

Sto godina života akademika Eugena Topolnika



Slavko Cvetnić



Slika 1. Akademik Eugen Topolnik

U ponedjeljak 9. siječnja 2012. u svome je domu, u zagrebačkoj Illici stoti rođendan dočekaao akademik Eugen Topolnik, umirovljeni profesor mikrobiologije na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu. Tom su ga prigodom u ime Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti posjetili akademik Zvonko Kusić, predsjednik Akademije, akademik Marko Pećina, tajnik Razreda za medicinske znanosti Akademije i akademik Slavko Cvetnić, njegov učenik i suradnik.

Predstavnicima Akademije pridružila se izaslanica Predsjednika Republike Hrvatske, savjetnica Predsjednika za znanost, visoko obrazovanje i vjerske zajednice, prof. dr. sc. Ankica Marinović koja je akademiku Topolniku uručila odlikovanje Predsjednika RH Red Danice Hrvatske s likom Ruđera Boškovića.

Uz prigodno cvijeće, rođendansku tortu, šampanjac i uobičajenu napitnicu „Kolko kaplic, tolko let ...“ slavljenik se prisjetio mnogih ljudi i događaja. S jednakim je pripovjedačkim žarom pričao o zbivanjima od prije 90 godina („U Zagreb smo doselili u februaru 1919. Nas djece je bilo sedmero. Mama je bila velika mučenica“), ali isto tako i o aktualnim događajima („Ivica Kostelić se u skijanju igra, svira gitaru, pjeva, takva je i cijela ta naša obitelj. Tako to treba biti u sportu.“) Rečenice su mu kratke i sadržajne, ukratko aforistične. Na kraju nam je zahvalio na dolasku, uz napomenu da i nakon 30 godina od umirovljenja ima njegovih učenika i ustanova koji su ga se sjetili brzopjavnim čestitkama.

A sada da se podsjetimo na životni put akademika Topolnika. Rođen je 9. siječnja 1912. u Tuzli, u učiteljskoj obitelji. Osnovnu školu, klasičnu gimnaziju i studij veterine završio je u Zagrebu. Na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu diplomirao je 1935., odslužio je obvezni vojni rok i već od ljeta sljedeće godine volontira na Zavodu za mikrobiologiju i

Slavko CVETNIĆ, akademik, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti

zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Doktorirao je 1937. Kao terenski veterinar radio je u Kosijerću (Srbija), Trebinju, Perušiću i Vrbovskom. Drugi svjetski rat dočekaao je kao rezervist u Pljevlju (Crna Gora). Od sredine 1941. radi kao asistent na Zavodu za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, a u ljeto 1944. odlazi u Moslavinu na partizansko područje. Po završetku rata radi kraće vrijeme u Ministarstvu poljoprivrede u Zagrebu na organiziranju proizvodnje bioloških pripravaka, a zatim u Serum zavodima Vrbovec, Kalinovica i Novi Sad. Godine 1947. postavljen je za asistenta na Zavodu za mikrobiologiju i imunologiju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Privremeno je dodijeljen na rad u Savezni institut za veterinarsko-medicinska istraživanja u Zagrebu. Istovremeno je izabran za znanstvenog suradnika. U školskoj godini 1949./50.

12 mjeseci je boravio na usavršavanju iz virusologije na Medicinskim fakultetima u Bernu i Zürichu. Habilitirao je 1951., kada je izabran za docenta iz predmeta Mikrobiologija i imunologija na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu, gdje je 1954. izabran za izvanrednog, a 1959. za redovitog profesora. Od 1954. do 1977. bio je predstojnik Zavoda za mikrobiologiju i kliniku za zarazne bolesti, a istovremeno je obavljao dužnost direktora Instituta za zarazne i invazivne bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Dužnost dekana Fakulteta obavljao je u razdoblju od 1954. do 1966. u dva dvogodišnja mandata, a u dva mandata bio je prodekan. Nekoliko godina bio je član Sveučilišnog savjeta i Sveučilišnog vijeća u Zagrebu, član nekoliko Sveučilišnih komisija i voditelj komisije za nastavu III. stupnja. Više je godina bio biran za podpredsjednika Društva nastavnika Sveučilišta u Zagrebu. Jedno je vrijeme bio tajnik, a



Slika 2. S lijeva na desno: akademik Zvonko Kusić, prof. dr. sc. Ankica Marinović, akademik Eugen Topolnik, akademik Slavko Cvetnić i akademik Marko Pečina.

zatim i predsjednik Društva veterinara SR Hrvatske. Urednik znanstvenog časopisa Veterinarski arhiv bio je od 1953.-1975. Uređivao je i više izdanja Poljoprivrednog nakladnog zavoda, tri izdanja Veterinarskog priručnika (1953., 1961., 1976.), kao i nekoliko izdanja Jugoslavenske akademije znanosti i umjetnosti. U Akademiju je izabran za izvanrednog člana 1963., a za redovitog člana 1979. Sudjelovao je na više kongresa u zemlji i inozemstvu. Za svoj rad u struci i znanosti dobio je nagradu 1959. za najbolji znanstveni rad u Veterinarskom arhivu, a 1961. je odlikovan Ordenom rada sa zlatnim vijencem. Umrovljen je 1981. godine.

Eugen Topolnik objavio je 78 znanstvenih radova. U disertaciji iz 1937. objavio je prvi u nas rezultate istraživanja tuberkuloze peradi. Poslije toga pretežni se dio rada odnosi na istraživanja virusnih bolesti. Prvi je u nas dokazao

atipičnu kugu peradi (newcastlesku bolest) i opisao neka svojstva uzročnika. Istražuje sa suradnicima virusni pobačaj kobilu, nekrobacilozu, bolest nalik na „heartwater disease“ u koza, psitakozu u papiga, infektivnu anemiju kopitara, influencu konja, etiologiju vodene bolesti šarana i virusni stomatitis u goveda. U različitim vrsta bakterija dokazuje hijaluronidazu i utvrđuje značenje tog fermenta za patogenost ovih mikroorganizama. Uključio se u istraživanja etiologije, patogeneze i preventive bolesti dišnog i probavnog sustava goveda u intenzivnom uzgoju. Dokazani su i identificirani virusi od mogućeg značenja u nastajanju bolesti, npr. virus zaraznog rinotraheitisa goveda, goveđi enterovirusi, virus parainfluenza 3, virus virusnog proljeva goveda i adenovirus tip 1. Istraživanja su pomogla u rješavanju nekih problema kod dijagnosticiranja,



Slika 3. Prof. dr. sc. Ankica Marinović predaje odlikovanje Predsjednika RH akademiku Topolniku.

u epizootologiji i imunoprofilaksi spomenutih govedih bolesti i infekcija. Istraživao je još i kontaminaciju krmnih smjesa salmonelama, značenje nekih mikroorganizama u sjemenu pastuha i njihovu ulogu u genitalnoj infekciji kobilica, patogenost sojeva nekih kvasaca za pileći embrij, pokušaj liječenja paratifusa svinja bakteriofagom, utjecaj slobodnih aminokiselina na umnažanje virusa i etiologiju, patologiju, i terapiju distrofiju jetre u konja. Rezultati njegova znanstvenog rada citiraju se u stručnoj literaturi i u standardnim priručnicima iz mikrobiologije i epizootologije.

Kao dekan Veterinarskog fakulteta profesor Topolnik je bitno pridonio razvoju i organizaciji znanstvenih jedinica. Posebno se to odnosi na osnivanje Centra za patologiju peradi. Poticao je osnivanje Virusološkog laboratorija na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti. Omogućio je mlađim suradnicima specijalizaciju u prestižnim virusološkim laboratorijima u Europi. Laboratorij je postao jezgra veterinarske virusologije u nas. Aktivno je pomagao u početku i rad sličnog laboratorija u Veterinarskom institutu u Zagrebu.

Akademik Topolnik je dostignuća svojih znanstvenih istraživanja, kao i iskustva u organizacijskom radu objavio u 55 stručnih radova. Radovi su koristili djelatnicima u području mikrobiologije, imunologije i zaraznih bolesti da prošire svoje znanje. Posebno izdvajamo radove o problemima nastave i organizacije Veterinarskog fakulteta i Veterinarskog instituta u Zagrebu. Bogato iskustvo kao dekana i prodekana Fakulteta te kao člana brojnih Sveučilišnih odbora prenosio je mlađima i olakšao im riješiti naišle poteškoće. U američkom časopisu *Advances in Veterinary Medicine* objavio je prikaz o radu Veterinarskog instituta u Zagrebu i Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. U Enciklopediji Leksikografskog

zavoda i u Medicinskoj enciklopediji objavio je više članaka. Za studente veterinarske medicine napisao je nekoliko skripata i udžbenik *Mikrobiologija za veterinare* u suradnji s profesorom Franjom Mlincem i profesorom Mladenom Hajsigom. Napisao je i *Praktikum iz mikrobiologije i imunologije*, kao i *Priručnik za veterinarske bakteriološke i serološke laboratorije*.

Kao šef Odjela za viruse i rikecije na Veterinarskom institutu u Zagrebu uveo je u stručni i znanstveni rad veći broj stručnjaka iz svih dijelova tadašnje države, koji su nastavili rad na lokalnim institutima i fakultetima. Na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu je, uz nastavni rad sa studentima, uvijek bio okružen netom diplomiranim veterinarima željnim usavršavanja i daljnje izobrazbe. Mnogi kasnije priznati znanstvenici i nastavnici, ne samo veterinari već i nekoliko liječnika i biologa, izobraženi su pod vodstvom akademika Topolnika. Na Veterinarskom je fakultetu organizirao nastavu III. stupnja (tj. poslijediplomski studij) iz *Mikrobiologije i epizootologije*. Pod njegovim vodstvom magisterij je završilo 37 veterinarara, a znanstveni stupanj doktor veterinarske medicine stekao je 41 veterinar. Iz istog je područja nekoliko veterinarara završilo specijalizaciju. Za svoj nastavni, stručni i znanstveni rad akademik Topolnik primio je više nagrada, odlikovanja i priznanja.

I na kraju, neka mi bude dopušteno nekoliko ljudskih, prijateljskih riječi. S akademikom Topolnikom veže me šezdeset godina poznanstva, suradnje, međusobnog poštivanja i, mislim da nije pretenciozno ako kažem, prijateljstva. Tada, a bilo je to 1952., njegov znanstveni rad bio je vezan na SVIZ (Savezni veterinarski istraživački zavod, kako se neko kraće vrijeme nazivao današnji Hrvatski veterinarski institut). Radio je na virusnom pobačaju kobilica. Kao student 4. godine studija

uključio sam se u taj rad. Četiri godine kasnije primljen sam na natječaju za asistenta u Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Predstojnik je Zavoda i dekan Fakulteta tada bio profesor Topolnik. Od početka je pratio moj rad u Zavodu, a u izradi disertacije, kao i svih kasnijih napredovanja u nastavnom i znanstvenom zvanju bio mi je mentor. Nakon što je 1981. otišao u mirovinu jednom tjedno došao bi na kavu k meni na Fakultet. Volio je čuti novosti u Zavodu i struci općenito. Rado se prisjećao događaja koje je prolazio u životu. Sjetio bi se mnogih kolega iz veterinarske struke, ali i drugih ljudi iz javnoga života i akademske zajednice. Imao je, a ima i sada u poznim godinama, poseban dar koji je privilegija rijetkim ljudima. Vrlo brzo nakon što upozna neku osobu, nepogrešivo procijeni osobnost sugovornika. O tome sam se uvjerio u mnogim prilikama. Poslije smo se sastajali u Akademijinu Razredu za medicinske znanosti. Opet uz kavu i razgovor. Zadržao bi se jedan sat (srijeda od 11-12h), uz obvezno: „Trebate obaviti vaše tajničke poslove. Dosta sam vas zadržao“. Posljednjih godina često se čujemo telefonom, a redovito ga i posjećujem.

Uvijek je bio tolerantan, izbjegavao je sukobe i jalove polemike. Ako je bio prinuđen donijeti procjenu, ona je bila kratka, jasna i neporeciva. Volio je umjetnost, beletristiku, glazbu, a naročito slikarstvo. I sam je bio, samozatajno kao i inače, slikar-amater. Njegovi akvareli zagorskih pejzaža odaju ljubav prema prirodi. Kao đak i student propješačio je dobar dio Gorskog Kotara. Pješačeći danima upoznao je jadransku obalu od Rijeke (zapravo Sušaka) do Šibenika. Mnogo kasnije propješačio je, zajedno s akademikom Forenbacherom i profesorom Delakom dobar dio Velebita. Pri tome im je, kao što se više puta toga prisjetio, mnogo pomogao bosanski konjić, kojega su kupili na ličkoj strani Velebita, da bi ga prešavši planinu, u Primorju prodali.

Akademik Topolnik, sada već u 101. godini, živi umirovljenički život, sam u stanu. Od obitelji nema nikoga. Kći jedinica umrla je prije nekoliko godina. Od porodice u Zagrebu žive dvojica nećaka. Srećom još se dobro kreće po stanu, pročita Večernji list, gleda televiziju i prati dnevna zbivanja. Uvijek kada ga posjetim rado prokomentira aktualna zbivanja, a neizostavno i sportske događaje. Svakodnevno se o njemu brine patronažna medicinska sestra.

RAZNO I SVAŠTICA

VETERINARSTVO I RAT. U obljetnici sadašnjeg rata bez sumnje je zanimivo doznati, koliko je veterinaru palo u ratu, koliko ih je ranjenih, koliko ih se izgubilo, a koliko je bilo odlikovanih. Koliko se do sada znade bilo je do 2. augusta 1915. u Njemačkoj ranjenih 180, izgubilo ih se 10, palo 89; u Austougarskoj ranjenih 11, izgubila 3, pala 22. U Njemačkoj odlikovano je 1559 veterinaru, a u Austriji 179.

„Banovac“ (Petrinja), 43, 3, 1915 (god. 26) (23. listopada 1915.).

CLOXAMED® DC forte

intramamarna suspenzija, uljna, antibakterijski lijek za l.mam. primjenu, penicilini otporni na β -laktamaze, klosacilin za krave u suhostaji

SASTAV : Jedan Cloxamed® DC forte injektor (12 ml) u 8 g uljne suspenzije sadržava:

Klosacilin natrij monohidrat.....200 mg

Klosacilin benzatin.....800 mg

OSNOVNA SVOJSTVA I DJELOVANJE

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

INDIKACIJE

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

NAČIN PRIMIJENE I DOZE

Nakon što se krave zadnji puta temeljito izmruze, pažljivo se očisti i dezinficira vrh sisa. Prije upotrebe injektor treba protresti. Nakon skidanja zaštitne kapice nastavak injektora ne smije se dirati prstima. Cloxamed® DC Forte aplicira se jednokratno l.mam. (1 injektor/1 četvrt). Nastavak injektora oprezno se uvede u sisni kanal i istisne njegov sadržaj. Istovremeno se mora tretirati sve četvrti vimena. Apliciranu suspenziju ne smije se masiranjem potiskivati u gornje dijelove žlijezde jer se može stvoriti čep. Lijek se smije primijeniti samo ako je do očekivanog termina teljenja ostalo 42 ili više dana.

KARENCIJA

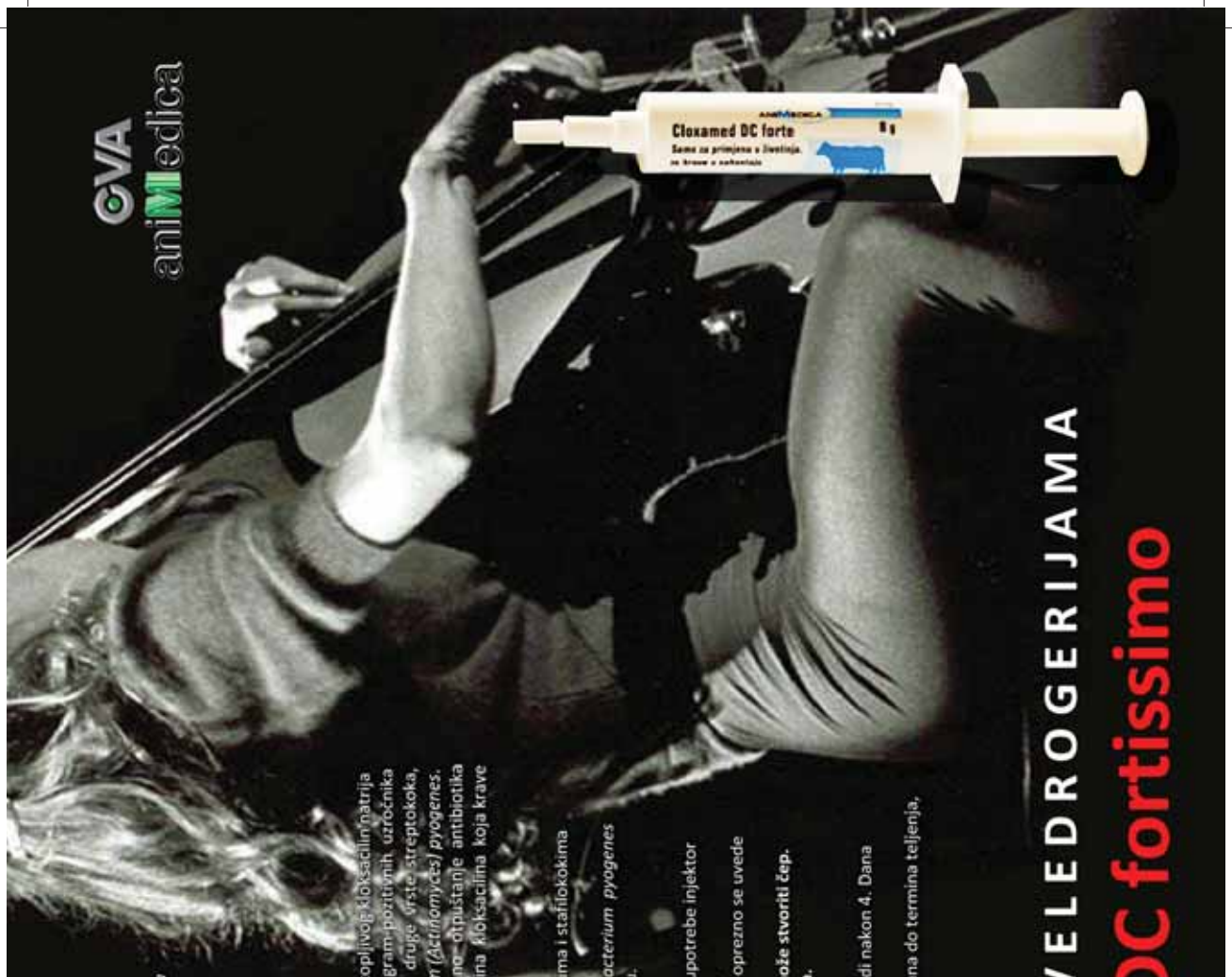
- Mlijeko krava, lijenih više od 42 dana prije termina teljenja, može se koristiti za hranu ljudi nakon 4. Dana po teljenju, tj. nakon 8. mužnje u krava koje se doji 2 x na dan. Ako se krave prijevremeno otele ili pobace ili im se lijek aplicira u razdoblju kraćem od 42 dana do termina teljenja, tada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

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

Cijena injektora od 12 ml - 10,00 kn

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

CLOXAMED® DC fortissimo



Sadržaj olova, kadmija i žive u različitim vrstama meda županija kontinentalne Hrvatske



Nina Bilandžić, Marija Sedak, Maja Đokić, Ana Končurat i M. Brstilo

Uvod

Med je sladak i gust prirodni proizvod pčela medarica (*Apis mellifera*) koje skupljaju nektar cvjetova i prerađuju u ljekoviti i energetski pripravak za ljudski organizam (Vanhanen i sur., 2011.). Uglavnom je sastavljen od fruktoze i glukoze (65%) te 15 do 20% vode, ovisno od vrsti meda te vrlo malih količina bjelanjčevina (Silva i sur., 2009.). Sadržaj je minerala u medu vrlo nizak i kreće se od 0,04% u svjetlijim vrstama do 0,2% u tamnim vrstama meda (Fernández-Torres i sur., 2005.). Ljekovita i terapijska svojstva medu daje sastav različitih minerala važnih za organizam kao što su: željezo, kalcij, magnezij, natrij, kalij, mangan, bakar i fosfor, odnosno aminokiseline i visoko vrijedne organske kiseline kao što su: jabučna, limunska i jantarna kiselina te vitamin C i elementi kompleksa vitamina B (niacin, pantotenska kiselina, biotin i folna kiselina). Jedna žlica meda (21 g) sadrži 0,06 g bjelanjčevina, 17,3 g ugljikohidrata te 0,042 g prehrambenih vlakana (Med, 2011.).

Najčešće vrste meda koje se proizvode u Republici Hrvatskoj su

med od amorfe, bagrema, kestena, lipe te cvjetni (livadni) med, a u manjem obimu med od kadulje, ružmarina, vrijeska i lavande koji su karakteristični za južni priobalni i otočki krški kraj (Med, 2011.). Bagremov je med (*Robinia pseudoacacia* L.) izrazito svijetle žute boje, blaga ugodna mirisa i okusa te se zbog svojih osobina ubraja u najcjenjenije vrste meda. Ovaj med pomaže kod nesanice, umiruje previše nadraženi živčani sustav i otklanja posljedice nagomilanog stresa. Kestenov je med (*Castanea sativa* Mill.) tamne boje koja varira ovisno o podneblju i godini, prepoznatljivog je mirisa i karakterističnog gorkastog okusa. Poznato je da povoljno djeluje na cjelokupni probavni sustav, odnosno potiče rad crijeva, olakšava rad preopterećene jetre i žuči te štiti želučanu i crijevnu sluznicu.

Lipov je med (*Tilia* spp.) bistar, gotovo proziran, ugodna mirisa i vrlo blaga okusa. Koristi se kod prehlada, upala dišnih i probavnih organa te nekih bubrežnih oboljenja, a posebno je značajan za izbacivanje štetnih tvari iz organizma jer potiče metabolizam.

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., dr. sc. Mate BRSTILO, dr. med. vet., znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Ana KONČURAT, dr. med. vet., Veterinarski zavod Križevci, Križevci

Cvjetni (livadni) med je različite boje od svijetle do tamne, jer se dobiva od tisuća raznih cvjetova livadnog i grmolikog bilja ovisno o strukturi biljnih vrsta nekog područja. Ugodnog je okusa i širokog spektra djelovanja te je svoju primjenu našao kod srčanih bolesnika i osoba s niskim krvnim tlakom. Također, ovaj med povoljno utječe na djecu u razvoju, starije osobe, kao i sve one kojima je potreban oporavak i dodatna energija.

Med se može smatrati bioindikatorom onečišćenja okoliša, jer je rezultat biokumulativnog procesa u okolišu (Conti i Botre, 2001.). Naime, pčele pri skupljanju nektara koriste za „ispašu“ relativno veliko područje (više od 7 km²) te su u stalnom kontaktu sa zrakom, vodom, tlom i vegetacijom područja. Velike razlike u sadržaju elemenata u različitim vrstama meda uvjetovane su botaničkim te geografskim podrijetlom, odnosno sastavom tla te klimatskim karakteristikama područja iz kojeg potječe (Bogdanov i sur., 2007.). Okolišna zagađenja koja mogu doprinijeti prisutnosti toksičnih elemenata u medu mogu biti industrijska kao što su: talionice metala i njihova odlagališta, odlagališta smeća i tehnike, autoceste i prometnice zbog olovnih benzinskih para te umjetna gnojiva koja sadrže Cd i pesticidi koji sadrže organski vezane Hg i As (Bratu i Beorgescu, 2005., Rashed i sur., 2009.). Isto tako, kontaminacija toksičnim metalima može nastati i uslijed nepravilnih postupaka pri pripremi i konzerviranju meda, odnosno zbog kisele prirode meda može doći do otpuštanja elemenata, kao što su krom, olovo i cink iz metalnih alata ili posuda (Pisani i sur., 2008.).

U većini studija koje su provedene u prošlom desetljeću istraživane su razlike u sadržaju elemenata s obzirom na geografski položaj. Veliki broj istraživanja odnosio se i na određivanje makroelemenata (K, Na, Mg, Ca, P, S, Fe), odnosno esencijalnih elemenata (Zn, Se,

Cr, Co, Cu), a vrlo je rijetko određivan sadržaj toksičnih elemenata (Cd, Hg, Pb). Najveći broj istraživanja proveden je i u cvjetnoj vrsti meda u zemljama Europske Unije: Italiji (Buldini i sur., 2001., Pisani i sur., 2008.), Francuskoj (Devillers i sur., 2002.), Španjolskoj (Hernandez i sur., 2005., Garcia i sur., 2006.), Sloveniji (Golob i sur., 2005., Kropf i sur., 2010.), Turskoj (Tuzen, 2002., Erbilir i Erdoğrul, 2005., Tuzen i Soylak, 2005., Tuzen i sur., 2007.), Poljskoj (Przybyłowski i Wilczyńska, 2001.), Republici Češkoj (Lachman i sur., 2007.) i Rumunjskoj (Bratu i Beorgescu, 2005.). Međutim, manji broj istraživanja proveden je na monocvjetnim vrstama meda karakterističnim za zemlju podrijetla, odnosno u: Egiptu (Rashed i Soltan, 2004.), Novom Zelandu (Vanhanene i sur., 2011.), Sloveniji (Golob i sur., 2005.) Italiji (Pisani i sur., 2008.) i Turskoj (Silici i sur., 2008.).

U ovome su radu određivane koncentracije toksičnih elemenata kadmija (Cd), olova (Pb) i žive (Hg) u medu bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), kestena (*Castanea sativa* Mill.) lipe (*Tilia spp.*) i cvjetnom medu sakupljenih u različitim geografskim područjima kontinentalne Hrvatske.

Materijali i metode

Uzorkovanje meda

Sakupljeno je ukupno 46 različitih vrsta meda odnosno: 15 cvjetnih, 15 bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), 4 lipe (*Tilia spp.*) i 11 kestena (*Castanea sativa* Mill.). Uzorci su sakupljeni u županijama kontinentalne Hrvatske (Sisačko-moslavačka, Zagrebačka, Bjelovarsko-bilogorska, Koprivničko-križevačka, Krapinsko-zagorska, Varaždinska, Osječko-baranjska) na lokacijama naselja navedenih u tabeli 1. Nakon uzorkovanja uzorci meda (500 g) pohranjeni su u staklene posude te su čuvani na temperaturi od 4 do 8 °C do analize.

Tabela 1. Podjela uzoraka meda po vrsti i geografskom podrijetlu u kontinentalnoj Hrvatskoj.

Oznaka uzorka	Vrsta meda	Mjesto	Županija
B1	Bagrem (<i>Robinia Pseudocacia L.</i>)	Križevci	Koprivničko-križevačka
B2		Koprivnica	Koprivničko-križevačka
B3		Koprivnica	Koprivničko-križevačka
B4		Virovitica	Koprivničko-križevačka
B5		Grub. Polje	Koprivničko-križevačka
B6		Grub. Polje	Koprivničko-križevačka
B7		Belec	Krapinsko-zagorska
B8		Konjščina	Krapinsko-zagorska
B9		Konjščina	Krapinsko-zagorska
B10		Krapina	Krapinsko-zagorska
B11		Zagreb	Zagrebačka
B12		Zagreb	Zagrebačka
B13		Iv. Grad	Zagrebačka
B14		Iv. Grad	Zagrebačka
B15		Dugo Selo	Zagrebačka
K1	Kesten (<i>Castanea sativa Mill.</i>)	Glina	Sisačko-moslavačka
K2		Petrinja	Sisačko-moslavačka
K3		Petrinja	Sisačko-moslavačka
K4		Garešnica	Bjelovarsko-bilogorska
K5		Daruvar	Bjelovarsko-bilogorska
K6		Đurđevac	Koprivničko-križevačka
K7		Virovitica	Koprivničko-križevačka
K8		Osijek	Osječko-baranjska
K9		Osijek	Osječko-baranjska
K10		Varaždin	Varaždinska
K11		Varaždin	Varaždinska
I1	Lipa (<i>Tilia spp.</i>)	Koprivnica	Koprivničko-križevačka
I2		Đurđevac	Koprivničko-križevačka
I3		Đurđevac	Koprivničko-križevačka
I4		Đurđevac	Koprivničko-križevačka
C1	Cvjetni	Novigrad Podravski	Bjelovarsko-bilogorska
C2		Batinjani	Bjelovarsko-bilogorska
C3		Slatina	Bjelovarsko-bilogorska
C4		Orahovica	Bjelovarsko-bilogorska
C5		Krapina	Krapinsko-zagorska
C6		Donja Stubica	Krapinsko-zagorska
C7		Ivanić Grad	Zagrebačka
C8		Ivanić Grad	Zagrebačka
C9		Dugo Selo	Zagrebačka
C10		Zagreb	Zagrebačka
C11		Zagreb	Zagrebačka
C12		Zagreb	Zagrebačka
C13		Zagreb	Zagrebačka
C14		Varaždin	Varaždinska
C15		Varaždin	Varaždinska

Kemikalije i standardi

Kemikalije, HNO_3 i HCl nabavljene su od Kemike (Zagreb, Hrvatska). U analizama je korištena ultračista voda ($18,2 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) dobivena sustavom NIRO VV UV UF 20 (Nirosta d.o.o. Water Technologies, Osijek, Hrvatska). Modifikatori za analize magnezij-nitrat $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 10 000 mg/L, paladij-nitrat $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ 10 000 mg/L i amonij-fosfat $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ nabavljeni su od Perkin Elmer (Sjedinjene Američke Države).

Za kalibraciju instrumenta korišteni su certificirani standardi za Cd, Pb i Hg od 1000 mg/L (Perkin Elmer, Sjedinjene Američke Države). Radni standardi za Cd i Pb su pripremani razrjeđivanjem certificiranih standarda s 0,2% conc. HNO_3 . Radni standard Hg pripreman je dodatkom 1 mL HNO_3 (konc.), 0,1 mL 10 % $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ i 0,1 mL HCl (konc.) te je čuvan u tamnom staklenom odmjernom posuđu.

Instrumenti

Koncentracije Cd i Pb određene su atomskim apsorpcijskim spektrometrom AAnalyst 800 (Perkin Elmer, Sjedinjene Američke Države) primjenom grafitne tehnike, odnosno mjerenjem apsorbanca pri valnim duljinama od 228,8 nm i 283,3 nm. U svakoj analizi pri atomizaciji uzoraka za olovo korišten je modifikator 0,05 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ i 0,003 mg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, a za kadmij 0,003 mg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ i 0,005 mg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$.

Živa je određivana na živinom analizatoru AMA-254 (Leco, Poljska), direktnim spaljivanjem uzorka u atmosferi bogatoj kisikom pri valnoj duljini od 253,65 nm.

Iskorištenja metoda određivana su obogaćivanjem uzoraka meda s tri elementa, na tri koncentracijska nivoa ($n=6$) kod kadmija i žive na 1, 1,5 i 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ te kod olova na 10, 15 i 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Granice određivanja (LOD) određene su kao koncentracije koje odgovaraju tri puta standardnoj devijaciji određenoj analizom 20 negativnih uzoraka meda.

Priprema uzoraka

Uzorci meda su pripremani mokrim spaljivanjem u mikrovalnoj pećnici Multiwave 3000 (Anton Paar, Njemačka). Uzorci (0,5 g) se važu u teflonske posudice te se doda 2 mL H_2O_2 (30%) i 4 mL HNO_3 (65%). Mikrovalna se digestija provodi u tri koraka: prvi korak snage 500 W 1 minutu te zadržavanje 4 minute, drugi korak na 1000 W 5 minuta te zadržavanje 5 minuta te treći korak 1400 W, 5 minuta i zadržavanje 10 minuta. Bistra otopina kvantitativno se prenosi u odmjerne tikvice od 50 mL te dopuni do oznake ultračistom vodom. Isti se postupak koristi i za slijepu probu, ali bez uzorka.

Statistička analiza

Rezultati istraživanja obrađeni su statističkim programom Statistica® 6,1 (StatSoft® Inc., Sjedinjene Američke Države). Koncentracije elemenata Cd, Pb i Hg izražene su kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija (SD) te kao raspon (minimalna - maksimalna vrijednost). One-way ANOVA je primijenjena u određivanju analize variance. Zbog velikih razlika u koncentracijama Pb unutar pojedine grupe određivanja koncentracije su logaritmirane sa svrhom poboljšanja normalne razdiobe prije analize ANOVA. Razlike u koncentracijama elemenata iste vrste meda različitog geografskog podrijetla, odnosno između različitih vrsta meda provedene su t-testom. Statistički značajne razlike izražavane su na nivou značajnosti $p < 0,05$.

Rezultati

Utvrđene su granice određivanja elemenata (LOD, $\mu\text{g}/\text{kg}$) u medu od: Cd 0,5, Pb 5,0 i Hg 0,5. Rezultati provjere iskorištenja određivanih elemenata Cd, Pb i Hg su iznad 96% što je prikazano u tabeli 2.

Tabela 2. Iskorištenja elemenata Cd, Pb i Hg u uzorcima meda.

Element	Dodana koncentracija (µg/kg)	Određena koncentracija (µg/kg)	Iskorištenje (%)
Cd	1	0,967 ± 0,033	96,7
Hg	1	0,992 ± 0,014	99,2
Pb	10	9,78 ± 1,25	97,8

Srednje vrijednosti koncentracija elemenata Cd, Pb i Hg te minimalna i maksimalna vrijednost u medu bagrema, kestena, lipe i cvjetnom medu iz različitih županija prikazane su u tabeli 3.

Koncentracije Cd u medu određene su u rasponu od 1,0 do 5,3 µg/kg, a najviša koncentracija određena je u cvjetnom medu Zagrebačke županije. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između koncentracija Cd u pojedinim vrstama meda s obzirom na različito geografsko podrijetlo, odnosno županiju. Statistički značajno više koncentracije Cd utvrđene su u cvjetnom medu Varaždinske županije u odnosu na koncentracije u med bagrema Križevačko-koprivničke županije ($p < 0,05$).

Koncentracije Hg kretale su se od 0,11 do 6,53 µg/kg, a najviši sadržaj određen je u medu kestena Bjelovarsko-bilogorske županije. Značajnih razlika u pojedinoj vrsti meda s različitih geografskih lokacija nije bilo. Međutim, statistički značajno više koncentracije Hg utvrđene su u medu kestena Bjelovarsko-bilogorske županije u odnosu na vrijednosti meda bagrema Krapinsko-zagorske županije ($p < 0,05$).

Sadržaj Pb u istraživanim vrstama meda pokazao je velike razlike, od minimalne vrijednosti od 17,9 µg/kg određene u cvjetnom medu Varaždinske županije, do najviše vrijednosti 2099 µg/kg u medu lipe Koprivničko-križevačke županije. Između županija nisu određene statistički značajne razlike za pojedinu vrstu meda. Statistički značajno više koncentracije Pb utvrđene su u cvjetnom medu i medu kestena Bjelovarsko-

bilogorske županije u odnosu na koncentracije određene u medu kestena Osječko-baranjske ($p < 0,05$, obje).

Rasprava

Povišene koncentracije toksičnih elemenata u medu nastaju uslijed povišenih količina u nektaru biljaka. Količine toksičnih elemenata u medu su obično jako niske te kada se konzumira i do 100 g meda dnevno njihova količina neće znatno utjecati na izloženost njihovu utjecaju. Međutim, ako je okoliš zagađen s jednim ili više toksičnih elemenata to može imati toksikološki utjecaj na potrošača. Prema tome, određivanje elemenata važno je s ekološkog i toksikološkog stanovišta, no međutim i za utvrđivanje kontrole kakvoće meda kao složenog prirodnog proizvoda. To je od posebne važnosti zbog sve većeg trenda proizvodnje meda i njegovih proizvoda u svijetu te činjenice da je Europska Unija najveći svjetski potrošač meda (Vanhanen i sur., 2011.).

Biljke nakupljaju Cd uglavnom iz tla što se pojačava zakiseljavanjem tla usljed zagađenja kiselim kišama (Erikson i sur., 1996.). Sadržaj Cd u tlu ovisi i o prirodnom prisustvu Cd, međutim znatno ga povećava primjena fosfornih gnojiva, otpad prirodnih boja na bazi tla kao što je kreč te otpadna kanalizacija (Hellström i sur., 2007.). Kronično izlaganje Cd može utjecati i na funkciju bubrega, spolne organe te razvoj organa u nedonoščadi (Lu, 1991., Brus i sur., 1995.).

Tabela 3. Koncentracije elemenata Cd, Pb i Hg u uzorcima meda bagrema, kestena, lipe te cvjetnom medu s različitih geografskih lokacija kontinentalne Hrvatske.

Vrsta meda	Geografsko podrijetlo (županija)	Broj uzoraka	Statističke vrijednosti	Koncentracije elemenata (µg/kg)		
				Cd	Hg	Pb
BAGREM	Koprivničko-križevačka	6	srednja vrij.±SD	1,55 ± 0,81*	1,64 ± 1,35	293 ± 569
			raspon	1,0 – 3,0	0,36 – 4,0	44,2 – 1453
	Krapinsko-zagorska	4	srednja vrij.±SD	1,08 ± 0,09	1,24 ± 1,08*	608 ± 986
			raspon	1,0 – 1,2	0,11 – 2,31	70,1 – 2085
	Zagrebačka	5	srednja vrij.±SD	2,30 ± 1,76	1,63 ± 1,14	330 ± 386
			raspon	1,0 – 5,1	0,52 – 3,0	81,1 – 1013
KESTEN	Sisačko-moslavačka	3	srednja vrij.±SD	1,27 ± 0,46	1,27 ± 0,63	584 ± 590
			raspon	1,0 – 1,8	0,67 – 1,92	138 – 1254
	Bjelovarsko-bilogorska	2	srednja vrij.±SD	1,50 ± 0,71	3,65 ± 0,34*	223 ± 61,5*
			raspon	1,0 – 2,0	3,32 – 3,81	179 – 266
	Koprivničko-križevačka	2	srednja vrij.±SD	2,0 ± 1,41	3,56 ± 3,63	845 ± 791
			raspon	1,0 – 3,0	1,0 – 6,13	53,1 – 1637
	Osječko-baranjska	2	srednja vrij.±SD	1,50 ± 0,71	4,25 ± 3,18	65,3 ± 5,59*
			raspon	1,0 – 2,0	2,0 – 6,50	61,3 – 69,2
	Varaždinska	2	srednja vrij.±SD	1,45 ± 0,61	1,47 ± 1,62	175 ± 132
			raspon	1,0 – 2,0	0,32 – 2,61	81,2 – 268
LIPA	Koprivničko-križevačka	4	srednja vrij.±SD	2,0 ± 1,41	1,51 ± 0,93	1015 ± 886
			raspon	1,0 – 4,0	0,64 – 2,71	155 – 2099
CVJETNI	Bjelovarsko-bilogorska	4	srednja vrij.±SD	2,25 ± 0,96	2,23 ± 1,86	365 ± 215*
			raspon	1,0 – 3,0	1,11 – 5,0	134 – 574
	Krapinsko-zagorska	2	srednja vrij.±SD	1,50 ± 0,71	2,55 ± 0,64	128 ± 64,9
			raspon	1,0 – 2,0	2,1 – 3,0	82,2 – 174
	Zagrebačka	7	srednja vrij.±SD	2,19 ± 1,76	1,45 ± 1,12	541 ± 645
			raspon	1,0 – 5,3	0,31 – 3,0	27,5 – 1521
	Varaždinska	2	srednja vrij.±SD	3,50 ± 0,71*	2,02 ± 0,12	144 ± 178
			raspon	1,0 – 4,0	1,93 – 2,1	17,9 – 270
SVI UZORCI	Sve županije zajedno	46	srednja vrij.±SD	1,85 ± 1,18	1,93 ± 1,47	412 ± 559
			raspon	1,0 – 5,3	0,11 – 6,5	17,9 – 2099

* Statistički značajne razlike između vrsta meda pri nivou značajnosti: $p < 0,05$

U ovome radu određene su srednje koncentracije Cd svih vrsta meda iz svih geografskih područja u rasponu od najniže od 1,8 µg/kg u medu bagrema Krapinsko-zagorske županije do najviše od 3,3 µg/kg u cvjetnom medu Varaždinske županije. Dobivene su koncentracije slične prijašnje određenoj vrijednosti od 1,51 µg/kg u Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2011.), odnosno sadržaju od 0,38 do 2,03 µg/kg određenom u Turskoj (Silici i sur., 2008.) te 3,63 µg/kg u Makedoniji (Stankovska i sur., 2006./2007.). Međutim, koncentracije Cd određene u cvjetnom medu u rasponu do 1,50 do 3,5 µg/kg u ovome radu znatno su niže od sadržaja od 10,9 do 21,2 µg/kg, odnosno od 1,1 do 17,9 µg/kg određenih u cvjetnom medu u Turskoj (Tuzen i Soylak, 2005., Tuzen i sur., 2007.). Izrazito visoke vrijednosti Cd od 305 µg/kg određene su u Bolonji u Italiji (Buldini i sur., 2001.).

Olovo je jedan od najraširenijih toksičnih elemenata te kao i Cd dospijeva do čovjeka iz vode, tla i naravno, hrane. Pošto nema korisnu ulogu, kao na primjer bakar ili selen, uzrokuje progresivnu toksičnost te potiče poremećaje kao što su: umor, nesanica, gubitak sluha te gubitak na težini, encefalopatiju, gastroenteritis, te degeneraciju perifernih živaca u slučajevima izloženosti malim dozama kroz duže vrijeme. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) i Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO) predložile su prihvatljive količine glavnih toksičnih elemenata koji se mogu nakupiti kao privremeni tjedni unos (eng. provisional tolerable weekly intake, PTWI; µg/kg tjelesne mase): 7 za Cd, 25 za Pb i 5 za Hg (WHO, 1989., WHO, 2000., JECFA, 2005.).

U ovome radu Pb je određeno (µg/kg) iznad koncentracija od 500 µg/kg u vrstama meda: 541 u cvjetnom medu Zagrebačke županije, 584 u medu kestena Sisačko-moslavačke županije, 608 u medu bagrema Krapinsko-zagorske županije te 845 u medu kestena i 1015

u medu lipe Koprivničko-križevačke županije. Određene su i velike varijacije u koncentracijama Pb u pojedinoj vrsti meda. Tako je na primjer određen sadržaj Pb u medu kestena u 5 županija (µg/kg): 65,3, 175, 223, 584 i 845. Najniža srednja koncentracija od 65,3 µg/kg određena je u medu kestena Osječko-baranjske županije te je ona i značajno niža u odnosu na koncentracije Pb utvrđene u cvjetnom medu i medu kestena Bjelovarsko-bilogorske županije.

Izmjerene su koncentracije Pb u ovome radu znatno više od najviših koncentracija Pb određenih u drugim zemljama Europske Unije: do 4,3 µg/kg u Sloveniji (Golob i sur., 2005.), do 76,4 µg/kg u Italiji (Pisani i sur., 2008.), do 70 µg/kg u Poljskoj (Przybyłowski i Wilczyńska, 2001.) te do 36,7 µg/kg (Silici i sur., 2008.), 106 µg/kg (Tuzen i sur., 2007.) i čak 320 µg/kg u Turskoj (Erbilir i Erdoğrul, 2005.). Sadržaj Pb u cvjetnom medu iz četiri županije Hrvatske je za 2 do 23 puta viši u odnosu na prijašnja istraživanja te vrste meda u Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2011.). Niske vrijednosti Pb do najviše vrijednosti od 40 µg/kg određene su u različitim vrstama monocvjetnog meda s Novog Zelanda (Vanhanen i sur., 2011.). Međutim, izrazito visoke koncentracije Pb od 620 µg/kg određene su u cvjetnom medu iz Bolonje, odnosno u dva cvjetna meda (670 i 695 µg/kg) podrijetlom iz Indije (Buldini i sur., 2001.). Izrazito visok sadržaj Pb u medu uvijek se povezuje s blizinom košnica, odnosno ispaše pčela, autocestama, odnosno željezničkim prugama. Zato se smještaj košnica preporuča na udaljenijim lokacijama.

