)	
P1	1,582	0,36
P2	1,872	1,872
P3	1,72	1,72
P4	1,907	1,907
P5	1,915	1,91
P6	1,795	1,797
P7	4,275	4,175
P8	4,075	3,975
P9	4,1	4
P10	4,05	3,95
P11	4,2	4,1

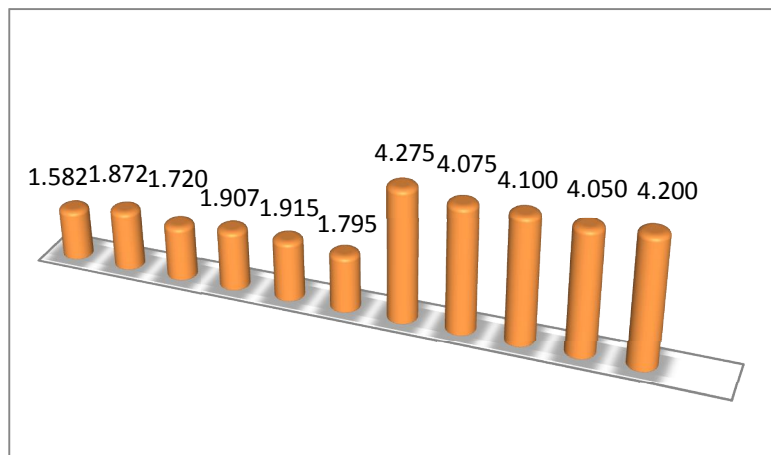
Cu ajutorul programului Excel 2007 s-a trasat curba de etalonare, s-a calculat ecuația dreptei (y) și coeficientul de corelare (R²).

Graficul 3.
Curba de etalonare pentru standardele P1-P6

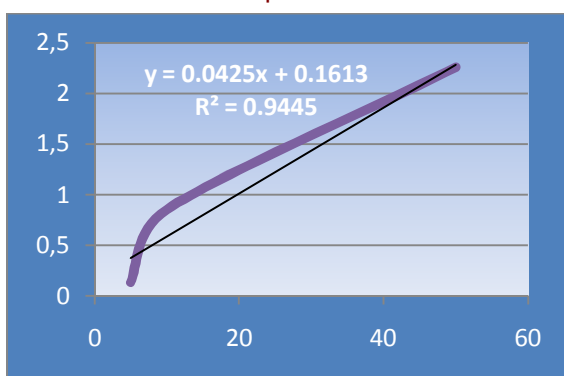


Graficul 2.

Reprezentarea grafică a nitraților din testare



Graficul 4.
Curba de etalonare pentru standardele P7-P11



Conform limitelor legislației în vigoare cantitatea de nitrați se dorește a fi până în 50 mg/L (ppm) (Legea nr. 458 din 8 Iulie 2002 privind calitatea apei potabile completată cu Legea nr. 311/2004) (82).

Conform Agenției de Protecția Mediului US (1995) limita pentru nitrați în apă este de 10 ppm (85).

Cercetătorii de la Centrul de Științe Integrate (2003) au realizat testări ale apelor din jurul unei ferme de porci din Ithaca, NY, obținând o valoare a nitraților cuprinsă între 100-150 ppm care depășește cu mult valoarea admisă de legislație (86).

Schulz (2013) a testat nitrații din ape obținând valori cuprinse între 0,02 – 300 ppm (57).

3.5. Concluzii

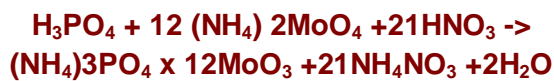
- Nivelul maxim de nitrați s-a înregistrat pentru proba P7 prelevată din satul Voiteni cu o valoare de 4,275 ppm.

- Cantitatea de nitrați minimă s-a înregistrat pentru proba P1 de la Parța și a fost de 0,36 ppm.
- Cantitatea de nitrați prezentă în apele testate s-a încadrat în limitele maxime admise de legislația în vigoare.

4. Determinarea fosfaților din apă

4.1. Principiul metodei

Anionul fosfat reacționează cu molibdatul de amoniu, în mediu acid și conduce la fosfomolibdat de amoniu:



Fosfo-molibdatul de amoniu rezultat formează, sub acțiunea unui reducător-clorura stanoasă, sulfid alcalin, acid ascorbic, metanol, benzidină, aminoacizi – un complex de culoare albastră:



Complexul de culoare albastră este format concomitent din specii de molibden în treapta de oxidare Mo^{5+} și în treapta Mo^{6+} :



Intensitatea colorației complexului este proporțională cu concentrația fosfatului fiind determinat spectrofotometric.

4.2. Consumabilele

- placă cu 96 godeuri pentru citire la spectrofotometru
- micropipete de 200 μl și 1000 μl
- vârfuri galbene și albastre pentru micropipete
- eprubete de 3 respectiv 5 ml, cu dop
- trei litri ulei vegetal

4.3. Reactivii

- 2,5 g Molibdat de amoniu (fig. 20.)
- 30 ml apă
- 3,7 ml H_2SO_4 conc
- răcire
- ad 50 ml apă în balon cotat

- Sulfid (Na_2SO_3) 20% - s-a preparat proaspăt la începutul zilei de lucru
- Hidrochinonă soluție 1%
- Soluție etalon stoc fosfat (0,1432 g KH_2PO_4 ad 100 ml balon cotat)



Figura 20. Reactivi utilizați în determinarea fosfaților din apă

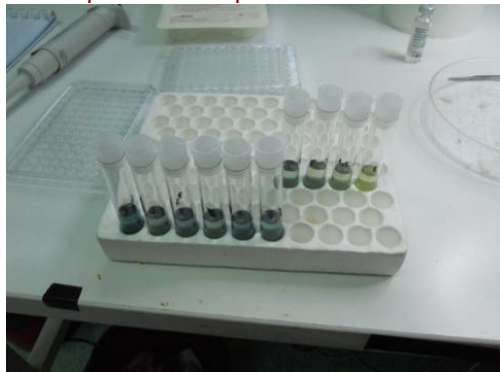
4.4. Modul de lucru

- 100 ml probă s-au evaporat până la sec datorită concentrației scăzute a fosfaților din apele de testare, apoi s-a introdus în balon 2 ml apă bidistilată și s-au spălat pereții balonului pentru prelevarea depunerilor
 - 0,4 ml Molibdat de amoniu
 - 0,2 ml Sulfid
 - 0,2 ml Hidrochinonă
 - Repaus 30 minute
 - Citire 655 nm
- Evaporarea probei de apă pe baie de ulei vegetal s-a făcut la o temperatură de peste 90°C (figurile 21-22).





Figurile 21-22. Evaporarea probei de apă pe baie de ulei cu aparatul Heidolph Laborota 4003 control



Figurile 23-24. Reacții de culoare care atestă prezența fosfaților în ape și aspectul probelor înainte de citirea la spectrofotometru

Probele au fost introduse în plăcuța cu godeuri în cantitate de 250 µl per godeu și s-au ținut într-un loc ferit de lumină pe parcursul celor 30 minute înainte de citire datorită sensibilității fosforului la lumină (figurile 23-24).

În vederea realizării curbei de etalonare s-au ales trei standarde, 1, 2, 5 și 5 ppm, care s-au citit împreună cu probele (Tabelul 6)

Tabelul 6.

Absorbanțele probelor din testare

Standarde	Std (P1-P6)	Std (P1-P6)	Std (P7-P11)	Std (P7-P11)
1	0,077	0,077	0,033	0,034
2,5	0,161	0,165	0,053	0,050
5	0,266	0,265	0,089	0,083
P 1	0,675	0,686		
P 2	0,288	0,282		
P 3	0,411	0,426		
P 4	0,308	0,302		
P 5	0,451	0,460		
P 6	0,298	0,297		
P 7			0,299	0,296
P 8			0,326	0,347
P 9			1,000	1,063
P 10			0,483	0,460
P 11			0,171	0,179

4.5. Rezultatele obținute în urma testării fosfaților

Calculul rezultatelor:

Calculul conținutului de fosfați din apă s-a realizat pe baza următoarei formule:

$$PO_4^{3-} \text{ (mg/dm}^3\text{)} = (C_x \times V) / V_1 \text{ (formula 2)}$$

Unde:

C_x = concentrația ionului fosfat în proba spectrofotometrică (µg/ml)

V = volumul balonului cotelat (ml)

V_1 = volumul de apă luat în analiză

Valoarea absorbției citite s-a raportat la curba de etalonare pentru aflarea conținutului de fosfați din probă (Tabelul 7, Graficul 7).

Tabelul 7.

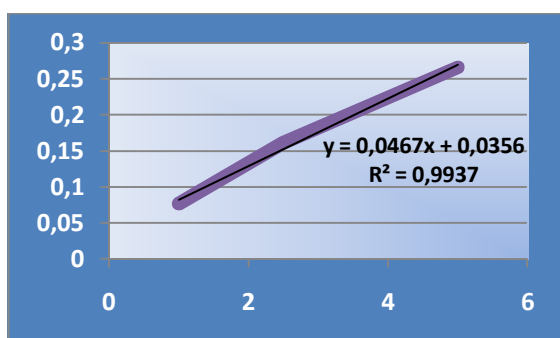
Cantitatea de fosfați determinată în testare

Probe	Cantitatea de fosfați din probă (mg/dm ³)	
P1	0,0351	0,0356
P2	0,0170	0,0167
P3	0,0227	0,0230
P4	0,0179	0,0170
P5	0,0246	0,0250
P6	0,0175	0,0174
P7	0,0055	0,0055
P8	0,0057	0,0055
P9	0,0080	0,0082
P10	0,0062	0,0060
P11	0,0050	0,0055

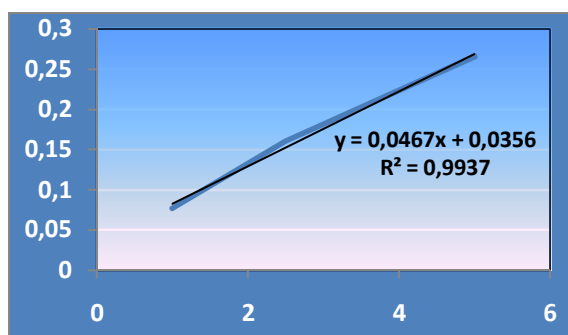
Curba de etalonare s-a obținut în Excel 2007 prin corelarea concentrațiilor în funcție de absorbțiile citite iar apoi s-a trasat grafic dreapta de etalonare (Graficele 5-6).

Limitele de fosfați s-au determinat prin corelația cu valorile admise și au fost de 0,1 ppm (81).

Graficul 5.
Curba de calibrare a standardelor P1-P6



Graficul 6.
Curba de calibrare a standardelor P7-P11



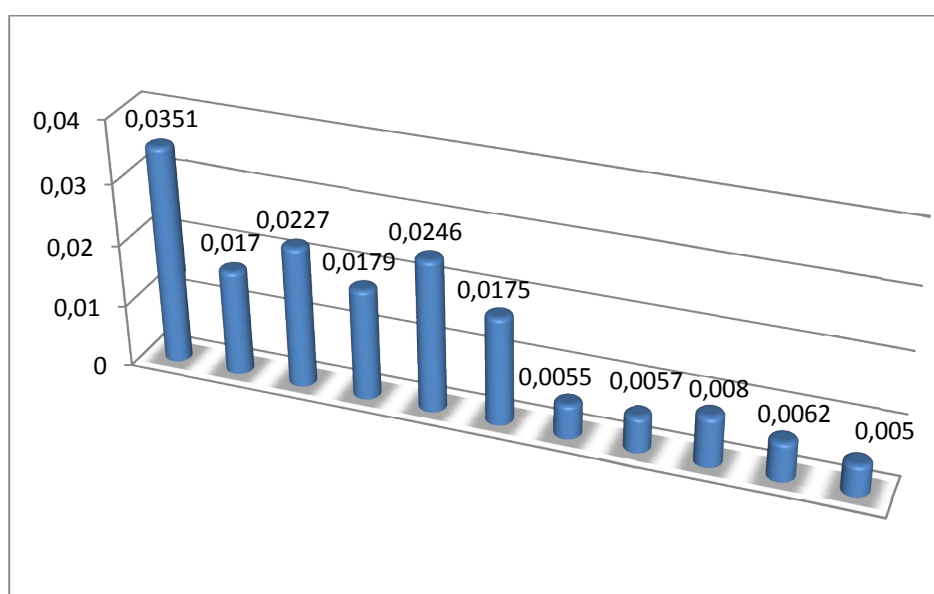
Conform Agenției de Protecția Mediului US (1986) valoarea fosfaților în lacuri are limitele de 0,05 ppm iar a apelor de suprafață între 0,01-0,03 ppm (76).

În apele naturale limita admisă de Centrul pentru Științele Mediului Indianapolis pentru fosfați este de 0,02 ppm (79).

4.6. Concluzii

- Valorile maxime pentru fosfați s-au înregistrat pentru proba P1 și au fost de 0,0356 ppm.
- Cantitatea minimă de fosfați s-a detectat pentru proba P11 cu o valoare de 0,005 ppm.
- Cantitatea de fosfați prezentă în apele testate s-a încadrat în limitele maxime admise de legislația în vigoare.

Graficul 7.
Reprezentarea grafică a fosfaților din testare



5.5. Realizarea determinărilor compușilor potențiali poluanți prin GC-MS

5.1. Materialele

- balon de sticlă cu robinet (fig. 25).
- suport metalic pt balonul de sticlă

- cilindru gradat
- pâlnie de sticlă
- mănuși nitril
- recipiente de sticlă de culoare brună cu capac filetant



Figura 25. Balonul utilizat în extracție

5.2. Reactivii

S-au utilizat substanțe provenite de la firma Sigma-Aldrich și Fluka Chemika (figurile 26-27).