U literaturi je dostupno svega nekoliko podataka o količinama Hg u medu. Zagađenje Hg uzrokuje industrijski i urbani otpad, rudarenje i izgaranje pri preradi metala (Zhang i Wong, 2007.). U Slovačkoj su određene količine Hg u medu nezagađenog područja od 1 do 3 µg/kg dok su u industrijski zagađenom području koncentracije iznosile od 50

do 212 µg/kg (Toporcák i sur., 1992.). U cvjetnim i monocvjetnim vrstama meda u talijanskoj pokrajini Siena određene su vrlo niske koncentracije Hg, manje od granice određivanja od 2 µg/kg (Pisani i sur., 2008.). Niske koncentracije Hg određene su i u ovome radu te su u 7 od 13 skupina meda određene ispod 2 µg/kg, a najviša srednja vrijednost od 4,25 µg/kg određena je u medu kestena Osječko-baranjske županije.

Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti da ne postoji značajno izlaganje zagađenju s Cd odnosno Hg na područjima u kojima su uzorkovani uzorci meda. Međutim, srednje vrijednosti Pb u svim vrstama meda su znatno više od vrijednosti utvrđenih u drugim europskim zemljama. Stoga, od posebne je važnosti da se košnice, odnosno ispaša pčela, postavlja na lokacijama što udaljenijim od prometnih cesta i željeznica.

Sažetak

Ukupno 46 uzoraka meda vrsta cvjetnih te monocvjetnih bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), kestena (*Castanea sativa* Mill.) i lipe (*Tilia* spp.) su sakupljeni u sedam županija kontinentalne Hrvatske. Određene su koncentracije elemenata Cd, Pb i Hg. Granice određivanja elemenata (LOD, µg/kg) u uzorcima meda su: Cd 0,5, Pb 5,0 i Hg 0,5. Koncentracije Cd određene su u rasponu od 1,0 do 5,3 µg/kg, a najviša koncentracija određena je u cvjetnom medu Zagrebačke županije. Statistički značajno više koncentracije Cd utvrđene su u cvjetnom medu Varaždinske županije u odnosu na koncentracije u medu bagrema Križevačko-koprivničke županije ($p < 0,05$). Koncentracije Hg kretale su se od 0,11 do 6,53 µg/kg, a najviši sadržaj određen je u medu kestena Bjelovarsko-bilogorske županije. Značajno više koncentracije Hg utvrđene su u medu kestena Bjelovarsko-bilogorske županije u odnosu na vrijednosti u medu bagrema Krapinsko-zagorske županije ($p < 0,05$). Sadržaj Pb u istraživanim vrstama meda pokazao je velike razlike, od

minimalne vrijednosti od 17,9 µg/kg određene u cvjetnom medu Varaždinske županije, do najviše vrijednosti 2099 µg/kg u medu lipe Koprivničko-križevačke županije. Statistički su značajno više koncentracije Pb utvrđene u cvjetnom medu i medu kestena Bjelovarsko-bilogorske županije u odnosu na koncentracije određene u medu kestena Osječko-baranjske ($p < 0,05$). Najviše određene koncentracije elemenata određene su u vrstama meda: 3,5 µg/kg Cd u cvjetnom medu, 3,65 µg/kg Hg u medu kestena i 1015 Pb µg/kg u medu lipe.

Iako su određene koncentracije Cd i Hg vrlo niske, srednje vrijednosti Pb u svim vrstama meda su znatno više od vrijednosti utvrđenih u drugim europskim zemljama. Prema tome, obvezno treba obratiti pažnju na smještaj košnica na lokacije udaljene od autocesta i željeznica.

Literatura

1. BILANDŽIĆ, N., M. ĐOKIĆ, M. SEDAK, B. SOLOMUN KOLANOVIĆ, I. VARENINA, A. KONČURAT and N. RUDAN (2011): Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food Chem.* 128, 1160-1164.
2. BOGDANOV, S., M. HALDIMANN, W. LUGINBÜHL and P. GALLMANN (2007): Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *J. Apicult. Res.* 46, 269-275.
3. BRATU, I. and C. BEORGESCU (2005): Chemical contamination of bee honey – identifying sensor of the environment pollution. *J. Centr. Europ. Agricult.* 6, 95-98.
4. BRUS, R. R. KOSTRZEWA, W. FRELINSKA, A. PLECH, R. SZKILNIK and J. FRYDRYCH (1995): Ethanol inhibits cadmium accumulation in brains of offspring of pregnant rats that consume cadmium. *Toxicol. Lett.* 76, 57-62.
5. BULDINI, P. L., S. CAVALLI, A. MEVOLI and J. L. SHARMA (2001): Ion chromatographic and voltametric determination of heavy and transition metals in honey. *Food Chem.* 73, 487-495.
6. CONTI, M. E. and F. BOTRE (2001): Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environ. Monit. Assess.* 69, 267-282.
7. DEVILLERS, J., J. C. DORE, M. MARENCO, F. POIRIER-DUCHENE, N. GALAND and C. VIEL (2002): Chemometrical analysis of 18 metallic and non metallic elements found in honeys sold in France. *J. Agricul. Food Chem.* 50, 5998-6007.
8. ERBILIR, F. and O. ERDOĞRUL (2005): Determination of heavy metals in honey in Kahramanmaraş city, Turkey. *Environ. Monit. Assessm.* 109, 181-187.

9. ERIKSON, J., I. ÖBORN, G. JANSSON and A. ANDERSSON (1996): Factors influencing Cd-content in crops. Results from Swedish field investigations. *Swed. J. Agric. Res.* 26, 125-133.
10. FERNÁNDEZ-TORRES, R., J. L. PÉREZ-BERNAL, M. A. BELLO-LÓPEZ, M. CALLEJÓN-MOCHÓN, J. C. JIMÉNEZ-SÁNCHEZ and A. GUIRAÚM-PÉREZ (2005): Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta* 65, 686-691.
11. GARCIA J. C. R., R. I. RODRIGUEZ, R. M. P. CRECENTE, J. B. GARCIA, S. G. MARTIN and C. H. LATORRE (2006): Preliminary chemometric study on the use of honey as an environmental marker in Galicia (northwestern Spain). *J. Agric. Food Chem.* 54, 7206-7212.
12. GOLOB, T., U. DOBERŠEK, P. KUMP and M. NEČEMER (2005): Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chem.* 91, 593-600.
13. HELLSTRÖM, L., B. PERSSON, L. BRUDIN, K. P. GRAWÉE, I. ÖBORN and L. JÄRUP (2007): Cadmium exposure pathways in a population living near a battery plant. *Sci. Total. Environ.* 373, 447-455.
14. HERNÁNDEZ, O. M., J. M. G. FRAGA, A. I. JIMÉNEZ, F. JIMÉNEZ and J. J. ARIAS (2005): Characterization of honey from the Canary Islands: Determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chem.* 93, 449-458.
15. KROPF, U., M. KOROŠEC, J. BERTONCELJ, N. OGRINC, M. NEČEMER, P. KUMP and T. GOLOB (2010): Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chem.* 121, 839-846.
16. LACHMAN, L., D. KOLIHova, D. MIHOLOVA, J. KOŠATA, D. TITERA and K. KULT (2007): Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chem.* 101, 973-979.
17. LU, F. C. (1991): Basic toxicology: fundamentals, target organs, and risk assessment. Taylor and Francis, New York, 248.
18. Med (2011): dostupno na: <http://hr.wikipedia.org/wiki/Med>.
19. PISANI, A., G. PROTANO and F. RICCOBONO (2008): Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). *Food Chem.* 107, 1553-1560.
20. PRZYBYŁOWSKI, P. and A. WILCZYŃSKA (2001): Honey as an environmental marker. *Food Chem.* 74, 289-291.
21. RASHED, M. N. and M. E. SOLTAN (2004): Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *J. Food Comp. Anal.* 17, 725-735.
22. SILICI, S., O. D. ULUOZLU, M. TUZEN and M. SOYLAK (2008): Assessment of trace element levels in rhododendron honeys of Black sea Region, Turkey. *J. Hazard. Mater.* 156, 612-618.
23. SILVA, L. R., R. VIDEIRA, A. P. MONTEIRO, P. VALENTÃO and P. B. ANDRADE (2009): Honey from Luso region (Portugal): physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchem. J.* 93, 73-77.
24. STANKOVSKA, E., T. STAFILOV and R. ŠAJN (2006/2007): The content of cadmium in honey from the republic of Macedonia. *Ekol. Zaš. Živ. Sred.* 10, 11-17.
25. Summary of Evaluation Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (2005): 64th meeting, 8-17 Feb 2005. Rome, Italy
26. TOPORČÁK, J., J. LEGÁTH and J. KUL'KOVÁ (1992): Levels of mercury in samples of bees and honey from areas with and without industrial contamination. *Vet. Med.*, 37, 405-412.
27. TUZEN, M. (2002): Determination of some metals in honey samples for monitoring environmental pollution. *Fres. Environ. Bull.* 11, 366-370.
28. TUZEN, M. and M. SOYLAK (2005): Heavy metal levels in microwave digested honey samples from middle Anatolia, Turkey. *J. Food Drug Anal.* 13, 343-347.
29. TUZEN, M., S. SILICI, D. MENDIL and M. SOYLAK (2007): Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. *Food Chem.* 103, 325-330.
30. VANHANEN, L. P., A. EMMERTZ and G. P. SAVAGE (2011): Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chem.* 128, 236-240.
31. WHO (1989): Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series 776. Geneva.
32. WHO (2000): Evaluation of certain food additives and contaminants. Fifty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series 896. Geneva.
33. ZHANG, I. and M. H. WONG (2007): Environmental mercury contamination in China: sources and impacts. *Environ. Int.* 33, 108-121.

Content of cadmium, lead and mercury in different honey types from continental Croatia counties

Nina BILANDŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Scientific Advisor, Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb; Ana KONČURAT, DVM, Križevci Veterinary Institute, Križevci; Mate BRSTILO, DVM, PhD, Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute Zagreb

A total of 46 samples of multifloral and unifloral honeys, i.e. black locust (*Robinia pseudoacacia* L.), chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and lime (*Tilia* spp.), were collected in seven counties in continental Croatia. The concentrations of elements Cd, Pb and Hg were determined in each honey type. The limit of detection (LOD, $\mu\text{g/kg}$) of the elements determined in honey were: Cd 0,5, Pb 5,0 and Hg 0.5. Cadmium concentrations were determined in the range 1.0 to 5.3 $\mu\text{g/kg}$ and the highest levels were measured in multifloral honey from Zagreb County. Significantly higher levels of Cd were measured in multifloral honey from Varaždin County in comparison with black locust from Križevci-Koprivnica County ($p < 0.05$). Mercury levels were measured in the range of 0.11 to 6.53 $\mu\text{g/kg}$. The highest levels were found in chestnut honey from Bjelovar-Bilogora County. Significantly higher levels of Hg were determined in chestnut honey from

Bjelovar-Bilogora County than in black locust from Krapina-Zagorje County ($p < 0.05$). Concentrations of Pb differed in all honey types and ranged from the lowest level of 17.9 $\mu\text{g/kg}$ in multifloral honey from Varaždin County to the highest level of 2099 $\mu\text{g/kg}$ in lime honey from Križevci-Koprivnica County. However, significantly higher levels of Pb were found in multifloral and chestnut honey from Bjelovar-Bilogora County than in chestnut honey from Osijek-Baranja County ($p < 0.05$, both). The highest element contents measured in different honey types were: Cd 3.5 $\mu\text{g/kg}$ in multifloral, Hg 3.65 $\mu\text{g/kg}$ in chestnut and Pb 1015 $\mu\text{g/kg}$ in lime. Although the Cd and Hg contents measured were very low, average Pb levels found in all honey types were much higher than those reported in other European countries. Therefore, attention should be paid to ensuring the positions of hives in zones more distant from highways and railways.

Određivanje amoksicilina u veterinarsko-medicinskim proizvodima



Sandra Miler, Ksenija Šandor, Vesna Logomerac Šimunec i Svjetlana Terzić

Uvod

Dobra laboratorijska praksa nalaže da analize budu brze, pouzdane i točne i u tu se svrhu provodi njihova validacija. Opseg validacije ovisi ponajviše o samoj metodi, ali i o drugim čimbenicima koji mogu utjecati na rezultate (Green, 1996.). Tijekom validacije metode u realnim uvjetima definiraju se stvarni validacijski parametri, granice prihvatljivosti i učestalost ispitivanja prikladnosti sustava (Anonymus, 1995., Narodne novine, br. 22/05.).

Potpuna validacija je obvezna kod novih analitičkih metoda i metoda za koje ne postoje dokazi o provjeri parametara validacije, dok se djelomična validacija provodi kod standardnih metoda ili modificiranih standardnih metoda. Svaku metodu potrebno je validirati ili revalidirati prije uvođenja u rutinsku primjenu, prilikom bilo koje promjene prvotnih uvjeta u kojima je metoda validirana (promjena instrumenta, vrsta uzorka, promjena pripreme uzorka i sl.) te kod svake promjene metode ako ona izlazi iz područja prethodne validacije (Anonymus, 1998.).

Sve tvari objavljene u monografijama Europske farmakopeje (Ph. Eur.), a mogu

biti u sastavu medicinskih proizvoda za ljude ili životinje, standardizirane su kao i metode analiza tih tvari. Standardizacija se obavlja prema Europskoj konvenciji koju su ratificirale zemlje članice Konvencije i Europska Unija. Standardna metoda određivanja amoksicilina u obliku amoksicilin trihidrata objavljena je u monografiji Ph. Eur. (Anonymus, 2005.) prema kojoj se identifikacija i određivanje sadržaja određuje instrumentalnom tehnikom, tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Standardna se metoda određivanja amoksicilina kao i svaka druga analitička metoda mora prilagoditi radnim uvjetima laboratorija, a prema monografiji Ph. Eur. dopuštene su modifikacije nekih parametara kromatografskih uvjeta kao što su: stacionarna faza, pokretna faza, pH vrijednost pokretne faze, koncentracija soli u puferu (kao dio pokretne faze), protok, temperatura i volumen injektiranja, dok je valna duljina jedini parametar koji se ne smije mijenjati.

Sandra MILER, dipl. ing. preh. teh., Scope International AG, Zagreb; Ksenija ŠANDOR, dipl. ing. kem., stručna suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; mr. sc. Vesna LOGOMERAC ŠIMUNEC, dipl. ing. preh. teh., PharmaS d.o.o., Potok, Popovača; dr. sc. Svjetlana TERZIĆ, znanstvena savjetnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

Tabela 1. Dopuštene modifikacije kromatografskih uvjeta metoda tekućinske kromatografije objavljenih u Ph. Eur.

Kromatografski uvjeti	Dopuštene modifikacije
Stacionarna faza	Dužina kolone $\pm 70\%$; unutarnji promjer kolone $\pm 25\%$. Veličina čestica: najveće smanjenje od 50%, povećanje nije dopušteno.
Pokretna faza	Manji udio otapala do $\pm 30\%$ relativnog ili $\pm 2\%$ apsolutnog iznosa. Drugi udjeli otapala do 10% apsolutnog iznosa.
pH vrijednost pokretne faze	$\pm 0,2$ jedinice (osim ako u monografiji nije navedena korekcija). $\pm 1,0$ jedinice kod neutralnih tvari.
Koncentracija soli u puferu (kao dio pokretne faze)	$\pm 10\%$
Protok	$\pm 50\%$. Protok se mijenja ako je unutarnji promjer kolone promijenjen.
Temperatura	$\pm 10\%$, najviše do 60 °C.
Volumen injektiranja	Može se povećati (ovisno o detekciji krivulja eluiranja i ponovljivosti).

Dakle, bilo koja standardna analitička metoda tekućinske kromatografije objavljena u Ph. Eur. može se prilagoditi radnim uvjetima laboratorija uz dopuštene modifikacije kromatografskih uvjeta čije su granice definirane u tabeli 1. (Anonymus, 2004.).

Amoksisicilin trihidrat je polusintetski β -laktamski antibiotik širokog spektra djelovanja i u veterinarskoj medicini namijenjen je liječenju bakterijskih infekcija respiratornog, probavnog i urogenitalnog sustava, infekcija kože i mekih tkiva kao i liječenju bakterijskih komplikacija tijekom drugih bolesti. Glavni se dio molekule (6-aminopenicilanska kiselina) može modificirati kemijskim putem dodatkom postranih lanaca te tako proizvedeni penicilini imaju sve prednosti prirodnih penicilina, ali uz bolju učinkovitost i otpornost spram penicilinaza (Šeol i sur., 2010.). U veterinarsko-medicinskim proizvodima (VMP) amoksisicilin se najčešće koristi u obliku trihidrata zbog

njegovih boljih fizikalnih svojstava (Anonymus, 1996.).

Cilj je ovoga rada bio validacija HPLC metode za određivanje amoksicilina prema Ph. Eur. u VMP-a (Anonymus, 2005.). Istraživanjem je obuhvaćen izračun mjerne nesigurnosti korištene metode u analizi tri komercijalna VMP-a različitih proizvođača koji u svom sastavu imaju amoksisicilin.

Materijali i metode

Uzorci veterinarsko-medicinskih proizvoda

U istraživanju su analizirana po tri uzorka uljnih injekcijskih suspenzija koje u svom sastavu sadržavaju aktivnu tvar amoksisicilin u obliku amoksicilin trihidrata (Tabela 2.).

Navedeni VMP-i odobreni su za stavljanje u promet u Republici Hrvatskoj, a uzorci su dostavljeni na redovitu kontrolu kakvoće u Laboratorij za analizu

veterinarsko-medicinskih priprava Hrvatskog veterinarskog instituta.

Aktivna tvar u analiziranim uzorcima potječe od različitih proizvođača. Priprema uzoraka uljnih injekcijskih suspenzija koji sadržavaju amoksicilin bila je identična neovisno o proizvođaču gotovog proizvoda. U svrhu istraživanja pripremljene su i analizirane po četiri paralelne probe, a sadržaj amoksicilina u uzorcima određen je metodom vanjskog standarda.

Oprema

Prilikom validacije i analize uzoraka korišten je SpectraSystem HPLC sustav s računalnim programom ChromQuest Ver. 4.2 (Thermo Separation Products, SAD) koji je redovito servisiran i validiran od strane ovlaštenog serviser. Detektor s nizom dioda (engl. Diode Array Detector, DAD) primijenjen je za detekciju uzorka i snimanje spektra na 254 nm pri sobnoj temperaturi. Nadalje, korištena je kolona obratne faze LiChrospher RP-18 e (5 μ m, 125 \times 4 mm i.d., Merck, Njemačka) pri protoku od 1,0 mL min⁻¹ uz volumen injektiranja od 5 μ L.

Reagensi

Kao pokretna faza korištena je smjesa otapala u omjeru 95:5 otopine A (smjesa acetonitrila i otopine fosfatnog pufera pH 5 u volumnom omjeru 1:99) i otopine B (smjesa acetonitrila i otopine fosfatnog pufera pH 5 u volumnom omjeru 20:80). Otopina A ujedno je i otapalo za pripremu temeljnih otopina, otopina standarda i otopina uzorka.

U pripremi referentnih otopina i otopina standarda, korišteni su certificirani referentni materijali definiranog sadržaja čiste tvari: amoksicilin trihidrat (Sigma-Aldrich, SAD) i cefadroksil (Sigma-Aldrich, SAD). Reagensi i otapala bili su analitičke čistoće (p.a.) ili HPLC čistoće. Preciznost i točnost staklenog laboratorijskog posuda odgovara međunarodnoj normi DIN.

Mjerna nesigurnost i obrada podataka

Mjerna nesigurnost metode izračunata je na temelju eksperimentalnih podataka dobivenih u postupku validacije (vrsta A), dok su podatci vrste B iščitani iz umjernica, ovjernica, tehničkih podataka proizvođača i sl. te prema EURACHEM/CITAC 2000. (Anonymus, 2000.) i ISO, (Anonymus, 2008.).

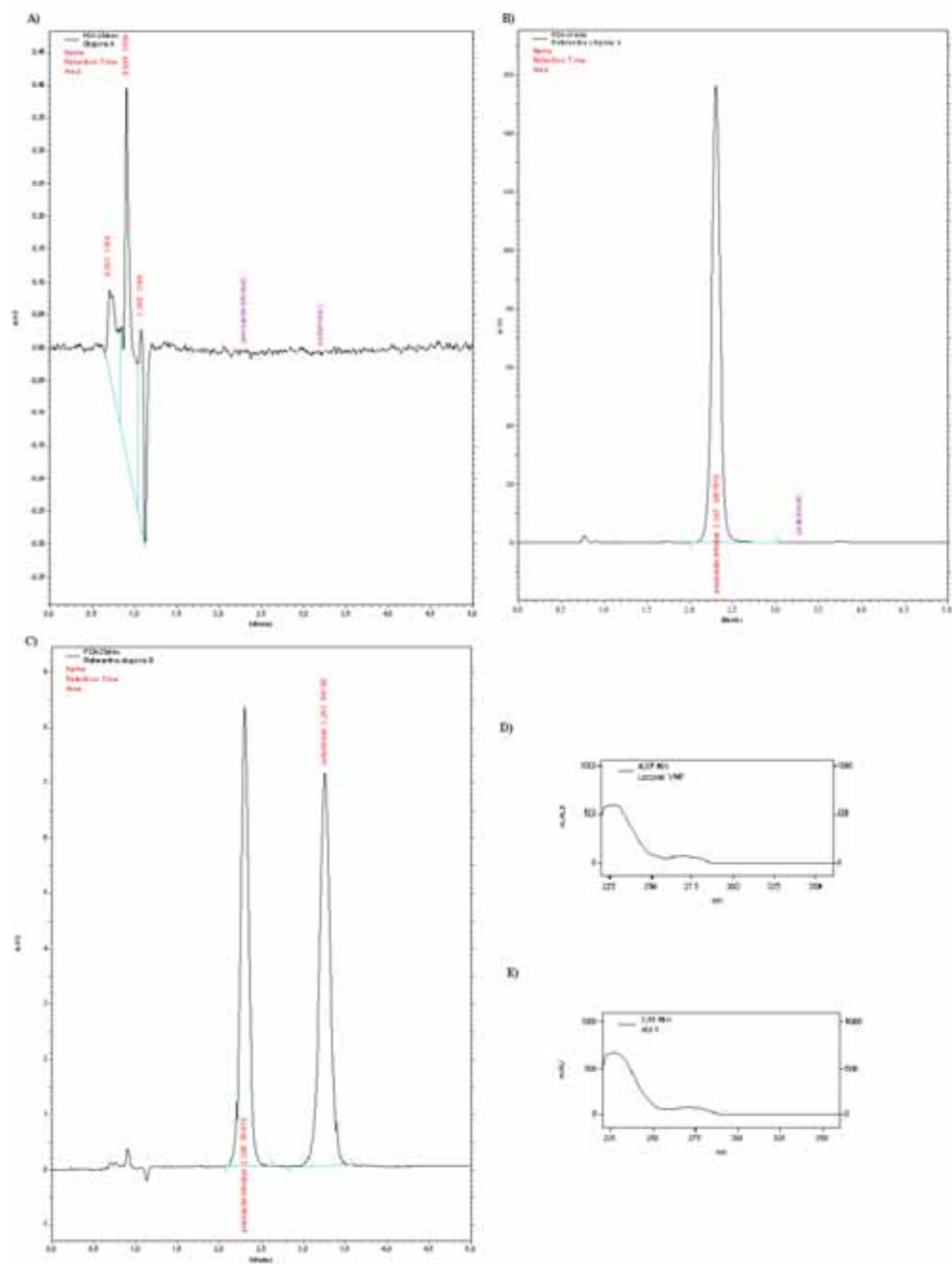
Svi rezultati su statistički obrađeni primjenom računalnog programa Excel (Microsoft Office Excel 2003).

Rezultati i rasprava

Obzirom na činjenicu da su standardne metode u potpunosti validirane prije objavljivanja u službenim vodičima, odnosno farmakopejama, validacija metode provedena je u smanjenom opsegu što uključuje provjeru prikladnosti kromatografskog sustava (kapacitet kolone, simetrija krivulje eluiranja, ponovljivost injektiranja, omjer signala i šuma, razdvojenost krivulja eluiranja), selektivnost, linearnost i određivanje radnoga područja.

Prikladnost kromatografskog sustava provjerena je pomoću standardne otopine različitih koncentracija amoksicilina i cefadroksila, a za provjeru prikladnosti kromatografskog sustava korišten je standard cefadroksila. Snimljeni su kromatogrami otapala (Slika 1A.), standardnih otopina (Slika 1B.) te je promatrana razdvojenost krivulja eluiranja amoksicilin trihidrata i cefadroksila (Slika 1C.). Nadalje, u svrhu identifikacije snimljeni su spektri otopina uzorka (Slika 1D.) i standarda (Slika 1E.).

Faktor razlučivanja krivulja eluiranja prema zahtjevu farmakopeje mora iznositi više od 2 te je analizom dobivenih kromatograma utvrđen faktor razlučivanja krivulja eluiranja od 4,7. Nadalje, omjer signala i pozadinskoga šuma mora iznositi više od 3, a analizom dobivenih kromatograma utvrđen je omjer signala i šuma veći od 3. Prema



Slika 1.: A) Kromatogram otopala; B) Kromatogram standardne otopine amoksicilina; C) Kromatogram standardne otopine amoksicilina i cefadroksila; D) Spektar uzorka injekcijske suspenzije; E) Spektar standardne otopine amoksicilina.

Tabela 2. Koncentracije amoksicilina u uzorcima VMP-a

Uzorak VMP-a	Deklarirana koncentracija (mg mL ⁻¹)	Koncentracija u uzorku (mg mL ⁻¹)	%
Amoksicilin 15% Krka d.d., Novo mesto, Slovenija	150,0 (142,5 – 157,5)	144,21	96,14
		143,52	95,68
		143,31	95,54
		143,84	95,89
Simivet Retard Veterina d.o.o., Kalinovica, Hrvatska	150,0 (142,5 – 157,5)	153,98	102,66
		147,55	98,37
		144,62	96,41
		147,16	98,10
Synulox RTU Pfizer A.H., Sandwich, Velika Britanija	140,0 (133,0 – 147,0)	145,53	103,95
		133,15	95,10
		134,55	96,11
		135,36	96,69

Ph. Eur. zahtjev za kapacitet kolone je da broj teoretskih tavana mora biti veći od 1000, asimetrija krivulje eluiranja mora biti u rasponu od 0,8 - 1,5 dok ponovljivost injektiranja, odnosno relativno standardno odstupanje (engl. Relative Standard Deviation, RSD) površina krivulja eluiranja amoksicilina šest uzastopnih injektiranja ne smije biti veća od 1,0%. Analizom dobivenih kromatograma utvrđen je zadovoljavajući kapacitet kolone s brojem teoretskih tavana od 2849, asimetrija krivulje eluiranja od 0,93 te ponovljivost injektiranja od 0,9% RSD. Na temelju dobivenih rezultata primijenjena metoda je prikladna, specifična i selektivna.

Linearnost odziva amoksicilina provjerena je priređivanjem i kromatografskom analizom dvije paralelne probe s po pet kalibracijskih otopina certificiranog standarda amoksicilina. Kalibracijske otopine amoksicilina pripremljene su u koncentracijskom rasponu od 33% do 167% nominalne koncentracije (0,3 mg mL⁻¹). Svaka kalibracijska otopina injektirana je tri puta i izračunate su prosječne površine krivulja eluiranja

amoksicilina. Rezultat se izražava kao grafički prikaz ovisnosti koncentracije amoksicilina o površini krivulje eluiranja. Metodom najmanjih kvadrata izračunata je jednadžba linearne regresije, nagib pravca ($a = 2E+06$), odsječak pravca na os y ($b = 8057$) i korelacijski koeficijent ($r = 0,9999$).

Koncentracija amoksicilina u otopinama uzoraka određena je interpolacijom na kalibracijski pravac, a dobivena ekstrapolirana koncentracija pomnožena je faktorom razrjeđenja i izražena u mg mL⁻¹ te potom izražena kao postotak deklarirane koncentracije. Analizom uzoraka VMP-a u obliku injekcijskih suspenzija (Tabela 2.) dobivene su vrijednosti od 95,10% do 103,95% deklarirane vrijednosti koncentracije amoksicilina, koje su unutar dopuštenog odstupanja sadržaja aktivne tvari u analiziranim VMP-a ($\pm 5\%$ deklarirane vrijednosti). Identifikacija amoksicilina u uzorcima provedena je analizom podudarnosti spektra krivulje eluiranja na retencijskom vremenu amoksicilina (Slika 1D). i 1E.) te je utvrđena podudarnost krivulja eluiranja od 99,98% do 99,99%.

Kako bi povećali sigurnost mjernog rezultata izračunata je mjerna nesigurnost metode. Izvori nesigurnosti tipa A za izračun mjerene nesigurnosti metode određivanja amoksicilina u VMP-u HPLC metodom prema Ph. Eur. su ponovljivost mjerenja, ponovljivost pripreme uzoraka i linearnost (Slika 2.), dobiveni na temelju statističke obrade rezultata validacijskih parametara. Čistoća standarda amoksicilin trihidrata, nesigurnost vage, nesigurnost odmjernih tikvica korištenih volumena i automatskih pipeta izvori su nesigurnosti tipa B, a ti su podatci preuzeti iz umjernica i certifikata.

Sastavnice koje daju najveći doprinos mjernoj nesigurnosti ove metode su ponovljivost pripreme uzorka i priprema standarda. To je prihvatljivo, jer u pripremi otopine uzorka VMP-a veliki utjecaj može imati farmaceutski oblik i/ili sastav VMP-a, poglavito ako se radi o uljnim suspenzijama, kao što je slučaj s uzorcima analiziranim u ovom istraživanju.

Prihvatljiv je i poveći doprinos mjernoj nesigurnosti od pripreme otopine standarda, jer uključuje postupke poput razrjeđenja (npr. uporaba raznih volumena odmjernih tikvica), a zbog postupaka poput pipetiranja,

dopunjavanja otapalom i sl. povećava se faktor pogriješke rada analitičara.

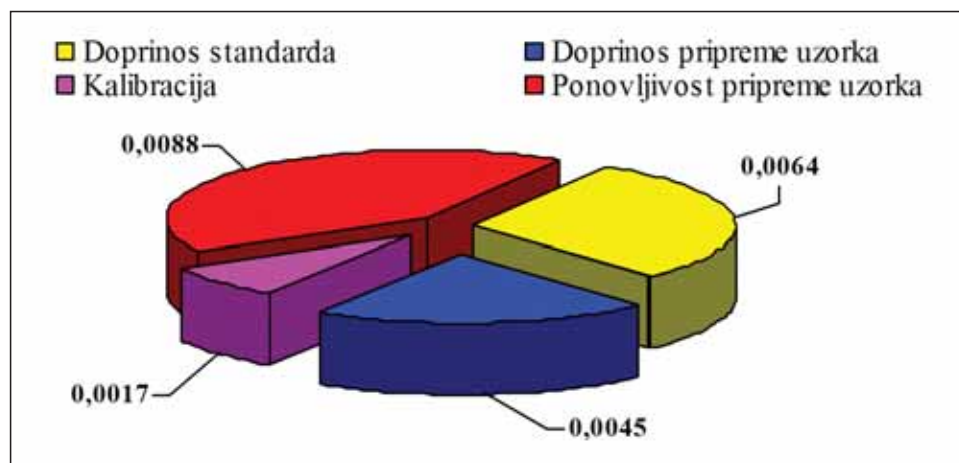
Nakon provedenog postupka procjene nesigurnosti svake od sastavnica mjerne nesigurnosti ove metode, izračunata je mjerna nesigurnost metode određivanja amoksicilina u VMP-u HPLC metodom prema Ph. Eur. koja iznosi $0,024 \text{ mg mL}^{-1}$, uz obuhvatni faktor 2 (vjerojatnost 95%). Granice specifikacija proizvođača korigiraju se na način da se gornja granica specifikacije umanjuje, a donja granica specifikacije uveća za vrijednost mjerne nesigurnosti metode. Dobiveni rezultati analiza VMP-a (Tabela 2.) udovoljavaju kriterijima korigiranih granica specifikacija proizvođača.

Zaključak

HPLC metoda za određivanje amoksicilin (u obliku trihidrata) u VMP-u prema Ph. Eur. zadovoljila je parametre prikladnosti kromatografskog sustava tijekom njene provedbe u radnim uvjetima Laboratorija.

Selektivnost, linearnost i ponovljivost metode zadovoljavaju kriterije validacije.

Identifikacija amoksicilina u uzorcima VMP-a potvrđena je analizom



Slika 2. Udio doprinosa sastavnica mjerne nesigurnosti HPLC metode za određivanje amoksicilina u VMP-u prema Ph. Eur.

podudarnosti spektra krivulje eluiranja na retencijskom vremenu amoksicilina.

Sadržaj amoksicilina u analiziranim uzorcima analiziranih uljnih injekcijskih suspenzija je unutar granica specifikacija proizvođača, kao i unutar korigiranih granica specifikacija s mjernom nesigurnošću ove metode.

Sažetak

Analiza i validacija metode određivanja amoksicilina u veterinarsko-medicinskim proizvodima provedena je instrumentalnom tehnikom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti. Validacija je provedena na tri serije tri različita veterinarsko-medicinska proizvoda različitih proizvođača. Validacijom metode utvrđeno je da selektivnost, linearnost i ponovljivost metode zadovoljavaju kriterije validacije. Identifikacija amoksicilina u uzorcima potvrđena je analizom podudarnosti spektra krivulje eluiranja na retencijskom vremenu amoksicilina. Vrijednosti sadržaja amoksicilina u analiziranim uzorcima kretale su se od 95,10% do 103,95% deklariranog sadržaja, što je odgovaralo zahtjevima specifikacije proizvođača. Mjerna nesigurnost

metode uz razinu vjerojatnosti 95%, iznosi 0,024 mg mL⁻¹.

Literatura

1. Anon. (1995): Draft Guideline on Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology, ICH, Švicarska.
2. Anon. (1996): The Merck Index, 11th Edition, Rahway, New York.
3. Anon. (1998): Eurachem Guide, The Fitness for Purpose of Analytical Methods, <http://www.eurachem.org/guides/pdf/valid>, pristupljeno, 16.3.2011.
4. Anon. (2000): Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd Edition. EURACHEM/CITAC, <http://www.measurementuncertainty.org/pdf/QUAM2000-1>, pristupljeno (9.5.2011.)
5. Anon. (2004): European Pharmacopoeia 5th Edition, volumen 1, EDQM, Strasbourg.
6. Anon. (2005): European Pharmacopoeia 5th Edition, Supplement 5.3, EDQM, Strasbourg.
7. Anon. (2008): Guide to the expression of uncertainty in measurement, 2nd Edition, ISO, Švicarska.
8. GREEN, J. M. (1996): A Practical Guide to Analytical Method Validation. Anal. Chem. 68, 305-309.
9. Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata, Narodne novine br. 22/05.
10. ŠEOL, B., K. MATANOVIĆ i S. TERZIĆ (2010): Antimikrobna terapija u veterinarskoj medicini. Medicinska naklada, Zagreb, 42-43.

Determination of amoxicillin in veterinary medicinal products

Sandra MILER, Grad. Food Technology Eng., Scope International AG, Zagreb, Ksenija ŠANDOR, Grad. Chem., Expert Associate, Svjetlana TERZIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Vesna LOGOMERAC ŠIMUNEC, Grad. Food Technology Eng., MSc, PharmaS d.o.o., Potok, Popovača

High performance liquid chromatography was validated and applied for the determination of amoxicillin in veterinary medicinal products. Validation was conducted on three batches of three different veterinary medicinal products from various manufacturers. Selectivity, linearity and repeatability met the acceptance criteria for the validation of the analytical method. The UV-DAD spectra of the amoxicillin trihydrate peak in the chromatogram of

the sample were from 99.98% to 99.99%. The amoxicillin assay in the samples ranged from 95.10% to 103.95% of the declared content, which complied with the requirements of the manufacturer's specifications. The measurement uncertainty of the method is estimated by the contribution of the standard, sample preparation, linearity and repeatability. The measurement uncertainty of the method was 0.024 mg/mL at the 95% confidence level.

Ecocid® S

SIGURAN I DJELOTVORAN

- Univerzalni visoko djelotvoran dezinficijens za sigurnu i vrlo učinkovitu zaštitu od uzročnika zaraznih bolesti koje ugrožavaju zdravlje ljudi i životinja.
- Dezinficijens širokog spektra virucidnog, baktericidnog i fungicidnog djelovanja.
- Vodotopivi prašak, namjenjen za opću uporabu te za profesionalne i industrijske korisnike.
- Siguran za okoliš, ljude i životinje.
- Kompatibilan je sa HACCP.



Sastav Ecocid S je uravnotežena stabilizirana smjesa peroksidnih spojeva, površinski aktivne tvari, organske kiseline i anorganskog puferkog sustava. **Uputa za uporabu** Radna otopina Ecocida S koristi se u obliku spreja, magle, kupke za papke te dezinfekcijske barijere. **Za dezinfekciju prethodno očišćenih površina i opreme pripremite 1% otopinu Ecocida S. Oprema** Kutija sa 25 vrećica po 50 g praška, vrećica po 1 kg i 2,5 kg praška.

Biocide koristite s oprezom. Prije uporabe obavezno pročitajte upute i podatke o proizvodu.



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

Detaljnije informacije možete dobiti od firme:

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

Analiza kakvoće mlijeka na OPG-u Pucović tijekom 2009. i 2010. godine

M. Pucović, N. Zdolec, Natalija Vragović, Ivana Filipović,
G. Zdolec, D. Ormuž i Vesna Dobranić



Uvod

Mlijeko je jedna od najvrjednijih namirnica u prehrani ljudi te se stoga danas postavljaju sve viši kriteriji u pogledu njegove kakvoće (Hadžiosmanović i sur., 2002.). Higijenska je kakvoća sirovog mlijeka pokazatelj uvjeta u proizvodnji mlijeka kao i pokazatelj postupanja s mlijekom nakon mužnje (Kirin, 2001.). Za kakvoću i preradbenu vrijednost važan je kemijski sastav mlijeka, odnosno sadržaj masti, bjelancevina i suhe tvari bez masti. Sastav mlijeka može biti vrlo promjenjiv, a ovisi o velikom broju čimbenika kao što su: pasmina i zdravstveno stanje životinja, stadij laktacije, način i vrsta prehrane, sezona, vrsta mužnje (ručna, strojna), a napose o samoj jedinki (dob, tjelesna masa, kretanje i drugo). Osim kemijskog sastava, kakvoću mlijeka određuju i pokazatelji higijenske ispravnosti, a to su ukupan broj mikroorganizama i broj somatskih stanica. Prema navedenim parametrima kakvoće mlijeka određuje se i njegova otkupna cijena (Dobranić, 2006.).

U Republici Hrvatskoj posljednjih je godina zamjetan trend smanjenja broja gospodarstava koja se bave proizvodnjom mlijeka, ali se količina isporučenog mlijeka povećavala. Razloge tomu možemo tražiti u povećanju

produktivnosti u proizvodnji mlijeka po gospodarstvu, izgradnji velikih farmi, državnim poticajima i drugim mjerama (HPA, 2010.). Kakvoću mlijeka za javnu potrošnju u Republici Hrvatskoj ispituje Središnji laboratorij za kontrolu mlijeka u Križevcima. Rezultati analiza kroz proteklo razdoblje ukazuju na značajno poboljšanje higijenske kakvoće sirovog mlijeka pa je danas unutar I razreda preko 80% proizvođača (Jakopović, 2010.). No, egzistencija preostalih proizvođača je ugrožena jer se otkup mlijeka II razreda obustavlja dok se ne unaprijedi higijena proizvodnje i zdravlje vimen.

Cilj je ovoga rada prikazati kretanje kakvoće mlijeka na OPG-u Pucović (Petrinja) tijekom 2009. i 2010. godine kroz rezultate redovitih službenih analiza mlijeka u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka Križevci.

Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na mlijeku 10 krava simentalke pasmine koje su uzgajane na OPG-u Pucović u razdoblju od siječnja 2009. do prosinca 2010. godine. Napominjemo da su u tom razdoblju određene krave izlučene, neke uvedene u stado, neke liječene, što utječe

Matiya PUCOVIĆ, dr. med. vet., OPG Pucović, Mala Gorica, Petrinja; dr. sc. Nevijo ZDOLEC, dr. med. vet., viši asistent-znanstveni novak, dr. sc. Ivana FILIPOVIĆ, dr. med. vet., viša asistentica-znanstvena novakinja, dr. sc. Vesna DOBRANIĆ, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Natalija VRAGOVIĆ, dr. med. vet., EC Inspekt, Zagreb; Goran ZDOLEC, dr. med. vet., Davor ORMUŽ, dr. med. vet., Veterinarska stanica, Vrbovec

na količinu i kakvoću proizvedenog mlijeka. Mlijeko je uzorkovano prema standardnoj proceduri automatskim uređajem prilikom prijenosa mlijeka iz laktofriza u cisternu. Analize mlijeka su obavljene u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka u Križevcima na sljedeće pokazatelje i sljedećoj metodologiji:

- Broj mikroorganizama – epifluorescentna protočna citometrija - prema IDF 161A:1995.
- Broj somatskih stanica – fluoroop-toelektronska metoda - prema ISO 13366-2:2006/IDF 148-2:2006.
- Prisutnost inhibitornih tvari – AOAC 982,18 - Beta laktamski antibiotici u tekućim mliječnim proizvodima; FIL-IDF No 258/1991. Detekcija i potvrda prisustva inhibitora u mlijeku i mliječnim proizvodima.
- Količina mliječne masti – infracrvena spektrofotometrija - prema HRN ISO 9622:2001.

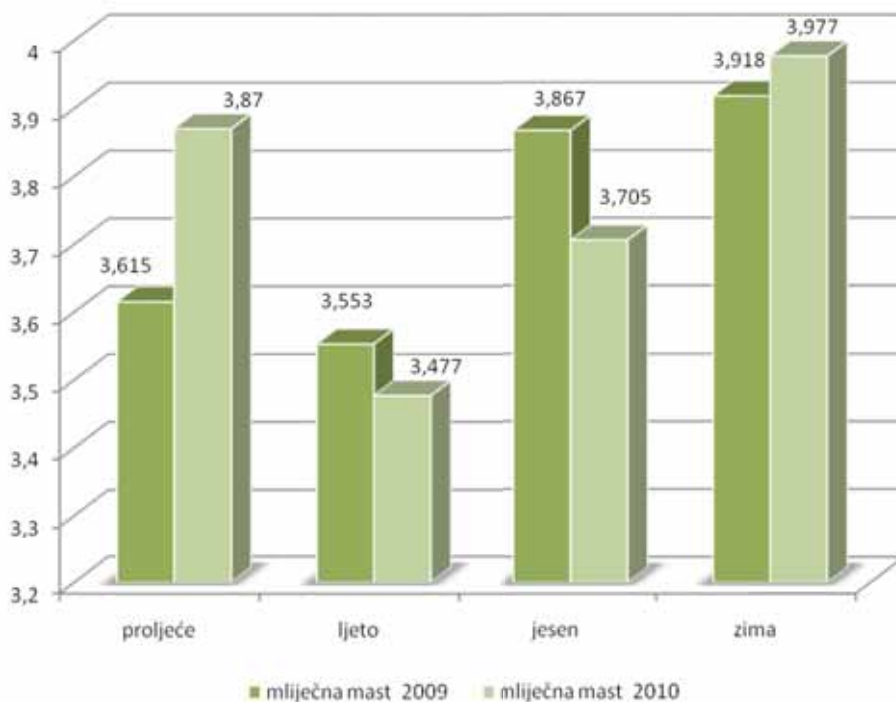
- Količina bjelancevina - infracrvena spektrofotometrija - prema HRN ISO 9622:2001.

Statistička analiza

Statistička obrada rezultata obavljena je programom Statistika 9 (Statsoft, SAD). Rezultate smo prikazali kao srednje vrijednosti uz standardnu devijaciju. Rezultate smo grupirali u dvije skupine – za 2009. i 2010. godinu te prema godišnjim dobima. Značajnost razlika srednjih vrijednosti testirali smo t-testom uz interval značajnosti $P < 0,05$. Korelacijski test smo primijenili za broj mikroorganizama u odnosu na broj somatskih stanica.

Rezultati

Prosječne količine mliječne masti, bjelancevina i bezmasne suhe tvari u mlijeku tijekom 2009. godine iznosile



Slika 1. Količina mliječne masti (%) u mlijeku prema sezoni proizvodnje 2009. i 2010. godine

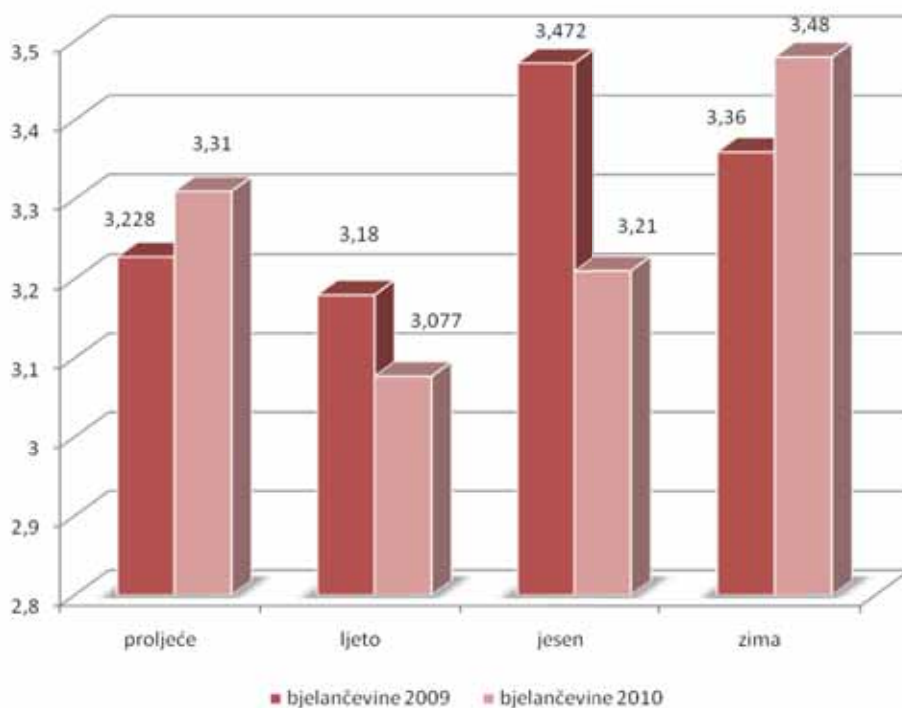
su $3,738 \pm 0,215$, $3,310 \pm 0,201$, odnosno $8,593 \pm 0,171$. Tijekom 2010. godine te su vrijednosti iznosile $3,757 \pm 0,220$, $3,269 \pm 0,169$ i $8,526 \pm 0,140$. Dakle, u promatranom dvogodišnjem razdoblju utvrđena je prosječna količina (%) mliječne masti od $3,748 \pm 0,213$, bjelančevina $3,290 \pm 0,183$, a bezmasne suhe tvari $8,560 \pm 0,157$. Količina se mliječne masti, bjelančevina i bezmasne suhe tvari nije statistički razlikovala 2009. u odnosu na 2010. godinu ($P > 0,05$).

Prosječni broj mikroorganizama i somatskih stanica u mlijeku u 2009. godini iznosio je $17\,763 \pm 5\,897$, odnosno $157\,873 \pm 66\,059$, a 2010. godine $32\,394 \pm 12\,761$, odnosno $190\,802 \pm 77\,885$. Tijekom promatranog razdoblja prosječni broj mikroorganizama iznosio je stoga $25\,078 \pm 12\,262$, a somatskih stanica $174\,338 \pm 72\,602$. Iz navedenih podataka vidljivo je da je tijekom 2010. godine utvrđen statistički značajno veći broj mikroorganizama u

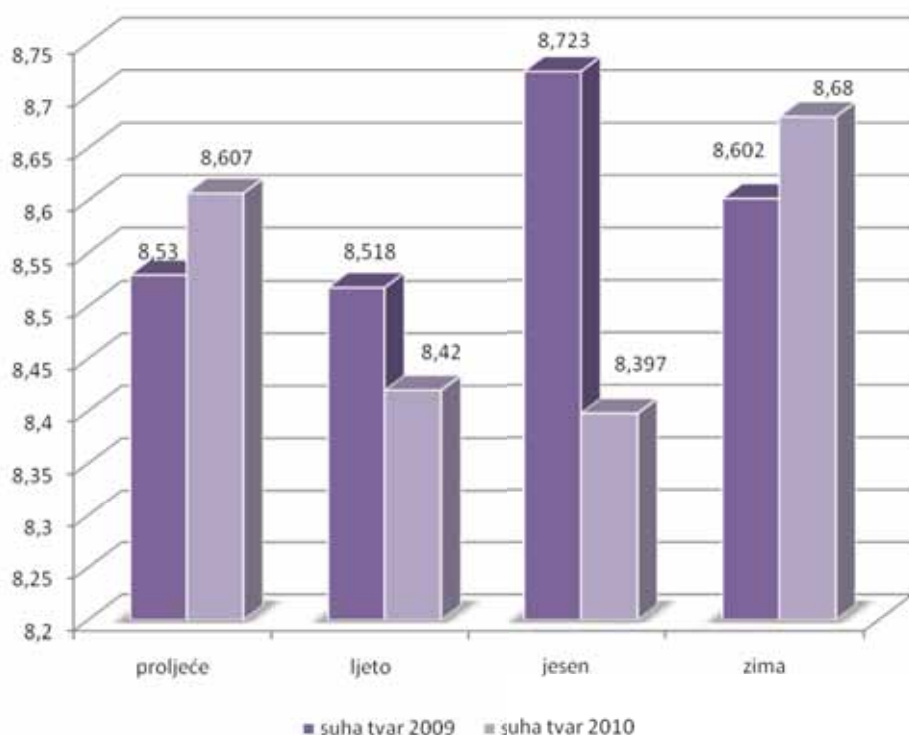
odnosu na 2009. godinu ($P < 0,01$). Broj somatskih stanica također je bio veći tijekom 2010. godine, no razlike nisu bile statistički značajne. Povezanost broja mikroorganizama s brojem somatskih stanica u mlijeku nije utvrđena tijekom 2009. godine ($r = 0,10$, $P > 0,05$), kao ni 2010. ($r = 0,33$; $P > 0,05$). Inhibitorne tvari nisu utvrđene ni u jednom uzorku mlijeka.

Rezultate analiza grupirali smo i prema sezoni – godišnjem dobu proizvodnje mlijeka i usporedili dvije proizvodne godine što je prikazano na slikama 1-5.

Na slici 1 vidljivo je da je količina mliječne masti u mlijeku tijekom 2009. godine bila najveća zimi, a najmanja u sezoni proljeće-ljeto ($P < 0,05$). Tijekom 2010. godine najveća količina mliječne masti isto je tako utvrđena zimi, a najmanja ljeti. „Ljetna“ količina statistički je bila značajno manja od količine mliječne masti tijekom proljeća i zime



Slika 2. Količina bjelančevina (%) u mlijeku prema sezoni proizvodnje 2009. i 2010. godine



Slika 3. Bezmasna suha tvar (%) u mlijeku prema sezoni proizvodnje 2009. i 2010. godine

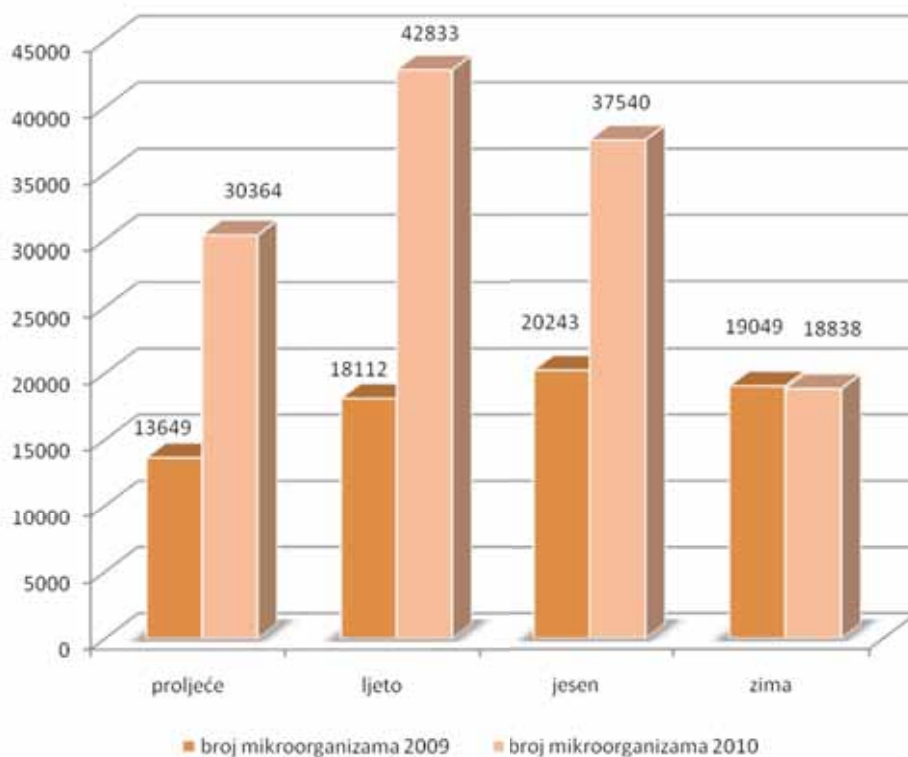
($P < 0,05$). Uspoređujući međusobno količinu masti u istoj sezoni, a različitih godina, utvrđene su statistički značajne razlike tijekom proljeća ($P < 0,05$).

Najveće količine bjelančevina u mlijeku iz 2009. godine zabilježene su u jesenskim mjesecima, a najmanje u sezoni proljeće-ljeto (Slika 2). Ljeti je utvrđena statistički značajno manja količina bjelančevina u odnosu na jesenske mjesece ($P < 0,05$). Količina bjelančevina nije se značajno razlikovala u proljeće, jesen i zimi ($P > 0,05$). Tijekom 2010. godine najveća količina bjelančevina utvrđena je zimi, a razlike u odnosu na količinu bjelančevina ljeti i u jesen bile su statistički značajne ($P < 0,05$). Statistički značajno manja količina bjelančevina u odnosu na sve druge mjesece zabilježena je ljeti ($P < 0,05$). Uspoređujući međusobno količinu bjelančevina u istoj sezoni, a

različitih godina, utvrđene su statistički značajne razlike tijekom ljeta ($P < 0,05$).

Prema prikazu na slici 3, bezmasna suha tvar u mlijeku 2009. godine nije se značajno razlikovala prema sezonskoj raspodjeli ($P > 0,05$), iako su najveće vrijednosti utvrđene tijekom jesenskih mjeseci. S druge strane, tijekom 2010. bezmasna suha tvar u mlijeku bila je statistički značajno manja ljeti i u jesen ($P < 0,05$). Uspoređujući međusobno količinu bezmasne suhe tvari u istoj sezoni, a različitih godina, utvrđene su statistički značajne razlike tijekom jeseni ($P < 0,05$).

Broj se mikroorganizama u mlijeku 2009. godine nije značajno razlikovao ljeti, u jesen i zimi ($P > 0,05$), dok je u proljeće bio značajno manji ($P < 0,05$) u odnosu na ljetne mjesece (Slika 4). Tijekom 2010. godine broj mikroorganizama je bio statistički značajno



Slika 4. Broj mikroorganizama u mlijeku prema sezoni proizvodnje 2009. i 2010. godine

manji zimi u odnosu na ljeto i jesen ($P < 0,05$). Uspoređujući međusobno broj mikroorganizama u istoj sezoni, a različitih godina, utvrđene su statistički značajne razlike tijekom ljeta i jeseni ($P < 0,05$).

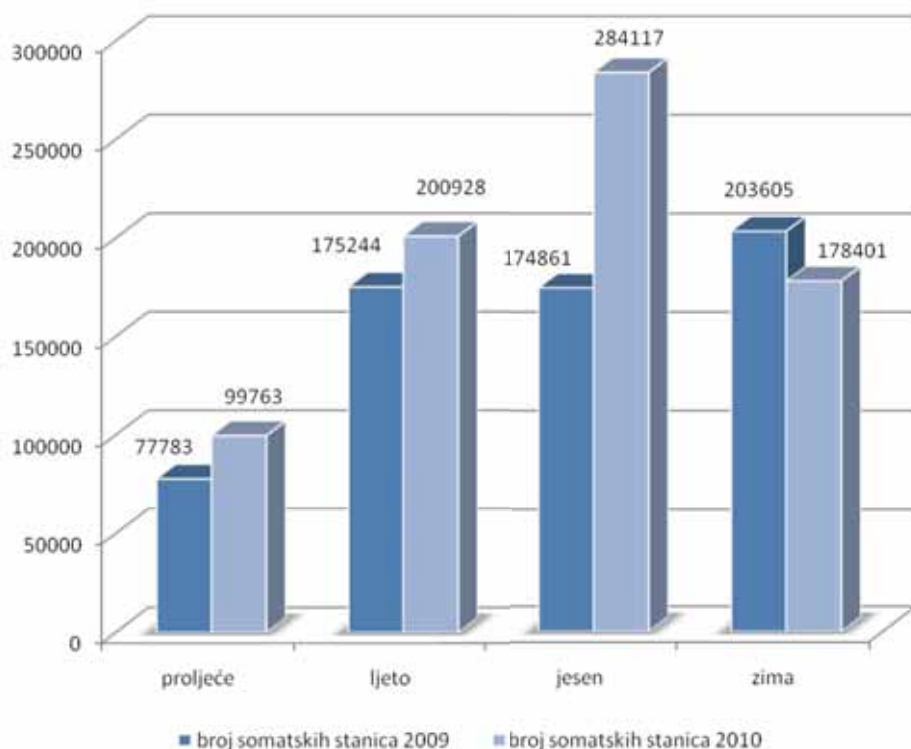
Broj somatskih stanica u mlijeku 2009. godine bio je statistički značajno manji u proljeće ($P < 0,05$), a u ostalim periodima godine nije bilo značajnih odstupanja (slika 5). Tijekom proljeća 2010. u mlijeku je zabilježen značajno manji broj somatskih stanica u odnosu na ljeto i jesen ($P < 0,05$). Uspoređujući međusobno broj somatskih stanica u istoj sezoni, a različitih godina, utvrđene su statistički značajne razlike tijekom jeseni ($P < 0,05$).

Rasprava

Iz naših rezultata vidljivo je da se mlijeko proizvedeno na OPG-u Pucović

tijekom 2009. i 2010. godine nalazi u prvom razredu kakvoće, budući da nisu utvrđene vrijednosti mikroorganizama iznad 100 000/mL, a somatskih stanica iznad 400 000/mL. Što se tiče kemijskog sastava, mlijeko isto tako udovoljava propisanim standardima kakvoće budući da su utvrđene prosječne količine mliječne masti bile iznad 3,2%, bjelancevina iznad 3,0%, a bezmasne suhe tvari iznad 8,5% (Anonymus, 2000.). Danas se u Hrvatskoj u prvom razredu nalazi oko 83% proizvedenog mlijeka što je u odnosu na period od prije desetak godina veliki napredak (HPA, 2011.).

Iz prikazanih rezultata mogu se uočiti još neki pokazatelji koji bi mogli poslužiti još boljem unaprjeđenju kakvoće mlijeka na ovom gospodarstvu. Uspoređujući dvije proizvodne godine nisu zabilježene značajne razlike u



Slika 5. Broj somatskih stanica u mlijeku prema sezoni proizvodnje 2009. i 2010. godine

količini mliječne masti i bjelančevina što ide u prilog dobroj i konstantnoj brizi o metaboličkim potrebama muzara za zahtjevnju proizvodnju mlijeka. Sastav mlijeka može biti vrlo promjenjiv, a ovisi o velikom broju čimbenika kao što su: pasmina i zdravstveno stanje životinja, stadij laktacije, način i vrsta prehrane, sezona, vrsta mužnje (ručna, strojna), a napose o samoj jedinki (dob, tjelesna masa, kretanje i drugo) (Wolfson i Sumner, 1993.). Sezonske varijacije u količini bjelančevina i masti u mlijeku koje smo ustvrdili u našem istraživanju sukladne su rezultatima Stipića i Ivankovića (2008.). Navedeni autori ističu da sezonsko variranje količine mliječne masti i bjelančevina značajno ovisi o veličini gospodarstva i managmenta hranidbe. Prema našim rezultatima količina mliječne masti i bjelančevina

bila je veća tijekom jesenskih i zimskih mjeseci. Kako navode Salamon i sur. (2006.) sezona proizvodnje je isto tako važna i za sadržaj masnih kiselina u mliječnoj masti pa su ustvrdili da tijekom zime mlijeko sadrži više zasićenih masnih kiselina (maslačna, kaprinska, kaprilna, kapronska, miristinska, palmitinska, stearinska), a ljeti više nezasićenih (oleinska, linolna, linoleinska). Dobranić i sur. (2007.) su ustvrdili da godišnje doba utječe na kemijski sastav mlijeka i broj somatskih stanica, ali ne i na korelacije između njih.

Najznačajniji pokazatelj higijenske kakvoće mlijeka je broj mikroorganizama na kojeg najviše utječu higijenski postupak mužnje, higijenski postupak čuvanja mlijeka do otpreme i zdravstveno stanje vimena (Zdolec, 2011.a, 2011.b). Važno je napomenuti da je mikrobiološka

kakvoća sirovog mlijeka preduvjet dobre mikrobiološke kakvoće konzumnog mlijeka i mliječnih proizvoda (Kožačinski i sur., 2003.). Iako naši rezultati u pogledu broja mikroorganizama ukazuju na zavidnu higijensku kakvoću (od 13 000 – 40 000 mikroorganizama/mL), ipak zamjećujemo velika odstupanja u njihovu broju prema godini i sezoni proizvodnje mlijeka. Naime, najuočljivije je dvostruko, odnosno, gotovo trostruko povećanje broja mikroorganizama u mlijeku od proljeća do jeseni 2010. godine u odnosu na isto razdoblje 2009. godine. Broj je somatskih stanica isto tako u navedenom razdoblju bio povećan. Međutim, kako statistički nismo ustvrdili značajnu povezanost broja mikroorganizama s brojem somatskih stanica, možemo pretpostaviti da je 2010. godine higijenska kakvoća mlijeka nazadovala zbog određenih propusta u higijeni mužnje i čuvanju mlijeka do otpreme. Drugi, vjerojatniji uzrok može biti i u mlijeku određenih krava koje su imale značajnije povećan broj mikroorganizama i/ili somatskih stanica, a miješalo se s mlijekom ostalih krava bolje kakvoće. To bi se moglo ustvrditi analizom liste mliječnosti pojedinih krava čije se mlijeko predavalo, budući da su tijekom promatranog razdoblja neke muzare izlučivane, neke uvođene u stado, neke liječene i sl.

Naši rezultati ukazuju na porast broja somatskih stanica tijekom ljetnih i jesenskih mjeseci što je sukladno rezultatima istraživanja Dakić i sur. (2006.). Navedeni autori ističu da broj somatskih stanica jako varira i podlozan je, pored ostalog, čitavom nizu paragenetskih čimbenika od kojih godišnje doba ima znatan utjecaj. Stres od velike vlage u kombinaciji s hladnoćom te stres od velikih vrućina pri kraju prijemljivost za infekcije vimena, a posljedica je povećani broj somatskih stanica i slabija kakvoća mlijeka. Reneau

(1986.) navodi da je najveći broj somatskih stanica ljeti zbog povećanog mikrobnog onečišćenja sisa. Suprotno, Čačić i sur. (2003.) navode da je broj somatskih stanica u mlijeku najmanji ljeti, jer je tada hrana kvalitetnija u odnosu na zimu, a muzare u boljoj kondiciji i otpornije. Bytyqi i sur. (2010.) ustvrdili su da na broj somatskih stanica u mlijeku značajno utječu veličina stada ($P < 0,0001$), pasmina ($P < 0,0004$), mjesec u godini ($P < 0,0001$) i broj laktacija ($P < 0,0005$).

Zaključno možemo ustvrditi da se na OPG-u Pucović poštuju načela dobre poljoprivredne, higijenske i veterinarske prakse pa se i dalje očekuje proizvodnja kvalitetnog i zdravstveno ispravnog mlijeka u narednom razdoblju. Ipak, broj mikroorganizama u mlijeku značajno se povećao 2010. godine ($P < 0,05$) što ukazuje na potrebu analize stanja na gospodarstvu kako bi se EU kakvoća mlijeka održala.

Sažetak

Cilj je ovoga rada bio prikazati kretanje kakvoće mlijeka na OPG-u Pucović (Petrinja) tijekom 2009. i 2010. godine kroz rezultate redovitih službenih analiza mlijeka u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka Križevci. Određivana je količina mliječne masti i bjelančevina (infracrvenom spektrofotometrijom prema HRN ISO 9622:2001.), broj mikroorganizama (epifluorescentnom protočnom citometrijom prema IDF 161A:1995.), broj somatskih stanica (fluorooptoelektronskom metodom prema ISO 13366-2:2006./IDF 148-2:2006.) i prisutnost inhibitornih tvari (AOAC 982,18; FIL-IDF No 258/1991.). Tijekom promatranog dvogodišnjeg razdoblja utvrđena je prosječna količina (%) mliječne masti od $3,748 \pm 0,213$, bjelančevina $3,290 \pm 0,183$ i bezmasne suhe tvari $8,560 \pm 0,157$. Količina mliječne masti, bjelančevina i bezmasne suhe tvari nije se statistički razlikovala 2009. u odnosu na 2010. godinu ($P > 0,05$), ali se razlikovala sezonski ($P < 0,05$). Prosječni broj mikroorganizama iznosio je $25\,078 \pm 12\,262$, a somatskih stanica

174 338 ± 72 602. Tijekom 2010. godine utvrđen je statistički značajno veći broj mikroorganizama u odnosu na 2009. godinu ($P < 0,01$). Broj somatskih stanica isto je tako bio veći tijekom 2010. godine, no razlike nisu bile statistički značajne ($P > 0,05$). Povezanost broja mikroorganizama s brojem somatskih stanica u mlijeku nije utvrđena tijekom 2009. godine ($r = 0,10$, $P > 0,05$), kao ni 2010. ($r = 0,33$; $P > 0,05$). Inhibitorne tvari nisu utvrđene ni u jednom uzorku mlijeka. Zaključujemo da je mlijeko s OPG-a Pucović tijekom 2009. i 2010. godine bilo u prvom razredu kakvoće što govori o poštivanju dobre poljoprivredne, higijenske i veterinarske prakse. Značajno povećanje broja mikroorganizama u drugoj godini istraživanja ukazuje na potrebu analize stanja na gospodarstvu kako bi se EU kakvoća mlijeka i dalje očuvala.

Napomena

Rad je izvadak iz diplomskog rada Matije Pucovića „Analiza kakvoće mlijeka na OPG-u Pucović tijekom 2009. i 2010. godine“ (voditelj: doc. dr. sc. Vesna Dobranić).

Literatura

1. Anon. (2000): Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka. Narodne novine 122/2000.
2. BYTYQI, H., U. ZAUGG, K. SHERIFI, A. HAMIDI, M. GJONBALAJ, S. MUJI and H. MEHMETI (2010): Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw cow milk in Kosovo. Vet. arhiv 80, 173-183.
3. ČAČIĆ, Z., S. KALIT, N. ANTUNAC i M. ČAČIĆ (2003): Somatske stanice i čimbenici koji utječu na njihov broj u mlijeku. Mljekarstvo 53, 23-36.
4. DAKIĆ, A., N. PINTIĆ, F. POLJAK, A. NOVOSEL, D. STRUČIĆ, T. JELEN i V. PINTIĆ (2006): Utjecaj godišnjeg doba na broj somatskih stanica u kravljem mlijeku isporučenom na tržište. Stočarstvo 60, 35-39.
5. DOBRANIĆ, V. (2006): Nalaz i utjecaj gljivica na higijensku kakvoću kravljeg mlijeka. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
6. DOBRANIĆ, V., B. NJARI, M. SAMARDŽIJA, B. MIOKOVIĆ and R. RESANOVIĆ (2007): The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank milk. Vet. arhiv 78, 235-242.
7. HADŽIOSMANOVIĆ, M., B. MIOKOVIĆ, B. NJARI, L. KOZAČINSKI i Ž. CVRTILA (2002): Aktualna problematika veterinarsko-sanitarnog nadzora namirnica animalnog podrijetla. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
8. HPA (2010): Godišnje izvješće 2009.
9. HPA (2011): Godišnje izvješće 2010.
10. JAKOPOVIĆ, I. (2010): Stanje mliječnog sektora i smjer njegova razvoja u Europi. Okrugli stol. 39. hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem (Opatija 24.-27. listopada 2010.).
11. KIRIN, S. (2001): Higijenska kakvoća sirovog mlijeka u svijetlu zakonskih propisa. Mljekarstvo 51, 49-60.
12. KOZAČINSKI, L., Ž. CVRTILA, M. HADŽIOSMANOVIĆ, D. MAJNARIĆ i B. KUKURUZOVIĆ (2003): Mikrobiološka ispravnost mlijeka i mliječnih proizvoda. Mljekarstvo 53, 17-22.
13. RENEAU, J. K. (1986): Effective use of dairy herd improvement somatic cell count in mastitis control. Agricultural Extension Service, 1-7.
14. SALAMON, R., E. VARGA-VISI, P. SÁRA, Zs. CSAPÓ-KISS and J. CSAPÓ (2006): The influence of the season on the fatty acid composition and conjugated linolic acid content of the milk. Krmiva 48, 193-200.
15. STIPIĆ, I. i A. IVANKOVIĆ (2008): Utjecaj veličine obiteljske farme, sezone i managementa hranidbe na proizvodnju i kakvoću mlijeka. Stočarstvo 62, 103-121.
16. WOLFSON, L. M. and S. S. SUMNER (1993): Antibacterial activity of the lactoperoxidase system: a review. J. Food Prot. 56, 887-892.
17. ZDOLEC, N. (2011a): Pravila higijenske mužnje. Mljekarski list 48, 2-5.
18. ZDOLEC, N. (2011b): Iz drugog u prvi razred. Mljekarski list 48, 7-9.

Quality of Milk Produced on the Pucović Family Farm during 2009 and 2010

Matija PUCOVIĆ, DVM, Family Farm Pucović, Mala Gorica, Petrinja; Nevijo ZDOLEC, DVM, PhD, Senior Assistant-Junior Researcher, Ivana FILIPOVIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant-Junior Researcher, Vesna DOBRANIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Natalija VRAGOVIĆ, DVM, PhD, Inspect, Zagreb; Goran ZDOLEC, DVM, Davor ORMUŽ, DVM, Veterinary practice, Vrbovec

The aim of this study was to give an overview of milk quality from the Pucović family farm (Petrinja) during 2009 and 2010 through regular milk analyses at the Križevci Central Laboratory for Milk Control. The quantity of milk fat and protein (infrared spectrophotometry according to ISO 9622:2001), the number of microorganisms (epifluorescence by flow cytometry according to the IDF 161A: 1995), somatic cell count (fluorooptoelectronic method according to ISO 13366-2:2006/IDF 148-2:2006) and the presence of inhibitory substances (AOAC 982.18; IDF No. 258/1991) were monitored. The average fat content, protein and dry matter (%) were 3.748 ± 0.213 , 3.290 ± 0.183 and 8.560 ± 0.157 , respectively, and did not differ significantly with regard to the year of production ($p > 0.05$), but did differ seasonally ($p < 0.05$). The average numbers of microorganisms and somatic cells were 25 078

$\pm 12\,262$ and $174\,338 \pm 72\,602$, respectively. The number of microorganisms was statistically significantly higher ($p < 0.01$) during the second year of research. The somatic cell count was also higher in 2010, though the differences were not statistically significant ($p > 0.05$). A correlation of microorganism and somatic cell counts was not found in either 2009 ($r = 0.10$, $p > 0.05$) or 2010 ($r = 0.33$, $p > 0.05$). Inhibitory substances were not found in any milk samples. It can be concluded that the milk from the Pucović family produced during 2009 and 2010 was first-class milk, which is the result of continuous Good Agricultural, Hygienic and Veterinary Practices (GAP, GHP, GVP). The significant increase of the microorganism count in the second year of research indicates the need for a farm management analysis, i.e. how to maintain standard EU milk quality.

INDISKRECIJE SA PASJE KLINIKE NA SAVSKOJ CESTI. U ZAGREBU NEMA DOSTA BOLNICA? ALI POSTOJI DOBRO UDEDJENA BOLNICA ZA PSE

Zagreb, 18.VII. Na zagrebačkom veterinarskom fakultetu uređjena je klinika gdje se liječe brojni psi i mačke, dakako, dakako samo oni, koji imaju tu sreću, da su potomci plemenitih predja, sa potpunim „Stammbaumom“, koji seže unatrag pet i više koljena.

„Večer“ (Zagreb), 4387, 3, 1935 (god. 16) (18. srpnja 1935.).



Hrvatski veterinarski institut

Hrvatski veterinarski institut

10000 Zagreb, Savska cesta 143

tel.: (01) 6123 -600

www.veinst.hr



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

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

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

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

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

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

Sudjeluje u tri monitoringa ugovorom definirana sa Ministarstvom poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Državni program monitoringa rezidua, Monitoring graničnih prijelaza i Monitoring hrane za životinje.

Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje od 1976. godine provodi analize uključene u probleme životinja u vezi s nepravilnom hranidbom, temeljem kojih se radi procjena podobnosti predmetne hrane za životinje. Od 2008. godine analize se provode standardiziranim metodama akreditiranim prema normi 17025. Bakteriološka pretraga hrane za životinje koristi se u zaštiti životinja od patogenih bakterija koje se mogu naći u krmivima i krmnim smjesama ili se šire putem krmiva i krmnih smjesa, te od saprofitskih bakterija i plijesni koje u povećanom broju mogu naškoditi zdravlju životinja.

Pretraga na prisutnost tkiva toplokrvnih životinja za dokazivanje prisutnosti animalnih proteina podrijetlom od preživača uporabom mikroskopske pretrage, te pretrage za detekciju mesno-koštanog brašna preživača, proizvoda koji potječu od preživača, te goveđe DNA u krmivima i krmnim smjesama.

Hematološke i biokemijske pretrage koje se obavljaju se u svrhu određivanja metaboličkog statusa životinja.

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

Analitika se namirnica životinjskog podrijetla sastoji u ispitivanju pokazatelja kakvoće kao i zdravstvene ispravnosti kroz određivanje količine različitih aditiva u gotovim proizvodima.

U Laboratoriju se provode i ispitivanja tvari s anaboličkim učinkom (stilbeni, prirodni i sintetski steroidi, beta-adrenergički agonisti i ostalo) u različitom biološkom materijalu te interpretacija utvrđenih razina analita.

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

U Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka obavlja se provjera kvalitete domaćih i uvoznih VMP-a i znanstveno-stručna procjena dokumentacije o VMP-ima u svrhu dobivanja i produljenja odobrenja i promjena za stavljanje VMP-a u promet.

Laboratorij je 2009.godine rekonstruiran, opremljen je suvremenom opremom za analize lijekova. Provjera kvalitete provodi se od 2007. akreditiranim se metodama visokodjelatne tekućinske kromatografije (HPLC), spektrofotometrijskom metodom i plinskom kromatografijom (GC).

Od 2006. godine stručnjaci Laboratorija aktivno surađuju sa znanstveno-stručnim odborima Europske agencije za lijekove (EMA), Europskim direktoratom za kvalitetu lijekova (EDQM) i Službenim laboratorijem za kontrolu medicinskih proizvoda (OMCL) i Hrvatskom agencijom za lijekove i medicinske proizvode (HALMED).

Analiza postojećeg stanja i mogućnosti šire primjene umjetnog osjemenjivanja konja u Republici Hrvatskoj

Nikica Prvanović Babić, Petra Franko, A. Orak, Iva Getz, T. Dobranić, J. Grizelj, I. Folnožić, G. Bačić, T. Karadjole i M. Samardžija



Uvod

Tisućama godina, selekcijskim radom, čovjek je oblikovao mnoge životinjske vrste, a prve konje udomaćila su još plemena Mezopotamije i Kine prije više od 4 500 godina. Uporabna namjena, a time i uzgojni cilj u uzgojima konja uvelike se tijekom vremena mijenjao i razlikovao od uzgoja drugih domaćih životinja. Međutim, jedna je stvar ostala ista; kod konja se nikada nije težilo primarno reprodukciji svih jedinki, već se nastojalo rasplodivati isključivo najboljih, po svemu superiornih primjeraka. Naime, o inteligenciji, poslušnosti i izdržljivosti konja nerijetko je direktno ovisio život i preživljavanje jahača, odnosno čovjeka. Tako je i danas, iako je konj izgubio svoju primarnu namjenu u svakodnevnom životu čovjeka. Konje se ne uzgaja ponajprije s namjenom proizvoda, nego kao životinje za visokoprofilirani sport te užitak i osobno zadovoljstvo uzgajivača. Zbog takve uporabne vrijednosti postoji potreba i želja za najvišom razinom selekcije, odnosno u rasplod idu isključivo

najuspješniji primjerci rasplodnih kobila i pastuha, iznad prosječnih rezultata u sportu, eksterijerno najkvalitetnije, zadovoljavajućeg temperamenta i ćudi. Kako takve životinje nerijetko nisu idealne i za rasplod često je potrebno intervenirati primjenom različitih metoda asistiranje reprodukcije. Najvažnije od njih su umjetno osjemenjivanje (U.O.), embriotransfer, seksiranje spermija i kloniranje. Od svih se navedenih najčešće primjenjuje U.O. jer je daleko najjednostavnija i traži daleko najmanje sredstava i opreme. Nadalje, primjena U.O. ubrzava postupke oplemenjivanja pasmina i uzgojnih tipova te ubrzava selekcijski učinak, jer najkvalitetniji pastusi kroz umjetno osjemenjivanje ostavljaju znatniji uzgojni trag. Jednim skokom pastuh opasuje jednu kobilu, dok se spermom ejakulata može osjemeniti više od deset kobila, odnosno preko 600 kobila godišnje. Nadalje, duboko smrznuto sjeme pastuha može se koristiti u rasplodu i nakon njegova

Dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Iva GETZ, dr. med. vet. izvanredna profesorica, dr. sc. Tomislav DOBRANIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. med. vet., docent, Ivan FOLNOŽIĆ, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Tugomir KARADJOLE, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; Petra FRANKO, dr. med. vet.; Antonio ORAK, dr. med. vet., Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske d.o.o., Zagreb

uginuća. Zdravstvene prednosti umjetnog osjemenjivanja ogledaju se u sprječavanju prijenosa spolno zaraznih, nametničkih i drugih bolesti, ujedno se smanjuje i rizik od raznih povreda prilikom manipulacije sa životinjama i uklanjaju tzv. „profesionalne“ bolesti usko vezane s pojačanom seksualnom aktivnosti, poput impotencije i psihičkih problema (Cergolj i Samardžija, 2006., Prvanović Babić i sur., 2011.). Umjetno osjemenjivanje olakšava distribuciju genetskog materijala čime se izbjegava stres uvjetovan transportom rasplodnih grla. Konjogojstvo u našoj domovini nezaustavljivo galopira naprijed. Interes i broj uzgajivača i držatelja konja, naročito sportskih grla raste, no na osnovi godišnjih izvješća Hrvatskog Stočarskog centra očito je da je plodnost konja svih pasmina u Hrvatskoj nezadovoljavajuća te je broj ždrjebadi prema broju kobila daleko ispod europskog prosjeka (Prvanović i sur., 2009.).

Republika Hrvatska kao buduća članica EU u kojoj postoji vrlo dobro organiziran sustav praćenja potencijalnih problema sa slabijom plodnošću, odnosno neplodnošću, spolno prenosivim bolestima, pobačajima i slično, trebala bi pridavati znatniju pažnju prevenciji smanjene plodnosti, odnosno neplodnosti te zakonski osigurati i regulirati bolju provedbu mjera kontrole plodnosti konja. Upravo bi poticanje primjene U.O. na većem broju kobila direktno i indirektno pridonijelo postizanju tog cilja i dostizanju rezultata iz drugih zemalja, članica EU u kojima postotak kobila na kojima se provodi U.O. iznosi 40-60% (Prvanović i sur., 2009.).

Organizacija umjetnog osjemenjivanja

Umjetno osjemenjivanje (u daljnjem tekstu U.O.) predstavlja postupak kojim se ejakulat pastuha (razrijeđen ili ne u

više doza) polaže u maternicu kobile u estrusu s ciljem da ostane gravidna. Na taj je način dovoljan jedan ejakulat za osjemenjivanje više kobila, a ejakulacija je odvojena od osjemenjivanja. U.O. kobila se u svijetu već godinama provodi (Herak, 1989.).

Neke konjogojske udruge dopuštaju U.O. samo sa svježom razrijeđenom spermom na mjestu dobivanja ejakulata, dok druge dozvoljavaju i uporabu svježeg transportiranog sjemena i duboko smrznutog sjemena. Pojedine elitne udruge, primjerice engleskih punokrvnjaka, uopće ne dopuštaju U.O. čak niti kada je to medicinski indicirano, npr. kod stečenih malformacija vanjskih genitalija i idu čak do takvih mjera da umjetnim osjemenjivanjem postupkom dobivenu ždrjebad odbijaju registrirati (Prvanović i sur., 2005., 2006., Cergolj i Samardžija, 2006.).

Postupak izvođenja U.O.

Prilikom izvođenja samog postupka bitno je poštivati nekoliko postulata:

1. U spolne organe kobile uvoditi samo sterilan pribor.
2. Betadinom detaljno oprati perinealnu regiju (vulvu, anus i okolinu te područje ispod dražice) kako bi se smanjila mogućnost kontaminacije.

Rep prije toga treba umotati i fiksirati. Na ruku se navuče sterilna plastična rukavica, a zatim se u rodnicu uvodi kateter za osjemenjivanje, zaštićen tankom sanitarnom navlakom. Pri uvođenju katetera u rodnicu vrh se katetera drži u zatvorenoj šaci kako bi ga se maksimalno zaštitilo od kontaminacije. Neposredno pred ulazom u maternični grljak kateter se oslobodi navlake i kroz grljak se uvlači u maternicu. Kateter se uvodi u maternicu na način da se prvo kažiprstom prođe kroz grljak, a zatim se na isto mjesto počne uvlačiti kateter sve do materničnog trupa. Grljak je u kobile

kratak i jednostavne građe, a kanal grlika je u vrijeme estrusa otvoren. Na taj način u maternicu ulazi samo kateter koji je još uvijek sterilan. Doza za osjemenjivanje može biti pripremljena u brizgalicama, pajetama ili u obliku slamčica volumena 0,5-5 mL (Grizelj i sur., 2008.).

Tehnike u postupku U.O. kod konja koje se danas koriste su:

1. osjemenjivanje sa svježim sjemenom u roku od 30 minuta od dobivanja, osjemenjivanje rashlađenim sjemenom 30 min. pa do 12 (24) sati nakon dobivanja kod kojeg se sjeme hladi na +4 °C kako bi se čuvalo na licu mjesta ili transportiralo,
2. U.O. s duboko smrznutim sjemenom (DSS) kojeg je moguće čuvati neodređeno vrijeme u tekućem dušiku na temperaturi od – 196 °C u obliku paleta (0,1 mL), ampula, pajeta,
3. osjemenjivanje seksiranom spermom, bilo da je svježa ili DS (postupkom odvajanja ženskih, X, od muških Y gameta u protočnom citometru).

Svježa se sperma aplicira razrijeđena i nerazrijeđena. Kod osjemenjivanja svježim nerazrijeđenim ejakulatom koriste se samo frakcija bogata spermom koju se dobiva procjeđivanjem ejakulata preko sterilne gaze. Manipulativno vrijeme znatno je veće pri uporabi razrijeđene sperme u odnosu na nerazrijeđenu i do 45 puta. Za razrjeđivanje sjemena danas se koriste glukozno-žumanjčano-mliječni i glukozno-tartaratni razrjeđivači (Samardžija i sur., 2003., Duchamp, 2004.). Ukoliko je kobila prije osjemenjivanja pravilno pripremljena, postotak koncepcije iznosi preko 75%. Primjena duboko smrznute sperme iziskuje poseban sterilan pribor kojim se otopljena

sperma (30 sekundi na 40 °C) aplicira u maternicu kobile. Osjemenjivanje se provodi apliciranjem sperme u reproduktivni sustav kobile u estrusu i to naranije 12 sati prije, a najkasnije 6 sati nakon ovulacije (Feo i sur., 1992., Lyle i Ferrer, 2005., Bradanović, 2007.) pri čemu se bimanualnom tehnikom nastoji uvesti kateter što bliže vrhu roga s one strane s koje je kobila ovulirala, odnosno ima predovulatorni folikul. Za uspjehnost osjemenjivanja pri korištenju smrznutih ejakulata pokazalo se da je u postotku koncepcije dob kobile presudna (Weems i Byers, 2004.). U kobila mlađih od 8 godina postotak iznosi 45%, za kobile do 13 godina starosti iznosi 36%, a preko 13 godina starosti to je svega 29%. Nadalje, postoji velika individualna varijabilnost između pastuha s obzirom na sposobnost ejakulata da bude konzerviran. Različite tehnike nisu primjenjive na sve pastuhe i određeni postotci ejakulata pastuha ne podnose hlađenje ili smrzavanje. Postoji isto tako i određeni broj pastuha koji su slabije plodni ili sterilni. Makek i sur. (2009.) navode da je pri osjemenjivanju s DSS potrebno učestalo pratiti folikularni razvoj s obzirom da je broj doza koje su dostupne za korištenje obično ograničen. Postotak preživljavanja spermija prilikom hlađenja se smanjuje zbog iscrpljivanja tijekom pohrane. Naime, tada dolazi do korištenja vlastitih metaboličkih rezervi spermija te do dezintegracije membrane (počinju se stvarati kristali leda, i sam osmotski tlak medija se promijeni) zbog temperaturnog šoka do kojeg dolazi prilikom pada temperature između 15 i 9 °C. Osjemenjivanje neposredno po dobivenom ejakulatu je postupak koji ostvaruje najbolje rezultate kako navodi Charvolin (2005.). Koristiti ohlađene ili duboko smrznute ejakulate ima opravdanje samo kod transporta, ili kad su u pitanju neke druge otegotne okolnosti.

Zakonski okvir umjetnog osjemenjivanja u Republici Hrvatskoj

Umjetno osjemenjivanje, stavljanje u promet i izvoz sjemeni kopitara iz RH regulirani su Zakonom o veterinarstvu (NN 41/2007. i NN 155/2008.) i pravilnicima kojima se zakonodavstvo RH usklađuje sa zakonodavstvom Europske Unije:

- Pravilnik o zdravstvenim zahtjevima za stavljanje u promet i uvoz životinja, sjemeni, jajnih stanica i zametaka koji ne podliježu zahtjevima propisa iz dodatka A dijela i pravilnika o veterinarskim i zootehničkim pregledima određenih životinja i proizvoda u prometu s državama članicama Europske Unije (NN 85/09.).
- Pravilnik o obrascu veterinarskog certifikata za stavljanje u promet sjemeni kopitara kojim se određuju uvjeti za izdavanje certifikata za izvoz sjemeni kopitara u države članice Europske Unije (NN 110/09.).