Figurile 26-27. Flacoane cu diclormetan 99,9% (soluție lichidă) și sulfat de sodiu anhidru (pulbere)

5.3. Pregătirea probelor pt. GC-MS

Pentru realizarea extractelor s-a utilizat un litru probă de apă peste care s-au introdus 20 ml diclormetan, s-a încercat o omogenizare prin agitarea balonului de sticlă. S-a lăsat în repaus până la separarea vizibilă a probei de diclormetan, delimitare evidentă de tipul apă-ulei (fig. 28).

S-a recoltat într-un recipient de sticlă diclormetanul fără a permite pătrunderea vreunei cantități de apă.

În cazul prezenței unei mici cantități de probă în recipientul de recoltare, s-au observat vezicule de aer la suprafață fiind necesară tratarea extractului cu sulfat de sodiu anhidru.

Extractele obținute s-au evaporat la sec (fig. 29) și au fost congelate la -20°C până la momentul realizării determinării prin GC-MS.



Figura 28. Separarea straturilor, probă de apă – diclormetan

Înainte de determinare, extractele s-au resuspendat în 100 μl diclormetan iar apoi s-au injectat la GC-MS în cantitate de 1 μl .

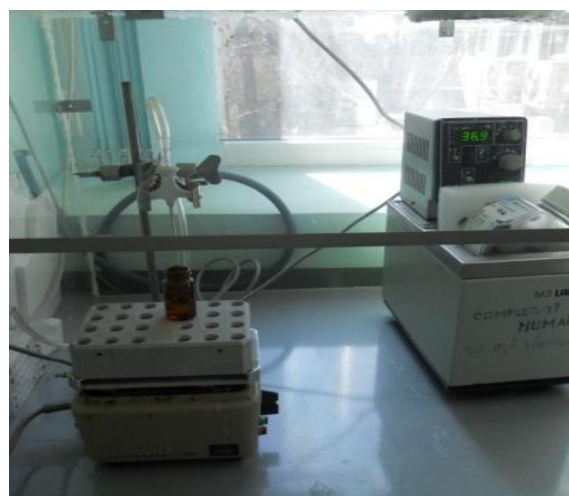


Figura 29. Evaporarea extractelor până la sec, procedeu controlat sub nișă cu introducerea de oxigen pentru grăbirea evaporării și menținerea concomitentă a recipientului pe sursă de căldură

5.4. Metoda de determinare GC-MS

Analizele probelor prin GC-MS s-au realizat în cadrul Institutului de Imunofiziologie al Spitalului Județean Timișoara.

Probele de apă s-au păstrat în condiții de refrigerare (4°C) de la recoltare până la momentul realizării analizelor.

Determinarea prin GC-MS s-a realizat prin utilizarea gaz cromatografului Hewlett-Packard model 6890 (fig. 30) utilizând ca detector spectrometrul de masă Hewlett-Packard model 5973 (fig. 31).

Separarea s-a realizat utilizând coloana ZB (Zebtron)- 5 MS, cu lungime de 30 m, având ca diametru interior 0,25 mm și grosimea filmului de 0,25 μm .

În cadrul determinării s-au utilizat: He cu un flux constant de 1 ml/minut, la o temperatură a injectorului de 250°C, tip mod splitless.

Temperatura programului și timpul de ajungere la o anumită temperatură s-au înregistrat ca fiind de la 50°C până la 300°C, cu creștere de 6°C pe minut iar menținerea finală a fost de 1 minut la 300°C.

Volumul de probă injectat a fost de 1 μl . Detectorul utilizat a fost cu ionizare de tip EI (electron ionization).

Linia de transfer a fost de 230°C la MS sursă și de 150°C la MS Quad. Scanarea a avut ca parametri: întârzierea solventului de 7 minute, masa de 50-550 unități atomice de masă. Baza de date care conține biblioteca de spectre a fost NIST02 (fig. 32).

Imprimanta atașată aparatelor a fost produsă de aceeași firmă Hewlett-Packard Laserjet 4000 (fig. 33).

Interpretarea rezultatelor s-a făcut cu MSD ChemStation D.02.00.275 produs de Agilent Technologies.



Figura 30. Gaz cromatograf Hewlett-Packard model 6890



Figura 31. Spectrometru de masă Hewlett-Packard model 5973



Figura 32. Calculator cu software aferent pentru înregistrarea datelor provenite de la GC-MS



Figura 33. Echipament de ieșire a datelor Hewlett-Packard Laserjet 4000 cuplat la GC-MS

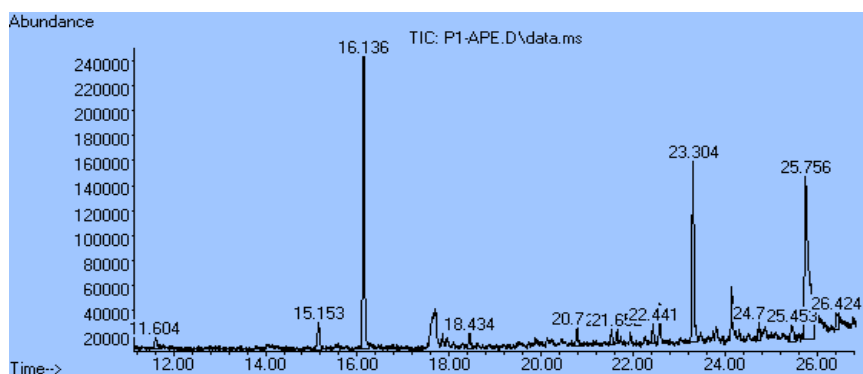
5.5. Rezultatele analizelor prin GC-MS

Analizele prin GC-MS au evidențiat prezența cantitativă a substanțelor în probele de apă astfel putând fi comparate cu limite admise în legislația în vigoare (Tabelul 8).

Tabelul 8.
Substanțe detectate în urma GC-MS pentru proba 7

Nr. crt.	Timp de retenție	Denumire comună a grupei din care face parte substanța detectată	Denumirea chimică a substanței	ARIA%
1	11,6	Fenoli	Phenol, m-tert-butyl-	1,42
2	15,15	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione,2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	3,51
3	16,13	Fenoli	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	30,65
4	18,44	Hidrocarburi policiclice aromatice	Benzophenone	1,67
5	20,78	Alcali- Hidrocarburi saturate aciclice	2,3,5,6-detetrahydrocyclohexanone, 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxymethylene-	1,78
6	21,52	Hidrocarburi saturate	5-octadecene	1,46
7	21,65	Hidrocarburi aromatice	Benzene,1,1'-(2,2-dichloroethylidene)bis[4-ethyl	1,05
8	22,44	Derivați halogenați	2,5-di-tert-butyl-1,4-benzoquinone	1,83
9	23,30	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	16,56
10	24,73	Derivați halogenați	9,10-anthracenedione, 1-ethyl-	1,36
11	25,45	Derivați halogenați	10,18-bisnorabieta-8,11,13-triene	2,16
12	25,75	Compuși heterociclici	1,3-dicyclohexylurea	34,53
13	26,41	Fenoli (den. comercială:Triclosan)	polychloro phenoxy phenol	1,95