Zakonske odredbe regulirane su i:

- Pravilnikom o mjerama kontrole arteritisa konja (NN 62/09.).
- Pravilnikom o veterinarskim uvjetima za premještanje kopitara i uvoz iz trećih zemalja (NN 154/2008.).
- Pravilnikom o veterinarsko zdravstvenim uvjetima za uvoz i prevoz određenih živih papkara i kopitara (NN 41/2009.).

Ovi će pravilnici u potpunosti ili dijelom stupiti na snagu prilikom ulaska RH u EU.

Rasprava

Na osnovi dosadašnjih saznanja na polju asistiranu reprodukciju u razvijenim zemljama tehnikom U.O. očigledno je kako je takav način

interveniranja u selekcijski rad na polju reprodukcije konja vrlo značajan i unosi mnoge prednosti i poboljšanja u odnosu na tradicionalni prirodni pripust. Osim toga, U.O. kobila sjemenom kvalitetnog rasplodnjaka ostavlja se veći trag i oplemenjuje određena pasmina u puno kraćem vremenskom roku. U RH je postupak umjetnog osjemenjivanja zakonski reguliran člancima 30. i 31. Zakona o veterinarstvu, koji govore kako rasplodna grla, sjeme za umjetno osjemenjivanje i oplodene jajne stanice moraju biti slobodni od zaraznih i nametničkih bolesti, a sjeme za umjetno osjemenjivanje i oplodene jajne stanice moraju udovoljavati propisanim uvjetima glede dobivanja, pripreme i razrjeđivanja, zdravstvene ispravnosti i biološke kakvoće te biti označeni na propisani način. Objekti za poslovanje s reprodukcijskim materijalom moraju udovoljavati propisanim veterinarsko-zdravstvenim uvjetima.

Glavni i odgovorni za sakupljanje i skladištenje sjemeni pastuha je Centar za reprodukciju u stočarstvu RH u Križevcima dok se U.O. provodi u Centru za reprodukciju u Križevcima u pastuharni „Lemeš“ i na Klinici za reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te u manjem broju privatnih veterinarskih stanica i ambulanti, primjerice u Karlovcu, Vrbovcu, Sv. Petru u Šumi itd. Pri tome je važno napomenuti da se U.O. kobila u Hrvatskoj u svim nabrojenim veterinarskim institucijama i organizacijama provodi s uspjehom usporedivim onome iz ostalih zemalja EU i SAD. Naime, sukladno navodima Blanchard i sur. (2003.) te Card (2010.), postotak plodnosti se podudara i iznosi do 70%, a uvelike ovisi o dobi kobile koju se osjemenjuje. Nadalje, u svrhu pretraživanja pastuha na kliconoštvo virusnog arteritisa provodi se dobivanje ejakulata pastuha na svim većim ergelama (Državne ergele

Lipik i Đakovo, Alkarska ergela, Sinj) što je preduvjet za uvođenje U.O. na navedenim uzgojima konja. Nadalje, velika većina veterinarskih stanica posjeduje ultrazvučne aparate i provodi ginekološke i transrektalne ultrazvučne preglede kobila. Stoga bi, uz minimalnu edukaciju, lako mogli na sebe preuzeti U.O. kobila nad kojima su i do sada vršili stručni nadzor rasplodivanja. Pri tome ponajprije mislimo na rashlađenu spermu koja bi bila dobivena od pastuha na hrvatskim pastuharnama, dok bi za U.O. s duboko smrznutom spermom kobile ipak trebalo dovesti u specijalizirane ustanove, poput Klinika Veterinarskog fakulteta ili Centra za reprodukciju u Križevcima, jer je sam postupak bitno složeniji.

Iako manji broj privatnih veterinarskih stanica i sada pruža uslugu osjemenjivanja duboko smrznutom spermom kod vlasnika kobile, iskustva zemalja s razvijenim konjogojstvom kao i osobna iskustva autora ovog članka, ne idu u prilog navedenoj praksi jer je nerentabilna i neodrživa na dulji rok. Naime, cijena doza sperme diktira osjemenjivanje neposredno po ovulaciji čija je direktna posljedica neophodno ultrazvučno praćenje kobile svakih 6 h kroz estrus. Ukoliko su kobile dislocirane po uzgojima, čitav postupak je za veterinara/veterinare pretjerano iscrpljujući, a za vlasnike preskup.

Stoga je bolje i isplativije da se kobile ukoliko je to moguće, pretežito osjemenjuju rashlađenom spermom pastuha. U tu bi svrhu trebalo poraditi na pojednostavljivanju postupka uvoza rashlađene sperme iz zemalja EU, za što bi trebao postojati poseban dodatak pravilniku o obrascu veterinarskog certifikata za stavljanje u promet sjemena kopitara. U tom bi slučaju postupak bio jednostavan. Veterinar bi kobilu pregledavao svakih 48 h i kada bi utvrdio da je spremna za U.O. naručio bi spermu iz bilo koje zemlje EU i sperma

bi pravovremeno stigla. Potom bi dvokratno osjemenio kobilu koja se cijelo vrijeme nalazila kod vlasnika. Ukoliko bi postojala posebna potreba da se kobila osjemeni DSS pastuha takva bi kobila bila upućena ili u Centar za reprodukciju u Križevcima ili na Veterinarski fakultet u Zagrebu i tamo bila osjemenjena duboko smrznutom spermom.

Na temelju dosadašnjih spoznaja vidljivo je da ova grana asistiranje reprodukcije ima veliku mogućnost primjene. Naime, mi u RH imamo dostatno kvalitetnih stručnjaka, doktora veterinarske medicine koji bi u relativno kratkom vremenskom roku mogli uvesti primjenu U.O. kobila u praktički sve značajnije uzgoje konja u RH. Umjetno osjemenjivanje je budućnost za hrvatsko konjogojstvo iz više razloga. U.O. postizemo visoki postotak ždrjebnosti kobila, jer prije osjemenjivanja obvezno kontroliramo stanje na jajnicima ginekološkom i/ili ultrazvučnom pretragom i u optimalno vrijeme apliciramo sjeme (Cergolj i Samardžija, 2006.). Ovaj podatak nije nimalo nevažan, jer postotak plodnosti kobila i pastuha prema svjetskim spoznajama treba rasti. Osim u tom ekonomski isplativom smjeru, razvoj i veća primjena umjetnog osjemenjivanja očituje se i u segmentu melioracije i značajnijeg očuvanja naših autohtonih pasmina (ponajprije pasmina lipicanac, hrvatski posavac, hrvatski hladnokrvnjak, međimurski konj i dr.).

Uvođenjem U.O. na naše najpoznatije ergele „Đakovo“, i „Lipik“ kao i organizacija U.O. s rashlađenom spermom u zemaljskom uzgoju lipicanaca izgledna je mogućnost povećanja plodnosti lipicanskih kobila, koja za sada na razini države jako varira, a u prosjeku iznosi krajnje nezadovoljavajućih oko 60% (Vučković, 2008.). Dakako, umjetno se osjemenjivanje nameće i kao izvrsno rješenje u provedbi mjera sprječavanja širenja spolnih zaraznih bolesti. Kao primjer treba

istaknuti ne tako dugo u prošlosti aktualan problem virusnog arteritisa konja na ergeli u Đakovu, opake zarazne bolesti koja uzrokuje pobačaje gravidnih kobila. Pastuh u čijem se sjemenu prilikom kontrole utvrdi virus, mora biti izbačen iz uzgoja. Zakonska regulativa iz Pravilnika o mjerama kontrole arteritisa u konja u kojem se nalažu Dužnosti ovlaštenog veterinara u slučaju sumnje na bolest te obveze službenog doktora veterinarske medicine ili veterinarskog inspektora u slučaju potvrde bolesti uvelike utječe na kvalitetu U.O. i stavljanja u promet sjemena pastuha. U.O. predstavlja jedan od pokazatelja i metoda kojima bi se ta i mnoge druge bolesti mogle bolje i lakše i učinkovitije pratiti u uzgojima rasplodnih pastuha i kobila te na vrijeme spriječiti širenje i štete koje nastaju pojavom bolesti. Stoga se redovitom i pravovremenom kontrolom reproduktivnog statusa može kontrolirati pojavnost zaraza te sprječavati njihovo širenje na ostale ergele i uzgoje.

Razvoj se U.O. u RH može usmjeravati u dva osnovna smjera. Jedan od njih je uvoz sperme kvalitetnih rasplodnih pastuha određenih pasmina konja čime bi se doprinijelo na oplemenjivanju i osvježavanju krvi naših rasplodnih kobila pojedinih pasmina i time stvorila dobra baza za kvalitetnije jedinke kako u smislu danjeg rasploda tako u smislu boljih rezultata na natjecanjima.

Drugi smjer je stvaranje „banke sperme“ naših autohtonih vrsta koja bi svojim postojanjem bolje kontrolirala sjeme kvalitetnih pastuha i povećala dostupnost kvalitetnog sjemena u svim dijelovima RH, ali i u izvozu u treće zemlje i u zemlje EU sukladno preporukama (Prvanović i sur., 2010., 2011., Prvanović Babić i sur., 2011.).

Već postojeće tehnike primjene U.O. u budućnosti bi se trebale proširiti s novijim spoznajama iz razvijenih

zemalja i početi s novijim metodama primjene U.O. kao što su npr. tehnike osjemenjivanja s vrlo niskim dozama sjemena koje se apliciraju duboko u rog maternice koje prema istraživanju Card (2010.) postižu dobre rezultate i nalaze svoju primjenu kod rasplodnjaka koji su problematičnog reproduktivnog statusa i kod ograničenih uvjeta osjemenjivanja s DS spermom.

Ulaskom RH u EU otvorit će se nove mogućnosti razvoja U.O. i uzgoja konja za globalno tržište, ali na snagu će stupiti i novi propisi koje će RH donijeti ili ih je već donijela u procesu usklađivanja zakonodavstva sa zakonodavstvom EU.

Tako će prema članku 11. Pravilnika o zdravstvenim zahtjevima za stavljanje u promet i uvoz životinja, sjemena, jajnih stanica i zametaka koji ne podliježu zahtjevima propisa iz Dodatka A dijela i Pravilnika o veterinarskim i zootehničkim pregledima određenih životinja i proizvoda u prometu s državama članicama EU i Dodatku D poglavlja I., II. i III., sjeme pastuha morati biti prikupljeno, obrađeno i uskladišteno za potrebe U.O. po propisanim pravilima u Centrima za sakupljanje sjemena. Oni moraju biti pod nadzorom veterinarskog centra i zadovoljavati uvijete za smještaj pastuha, sakupljanje, obradu i skladištenje sjemena te izgrađeni na način da se izbjegne kontakt sa životinjama izvan Centra. Nadalje, trebat će biti osigurano vođenje evidencije prema protokolu i Pravilniku, stručni veterinarski nadzor i adekvatan kadar.

Pastusi koji će se koristiti za U.O. ne smiju bolovati od zaraznih bolesti, a trebaju potjecati s teritorija i gospodarstva koje je pod posebnim veterinarskim nadzorom. 30 dana moraju biti držani na gospodarstvima na kojima kopitari ne pokazuju kliničke znakove virusnog arteritisa i 60 dana prije sakupljanja sperme na gospodarstvu ne smije biti kliničkih znakova zaraznog meningitisa.

Nadalje, pastusi moraju biti podvrgnuti testovima koji se provode u ovlaštenim laboratorijima. To su agar-gel imunodifuzni test (Coggins test) na IAK, serum-neutralizacijski test na virusni arteritis konja i test na zarazni metritis kobilica. Prikupljeno, obrađeno i uskladišteno sjeme kod izvoza u države članice EU treba pratiti certifikat u skladu s Pravilnikom o obrascu veterinarskog certifikata za stavljanje u promet sjemena kopitara. Kod uvoza sjemena iz država članica EU primjenjivat će se isti postulati. Imajući u vidu sve navedeno, očito je da je pred nama u RH još mnogo izazova; postotak ždrjebnosti kobilica je manji nego u razvijenim zemljama, a i ne provodi se U.O. u potrebnom opsegu da se ovaj deficit smanji. Pri tome nam je velika prepreka nedovoljna informiranost uzgajivača i stručnjaka, nedostatak financijskih sredstava i potrebno usklađivanje i razvijanje baze za U.O. u skladu s novim propisima i zakonodavstvom EU. Slijedom toga može se steći dojam da ne možemo očekivati brzi porast U.O. Međutim, znamo da je primjena ove metode u svijetu dala višestruke pozitivne rezultate, a našim stručnjacima je poznata i dijelom je koriste. Prednost RH je ta što imamo potencijal stručnog, obrazovnog kadra koji je visoko motiviran i sposoban za dalju edukaciju da može dalje razvijati i primjenjivati tehnike U.O. Možda upravo vrijeme u kome se nalazimo, a to je neposredan ulazak Hrvatske u EU, bude poticaj za traženje novih mogućnosti primjene U.O. i nalaženja sredstava za njeno podupiranje u okviru predpristupnih fondova Unije CARDS, PHARE, ISPA, IPA, a naročito SAPARD-a. Za pretpostaviti je da će se metoda U.O., kao tehnike asistiranje reprodukcije, konstantno širiti u primjeni, posebice u cilju očuvanju autohtonih pasmina i povećanju njihove populacije u RH.

Zaključci

Umjetno osjemenjivanje kobilica pouzdana je i vrlo učinkovita metoda primjene asistirane reprodukcije s mnogim prednostima prema pripustu i kao takva nedovoljno je korištena metoda reprodukcije u RH.

Potencijal za proširenje te metode biotehnologije rasplodivanja je vrlo visok.

Podizanjem opće razine veterinarske kontrole i nadzora nad rasplodnim grlima kroz postupak U.O. u RH povećala bi se plodnost, smanjila mogućnost širenja spolnih zaraza te doprinijelo očuvanju autohtonih pasmina i povećanju njihove populacije u našoj zemlji.

Na polju nacionalnog zakonodavstva poduzeti su važni koraci u usklađivanju sa zakonodavstvom EU, doneseni su i još su u planu donošenja mnogi pravilnici te i na tom planu nema zapreke za razvoj ove metode asistiranje reprodukcije kao što je U.O.

Sažetak

Umjetno osjemenjivanje je važan zootehnološki i uzgojni postupak u konjogojstvu koji se temelji na tri vrlo važna postulata. Prvo je činjenica da spermiji mogu preživjeti izvan tijela, da se nakon toga mogu aplicirati u spolne organe kobile na način s prihvatljivim uspjehom koncepcije te da je moguće otkriti plodni period ženke. Uzgajivači pastuha i kobilica u razvijenim konjogojskim zemljama iz više se razloga već desetljećima priklanjaju umjetnom osjemenjivanju. Dobro organiziran sustav U.O., uključujući redovito uzorkovanje kobilica i pastuha, nosi sa sobom niz sanitarnih prednosti znatno smanjujući mogućnost prijenosa spolno prenosivih bolesti. Pravilno izveden postupak omogućuje svojim višestrukim prednostima nad drugim metodama oplodnje (pogotovo nad pripustom) pravilnije iskorištavanje i ekonomsku isplativost kobilica. Veći broj ždriježadi koje uspješno donese na svijet tijekom svojeg uzgojnog perioda, odnosno

života, dakle plodnost se uvelike povećava u gospodarstvu. Važno je zaključiti i da se troškovi transporta, stres i rizik od ozljeda visoko vrijednih životinja svode na minimum. Svrha rada bila je analizirati postojeće stanje i obraditi mogućnosti za razvoj biotehnologije umjetnog osjemenjivanja u RH. Dosadašnje spoznaje na tom planu u svijetu, razmatrane su kao vodič prema kojem bi i u našoj zemlji trebalo stremiti. Pregledom i obradom podataka dolazimo do zaključka da primjena asistiranе reprodukcije u našoj zemlji ima veliki potencijal za razvoj, a uz relativno mala ulaganja u opremu i obrazovanje stručnog kadra može se ostvariti znatan ekonomski profit, sačuvati mnoge autohtone pasmine konja koje su na rubu izumiranja, povećati plodnost i smanjiti širenje zaraza te na taj način podignuti i opću razinu veterinarske kontrole i nadzora nad rasplodnim grlima.

Literatura

1. BLANCHARD, T. L., D. VARNER, J. SCHUMACHER, C. C. LOVE, S. P. BRINSKO and S. L. RIGBY (2003): Manual of equine reproduction, second edition. Mosby Inc., St. Louis.
2. BRADANOVIĆ, B. (2007): Indukcija estrusa kobila s pomoću pripravaka gestagena i prostaglandina. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
3. CARD, C. (2010): Low dose insemination techniques in mares. Pre-conference abstracts ed., CarraraFiere, marina di Carrara, pp. 3-11.
4. CERGOLJ, M. i M. SAMARDŽIJA (2006): Umjetno osjemenjivanje kobila. U: Veterinarska andrologija. Ur. M. Samardžija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
5. CHARVOLIN, J. M., (2005): Technico-economic aspects of insemination at observed ovulation and insemination high in the uterine horn. Practique Veterinaire Equine, 37, 27-33.
6. DUCHAMP, G. (2004): Deep uterine insemination in the mare: overview and novelties. In: 30eme journee de la recherche equine, 3 mars 2004.
7. FEO, J. C. S. A., O. E. R. C. BARANABE and J. R. BASILE (1992): Artificial insemination in the equine: distribution of spermatozoa in the genital tract: a comparison of mares inseminated in the uterine body and the uterine horn ipsilateral to the ovulatory follicle. In International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. 1992. The Hague, Netherlands.
8. GRIZELJ, J., A. GRIZELJ, I. GETZ, N. PRVANOVIĆ, S. VINCE, L. TURMALAJ, P. GJINO, M. SAMARDŽIJA, M. BELIĆ, M. LIPAR i T. DOBRANIĆ (2008): Umjetno osjemenjivanje kobila – ogledan primjer suradnje veterinaru i uzgajivača. Zbornik radova 2. Hrvatskog simpozija u lipicanskoj pasmini s međunarodnim sudjelovanjem. Ur: M. ČAČIĆ, str. 147-155, Neron d.o.o. Bjelovar.
9. HERAK, M. (1989): Umjetno osjemenjivanje domaćih životinja: Reprodukcijska domaćih životinja. U: Veterinarski priručnik, Juma, Zagreb. str. 181-209.
10. LYLE, S. K. and M. S. FERRER (2005): Low-dose insemination - why, when and how. Theriogenology 64, 572-579.
11. MAKEK, Z., I. GETZ, N. PRVANOVIĆ, A. TOMAŠKOVIĆ i J. GRIZELJ (2009): Rasplodivanje konja. Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
12. Pravilnik o zdravstvenim zahtjevima za stavljanje u promet i uvoz životinja, sjemena, jajnih stanica i zametaka koji ne podliježu zahtjevima propisa iz dodatka A dijela i pravilnika o veterinarskim i zootehničkim pregledima određenih životinja i proizvoda u prometu s državama članicama Europske Unije (NN 85/09.).
13. Pravilnik o obrascu veterinarskog certifikata za stavljanje u promet sjemena kopitara kojim se određuju uvjeti za izdavanje certifikata za izvoz sjemena kopitara u države članice Europske Unije (NN 110/09.).
14. Pravilnik o mjerama kontrole arteritisa konja (NN 62/09.).
15. Pravilnik o veterinarskim uvjetima za premještanje kopitara i uvoz iz trećih zemalja (NN 154/2008.).
16. Pravilnik o veterinarsko zdravstvenim uvjetima za uvoz i provoz određenih živih papkara i kopitara (NN 41/2009.).
17. PRVANOVIĆ, N., A. TOMAŠKOVIĆ, M. CERGOLJ, J. GRIZELJ, T. DOBRANIĆ, I. GETZ, M. SAMARDŽIJA i S. VINCE (2005): Uspješnost primjene različitih metoda za indukciju estrusa u kobila. Vet. stn. 36, 17-21.
18. PRVANOVIĆ, N., A. TOMAŠKOVIĆ, M. CERGOLJ, J. GRIZELJ, T. DOBRANIĆ, I. GETZ i M. SAMARDŽIJA (2006): Utjecaj primjene različitih metoda za indukciju estrusa na postotak gravidnosti u kobila pasmine Engleski punokrvnjak // VIII savjetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja s međunarodnim učešćem: Clinica Veterinaria 2006 : zbornik radova / FILIPOVIĆ, Selma (ur.). Neum: Veterinarski fakultet Sarajevo, 2006. Pp. 52-56.
19. PRVANOVIĆ, N., M. CERGOLJ, J. GRIZELJ, N. FILIPOVIĆ, M. ČAČIĆ, M. SAMARDŽIJA, D. GRAČNER, S. VINCE, I. FOLNOŽIĆ and T. DOBRANIĆ (2009): Breeding records for Croatian autochthonous horse breeds as a tool of assisted reproduction techniques for biologic preservation purposes. Conference abstracts, ed. E. KISTANOVA, Sofia, pp. 17-18.
20. PRVANOVIĆ, N., A. KOSTELIĆ, B. NOVAK M. CERGOLJ, J. GRIZELJ, M. SAMARDŽIJA, N. FILIPOVIĆ, M. LIPAR and T. DOBRANIĆ (2010): The influence of age and gender on haematological parameters in protected and endangered

- Murinsulaner horses // Proceedings XVI SIVE International Congress / Ellena PICCIONE (ed.). Bologna, Italija : SIVE Societa Italiana Veterinari per equini, 2010. Pp. 30-31.
21. PRVANOVIĆ, N., A. KOSTELIĆ, M. ČAČIĆ, M. LIPAR, N. FILIPOVIĆ, N. MAČEŠIĆ, I. GETZ, T. KARADJOLE, M. SAMARDŽIJA and M. CERGOLJ (2011): Influence of breeders education on introduction of new methods and programs for improvement and saving protected autochthonous horsebreeds in Croatia // XVII Sive Congress -Montesilvano (PE), Proceedings/Atti February 4-6, 2011/Ellena PICCIONE (ed.). Pescara: SIVE, 2011. Pp. 332-333.
22. PRVANOVIĆ BABIĆ, N., M. CERGOLJ, M. SAMARDŽIJA, G. BACIC, T. KARADJOLE, N. MACESIC (2011): Influence of rapid BCS change on fertility rate in lipizzan mares Proceedings of the 15th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Reproduction in Domestic Animals, vol. 46, supplement 3, September 2011. 1-161/RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. (ed.). Antalya, Turkey: Wiley - Blackwell Verlag GmbH, 142-143.
23. SAMARDŽIJA, M., M. CERGOLJ, A. TOMAŠKOVIĆ i T. DOBRANIĆ (2003): Praktikum iz spermilogije. Interna skripta. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
24. VUČKOVIĆ, T. (2008): Plodnost lipicanskih kobila u ždrebećem estrusu. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
25. WEEMS, J. S. and W. BYERS (2004): How to incorporate low dose hysteroscopic insemination in an on-farm fresh semen program. in Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, Colorado, USA, 4-8 December, 2004.
26. Zakon o veterinarstvu (NN 41/2007. i NN 155/2008.).

Analysis of the existing situation and possibilities for the general use of artificial insemination of mares in Republic of Croatia

Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Iva GETZ, DVM, PhD, Associate Professor, Tomislav DOBRANIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Juraj GRIZELJ, DVM, PhD, Assistant Professor, Ivan FOLNOŽIĆ, DVM, Junior Researcher, Goran BAČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Tugomir KARADJOLE, DVM, PhD, Associate Professor, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Associate Professor, Zagreb; Petra FRANKO, DVM; Antonio ORAK, DVM, Center for Reproduction of Animal Breeding, Zagreb, Croatia

Artificial insemination is an important zootechnological and horse breeding procedure based on three important postulates. First is the fact that sperm can survive outside the body, second that it can then be applied into the mare reproductive organs in a manner acceptable to achieve an optimal pregnancy rate, and third that it is possible to detect the fertile period of females. A properly performed procedure allows for multiple benefits over other methods of reproduction (especially of natural breeding). A larger number of foals are successfully brought into the world during the mare breeding period and fertility attains higher rates as mares are more frequently under the control and prevention of sexually transmitted infections, making the process more economic. It is important to conclude that the transport costs, stress and risk of injury to highly valuable breeders are reduced to a minimum. The purpose of the study was

to theoretically outline development of the biotechnology of artificial insemination in Croatia. Current knowledge in this field is considered to be a guide that our country should follow. The organization that began systematic work in this field, the Croatian Livestock Reproduction Centre (CRSH) in Lemeš near Križevci has been implementing techniques and methods to better study the application and development of artificial insemination in the country for the past three years. Reviewing the data indicates that the use of assisted reproduction has great potential for development in Croatia. A relatively small investment in equipment and training of professional staff may have significant economic benefits, to preserve many indigenous breeds of horses that are on the verge of extinction, to increase fertility and reduce the spread of infection, and thus raise the overall level of veterinary control and supervision over breeding animals.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

**antibakterijski lijek za sistavne infekcije
fluorokinolon, enrofloxacin za goveda i svinje**

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

Indikacije: Govedo: Liječenje infekcija dišnih organa goveda (npr. kompleks enzooske bronhopneumonije teladi/junadi) koje uzrokuju: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* i *Mycoplasma* spp., te liječenje mastitisa krava uzrokovanih bakterijama *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*. Enroxil[®] Max primjenjuje se u goveda kada kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma ukazuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Svinja: Liječenje dišnih infekcija svinja koje uzrokuju bakterije *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* i *Bordetella bronchiseptica*, kao i liječenje MMA-sindroma u krmača i ostalih infekcija čiji su uzročnici osjetljivi na enrofloksacin. Enroxil[®] Max primjenjuje se u svinja kada kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma, ukazuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Karencija: Meso i jestive iznutrice: Govedo: 14 dana. Svinja: 10 dana. Mlijeko krava: 48 sati.

Bioetički pogledi na dodatke hrani

Luka Štilinović, Ana Štilinović Mustaćek i Josip Čulig



Uvod

Na prvi se pogled može učiniti da ova tema i nije prikladna za časopis Veterinarska stanica, ipak, nastojat ćemo pokazati da je danas integrativna bioetika ušla u sve pore ljudskog društva pa tako i veterinarsku djelatnost, poglavito kad je riječ o hrani i zaštiti okoliša. Neosporna je činjenica da je čovjek sve veća prijetnja biosustavu; nestaju brojne biljne i životinjske vrste, sve više i sve brže ljudi iscrpljuju prirodna dobra, jednako tako rastu i količine otpada; sve su veće i češće katastrofe koje uzrokuje čovjek. Dakle, čovjek je svojom djelatnošću u nastojanju što lagodnijeg života postao prijetnja i samom sebi. Posve je opravdano upozorenje da zbog destruktivnog djelovanja čovjeka „paradigma znanja, načina uporabe znanja i etičkog vrjednovanja te uporabe s obzirom na destruktivne učinke ne samo u prirodnom nego i sociokulturnom okolišu“ mora doživjeti preispitivanje (Krznar, 2010.). Nove etičke teorije o odnosu čovjeka prema prirodnom okolišu moraju počivati na cjelovitom integrativnom mišljenju da bi nastala nova paradigma znanja. Razložno rješenje koje predlaže Krznar, „okvir u kojem je to provedivo vezan je uz koncept pluriperspektivizma koji je metodološko određenje integralne bioetike i koji omogućuje da se u njenim okvirima razvije paradigma orijentacijskog

znanja s ugrađenim moralnim obzirom, čija je glavna zadaća stvaranje novog senzibiliteta prema obuhvatnosti života te zasnivanje odnosa čovjeka prema prirodnom okolišu.“ (Krznar, 2010.). Na tragu takvog koncepta, dakle bioetike, možemo razmotriti i pitanje aditiva hrani.

Nije na odmet prisjetiti se: etika (grčki ethos – običaj, navada, značaj, ćud) je znanost o moralu, a ima zadaću ne samo da nas upozna s tim što je moral, nego još važnije da zazume kritičko stanovište prema postojećoj moralnoj praksi (Klaić, 1958.). Ta jednostavna definicija etike ima slabosti iz višestrukih rakursa razvoja filozofije, osobito kad se uzme u obzir etika i pitanje okoliša pa su se razvile teorije koje su od bitne važnosti za ispravan uvid u problem čovjekova uništenja prirode i života općenito. Poradi opasnosti mogućeg uništenja eko-sustava javlja se i niz pokušaja spašavanja prirode pa nije začuđujuće i niz etika, jedna od njih je i ekološka etika. U filozofiji vidno mjesto ima eko-etika. Možemo reći da su dva najčešća vida, plitka i duboka ekologija (Carter, 1995.). Dok prva ima za cilj zdravlje i blagostanje, druga je okrenuta vitalnim potrebama svega života, tako da tomu daje prednost pred rubnim interesima. U ekološku etiku klasičnog poimanja ulazi biocentrizam, patocentrizam i holizam, međutim moderna eko-etika u

Dr. sc. Luka ŠTILINOVIĆ, dr. med. vet., mr. sc. kem., dipl. ing. biotehnol., profesor Veleučilišta u Karlovcu; Ana ŠTILINOVIĆ MUSTAČEK, dr. med. vet., stručni sur. za upravljanje prirodnim resursima, Park prirode Vransko jezero; Josip ČULIG, dipl. ing. biotehnol., prof. Veleučilišta u Karlovcu, pročelnik Odjela Prehrane

razglabanju o propasti svijeta i spašavanju ekološkog sustava, uključuje i pravno-političke značajke društva. Ovdje smo dužni dati sažetak temelja kojim se služio prof. Ivan Koprek u raspravi o ekološkoj etici: „...svi, i oni neosjetljivi organizmi, u analognom su smislu objektivni ciljevi, ili ciljevi po sebi. Oni su, dakle, subjekti ciljeva. U svojoj djelatnosti imaju za cilj sebe samoga te su, u tom smislu tu radi sebe. Kao samociljevi, organizmi nikada nisu isključiva sredstva za subjektivne čovjekove ciljeve. Stoga čudoredna ideja carstva ciljeva ne smije biti ograničena samo na čovjeka nego mora uključivati i podljudske organizme, ako ne kao subjekte onda kao objekte čudorednosti.“ (Koprek, 1999.).

Spomenimo samo nekoliko bliskih disciplina našoj temi: socijalna ekologija, ekološka etika, ekohistorija, ekofeminizam, dubinska ekologija, ali za nas je najvažnija integrativna bioetika. Svaka od nabrojanih područja etike imaju svoje specifičnosti koje opravdaju postojanje discipline.

Neizostavno je s ponosom istaknuti Zagrebačku bioetičku školu koja je izgradila inovativni koncept „*integrativne bioetike*“. Ona nastoji objediniti različite poglede na goruće probleme sadašnjice. Kao referentnu točku ovog smjera mišljenja možemo spomenuti znanstvenu manifestaciju *Lošinjski dani bioetike*, koja traje već 9 godina i zasigurno čini ogledno mjesto na europskoj i svjetskoj karti bioetike.“ (Krznar, 2010.).

Autori ovog rada, ali i drugih njihovih radova uz ostale koautore, priklonili su se upravo integrativnoj bioetici pa su im radovi bili prezentirani na međunarodnim interdisciplinarnim simpozijima i drugdje. Iz naslova izabranih takvih izlaganja jasno je vidljiv veliki dijapazon različitih tema koje su objavili u svjetlu integrativne bioetike: „Vjernik i znanost“ (Štilinović i sur., 2006.); „Je li lovstvo u suprotnosti sa zaštitom prirode“ (Krznar i sur., 2006.)

„Može li filozofija govoriti o zaštiti prirode?“ (Štilinović, 2007.); „Pravo na zdravlje i ispravna prehrana“ (Štilinović i Čulig, 2009.); „Dodatci hrani u svjetlu bioetike“ (Čulig i Štilinović, 2010.).

Potica na značajno proširenje izlaganja teme „Dodatci hrani u svjetlu bioetike“ bila je rasprava o njoj na 9. Lošinjskim danima bioetike, 2010. godine.

Što su to dodatci hrani (aditivi)?

Prema Pravilniku o prehranbenim aditivima, Narodne novine 62/2010., „prehranbenim aditivom smatra se svaka tvar koja se sama po sebi ne konzumira kao hrana, niti je prepoznatljiv sastojak određene hrane bez obzira na hranjivu vrijednost, a čije je dodavanje hrani namjerno zbog tehnoloških razloga u proizvodnji, preradi, pripremi, obradi, pakiranju, prijevozu ili skladištenju i ima za posljedicu, ili se može očekivati da će imati za posljedicu, da će aditiv ili njegov derivat postati izravno ili neizravno sastojak hrane“ (Anonymus, 2010.).

Spomenimo da su ljudi od davnina koristili u prvom redu kuhinjsku sol i ocat, ali oni se ne ubrajaju u aditive hrani u užem smislu, to su konzervansi.

Glavni razlog dodavanja aditiva hrani leži u tehnološkim dobitcima, ubrzanju, olakšanju procesa proizvodnje i dobivanju poželjnih značajki, kao što su boja, miris i okus. Škrob, biljne masti, kao jeftinije sirovine za proizvodnju sira, razni osvježavajući napitci umjesto skupog soka od voća uz određene aditive u zašecerenu vodu zapravo postaju surogat, za sir ili sokove od voća, dakako dobit je proizvođača znatno veća.

Propisi o uporabi aditiva u hrani

Sve veći broj sintetskih, dakle umjetnih kemijskih tvari, dolaze u kategoriju prehranbenih aditiva. O vrstama, o zdravstvenoj ispravnosti,

o primjeni i Prihvatljivom Dnevnom Unosu /PDU/ itd., Strukovno tijelo svjetske zdravstvene organizacije (WHO) i svjetske organizacije za hranu i poljoprivredu (FAO) pri Ujedinjenim narodima, odlučuje na međunarodnoj razini o njihovoj prikladnosti za primjenu kao prehrambenih aditiva. U našoj zemlji to je u ingerenciji Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi, ali uz suglasnost Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Pravilnik o prehrambenim aditivima propisuje količinu, vrstu aditiva, vrstu hrane u koju se smije ili ne smije dodavati.

Zanimljiva je odredba, prema kojoj, ako nije propisana količina aditiva koju proizvođač hrane smije dodati hrani, on u skladu s dobrom proizvođačkom praksom može dodati količinu koja mu je potrebna da postigne željeni učinak. Unatoč tri dobra osnovna uvjeta koja zakonodavac traži od proizvođača da bi odobrio uporabu nekog aditiva u prehrambenom proizvodu, *aditiv ne smije škoditi ljudskom zdravlju, mora biti tehnološki nužan i ne smije obmanjivati potrošača*. Uvjereni smo da načelo opreza i načela bioetike zasigurno imaju razloga za učinkovitu raspravu, ne samo o toj odredbi nego i o mnogim drugim pitanjima na koje struka i znanstvena istraživanja nemaju adekvatnog odgovora kada je riječ o uporabi aditiva u hrani. U tim raspravama i u donošenju kvalitetnih odluka veterina ima što reći, ali se mora izboriti i za znatno veću mogućnost sudjelovanja.

Što su E-brojevi ?

Brojni su znanstveni radovi već niz godina upozoravali da znatan broj dodataka hrani, koji se kriju iza tako zvanih E brojeva na etiketama o hrani, izazivaju neželjene posljedice. Upravo su zato neki dodatci prvo bili dopušteni, a onda zabranjeni zbog štetnosti za zdravlje.

Vrsni „Vodič kroz E- brojeve“, Ivane Vinković Vrček i Dade Lerotić, 2010., dakle vodič o dopuštenim aditivima u hrani u Republici Hrvatskoj, daje izobilje relevantnih informacija, jednako vrijednih za stručnjaka kao i za laika, kad je riječ o aditivima u hrani. Njihove tvrdnje obilato su podkrijepljene kvalitetnim izvorima informacija, što daje vrlo čvrstu vjerodostojnost njihovim ocjenama za svaki opisani aditiv.

Vrijedno je istaknuti njihove kratke savjete: „Otkrijte što skrivaju sitna slova na poledini ambalaže prehrambenih proizvoda. Osvijestite ulogu bojila, pojačivača okusa, sladila, konzervansa, antioksidansa, emulgatora, stabilizatora. Lako i pouzdano utvrdite jesu li aditivi koji se nalaze u hrani koju jedete sigurni ili opasni za zdravlje i koliko. Saznajte koje bi aditive svakako trebalo izbjegavati. Iako je na nekim proizvodima vidljivo istaknuto **bez konzervansa**, to ne znači da u proizvodu uopće nema aditiva. Obratite pozornost na SASTAV proizvoda!“ (Vinković Vrček i Lerotić, 2010.).

Autorice „Vodiča kroz E brojeve“ vrlo su pregledno opisale aditive svrstajući ih u nekoliko grupa, a k tomu su crvenom bojom označile one aditive koje bi svakako trebalo izbjegavati, žutom bojom one aditive koji se ne preporučuju za često konzumiranje, a zelenom bojom aditive čije svakodnevno konzumiranje ne ugrožava ljudsko zdravlje. U poglavlju bojila ukupno je opisano 42 aditiva, među njima je zeleno obilježeno 20, žuto 7, a crveno čak 15. U poglavlju konzervansi, antioksidansi, zeleno je obilježeno tek 7, žuto 10, a crveno nevjerojatnih 23 aditiva. U poglavlju antioksidansi, regulatori kiselosti i stabilizatori bolji je odnos, tako da je zeleno obilježeno 28 aditiva, dok je žuto 6, a crvena oznaka je na 9 aditiva. Poglavlje aditiva stabilizatori, zgušnjivači i emulgatori ima 26 aditiva označenih zeleno, 32 su označeni žuto i k tomu još je 9 označeno crvenom bojom.

U poglavlju regulatori kiselosti, tvari protiv zgrudnjavanja ima 32 aditiva obilježenih zeleno, 10 je obilježeno žuto, a što je začuđujuće nema ni jedan aditiv obilježen crveno. U poglavlju tvari za zaslađivanje, tvari za poliranje i regulatori vlažnosti zeleno je obilježeno 22 aditiva, u kategoriji žuto obilježenih je čak 31, a devet je obilježeno crveno. Poglavlje pojačivača okusa ima tek dva aditiva obilježena zelenom bojom, 10 je žuto, a 6 ih je obilježeno crveno.

Nesumnjivo je važno bioetičko pitanje kako to da je toliki broj aditiva koje treba izbjegavati u svakodnevnoj prehrani? Odgovor je vrlo jednostavan: zbog određenih interesa uporabe zainteresiranih koji su dovoljno moćni da održe to stanje. Do kada? Ovisi i o nama.

Dakle, znatno je više vrijedno truda pokloniti pozornosti na aditive kod kupovanja pojedinih prehrambenih proizvoda, što je obveza svakog od nas. Puno je važnije da svaka struka uključena u proizvodnju hrane bude osjetljiva na primjenu aditiva u hrani, jer to nije tek samo neko retoričko pitanje bioetike, nego, ako se zanemari, može doprinijeti globalnoj ugrozi ljudske vrste obzirom na sve bržu globalizaciju prehrane i zaštitu okoliša.

Glas struke i institucija u RH o aditivima u hrani

Iz bilo kojeg vidokruga razmatranje aditiva hrani ne smiju se zaobići ovlaštene institucije za sigurnost hrane. Njihove dužnosti i provedba prihvaćenih normi nisu cilj naših bioetičkih pogleda u raspravi. Ipak treba ih spomenuti tim prije što su pod lupom najšire zainteresirane javnosti, a još više poradi nesumnjivog postojanja razlika u prosubi razine sigurnosti uporabe određenih prehrambenih aditiva. Integrativna bioetika, u svojem temeljnom pristupu ne daje, a priori, prednost nijednom od suprotstavljenih mišljenja. Rasprave

o pojedinim aditivima i kontraverze argumenata koje se navode za i protiv, dobar su indikator toliko potrebnog kvalitetnog dijaloga od zajedničkog interesa za sigurnost hrane. Stoga, tek ilustracije radi, navodimo po našoj prosudbi nekoliko važnih elementa, uvjereni smo, u najboljoj namjeri to ističu i ovlaštenu.

Znanstveni odbor za prehrambene aditive, arome, pomoćne tvari u procesu proizvodnje i prometa koje dolaze u neposredan dodir s hranom, u okviru Hrvatske agencije za hranu (HAH) bavi se pitanjima sigurnosti, procjeni rizika korištenja prehrambenih aditiva, aroma, i pomoćnih tvari u procesu proizvodnje, interakcijom hrane i materijala koji su u neposrednom kontaktu s hranom i sličnim i povezanim temama koje se tiču sigurnosti drugih, namjerno dodanih tvari u hranu te s pitanjima vezanim uz sigurnost hrane. Od sedam uglednih članova tog Odbora jedan je predstavnik veterinarske struke (www.hah.hr). U istom izvoru navode se kao najčešći razlozi zdravstvene neispravnosti uporabe aditiva: ne postoji tehnološka opravdanost dodavanja, krivotvorenje osnovne sirovine, prikrivanje lošeg tehnološkog postupka, nudaženje, razlikovanje od istih prizvoda. K tomu je dodana neusklađenost s osnovnim načelima uporabe aditiva – potpuno novi proizvod kod kojih je upitna svrha dodavanja, nedeklariranje dodanih aditiva, uporaba aditiva koji nisu na listi dopuštenih. Dakle, ima posla za Odbor. Ima posla za nadzor!

Sa stajališta objektivnosti treba se osvrnuti i na komentar Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, na istoj internetskoj adresi pod naslovom: Pamflet Dusseldorf. Točnije, na prijepis odnosno, prijevod dokumenta, jer je svrstan u podnaslov poglavlja „Uznemiravanje javnosti”. Prigovoreno je da je lista aditiva u članku nepotpuna, samo je do E-480, a u listama EU i kod nas je niz do E-1520. Od tih 123

navedena aditiva čak 22 (18%) nisu ni u EU niti kod nas na listama aditiva. E-305, E-408, E-411 i E-480 su nepostojeće kemijske tvari koje nose te brojeve. U tom „Pamfletu“ navodne su nazivom i neki naši proizvođači hrane, a navode se i neki njihovi proizvodi, što produbljuje sumnju u namjeru „pamfleta“. Zaključak komentara:

„Svi naši proizvođači hrane koriste aditive s liste aditiva koja je ista u hrvatskoj i u EU, a ne samo neki. Koriste ih u grupama proizvoda i dozvoljenim koncentracijama prema pravilniku o prehranbenim aditivima.“

U nastavku stranice, malim slovima napisana je napomena „Priča E-330 bila bi smiješna da nije tragedija neznanja onoga koji je taj aditiv prozvaao. E-330 je limunska kiselina koja se nalazi u većini voća i povrća kao prirodni sastojak.“ Ostali dio komentara i nije bitan, jer je očito nestručno napisan i prijevod Izvješća i „opasnost“ od limunske kiseline pa stoga i nije krucijalan podatak gdje je izvorno objavljeno. Doista se takvo pisanje može smatrati uznemiravanjem javnosti, a to dakako jest u domeni integrativne bioetike.

Samo stranicu dalje je sličan naslov „Nešto bolje uređeni pamflet.“ radi se o publikaciji Dade Lerotić i Ivane Vinković Vrček: Što se krije iza E-brojeva? aditivi u hrani. Taj naslov „Pamflet“ neosporno sugerira da i ta publikacija, barem dijelom, pripada grupi pamfleta o aditivima, premda nema eksplicitnog komentara, nego se samo ponavlja 11 pitanja autorica u njihovoj knjizi. Na primjer: Što su aditivi i zašto se upotrebljavaju? K tomu je dodana izjava Valerija Vrčeka u predgovoru te knjige: „Javnost ima pravo na svaku informaciju i svako upozorenje. Informiranjem javnosti ostvaruje se demokratsko načelo „right to know“, a upozoravanjem se podupire europsko načelo opreznosti („better safe-than sorry“). Ova knjiga omogućuje ljudima

slobodniji i odgovorniji izbor.“ Umjesto jasne protu-argumentacije na tvrdnje u knjizi autorica, na sljedećim stranicama kratko se komentiraju rezultati ispitivanja pojedinih aditiva koji su bili sporni: nitrati, acesulfam, aspartam, neki konzervansi i bojila. Navedeni rezultati idu u prilog tvrdnjama da se prihvatljivi dnevni unos aditiva u hrani gotovo u pravilu ne prekoračuje. U prilog tomu navodi se da je međunarodno tijelo zaduženo za aditive (EFSA) odbacilo studiju o sladilu aspartamu, kao kancerogenoj tvari, jer su količine aspartama u prehrani eksperimentalnih životinja bile prevelike: 5000 mg, 2500 mg, 1000 mg, 500 mg i 20 mg 4 mg i 0 mg/kg tjelesne mase štakora dnevno. Prihvatljivi dnevni unos za aspartam je 40 mg/kg. U tekstu se dalje tvrdi da je unos aspartama u nas manji od 10 mg/kg tjelesne mase. To zvuči jako umirujuće. Navedena je tabela, Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, srednjih vrijednosti količine osam sintetskih bojila u osvježavajućim bezalkoholnim pićima i potreban unos pića za postizanje prihvatljivog dnevnog unosa tih aditiva. Ovisno o vrsti bojila treba popiti od 18,67 do 216 litara pića na dan. Zvuči jako uvjerljivo, ali znači li to i da je to doista tako?

Aspartam je je doživio zabranu, a navedena bojila u tabeli su: E-102, E-104, E-110, E-122, E-124, E-129, E-131 i E-132 i odreda su u listi aditiva, ali odlukom Europskog parlamenta na svakom proizvodu koji sadrži te tvari mora stajati upozorenje: „Može uzrokovati poremećaj aktivnosti i pažnje djece!“ (Vinković i Lerotić Vrček, 2010.) treba li na to još nešto dodati osim u najmanju ruku bioetičkog načela opreza?! Stoga navodimo Zaključak Znanstvenog odbora za prehrambene aditive HAH:

- Prehrambeni aditivi se sve češće koriste za krivotvorenje osnovnog sastava, a time i smanjenja prehrambene vrijednosti namirnica.

- Potrebno je sustavno pratiti unos aditiva tijekom dijeta uz povezivanje sa stanjem zdravlja ljudi, ali vlastitim istraživanjima.
- Bez banke podatka o prehrani i navikama te unosa hrane nema ni dobre procjene rizika za aditive.

Dakle, u svjetlu bioetičkog razmatranja problema aditiva u hrani svrsrdno podržavamo Zaključak.

Razumije se po sebi da i ostale ustanove zadužene za sigurnost hrane, Sanitarna inspekcija, Zavodi za javno zdravstvo i drugi, usuglašavaju svoj rad prema europskim standardima, makar imaju vidnih poteškoća, u prvom redu financijske naravi, ali ipak postižu znatne pomake u svom odgovornom poslu.

Dostupnost i kakvoća hrane važno je bioetičko pitanje

Danas se svakodnevno govori, piše, raspravlja, o raznim čimbenicima života. Iskustva struke i znanstvena istraživanja mnoge čimbenike prepoznaju kao uvjet života ili im pripisuju blagotvornost za život. Druge su prepoznali kao uzročnike koji štete životu narušavajući zdravlje u najširem smislu tog pojma ili čak uzrokuju preranu smrt. Važnost hrane za održavanje života nema nikakve potrebe dokazivati. Upitamo li se o količini hrane potrebne za puko preživljavanje, svjedoci smo da zbog nedostatka i te minimalne količine hrane milijuni ljudi umiru od gladi, izvrgnuti prirodnim katastrofama i/ili ratovima. I to je pitanje integrativne bioetike. Kad k tomu dodamo pitanje o kakvoći hrane koju konzumira veliki dio populacije u svijetu, onda ubrzo vidimo kako i nama u Hrvatskoj financijski interes diktira što i kakvu hranu jedemo. Beskrupulozni reklamni trikovi, neučinkovitost zaduženih za kontrolu kakvoće, čak i neodgovornost struke, korupcija u takozvanoj „znanosti“, postavlja taj problem u domenu bioetike.

Danomice se postavlja pitanje odabira što jesti od onog što je ponuđeno, odnosno od onog što nam je dostupno. Ali kako odabrati? Komu povjerovati?

Mantra: znanost i struka uspješno rješava dileme, pod pritiskom sve većeg broja otkrivenih zabluda, neznanja i namjernog prešućivanja problema u prehrani, osobito nepoštivanja načela opreza, koje kaže: „Nedostatak znanstvene sigurnosti neće koristiti kao razlog za odlaganje mjera u sprječavanju uništavanja okoliša.“ Mantra nije utješna, dapače traži od svakog sudionika u proizvodnji, distribuciji pa čak i kupovini hrane što veći oprez poradi sebe, ali i općeg interesa. Preširoka lepeza ponuđenih „spasonosnih“ mjera zapravo je više nego zbunjujuća, poglavito ako se k tomu pribroje konverze koje nudi struka ili znanost, a da ne govorimo o cvjetanju različitih pokreta koji su često predaleko od istinske pomoći. Dakle, iz ovdje, blagog, opisanog stanja jasno proizlazi imperativ edukacije u svjetlu integrativne bioetike na svim razinama društva, a poglavito budućim stručnjacima u proizvodnji, preradi, pripremi, obradi, pakiranju, prijevozu ili skladištenju hrane. A, što do tada?!

Poruka Hrvatske agencije za hranu (HAH)

Na upravo postavljeno pitanje: „A, što do tada?!“, dok dovoljno ne educiramo sve sudionike u lancu proizvodnje hrane u svezi dodataka aditiva hrani, dok nam struka i znanost ne dosegnu potrebnu razinu sigurnosti, HAH nam u svojem priopćenju o aditivima hrani ovako odgovara: „Prema svim dosadašnjim znanstvenim spoznajama, primjena dozvoljenih aditiva je sigurna, a konzumacija hrane koja ih sadržava u dopuštenim količinama ne predstavlja zdravstveni rizik. Sigurno jamstvo za tjelesno i duševno zdravlje ipak ne mogu osigurati zakoni i brojke, nego poštivanje

već davno postavljenih načela umjerenosti i raznolike prehrane“ (HAH, 2010.).

To umirujuće priopćenje iz HAH-a znatno gubi na snazi, da ne kažemo, vjerodostojnosti, jer znamo da su mnogi aditivi hrani godinama bili dopušteni, a onda zabranjeni. Tijekom 2009. i 2010. godine Europska je agencija za sigurnost hrane (European Food Safety Authority - EFSA) preporučila ponovno ispitivanje prihvatljivog dnevnog unosa (PDU) za desetak aditiva koji su dopuštena bojila u hrani, (<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1536.htm>; EC No.257/2010.).

Toksikološka ocjena aditiva

Toksikološka procjena prikladnosti aditiva u hrani složen je, dugačak i skup proces. Gotovo se redovito ispituje na pokusnim životinjama. Temeljem tako dobivenih podataka izračuna se količina aditiva koja ne narušava zdravlje pokusnih životinja, prema engleskom NOEL (No Observed Adverse Effective Level). Temeljem toga se određuje i doza aditiva (PDU - Prihvatljiv Dnevni Unos) koju čovjek cijeli život svaki dan može konzumirati. PDU se izražava u miligramima aditiva na kilogram tjelesne mase, a poradi sigurnosti za čovjeka NOEL se određuje tako da se podatak na životinjama umanjuje za stotinu puta. Individualne razlike, metaboličke razlike, kako ljudi tako i životinja, otežavaju ekstrapolaciju rezultata. Prehrambene navike ljudi, a poglavito međudjelovanje istovremeno uzetih raznih aditiva ne smiju se zanemariti.

Načelo opreznosti

Teškom se mukom načelo opreznosti probijalo do europskih zakona i tek je nakon višekratnih slučajeva, kao što je bio nalaz dioksina u pilićima, 2000. godine konačno ušlo u europsko zakonodavstvo (COM I, 2000.). Naime, temeljem znanstvenih upozorenja o

mogućem štetnom djelovanju na ljude i prirodu mogu se primijeniti mjere koje će to spriječiti. Za primjenu tog načela nije potreban konsenzus, čak je dovoljna i manjina znanstvene zajednice. Drugim riječima treba dokazati da postupci ili proizvodi nisu štetni za okoliš i ljude, ako takvih podataka nema ostaje moratorij (Vrček, 2010.). Sjedinjene Američke Države nisu prihvatile taj princip, a Europa ga je počela primjenjivati te je nastupila zabrana uvoza američke govedine kontaminirane hormonima, hrana pripravljena od genetski modificiranih organizama itd. Načelo opreza još nije dovoljno prihvaćeno u Hrvatskoj, tako da u relevantnim zakonima, o zaštiti okoliša, o zaštiti prirode, o zaštiti potrošača, zdravstvenoj zaštiti itd. nažalost još uvijek nema pravih rješenja. Nadajmo se da će to načelo ubrzo zaživjeti i kod nas i drugdje te će donijeti očekivane plodove.

Što se pak tiče tog načela u primjeni konzumiranja svakodnevnih obroka uzimati one s ili one bez aditiva, čini se da nam ostaje kao jedina realna mogućnost što je moguće raznovrsniji izbor hrane, izbjegavajući one vrste za koje se ozbiljno sumnja u moguću štetnost. Preporučljivo je posegnuti za „Vodičem kroz E-brojeve“ (Vinković Vrček i Lerotić, 2010.) ili drugim pouzdanim izvorima relevantnih informacija, kao što je članak Marijana Katalenića „Prehrambeni aditivi“ (Katelenić, 2010.).

Razmjere uporabe aditiva u hrani

Nedavno je UN i službeno objavio ljudska je populacija dosegla 7 milijardi. Projekcije su da će do 2050. godine Zemlja imati oko 9,3 milijarde stanovnika. U očekivanoj dobi životnog vijeka od 68 godina računa se da čovjek prosječno pojede ukupno oko 33000 kg hrane, od čega kruha 4800 kg, mesa 4625 kg, 3080 kg krumpira, voća 2462 kg,

povrća 4900 kg, šećera 4760 kg, sira 1564 kg, a popije 6210 litara mlijeka i 2250 litara piva (Mandir, 2011.) Smatramo da svakako treba uzeti u obzir i znatnu količinu aromatiziranih napitaka približno količini piva. Iz tih procjena posve je jasno, globalni je problem pripremiti dovoljnu količinu i kakvoćom odgovarajuću hranu. Neminovno je bioetičko pitanje kako riješiti taj već danas prisutni problem. Očekivanja od rekombinantne DNK, znači od genetski modificiranih organizama (GMO), dakle, biotehnološkom manipulacijom poljoprivrednim biljem i životinjama, nije se pokazalo jednoznačno dovoljno učinkovitim za tražena rješenja, a k tomu još ima dovoljno razloga za oprez poradi zdravlja čovjeka i očuvanja prirode i okoliša (Vrček, 2011.).

Prehrambena industrija u cijelom svijetu, kako bi u prvom redu ostvarila što bolju zaradu, uvodi niz dodataka hrani, i to u cijelom procesu sve do prodaje živežnih namirnica. Procjenjuje se da Europljani oko 70% pojedu industrijski proizvedenu hranu, a Američani čak 95%. Dakle, uz uporabu aditiva (<http://echa.europa.eu>). Zvuči pomalo nevjerojatno podatak da prehrambena industrija u Europi nudi godišnje oko 9000 novih proizvoda, naravno za očekivati je uz uporabu aditiva u njima. Istina mnogi od njih kratko ostaju na tržištu, ali ubrzo dolaze novi (<http://echa.europa.eu>; <http://www.chemsec.org/>). Takozvana brza hrana, osobito polu-proizvodi, dakako većinom s aditivima, nisu mimoišli ni Hrvatsku. Kad je već tako, onda ne smijemo ostati nezainteresirani promatrači, a još manje potrošači svega što nam nudi prehrambena industrija.

Za veterinare su od posebnog interesa aditivi koje rabi mesna industrija. Razumljivo je da se u prvom redu rabe konzervansi za meso, ali i znatan broj različitih antioksidansa, tvari koje daju mesnim proizvodima privlačnu boju, a ne manje važni su neki aditivi koji djeluju

na konzistenciju mesnih proizvoda, zatim i fosfati, jer povećavaju moć vezivanja vode u mesu. Jeftine biljne bjelancevine aditivima mogu zamijeniti one skuplje, životinjskog podrijetla, itd.

Prirodni dodatci hrani – primjer ružmarina

Odmah se nameće pitanje zašto je odabran ružmarin kao primjer prirodnog aditiva hrani. Prvo zato što je ružmarin stoljećima poznat začim, osobito cijenjen i rabljen u mediteranskoj kuhinji. Drugo, Hrvatska velikim svojim dijelom pripada u skupinu zemalja koje u kulturnoj baštini prehrane koriste ružmarin. Treće ružmarin donedavno nije eksplicitno naveden u popisu dodataka hrani, makar je odavno poznati začim, a k tomu sada su već dobro proučeni mnogi sastojci ekstrakta ružmarina poznati kao kvalitetni antioksidansi. Četvrto, oni su u SAD i Europi komercijalno dostupni. Peto, ali ne manje važno, što s opravdanim ponosom ističemo, prvi put u svijetu naši autori, Rac i Ostric, ispitali su i opisali uporabu ekstrakta ružmarinovog lista kao antioksidansa (Rac i Ostric, 1955.).

Ružmarin – *Rosmarinus officinalis* L.

Ružmarin – lat. *ros marinus* - je razgranati aromatični polugrm. Naraste do tri metra visine, a samo je u donjem dijelu drvenast. Gusti tamnozeleni, kožasti listovi su mu na kratkoj peteljki, a na rubovima savinuti prema dolje. Cvjetovi su dvousnati bijelomodri, a cvatu u travnju i ponovo u rujnu. Duž naše obale i osobito na otocima u Jadranu, na kamenitom tlu ima ga samoniklog. U nas je stekao ime iz latinskog jezika, *rosa marinus*, što znači morska rosa. Uz već opisanu ulogu u kulinarstvu i prehrani, ružmarin je značajna fitoterapeutska

biljka. U ljekarništvu se službeno koristi eterično ulje dobiveno destilacijom listova ružmarina. List sadrži oko 2,5% eteričnog ulja. Karakteristični su fenolni sastojci – karmazol, karmazolska kiselina, rozmanol, derivati cimetne kiseline – ružmarinska kiselina te flavonoidi – nepetin, nepitrin. K tomu dolaze i triterpeni kao što je urolička kiselina (Marković, 2008.). Isti izvor navodi četiri kemijska tipa što su od bitnog značenja u farmaciji. To su: cineol, raste u sjevernoj Africi, verbanon, dolazi uglavnom iz Korzike, kamfor, koji je tipičan za Dalmaciju i bet-mircen/kamfor s obala Atlantika.

Obvezatnim smatramo kazati, kako u radovima koje smo koristili u razmatranju primjene ružmarina u prehrani nismo zamijetili takvu podjelu, što nikako ne znači da ona nema smisla u farmaciji.

Prve pisane bilješke o toj biljci su iz starogrčkog doba u kojem su studenti prije ispita među dlanovima trljali grančice ružmarina, jer je i tada bilo



Slika 1. Cvijet ružmarina

poznato njegovo djelovanje na jačanje memorije. Upravo zbog tog djelovanja ružmarin je postao i simbolom braka te su se njime kitili i mladenci u znak vjerne ljubavi. Vijencima ružmarina kitili su kipove bogova, a grančicu ružmarina stavljali su i u kolijevku novorođenčeta. Više od tisuću godina cijenjeni je začim i prirodni lijek, potiče cirkulaciju i tok krvi prema mozgu te na taj način poboljšava koncentraciju i liječi glavobolju. U kozmetici osvježava i hrani kožu, valjda je zato bio miljenik mađarske kraljice Elizabete u XIV stoljeću. Po njoj je prozvana, kaže legenda, „vodica mađarske kraljice“ (Čulig i Štilinović, 2010.).

Kemijski sastav aktivnih tvari ekstrakta ružmarina

Energetska vrijednost 100 grama svježeg ružmarina iznosi 548 kJ /131 kcal. Sadrži 20,7% ugljikohidrata, 5,8% masti i 3,3% proteina. Sadrži 14,4 g dijetalnih vlakana 44 mg fitosterola. Odličan je izvor minerala: Mn 0,96 mg, Fe 6,65 mg, Cu 0,3 mg, Mg 91 mg i Ca 317 mg. Također je izvor C vitamina 21,8 mg, folne kiseline 65,4 mg, vitamina A 146 µg, piridoksina (B6) 0,3 mg i pantotenske kiseline (B5) 0,8 mg. Destilacijom listića ili grančica dobiva se eterično ulje, a sadrži i smolu, tanin, gorke tvari i male količine saponina (Nakatani i Inatani, 1981., Čulig i Štilinović, 2010.).

Zdravstvena korist od sastojaka ružmarina

Odavno su zamijećena protuupalna i antioksidativna svojstva sastojaka ružmarina. Sastojci karnozinska i ružmarinska kiselina, kamfor, kafeinske i betulinske kiseline, ružmarinski difenol te rozmanol i urosolna kiselina, a također i monoterpeni, fenolni diterpeni i flavonoidi imaju sposobnost smanjiti produkciju slobodnih radikala. Možda je ipak najveću pozornost privukla

karnozinska kiselina zbog protektivne sposobnosti neurona. Istraživala su se i druga svojstva, čak se pisalo i o dijeti za sprečavanje pojave tumora u netoksičnim koncentracijama ružmarinskih spojeva. (Kennedy i Schley, 2006., Satoh i sur., 2008., Bai i sur., 2010., Nabekura i sur., 2010., Yesil-Celiktas i sur., 2010.). Za očekivati je nova istraživanja.

Prehrana i ekstrakti ružmarina

Istraživanja antioksidativne vrijednosti ekstrakta ružmarina u hrani potaknulo je istraživanje njegovih aktivnih komponenti. Svakako je to izolacija, identifikacija i testiranje antioksidativne moći u hrani. Od 16 izoliranih i istraženih komponenti ružmarinovog ekstrakta zaključeno je da dva fenolna diterpena, karnosol i karnosolna kiselina nose glavnu ulogu u antioksidativnom procesu očuvanja kakvoće hrane (Bracco i sur., 1981.). Taj su zaključak potvrdili i drugi istraživači (Auroma i sur., 1992., Chen i Ho, 1992.). Za našu raspravu dovoljno je reći da su brojni autori izolirali i druge komponente ružmarinovog ekstrakta, koje su također pokazivale antioksidativni učinak. Usporedbom antioksidativne aktivnosti askorbinske kiseline i ružmarinske kiseline Nakamura i sur. pokazali su da je ružmarinska kiselina znatno jači čistač superoksida od askorbinske kiseline (Nakamura i sur., 1998.).

Objektivnosti radi navodimo upozorenje iz novijih istraživanja u Europi, ružmarin u hrani ometa absorpciju željeza, tako da se ne preporuča osobama s sideropeničnom anemijom (<http://edodima2.blogspot.com/2010/05/>).

Umjesto zaključka

Konzerviranje hrane, dodavanje začina i aditiva u hranu od najstarijih vremena poznati su čovjeku. Biljne ljekarne u svim ljudskim društvima imaju od pamtivijeka značajno mjesto

u kulturi prehrambenih navika, a dakako i ljekovitih učinaka. Zbog bogate baštine uporabe ružmarina u hrvatskom kulinarstvu u takozvanoj „mediteranskoj zdravoj prehrani“ i suvremenih istraživanja primjene antioksidativnih svojstava ekstrakata ružmarina, odlučeno je kao zoran primjer etičkog nastojanja primjene aditiva uzeti ružmarin u razmatranje u svjetlu bioetike.

S opravdanim ponosom možemo reći, ekstrakti ružmarinovog lista kao antioksidansi prvi puta u svijetu ispitivani su i opisani od hrvatskih autora davne 1955. godine (Rac i Ostric, 1955.). Tek nakon 18 godina od toga opisa prihvaćen je patent za proizvodnju jednog antioksidanta iz ružmarina (Berner i Jacobson, 1973.). Nakon toga slijedi niz istraživanja identifikacije i određivanja svojstava pojedinih komponenata, različitim postupcima i u raznovrsnim otapalima dobivenih ekstrakata ružmarina. Za prehrambenu industriju u prvom redu je zanimljivo antioksidativno svojstvo primjenjeno na ulja i masti poradi zaustavljanja procesa kvarenja, ranjetljivosti, uzrokovanu oksidacijom nezasićenih masnih kiselina. Naravno da su istraživane i druge značajke tih ekstrakata, važnih za kulinarstvo, farmaceutiku i medicinu. U dugoj listi radova izbor je pao na tek nekoliko (Chang i sur., 1977., Wu i sur., 1982., Barbut i sur., 1985., Nozaki, 1989., Chen i Ho, 1992., Fang i Wada, 1993., Huisman i sur., 1994., Basaga i sur., 1997., Russo i sur., 2009., Moslavac i sur., 2010., Yosida i sur., 2011.). Rezultat tih istraživanja ružmarina kao aditiva, u prvom redu kao antioksidansa jest i komercijalna dostupnost ekstrakata ružmarina u SAD-u i u Europi.

Vođeni bioetičkim načelom opreznosti koje naravno vrijedi i za ružmarin i baš zato sugerira, da sintetske antioksidanse kao što su na primjer, E-319 tercijalni butil hidrokinon (TBHQ), E-320 butilirani hidroksi anisol (BHA) i E-321 butilirani hidroksi tolulen (BHT), koji su doduše dopušteni Pravilnikom

o prehranbenim aditivima, (NN 62/2010.), ali s opravdanim razlozima označeni crvenom bojom u „Vodiču kroz E-brojeve“, treba izbjegavati. Zapravo stoljetna iskustva i novija istraživanja ružmarina i njegovih ekstrakata u kulinarскоj, farmaceutскоj, medicinskoj i prehranbenoj primjeni, daju nam za pravo, poglavito u svjetlu bioetičkog motrišta, prikloniti se zamjeni sintetskih antioksidansa primjenom ružmarina ili ružmarinskih ekstrakata.

Na kraju sa zadovoljstvom treba istaknuti da je poslovično troma europska administracija EFSA, konačno prihvatila rezultate istraživanja pa je predložila da se ekstrakt ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.) zbog svog antioksidativnog djelovanja može koristiti kao aditiv u hrani i dodijeljen mu je broj E-392, a ovisno o vrsti hrane PDU je od 30 do 1000 mg/kg mase (Katalenić, 2010.).

Hrvatska ima kvalitetne znanstvenike, vrsne stručnjake, prirodno stanište ne samo za ružmarin, nego i drugo slično bilje, bosiljak, majčinu dušicu itd. te zato u svijetlu bioetike ima sve uvjete za vlastiti pristup proizvodnji kvalitetne hrane, koristeći te svoje prirodne prednosti.

Sažetak

Danas se svakodnevno govori, piše, raspravlja o raznim čimbenicima života. Iskustva struke i znanstvena istraživanja mnoge čimbenike prepoznaju kao uvjet života ili im pripisuju blagotvornost za život, druge su prepoznali kao uzročnike koji štete životu narušavajući zdravlje u najširem smislu tog pojma ili čak preranu smrt. Važnost hrane za održavanje života nema nikakve potrebe dokazivati. No, danomice se postavlja pitanje odabira što jesti od onog što nam je ponuđeno, odnosno od onog što nam je dostupno. Znanost i struka uspješno rješavaju dileme, pod pritiskom sve većeg broja otkrivenih zabluda, neznanja i namjernog prešućivanja problema u prehrani, nalaže se poštivanje načela opreza, koje traži oprez od svakog sudionika u proizvodnji, distribuciji pa čak

i kupovini hrane, što veći oprez poradi sebe, ali i zbog općeg interesa. Preširoka lepeza ponuđenih spasonosnih mjera zapravo je više nego zbunjujuća, poglavito ako se k tomu pribroje konverze koje nudi struka ili znanost, a da ne govorimo o cvjetanju različitih pokreta koji su često predaleko od istinske pomoći. Dakle, iz tako opisanog stanja proizlazi imperativ edukacije na svim razinama društva, a poglavito budućim stručnjacima u proizvodnji i pripravi hrane. Tek zornosti radi naveden je primjer da ekstrakti ružmarina učinkovito sprječavaju nastajanje toksičnih spojeva. Ružmarinovi ekstrakti sprječavaju oksidaciju, znači kvarenje jestivog ulja. Sintetski prehranbeni antioksidansi butilhidroksianisol (E-320) i butilhidroksi toluen (E-321) kao prehranbeni aditivi, za koje se vezuje i niz zdravstvenih rizika, svakako bi trebali ustupiti mjesto ružmarinu. Rezultati istraživanja samo potvrđuju iskustvo mediteranskih naroda koji stoljećima koriste ružmarin u prehrani. Dakle, potrebno je hitno i temeljito pristupiti konkretnim akcijama za promjenu prehranbenih navika, usklađivanju regulative u proizvodnji i distribuciji hrane, učinkovitijoj kontroli, a u tom procesu bioetika ima značajnu ulogu za koju se mora i sama izboriti.

Literatura

1. Anon. (2010.): Pravilnik o prehranbenim aditivima, NN. 62/2010.
2. AUROMA, O. I., B. HALLIWELL, R. AESCHBACH and J. LOLIGER (1992): Antioxidant and prooxidant properties of active rosemary constituents: carnolol and carnosic acid. *Xenobiotica* 22, 257-268.
3. BAI, N., K. HE, M. ROLLER, C. S. LAI, X. SHAO, M. H. PAN and C. T. HO (2010): Flavonoides and phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*. *J. Agric. Food Chem.* 58, 5363-5367.
4. BARBUT, S., D. B. JOSEPHSON and J. MAURE (1985): Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkey sausage. *J. Food Sci.* 50, 1356-1363.
5. BASAGA, H., C. TAKKAYA and F. ACKIKEL (1997): Antioxidativ and free radical scavenging properties of rosemary extract. *Food Technol. (London)* 69, 999-1002.
6. BRACCO, U., J. LOLIGER and J.-L. VIRET (1981): Production and use natural antioxidants. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 58, 686-690.
7. BERNER, D. L. and G. A. JACOBSON (1973): Spice antioxidant principle and process for the extraction thereof. US Patent, 3 732 111.
8. CARTER, A. (1995): Ecology or Social Ecology? *Heythrop J.* 36, 328-336.

9. CHANG, S. S., B. OSTIC-MATIJAŠEVIĆ, O. A. L. HSIEH and C. L. HUANG (1977): Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* 42, 1102-1169.
10. CHEN, Q. and C.-T. HO (1992): Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soyabean lipoxygenase activity. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 69, 999-1002.
11. COMI (2000): Communication from the Commission on the precautionary principle. COMI, Bruxelles.
12. ČULIG, J. i L. ŠTILINOVIĆ (2010): Dodatci hrani u svjetlu bioetike. Međunarodni interdisciplinarni simpozij, 9. Lošinjski dani bioetike (Mali Lošinj, 16.-19. svibnja 2010). Mali Lošinj. Zbornik sažetaka. Zagreb (50-51).
13. EFSA (<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1536.htm>; EC No. 257/2010.).
14. FANG, X. and S. WADA (1993): Enhancing the antioxidant effect of alpha-tocopherol with rosemary in inhibiting catalysed oxidation caused by Fe_2^+ and hemoprotein. *Food Research. Intern.* 26, 405-411.
15. HAH (2010): (www.hah.hr/pdf/aditivi.pdf).
16. <http://echa.europa.eu>. // <http://www.chesec.org>.
17. <http://eddodima2.blogspot.com/2010/05/mediterranean-culinary-herbs-and-spices.html>.
18. HUISMAN, M., H. L. MADSEN, L. H. SKIBSTED and G. BERTELSEN (1994): The combined effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) and modified packaging as protection against warmed over flavour in cooked minced meat. *Z. Lebensmittel untersuch Forsch.* 198, 57-59.
19. KATALENIĆ, M. (2010): Prehrambeni aditivi. U HAH: Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani. Osijek (196-246).
20. KENNEDY, D. O. and A. B. SCHLEY (2006): The psychopharmacology of European herbs with cognitive enhancing properties. *Curr. Pharm. Des.* 12, 4163-4223.
21. KLAJČ, B. (1958): Rječnik stranih riječi izraza i kratica. Zora. Zagreb.
22. KOPREK, I. (1999): Ekološka etika. Zbornik radova znanstvenog simpozija „Odgovornost za život“, (Baška voda 1.-3. listopada 1999). Split (str. 31-43).
23. KRZNAR, T. (2010): Znanje i destrukcija. Integrativna bioetika i problemi zaštite okoliša. Disertacija. Filozofski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
24. KRZNAR, T., J. ČULIG, K. PINTUR, NINA POPOVIĆ i L. ŠTILINOVIĆ (2006): Je li lovstvo u suprotnosti sa zaštitom prirode? *Šumarski list* 3-4, 125-130.
25. MANDIR, A. (2011): Sedam milijardi ljudi. Večernji list, str. 18.-19., 30. listopada.
26. MARKOVIĆ, S. (2008): Ružmarin. Vaše zdravlje 49, (08/06).
27. MOSLAVAC, T., A. POZDERAC, ANITA PICHLER i KATICA VOLMUT (2010): Utjecaj propil galata i ekstrakta ružmarina na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 2, 18-25.
28. NABEKURA, T., T. HIROI, K. UENO and S. KITAGAWA (2010): Inhibition of anticancer drug efflux transporter P-glycoprotein by rosemary phytochemicals. *Pharmacol. Res.* 61, 259-263.
29. NAKAMURA, Y., Y. OHTO, A. MURAKAMI and H. HIGASHI (1998): Superoxide scavenging activity of rosmarinic acid from *Perilla frutescens* Britton Var. Acuta f. Viridis. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4545-4550.
30. NAKATANI, N. and R. INATANI (1981): Structure of rosmanol a new antioxidant from rosemary (*rosmarinus officinalis* L). *Agric. Biol. Chem.* 45, 2385-2386.
31. NOZAKI, I. K. (1989): Antioxidant activity of rosemary. *New Food Ind. (Japan)* 31, 27-31.
32. RAC, M. and B. OSTRIC (1955): Les proprietes antioxygenes du romarin. *Rev. Franc. Corps. Gras.* 2, 796-803.
33. RUSSO, A., L. LOMBARDO, N. TRONCOSO and V. CARDILE (2009): Rosmarinus officinalis extract inhibits human melanoma cell growth. *Nat. Prod. Commun.* 4, 1707-1710.
34. SATOH, T., K. KOSAKA, K. ITOH, A. KOBAYASHI, M. YAMAMOTO, Y. SHIMOJO, C. KITAJIMA, J. CUI, J. KAMINS, S. OKAMOTO, M. IZUMI, T. SHIRASAWA, S. A. LIPTON (2008): Carnosic acid, a catecholtype electrophilic compound, protect neurons both in vitro and in vivo through activation the Keap1/Nrf2 pathway via S-alkylation of target cysteines on Keap1. *J. Neurochem.* 104, 1116-1131.
35. ŠTILINOVIĆ, L. (2007): Može li filozofija govoriti o zaštiti prirode? 16. Dani Frane Petrića. Međunarodni interdisciplinarni simpozij, (Cres, 23. - 26. rujna 2007). Zbornik sažetaka. Zagreb (125-126).
36. ŠTILINOVIĆ, L. i J. ČULIG (2009): Pravo na zdravlje i ispravna prehrana. Međunarodni interdisciplinarni simpozij 8. Lošinjski dani bioetike (Mali Lošinj, 18.-20. svibnja 2009). Zbornik sažetaka. Zagreb (87-88).
37. ŠTILINOVIĆ, L., T. KRZNAR, J. ČULIG i NINA POPOVIĆ (2006): Vjernik i znanost. 15. Dani Frane Petrića, Međunarodni interdisciplinarni simpozij, Filozofija, Znanost, Religija, Cres, 25. - 27. Zbornik sažetaka 127-128.
38. VINKOVIĆ VRČEK, I. i D. LEROTIĆ (2010): Aditivi u hrani, vodič kroz E-brojeve. Zagreb: Školska knjiga.
39. VRČEK, V. (2010): Druga strana potrošačkog raja. U klopki između bolesti zdravlja. Zagreb: Školska knjiga.
40. VRČEK, V. (2011): GMO – revolucija štuka. *Glas Koncila* 44, 17.
41. WU, J. W., M.-H. LEE, C.-T., HO and S. S. CHANG (1982): Elucidation of the chemical structures natural antioxidants isolated from rosemary. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 59, 339-345.
42. www.hah.hr KATALENIĆ (2011): Hrana i aditivi. /08.2011.

43. YESIL-CELIK TAS, O., C. SEVIMLI, E. BEDIR and F. VARDAR-SUKAN (2010): Effects of Rosemary Extracts, Carnosic Acid and Rosmarinic acid on the Growth of various Human Cancer Cell Lines. *Plant Foods Hum. Nutr.* 65, 158-163.
44. YOSHIDA HITOMI, N. OKOMURA, Y. KITAGISHI, Y. NISHIMURA and S. MATSUDA (2011): Ethanol extract of rosemary repressed PTEN expression in K562 culture cells. *Internat. J. Applied Biol. Pharmaceutic. Technol.* 2, 316-323.

A bioethical perspective on food additives

Luka ŠTILINOVIĆ, DVM, PhD, MSc, Professor, Karlovac Polytechnic; Ana ŠTILINOVIĆ DVM, Expert Associate, Vransko Lake Nature Park; Josip ČULIG, BSc, Professor, Department Head of Food Technology, Karlovac Polytechnic

Nowadays, we talk, write about, and discuss the different factors of life. Experience in this field of work and the scientific findings have recognized many of these factors as prerequisites for life, or have the benefits for life ascribed to them, while others are recognized as factors that damage life, especially health, in the broader sense, or even cause premature death. There is no need to prove the importance of food for sustaining life. There is the daily issue of what to choose from among the foods offered or available to us. Scientists and professionals are successfully resolving dilemmas under pressures from a growing number of detected misconceptions, ignorance and deliberate suppression of dietary issues. The obligation to abide by the principles of precaution has been imposed, and this requires the maximum possible precaution of every participant in the production, distribution, or even buying of food, for their own sake, but also for the general interest. Too wide a selection of offered "safety measures" is more than confusing, especially if one considers the

controversies in science or the profession, or the "blooming" of different movements that are usually far from true help. Therefore, from the above, we can perceive the need for education at all levels of society, and especially for future professionals in production and food preparation. As a vivid example, rosemary extract can efficiently prevent the creation of toxic compounds. Rosemary extract prevents oxidation, i.e. decay of edible oils. Synthetic food antioxidants such as butylhydroxyanisole (E-320) and butylhydroxytoluene (E-321) as food additives have been linked to a number of health risks, and should definitely give way to rosemary. Research results and data only confirm the experience of the Mediterranean peoples, who have used rosemary in their diets for centuries. Thus, it is necessary to initiate urgent and thorough actions to change dietary habits by coordinating the regulations in food production and distribution, and providing more efficient control. In this process, bioethics has an important role and must blaze the trail to that aim.

OSOBNJE VIJESTI

PROMJENE SJEDIŠTA. Sjedište veterinara za kotar Dugoselo preloženo je iz Božjakovine u Dugoselo.

„Veterinarski vjesnik“ (Zagreb), 2, 61, 1908 (god. 3.).

VETOFLOK[®] LA

100 mg/ml otopina za injekciju

LIJEK IZBORA ZA DIŠNE BOLESTI GOVEDA

- JEDNOKRATNA PRIMJENA
- PRODULJENO DJELOVANJE
- CILJANA I UČINKOVITA TERAPIJA
- MINIMALNO UZNEMIRAVANJE ŽIVOTINJA
- EKONOMSKI NAJISPLATIVIJA TERAPIJA
- SIGURAN USPJEH



 **GENERA** U SLUŽBI VETERINARSKJE MEDICINE

Genera d.d.
Svetonedeljska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok
Telefon: +385 1 33 88 888 / telefaks: +385 1 33 88 600
e-mail: info@genera.hr / www.genera.hr / www.veterina.hr

Vaš pouzdan partner

Virusni proljev/bolest sluznica goveda u Republici Hrvatskoj

T. Bedeković, Lorena Jemeršić, Ivana Lojkić, Nina Lemo, Tina Catelo Ivković, Ž. Mihaljević, B. Šoštarić, M. Lojkić, T. Keros, Jelena Balatinac, D. Brnić i J. Madić



Uvod

Virusni proljev/bolest sluznica goveda (VPG) virusna je zarazna bolest domaćih i divljih preživača uzrokovana RNK virusom iz porodice *Flaviviridae*, roda *Pestivirus* (Heinz i sur., 2000.). Gubitci koje ova bolest uzrokuje u mliječnoj govedarskoj proizvodnji procjenjuju se između 40 i 160 \$ po kravi (Duffel i sur., 1986., Wentink i Dijkhuizen, 1990.), odnosno do čak 400 \$ kod težih akutnih slučajeva (Carman i sur., 1998.). Usprkos tome podatci o rasprostranjenosti i utjecaju bolesti u Republici Hrvatskoj (RH) su vrlo oskudni. Pregledom domaće stručne literature nismo našli niti jedan opis spomenute bolesti. Do sada je u RH određivana prisutnost specifičnih protutijela u goveda (Cvetnić i sur., 1968., Madić i sur., 1989., Biuk Rudan i sur., 1999.), a u sklopu je redovitih dijagnostičkih postupaka bolest višekratno potvrđivana u Odjelu za virologiju Hrvatskoga veterinarskoga instituta.

Virus VPG-a je zajedno s virusom klasične svinjske kuge i virusom Borderske bolesti svrstan u rod *Pestivirus*. Svi pripadnici roda su antigenski i genomski različiti, ali serološki srodni. Uzročnik VPG-a svrstan je u dvije skupine (genotipa) virusa VPG 1 i VPG 2 s više podgenotipova unutar svake skupine (Flores i sur., 2002., Jackova i sur., 2008.). Posebnost virusa je da se, neovisno o genomskoj klasifikaciji, a s obzirom na promjene koje uzrokuje u staničnoj kulturi može javiti u dva oblika: citopatogeni biotip (*cp*) i necitopatogeni (*ncp*) biotip. Ova posebnost virusa omogućava pojavu perzistentne infekcije, a odgovorna je i za nastanak bolesti sluznica goveda. Većina terenskih izolata virusa pripada *ncp* biotipu (Fulton i sur., 2005.). Isto tako jedino *ncp* biotip virusa može uzrokovati perzistentnu infekciju. Citopatogeni biotip nastaje u najvećem broju slučajeva mutacijama *ncp* biotipa u organizmu (Brownlie, 1990.), pri čemu se javlja specifični klinički oblik bolesti – bolest sluznica goveda. Prema

Tomislav BEDEKOVIĆ, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Lorena JEMERŠIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, dr. sc. Ivana LOJKIĆ, prof. biol., viša znanstvena suradnica, Nina LEMO, dr. med. vet., znanstvena novakinja, dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik; dr. sc. Branko ŠOŠTARIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Mirko LOJKIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Tomislav KEROS, dr. med. vet., viši asistent, Jelena BALATINAC, dipl. ing. mol. biol., znanstvena novakinja, Dragan BRNIĆ, dr. med. vet., znanstveni novak, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Tina CATELA IVKOVIĆ, dipl. ing. mol. biol., znanstvena novakinja, Institut Ruđer Bošković, Zagreb; dr. sc. Josip MADIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

tome, pojava bolesti sluznica goveda pretpostavlja prethodnu perzistentnu infekciju *ncp* biotipom.

Glavni izvor zaraze su perzistentno zaražena goveda koja trajno izlučuju velike količine virusa svim svojim sekretima i ekskretima (Houe, 1999.). Virus se prenosi izravnim dodirima, a u organizam najčešće ulazi preko sluznice nosa i usta (Horzinek, 1990.). Virus je moguće prenijeti i zaraženim sjemenom bikova (Meyling i Jensen, 1988.) te embriotransferom (Thurmond, 2005.). Kod perzistentno zaraženih bređih goveda virus se vertikalno prenosi na plod uzrokujući perzistentnu infekciju (PI) i u ploda. Nakon ulaska u organizam virus se umnaža na ulaznom mjestu te se širi po organizmu.

Daljnje širenje virusa kao i klinička slika ovise o biotipu virusa, virulentnosti soja, otpornosti, odnosno imunosti životinje te bređosti (Liebler Tenorio, 2005.). Ukoliko se radi o infekciji sojem virusa slabe virulencije doći će do blagog porasta tjelesne temperature kroz 1-2 dana bez kliničkih znakova bolesti. Virus je pritom moguće dokazati u tonzilama, limfnim čvorovima, Peyerovim pločama, slezeni i timusu. Ukoliko se pak radi o infekciji sojem virusa jake virulencije doći će do pojave visoke tjelesne temperature, anoreksije i proljeva. U pojedinim slučajevima može doći do teških krvarenja. Kod infekcije sojevima visoke virulencije virus je moguće dokazati i u koži te koštanoj srži. Valja naglasiti da virulencija nije povezana s biotipom i genotipom virusa. Kod transplacentalne ili intrauterine infekcije može doći do pojave neplodnosti, pobačaja, malformacija ploda, perzistentne infekcije ili rođenja zdrave seropozitivne teladi. Do perzistentne infekcije ploda dolazi ako se bređa životinja inficira s *ncp* biotipom virusa u prva četiri mjeseca gravidnosti. Pri tome takva telad može uginuti u prvim danima života ili najčešće do druge godine, a može biti naizgled potpuno zdrava te

dostići spolnu zrelost. Ishod ovisi o stadiju razvoja ploda prilikom infekcije pri čemu infekcija u ranijoj fazi razvoja vodi k rođenju naizgled zdrave teladi. Infekcija u kasnijem stadiju gravidnosti ima uglavnom za posljedicu rođenje zdrave seropozitivne teladi. Perzistentno zaražena telad su imunotolerantna na virus koji se u njima nesmetano umnaža i izlučuje iz organizma svim sekretima i ekskretima. Infekcija bikova prije spolne zrelosti može imati za posljedicu izlučivanje virusa u sjemenu uz prisutstvo specifičnih protutijela u krvnome serumu (Voges i sur., 1998.).

Klinički je u negravidnih životinja moguće govoriti o čak šest oblika bolesti: akutnom subkliničkom koji je i najčešći (u 70-90% infekcija), akutnom, težem akutnom, akutnom hemoragičnom, akutnom respiratornom te akutnom imunosupresivnom obliku (Grooms, 2002.). Međutim, kako zapravo i kod subkliničkog oblika postoji imunosupresija, a težina, odnosno svi ostali oblici ovise o virulentnosti virusa te otpornosti domaćina, teško je striktno izvršiti podjelu na osnovi kliničke slike izuzev podjele na akutnu i perzistentnu te poseban oblik, bolest sluznica goveda. Kod bolesti sluznica javlja se povišena tjelesna temperatura, slabost, ubrzani rad srca, ubrzano disanje, smanjenje mliječnosti, proljev s primjesama fibrina i krvi, erozije po sluznici usta, iscjedak iz nosa i slinjenje, a često je prisutna i neutropenija i trombocitopenija (Ewer mann i Barrington, 2005.). Važno je napomenuti da zbog izrazite imunosupresije životinje postaju manje otporne spram infekcija s drugim mikroorganizmima pa se vrlo često prepozna samo sekundarni uzročnik dok virus VPG-a ostaje neprepoznat. S obzirom na raznolikost kliničke slike i nedostatak specifičnih simptoma te spoznaje da je gotovo 90% infekcija subkliničkog oblika, postavlja se pitanje kada posumnjati na bolest? Klinički je moguće postaviti realnu sumnju jedino kod dva oblika bolesti; akutnog

hemoragičnog pri čemu se javljaju opsežna krvarenja i koji je uzrokovan izrazito virulentnim sojem virusa te kod bolesti sluznica goveda. Uz kliničke značajke koje upućuju na bolest sluznica goveda moguće je posumnjati ukoliko u stadu oboli do 5% životinja, najčešće junadi pri čemu je smrtnost gotovo 100%, a sva oboljela junad je približne starosti. Uz oboljelu junad, vrlo često se u stadu kod teladi te junadi koja nije bila perzistentno zaražena jave simptomi bolesti, najčešće dišni akutni simptomi. Odrasla goveda, odnosno krave u tim stadima u pravilu nikada ne pokazuju nikakve simptome.