Graficul 8.
Cromatograma probei 7

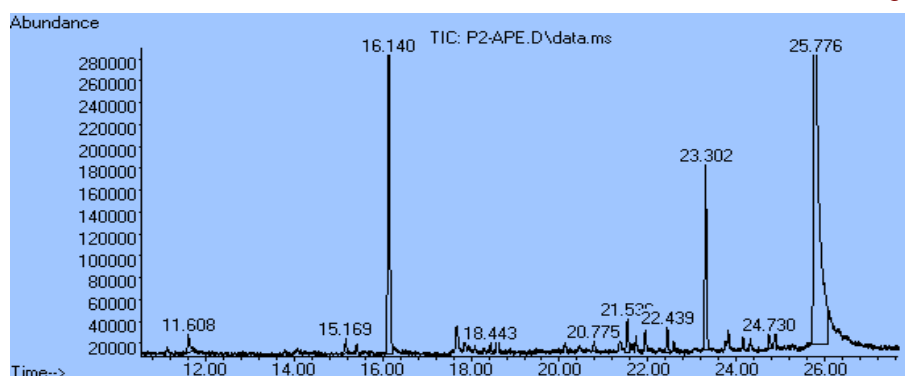


În cazul cromatogramei probei P7 (Graficul 8.) s-au înregistrat valori crescute pentru fenoli la o arie de 30,65% cu un timp de retenție de 16,13 iar pentru compuși heterociclici aria de 34,53% și timpul de retenție de 25,75.

Valorile cele mai reduse înregistrate prin GC-MS ale probei P7 s-au observat a fi pentru hidrocarburi aromatice și anume, aria 1,05% cu timp de retenție 21,65.

Tabelul 9.
Substanțe detectate în urma GC-MS pentru proba 8

Nr. crt.	Timp de retenție	Denumire comună a grupei din care face parte substanța detectată	Denumirea chimică a substanței	ARIA%
1	11,6	Fenoli	Phenol, m-tert-butyl-	1,23
2	15,15	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,71
3	16,13	Fenoli	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	30,98
4	18,44	Hidrocarburi policiclice aromatice	Benzophenone	0,41
5	20,78	Alcali- hidrocarburi saturate aciclice	2,3,5,6-detetrahydrocyclohexanone, 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxymethylene-	0,40
6	21,52	Hidrocarburi saturate	5-octadecene	1,58
7	22,44	Derivați halogenați	2,5-di-tert-butyl-1,4-benzoquinone	1,05
8	23,30	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	7,99
9	24,73	Derivați halogenați	9,10-anthracenedione, 1-ethyl-	0,78
10	25,75	Compuși heterociclici	1,3-dicyclohexylurea	54,83

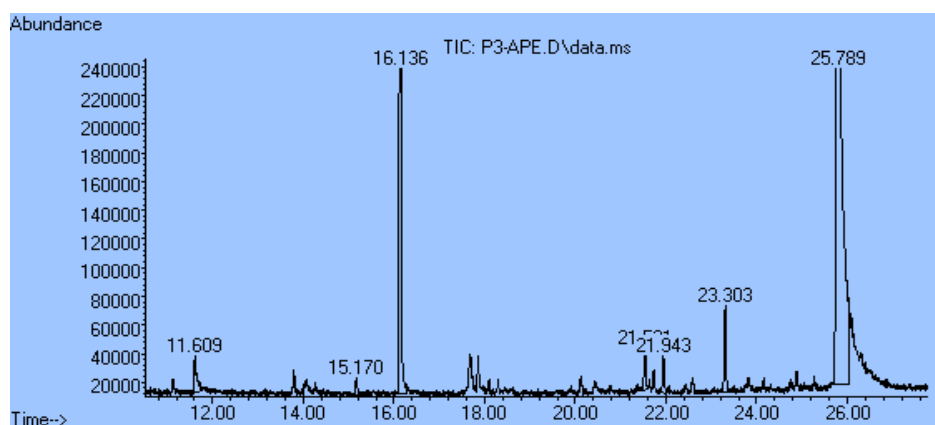
Graficul 9.
Cromatograma probei 8

În cazul cromatogramei probei P8 (Graficul 9) s-au înregistrat valori crescute pentru compuși heterociclici la o arie de 54,83% la un timp de retenție de 25,75; iar pentru fenoli aria de 30,98% și timpul de retenție de 16,13.

Valorile cele mai reduse înregistrate prin GC-MS ale probei P8 (Tabelul 9) s-au observat a fi pentru alcali- hidrocarburile saturate aciclice și anume, aria 0,4% cu timp de retenție 20,78.

Tabelul 10.
Substanțe detectate în urma GC-MS pentru proba 9

Nr. crt.	Timp de retenție	Denumire comună a grupei din care face parte substanța detectată	Denumirea chimică a substanței	ARIA%
1	11,6	Fenoli	Phenol, m-tert-butyl-	1,801
2	15,15	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,552
3	16,13	Fenoli	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	30,702
4	21,53	Alchene	9-tricosene	1,35
5	21,94	Hidrocarburi alifatic saturate	Cyclotetracosane	1,15
6	23,30	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	2,64
7	25,75	Compuși heterociclici	1,3-dicyclohexylurea	61,78

Graficul 10.
Cromatograma probei 9

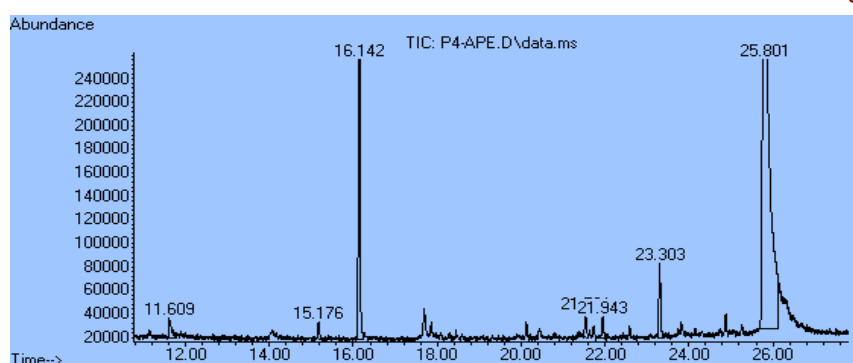
În cazul cromatogramei probei P9 (Graficul 10) s-au înregistrat valori crescute pentru compuși heterociclici la o arie de 61,78% la un timp de retenție de 25,75 iar pentru fenoli aria de 30,70% și timpul de

retenție de 16,13 (Tabelul 10). Valorile cele mai reduse înregistrate prin GC-MS ale probei P9 s-au observat a fi pentru derivați halogenați și anume, aria 0,552% cu timp de

Tabelul 11.
Substanțe detectate în urma GC-MS pentru proba 10

Nr. crt.	Timp de retenție	Denumire comună a grupei din care face parte substanța detectată	Denumirea chimică a substanței	ARIA %
1	11,6	Fenoli	Phenol, m-tert-butyl-	1,25
2	15,15	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,57
3	16,13	Fenoli	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	19,71
4	21,53	Alchene	9-tricosene	0,95
5	21,94	Hidrocarburi alifatic saturate	Cyclotetracosane	0,79
6	23,30	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	2,74
7	25,75	Compuși heterociclici	1,3-dicyclohexylurea	73,95

Graficul 11.
Cromatograma probei 10



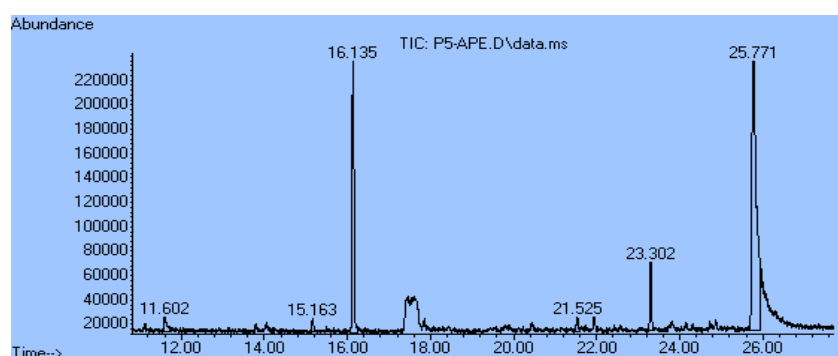
În cazul cromatogramei probei P10 (Graficul 11) s-au înregistrat valori crescute pentru compuși heterociclici la o arie de 73,95% la un timp de retenție de 25,75 iar pentru fenoli aria de 19,71% și timpul de

retenție de 16,13 (Tabelul 11). Valorile cele mai reduse înregistrate prin GC-MS ale probei P10 s-au observat a fi pentru derivați halogenați și anume, aria 0,57% cu timp de retenție 15,15.

Tabelul 12.
Substanțe detectate în urma GC-MS pentru proba 11

Nr. crt.	Timp de retenție	Denumire comună a grupei din care face parte substanța detectată	Denumirea chimică a substanței	ARIA %
1	11,6	Fenoli	Phenol, m-tert-butyl-	1,93
2	15,16	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	1,08
3	16,13	Fenoli	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	26,89
4	21,52	Alchene	9-tricosene	1,39
5	23,30	Derivați halogenați	2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	5,22
6	25,77	Compuși heterociclici	1,3-dicyclohexylurea	63,47

Graficul 12.
Cromatograma probei 11



Bibliografie

1. Acosta-Martinez V, Harmel RD (2006). Soil microbial communities and enzyme activities under various poultry litter application rates. *J. Environ. Qual.* 35, 1309–1318.
2. Asman, WAH (1995). Ammonia and ammonium in the atmosphere: Present knowledge and recommendations for further research. In GJ Heij and JW Erisman (Eds). *Acid Rain Research: Do We Have Enough Answers? Proceedings of a Speciality Conference*. Hertogenbosch, Netherlands, 10-12 October 1994. - Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, 55-70.
3. **Bailey L, Buckley K** (2008). Land application of hog manure: agronomic and environmental considerations the Canadian perspective *AAFC Pub.* 98-04.
4. Bernal MP, Kirchmann H (1992). Carbon and nitrogen mineralization and ammonia volatilization from fresh, aerobically and anaerobically treated pig manure during incubation with soil. *Biology and Fertility of Soils* 13, 135-141.
5. **Bitton G** (2005). Wastewater microbiology, 3rd ed., John Wiley & Sons, Hoboken 746.
6. Bratanov V (1979). Manure as a factor for environmental pollution with microorganisms and parasites. In: Karadjov, J. (Ed.), *Veterinary-Hygienic Aspects of Environmental Pollution*. Zemizdat, Sofia, 150–227.
7. Busato A, Hofer D, Lentze T, Gaillard C, Burnens A (1999). Prevalence and infection risks of zoonotic enteropathogenic bacteria in Swiss cow-calf farms. *Vet. Microbiol.* 64, 251–263.
8. Ceccherini MT, Castaldini M, Piovaneli C, Hastings RC, McCarthy AJ, Bazzicalupo M, Miclaus N (1998). Effects of swine manure fertilization on autotrophic ammonia oxidizing bacteria in soil, *Applied Soil Ecology*, Volume: 7, Issue: 2, 149-157.
9. Cools D (2001). Manure-derived antibiotic resistant bacteria: survival in soil and contamination of crop roots. *PhD Thesis*, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium.
10. Cort LA (1973). An Introduction to Spectroscopic Methods for the Identification of Organic Compounds, vol II, editat de Scheinmann F., Pergamon Press, Oxford.
11. Cromwell GL (2008). Nutrients in Swine Manure - Potential Environmental Pollutants - <http://www.uky.edu/Ag/AnimalSciences/pubs/nutrientsinswinemanurepotentialpollutants.pdf>.
12. **Danon-Moshe S, Kozareva MN, Papanikova KD** (1985). Sanitary Microbiology—Methods of Study. *Medicine Press*, Sofia, 139–165.).
13. Daumer ML, Beline F, Guiziu F, Martinez J (2001). Phosphate recovery following biological aerobic treatment of pig slurry. *Cemagref*, Rennes, France.
14. **Decun M** (2007). Igienea animalelor și a mediului, Ed. Mirton, 511-515.
15. **Deng SP, Parham JA, Hattey JA, Babu D** (2006). Animal manure and anhydrous ammonia amendment alter microbial carbon use efficiency, microbial biomass, and activities of dehydrogenase and amidohydrolases in semiarid agroecosystems. *Applied Soil Ecology* 33, 258–268.
16. **Doran JW, Zeiss MR** (2000). Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Agronomy-Faculty Publications*, Paper 15).
17. **Entry JA, Wood BH, Edwards JH, Wood CW** (1997). Influence of organic by-products and nitrogen source on chemical and microbiological of an agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils* 24, 196–204.
18. **Evers GW** (1996). Overview of recycling nutrients from animal waste through forages. In: *Proc-South-Pasture-Forage-Crop- Improv-Conf. New Orleans: ARS (Southern Region)*, vol. 52, USDA, 1974, 59–64.
19. **Frate C.** (2008). Nitrogen Transformations in Soil, University of California Cooperative Extension, Tulare County, http://www.cdqa.org/docs/11.7_Nitrogen_Transformations-final.pdf.
20. **Garcia-Gil JC, Plaza C, Soler-Rovira P, Polo A** (2000). Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1907–1913.
21. **Gerba CP, Bitton G** (1984). Microbial pollutants: their survival and transport pattern to groundwater. In: Gerba, C.P., Bitton, G. (Eds.), *Groundwater Pollution Microbiology*. Wiley, New York, 66–88.
22. **Gessel PD, Hansen NC, Goyal SM, Johnston LJ, Webb J** (2004). Persistence of zoonotic pathogens in surface soil treated with different rates of liquid pig manure *Applied Soil Ecology* 25, 237–243.
23. **Gitton C, Hurvois Y** (1999). - Importance of treatment in reducing surplus manure policy. In: *Proc.of the conference on Comment concilier production porcine et protection de l'environnement*. March 1999, Paris.J.B.Montalescot (Ed.), Cemagref, Paris, 115-130.,
24. **Goss MJ, Rollins KS, McEwan K, Shaw JR, Lammers-Helps H** (2002). The management of manure in Ontario with respect to water quality (Commissioned Paper No. 6). In: *The Walkerton Inquiry*. Queen's Printer for Ontario. OntarioMinistry of the Attorney General, Toronto.