Kao što klinička slika nije dovoljno specifična tako i patoanatomski nalaz ne omogućava sigurnu dijagnostiku bolesti. Izuzetak je bolest sluznica težeg akutnog oblika, gdje se već na temelju patoanatomskog nalaza s velikom sigurnošću može zaključiti o kojoj se bolesti radi. Kod uginuća, patoanatomski se mogu uočiti erozije na sluznici nosa i dušnika te po sluznici probavnog trakta (Goens, 2002.). Promjene u sluznici crijeva u obliku erozija i ulceracija su izraženije prema distalnim dijelovima crijeva (Goens, 2002.). Peyerove ploče su često nekrotične i hemoragične (Ewermann i Barrington, 2005.). U crijevima dolazi do smanjenja broja kripti bez daljnje proliferacije epitelnih stanica (Liebler Tenorio, 2005.). Sadržaj crijeva je vodenast, izrazito neugodnog mirisa s primjesama fibrina (vlastito zapažanje). Točkasta se krvarenja mogu naći u kori bubrega, u mokraćnoj cijevi te u povećanim limfnim čvorovima (Goens, 2002.). Kod težih oblika praćenih trombocitopenijom, nalaze se krvarenja po unutrašnjim organima (Corapi i sur., 1990.).

U dijagnostici VPG-a rabi se veći broj metoda koje dokazuju prisutnost specifičnih protutijela, odnosno samog virusa ili njegovih dijelova. Specifična protutijela dokazuju se u krvnom serumu ili mlijeku. Pri tome se rabe komercijalni ELISA testovi od kojih mnogi imaju mogućnost pretraživanja skupnih uzoraka. Specifična protutijela moguće

je dokazati i serum neutralizacijskim testom kojim je moguće odrediti i titar specifičnih protutijela. Za dokaz virusa rabi se indirektni imunoperoksidazni test pri čemu se virus dokazuje u krvnom serumu nakon umnažanja u staničnoj kulturi. Imunoenzimnim testom za dokazivanje antigena (Ag-ELISA) moguće je dokazati dijelove virusa u uzorcima krvnog seruma te uzorcima tkiva kože. Kao uzorak kože rabi se tkivo uške. Moguće je u tkivima dokazati dijelove virusa metodama imunohistokemije i imunofluorescencije. Dijelove virusnog genoma moguće je dokazati lančanom reakcijom polimerazom uz prethodnu reverznu transkripciju (RT-PCR) ili RT-PCR-om u stvarnom vremenu (qRT-PCR) u uzorcima tkiva, pune krvi, krvnog seruma, mlijeka i sjemena.

Ekonomske štete koje nastaju zbog virusa VPG-a prepoznate su u mnogim europskim zemljama te su mnoge od zemalja započele nacionalni program kontrole i iskorjenjivanja VPG-a. U nekima od njih (Norveška) program je uspješno završen, dok je u drugima (Švedska, Finska, Danska) u završnoj fazi. Pojedine zemlje provode isti program samo na regionalnoj razini (Njemačka, Italija, Francuska i Nizozemska). U Austriji je prvobitni regionalni program 2004. godine proširen na nacionalnu razinu (Obritzhauser i sur., 2005.). Program je nakratko bio primjenjivan i u Grčkoj (Billinis i sur., 2005.) te Galiciji u Španjolskoj (Lindberg i sur., 2006.). Program je moguće provoditi uz cijepljenje ili bez cijepljenja. U pojedinim zemljama gdje ne postoji program iskorjenjivanja, kontrola se provodi cijepljenjem. Trenutno se rabe dvije vrsta cjepiva: ona s oslabljenim i ona s inaktiviranim uzročnikom. Zbog opasnosti od uzrokovanja perzistentne zaraze *ncp* biotipom, u cjepivima je u većini slučajeva prisutan *cp* biotip.

Cijepljenje goveda, bez obzira koje se cjepivo koristilo, treba promatrati

kao dio programa za kontrolu bolesti jer iako su se cjepiva pokazala vrlo dobrima u preveniranju težih akutnih oblika (Kelling i sur., 2007.), stupanj zaštite ipak ovisi o genomskoj podudarnosti virusa u cjepivu i virusa koji je uzrokovao infekciju (Fulton i sur., 2003.). Zbog značenja perzistentne infekcije najvažnija funkcija cijepljenja bi trebala biti sprječavanje nastajanja perzistentne infekcije. Međutim, do danas provedena istraživanja ukazuju na to da cijepljenje s oslabljenim uzročnikom ili inaktiviranim uzročnikom samosmanjuje mogućnost, u manjoj ili većoj mjeri (Brock i Cortese, 2001., Fairbanks i sur., 2004., Grooms i sur., 2007., Xue i sur., 2009.) te da zbog antigenske raznolikosti ne postoji cjepivo koje bi pružilo potpunu zaštitu protiv infekcija sa svim genotipovima, odnosno podgenotipovima.

Cilj ovog rada je kroz prikaz tri zasebna slučaja infekcije virusom VPG-a pokušati bolest približiti veterinarima praktičarima te upozoriti na štete koje bolest nanosi govedarskoj proizvodnji. Jedan slučaj opisuje pojavu infekcije u goveda namijenjenih samo za proizvodnju mlijeka, a drugi u goveda za kombinirani tip proizvodnje s većim naglaskom na proizvodnju mlijeka. U trećem slučaju opisana je pojava bolesti kod junadi u tovu.

Prikaz slučajeva

1. Infekcija u mliječnome stadu

Na gospodarstvu se u trenutku uzorkovanja nalazilo 30 krava, 19 junica i troje teladi. Goveda su bila u tipu simentalca i holštajn frizijske pasmine. Prema anamnestičkim podatcima unazad sedam godina nije bilo ulaska novih goveda u stado, a prema iskazu veterinara koji obavlja zdravstvenu zaštitu, nije bilo niti većih zdravstvenih problema. Krv je uzorkovana svim kravama i teladi te pet junadi početkom 2010. godine. Desetak junadi je boravilo slobodno te nije bilo moguće uzorkovati krv. Laboratorijskim pretragama krvnog

seruma, virus je dokazan u jedne krave stare pet godina (Slika 1) i njezina teleta starog dva tjedna (Slika 2). Specifična protutijela utvrđena su kod svih preostalih životinja u stadu. Specifična protutijela utvrđena su i u teleta u kojega smo dokazali prisutnost virusa, ali smo kasnije utvrdili da se radi o kolostralnim protutijelima podrijetlom od druge krave. Ponovljenim pretragama, nakon četiri tjedna, utvrdili smo da se kod krave i teleta radi o perzistentnoj infekciji i da je virus stalno prisutan u stadu unazad najmanje pet godina. Kod krave i njezina teleta nisu uočeni klinički znakovi bolesti osim teških telenja kod krave. Štoviše, krava je bila izuzetno dobre mliječnosti (cca 25 L dnevno) i tri puta se telila. Prijašnja telad je bila muška te je redovno izlučena iz stada. Nakon postavljene dijagnoze preporuka je bila da se krava i tele izluče iz stada te da se testiranje ponovi kroz godinu dana. Tele je izlučeno iz stada, ali je vlasnik kravu odlučio zadržati, zbog njezine dobre mliječnosti. Krajem 2010. godine u stado je uvezeno desetak junica. Nakon sedam dana u stadu su se pojavili klinički znakovi upale pluća. Oboljenje su pratili kašalj i serozni iscjedak iz nosa koji je kroz tri do četiri dana postao gnojan. Odmah po pojavi simptoma započeto je s antibiotskom terapijom cijeloga stada. Ukupni troškovi terapije iznosili su oko stotinu tisuća kuna. Napravljene su sve virološke pretrage te je u jednog teleta, koje se u međuvremenu otelilo, utvrđena akutna infekcija virusom VPG-a. Ostale virološke pretrage (na prisutnost govedeg respiratornog sincicijskog virusa, virusa parainfluence 3 i virusa zaraznog rinotraheitisa goveda) polučile su negativan rezultat. Bakteriološke pretrage su isto tako polučile negativan rezultat, što se s obzirom na započetu antibiotsku terapiju moglo i očekivati. Nakon terapije antibioticima simptomi bolesti su se povukli.

2. Bolest sluznica goveda (BSG)

U ovome slučaju radilo se o pojavi bolesti sluznica na gospodarstvu sa 68 goveda. U stadu su se nalazile 34 mliječne krave, 22 junadi i 12 teladi. Sva goveda

su bila u tipu simentalca. Uz proizvodnju mlijeka na gospodarstvu se odvijao i tov junadi, ali samo iz vlastitog uzgoja. Sumnju na bolest sluznica postavili su djelatnici veterinarske stanice koja je pružala zdravstvenu zaštitu na gospodarstvu. Početkom 2009. godine na pretragu je bilo dostavljeno tkivo pluća, slezene, crijeva i jetre dviju junica u dobi od sedam mjeseci uginulih pod sumnjom na BSG. Ukupno je u zajedničkom odjeljku boravilo pet junica. Od preostale tri junice bili su nam dostavljeni uzorci krvi. Klinički znakovi najprije su bili uočeni u dvije junice koje su kasnije uginule da bi u konačnici bili prisutni u svih junica u odjeljku. U početku se javila povišena tjelesna temperatura do 40,5 °C uz prestanak uzimanja hrane, zatim slinjenje, upala pluća i difuzni proljev. Sve junice su bile liječene antibioticima širokog spektra, a od pet junica u zasebnom odjeljku uginule su tri kod kojih se neposredno prije uginuća pojavio sluzavi proljev s primjesama krvi. Junice su uginule u razdoblju od 10-14 dana od pojave prvih simptoma. Kod ostalih junica poboljšanje je nastupilo unutar pet do sedam dana od prvih znakova i započetog liječenja. Klinički znakovi koji su uključivali simptome akutne upale pluća te povišenu tjelesnu temperaturu uz smanjeni apetit pojavili su se i u desetak teladi i junadi u susjednom

odjeljku. Telad i junad je bila u dobi od dva tjedna do sedam mjeseci. Kod svih su se klinički znakovi povukli unutar pet do sedam dana od započete terapije. Klinički znakovi nisu bili primijećeni u junadi starije od godine dana ni u krava.

Od tri junice koje su bile smještene u odjeljku s uginulima u jedne, koja je uginula nakon uzimanja uzoraka krvi za pretragu, utvrdili smo prisutnost *cp* biotipa virusa. Uginula junica bila je razuđena te su ustanovljene erozije i ulceracije po sluznici probavnog sustava (Slike 3 i 4) te krvarenja po seroziji crijeva (Slika 5). Sirošće i crijeva bili su ispunjeni smrdljivim, vodenastim, žućkastim sadržajem s primjesama krvi (Slika 6). Oko anusa nakupila se sukrvica (Slika 7). Na ostalim organima nisu bile uočene promjene. Od svih goveda u stadu uzeta je krv, a od naknadno uginule junice i dijelovi tkiva slezene i koštane srži. U tkivu slezene i koštanoj srži uginule junice potvrdili smo prisutnost virusa VPG-a, a iz slezene smo izdvojili *cp* biotip virusa.

Potvrdili smo i perzistentnu infekciju u bika u dobi od 18 mjeseci koji se nalazio u susjednom objektu i to nalazom antigena u serumu i tkivu uške. Izdvajanjem virusa utvrdili smo da se radi o *ncp* biotipu virusa. Bik nije pokazivao nikakve kliničke znakove bolesti sve do redovnog klanja.



Slika 1. Krava simentalke pasmine stara 5 godina u kojoj je ustanovljena perzistentna infekcija virusom VPG-a. Kod krave nisu prisutni klinički znakovi oboljenja.



Slika 2. Tele krave sa slike 1 u kojoj je ustanovljena perzistentna infekcija virusom VPG-a. Tele je staro dva tjedna i nije pokazivalo kliničke znakove bolesti.

Ukupno smo dijagnosticirali BSG u tri junice u dobi od sedam mjeseci dok smo u bika od 18 mjeseci potvrdili PI. Akutnu infekciju utvrdili smo u ženskog teleta starog dva tjedna.

3. Infekcija u tovne teladi

Tristo je uvezene teladi u tipu simentalca dopremljeno na gospodarstvo



Slika 3. Sluznica gingiva junice simentalke pasmine uginule u dobi od 7 mjeseci od posljedica BSG. Po sluznici gingiva uočava se veći broj ulceracija.



Slika 4. Ulceracije na tvrdom nepcu i bukalnoj sluznici junice simentalke pasmine uginule u dobi od 7 mjeseci od posljedica BSG. Mandibula je uklonjena da bi se jasno moglo vidjeti tvrdo nepce.

za daljnji tov. Telad je bila raspodijeljena u dva objekta. U jednom objektu pojavili su se klinički znakovi upale pluća koji



Slika 5. Sluznica duodenuma junice simentalke pasmine uginule u dobi od 7 mjeseci od posljedica BSG. Po sluznici se vide brojna žarišna krvarenja.



Slika 6. Sadržaj tankog crijeva junice simentalke pasmine uginule u dobi od 7 mjeseci od posljedica BSG. Potrebno je uočiti da je sadržaj rijedak, sluzav s obilnim primjesama fibrina i krvi.



Slika 7. Okolina anusa junice simentalke pasmine stare 7 mjeseci uginule od posljedica BSG. Okolina anusa uprljana je sasušenom zgrušanom krvi.

se usprkos terapiji nisu smanjivali. Bolesna goveda teško su i ubrzano disala uz povišenu tjelesnu temperaturu do 41 °C. Redovito je iz nosa bio prisutan serozni iscjedak koji bi kroz četiri dana postao gnojnan. Prema anamnestičkim podacima usprkos terapiji uginulo je desetak teladi. U objektu je krv uzorkovana u dvadesetak teladi te je kod dvoje ustanovljena prisutnost virusa VPG-a. U jednog teleta dokazana je PI, a u drugog akutna. Dodatnim pretragama u organima uginule teladi ustanovljena je prisutnost mikoplazmi, dok se prisutnost virusa VPG-a nije potvrdila.

Rasprava

U ovom radu prikazana su tri slučaja infekcije virusom VPG-a koja su potvrđena u Odjelu za virologiju Hrvatskog veterinarskog instituta unazad tri godine. Cilj ovog rada nije bio ustvrditi proširenost bolesti u Republici Hrvatskoj, nego samo upozoriti na njenu prisutnost, odnosno ekonomske štete koja ova bolest uzrokuje u govedarstvu, a pri čemu vrlo često ostaje neprepoznata. Usprkos očekivanom, činjenica je da najveće štete nakon infekcije virusom VPG-a ne nastaju kao posljedica težih akutnih slučajeva i BSG, već kao posljedica pravovremenog neprepoznavanja bolesti u stadu. Razlog tomu je što se kod BSG-a bolest uglavnom prepozna ubrzo nakon ulaska virusa u stado pa su i te štete jednokratne (premda su štete i u tim slučajevima vrlo često velike), dok s druge strane gotovo 90% infekcija goveda prolazi subklinički (Ames, 1986.) te, upravo zbog mogućnosti perzistiranja u stadu bez kliničkih simptoma uz imunosupresivno djelovanje virusa na organizam te reproduktivne poremećaje proizlaze najveće ekonomske štete. Pri tome bolest uglavnom ostaje prikrivena s drugim uzročnicima (vrlo često bakterijama) koji se najčešće u takvim slučajevima potvrde.

Sve gore navedeno potvrđeno je kroz tri prikazana slučaja. U dva slučaja u

kojima smo ustanovili PI u goveda nije bilo ni sumnje na infekciju virusom VPG-a. U jednome slučaju (tov junadi) postojala je sumnja na virusnu etiologiju, međutim sumnjalo se na respiratorni sincicijski virus i parainfluncu 3. Kako se u predmetnom stadu radilo o nakupljenoj junadi koja je smještena u zajednički objekt, došlo je do širenja virusa VPG-a iz perzistentno zaraženih goveda unutar objekta, a moguće već i za vrijeme transporta. Prijašnje spoznaje potvrdile su da se prijenos virusa između PI goveda i seronegativnih goveda događa već jedan sat nakon izravnog dodira (Traven i sur., 1991.). Premda je u ovom slučaju ustanovljena prisutnost PI goveda, važno je napomenuti da je širenje i zadržavanje virusa u stadu moguće i do 30 dana bez prisutnosti takvih goveda (Moerman i sur., 1990.). Ova spoznaja upućuje na značenje testiranja teladi prilikom tova, posebice ukoliko dolaze iz više stada nepoznatog statusa. Pri tome je moguće rabiti i skupne uzorke krvnog seruma od 50 životinja.

U slučaju akutne infekcije na gospodarstvu s mliječnim tipom proizvodnje nije ni postojala sumnja na infekciju virusom VPG-a već su uzorci uzorkovani u okviru epidemiološkog istraživanja. Proizvodnja je mlijeka na gospodarstvu bila vrlo visoka bez ikakvih kliničkih poremećaja, izuzev teškog teljenja kod jedne krave. Upravo kod te krave i njezina teleta ustanovljena je PI. Pa iako je PI bila dokazana i ranije kod krava, ovakav slučaj perzistentno inficirane krave stare pet godina uz natprosječnu proizvodnju mlijeka raritet je i u svjetskim razmjerima. Dokazana prisutnost specifičnih protutijela u visokom titru kod svih ostalih pretraženih grla, potvrđuje stalnu prisutnost infekcije. Takve spoznaje zabilježene su i ranije gdje je vrijednost titra protutijela bila viša u stadima u kojima je prisutna infekcija (Houe i sur., 1995.). Isto tako prema stohastičkim modelima u stadima od 50 odnosno 100 goveda do prekida infekcije doći će tek kroz četiri,

odnosno devet godina (Smith i sur., 2010.) čime se potvrđuje uloga veličine stada u održavanju infekcije. Iako nismo mogli izravno povezati oboljenje koje je nastalo u stadu nakon uvoza desetak junica u stado, prisutnost virusa VPG-a zasigurno je doprinijela težini kliničkih simptoma. Takve spoznaje poznate su već od ranije u slučajevima gdje su oboljenja bila znatno teža kod istodobne infekcije virusom VPG-a i bakterijama, nego kod zasebnih infekcija (Potgieter i sur., 1984., 1985.). Upravo je ovakav tip infekcije i najčešći u terenskim uvjetima te nanosi najveće neizravne štete u govedarskoj proizvodnji. Ovaj problem je već prepoznat u velikom broju zemalja Europe te su započeti sustavni nacionalni ili regionalni programi za kontrolu i iskorjenjivanje bolesti. Potrebno je istaknuti da je prema iskustvima drugih zemalja, takav program provediv jedino ukoliko se provodi na nacionalnoj osnovi uz subvencioniranje iz državnoga proračuna. Postoje dva oblika takvog programa. Jedan oblik uključuje dijagnosticiranje PI goveda i njihovo uklanjanje te kasniji serološki nadzor koji je primjenjivan u Skandinavskim zemljama. Međutim, valja istaknuti da je u tim zemljama i prije početka programa, seroprevalencija bila znatno niža od 57,29% koliko ona iznosi u Hrvatskoj (Bedeković, neobjavljeni podatci). Za Hrvatsku bi bio bolji model kojeg su rabili u dijelovima Njemačke i Švicarskoj gdje su se usmjerili na pronalaženje PI goveda i njihovo uklanjanje. Kod nas nažalost još ne postoji plan za iskorjenjivanje bolesti na nacionalnoj razini. Međutim to ne znači da pojedini vlasnici, odnosno farme i gospodarstva, ne bi mogle provesti program. To bi imalo smisla u stadima u koja se ne uvoze druga grla i koja su držana farmski bez doticaja s drugim stadima te uz kasnije provođenje strogih biosigurnosnih mjera kako se virus ne bi ponovno unio u stado. Kod pronalaženja PI goveda vrlo je važno pretražiti sva grla u stadu što dodatno poskupljuje program jer je takve

pretrage potrebno provoditi najmanje dvije godine zaredom. Međutim, iz prikazanog slučaja vidljiva je šteta koja nastaje kao posljedica infekcije te bi takvi programi zasigurno u konačnici polučili pozitivan rezultat, kako ekonomski, tako i na zdravlje stada.

U ovom je radu opisana i BSG. Iako se najčešće smatra da je BSG najteži oblik infekcije virusom VPG, iz prikaza slučajeva je vidljivo da su zapravo ekonomske štete kod takvog oblika najmanje i da se ne mora javiti u obliku s vrlo teškim kliničkim simptomima. Može se zapravo reći da ona predstavlja krajnji ishod infekcije u stadu iako ne znači da infekcija ne može ostati i nakon toga prisutna u stadu. Zapravo je u nekim slučajevima vrlo teško razlikovati teške akutne slučajeve s krvarenjima, od BSG. U takvim je slučajevima sigurnu dijagnostiku moguće postaviti jedino izdvajanjem virusa u staničnoj kulturi, pri čemu je potrebno istodobno izdvojiti *cp* i *ncp* biotip. U našem radu smo *cp* biotip ustanovili kod sve uginule junadi te kod jednog akutno bolesnog teleta, dok smo *ncp*, odnosno PI utvrdili u istom stadu kod jednog bika. Nadalje, nismo ustanovili specifična protutijela jedino kod uginule junadi i bika što je dokaz imunotolerantnosti, odnosno postojanja perzistentne infekcije. Isto tako, često su kod težih akutnih slučajeva pobol i smrtnost veći nego kod BSG gdje se smrtnost kreće oko 5% pri čemu u većini slučajeva uginu junad približne starosti.

Zaključno možemo reći da je virus VPG-a prisutan u Hrvatskoj i da uzrokuje ekonomske štete u govedarstvu. Vrlo često, zbog raznolike kliničke slike virus ostaje neprepoznat i prikriven drugim uzročnicima. Sposobnost virusa da uzrokuje perzistentnu infekciju omogućava mu stalno prisustvo u stadu i izravan utjecaj na zdravlje stada. Cijepljenje goveda može poslužiti u svrhu kontrole bolesti, ali nažalost, ne može potpuno isključiti njezinu pojavu. Da bi se ustanovila prisutnost virusa, odnosno PI u stadu moguće je RT-PCR-om pretražiti skupne

uzorke krvnih seruma većeg broja goveda (do 100). Ukoliko se ustvrdi prisutnost virusa u stadu, potrebno je pretražiti sva goveda pojedinačno. Posredno se o statusu stada može zaključiti pretraživanjem na prisutnost specifičnih protutijela. Da bi se iz stada izlučio virus potrebna su najmanje dva testiranja dvije godine uzastopce uz uklanjanje zaraženih goveda, ali vrlo često i veći broj testiranja uz provođenje biosigurnosnih mjera i nadzor stada.

Sažetak

Prikazana su tri slučaja infekcije virusom VPG-a: na gospodarstvu s mliječnim tipom proizvodnje, na gospodarstvu s kombiniranim tipom proizvodnje te u tovne teladi. Iako različita po kliničkoj manifestaciji, infekcija je u svim stadima rezultirala značajnim ekonomskim štetama, odnosno gubitcima. Bolest vrlo često u svojem subkliničkom obliku ostaje neprepoznata i prikrivena drugim uzročnicima, najčešće sekundarnim bakterijskim infekcijama. Isto tako, bolest zbog sposobnosti virusa da uzrokuje perzistentnu infekciju može biti prisutna u stadu godinama uz stalno izlučivanje virusa iz perzistentno zaraženih goveda. Cijepljenje se stada protiv bolesti može rabiti samo kao dio kontrole bolesti, a jedini način iskorjenjivanja je primjena sustavnog programa.

Literatura

- AMES, T. R. (1986): The causative agent of BVD: Its epidemiology and pathogenesis. *Vet. Med.* 81, 848-869.
- BILLINIS, C., L. LEONTIDES, G. S. AMIRIDIS, V. SPYROU, P. KOSTOULAS and M. SOFIA (2005): Prevalence of BVDV infection in Greek dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 72, 75-79.
- BIUK-RUDAN, N., S. CVETNIĆ, J. MADIĆ and D. RUDAN (1999): Prevalence of antibodies to IBR and BVDV viruses in dairy cows with reproductive disorders. *Theriogenology* 51, 875-881.
- BROCK, K. V. and V. S. CORTESE (2001): Experimental fetal challenge using type II bovine viral diarrhoea virus in cattle vaccinated with modified-live virus vaccine. *Vet. Therapeutics* 2, 354-360.
- BROWNLIE, J. (1990): Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Microbiol.* 23, 371-382.
- CARMAN, S., T. VAN DREUMEL, J. RIDPATH, M., HAZLETT, D. ALVES, E. DUBOVI, R. TREMBLAY, S. BOLIN, A. GODKIN and N. ANDERSON (1998): Severe acute bovine viral diarrhoea in Ontario 1993-1995. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10, 27-35.
- CORAPI, W. V., R. D. ELLIOT, T. W. FRENCH, D. G. ARTHUR, D. M. BEZEK and E. J. DUBOVI (1990): Thrombocytopenia and hemorrhages in veal calves infected with bovine viral diarrhoea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196, 590-596.
- CVETNIĆ, S., E. TOPOLNIK and M. KRALJ (1968): Istraživanje etiologije infekcije dišnih i probavnih organa goveda u Hrvatskoj. V. Precipitirajuća antitijela virusa virusne dijareje i adenovirusa tip 1 u serumima goveda u Hrvatskoj. *Mikrobiologija* 5, 231-235.
- DUFFEL, S. J., M. W. SHARP and D. BATES (1986): Financial loss resulting from BVD-MD virus infection in dairy herd. *Vet. Rec.* 118, 38-39.
- EWERMANN, J. F. and G. M. BARRINGTON (2005): Clinical Features. In: GOYAL, S. M., J. F. RIDPATH: *Bovine Viral Diarrhoea Virus. Diagnosis, Management, and Control.* Blackwell Publishing, 1st ed. Ames, Iowa, pp. 105-119.
- FAIRBANKS, K. K., C. L. RINEHART, C. OHNESORGE, M. M. LOUGHIN and C. C. L. CHASE (2004): Evaluation of fetal protection against experimental infection with type 1 and type 2 bovine viral diarrhoea virus after vaccination of the dam with a bivalent modified-live virus vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 1898-1904.
- FLORES, E. F., J. F. RIDPATH, R. WEIBLEN, F. S. VOGEL and L. H. GIL (2002): Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhoea virus type 2 (BVDV-2) isolates: Evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus Res.* 87, 51-60.
- FULTON, R. W., J. F. RIDPATH, A. W. CONFER, J. T. SALIKI, L. J. BURGE and M. E. PAYTON (2003): Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programs. *Biologicals* 31, 89-95.
- FULTON, R. W., J. F. RIDPATH, S. ORE, A. W. CONFER, J. T. SALIKI, L. J. BURKE and M. E. PAYTON (2005): Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) subgenotypes in diagnostic laboratory accessions: Distribution of BVDV1a, 1b, and 2a subgenotypes. *Vet. Microbiol.* 111, 35-40.
- GOENS, S. D. (2002): The evolution of bovine viral diarrhoea: a review. *Can. Vet. J.* 43, 946-954.
- GROOMS, D. L., S. R. BOLIN, P. H. COE, R. J. BORGES and C. E. COUTU (2007): Fetal protection against continual exposure to bovine viral diarrhoea virus following administration of a vaccine containing an inactivated bovine viral diarrhoea virus fraction to cattle. *Am. J. Vet. Res.* 68, 1417-1422.
- GROOMS, D., J. C. BAKER and T. R. AMES (2002): Diseases caused by bovine viral diarrhoea virus. In: SMITH, B. P.: *Large Animal Internal Medicine.* 3rd edition, Mosby, St. Louis, MO. Pp. 707-714.
- HEINZ, F. X., M. S. COLLETTI, R. H. PURCELL, E. A. GOULD, C. R. HOWARD, M. HOUGHTON, R. J. M. MOORMANN, C. M. RICE, H. J. THIEL (2000): Family *Flaviviridae*. In: VAN REGENMORTEL, M. H. V., C. M. FAUQUER, D. H. L. BISHOP, E. CARSTENS, M. K. ESTES, S. LEMON, J. MANILOFF, M. A. MAYO, D. MCGEOGH, C. R. PRINGLE and R. B. WICKNER: *Virus Taxonomy.* 7th International committee for the Taxonomy of Viruses. Academic Press. San Diego. Pp. 859-878.

19. HORZINEK, M. C. (1990): Bovine viral diarrhoea virus: an introduction. *Rev. Sci. Tech.* 9, 13-23.
20. HOUE, H. (1999): Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64, 135-144.
21. HOUE, H., J. C. BAKER, R. K. MAES, P. L. RUEGG and J. W. LLOYD (1995): Application of Antibody Titers against Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) as a Measure to Detect Herds with Cattle Persistently Infected with BVDV. *J. Vet. Diag. Invest.* 7, 327-332.
22. JACKOVA, A., M. NOVACKOVA, C. PELLETIER, C. AUDEVAL, E. GUENEAU, A. HAFFAR, E. PETIT, L. REHBY and S. VILCEK (2008): The extended genetic diversity of BVDV-1: Typing of BVDV isolates from France. *Vet. Res. Commun.* 32, 7-11.
23. KELLING, C. L., B. D. HUNSAKER, D. J. STEFFEN, C. L. TOPLIFF and K. M. ESKRIDGE (2007): Characterization of protection against systemic infection and disease from experimental bovine viral diarrhoea virus type 2 infection by use of a modified-live noncytopathic type 1 vaccine in calves. *Am. J. Vet. Res.* 68, 788-796.
24. LIEBLER TENORIO, E. M. (2005): Pathogenesis. In: GOYAL, S. M. and J. F. RIDPATH: *Bovine Viral Diarrhea Virus. Diagnosis, Management, and Control.* Blackwell Publishing, 1st ed. Ames, Iowa, pp. 121-143.
25. LINDBERG, A., J. BROWNLIE, G. J. GUNN, H. HOUE, V. MOENNIG, H. W. SAATKAMP, T. SANDVIK and P. S. VALLE (2006): The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. *Rev. sci. tech. Off. int. Epizoot.* 25, 961-979.
26. MADIĆ, J., S. CVETNIĆ, Nevenka BIUK-RUDAN and B. LUGOVIĆ (1989): Antibodies to BRS, BVD, and IBR viruses in bovine sera in S.R. Croatia, S.F.R. Yugoslavia. *Vet. arhiv* 59, 233-238.
27. MEYLING, A. and A. M. JENSEN (1988): Transmission of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from persistently infected bull. *Vet. Microbiol.* 17, 97-105.
28. MOERMAN, A., P. J. STRAVER and M. C. M. DE JONG (1994): Clinical consequences of bovine viral diarrhoea in a dairy herd: A longitudinal study. *Vet. Q.* 16, 115-119.
29. OBRITZHAUSER, W., K. FUCHS and J. KOEFER (2005): BVDV infection risk in the course of the voluntary BVDV eradication program in Styria/Austria. *Prev. Vet. Med.* 72, 127-132.
30. POTGIETER, L. N. D., M. D. MCCracken, F. M. HOPKINS and J. S. GUY (1985): Comparison of the pneumopathogenicity of two strains of bovine viral diarrhoea virus. *A. J. Vet. Res.* 46, 151-153.
31. POTGIETER, L. N. D., M. D. MCCracken, F. M. HOPKINS and W. D. WALKER (1984): Experimental production of bovine respiratory tract infection with bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 45, 1582-1585.
32. SMITH, R. L., M. W. SANDERSON, D. G. RENTER, R. LARSON and B. WHITE (2010): A stochastic risk-analysis model for the spread of bovine viral diarrhoea virus after introduction to naïve cow-calf herds. *Prev. Vet. Med.* 95, 86-98.
33. THURMOND, M. C. (2005): Virus Transmission. In: GOYAL, S. M. and J. F. RIDPATH: *Bovine Viral Diarrhea Virus. Diagnosis, Management, and Control.* Blackwell Publishing, 1st ed. Ames, Iowa, pp. 91-104.
34. TRAVEN, M., S. ALENUS, C. FOSSUM and B. LARSSON (1991): Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. *J. Vet. Med. B.* 38, 453-462.
35. VOGES, H., G. W. HORNER, S. ROWE and G. J. WELLENBERG (1998): Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non viremic bull. *Vet. Microbiol.* 61, 165-175.
36. WENTINK, G. H. and A. A. DIJKHUIZEN (1990): Economic consequences of an infection with the bovine diarrhoea virus (BVD virus) in 15 dairy farms. *Tijdschr. Diergeneesk.* 115, 1031-1040.
37. XUE, W., D. MATTICK, L. SMITH and J. MAXWELL (2009): Fetal protection against bovine viral diarrhoea virus types 1 and 2 after the use of a modified-live virus vaccine. *Can. J. Vet. Res.* 73, 292-297.

Bovine viral diarrhoea virus in Croatia – case reports

Tomislav BEDEKOVIĆ, DVM, Junior Researcher, Lorena JEMERŠIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Ivana LOJKIĆ, BSc, PhD, Senior Scientific Associate, Nina LEMO, DVM, Junior Researcher, Željko MIHALJEVIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Branko ŠOŠTARIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Mirko LOJKIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Tomislav KEROS, DVM, PhD, Senior Assistant, Jelena BALATINAC, BSc, Junior Researcher, Dragan BRNIĆ, DVM, Junior Researcher, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Tina CATELO IVKOVIĆ, BSc, Junior Researcher, Institute Ruđer Bošković, Zagreb; Josip MADIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Three case reports of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections are described in this study. One appeared on a milk farm, one on a milk/meat production farm, and one on a meat/fattening farm. Even though the clinical manifestation of the disease in all tested herds differed substantially, economic losses were recorded in all of the described cases. BVDV often remains unnoticed or hidden by

secondary infections, mostly of bacterial origin. Moreover, it causes persistent infection in cattle and therefore the virus may be shed over a long period of time. Vaccination can be implemented as a tool for disease control, though the eradication of BVDV is possible only through the application of a systematic programme.

Posljedice recesije u hrvatskom veterinarstvu

Marko Tadić



Uvod

Krah investicijske banke Lehman Brothers 15. rujna 2008. označava se kao datum početka recesije u svijetu. Optimizam je tijekom 2010. godine o brzom izlasku iz recesije u brojnim državama i međunarodnim institucijama zamijenio pesimizam. Danas se sve češće govori i piše o realnoj opasnosti ponavljanja recesije iz godine 2008. (recesija s dvostrukim dnom) ili o prijelazu recesije u gospodarsku depresiju. Pesimizam je ponajprije uvjetovan ozbiljnom dužničkom krizom u zemljama euro-zone: Grčkoj, Italiji, Španjolskoj, Portugalu i Irskoj. Sve su izraženiji zahtjevi za jačanje Europskog fonda za financijsku stabilnost (EFSF) i naglašeniju ulogu Središnje europske banke (ECB). Zagovara se izdavanje euroobveznica i fiskalna federalizacija Europske Unije pa do federalizacije te zajednice. Pesimizam je pojačan opadanjem kreditne sposobnosti SAD prema agenciji Standard and Poor's (S&P) s AAA na AA+, koja je zatim snizila i kreditnu sposobnost Italije s „A+/A-1+“ na „A/A-1“.

U Hrvatskoj se recesija, kao realna pojava, predugo ignorirala. Njezino se očitovanje marginaliziralo. Danas je posve razvidno da je Hrvatska u recesiji i da se još uvijek na može govoriti o izlasku iz recesije sa značajnijim stupnjem pouzdanosti. O recesiji se u Hrvatskoj govori uglavnom s motrišta promjene

(smanjivanja) bruto društvenog proizvoda. Zaboravlja se da su obilježja recesije; trajanje, dubina, difuzija (3D: duration, depth, diffusion). Dapače manjkaju i istraživanja tih obilježja recesije u hrvatskoj zbilji.

Materijal i metode rada

Cilj je istraživanja bio analizirati rezultate poslovanja veterinarskih organizacija u Hrvatskoj (veterinarskih stanica i veterinarskih ambulana) te na temelju rezultata analize ustvrditi ekonomske posljedice recesije. Za istraživanje poslužili smo se podacima što ih objavljuje POSLOVNA HR (<http://www.poslovna.hr/>). Koristili smo podatke o poslovanju 56 veterinarskih stanica i 64 veterinarske ambulante tijekom dva razdoblja; prije recesije (2003. do 2007.) i tijekom recesije (2008. do 2010.). Taj je skup veterinarskih organizacija homogen po djelatnostima, načinu poslovanja i veličini te je posve pogodan za prosudbu posljedica recesije s motrišta sva tri njezina obilježja. Za istraživanje smo koristili ove pokazivače djelatnosti poslovanja:

- x_1 Broj zaposlenih (prosječan broj na temelju sati rada)
- x_2 Prosječna neto plaća (u €)
- x_3 Koeficijent tekuće likvidnosti
- x_4 Koeficijent ubrzane likvidnosti

Dr. sc. Marko TADIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

- x₅ Altmanov z-score
- x₆ Stupanj zaduženosti (u %)
- x₇ Povrat na vlasnički kapital u % (ROE-Return on Equity)
- x₈ Povrat na aktivu u % (ROA-Return on Assets)
- x₉ Neto dobit po zaposlenom (1.000 €)
- x₁₀ Udio troškova za osoblje u ukupnim rashodima (u %)
- x₁₁ Ukupna imovina po zaposlenom (1.000 €)
- x₁₂ Ukupni prihodi (1.000 €)
- x₁₃ Bruto dobit (*EBT-Earnings before Taxes*) (1.000 €)
- x₁₄ Dobit nakon oporezivanja - neto dobit (1.000 €)
- x₁₅ Novostvorena vrijednost (1.000 €)
- x₁₆ Potraživanja od kupaca (1.000 €)
- x₁₇ Obveze prema dobavljačima (1.000 €)
- x₁₈ Prosječna naplata (u danima)
- x₁₉ Prosječno plaćanje (u danima)
- x₂₀ Ukupna imovina-ukupno aktiva (1.000 €)
- x₂₁ Dugotrajna imovina (1.000 €)
- x₂₂ Kratkotrajna imovina (1.000 €)
- x₂₃ Dugoročne obveze (1.000 €)
- x₂₄ Kratkoročne obveze (1.000 €)
- x₂₅ Temeljni (upisani) kapital (1.000 €).

Prikupljene podatke, odjelito za veterinarske stanice i veterinarske ambulante te zajedno za sve veterinarske organizacije i označena razdoblja, obradili smo pripadnim statističkim postupcima uporabom računalnog programa STATISTIKA 9. Djelotvornost poslovanja veterinarskih organizacija istraživali smo uobičajenim ekonometrijskim postupcima.

Povrh toga služili smo se i podatcima što su objavljeni u Statističkom ljetopisu Republike Hrvatske 2010., Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske, Zagreb, 2010.

Rezultati

Sve veća nezaposlenost vjerodostojan je indikator recesije. Ona je to i u veterinarskim organizacijama. Ona je pouzdan indikator trajanja i dubine (ozbiljnosti) recesije. Veterinarske

organizacije u Hrvatskoj su, prema broju zaposlenih, pretežito male organizacije. Veterinarske su stanice, prema tome obilježju, značajno ($P < 0,001$) veće nego veterinarske ambulante. Broj se zaposlenih u veterinarskim organizacijama počinje smanjivati već tijekom godine 2005. i to postupno do 2008., a onda ubrzano, brže u veterinarskim stanicama nego u veterinarskim ambulantom (Tabela 1. i Grafikon 1.). I po ostvarenom ukupnom prihodu veterinarske su stanice značajno ($P = 0,045$) veće nego veterinarske ambulante. Zanimljivo je, međutim, da se ukupni prihod veterinarskih organizacija postupno povećavao od 2003. do 2007., a zatim naglo smanjivao, naročito u veterinarskim stanicama (Grafikon 2.). Rezultat te dvije tendencije je nominalno i još više realno smanjivanje prosječnih mjesečnih neto plaća i to ponovo brže u veterinarskim stanicama nego u veterinarskim ambulantom. Valja naglasiti da je prosječna mjesečna neto isplaćena plaća godine 2010. bila značajno ($P < 0,001$) veća u veterinarskim stanicama nego u veterinarskim ambulantom.

Očigledan primjer dubine recesije i posljedica recesije je kretanje dobiti u predrecesijskom i recesijskom razdoblju. Bruto i neto dobit ubrzano su se povećavali i u veterinarskim stanicama i u veterinarskim ambulantom između 2003. i 2007. godine, a zatim brzo smanjivali i to brže neto nego bruto dobit, a naročito neto dobit obračunana po zaposlenom. Četvrtina svih veterinarskih organizacija poslovala je 2010. godine s gubitkom. Posljedica recesije, a ne samo „neposlovnosti“, je ubrzani porast potraživanja od dužnika i dugova vjerovnicima u svim veterinarskim organizacijama. Potraživanja veterinarskih stanica dvostruko su veća od dugova, a veterinarskih ambulanta su gotovo izjednačena s dugovima. Najrazvidniji dokaz ozbiljnosti recesije i u veterinarstvu, odnosno u veterinarskim organizacijama, je opća pojava nepravodobnog plaćanja dugova

i naplate potraživanja. Rokovi naplate potraživanja i plaćanja dugova ubrzano se produžuju. Osobito se to odnosi na veterinarske ambulante. S tog su motrišta veterinarske stanice znatno pouzdaniji poslovni partner nego veterinarske ambulante. Produžavanje tih rokova dovelo je do promjene strukture obveza veterinarskih organizacija. Smanjile su se dugoročne, a povećale kratkoročne obveze, naročito veterinarskih ambulanata.

Kvalitativni pokazivači poslovanja veterinarskih organizacija dokaz su da su se veterinarske organizacije tijekom recesije odlučile štititi predodžbu solidnih poslovnih partnera. Pokazuju to koeficijenti tekuće i ubrzane likvidnosti koji se nisu značajnije mijenjali tijekom dosadašnjeg recesijskog razdoblja. Prosječni koeficijent tekuće likvidnosti bio je veći od 2, a koeficijent ubrzane likvidnosti veći od 1. Ipak treba dodati da je 57% veterinarskih organizacija 2010. imalo koeficijent tekuće likvidnosti manji od 2. Altman's z-score (koeficijent stečaja) ponovo svjedoči o ozbiljnim posljedicama recesije u veterinarstvu. Gotovo petina svih veterinarskih organizacija ostvarila je taj koeficijent manji od 1,23, a dvije petine njih između 1,23 i 3,0 (Grafikon 3.). Veterinarske organizacije su umjereno zadužene. Stupanj zaduženosti manji od 50% zabilježen je godine 2010. u 61% veterinarskih organizacija, a veći od 75% u petine organizacija. U prosjeku su značajno manje ($P=0,008$) zadužene veterinarske stanice nego veterinarske ambulante. Samo je četvrtina veterinarskih stanica imala stupanj zaduženosti veći od 50%. Istodobno je četvrtina veterinarskih ambulanata imala stupanj zaduženosti veći od 80%.

Cijena zaštite predodžbe uspješnih i pouzdanih organizacija veterinarske su organizacije „platile“ smanjivanjem ekonomičnosti i rentabilnosti poslovanja. Godine 2010. prosječna stopa povrata na vlasnički kapital (ROE) bila je za sve veterinarske organizacije 10,47%, a stopa povrata na korištenu imovinu (ROA)

5,04%. Gotovo dvije petine veterinarskih organizacija poslovale su godine 2010. nerentabilno prema stopi povrata na korištenu imovinu (ROA), a prema stopi povrata na vlasnički kapital (ROE) takvih je bilo više od četvrtine. Valja naznačiti da su se stope povrata i na korištenu imovinu i na vlasnički kapital prepolovile tijekom recesijskog razdoblja. Stoga se neto-dobit po zaposlenom izrazito brzo smanjivala i u veterinarskim stanicama (-27,86% prosječno godišnje) i u veterinarskim ambulantom (-33,9% prosječno godišnje) tijekom recesijskog razdoblja.

Svojim su proturecesijskim mjerama veterinarske organizacije postojano branile plaće zaposlenih te je njihov udio u ukupnim rashodima bio 41,36% i to značajno veći ($P=0,0045$) u veterinarskim stanicama nego u veterinarskim ambulantom.

Ako kao sintetički pokazatelj uspješnosti poslovanja i perspektive veterinarskih organizacija uzmemo Altmanov z-score (koeficijent stečaja)¹ onda je razvidna vrlo jaka povezanost između tog koeficijenta s jedne i koeficijenata tekuće i ubrzane likvidnosti te stupnja zaduženosti s druge strane (Tabela 2.). Naznačeni korelacijski koeficijenti upozoravaju na zaduženost kao jedan od glavnih čimbenika lošijih poslovnih rezultata (ekonomičnosti, produktivnosti i rentabilnosti) veterinarskih organizacija.

Rasprava

Već smo ranije upozorili na pojavu recesije u hrvatskom veterinarstvu (Tadić i sur., 2009.) a zatim i na vjerodostojne pokazatelje prijelaza recesije u depresiju (Tadić i sur., 2010.a). Analizirajući 25 različitih pokazatelja djelotvornosti poslovanja veterinarskih organizacija u Hrvatskoj između 2003. i 2010. godine razvidno je da se recesija nastavila depresijom. Razvidno je to po prosječnim godišnjim promjenama broja zaposlenih,

¹ Altman Z-score. Wikipedia, the free encyclopedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Altman_Z-score#Estimation_of_the_formula (dostupno 9.8.2011.).

Tabela 1. Promjene pojedinih pokazatelja uspješnosti poslovanja veterinarskih organizacija u Hrvatskoj

Pokazatelji	Veterinarske stanice		Veterinarske ambulante	
	2003.-2007.	2008.-2010.	2003.-2007.	2008.-2010.
Broj zaposlenih	0,28	-5,07	-0,04	-1,83
Prosječna neto plaća	4,55	-2,12	4,74	-0,06
Ukupni prihod	2,89	-10,34	6,87	-0,07
Bruto dobit	25,78	-18,13	21,49	-33,07
Neto dobit	11,79	-19,16	16,66	-38,47
Potraživanja od kupaca	1,80	4,84	9,31	-0,03
Obveze prema dobavljačima	6,32	5,91	26,30	-6,88
Prosječna naplata (dana)	1,64	44,13	3,15	85,55
Prosječno plaćanje (dana)	8,69	-16,14	7,25	51,76
Ukupna imovina	3,94	-2,83	11,70	7,06
Dugotrajna imovina	4,12	-6,04	6,79	6,48
Kratkotrajna imovina	3,75	0,91	14,90	6,66
Dugoročne obveze	1,15	-7,24	6,62	4,18
Kratkoročne obveze	2,67	-4,77	17,26	7,97
Temeljni kapital	2,21	-2,87	1,55	0,81
Neto dobit po zaposlenom	11,49	-27,86	17,09	-33,90

ostvarenog ukupnog prihoda te ostvarene bruto i neto dobiti između 2008. i 2010. Ukupni prihod veterinarskih organizacija u tom se razdoblju smanjivao 7,08% prosječno godišnje. Istodobno se hrvatski društveni bruto proizvod smanjivao 1,52% prosječno godišnje što svjedoči da je recesija (depresija) u veterinarskim organizacijama dublja i duža od opće recesije u Hrvatskoj. Udio ukupnog prihoda veterinarskih organizacija u hrvatskom društvenom bruto proizvodu smanjen je s 0,185% na 0,166%.

Strukturne promjene u hrvatskom veterinarstvu, koje su, povrh ostalog, uvjetovane usklađivanjem propisa i prakse u Hrvatskoj s pripadnim propisima i praksom u Europskoj Uniji, jedan su od važnih razloga te pojave (Tadić i sur. 2010.b). Te se promjene poglavito odnose na veterinarske stanice. One su prema broju zaposlenih, ostvarenom ukupnom prihodu, vrijednosti korištene imovine i iznosu temeljnog kapitala značajno veće organizacije od veterinarskih ambulana

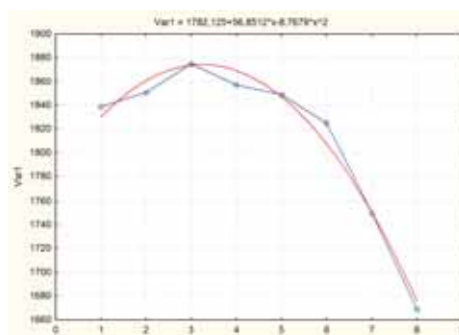
Tabela 2. Korelacijska matrica

Variable	Correlations (Spreadsheet2)									
	Marked correlations are significant at $p < ,05000$									
	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7	x8	x9	x10
x1	1,00	0,18	-0,08	-0,08	-0,06	-0,24	-0,09	-0,04	0,08	0,15
x2	0,18	1,00	0,01	0,01	0,06	-0,43	-0,00	0,12	0,26	0,52
x3	-0,08	0,01	1,00	1,00	0,96	-0,32	-0,00	0,09	0,11	-0,02
x4	-0,08	0,01	1,00	1,00	0,95	-0,30	0,00	0,09	0,10	-0,01
x5	-0,06	0,06	0,96	0,95	1,00	-0,42	0,10	0,18	0,16	-0,03
x6	-0,24	-0,43	-0,32	-0,30	-0,42	1,00	-0,09	-0,31	-0,38	-0,36
x7	-0,09	-0,00	-0,00	0,00	0,10	-0,09	1,00	0,88	0,66	-0,04
x8	-0,04	0,12	0,09	0,09	0,18	-0,31	0,88	1,00	0,81	0,15
x9	0,08	0,26	0,11	0,10	0,16	-0,38	0,66	0,81	1,00	0,24
x10	0,15	0,52	-0,02	-0,01	-0,03	-0,36	-0,04	0,15	0,24	1,00
x11	-0,04	0,05	-0,06	-0,06	-0,15	0,09	-0,04	-0,03	-0,03	-0,24

($P < 0,05$). Na pojavu recesije reagirale su smanjivanjem broja zaposlenih (brže veterinarske stanice nego veterinarske ambulante) te obranom likvidnosti i solventnosti, odnosno čuvanjem dojma solidnih poslovnih organizacija. Smanjivanje prosječnih mjesečnih neto isplaćenih plaća bila je posljedica takve poslovne politike. One su se brže smanjivale u veterinarskim stanicama nego u veterinarskim ambulantom iako su u veterinarskim stanicama bile značajno veće nego u veterinarskim ambulantom ($P < 0,01$). Prosječna mjesečna neto isplaćena plaća u svim veterinarskim organizacijama bila je 1,64% manja od prosječne mjesečne neto isplaćene plaće u pravnim osobama u Hrvatskoj te 24% manja nego u stručnim, znanstvenim i tehničkim djelatnostima i 14,2% manja nego u djelatnostima zdravstvene zaštite i socijalne skrbi. Slika je još lošija za veterinarske organizacije ako se u obzir uzme viši koeficijent kvalifikacijske strukture u veterinarskim organizacijama nego u naznačenim djelatnostima.

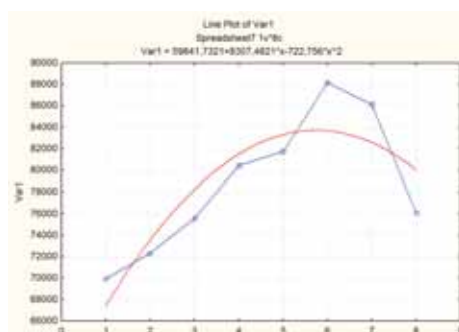
Posljedice recesije su i smanjivanje produktivnosti (ukupnog prihoda po zaposlenom), ekonomičnosti (brži porast rashoda nego prihoda) i rentabilnosti. Prosječna je stopa povrata na korištenu imovinu (ROA) veterinarskih organizacija godine 2010. bila 44% manja od eskontne stope Hrvatske narodne banke i 54,7% manja od prosječne aktivne vage kamatne stope hrvatskih banaka na kunske kredite. Neprijeporno je da će smanjivanje produktivnosti, ekonomičnosti i rentabilnosti poslovanja veterinarskih organizacija sve više ugrožavati njihovu likvidnost i solventnost i povećavati zaduženost.

Temeljem Altmanova z-score razvidno je da jednoj petini veterinarskih organizacija prijeti stečaj (Šarlija, 2011.), dvije petine ih je u sivoj zoni, a samo je izvjesna budućnost njih dvije petine. Među veterinarskim stanicama 9%

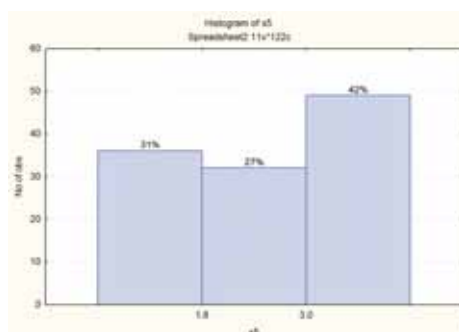


Var1 = 1913,6429 - 22,0595*x

Grafikon 1. Promjene broja zaposlenih u veterinarskim organizacijama u Hrvatskoj između 2003. i 2010. godine.



Grafikon 2. Ostvareni ukupni prihod (u 1000 €) veterinarskih organizacija u Hrvatskoj godine 2010.



Grafikon 3. Poslovanje veterinarskih organizacija u Hrvatskoj 2010. godine **ALTMANOV Z-SCORE**

je onih kojima prijeti stečaj, a među veterinarskim ambulantom takvih je više od jedne četvrtine.

Opravođano je, dakle, temeljem rezultata istraživanja pretpostaviti da će se recesija u veterinarstvu nastaviti kao

posljedica opće recesije u Hrvatskoj i kao posljedica tekućih strukturnih promjena u veterinarskim organizacijama i veterinarskim djelatnostima. One će se recesiji, odnosno depresiji suprotstavljati ponajprije smanjivanjem broja zaposlenih, najprije onih čija je marginalna produktivnost rada ravna ničisti. Zbog toga te zbog stečaja pojedinih veterinarskih organizacija i smanjivanja obujma poslova naročito u „klasičnim veterinarskim djelatnostima“ opravdano je pretpostaviti da će stopa zapošljavanja u veterinarskim organizacijama biti manja od stope zamjene. Novo zapošljavanje veterinar generirat će gotovo isključivo poslovi u javnoj upravi.² Neravnoteža ponude i potražnje radnika veterinarske struke nastaviti će se i vjerojatno povećati pristupanjem Hrvatske Europskoj Uniji. Opravdano je očekivati i nastavak strukturnih reformi napose u praksi s kućnim ljubimcima, u praksi s farmским životinjama i veterinarskom javnom zdravstvu³. Veterinarska praksa s kućnim ljubimcima i egzotičnim životinjama postaje kapitalno intenzivna, povećava se stupanj koncentracije uz primjenu sofisticiranih medicinskih postupaka te je marketinški orijentirana. Veterinarska praksa s farmским životinjama, zbog sve većeg stupnja koncentracije i centralizacije, postaje sastavnim dijelom tehnologije uzgoja životinja što iziskuje

multidisciplinarni pristup pružanju usluga. Veterinarsko je javno zdravstvo djelatnost od sve većeg društvenog značenja. Nije to homogena djelatnost nego je uključena u različite javne djelatnosti što omogućuje diverzifikaciju zapošljavanja veterinaru.

Sažetak

Cilj je istraživanja bio ustvrditi posljedice recesije u hrvatskom veterinarstvu. Tijekom istraživanja korišteni su podatci (25 promjenljivica) o djelatnosti poslovanja veterinarskih organizacija u Hrvatskoj (56 veterinarskih stanica i 64 veterinarske ambulate) tijekom razdoblja od 2003. do 2007. te 2008. do 2010. godine. Rezultati istraživanja pokazuju ubrzavanje i produbljivanje recesije koja ima sve odlike depresije. Očituje se to ubrzanim smanjivanjem broja zaposlenih, smanjivanjem ostvarenog ukupnog prihoda te bruto i neto dobiti.

Istodobno se smanjuju produktivnost, ekonomičnost i rentabilnost poslovanja veterinarskih organizacija. Svoj dojam pouzdanih poslovnih partnera veterinarske organizacije štite zadovoljavajućom likvidnošću i solventnošću, a napose apsolutno i relativno niskim plaćama. Altmanov z-score upozorava na neizvjesnu budućnost tri petine veterinarskih organizacija.

Literatura

1. ŠARLIJA, NATAŠA (2011): Altman z-score. <http://oliver.efos.hr/nastavnici/nsarlija/projekti/Altman%20z-score2.php> (dostupno 9.8.2011.).
2. TADIĆ, M., VERA TADIĆ, D. CVITKOVIĆ, MARINA PAVLAK i VLASTA ANIĆ (2009): Recesija i veterinarstvo. Vet. stn. 40, 337-351.
3. TADIĆ, M., VERA TADIĆ, D. CVITKOVIĆ, MARINA PAVLAK i VLASTA ANIĆ (2010a): Recesija (depresija?) i veterinarska praksa. Vet. stn. 41, 9-18.
4. TADIĆ, M., D. CVITKOVIĆ, VERA TADIĆ, Z. HRASTNIK i VLASTA ANIĆ (2010b): Strukturne promjene u hrvatskom veterinarstvu (1990.-2010.). Vet. stn. 41, 285-296.

2 Razvidno je to po podacima o broju zaposlenih veterinaru u Ministarstvu poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvitka i po promjenama ustroja tog ministarstva te po udjelu sredstava u proračunu Republike Hrvatske tijekom 2010. godine namjenjenih veterinarstvu (šifra 1198) što su iznosili 0,28% državnog proračuna, odnosno 8,20% proračuna pripadnog ministarstva. Ta su sredstva bila samo 40,1% manja od ukupnog prihoda svih veterinarskih organizacija.

3 Godine 2010. u SAD-u je bilo zaposleno 95.430 veterinaru od kojih 49,6% u praksi s kućnim ljubimcima, 5,24% u praksi s farmским životinjama, 3,92% u praksi s konjima i 3,02% u federalnim i tijelima saveznih država. (AVMA, Market research statistics: <http://www.avma.org/reference/marketstats/ownership.asp#exotic> (dostupno 24.10.2011.))

Consequences of the recession in croatian veterinary medicine

Marko TADIĆ, PhD, DVM, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The objective of this study was to measure the impact of the economic recession on Croatian veterinary service. A total of 25 variables in the business efficiency of veterinary organizations in Croatia (56 larger and 64 smaller veterinary practices) were examined during two time periods, 2003–2007 and 2008–2010. The results indicate an acceleration and deepening of the recession which has all the characteristics of a depression. This is manifested mainly

through rapidly increasing unemployment, decreasing revenues and the consequent decline in gross and net profits. Meanwhile, productivity, return on investment, and return on equity were reduced. Veterinary organizations are still perceived as reliable business partners, mainly due to sufficient liquidity and solvency, maintained through low absolute and relative wages. However, the Altman z-score warns of an unstable future for three-fifths of veterinary organizations.

HRVATSKA I SLAVONIJA

U Čepinu kraj Osijeka inficirao je bjesnoćom pas, koji je čuvao goveda na stotine goveda. Do danas je uginulo do 40 komada stoke. Bolest je počela početkom mjeseca, ali nitko nije znao da se radi o bjesnoći sve dok to nije pred 3 dana ustanovila komisija zagrebačkog veterinarskog fakulteta. U komisiji bili su profesori dr. MARTINČIĆ, dr. RAJČEVIĆ, dr. JEŽIĆ, dr. OKLJEŠA i dr. KODRNJA. Konstatovano je, da je broj zaraženih goveda neizvjestan. Vlasti su odredile postinfekciono cijepljenje svih goveda u Čepinu. Strogo je zabranjena upotreba mesa. Sva sumnjiva goveda ubijena su. A isto tako potučeni su svi psi u Čepinu i okolici.

„Seljačke novosti“ (Zagreb), 26, 10, 1937 (god. 13) (24. lipnja 1937.).



SAMO NEKOLIKO KAPI
Obnavlja oštećenu kožu vaših ljubimaca

ALLERDERM® Spot-on.

**Jednostavna primjena ciljane terapije za oporavak
oštećene kože.**

ALLERDERM SPOT-ON
za male pse i mačke - do 10 kg
6 pipeta po 2 ml - 92,40 kn.

ALLERDERM SPOT-ON
za srednje i velike pse - preko 10 kg
6 pipeta po 4 ml - 115,50 kn.

Sponzor 5th European College Days 20th December 2011
Prof. Doug DeBoer: Canine Atopic Dermatitis: Clinical signs and Diagnostic Approach
Prof. Thierry Olivry: Treatment of Atopic Dermatitis in Dogs: New Practice Guidelines
Pogledajte snimke predavanja na: www.vet.unizg.hr

U svim boljim veleprodajama

Stanični odgovor organizma na kiruršku traumu

O. Smolec, Iris Karaselimović, M. Kreszinger, Nika Brkljača-Bottegaro, R. Zobel i J. Kos



Uvod

Kirurška trauma uzrok je promjena u hemodinamskom, metaboličkom i imunom odgovoru u pacijenta u postoperativnom periodu. Prvotni protuupalni imunski odgovor, odnosno sindrom sistemskog protuupalnog odgovora (SIRS) posredovan je ponajprije stanicama urođenog imunskog sustava. Nakon prvotnog odgovora, slijedi kompenzatorni protuupalni ili imunosupresivni odgovor koji je primarno posredovan stanicama stečenog imunskog sustava te predisponira pojavu septičkih komplikacija u pacijenta. Kod rizičnijih pacijenata može doći do sindroma multiple disfunkcije organa (MODS) ili čak smrti (Bone, 1996.). Sepsa, SIRS i MODS daju značajan doprinos smrtnosti u jedinicama intenzivne skrbi. Liječenje MODS-a uvelike se svodi na potpurnu terapiju što daje zaključiti da će puno bolje rezultate dati terapija temeljena na modeliranju SIRSA-a, odnosno blokiranju sindroma kompenzatornog protuupalnog odgovora. Dokle god je obrambeni sustav ovisan o odgovarajućem balansu citokina te staničnoj interakciji makrofaga s T-limfocitima, kirurškom traumom inducirana imunska disfunkcija rezultirat će poremetnjom ovoga homeostatskog mehanizma. Bolje

razumijevanje mehanizama odgovornih za postoperativnu imunosnu disfunkciju dovest će do daljnjeg razvoja preventivnih i terapijskih strategija kako bi se usavršila dobrobit kirurških pacijenata u budućnosti. Ovakav pristup uključuje akutnu fazu odgovora, protuupalni odgovor, kao i odgovor na metabolički stres prilikom većih kirurških zahvata. On također opisuje i imunomodulacijsku strategiju koja bi mogla imati svrsishodnu primjenu u postoperativnom periodu.

Citokinima aktivirana kaskada u odgovoru na kiruršku traumu uključuje kompleksnu molekularno-biokemijsku aktivnost u ozljeđenom organizmu. Dok su elementi imunskog sustava nakon većeg kirurškog zahvata prekomjerno stimulirani, druge su funkcije kao što je stanična imunost inhibirane. Citokini su imunosne signalne i komunikacijske molekule koje usmjeravaju upalni odgovor na mjestu ozljede i infekcije, a neophodni su u procesu zacjeljivanja rana. Pretjerana proizvodnja citokina na primarnom mjestu ozljede može se manifestirati kao sustavna hemodinamska nestabilnost ili metabolički poremećaj. Protuupalne citokine u operativnom i ranom

Dr. sc. Ozren SMOLEC, dr. med. vet., asistent-znanstveni novak, Iris KARASELIMOVIĆ, studentica 6. godine, dr. sc. Mario KRESZINGER, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Nika BRKLJAČA BOTTEGARO, dr. med. vet., viša asistentica - znanstvena novakinja, dr. sc. Josip KOS, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; Robert ZOBEL, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta Stružec

postoperativnom periodu izlučuju makrofagi i monociti na primarnom mjestu ozljede kao dio akutne faze odgovora (Baumann i Gauldie, 1994.). Ovi citokini uključuju čimbenik nekrotiziranja tumora (TNF) i interleukin 1 (IL-1) koji su prije svega odgovorni za manifestacije u akutnoj fazi odgovora, kao što su tahikardija i groznica. Nadalje TNF- α i IL-1 stimuliraju proizvodnju te oslobađanje drugih citokina kao što je IL-6 (Baigrie i sur., 1992., Desborough, 2000.).

Citokini su posrednici u izravnom upalnom odgovoru na mjestu infekcije i ozljede te su bitni promotori pravilnog zacjeljivanja rana. Međutim, pretjerana proizvodnja protuupalnih citokina na lokalnom mjestu ozljede može očitovati sistemsku i metaboličku nestabilnost u vidu septičnog šoka ili metaboličkih poremećaja mišićja. Nakon ozbiljnih ozljeda, odnosno infekcija pretjerano izlučivanje protuupalnih citokina može uzrokovati zatajenje organa, a kasnije i smrt. Međutim, pretjeranim stvaranjem protuupalnih citokina stvara se rizik od pojave imunosupresivnog stanja u pacijenta (Guirao i Lowry, 1996.).

Mikrocirkulacijska disfunkcija

Mikrocirkulacijski poremećaji česti su u pacijenata koji su imali hipoperfuziju zbog osrednjeg ili većeg gubitka krvi tijekom operacije. Prvi odgovor na teške gubitke krvi posredovan je simpatičkim živčanim sustavom, a rezultat tog posredovanja je vazokonstrikcija arteriola i venula. To stanje rezultira smanjenim protokom kapilarne krvi te povećanjem hidrostatskog tlaka. Lokalni mikrocirkulacijski odgovor karakteriziran je izraženom akumulacijom leukocita te njihovom adherencijom za endotel krvnih žila. Ovo je povezano s povećanjem mikrovaskularne permeabilnosti, što se odražava temeljnim poremećajem endotelnog integriteta, a može dovesti i

do MODS-a (Yamauchi i sur., 1996.). Ovaj kirurški induciran upalni odgovor može se dodatno pojačati manipulacijom tkiva prilikom izvođenja kirurškog zahvata. Pokusi su na životinjama pokazali da mezenterijalna ekskorijacija te inicijalna laparoskopija uzrokuju povećanu akumulaciju leukocita (Fielbeg i sur., 1991.).

Mehanizmima odgovornima za mikrovaskularne upale uzrokovane kirurškim traumama smatralo se otpuštanje endogenih TNF- α , no *in vivo* analize pokazale su da i odgovor leukocita i ozljede endotela mogu biti oslabljeni pod utjecajem monoklonskih protutijela koja su usmjerena protiv ovih protuupalnih citokina. Nekoliko studija pokazalo je upletenost adhezijskih molekula u upalne procese, a to su: selektini, leukocitni 2-integrin CD11b/CD18, i endotelna intracelularna adhezijska molekula 1. Ove molekule sudjeluju i u imunosnom odgovoru na traumatu. Pokazalo se da se prilikom većih operacija podiže serumska razina P-selektina, E-selektina, intracelularne adhezijske molekule 1 i vaskularne stanične adhezijske molekule 121-23, kao i povećana količina leukocitnih CD11a i CD11b diferencijacijskih molekula.

Tijekom početne faze odvija se adhezija selektina na leukocite (L-selektin), endotelne stanice (E-selektin) i trombocite (P-selektin) kako bi stvorili tzv. efekt „valjanja“ leukocita. Nakon kirurške ozljede uočena je pojačana ekspresija leukocitnih integrina kao što su: CD11a/CD18, CD11c/CD18 (Hogevold i sur., 1996., Menger i Vollmar, 1996., Shijo i sur., 1998.). U kombinaciji se s kapilarnom propusnosti uzrokovane protuupalnim citokinima povećava proizvodnja dušikovog monoksida (Baterman i sur., 2003.). Takav, promijenjeni endotel uzrokuje tešku vaskularnu disfunkciju te oštećenje stanica i tkiva koja nastaje zbog teške hipoksije te nakupljanja metabolita.

Metabolički odgovor na stres

Stres, strah i bol kod kirurških bolesnika koji su pretrpjeli opsežne kirurške zahvate često uzrokuju metaboličke promjene koje na njega imaju štetno djelovanje (Woolf, 1992.). Opsežni kirurški zahvati rezultiraju smanjenjem metabolizma 24 sata nakon samog zahvata. Nakon smanjenja metabolizma uslijedit će anabolička faza u trajanju od 2 tjedna te konačna reparativna faza koju karakterizira katabolički metabolizam. Tijekom spomenute anaboličke faze javlja se povišena razina aminokiselina koje su potrebne za sintezu proteina akutne faze u jetri. Hipotalamusom regulirano otpuštanje hormona izlučivanja kortikotropina uzrokuje kortikotropnu sekreciju koja u konačnici rezultira povišenom koncentracijom steroida u serumu (Singer i sur., 2004.).

Povećana proizvodnja glukokortikoida rezultira inhibicijom sinteze proteina, povećanom mišićnom degradacijom proteina te mobilizaciju masti procesom lipolize. Osim toga, povećana serumska razina steroida smanjuje mononuklearnu upalnu reakciju te potiskuje proizvodnju protutijela.

Protuupalni efekti glukokortikoida uzrokuju smanjenje transkripcije TNF- α i IL-1, indukciju ciklooksigenaze 2 generacije te adheziju molekula (Hill i Hill, 1998., Wisnik i sur., 1998.). Citokinima posredovan upalni odgovor je bez ikakve sumnje složen proces. Naime, upalni citokini neizostavan su čimbenik u cijeljenju rana kao i obnavljanja homeostaze, njihova ne rijetko pretjerana aktivnost može uzrokovati ozljedu ili imunosupresivna stanja pacijenta. Središnji dio funkcijske biologije citokina zauzima odgovor imunosti stanica na kiruršku ozljedu ili infekciju. Jasno je da su imunociti izvor citokina, a oni imaju važnu autokrinu kao i sustavnu aktivnost. Sposobnost promjene funkcije imunocita ekstracelularnim hormonskim utjecajem

ili manipulacijom intracelularnog signalnog mehanizma potencijalna je strategija za regulaciju odgovora upalnih citokina tijekom ozljede.

Sažetak

Znanstvene i kliničke studije pokazale su da kirurška trauma značajno utječe na imunološki sustav uzrokujući poremetnje istog koje pacijenta čine podložnim različitim patološkim stanjima. U tom smislu utvrđeno je da otpuštanje upalnih citokina koje je nastupilo kao posljedica opsežne traume tkiva može dovesti do sindroma sistemskog upalnog odgovora i sindroma multiple disfunkcije organa te konačno smrti pacijenta.

Literatura

1. BAIGRIE, R. J., P. M. LAMONT, D. KWIATKOWSKI, M. J. DALLMAN and P. J. MORRIS (1992): Systemic cytokine response after major surgery. *Br. J. Surg.* 79, 757-760.
2. BATERMAN, R. M., M. D. SHARPE and C. G. ELLIS (2003): Bench-to-bedside review: microvascular dysfunction in sepsis: hemodynamics, oxygen transport, and nitric oxide. *Crit. Care.* 7, 359-373.
3. BAUMANN, H. and J. GAULDIE (1994): The acute phase response. *Immunol. Today* 15, 74-80.
4. BONE, R. C. (1996): Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann. Intern. Med.* 125, 680-687.
5. DESBOROUGH, J. P. (2000): The stress response to trauma and surgery. *Br. J. Anaesth.* 85, 109-117.
6. FIELBEG, E., K. LEY and K. E. ARFORS (1991): Rapid leukocyte accumulation by "spontaneous" rolling and adhesion in the exteriorized rabbit mesentery. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 10, 127-144.
7. GUIRAO, X. and S. F. LOWRY (1996): Biologic control of injury and inflammation: Much more than too little or too late. *World J. Surg.* 20, 437-446.
8. HILL, A. G. and G. L. HILL (1998): Metabolic response to severe injury. *Br. J. Surg.* 85, 884-890.
9. HOGEVOLD, H. E., T. LYBERG, H. KAHLER and O. REIKERAS (1996): Expression of beta-2-integrins and L-selectin by leukocytes and changes in acute phase reactants in total hip replacement surgery. *Eur. Surg. Res.* 28, 190-200.
10. MENDER, M. D. and B. VOLLMAR (1996): Adhesion molecules as determinants of disease: from molecular biology to surgical research. *Br. J. Surg.* 83, 588-601.

11. SHIJO, H., K. IWABUCHI, S. HOSODA, H. WANTANABE, I. NAGAOKA and N. SAKAKIBARA (1998): Evaluation of neutrophil functions after experimental abdominal surgical trauma. *Inflamm.* 47, 67-74.
12. SINGER, M. V. DE SANTIS, D. VITALE and W. JEFFCOATE (2004): Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. *Lancet* 364, 545-548.
13. WISSINK, S., E. C. VAN HEERDE, B. VAN DER BURG, P. T. VAN DER SAAG (1998): A dual mechanism mediates repression of NF- κ B activity by glucocorticoids. *Mol. Endocrinol.* 12, 355-363.
14. WOOLF, P. D. (1992): Hormonal response to trauma. *Crit. Care. Med.* 20, 216-226.
15. YAMAUCHI, J., B. VOLLMAR, B. WOLF and M. D. MENDER (1999): Role of TNF-alpha in local surgical trauma-induced microvascular dysfunction. *Dig. Surg.* 16, 400-406.

Cellular response to surgical trauma

Ozren SMOLEC, DVM, PhD, Junior Researcher, Iris KARASELIMOVIĆ, 6th year, student, Mario KRESZINGER, DVM, PhD, Associate Professor, Nika BRKLJAČA BOTTEGARO, DVM, PhD, Senior Assistant - Junior Researcher, Josip KOS, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Robert ZOBEL, DVM, Veterinary Practice Stružec

Experimental and clinical studies have shown that surgical trauma profoundly affects the immune system, including both the innate and adaptive immune responses. Major surgical trauma promotes immunological dysfunction that predisposes the patient to significant morbidity. Current evidence indicates that the early systemic inflammatory response syndrome observed after major

surgery is characterized by proinflammatory cytokine release, microcirculatory disturbance, and cell-mediated immune dysfunction, followed by a compensatory anti-inflammatory response syndrome, which predisposes the patient to opportunistic infection, multiple organ dysfunction syndrome and death.



FIZIOVET
Zvonimirova 72, Zagreb, 01 2301 021, 098 1616 477
info@fiziovet.hr
ekskluzivni zastupnik i distributer za

VETERINARY INSTRUMENTATION

Opremanje veterinarskih ambulanti

Kompletna oprema i instrumentarij za:

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

Monitoring
Dijagnostička oprema

www.vetinst.com

NOVO !!! Matrx™ aparati za inhalacijsku anesteziju



dizajnirani za jednostavnu i sigurnu anesteziju kod malih životinja



Ektopična gravidnost u mačke

prikaz slučaja

Stella Breka i Ivan Kvakan



Uvod

Ektopična ili izvanmaternična gravidnost, relativno rijetko se javlja u domaćih životinja (Corpa, 2006., Dziecioł i sur., 2009.) i predstavlja patološko stanje kada se plod nalazi izvan maternice. Kod ljudi predstavlja jedan od najčešćih uzroka smrtnosti rodilje u prvom tromjesjeću gravidnosti (De Cecco i sur., 1984.). Kod životinja je najveći broj slučajeva zabilježen kod glodavaca (Segura Gil i sur., 2004.) od 1,6% do 7,8%, dok je izvanmaternična gravidnost kod svinja zabilježena u 0,05% slučajeva (Hong i Armstrong, 1978.). Uzrok i mehanizam nastanka izvanmaternične gravidnosti nisu još uvijek do kraja razjašnjeni (De Cecco i sur., 1984.). Razlikujemo dva osnovna tipa izvanmaternične gravidnosti, abdominalni i jajovodni. Abdominalna izvanmaternična gravidnost može biti primarna i sekundarna. Kod primarnog oblika jajna stanica zbog antiperistaltike kontrakcija jajovoda, kao rezultat suženja jajovoda ili nepravilnog usmjeravanja terpetiljki jajovoda, ne može doći u rog maternice već ispadne van i bude slobodna u trbušnoj šupljini gdje je onda oplodena (Corpa, 2006.) te se prihvaća za mezenterij ili crijevne organe gdje se dalje razvija. Sekundarni oblik izvanmaternične gravidnosti može nastati kao posljedica rupture gravidne maternice i naknadnog izlaska oplodene jajne stanice ili već razvijenog ploda u trbušnu šupljinu (Johnson, 1986.). Mogući uzrok rupture

maternice je trauma ili unutarnji pritisak (Owensby i sur., 2001.). Unatoč činjenici da je izvanmaternična gravidnost evidentirana u mnogih životinjskih vrsta, njena relativno rijetka pojavnost (Bosch i Barker, 1980., Botcherby, 1980., Gosden i Russell, 1981., Mitchell, 1989.) te malen broj evidentiranih slučajeva nisu potakli razvoj specifične metode koja bi se mogla koristiti u svrhu dijagnostike. No, ne može se isključiti da realna pojavnost ove vrste patologije nije veća obzirom da se izvanmaternična gravidnost uglavnom dijagnosticira tijekom laparotomije ili *post mortem* obdukcije životinja. Većina mumificiranih fetusa bude mikrobiološki sterilna i slučajno otkrivena kod drugih operacija u abdomenu (Johnston i sur., 2001.). Kod ove mačke postoji mogućnost da je došlo do traume za vrijeme gravidnosti, no kako nije u cjelosti praćena gravidnost niti sam porođaj životinje, nije moguće sa sigurnošću ustanoviti o kojem obliku abdominalne izvanmaternične gravidnosti se radi.

Materijali i metode

Ženska mačka starosne dobi pet godina, domaće pasmine, crnobijele kratke dlake, imenom „Nina“, dovedena je u Veterinarsku ambulantu privatne prakse za kućne ljubimce Mr. Kvakan d.o.o. u Čakovcu na standardni zahvat ovariotomije. Vlasnica je izjavila kako je mačka prije 50 dana imala mačice (dva mačića) te da je unatrag mjesec dana

Dr. sc. Stella BREKA, dr. med. vet., Veterinarska bolnica Toplica, Center za zdravljenje živali, Topolšica, Slovenija; mr. sc. Ivan KVAKAN, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta privatne prakse za kućne ljubimce „Mr. Kvakan“ d.o.o. Čakovec

imala problema s opstipacijom i liječena je u drugoj ambulanti (nisu predloženi nikakvi dokazi koji bi poduprli ovu tvrdnju), ali da je mačka sada zdrava, ima normalnu stolicu, normalno se ponaša, ima dobar apetit.

Tijekom kliničkog pregleda, životinja je afebrilna, vidljive spojnice blijedocrvene boje, no uočen je povećan abdomen te je zbog sumnje na gravidnost napravljena ultrazvučna pretraga abdomena gdje je uočena sjena kralježnice ploda, ali nisu uočene plodne vode, niti su bili zamjetni otkucaji srca. Nakon toga je napravljena i rendgenska pretraga abdomena gdje je na temelju potpuno razvijenih koštanih sustava plodova u maksimalno flektiranom položaju postavljena sumnja na mumificirane plodove u maternici.

Životinji je postavljena intravenozna kanila te je podvrgnuta dijagnostičkoj laparotomiji. Kako bi se održala perfuzija tkiva i spriječila eventualna hipotenzija životinja je intravenozno dobivala otopinu Ringer laktata u dozi od 10 mL/kg/h (Fossum, 2009.). Za sedaciju životinje koristili smo kombinaciju pripravaka medetomidina-hidroklorida (Domitor®) u dozi od 40 µg/kg i butorphanol tartrata (Torbugesic®) u dozi od 0,2 mg/kg prema preporuci proizvođača te je naknadno produljenje anestezije provedeno intravenoznim dodavanjem ketamina (Narketan®) u dozi od 2,5 mg/

kg. Životinja je obrijana i očišćena, a operativno područje je dezinficirano 70% alkoholom. Prije operacije apliciran je intramuskularno antibiotik gentamicin sulfat u dozi od 8 mg/kg (Gentamicin®). Rez je započet od pupka kaudalno do zdjelice. Tupo je odpreparirano potkožje i masno tkivo te je napravljen rez u području *lineae albe* u dužini od cca 8 cm. Nakon otvaranja trbušne šupljine zamijećena su dva mumificirana potpuno razvijena ploda i treći nerazvijeni, vezani za mezenterij.

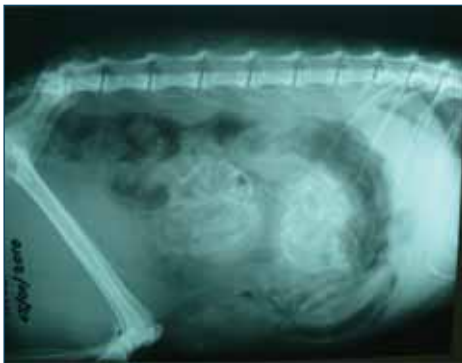
Oba su roga maternice u potpunosti bila involuirana i intaktna, bez naznaka rupture.

Napravljen je zahvat ovariotomije, gdje smo za podvez *lig. suspensorium ovarii* i *lig. proprium ovarii* koristili resorptivni konac Ethicon Vicryl 3-0 USP, a mumificirani su plodovi izvađeni nakon podvezivanja mezenterijskih krvnih žila preko kojih su se prehranjivali.

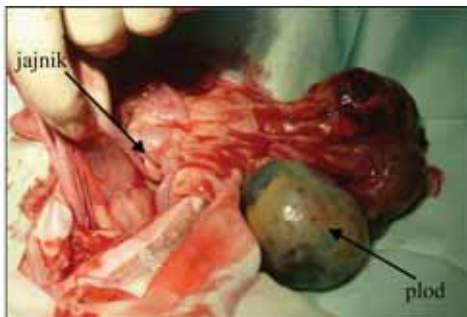
Korišten je isti konac. Za zatvaranje trbušnog zida primijenjen je produžni



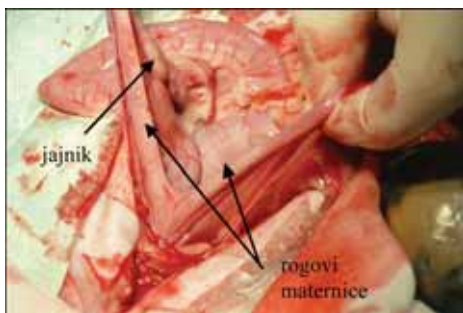
Slika 2. Mumificirani plodovi



Slika 1. Profilni rendgenski prikaz abdomena mačke s dva vidljiva mumificirana ploda



Slika 3. Mumificirani plodovi vezani na mezenterij



Slika 4. Jajnici i intaktni rogovi maternice



Slika 5. Pregled mumificiranog ploda



Slika 6. Potpuno razvijen plod u plodnoj ovojnici bez plodnih voda



Slika 7. Ovojnica zaostalog nerazvijenog ploda



Slika 8. Pojedinačni šav na koži



Slika 9. Operirana mačka sa svojim mačićem starim 50 dana

šav i korišten resorptivni konac Ethicon Vicryl 2-0 USP. Potkožje je zašiveno produžnim šavom koristeći resorptivni Ethicon Vicryl 3-0. Koža je zašivena pojedinačnim šavom sa svilom Ethicon Silk 3-0 USP.

Životinja je stavljena postoperativno na kombinaciju antibiotika amoksiciklina i klavulonske kiseline u dozi od 12,5 mg/kg dva puta na dan peroralno (Synulox®) kroz 8 dana.

Rasprava

Unatoč činjenici da je ektopična gravidnost dijagnosticirana kod više vrsta životinja, svedeno ne predstavlja učestali nalaz. Ektopična izvanmaternična

gravidnost već je opisana u mačaka (Carrig i sur., 1972., De-Haan i sur., 1991.). Prisutnost plodova izvan maternice opisao je još davne 1947. godine Price. Unatrag 65 godina opisano je više od 20 sličnih slučajeva u literaturi (Johnston i sur., 2001.). Osnovna su dva oblika izvanmaternične gravidnosti: primarna i sekundarna. Primarni oblik je onaj kada nema znakova rupture maternice, a sekundarni oblik ukoliko je moguće dokazati rupturu maternice. Uzrok možemo povezati s ozljedom ili traumom tijekom gravidnosti ili abnormalnom promjenom položaja oplodene jajne stanice (Colby, 1986.). Kao moguću uzrok potrebno je navesti još i ishemiju maternice uzrokovanu dugotrajnim i teškim partusom zbog prevelikog ploda. Fetus može biti inkapsuliran u tkivo maternice, obavijen u adhezije omentuma ili ogoljele kosti fetusa mogu se naći slobodne u peritonealnoj šupljini ili kako strše iz stare rastrgotine na maternici (Allen, 1964.). Tretman je kirurško uklanjanje fetusa kod celiotomije. Nepostojanje jasne kliničke slike bolesti dodatno otežava dijagnostiku ovog oblika patološke promjene gravidnosti.

Ovaj slučaj može predstavljati primarnu ili sekundarnu izvanmaterničnu gravidnost, iako se najvjerojatnije radi o sekundarnoj, gdje je došlo do rupture roga maternice tijekom gravidnosti i izlaska već razvijenih plodova u abdominalnu šupljinu. Ruptura maternice javlja se samo kod gravidnih životinja i često u poodmakloj gravidnosti. Točan uzrok (trauma i/ili težak porođaj) nije moguće odrediti pošto životinja nije bila praćena niti pregledana tijekom gravidnosti. Kako je od partusa do prvog pregleda životinje protekao popriličan vremenski period (50 dana), zbog izrazite sposobnosti cijeljenja maternice ne možemo sa sigurnošću ustanoviti je li maternica bila rupturirana ili nije. Pretpostavljamo da je do mumifikacije plodova došlo zbog prekinute opskrbe krvlju. Ovo je i poseban slučaj tim više jer je sačuvan život majke mačke koja je operativni zahvat izvršno podnijela.

Sažetak

Izvanmaternična gravidnost u mačaka, iako već opisivana u literaturi, nije tako učestali patološki nalaz. Razlog je tome taj što nisu prisutni jasno izraženi klinički znakovi te bolesti. Petogodišnja mačka dovedena je na ovariotomiju. Zadnji porođaj imala je prije 50 dana. Redovitim pregledom prije zahvata uočen je povećan obujam abdomena. Napravljene su ultrazvučna i rendgenska pretraga. Na temelju nalaza rendgenske pretrage abdomena, postavljena je sumnja na mumificirane plodove te je životinja podvrgnuta dijagnostičkoj laparotomiji. Tijekom laparotomije nađena su tri mumificirana ploda slobodna u abdominalnoj šupljini. Pošto je životinja prvi put pregledana tek 50. dan nakon porođaja, a nisu zamijećene naznake rupture maternice, ne može se sa sigurnošću tvrditi radi li se o primarnoj ili sekundarnoj abdominalnoj gravidnosti. Najvjerojatnije je došlo do rupture maternice za vrijeme gravidnosti ili kasnije kao posljedica teškog porođaja.