25. **Goss MJ, Stonehouse DP, Giraldez JC** (1996). Managing Manure for Dairy and Swine - Towards Developing a Decision Support System. *SOS Publications*, Fair Haven, NJ.
26. **Harper LA, Sharpe RR** (1997). Climate and water effects on gaseous ammonia emissions from a swine lagoon. In: L.M. Risse (ed.) *Proceedings of the southwestern sustainable animal waste management workshop*. Feb. 11-13. Tifton, GA. Univ. of Georgia publication No. ENG97-001, 223-229.,
27. **Herrick JE** (2000). Soil quality: an indicator of sustainable land management. *Appl. Soil Ecol.* 15 (1), 75-83.
28. **Johnson CJ, Bonrud PA, Dosch TL, Kilness AW, Senger KA, Busch DC, Meyer MR** (1987). Fatal Outcome of Methemoglobinemia in an Infant. *Journal of the American Medical Association.* 257(20): 2796-2797.
29. **Johnston LJ, Ajariyakhajorn C, Goyal SM, Robinson RA, Clanton CJ, Evans SD, Warnes DD** (1996). Survival of bacteria and viruses in ground pig carcasses applied to cropland for disposal. *Swine Health Prod.* 4, 189-194.
30. **Jones PW** (1986). Sewage sludge as a vector of salmonellosis. In: Block, J.C., Havelaar, A.H., L'Hermite, P. (Eds.), *Epidemiological Studies of Risks Associated with the Agricultural Use of Sewage Sludge: Knowledge and Needs*. Elsevier, London, 21-33.
31. **King LD, Burns JC, Westerman PW** (1990). Long-term swine lagoon effluent applications on 'Coastal' bermudagrass: II. Effect on nutrient accumulation in soil. *J. Environ. Qual.* 19, 756-760.
32. **Kornegay ET, Hedges JD, Martens DC, Kramer CY** (1976). Effect on soil and plant mineral levels following application of manures of different copper contents. *Plant and Soil* 45, 151-162.
33. **Kornegay ET, Hedges JD, Martens DC, Kramer CY** (2006). Effect of soil and plant mineral levels following application of manures of different copper levels. *Plant. Soil.* 45(1), 151-162.
34. **Lachica RV** (1990). Significance of hydrophobicity in the adhesiveness of pathogenic Gram-negative bacteria. In: Doyle, R.J., Rosenberg, M. (Eds.), *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. American Society for Microbiology, Washington, DC, 297-314.,
35. **Letson D, Gollehon N** (1996). Confined animal production and the manure problem. *Choices.* Third Quarter: 18-24.
36. **Linderman RG, Davis EA** (2004). Evaluation of commercial inorganic and organic fertilizer effects on arbuscular mycorrhizae formed by *Glomus intraradices*. *HortTechnology* 14, 196-202.
37. **Lovell RD, Jarvis SC** (1996). Effect of cattle dung on soil microbial biomass C and N in a permanent pasture soil. *Soil Biol. Biochem.* 28 (3), 291-299.
38. **Lupea AX, Sălăgean IR, Pleşa C, Ciubotaru A** (2011). Analiza chimică cu aplicații în chimia mediului, editura ArtPress, 36-51.
39. **Morrison SM, Martin KL** (1977). Pathogen survival in soils receiving waste. In: R.G. Loer (ed.) *Land as a Waste Management Alternative*. Proc. 1976 Cornell, Agric. Waste Management Conf. Cornell Univ., Ithaca, NY., 371-389.
40. **Murry Jr, AC, Hinckley LS** (1992). Effect of the earthworm *Eisenia foetida* on *Salmonella enteritidis* in horse manure. *Bioresour. Technol.* 41, 97-100.
41. **Nahm KH** (2002). Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure, *Crit. Review. Environ. Sci. Tehnol.* 32 (1), 1-16.,
42. **Ndayegamiye A, Cote D** (1989). Effect of long-term pig slurry and solid cattle manure application on soil chemical and biological properties. *Can. J. Soil Sci.* 69, 39-47.
43. **Nodar R, Acea MJ, Carballas T** (1992). Poultry slurry microbial population: composition and evolution during storage. *Bioresour. Technol.* 40, 29-34.
44. **Overcenco A** (2006). Bunele practici agricole pentru protecția mediului, USAID, Chișinău ftp://ftp.moldova.cnfa.org/REPORTS/Business/GA_P_EP_Brochure_Ro.pdf
45. **Papajova I, Juris P, Laukova A, Rataj D, Vasilkova Z, Ilavska D** (2002). Transport of *Ascarium suum* eggs, bacteria and chemical pollutants from livestock slurry through the soil horizon. *Helminthologia*, 39 (2), 77-85.
46. **Parham JA, Deng SP, Raun WR** (2003). Long-term cattle manure application in soil. Part II: effect on soil microbial populations and community structure. *Biol. Fertil. Soils* 38, 209-215.,
47. **Parham JA, Deng SP, Raun WR, Johnson GV** (2002). Long-term cattle manure application in soil. Part I: effect on soil phosphorus levels and activities of enzymes involved in phosphorus transformations in soil. *Biol. Fertil. Soils* 35, 328-337.
48. **Perez-de-Mora A, Burgos P, Madejon E, Cabrera F, Jaekel P, Schloter M** (2006). Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effect of plants growth and different amendments. *Soil Biol. Biochem.* 38 (2), 327-341.
49. **Petkov G, Baykov B** (1978). Veterinary-Medical Ecology. Zemizdat, Sofia, 256-282.
50. **Petkov GS, Kostadinova GS, Denev SA, Mihaylova GS, Pavlov DC** (2006). Microbial pollution of soil around slurry storage lagoons at pig-farm, *Applied Soil Ecology*, 34, 10-18.

51. **Pierzynski GM, Sims TJ, Vance GF** (2000). Soils and Environmental Quality. *CRC Press*, New York, 459.
52. **Plaza C, Hernandez D, Garcia-Gil JC, Polo A** (2004). Microbial activity in pig slurry-amended soils under semiarid conditions. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1577–1585.
53. **Pratt RG** (2008). Fungal population levels in soils of commercial swine waste disposal sites and relationships to soil nutrient concentrations. *Applied Soil Ecology* 38, 223 – 229.,
54. **Rădulescu H** (2007). Poluare și tehnic de depoluare a mediului, Ed. Eurobit, Timișoara.
55. **Ros M, Hernandez MT, Garcia C** (2003). Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* 35 (3), 463–469.
56. **Safley Jr., LM, Casanda ME, Woodbury JW, Roos KF** (1992). Global methane emissions from livestock and poultry manure. *United States Environmental Protection Agency*, Washington.
57. **Schulz L** (2013). Evaluating Nitrate Loss from manure- amended sandy soils in Wisconsin, SSSA Division: *Soil fertility & Plant nutrition*, 79518.
58. **Sharpe RR, Harper LA** (1998). Ammonia and nitrous oxide emissions from sprinkler irrigation applications of swine effluent. *J. Environ. Qual.* 26:1703-1706.
59. **Sharpley AN, Daniel T, Sims T, Lemunyon J, Stevens R, Parry R** (1999). Agricultural phosphorus and eutrophication. U.S. Dept. Agric., *Agr. Res. Service AR-149*, 37.
60. **Sjogren RE, Gibson MJ** (1981). Bacterial survival in a dilute environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 1331–1336.
61. **Spalding RF, Exner ME** (1993). Occurrence of Nitrate in Groundwater-A Review. *Journal of Environmental Quality.* 22(3): 392-402.
62. **Steinmetz RLR, Kunz A, Dressler YL, Marlon de Moraes Flores E, Figueiredo Martins A** (2009). Study of metal distribution in raw and screened swine manure, *Clean* 37 (3), 239-244.
63. **Sutton AL, Nelson DW, Mayrose VB, Nye JC, Kelly DT** (1984). Effects of varying salt levels in liquid swine manure on soil composition and corn yield. *J. Environ. Qual.* 13, 49-59.
64. **Tabatabai MA** (1994). Soil enzymes. In: Weaver RW, Angle JS, Bottomley PS (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties.* *Soil Science Society of America*, Madison, WI, 775–833.
65. **Țibru I, Trif Alexandra** (2009). Igiena și managementul sănătății în fermele de animale, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului, Timișoara, Cooperarea transfrontalieră româno-sârbă, Program PHARE, în: Managementul reziduurilor zootehnice și al protecției mediului în zona de câmpie a Banatului, 28-68.
66. **Unc A, Goss MJ** (2004). Transport of bacteria from manure and protection of water resources *Applied Soil Ecology* 25, 1–18.
67. **Van Bruggen AHC, Semenov AM** (2000). In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Appl. Soil Ecol.* 15(1), 13-24
68. **Van Wicklen GL** (1997). Air quality in confinement animal facilities, 231-236. In L.M. Risse (ed.) *Proceedings of the southwestern sustainable animal waste management workshop.* Feb. 11-13. Tifton, GA. Univ. of Georgia Publication No. ENG 97-001.
69. **Vellenga L, Beers-Schreurs HMG, Wensing T** (1992). The effects of zinc oxide application on zinc levels in liver and faeces in weaning and fattening pigs, in: *International Pig Veterinary Society Congress Issues, TPVS*, 617.
70. **Venglovsky J, Juris P, Sokol J** (1994). Efficacy survey of some sewage-treatment plant systems on pig farms in Slovakia. *J. Vet.Med.* 39 (11), 677–686.
71. **Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW** (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecol. Appl.* 7, 737-750.
72. **Yadav SN** (1997). Formulation and estimation of nitrate–nitrogen leaching from corn cultivation. *J. Environ. Qual.* 26, 808–814.
73. http://www.cals.ncsu.edu/waste_mgt/smithfield_projects/phase1report04/front.pdf.
74. <http://www.hannainst.com>
75. http://www.icia.ro/Documents/Files/eajq7_Defeno/%20-%20Faza%201.pdf.
76. http://www.cals.ncsu.edu/waste_mgt/smithfield_projects/phase1report04/front.pdf
77. www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chlorid_e.pdf
78. <http://water.epa.gov/drink/index.cfm>
79. http://www.cees.iupui.edu/education/Workshops/Project_Seam/water_quality.htm
80. www.ocpitimis.ro
81. **Directiva nr. 83/3 noiembrie 1998 CE** privind calitatea apei destinate consumului uman
82. **Legea nr. 458 din 8 Iulie 2002** privind calitatea apei potabile completată cu Legea nr. 311/2004.
83. **Ordinul nr. 1552/2008** pentru aprobarea listei localităților pe județe unde există surse de nitrați din activități agricole)
84. **Hotărârea de Guvern nr. 188/20.03.2002** pentru aprobarea unor norme privind condițiile de descărcare în mediul acvatic a apelor uzate, modificată și completată prin HG 352/11.05.2005.)
85. <http://www.epa.gov/ogwdw000/pdfs/factsheets/ioc/nitrates.pdf>
86. <http://www.ilsr.com/hog-manure-nitrates>

**NOUA FABRICĂ DE MEDICAMENTE
A COMPANIEI FARMACEUTICE
DELOS**



- Certificată GMP
- Organizată pentru producerea medicamentelor pulverulente și soluțiilor orale bazată pe folosirea unor tehnologii și utilaje moderne



- Depozite moderne:



- de materii prime cu temperatură și umiditate controlate



- de produse finite cu temperatură și umiditate controlate



S.C. DELOS IMPEX 96 SRL
Str. Horia, Cloșca și Crișan, nr. 81, Otopeni, Jud. Ilfov, Cod 075100
J23/3758/2008 RO 8086792
TEL +40 372 714 433; +40 372 714 434 FAX +40 372 871 445
Cont: BRD fil. Carol – RON: RO57BRDE441SV14535894410
Cont: Volksbank fil. Moșilor – RON: RO69VBBU2511MO0342522701
E-mail: delosmedica@yahoo.com

- Secții de producție moderne utilate complet:



Secția de producție soluții orale – vase de preparare soluții



Linia de umplere a flacoanelor




Secția de producție medicamente pulverulente

▼ *Juvaenaes Alumni*

Juvaenes Alumni

În cele ce urmează sunt prezentate două doctorande aparținătoare Şcolii Doctorale de la Facultatea de Medicină Veterinară din Timișoara admise la studiile doctorale în acest an.

Curriculum vitae Europass	
Informații personale	
Nume / Prenume	Chirilă Andreia Bianca
Adresă	Cal. Radnei Nr. 254, Arad, Jud. Arad
Telefon	0762455829
E-mail-uri	chirilaandrea@yahoo.com , chirilaandrea@gmail.com
Data nașterii	04. aug. 1987
Experiența profesională	
Perioada	2007 - 2008
Funcția sau postul ocupat	Tehnician Veterinar
Numele și adresa angajatorului	Dr. Med. Vet. Hotăran Gheorghe, CMV Iratoșu, AR
Tipul activității sau sectorul de activitate	Circumscripție sanitar veterinară
Perioada	2004 - 2007
Funcția sau postul ocupat	Elev practician - în funcția de tehnician veterinar
Numele și adresa angajatorului	Tutore Dr. Med. Vet. Hotăran Gheorghe, CMV Iratoșu, AR
Tipul activității sau sectorul de activitate	Circumscripție sanitar veterinară
Educație și formare	
Perioada	2013 – prezent
Calificarea / diploma obținută	Doctorand la zi
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Domeniul: Farmacologie și Farmacie veterinară
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului din Timișoara, Calea Aradului 119, cod 300645, Timișoara, Romania
Perioada	2006 - 2012
Calificarea / diploma obținută	Dr. Medic veterinar
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Științe medicale veterinare, lucrarea de licență intitulată: <i>Investigarea unor parametri morfofiziologici la calul de sport românesc înainte și după efort</i>
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului, Timișoara Facultatea de Medicină Veterinară

Perioada	2002 - 2006									
Calificarea / diploma obținută	Tehnician veterinar									
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Conform curiculei de formare									
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Grup Școlar de Industrie Alimentară, Arad									
Aptitudini și competențe personale										
Limba maternă	Româna									
Limbi străine / Autoevaluare	Înțelegere		Vorbire		Scriere					
<i>Nivel european</i>	Ascultare		Citire		Participare la conversație					
	Discurs oral		Exprimare scrisă							
Maghiară	C1	Utilizator experimentat	C1	Utilizator experimentat	C1	Utilizator experimentat	C1	Utilizator experimentat	B2	Utilizator independent
Engleză	B1	Utilizator independent	C1	Utilizator experimentat	B1	Utilizator independent	B1	Utilizator independent	A2	Utilizator elementar
Competențe și abilități sociale	Capacitate de adaptare, seriozitate, spirit de echipă, capacitate de asimilare de noi informații									
Competențe și aptitudini organizatorice	Punctualitate, capacitatea de a lua decizii în condiții de stres, capacitatea de auto perfecționare, cultura și monitorizarea lucrului în echipă									
Competențe și aptitudini de utilizare a calculatorului	Utilizare Microsoft office, Internet, power-point etc.									
Competențe și aptitudini artistice	Desen									
Hobby	Echitație									
Informații suplimentare	-									



UNIUNEA EUROPEANĂ

Proiect finanțat prin Phare



Obiectivul nostru

Îmbunătățirea nivelului de calificare profesională în domeniul medicinei veterinare, în așa fel încât să corespundă standardelor și exigențelor valabile în Uniunea Europeană.

**consiliere vocațională
consultanță în agribusiness
plasare a forței de muncă**



centru de consiliere
unitate de extensie

life long learning ■ educație continuă

un proiect finanțat de Uniunea Europeană, prin Phare - www.infoeuropa.ro





UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ IANUȘ ȘTEFAN
TIMIȘOARA


FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
TIMIȘOARA

USAMVBT vă propune

perfecționarea competențelor în domeniile

1. Anesteziologie 2. Animale sălbatice 3. Bovine 4. Canine 5. Cardiologie 6. Chirurgie 7. Comportamentul animal 8. Dermatologie 9. Diagnostic de laborator 10. Diagnostic imagistic 11. Ecvină 12. Farmacologie și toxicologie 13. Feline	14. Medicină de urgență 15. Medicină internă 16. Microbiologie 17. Neurologie 18. Nutriție 19. Oftalmologie 20. Parazitologie 21. Patologie 22. Păsări 23. Păsări de apartament/agrement 24. Radiologie 25. Reproducție 26. Sănătate publică 27. Stomatologie
---	--

Informații suplimentare privind derularea proiectului pot fi obținute la adresa:
 Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului
 - Unitatea de Extensie -
 Calea Aradului nr. 119, Timișoara, cod 300645
 Tel./fax: 0256 /277127
www.unitate-extensie.ro ■ office@unitate-extensie.ro

Curriculum vitae Europass	
Informații personale	
Nume / Prenume	Pap Andreea
Adresă	Strada Cerna, nr. 13, sc. B, et, 4, ap. 25, 300571, Timișoara
Telefon	0737429125
E-mail-uri	pap.andreea@ymail.com ; Skype: andreea.pap
Data nașterii	19/10/1988
Experiența profesională	
Perioada	03.2013- 05.2013
Funcția sau postul ocupat	Student practician, activități clinice
Numele și adresa angajatorului	Dr. Robert Popa, Piața Rareș Petru, nr.2, Timișoara
Tipul activității sau sectorul de activitate	Practică cabinet veterinar
Perioada	07.2011-09.2011 07.2012-09.2012;
Funcția sau postul ocupat	Student practician, activități clinice
Numele și adresa angajatorului	Dr. Doru Morar, Clinica de Patologie Medicală, USAMVB/FMVT Calea Aradului nr.119, 300645 Timișoara.
Tipul activității sau sectorul de activitate	Practică clinică veterinară
Perioada	04.2009-06.2009 04.2010-06.2010
Funcția sau postul ocupat	Student practician, activități clinice
Numele și adresa angajatorului	Dr. Horvath Atilla, str. Vadul Călugăreni nr.1, Timișoara
Tipul activității sau sectorul de activitate	Practică cabinet veterinar
Educație și formare	
Perioada	2013 – prezent
Calificarea / diploma obținută	Doctorand la zi
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Domeniul: Farmacologie și Farmacie veterinară
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului din Timișoara, Calea Aradului 119, cod 300645, Timișoara, Romania
Perioada	2007
Calificarea / diploma obținută	Dr. Medic veterinar
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Științe medicale veterinare, lucrarea de licență intitulată: <i>Hipertiroidismul la pisici - studiu clinic</i>
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului, Timișoara, Facultatea de Medicină Veterinară
Perioada	2007

Calificarea / diploma obținută	Instructor Aerobic Atestat										
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Educație fizică și sport										
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Liceul cu Program Sportiv Banatul, Str. Ripensia FC, 29, Timisoara										
Perioada	2003-2007										
Calificarea / diploma obținută	Diplomă de Bacalaureat										
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Educație fizică și sport Handbal de performanță										
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Liceul cu Program Sportiv Banatul, Str. Ripensia F.C., 29										
Aptitudini și competențe personale											
Limba maternă	Română										
Limbi străine / Autoevaluare	Înțelegere				Vorbire				Scriere		
<i>Nivel european</i>	Ascultare		Citire		Participare la conversație		Discurs oral		Exprimare scrisă		
Engleză	B2	Utilizator independent	B2	Utilizator independent	B2	Utilizator independent	B2	Utilizator independent	B2	Utilizator independent	
Spaniolă	B1	Utilizator independent	A2	Utilizator elementar	A2	Utilizator elementar	A2	Utilizator elementar	A2	Utilizator elementar	
Competențe și abilități sociale	Capacitate de adaptare, seriozitate, spirit de echipă, capacitate de asimilare de noi informații										
Competențe și aptitudini organizatorice	Acuratețe în muncă, perseverență, orientare către soluții, perfecționism, atenție la detalii, atitudine prietenoasă, sociabilitate, spirit de echipă, deschisă la o noua provocare, dorință de învățare, ambițioasă.										
Competențe și aptitudini de utilizare a calculatorului	Utilizarea programelor Windows, Microsoft Office, Internet, etc.										
Competențe și aptitudini artistice	Desen										
Hobby	Bibliofilia										
Informații suplimentare	2010 - Dec. participant la Cursul și Workshopul intitulat "Fiziologia reproductiei canine" la FMV Timișoara. 2009 - 14-17 Mai, locul V la Agronomiada Iași, Editia XXI, la disciplina Anatomie										