Literatura

1. ALLEN, G. S. (1964): Rupture of the feline uterus. *Vet. Rec.* 76, 355.
2. BOSU, W. T. and I. K. BARKER (1980): An abdominal mummified fetus in a Macaca assamensis. *J. Med. Primat.* 9, 71–75.
3. BOTCHERBY, W. C. (1980): Ectopic pregnancy in a cow. *Vet. Rec.* 106, 565–566.
4. CARRIG, C. B., I. M. GOURLEY and A. L. PHILHRICK (1972): Primary abdominal pregnancy in a cat subsent to ovariectomy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 160, 308–310.
5. COLBY, E. D. (1986): Pre- and Postnatal care of Female Cats. In: T. J. BURKE: *Small Animal Reproduction And Fertility*. Philadelphia, Lea&Febiger, 317–327.
6. CORPA, J. M. (2006): Ectopic pregnancy in animals and humans. *Reproduction* 131, 631–640.
7. DE CECCO, L., G. L. CAPITANIO, S. CROCE, M. FORCUCCI, D. GERBALDO and R. RISSONE (1984): Biology of nidation and ectopic implantation. *Acta Europea Fertilitas* 15, 347–355.
8. DE-HAAN, J. J., G. W. ELLISON and N. ACKERMAN (1991): What is your diagnosis? *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199, 1199–1200.
9. DZIĘCIOŁ, M., R. KOZDROWSKI and J. TWARDON (2009): Selected aspects of pathology of pregnancy in animals – extrauterine pregnancy. *Наукoвий вісник. Наукова періодика України. (Research Newsletter. National University of bio-resources and Environmental Ukraine. Scientific Periodicals Ukraine)*, 136.
10. FOSSUM, T. W. (2009): *Small Animal surgery*. 3rd edition. Mosby Elsevier. 31.

11. GOSDEN, R. G. and J. A. RUSSELL (1981): Spontaneous abdominal implantation in the rat with development to full term. *Lab. Anim.* 15, 379-380.
12. HONG, C. C. and M. L. ARMSTRONG (1978): Ectopic pregnancy in 2 guinea-pigs. *Lab. Anim.* 12, 243-244.
13. JOHNSON, C. A. (1986): Disorders of pregnancy. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.* 16, 477-482.
14. JOHNSTON, S. D., M. V. R. KUSTRITZ and P. N. S. OLSON (2001): *Canine and Feline Theriogenology*. Saunders, Philadelphia. Pp. 424-425.
15. MITCHELL, K. W. (1989): Ectopic pregnancy in a ewe. *Vet. Rec.* 124, 498.
16. OWENSBY, T., K. JACKSON and B. SCHARF (2001): Failure to deliver in a rabbit with intra-abdominal masses. *Laboratory Animal*. 30, 23-25.
17. PRICE, W. (1947): Extrauterine fetus. *Vet. Med.* 42, 190.
18. SEGURA GIL, P., B. PALAU, J. MARTINEZ MARTINEZ, J. PORCEL ORTEGA and J. M. ARENAS CORPA (2004): Abdominal pregnancies in farm rabbits. *Theriogenology* 62, 642-651.

Ectopic gravidity in cats - a case study

Stella BREKA, DVM, PhD, Veterinary Hospital Toplica, Centar for Animal Health, Topolšica, Slovenia; Ivan KVAKAN, DVM, MSc, Mr. Kvakan Veterinary practice for pets d.o.o. Čakovec

Ectopic gravidity in cats, though previously described in the literature, is not a common pathological finding. The main reason for this is the lack of clearly expressed clinical signs of the disease. A five-year old cat was brought in for an ovariectomy. The most recent birth was 50 days earlier. A regular examination prior to the operation indicated an increased abdominal volume. Ultrasound and x-ray tests were conducted. Based on the x-ray findings, the examiners suspected the presence of mummified fetuses, and the animal was subjected

to diagnostic laparotomy. During the laparotomy, three mummified fetuses were found in the free abdominal cavity. Considering that the animal was examined for the first time 50 days after birthing, and no signs of uterine rupture were detected, it cannot be ascertained whether this is a case of primary or secondary abdominal gravidity. It is most likely that a rupture occurred in the uterus during the period of gravidity or later, as a consequence of a difficult birth.

RAZNE VIESTI

PODŽUPANIJSKI ŽIVINAR KAO PUTUJUĆI UČITELJ. Ne znamo, da li je to i drugdje bilo, nu za zagrebačku podžupaniju znamo, da je ovih dana u svakoj občini bio podžup. živinar da se uvjeri, da li su oni seljaci, koji se bave liječenjem živine po selih bar toliko sposobni u svom poslu, da jim se mogu najnuždniji te ruke poslovi dozvoliti, pa da jih uputi o nekih skori svakdanjih manipulacijah imenito o kastraciji živine. Ovo je zbilja korisna naredba, ali bi sada trebalo, da se dozvola za obavljanje tih poslova podijeli samo onim seljakom, o kojih se je živinar uvjerio, da su sposobni, a prpošnim nadriliečnikom, koji preziru zakone i naredbe, da se zakrču put. Bez spretnih seljačkih tako zvanih „marvinskih barbira“ dok nemamo posebnoga učevnoga zavoda za taj posao, ne možemo biti; ali valja, da se ti ljudem poda češće prilika, da se u posao upute te samo ono rade što bez opasnosti smiju i umiju raditi.

„Gospodarski list“ (Zagreb), 12. 96, 1879 (god. 27) (20. lipnja 1879.).



**Zaštita na
pravi način!**

FYPRYST®

fipronil

Otopina za nakapavanje na kožu

Zaštita od



Prije primjene pažljivo pročitajte uputu o VMP.

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

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



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

Zahtjevi FCI za službenu provjeru displazije kukova u psa



M.Šehić, B. Škrlin, Z. Vrbanc, H. Capak i Tatjana Šoban

Uvod

Displazija je kuka (*Dysplasia acetabuli*, *Displasia articuli coxofemoralis congenita*) razvojna anomalija kod koje osnovne promjene leže u acetabulumu (slabost kratkog ovalnog ligamenta - *ligamentum teres*, i potpornog vezivnog tkiva), a one su preduvjet za nastanak dislokacije glave femura u obliku subluksacije ili luksacije. Kasnije oboljenje može prijeći u kronični artritis. Psi oboljeli od displazije pokazuju bolnost, šepavost, smetnje u kretanju, poteškoće kod ustajanja, zanašanje u stražnjem dijelu i ograničene pasivne kretnje kukova. Nakon mirovanja šepavost je naglašenija.

Rendgenografska pretraga kukova je najbolja i do danas jedina egzaktna metoda dijagnosticiranja displazije kuka i njegovih sekundarnih kroničnih promjena. U literaturi se navode podatci da je 1935. godine prvi puta rendgenološki dijagnosticirana displazija kuka u psa (Schnelle, 1935., 1937.). Pedesetih godina prišlo se ozbiljnom razmatranju uzroka, patologije, kliničkih simptoma, dijagnostike, terapije i učestalosti bolesti. Svi dosadašnji rezultati istraživanja displazije kuka u psa došli su do jedinstvenog zaključka da je to prirođeno stanje kvantitativne prirode, koje se prema statističkim podacima nasljeđuje 25 do 60%, dok preostali postotak otpada

na razne druge vanjske činioce u razvoju i težini te bolesti. S obzirom na takav postotak prirođenosti pojava displazije kuka, programi suzbijanja osuđeni su na neuspjeh u slučajevima ako kinolozi, veterinari i uzgajivači smatraju da će taj problem riješiti u selekciji kroz dvije ili tri generacije.

Znanstvena komisija Mađunarodne kinološke federacije (FCI) je 1978. godine prvi puta donijela zajedničku shemu klasifikacije kriterija kod procjene displazije kuka i svrstala ju u pet skupina (A do E), a ista je potvrđena od radne skupine u Kopenhagenu 2006. godine. Komisija je utvrdila jedinstvenu terminologiju i razvrstavanje u kriterije po težinama displastičnih promjena kuka te je izradila jedinstveni obrazac na tri jezika sa svim podacima o psu, njegovom rodovniku i broju čipiranja ili tetoviranja, zatim datum i mjesto izvršene rendgenografije i rendgenološki nalaz stručnjaka. Osnova uzgojne selekcije vezana je za rendgenografsku procjenu kukova, koja se obavlja kod srednje velikih pasmina pasa u dobi od 12 mjeseci, a kod velikih pasmina s najmanje 18 mjeseci starosti. Naime, to je dob kad je završen rast i razvoj skeleta. Nije isključena mogućnost dijagnostike displazije kuka i u znatno ranijoj dobi psa.

Dr. sc. Mensur ŠEHIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor u mirovini; Branimir ŠKRILIN, dr. med. vet., stručni suradnik, Zoran VRBANAC, dr. med. vet., asistent, Hrvoje CAPAK, dr. vet. med., asistent, Veterinarski fakultet, Zagreb; mr. sc. Tatjana ŠOBAN, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta „Goldi“, Zagreb

Administracija, prepoznavanje i postupak

- a. Za većinu se pasa obavlja rendgenografija kukova u dobi od jedne godine, a za velike i najveće pasmine pasa s navršelih 18 mjeseci starosti.
- b. Pas je prepoznatljiv oznakom stalnog sustava mikročipa. Prihvatljivo je čitljivo tetoviranje u zemljama gdje je dopušten takav način identifikacije.
- c. Vlasnik mora pismeno potvrditi i naznačiti da je:
 1. kod psa obavljena rendgenografija i da je unešena u rodovnik;
 2. potvrda vlasnika da se na psu nisu obavili nikakvi kirurški zahvati koji bi poboljšali stanje na kukovima.
 3. Vlasnik daje dopuštenje da se rendgenogram drži u nacionalnom organizacijskom tijelu (klub pasa ili ustanova gdje je obavljena analiza i ocjena kukova) sve dok postoji legalna osnova te zabrane. Rezultati se mogu upotrijebiti za statističke ili znanstvene svrhe poštujući nacionalnu i internacionalnu povjerljivost i vrijeme propisane pohrane. FCI preporučuje centralnu pohranu rendgenograma ili potvrđenu kopiju (ili digitalnu sliku) za najmanje pet godina.
- a. Veterinar mora potvrditi pismeno i naznakom da je on/ona provjerio i potvrdio identifikaciju psa kao što je to sadržano u rodovniku.
- b. Za rendgenografski postupak potrebno je pse dovoljno sedirati ili anestetizirati kako bi se u vrijeme snimanja postigla relaksacija mišića. FCI preporučuje da se odredi težina psa, vrsta priprema (aktivne supstance) i doza.
- c. Za osnovnu identifikaciju na rendgenogram treba unijeti identifikacijski broj psa (mikročip ili broj tetoviranja), godinu rođenja, datum obavljene rendgenografije, podatke veterinara ili kliničke oznake na desnoj ili lijevoj strani slike. Ti podatci moraju se otisnuti da budu stalni, prije nego što se razvije film (svjetlosni otisak) i ne smiju se ukloniti prije analize rendgenograma.

- d. Tehničke kvalitete rendgenograma moraju biti takve da dopuštaju ispravnu procjenu kuka. Nedostaci rendgenografije se moraju ukloniti sve dok se ne postigne prava procjena stupnja displastičnih promjena.
- e. Ako se uporabi digitalna rendgenografija (preporuča se DICOM 3 format), potrebni su isti podatci identifikacije kao i kod konvencionalne rendgenografije (vidjeti f!).
- f. Standardna procjena obavlja se na osnovi najmanje jednog rendgenograma načinjenog u ventrodorzalnoj projekciji psa (Slika 1). Dodatni rendgenogram s abduciranim koljenima (Slika 2) upotrebljava se za optimalnu procjenu (vidjeti tekst u prilogu o rendgenografiji).
- g. Rendgenogram mora očitavati i ocjenjivati specijalist veterinar koji je dobio dozvolu od kinološkog saveza (national kennel club) i/ili od pasminskog kluba u kojem je pas registriran.

Žalbeni postupak

- a. Na nacionalnom nivou svakom članu FCI ili ugovorenom partneru mora se osigurati žalbeni postupak.
- b. Žalbu ispunjava vlasnik psa. Žalbu ne može razmatrati prvi ocjenjivač.
- c. Analiza se žalbe mora temeljiti na rendgenogramu na kojem je obavljena prva procjena kukova.
- d. Vlasnik može predložiti i zahtijevati od žalbene komisije da se obavi dodatno snimanje (uključujući i sliku 2).
- e. Rendgenogrami se moraju analizirati s istim značajem, osim u pasa s labavošću zglobova kod kojih je FCI procijenio stupanj temeljen na postavljenom prikazu visokog stupnja labavosti zglobova.
- f. Rješenje žalbenog postupka je konačno.

Internacionalna standardizacija

FCI preporučuje svim svojim članovima, ugovornim partnerima i

organizacijskom tijelu ocjenjivačkog programa da omoguće sudjelovanje njihovih članova ocjenjivačke komisije u službeni FCI program izjednačavanja kriterija procjene displazije kukova.

Rendgenografski postupci za procjenu displazije kuka

Kod duboko sediranog ili anestetiziranog psa nastaje potpuna relaksacija mišića. Nakon toga se pas stavlja u posebno izrađeno korito da se osigura ispravna ventrodorzalna projekcija. (Slika 1). Na lijevu ili desnu stranu stavlja se olovna oznaka strane. Središnja zraka usmjerava se prema kaudalnom kraju zdjelice koji se može palpirati. Otvor se blende podese tako da osigura potpuni prikaz zdjelice i patela.

Stražnje se noge drže pomoću olovnih gumenih rukavica u području relaksiranih tarzusa. Najprije se koljena adduciraju i

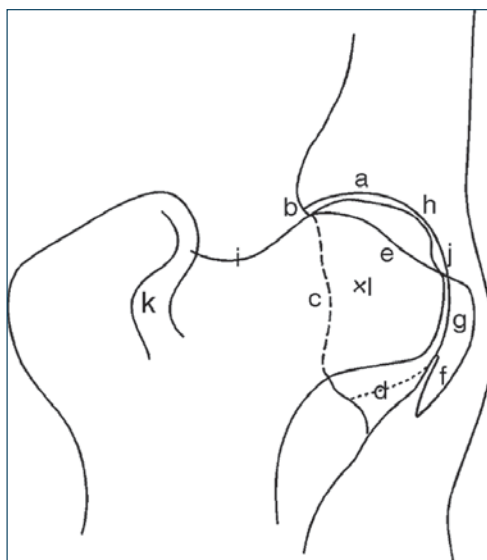
stražnje noge se zakreću prema unutra. Tada se ekstendiraju i povlače kaudalno i guraju dolje prema vrhu stola. Vrhovi se šapa rotiraju prema unutra i polažu tako da se osigura ispravan položaj femura.

Ispravan položaj psa kod snimanja vidi se na rendgenogramu. (Slika 1):

- Zdjelica je vidljiva u cijelosti;
- Oba ilijačna krila i obturatorni otvori u međusobnoj su usporedbi istih veličina, a sakroilijačni zglobovi pojavljuju se podjednaki;
- Patele se superponiraju sa srednjom linijom femura i projiciraju između fabela;
- Femuri su međusobno paralelni;
- Femuri su paralelni prema sagitalnoj projekciji kralježnice;
- Femuri su paralelni prema vrhu stola što ukazuje aproksimativni nivo položaja vrha velikog trohantera i centra glave femura (donekle ovisi o pasmini);



Slika 1. Ekstendirane stražnje noge u ventrodorzalnoj projekciji



Shematski prikaz koksofemoralnog zgloba:

a) kranijalni rub acetabuluma; b) kraniolateralni rub acetabuluma; c) dorzalni rub acetabuluma; d) kaudalni rub acetabuluma; e) ventralni rub acetabuluma; f) usjeklina acetabuluma; g) jama acetabuluma; h) glava femura; i) vrat femura; j) utlina glave femura; k) utlina velikog trohantera; l) centar glave femura



Slika 2. Abducirane stražnje noge (dodatna projekcija)

• Jasno vidljiva oznaka lijevo/desno.
Važno: Dorzalni rub acetabuluma mora biti jasno vidljiv kroz glavu femura;

Film se prije samog razvijanja mora označiti (vidi f!);

Na slici je potrebno prikazati cijelu zdjelicu i koljena koja uključuju fabele (izuzetak su orijaške pasmine pasa).

Femuri se abduciraju (Slika 2). U srednje velikih pasa (Retriver) tarzusi se odižu od stola za otprilike 30-40 cm. Središnja se zraka usmjerava preko koksálnih zglobova koji su smješteni u ravnini *m. pectineus*, koji se može lako palpirati kao jaki vretenasti mišić koji se prostire od dna zdjelice prema femuru. Ispravan položaj psa kod snimanja vidi se na rendgenogramu:

- Zdjelica se simetrično projicira (iste veličine obturatornih otvora i ilijačnih krila);
- Na filmu treba prikazati i posljednji slabinski kralježak;
- Vidljivost zdjelice u cijelosti;
- Veliki se trohanter projicira kaudalno od vrata femura;
- Sjecište kranijalnog ruba glava-vrat treba ležati izvan acetabuluma.

Potvrda za displaziju kuka

Na sastanku održanom u studenom 2001. godine, glavni stručni odbor FCI odlučio je sljedeće: Potvrda za displaziju kuka i lakta koja je prihvaćena od strane glavne skupštine u Meksiku (lipanj, 1999.)

mora biti zajednički prepoznatljiva od svih članova FCI i ugovorenih partnera.

Ventrodorzalna projekcija zdravih kukova psa s ekstenziranom i neznatno medijalno rotiranom stražnjim ekstremitetima (A-stupanj). Dobro oblikovane glave femura nalaze se u urednim artikulacijama s dovoljno dubokim i fino svedenim acetabulumima.

Dobro oblikovane i oštro konturirane glave femura nalaze se u laganim inkongruencijama s dovoljno dubokim i kranijalno fino svedenim acetabulumima (B-stupanj).

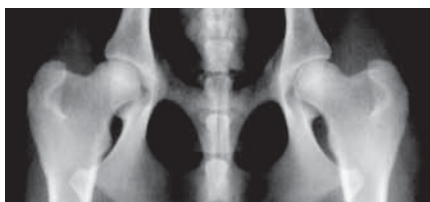
Obostrano su lagano subluksurirane dobro oblikovane glave femura (C-stupanj). Na vratovima se naziru početni znakovi stvaranja sklerotičnih prstenova. Kranijalni rubovi acetabuluma su neznatno strmiji i subhondralno sklerotični.

Obostrano dobro oblikovane glave femura jače su subluksurirane (D-stupanj). Nešto strmiji kranijalni rubovi acetabuluma mjestimično su slabo naglašenih obrisa.

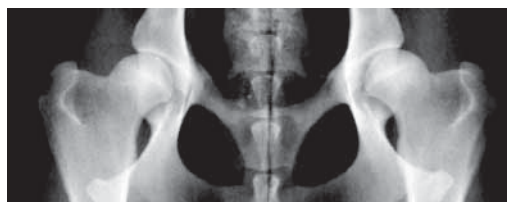
Nešto spljoštene glave femura obostrano su jače subluksurirane (E-stupanj). Strmi kranijalni rubovi acetabuluma su sklerotični. Oko vratova femura su sklerotični prstenovi (Morganove linije).

Displazija u svojoj pojavi može biti obostrana ili jednostrana. No, znatno su češće pojave obostrane displazije kukova i u njihovoj usporedbi promjene su obično slične.

Kod displazije kukova, kao i kod ostalih bolesti zglobova, u najnovijim istraživanjima postoje podatci o drugim pristupima rendgenografiji kukovlja, kako bi se otkrili rani znakovi displastičnih i sekundarnih artrotičnih promjena. Pokušaji su da se pas snima u položaju prirodnog opterećenja nogu kako bi se izbjegao pasivni položaj zdjelice pri rendgenografiji. Osim izmjena položaja psa pri rendgenografiji kukova, danas se primjenjuju suvremene metode analize zdravih i oboljelih kukova primjenom kompjutorizirane tomografije (CT), magnetske rezonancije (MIR) i ultrasonografije. Ti slikovni postupci mogu pružiti znatno veće mogućnosti u finijim analizama, pogotovo kod otkrivanja ranih patomorfoloških zbivanja u koksálnom zglobovima.



A = Nema znakova displazije



B = Skoro normalni koksofemoralni zglobovi



C = Lagani stupanj displazije



D = Osrednji stupanj displazije



E = Teški oblik displazije

Sažetak

Displazija kuka u psa je razvojna malformacija koksofemoralnog zgloba koja rezultira sekundarnim oboljenjem zgloba (*arthrosis, arthritis*) i odgovarajućim kliničkim znakovima, kao što su bol i šepavosti. Glavni uzrok displazije je labavost veze u koksofemoralnom zglobu koju karakterizira subluksacija ili luksacija glave femura u odnosu na acetabulum. Etiologija displazije kuka nije potpuno razjašnjena. Slabost kratkog ovalnog ligamenta - *ligamentum teres*, i potpornog vezivnog tkiva zgloba igraju glavnu ulogu u razvoju te anomalije. To je prirođeno stanje kvantitativne prirode, koje se prema statističkim podacima nasljeđuje 25% do 60%. Mnogi su uzgojni klubovi usvrđili programe kontrole displazije kuka u različitim pasmina pasa.

Literatura

1. FCI requirements for official hip dysplasia screening. Based on notes of the FCI – workshop on Hip Dysplasia Copenhagen, DK, 18 March 2006.
2. SCHNELLE, G. B. (1935): Some new diseases in the dog. *Am. Kennel Gazette* 52, 25-26.
3. SCHNELLE, G. B. (1937): Congenital subluxation of the coxofemoral joint in a dog. *Univ. PA Bull* 65, 15-16.
4. ŠEHIĆ, M. (2000): Osteorotopatije u domaćih životinja, Veterinarski fakultet, Zagreb.
5. ŠEHIĆ, M. (2010): Displazija kuka u psa. *Moj pas, svibanj/lipanj*, 90-91.

FCI requirements for official canine hip dysplasia screening

Mensur ŠEHIĆ, PhD, DVM, Full Professor, Branimir ŠKRLIN, DVM, Expert Associate, Zoran VRBANAC, DVM, Assistant, Hrvoje CAPAK, DVM, Assistant, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Tatjana Šoban, DVM, Small Animal Practice "Goldi", Zagreb

Canine hip dysplasia (CHD) is a developmental malformation of the hip joints resulting in secondary joint disease (arthrosis, arthritis) and corresponding clinical symptoms such as pain and lameness. The major cause of CHD is an excessive laxity of the hip joint, characterized by subluxation of the femoral head out of the acetabulum.

The aetiology of CHD is not fully understood. Poor quality connective tissue of the joint capsule may play a crucial role. The disease is hereditary, and current data suggest a major gene theory. Heritability may be from 25% to 60% depending on the breed and population. Many breeding clubs have established a program to control CHD.

**Naslov udžbenika:**

Rasplođivanje kunića, hrčaka i zamorčića

Autori:

Marko SAMARDŽIJA i Dražen ĐURIČIĆ

Urednik:

Marko Samardžija

Izdavač:

Veterinarski fakultet Zagreb, Zagreb 2011.

- 128 str. : ilustr., 24 cm.

(Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu =

Manualia Universitatis studiorum

Zagrebiensis)

ISBN 978-953-6062-83-6

Cijena udžbenika iznosi 130 kn, a kupit se može u Centralnoj knjižnici Veterinarskog fakulteta u Zagrebu.

I sam sam kao autor nekolicine sveučilišnih udžbenika svjestan i vrlo dobro upoznat koliko je težak i zahtjevan zadatak napisati, stvoriti udžbenik koji je istovremeno lako čitljiv, vizualno dopadljiv i prije svega kvalitetan.

Ovim udžbenikom autori s posebnom umješnošću povezuju svoje dosadašnje zavidno stručno iskustvo kao i znanstveni i nastavni rad, dakle ono što ovom udžbeniku daje višu, usudio bih se reći posebnu dimenziju, a ujedno objedinjuju i sistematiziraju najnovije svjetske spoznaje te dostignuća iz područja rasplođivanja kunića, hrčaka i zamorčića. Kvaliteta samog udžbenika još više dobiva na značenju jer njegovo autorstvo potpisuje prof. Samardžija autor četiri sveučilišna udžbenika, ali i dr. Đuričić doktor veterinarske medicine u terenskoj praksi isto tako autor jednog sveučilišnog udžbenika. Dakle, sinergija znanstvenog, stručnog, nastavno-publicističkog i uredničkog iskustva ne nedostaje i u ovom slučaju pokazala se iznimno uspješnom kombinacijom.

Sam udžbenik je podijeljen u 3 glavna poglavlja: Rasplođivanje kunića, Rasplođivanje hrčaka i Rasplođivanje zamorčića. Čitavo je djelo napisano iznimno lijepim hrvatskim jezikom, a sva poglavlja su obrađena i prikazana jednostavno te su lako pregledna i razumljiva. Pošto je to udžbenik iz rasplođivanja kunića, hrčaka i zamorčića, vrsta pomalo zapostavljenih u nas u planu i programu predmeta Porodništvo i reprodukcija domaćih životinja, ali i općenito, smatram da će izazvati prilično veliku zainteresiranost ponajprije studenata Veterinarskoga fakulteta dodiplomskih i poslijediplomskih studija, ali ništa manje i uzgajivača spomenutih vrsta kao i vlasnika koji ih drže kao kućne ljubimce. Obiljem korisnih podataka zasigurno će biti i izvoriste znanja i informacija potrebnih doktorima veterinarske medicine koji svoju djelatnost obavljaju u ambulantama za male i egzotične životinje te u znanstvenim institucijama, srodnim strukama koje se bave držanjem i uzgojem kunića, hrčaka i zamorčića kako u komercijalne svrhe tako i u hobi-uzgajivača, jer je opisana materija vrlo zanimljiva i atraktivna, a isto tako teško je

na jednom mjestu naći sve što ona sadrži uzevši u obzir i stranu relevantnu literaturu.

Cjelokupna materija udžbenika ilustrirana je s preko 100 vrlo kvalitetnih vlastitih fotografija, koje zajedno s brojnim tabelama, algoritmima, grafikonima i obiljem vlastitih i stranih referenci te ističajem važnijih pojmova tj. definicija olakšavaju razumijevanje i snalaženje u opisanoj građi štiva.

U svakom slučaju udžbenik „Rasplođivanje kunića, hrčaka i zamorčića” ispunjava sve standarde suvremene medicinske publicistike. Upravo zbog vidljivog ogromnog truda autora obradi navedene tematike smatram da će čitanje i u prvom redu studiranje udžbenika predstavljati svima kojima je namijenjen zadovoljstvo u stjecanju novih spoznaja.

Ono što svakako nije zanemarivo, a ostavio sam za kraj jest sjajan vizualni dojam koji udžbenik pruža već na prvi pogled pruža. Iskrene čestitke svima koji

su pridonijeli završnom izgledu naslovnice, kao i sjajno odrađenom poslu urednika prof. Samardžije na ukupnom izgledu udžbenika čija je uloga u svemu tome bila od neprocjenjive važnosti.

Zaključujem da je rukopis udžbenika „Rasplođivanje kunića, hrčaka i zamorčića” vrijedan i vrlo značajan poduhvat autora, kako za njih same, ali još i više za veterinarsku struku u cjelini. Posebno impresionira činjenica da je, ovo naglašavam, prvi udžbenik od osnutka Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu na hrvatskom, ali i nekom od stranih jezika iz područja rasplođivanja kunića, hrčaka i zamorčića objedinjenih na jednom mjestu, što na žalost znači da ga nije bilo jako dugo, predugo.

Mogu samo oduševljeno čestitati autorima na znanju, trudu, volji i entuzijazmu kojim su ovaj posao sjajno odradili. Već sam istaknuo, jako smo dugo čekali ovaj udžbenik, no vrijedilo je čekati!

Tomislav DOBRANIĆ

GOSPODARSTVA I TRGOVINA

PERADARSKI ODSJEK HRV. SLAV. GOSPODARSKOG DRUŠTVA

Držano je u prošlom mjesecu predavanje u hrv. Primorju i to na Trsatu, Hreljinu, Bakarcu, Kraljevici i Križišću. Tom prilikom zaključeno je u Kraljevici osnovati peradarsku udrugu za gojenje živadi za meso. Manje pokusne postaje osnovane su na Trsatu, Dragi, Praputniku, a nastojat će se osnovati još na Hreljinu, a moguće i na Bakarcu.

„Hrvatska” (Zagreb), 202, 3, 1907 (god. 2) (4. rujna 1907.).

Skupina studenata Veterine poslije nastave iz Ambulantne Klinike

Miljenko Juričić



Priložena je fotografija nastala 1956. godine nakon nastave iz Ambulantne

Klinike u Veterinarskoj ambulanti Belovar Moravče.



Na fotografiji su:

gornji red slijeva na desno:

OBRADOVIĆ, UTJEŠINOVIĆ,
MILOŠEVIĆ, JURIČIĆ,
ČAVIĆ, JERKOVIĆ, ŽAKULA

drugi red slijeva na desno:

KAČIĆ, MATIĆ

donji red slijeva na desno:

DIKLIĆ, LIGENZA, JUZBAŠIĆ i
neprepoznat.

Mr. sc. Miljenko JURIČIĆ, dr. med. vet., Zagreb

In memoriam - prof. dr. sc. Mladen Zobundžija (1931. – 2011.)



Prof. dr. sc. Mladen Zobundžija usnuo je tiho i zauvijek, 5. svibnja 2011. godine, uz svojenajmilije, suprugu i sina. Ugasio se život izuzetno plemenitog, marljivog, savjesnog i odanog nastavnika i znanstvenika.

Prof. dr. sc. Mladen Zobundžija rodio se 19. ožujka 1931. godine u Gredi (danas općina Sisak). Osnovnu školu pohađao je u Donjem Stupniku (danas Lučko) i Slavonskoj Požegi. Prva četiri razreda gimnazije pohađao je u Slavonskoj Požegi, a maturirao je u Zagrebu u IV. muškoj gimnaziji. Studij veterinarske medicine upisao je u Zagrebu 1950. gdje je i diplomirao 10. veljače 1956. godine. Iste je godine otišao na odsluženje redovitog vojnog roka u JNA, u Školu rezervnih oficira. Prvog travnja 1957. zaposlio se kao upravitelj Veterinarske stanice Jabukovac Banijski i ostao na toj dužnosti do 15. veljače 1959. kada je

prešao u Veterinarsku ambulantu Sirač, Veterinarska stanica Daruvar. Koncem iste godine premješten je u Veterinarsku stanicu Daruvar gdje je radio do 16. prosinca 1963. godine, kad je izabran za asistenta u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Godine 1969. prof. dr. sc. Mladen Zobundžija završio je znanstveni magisterij iz histologije i embriologije obranivši magistarsku raspravu pod naslovom „Histomorfološka i histokemijska istraživanja alantoisnog epitela goveda“, a 1973. obranio je doktorsku raspravu pod naslovom „Istraživanje histokemijske aktivnosti nekih enzima u alantoisnom epitelu goveda“. Habilitacijsko je predavanje održao 11. veljače 1974. pod naslovom „Razvitak, građa i uloga ekstraembrionalnih omotača u domaćih životinja“, nakon čega je 24. travnja 1974. izabran za docenta. Za izvanrednog profesora izabran je 1. srpnja 1977. godine, a 15. studenog 1980. za redovitog profesora iz predmeta „Anatomija, histologija i embriologija“. Odlukom Vijeća Veterinarskoga fakulteta od 9. travnja 1991. izabran je po drugi put za redovitoga profesora za predmete „Anatomija, histologija i embriologija“ i „Primijenjena anatomija“.

Svoje bogato znanje i iskustvo stečeno u veterinarskoj praksi profesor Zobundžija ugradio je u temeljne predmete veterinarske struke, anatomiju i embriologiju, posebice kliničku anatomiju te ih nesebično prenosio na brojne generacije studenata. U svom nastavnom radu posebno je naglašavao potrebu za pisanim nastavnim štivom

kao osnovom lakšeg usvajanja zahtjevne anatomske građe. Tako je sa suradnicima u Zavodu objavio niz skripata za potrebe nastave iz anatomije domaćih sisavaca i anatomije domaćih ptica. Posebno valja istaknuti skriptu „Primijenjena anatomija domaćih životinja“, kao prvi udžbenik iz tog područja u nas, pisan za istoimeni predmet za koji piše i izvedbeni program koji se tada uvodi kao redoviti predmet u studij veterinarske medicine. Sudjelovao je kao urednik i prevoditelj trojezičnog udžbenika iz anatomije „Slikovni priručnik anatomije domaćih životinja“, potom kao urednik i prevoditelj atlasa P. Popesko „Anatomski atlas domaćih životinja“ (dva izdanja), kao i udžbenika i atlasa H. E. Königa i H-G. Liebicha „Anatomija domaćih sisavaca“. Do posljednjeg je trenutka radio kao urednik i prevoditelj na udžbeniku iz veterinarske embriologije, čije je izdanje u tijeku. Kao predavač i autor pisane riječi posebnu je pažnju posvetio primjeni hrvatskog nazivlja za gotovo svaki latinski anatomski termin te su tako nastajale prave znanstvene studije.

Znanstveno se prof. dr. sc. Mladen Zobundžija usavršavao iz područja histokemije na Veterinarskom fakultetu u Cambridgeu u Engleskoj, a nizom svojih znanstvenih nastupa posjetio je veterinarske fakultete u Ankari, Sarajevu, Beogradu, Budimpešti, Buenos Airesu, Beču, Bologni, Liverpoolu, Leipzigu, Lenjingradu, Madridu, Parizu, Toulouseu i Zurichu.

Tijekom radnog vijeka na Fakultetu bio je član Udruženja anatoma Jugoslavije, Udruženja europskih veterinarskih anatoma, Udruženja anatoma, histologa i embriologa Hrvatske, Udruženja veterinarar i veterinarskih tehničara Jugoslavije, Hrvatskog veterinarskog društva, Društva nastavnika Sveučilišta u Zagrebu te član Matične komisije za biologiju Sveučilišta u Zagrebu. U više je

mandata prof. dr. sc. Mladen Zobundžija bio član Izvršnog odbora i Savjeta Fakulteta te član velikog broja različitih komisija Fakultetskog vijeća.

Dugi niz godina obnašao je brojne rukovodeće dužnosti na Veterinarskom fakultetu te je tako 1980. i 1981. godine bio prodekan za nastavu, 1980. izabran je za predstojnika Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju, 1982. i 1983. bio je dekan Fakulteta, od 1983. do 1988. predsjednik Kolegijalnog poslovnog organa, a 1988. i 1989. v. d. direktora.

Veliki doprinos organizaciji obrazovanja i znanstvenog rada u veterinarstvu dao je kao predstavnik u SIŽ-u obrazovanja u poljoprivredi i prehrambenoj djelatnosti te kao član Programskog savjeta usmjerenog obrazovanja u poljoprivredi, veterinarstvu i prehrambenim djelatnostima, a posebice brojnim stručnim raspravama i javnim predavanjima održanim na sastancima Udruženja veterinarar.

S puno entuzijazma djelovao je i kao član Izvršnog odbora Sindikata te kao odbornik Općinske skupštine Peščenica, Planinarskog saveza Hrvatske, Hrvatskog saveza udruge invalida rada i Udruge veterinarskih umirovljenika grada Zagreba čiji je predsjednik bio do kraja života.

Godine 1988. za cjelokupni društveni rad prof. dr. sc. Mladen Zobundžija odlikovan je Ordenom rada sa zlatnim vijencem.

Bio je voditelj više znanstvenih projekata Ministarstva znanosti, tehnologije i informatike Republike Hrvatske, nositelj znanstvenih zadataka u okviru koordiniranih, selektivnih i regionalnih znanstvenih programa, kao i aktivni suradnik u realizaciji niza znanstvenih projekata. Bio je mentor u izradi 8 magistarskih i 8 doktorskih rasprava te brojnih diplomskih i studentskih radova.

Kao priznati znanstvenik objavio je više od 250 znanstveno-stručnih radova i kongresnih priopćenja. Autor je više poglavlja u knjigama, recenzent je brojnih knjiga, znanstvenih i stručnih članaka te prijedloga znanstvenih projekata, a objavio je i veći broj prikaza stručnih i znanstvenih knjiga.

Njegovo znanstveno djelovanje obilježeno je istraživanjima biomehanike i biodinamike koštanoga i mišićnog tkiva, kao i histomorfološkim i histokemijskim istraživanjima organa domaćih životinja, posebice placente, jetre, nuzbubrežne žlijezde i skeletnih mišića. Znatno doprinos u istraživanjima biomehanike i biodinamike koštanog tkiva dao je brojnim eksperimentalnim radovima u kojima je pratio reaktivnost koštanog tkiva na različite čimbenike kao što su dob, tjelesna masa, način držanja i kretanja, kao i resekcije živaca ili mišića. Treba izdvojiti zapažena istraživanja lokomotornog sustava u kojima prati funkcije sapskih mišića nakon kirurških zahvata u konja i pasa, a koja su prvi put u nas praćena filmskim zapisom. Ovoj skupini istraživanja pripadaju i ona o ulozi periosta u sprječavanju prodora infekta u kost, kao i njegovoj ulozi u mehanizmu rasta kostiju u promijenjenim uvjetima. Svojim magistarskim i doktorskim raspravama, u kojima istražuje dinamiku enzimske aktivnosti u plodovima tekućinama i opnama, započinje histomorfološka i histokemijska istraživanja koja nisu okarakterizirala samo njegov znanstveni rad nego slobodno možemo reći i rad Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju u cjelini. U opsežnim histomorfološkim i histokemijskim istraživanjima skeletne muskulature gotovo svih domaćih sisavaca pratio je osobitosti pojedinih mišića te utjecaj dobi, spola, funkcije, držanja, prehrane i pasmine na njihov enzimski kapacitet.

Uspoređujući histomorfološka svojstva funkcionalno različitih mišića u domaćih hladnokrvnih, toplokrvnih križanih konja i domaćih brdskih konja istraživao je moguću povezanost njihove građe s nastankom miopatija. Istražujući mišićna svojstva autohtonih pasmina ovaca te njihovih križanaca u Hrvatskoj potvrdio je da se kontroliranim uzgojem može znatno poboljšati mesnatost kao i kvaliteta mišića u ovaca. Vrijedan znanstveni prilog tipizaciji mišićnih vlakana dao je svojim istraživanjima u kojima prati enzimsku aktivnost, volumnu gustoću i promjer mišićnih vlakana.

Treba istaknuti da je posebna vrijednost i osobitost svih znanstvenih radova prof. dr. sc. Mladena Zobundžije njihova primjena kao i činjenica da su vrlo često rezultat suradnje s liječnicima, kliničarima i terenskim veterinarima.

Prof. dr. sc. Mladen Zobundžija 1996. godine odlazi u mirovinu, ali ne prestaje sa svojim stručnim i znanstvenim radom te je tako s puno ljubavi i mara, gotovo s punim radnim vremenom, radio na Fakultetu na izdavanju udžbenika i atlasa „Anatomija domaćih sisavaca“, na koji je bio posebno ponosan. S puno entuzijazma nastavio je raditi na prijevodu i uredništvu udžbenika iz veterinarske embriologije čije izdanje, nažalost, nije dočekaao.

Dragi profesore, još dugo ćemo očekivati prepoznatljiv, snažan, dug i odrješit zvuk zavodskog zvona, prepoznatljive korake hodnikom, iza kojih se s Vama u Zavod ušuljala vedrina i entuzijazam.

Hvala Vam za iskreno prijateljstvo, svaki savjet i dobrotu koju ste nesebično dijelili.

Ponosni smo i radosni što smo bili Vaši učenici i suradnici.

Vesna GJURČEVIĆ KANTURA

IN MEMORIAM

Rajko OBRADOVIĆ rodio se 27. siječnja 1934. godine u Gospiću. Gimnaziju je završio u Virovitici, a 1960. diplomirao na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Veterinarsku praksu obavljao od 01. travnja 1961. do 31. travnja 1963. u Veterinarskoj stanici Slatina (ambulanti Voćin), od 01. svibnja 1963. do 30. rujna 1964. u Veterinarskoj stanici Požega (ambulanti Orljavac), od 10. listopada 1964. od 15. rujna 1976. u Veterinarskoj stanici Valpovo (ambulanti Bizovac) gdje je od travnja 1972. obavljao i poslove direktora stanice, da bi potom bio imenovan na dužnost republičkog veterinarskog inspektora u Osječko – Baranjskoj Županiji, na kojem mjestu ostaje do odlaska u mirovinu 2005. godine. Praktični rad nije umanjio njegovu volju i napor da 1976. završi

poslijediplomski znanstveni stupanj i stekne akademski naziv magistra znanosti iz područja higijene i prerade mesa u seoskim kućanstvima Slavonije. Bio je ambiciozan glazbenik i uspješno nastupao s orkestrom muzičke škole u nizu koncerata klasične glazbe, također u limenoj glazbi DVD Virovitica, istodobno vrlo zapažen mladi rukometaš u Hrvatskoj. Krasila ga je skromnost, ljudska toplina, socijalna osjetljivost i duhovitost. Rajko Obradović umro je nakon kratke i teške bolesti u svome domu u Osijeku 9. travnja 2010. godine, ispraćen u Osijeku i Zagrebu, a obred pokopa u obiteljsku grobnicu na Mirogoju.

Slobodan JUZBAŠIĆ

- 1) Časopis „Veterinarska stanica“ objavljivat će u prvom redu članke o djelatnosti veterinarskih stanica imajući pri tome na umu njihovu javnu funkciju propisanu zakonima, pravilnicima, uredbama i drugim propisima. Pritom će se objavljivati članci o ustrojstvu veterinarskih stanica i o njihovoj preobrazbi u skladu s razvojem društvenih odnosa na selu.
- 2) „Veterinarska stanica“ nastojat će pružati stručnjacima nove spoznaje iz znanosti i napose prakse u zemljama s razvijenim stočarstvom.
- 3) U našem časopisu tiskat će se znanstvene i stručne rasprave prije svega za stručnjake koji rade u veterinarskim stanicama i ambulantama.
- 4) Bit će u njemu i društvenih vijesti, obavijesti, najava i osvrti na znanstvene i stručne skupove i sl.
- 5) Objavljivat ćemo referate od posebna interesa za neposrednu praksu, zatim prikaze knjiga i drugih publikacija.
- 6) Tekstovi originalnih i stručnih rasprava te onih iz povijesti veterinarstva i prikazi obljetnica mogu imati pet do deset kartica (pisanih u MS Wordu, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvatit će se i veći broj kartica. Mišljenja, prijedlozi i sučeljavanja dvije do pet kartica. Literarni zapisi četiri do deset kartica.
- 7) Tekstove je potrebno pisati u MS Wordu, font 12, srednji prored (1,5) ili na pisaćem stroju, srednje veliki prored. Svaki novi stavak mora početi s uvučenim retkom.
- 8) Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:
 - a) ako je jedan autor: Nicolet (1975.).
 - b) ako su dva autora: Adamović i Jurak (1938.).
 - c) ako su tri ili više autora: Lojkić i sur. (1978.); (Vince i sur., 2009.).
- 9) Sve što se obrađuje mora imati oblik primjeren obradi materije u znanosti i struci. Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj prilog ili ga može odbiti.
- 10) Svaka rasprava mora imati kratak sažetak.
- 11) Ističemo napose da svi grafikoni moraju biti izrađeni u Microsoft okružju na računalu, a fotografije (obične i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.
- 12) Rukopisi se ne vraćaju.
- 13) Oglašavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu „Veterinarska stanica“ mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.).
U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.
- 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
 1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R.

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

Predaja rukopisa:

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

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

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

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu.