

Mikrobiološke i mikotoksikološke opasnosti za zdravstvenu ispravnost i karakterizacija domaćih kobasica od mesa divljači

Ksenija Markov, Jelka Pleadin, Marija Horvat, Martina Bevardi, Darja Sokolić Mihalak, F. Delaš i Jadranka Frece



Uvod

Meso i mesni proizvodi od divljači oduvijek su interesantni potrošačima zbog svojih specifičnih organoleptičkih svojstava te znatne nutritivne vrijednosti s velikim udjelom bjelančevina, vitamina i minerala te malim udjelom masti i kolesterola, ali i činjenice da je meso divljači prirodnog podrijetla. Ovu vrstu mesa karakterizira i dobra probavljivost, tamnocrvena boja, oštar okus te tvrđa konzistencija u odnosu na meso farmskih životinja s obzirom da je divljač u stalnom kretanju i potrazi za hranom (Garcia-Ruiz i sur., 2007.).

Temeljem svega navedenog očekuje se da bi njegova potrošnja trebala rasti, iako dostupnost mesa divljači ovisi o vremenu lovne sezone i definiranim kvotama. U Hrvatskoj se, međutim, meso divljači konzumira u znatno manjim količinama od mesa domaćih životinja, a situaciju s potrošnjom dodatno komplicira i nedostatak objekata za obradu i skladištenje mesa odstrijeljene divljači. Proizvodnja mesnih proizvoda od divljači (zec, srna, jelen, vepar, divlja svinja) stoga se u našoj zemlji provodi na

manjem broju obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava.

Proizvodnju kobasica kao najzastupljenije kategorije mesnih proizvoda, općenito u domaćinstvima, karakterizira nestandardizirana proizvodnja u vrlo različitim uvjetima, a s obzirom da za ovu skupinu namirnica nisu definirani standardi kakvoće i uvjeti proizvodnje njihov je sastav vrlo neujednačen (Kovačević i sur., 2009., Frece i sur., 2010.a). Stoga je i za domaće kobasice od mesa divljači izvjesno da se samo jedan njihov dio proizvodi i pod nadzorom stavlja na tržište. U cilju postizanja ujednačenosti svojstava te zdravstvene ispravnosti proizvoda, nužna je kakvoća upotrijebljene sirovine, a važno je napomenuti da sirovina može biti kontaminirana mikroorganizmima u slučaju kada metak pogodi abdomen, crijeva ili prsa te zbog loše obrade trupa na terenu i ostavljanja trupova na sobnim temperaturama (Koréneková i Korének, 2008.).

Divljač kao biološki indikator onečišćenosti staništa u kojem boravi, podliježe kontaminaciji toksičnim tvarima

Dr. sc. Ksenija MARKOV, dipl. ing. biotehnol., izvanredna profesorica, dr. sc. Frane DELAŠ, dipl. ing. biotehnol., redoviti profesor, dr. sc. Jadranka FRECE, dipl. ing. biotehnol., izvanredna profesorica, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb; dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, docentica, Hrvatski veterinarski institut Zagreb; Marija HORVAT, dipl. ing. preh. tehnol., Tvornica keksa i vafla Koestlin d.d., Bjelovar; Martina BEVARDI, dipl. ing. biotehnol., Zavod za javno zdravstvo „Dr. A. Štampar“, Zagreb; Darja SOKOLIĆ MIHALAK, dipl. ing. biotehnol., Hrvatska agencija za hranu, Osijek

iz okoline, a to ujedno znači da i potrošači mesa divljači mogu biti izloženi toksičnim tvarima. Budući da se divljač uglavnom hrani biljkama, dijelovima biljki ili voćem, a da su biljke podložne kontaminaciji plijesnima, u mesu divljači, ali i u proizvodima od divljači, mogu se naći i mikotoksini kao sekundarni metaboliti plijesni. S obzirom da je štetno djelovanje mikotoksina dokazano, poglavito aflatoksina B1, postoji zabrinutost zbog mogućeg ulaska ovih kontaminanata u prehrambeni lanac putem mesa, jaja, mlijeka i mliječnih proizvoda (Duarte i sur., 2010., Markov i sur., 2010.a). Kontaminacija mikotoksinima, osim navedenim izravnim, moguća je i neizravnim putem, kada su dodatci, kao što su začini, kontaminirani mikotoksinima ili uslijed neadekvatnih uvjeta pohrane mesnih proizvoda tijekom njihovog čuvanja (Gareis i Wolff, 2000., Asefa i sur., 2011.), a što je moguće i na seoskim domaćinstvima.

S obzirom da je u literaturi raspoloživo vrlo malo podataka o karakteristikama domaćih proizvoda od mesa divljači,

a da zakonodavstvo nije reguliralo mikrobiološki kriteriji za ovu skupinu mesnih proizvoda, kao i činjenicu da dopuštena količina mikotoksina u mesnim proizvodima nije regulirana niti propisima na razini Europske Unije, niti u Republici Hrvatskoj, cilj je ovog rada bio karakterizacija fizikalno-kemijskih svojstava te određivanje mikrobioloških parametara i prisutnosti mikotoksina u kobasicama od mesa divljači, proizvedenim na više obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava u Hrvatskoj.

Materijali i metode

Uzorci

Ispitivanje je provedeno na ukupno 15 uzoraka domaćih kobasica od mesa divljači, koje su proizvedene na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima iz okolice Bjelovara i Vinkovaca, tradicionalnim postupkom proizvodnje prema vlastitoj recepturi

Tabela 1. Klasične mikrobiološke metode izolacije i identifikacije mikroorganizama

Mikroorganizmi	Hranjiva podloga	Uvjeti inkubiranja	Metoda
<i>Salmonella sp.</i>	RP-bujon, XLD (Biolife)	37 °C 24-48h	HRN EN ISO 6579:2003./ Ispr. 1:2008.
<i>Enterobacteriaceae</i>	VRB (Biolife)	37 °C 24h	HRN ISO 21528-2:2008.
<i>Staphylococcus aureus</i>	BP (Biolife)	37 °C 48h	HRN EN ISO 6888-1: 2004.
Sulfitoreducirajući klostridiji	Sulfitni agar (Biolife)	37 °C 72h	HRN ISO 15213:2004.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Fraser bujon, Palcam (Biolife)	37 °C 24h	HRN EN ISO 11290-1: 1999.
Kvasci i plijesni	Sabouraud agar (Biolife)	25 °C 48-72h	HRN ISO 7954:2002.
Aerobne mezofilne bakterije	PCA (Biolife)	30 °C 72h	HRN EN ISO 4833:2003.
Bakterije mliječne kiseline	MRS agar (Biolife)	30 °C 48-2h	EN ISO 13721:1995.

gospodarstva. Kobasice su proizvedene od mesa divljači i to: zeca (n=3); jelena (n=3); srne (n=3); vepra (n=3), divlje svinje (n=1) te miješano od mesa divlje i domaće svinje (miješana kobasica, n=2). Uzorci su do provedbe analiza pohranjeni na +4 °C.

Određivanje mikrobioloških parametara

Za izolaciju i identifikaciju bakterija iz kobasica od divljači upotrijebljene su klasične mikrobiološke metode (HRN ISO postupci) (tabela 1), a analizirani su sljedeći parametri: *Enterobacteriaceae* (E), *Staphylococcus aureus* (Sa) i sulfitoreducirajuće klostridije (SRK), kvasci i plijesni (KiP) u 1 g uzorka, *Salmonella sp. (S)* i *Listeria monocytogenes (Lm)* u 25 g uzorka te bakterije mliječne kiseline.

Priprema uzorka: Homogenizacijom 10 g uzorka i 90 mL sterilne fiziološke otopine dobiveno je temeljno razrijeđenje (10^{-1}), iz kojeg su načinjena sva potrebna razrijeđenja za izolaciju mikroorganizama.

Određivanje fizikalno-kemijskih parametara

Uzorci kobasica homogenizirani su pomoću analitičkog mlina (Grindomix GM 200, Retsch) te su analizirani na udio vode, ukupnih bjelančevina, hidroksiprolina (kolagena), ukupne masti, soli i pepela (% w/w) te pH vrijednost. Analize su provedene primjenom standardnih akreditiranih analitičkih metoda. Gravimetrijski, uz uporabu termostata (Epsa 2000, Ba-Ri) i sušenje pri 103 °C, određen je udio vode (ISO 1442:1997.), a spaljivanjem uzoraka pri 550 °C u mufolnoj peći (LV9/11/P320, Nobertherm) sirovi pepeo (ISO 936:1998.). Udio ukupnih bjelančevina analiziran je metodom po Kjeldahl-u (HRN ISO 937:1999.) uz uporabu bloka za razaranje (Unit 8 Basic, Foss) i uređaja za destilaciju i titraciju (Kjeltec 8400, Foss). Sadržaj hidroksiprolina (kolagena) određen je metodom

HRN ISO 3496:1999., korištenjem spektrofotometra (DR/4000U, Hack). Ukupne su masti određene metodom po Soxhlet-u (HRN ISO 1443:1999.) uz ekstrakciju masti eterom na uređaju za ekstrakciju (Soxtherm 2000, Gerhardt). Titracijskom je metodom određen udio natrijevog klorida (Trajković i sur., 1983.), a pH vrijednost je izmjerena pH metrom (MP220, Mettler Toledo). Sve korištene kemikalije bile su analitičke čistoće.

Priprema uzoraka za određivanje mikotoksina

Za analizu mikotoksina pripremljena je reprezentativna količina uzoraka kobasica uz uporabu Ultra-Turrax homogenizatora (Yellow line, IKA, Njemačka).

Okratoksin A: Izvagano je 1 g uzorka, dodano 0,5 mL 1M H_3PO_4 i 3 mL etilacetata, promiješano te centrifugirano 1 min. pri 2000 o/min. Nadtalog (etilacetat) je prebačen, a ostatku uzorka dodano je 3 mL etilacetata. Sadržaj je ponovno promućkan i centrifugiran te su dekantirani nadtalozni spojeni. Etilacetatnim slojevima dodano je 3 mL 0,65 M $NaHCO_3$, mućkano tijekom 15 min., centrifugirano te je izdvojen 1 mL donje vodene faze. Sadržaj je zagrijavan u vodenoj kupelji na 100 °C tijekom 3 min., kratko protresen i ohlađen te je dodano 4 mL destilirane vode. Alikvotni dio razrijeđen je u omjeru 1:1 s 0,13 M $NaHCO_3$.

Aflatoksin B1: 20 g homogeniziranog uzorka pomiješano je s 10 mL destilirane vode, 100 mL kloroforma i 10 g celita u Erlenmeyer tikvici od 250 mL. Sadržaj je mućkan 30 min. na sobnoj temperaturi uz uporabu magnetske mješalice te profiltriran kroz filter papir (crna vrpca). Otparen je 1 mL filtrata pomoću vakuum otparivača, a ostatci su otopljeni u 1440 μ L metanola i 360 μ L destilirane vode.

Citrinin: Odvagano je 10 g homogeniziranog uzorka te dodano 50 mL 70% metanola i ekstrahirano na magnetskoj mješalici 30 min. Uzorak

je potom centrifugiran pri 4000 o/min. tijekom 10 min. Otpipetiran je 1 mL nadtaloga i pomiješan sa 49 mL 10 mM fosforne kiseline (pH 7,5), otopina je profiltrirana kroz filter papir sa staklenim vlaknima te nadalje pročišćavano na SPE (solid phase extraction) kolonicama (CitriTest HPLC, Vicam).

Određivanje koncentracije okratoksina A i aflatoksina B1

Određivanje koncentracije provedeno je korištenjem komercijalnih ELISA kitova Ridascreen® Ochratoxin A i Aflatoxin B1 (R-Biopharm, Njemačka), koji sadržavaju mikrotitracijsku ploču s 96 jažica te sve reagense i standardne otopine potrebne za provedbu analiza. Uzorci kobasica su prethodno pripremljeni pročišćavanjem i razrijeđivanjem. Postupak određivanja koncentracije proveden je u cjelosti prema naputcima proizvođača kompetitivnog ELISA kita, uz uporabu automatiziranog kemijskog analizatora ChemWell 2190 (Awareness Technologies, SAD). Nakon provedbe svih koraka ELISA testa izmjerena je apsorbancija žutog obojenja u jažicama, pri valnoj duljini od 450 nm te je nakon unošenja podataka u program uređaja konstruirana baždarna krivulja i izračunata koncentracija okratoksina A i aflatoksina B1 u uzorcima. Pri određivanju konačnih vrijednosti koncentracija mikotoksina uzeti su u obzir pripadajući faktori razrijeđenja uzoraka.

Određivanje koncentracije citrinina

Određivanje koncentracije citrinina provedeno je na uređaju za tekućinsku kromatografiju (HPLC) (Agilent 1200, Santa Clara, Kalifornija, SAD) pomoću fluorescentnog detektora (FLD). Radi boljeg razdvajanja uzorka te bolje rezolucije signala korištena je kolona C-18 (Waters, Milford, SAD), dimenzija 50 x 4,6 mm, veličine čestica punila 2,5 µm, a temperatura kolone bila je 30 °C. Mobilnu fazu činilo je 80% 10 mM fosforne kiseline (pH 2,5): 20% acetonitrila, a protok je

podešen na 0,5 mL/min. U HPLC sustav injektirano je 50 µL pročišćenog uzorka. Valne su duljine detektora bile podešene na 1 350 nm za ekscitaciju i 1 500 nm za emisiju. Ukupna analiza trajala je 10 min., a vrijeme izlaženja citrinina s kolone bilo je oko 1,85 min.

Statistička obrada podataka

Statistička analiza provedena je korištenjem programa Statistica Ver. 10 software (StatSoft Inc. Tulsa, OK, 1984-2011, SAD). Za određivanje razlike u kvantitativnim vrijednostima primijenjen je t-test, a statistički značajne razlike izražene su na razini vjerojatnosti od 95% ($p=0,05$).

Rezultati i rasprava

S obzirom da kontaminacija mikrobima može negativno utjecati na zdravstvenu ispravnost i kakvoću mesa divljači te uzimajući u obzir činjenicu da divljač podliježe kontaminaciji toksičnim tvarima iz okoline, takav se negativan utjecaj može odraziti i na proizvode od divljači, a konzumacijom kontaminiranih proizvoda i na zdravlje čovjeka. Pri proizvodnji proizvoda od mesa divljači, u cilju sprječavanja kontaminacije, nužno je uzeti u obzir kritične točke proizvodnje i javnozdravstveno značenje te osigurati mjere prevencije za suzbijanje različitih izvora mikrobioloških i mikotoksikoloških opasnosti po zdravlje potrošača, a koje su izvjesne i konzumacijom ove vrste mesnih proizvoda.

Stoga je jedan od ciljeva ovog istraživanja bio procijeniti stupanj mikrobiološke kontaminacije domaćih kobasica od mesa divljači (tabela 2).

Od 15 analiziranih uzoraka u 46,7% uzoraka kobasica od mesa divljači su klasičnim mikrobiološkim metodama, izolacijom na selektivnim podlogama, dokazane bakterije iz obitelji *Enterobacteriaceae* u rasponu vrijednosti od 0,30 do 2,47 log₁₀ cfu/g.

Tabela 2. Mikrobiološki rezultati analize uzoraka domaćih kobasica od mesa divljači

Mikrobiološki kriteriji	Raspon vrijednosti log ₁₀ cfu/ g kobasice od određene vrste mesa					
	Zec	Jelen	Srna	Vepar	Divlja svinja	Miješano ^a
<i>S</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>E</i>	n.d.	n.d.- 0,77	n.d.	0,30- 2,00	n.d.	1,30-2,47
<i>Sa</i>	1,00-3,00	1,60-1,95	1,00-1,20	2,64-3,47	1,00	1,00-2,95
SRK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Lm</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
KiP	n.d.	n.d.-3,30	n.d.	2,34- 3,03	3,83	3,20-4,27
AB	3,36-3,09	2,36-3,74	2,53-4,66	4,78- 5,25	6,47	4,02-4,54
BMK	3,30-3,59	3,14-4,02	4,87-5,00	3,96-4,84	3,53	4,30-4,94

^amiješana kobasica od mesa divlje i domaće svinje
n.d. nije dokazano

S - *Salmonella sp.*; *E* - *Enterobacteriaceae*; *Sa* - *Staphylococcus aureus*;

SRK - sulfitoreducirajuće klostridije; *Lm* - *Listeria monocytogenes*; KiP - kvasci i plijesni;

AB - aerobne mezofilne bakterije; BMK - bakterije mliječne kiseline

Bakterije *Staphylococcus* vrste dokazane su u svim uzorcima kobasica. Dodatnim mikrobiološkim metodama (bojanje po Gramu, katalaza i koagulaza test) u uzorcima od mesa srne, vepra i divlje svinje potvrđena je bakterija *S. aureus*. Broj bakterijskih stanica *S. aureus* izoliranih iz uzoraka bio je od 1,00 do 3,47 log₁₀cfu/g uzorka, a kako je izvor zaraze *S. aureus* čovjek, prisutnost te bakterije ukazuje na ljudsku kontaminaciju. Bakterije roda *Salmonella*, sulfitoreducirajuće klostridije i *Listeria monocytogenes* nisu dokazane ni u jednom uzorku kobasica.

U istraživanjima uzoraka svježe odstrijeljene divljači u Njemačkoj (divlje svinje, srne obične, jelen obični), Atanassova i sur. (2008.) dokazali su prisutnost enterobakterija s prosječnim brojem 2,1 log₁₀ CFU/cm² u svim uzorcima, broj koagulaza pozitivnih stafilokoka bio je veći od 2,0 log₁₀ CFU/cm², *Listeria* je pronađena u 14 uzoraka, a tri uzorka bila su pozitivna na bakterije roda *Campylobacter*. Bakterije roda *Salmonella* nisu utvrđene ni u jednom analiziranom uzorku. Srednja vrijednost broja aerobnih mezofilnih bakterija iznosila je 2,6 log₁₀ CFU/cm² za kobasice od mesa srne, 2,9 log₁₀ CFU/cm² od mesa jelena i 3,2 log₁₀ CFU/cm² od mesa divlje

svinje. Broj aerobnih mezofilnih bakterija u ovom istraživanju kretao se od 2,36 log₁₀ CFU/g za kobasice od mesa jelena do čak 6,47 log₁₀ CFU/g za kobasice od mesa divlje svinje (tabela 2).

U uzorcima kobasica od mesa jelena, vepra, divlje svinje te miješane kobasice dokazana je i prisutnost kvasaca *Rhodotorula sp.*, što je u skladu s rezultatima Nielsen i sur. (2008.) koji navode kao najčešće izolirane halofilne kvasce iz fermentiranih mesnih proizvoda *Debaromyces hansenii*, *Candida famata*, *Candida zeylanoides*, *Trichosporon sp.*, *Cryptococcus sp.* i *Rhodotorula sp.*, budući da kvasci također imaju važnu ulogu u zrenju kobasica. Naime kvasci doprinose razvoju senzorskih svojstava fermentiranih kobasica, zbog svoje lipolitičke i proteolitičke aktivnosti (Kovačević, 2001., Alagić i sur., 2008.).

Na MRS agaru izolirana prirodna mikroflora, bakterije mliječne kiseline, kao potencijalne starter kulture, dodatno su identificirane kao: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatu* i *Pediococcus pentosaceus*. Mnogi autori su, u svojim istraživanjima mikrobne populacije u tradicionalnim fermentiranim proizvodima, izolirali bakterije mliječne

Tabela 3. Fizikalno-kemijska svojstva domaćih kobasica od mesa divljači

Vrsta mesa/ Oznaka kobasice		Voda ^a (%)	Bjelančevine ^b (%)	Kolagen (%)	Mast (%)	Pepeo (%)	Natrijev klorid (%)	pH
Zec	1	24,3	33,65	3,04	33,9	7,95	5,65	5,35
	2	26,4	37,50	2,78	29,3	5,64	5,13	5,46
	3	20,8	35,82	2,80	34,5	6,15	4,78	5,58
Jelen	1	19,1	31,08	1,96	40,6	8,56	4,65	4,98
	2	21,4	27,23	3,18	45,5	4,52	5,12	5,21
	3	19,2	30,46	2,15	42,1	6,89	5,54	5,18
Srna	1	25,8	21,17	2,11	43,1	8,58	4,89	5,08
	2	27,2	22,56	2,63	40,7	7,11	4,96	5,14
	3	26,6	24,63	2,78	38,5	7,25	5,28	5,38
Vepar	1	41,1	17,70	1,65	37,6	3,01	4,39	5,56
	2	38,6	21,88	2,56	33,4	3,69	5,46	5,79
	3	27,6	25,16	2,91	38,5	5,15	5,17	5,35
Divlja svinja	1	25,5	31,88	2,36	34,4	7,13	5,78	5,24
Miješana	1	25,8	22,92	1,74	45,2	5,10	4,96	5,31
	2	24,4	24,85	2,58	43,5	5,12	5,34	5,62

^a max 40% vode; ^bmin 16% bjelančevina mesa u trajnim kobasicama prema Pravilniku o mesnim proizvodima (N. N. 131/2012.)

kiseline, stafilokoke i kvasce, iako je sastav mikroflore karakterističan za svaki tip ili vrstu fermentiranih mesnih proizvoda (Simonova i sur., 2006., Frece i sur., 2010.a, Frece i sur., 2010.b, Markov i sur., 2010.b, Babić i sur., 2011.).

U cilju karakterizacije kobasica od mesa divljači analizirana su njihova fizikalno-kemijska svojstva, određivanjem udjela vode, ukupnih bjelančevina i masti, kolagena, pepela, natrijevog klorida (soli) te pH vrijednosti (tabela 3).

Proteklih godina u svijetu su provedena brojna istraživanja fizikalno-kemijskih (Stevenson i sur., 1992., Zomborszky i sur., 1996.) i senzorskih (Wiklund i sur., 2003.) svojstava mesa divljači, a istraživani su i utjecaj brojnih čimbenika na kakvoću mesa i gotovih mesnih proizvoda različitih vrsta divljači (Volpelli i sur., 2003., Soriano i sur., 2006., Cenci-Goga i sur., 2012.). Utvrđeno je da njihovu kakvoću značajno utječe kakvoća sirovog mesa koje se koristi u proizvodnji, a koja pak ovisi o čimbenicima kao što je:

godišnji period rasta divljači, aktivnost životinje, ali i ostalim (npr. rezerve masti kod divljači se smanjuju u jesen nakon parenja) (Garcia-Ruiz i sur., 2007.). Uzimajući u obzir uobičajeno različite uvjete rasta i karakteristike divljači te uvjete proizvodnje mesnih proizvoda (receptura, zrenje, fermentacija) pojedinog domaćinstva, sve navedeno pridonosi raznolikosti karakteristika gotovih proizvoda. U našoj literaturi gotovo da nema podataka o karakteristikama mesa i mesnih proizvoda od divljači, a koji se tradicionalnim postupcima, iako u malim količinama, proizvode i u Hrvatskoj.

Analizom parametara kakvoće u ovom istraživanju, određen je udio vode u rasponu od 19,1% do 41,1%. S obzirom da Pravilnik o mesnim proizvodima (N.N. 131/2012.) propisuje vrijednost za udio vode od maksimalno 40% u trajnim kobasicama, u gotovo svim uzorcima kobasica od mesa divljači određene su vrijednosti karakteristične upravo za tu skupinu proizvoda. Ujedno, udio bjelančevina mesa, kao najznačajnijeg

sastojka svakog mesnog proizvoda, koji definira njegovu kakvoću i tržišnu vrijednost, za trajne kobasice definiran je istim Pravilnikom na minimalnih 16%. U ovom je radu određeni udio bjelančevina u kobasicama od mesa divljači, s rasponom od 17,70% do 37,50%, ukazivao i na karakteristike trajnih kobasica, a koje čine najkvalitetniju skupinu kobasičarskih proizvoda.

Uzimajući u obzir uporabu vezivnog tkiva tijekom proizvodnje kobasica, analizom aminokiseline hidrokisprolina određen je udio kolagena (bjelančevine vezivnog tkiva) od 1,65% do 3,05% te značajan udio masti od najmanjih 29,3% u kobasici od mesa zeca do najvećih 43,5% u miješanoj kobasici od mesa divlje i domaće svinje. Kao i u istraživanju Soriano i sur. (2006.) udio je masti bio veći u kobasicama od mesa jelena u odnosu na kobasice od mesa divlje svinje, iako je poznato da je meso jelena manje masno nego meso divlje svinje. Navedeno upućuje na činjenicu da količina masti ovisi isključivo o količini masnog tkiva koja se stavlja u kobasice tijekom proizvodnog procesa. Usporedbom s podacima drugih autora, uočljivo je i široko variranje udjela bjelančevina, kolagena i masti, odnosno statistički značajno različite ($p < 0,05$) vrijednosti udjela ovih parametara po različitim vrstama kobasica od mesa divljači te obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima (tehnološkim postupcima proizvodnje) (Paleari i sur., 2003., Soriano i sur., 2006.).

Količina je natrijevoga klorida (soli) jedan od važnijih parametara kakvoće mesnog proizvoda, s obzirom da prevelika količina soli prikriva druge okuse, a nedovoljna količina uzrokuje njihovu slabiju izraženost (Senčić i sur., 2010.). pH vrijednost se uobičajeno koristi pri procjeni održivosti mesnih proizvoda, koji se mogu smatrati trajnim s pH vrijednošću manjom od 5,0, pokvarljivim s pH od 5,0 do 5,2 te brzo pokvarljivim s pH većom od 5,2 (Kovačević, 2001., Ince,

2007.). U ovom istraživanju određen je udio soli od 4,39% do 5,78%, raspon pH vrijednosti od 4,98 do 5,79 te udio pepela od 3,01% do 8,58%. Dobivene vrijednosti, iako među pojedinim uzorcima statistički značajno različite, usporedive su s rezultatima drugih istraživanja provedenim na kobasicama od mesa jelena i divlje svinje, u kojima je određen srodan prosječni udio soli i pepela te podjednaka pH vrijednost (4,96-6,03) (Soriano i sur., 2006.).

Smatra se da je od ukupne količine proizvedene hrane u svijetu 25% prehrambenih proizvoda, uglavnom biljnog podrijetla, kontaminirano mikotoksinima. Najveće javnozdravstveno značenje imaju aflatoksin i to aflatoksin B1 (AFB1) i okratoksin A (OTA), ali zbog raširenosti plijesni iz roda *Penicillium* sve veća pažnja je usmjerena i na nefrotoksični mikotoksin citrinin (CIT). Zbog šarolikosti u kemijskoj strukturi, širok je raspon toksičnih učinaka koje izazivaju mikotoksini. Posebno su opasni zbog svoje visoke toksičnosti, već i u malim količinama te u većini slučajeva zbog odsutnosti bilo kakvog senzorskog upozorenja pri konzumaciji kontaminirane hrane. Ujedno, mikotoksini mogu ući u prehrambeni lanac čovjeka, ne samo kroz žitarice i proizvode od žitarica, već i kroz meso, jaja, mlijeko i mliječne proizvode, ukoliko su životinje bile hranjene krmivima i krmnim smjesama kontaminiranim plijesnima koje sintetiziraju mikotoksine ili samim mikotoksinima (*carry over* efekt) (Gareis i Wolff, 2000., Walker i Larsen, 2005.).

Stoga je cilj ovog rada, osim analize mikrobioloških opasnosti, ispitati i mogućnost kontaminacije proizvoda od mesa divljači mikotoksinima AFB1, OTA i CIT. Utvrđene vrijednosti koncentracije mikotoksina određene u uzorcima kobasica od mesa divljači prikazane su u tabeli 4. Iako ni iz jednog uzorka kobasica nisu izolirane plijesni, ni s površine ni iz sredine kobasica, rezultati pokazuju

da je OTA dokazan u 86,7% uzoraka, AFB1 u jednom uzorku od mesa vepra te CIT u kobasici od mesa divlje svinje. U ostalim uzorcima kobasica koncentracija analiziranih mikotoksina bila je manja od limita detekcije (LOD) primijenjenih analitičkih metoda (OTA - 0,5 µg/kg, AFB1 i CIT - 1,0 µg/kg).

Koncentracije OTA u kobasicama (tabela 4) kretale su se u rasponu od 1,17 µg/kg u kobasici od mesa srne do 3,07 µg/kg u kobasici od mesa divlje svinje. Osim što utvrđene, iako niske razine ovog mikotoksina, mogu biti prirodnog podrijetla kroz hranidbu divljači kontaminiranom hranom, postoji mogućnost i uporabe kontaminiranih začina tijekom njihove proizvodnje. Naime, u malim udjelima u kobasice se tijekom proizvodnje uz sol dodaju i začini (crni i bijeli papar, slatka i ljuta paprika, mažuran, timijan, ružmarin, peršin i češnjak), koji znatno utječu na specifičan okus, miris i boju domaćih kobasica, a mogu biti i izvor kontaminacije okratoksinom A (Perši, 2012.).

Dobiveni rezultati ukazuju da je rizik od AFB1 i CIT u kobasicama od divljači minimalan, uglavnom zbog niskog

stupnja prjelaska ovih mikotoksina na jestiva tkiva, s obzirom da je ciljni organ AFB1 jetra, a CIT bubrezi. U mišiću se može naći samo niska razina AFB1 i CIT, često ispod granica osjetljivosti korištenih metoda (Bintvihok i sur., 2002.), dok je najveća kumulacija ostataka OTA u bubregu, potom jetri i mišićnom tkivu, a najmanja u masnom tkivu (Gareis i Wolff, 2000.).

Treba ujedno istaknuti i činjenicu da za mesne proizvode, općenito, nije regulirana najveća dopuštena količina (NDK) mikotoksina, niti propisima Europske Unije niti propisima Republike Hrvatske, a citrinin je analit koji se u Hrvatskoj još uvijek rijetko analizira. Ipak, u pojedinim zemalja Europske Unije definirane su najveće preporučene količine pojedinih mikotoksina, npr. u Italiji za OTA 1 µg/kg za meso i mesne proizvode (Duarte i sur., 2010.).

Zaključak

U uzorcima kobasica od divljači pronađene su enterobakterije i bakterija *Staphylococcus aureus*, a dokazana je i prisutnost mikotoksina. Iako je

Tabela 4. Količina mikotoksina određena u kobasicama od mesa divljači

Vrsta mesa/ Oznake kobasica		Koncentracija mikotoksina (µg/kg)		
		Okratoksin A	Aflatoksin B1	Citrinin
Zec	1	2,21	< 1,0	< 1,0
	2	1,68	< 1,0	< 1,0
	3	2,37	< 1,0	< 1,0
Jelen	1	1,86	< 1,0	< 1,0
	2	2,03	< 1,0	< 1,0
	3	2,00	< 1,0	< 1,0
Srna	1	< 0,5	< 1,0	< 1,0
	2	1,17	< 1,0	< 1,0
	3	1,37	< 1,0	< 1,0
Vepar	1	2,70	< 1,0	< 1,0
	2	< 0,5	< 1,0	< 1,0
	3	2,76	1,5	< 1,0
Divlja svinja	1	3,07	< 1,0	1,0
Miješana	1	1,55	< 1,0	< 1,0
	2	2,71	< 1,0	< 1,0

vidljivo da se mikotoksini pojavljuju u kobasicama od divljači, ipak se temeljem određenih malih količina mikotoksina ne može zaključiti da ti proizvodi predstavljaju znatan rizik za zdravlje ljudi. Ipak je potreban sustavan nadzor ovih kontaminanata, ne samo u gotovim proizvodima, već i u sirovinama, odnosno dodatcima u proizvodnji kao što su začini. Republika Hrvatska kao nova članica EU treba voditi brigu o potencijalnoj opasnosti po zdravlje potrošača te je potrebno neprestano pronalaziti nove metode u prevenciji mikrobioloških i mikotoksikoloških opasnosti u hrani, uključujući i autohtone proizvode od mesa divljači.

Sažetak

Cilj je rada bio odrediti mikrobiološke i mikotoksikološke opasnosti te fizikalno-kemijske parametre u domaćim kobasicama od mesa divljači, zečeva, jelena, srna, vepara i divljih svinja. U uzorcima kobasica od divljači (n=15) dokazane su bakterije iz obitelji *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* i kvasac *Rhodotorula sp.*, dok bakterije iz roda *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* i sulfitoreducirajuće klostridije nisu dokazane. Dominantna mikroflora u uzorku kobasica bile su bakterije mliječne kiseline u broju od 3,30 do 5,00 log₁₀ cfu/g. Rezultati fizikalno-kemijskih parametara kobasica od mesa divljači, ukazali su na karakteristike trajnih kobasica kao najkvalitetnije skupine kobasičarskih proizvoda. Budući da divljač kao biološki indikator onečišćenosti staništa podliježe kontaminaciji toksičnim tvarima iz okoline i zbog mogućeg *carry over* efekta, u kobasicama od divljači analizirana je i prisutnost mikotoksina. Okratoksin A je dokazan u 86,7% uzoraka, u rasponu od 1,17 µg/kg u kobasici od mesa srne do 3,07 µg/kg u kobasici od mesa divljih svinja, dok su aflatoksin B1 i citrinin određeni u po jednom uzorku. Istraživanje je ukazalo na potrebu sustavne kontrole zdravstvene ispravnosti i ove vrste mesnih proizvoda koji se po tradicionalnim recepturama proizvode na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj.

Literatura

- ALAGIĆ, D., L. KOZAČINSKI, I. FILIPOVIĆ, N. ZDOLEC, M. HADŽIOSMANOVIĆ, B. NJARI, Z. KOZAČINSKI i S. UHITIL (2008): Mikrobiološke promjene tijekom zrenja fermentiranih kobasica od konjskog mesa. *Meso X*, 200-203.
- ATANASSOVA, V., J. APELT, F. REICH and G. KLEIN (2008): Microbiological quality of fresh shot game in Germany. *Meat Sci.* 78, 414-419.
- BABIĆ, I., K. MARKOV, D. KOVAČEVIĆ, A. TRONTEL, A. SLAVICA, J. ĐUGUM, D. ČVEK, I. K. SVETEC, S. POSAVEC and J. FRECE (2011): Identification and characterization of potential autochthonous starter cultures from a Croatian "brand" product "Slavonski kulen". *Meat Sci.* 88, 517-524.
- BINTVIHOK, A., S. THIENGNIN, K. DOI and S. KUMAGAI (2002): Residues of aflatoxins in the liver, muscle and eggs of domestic fowls. *J. Vet. Med. Sci.* 64, 1037-1039.
- CENCI-GOGA, B. T., P. V. ROSSITTO, P. SECHI, S. PARMEGIANI, V. CAMBIOTTI and J. S. CULLOR (2012): Effect of selected dairy starter cultures on microbiological, chemical and sensory characteristics of swine and venison (Dama dama) nitrite-free dry-cured sausages. *Meat Sci.* 90, 599-606.
- DUARTE, S. C., A. PENA and C. M. LINO (2010): Ochratoxin A in Portugal: A Review to Assess Human Exposure. *Toxins* 2, 1225-1249.
- FRECE, J., J. PLEADIN, K. MARKOV, N. PERŠI, V. DUKIĆ, D. ČVEK i F. DELAŠ (2010a): Mikrobna populacija, kemijski sastav i mikotoksini u kobasicama s područja Varaždinske županije. *Vet. stn.* 41, 189-198.
- FRECE, J., K. MARKOV i D. KOVAČEVIĆ (2010b): Određivanje autohtone mikrobne populacije i mikotoksina te karakterizacija potencijalnih starter kultura u slavonskom kulenu. *Meso XII*, 92-98.
- GARCIA RUIZ, A., C. MARISCAL and A. SORIANO (2007): Influence of hunting-season stage and ripening conditions on nitrogen fractions and degradation of myofibrillar proteins in venison (*Cervus elaphus*) chorizo sausages. *Meat Sci.* 76, 74-85.
- GAREIS, M. and J. WOLFF (2000): Relevance of mycotoxin contaminated feed for farming animals and carry over of mycotoxins in food of animal origin. *Mycoses* 43, 79-83.
- INCZE, K. (2007): European products. In: TOLDRÁ, F.: Handbook of fermented meat and poultry. Blackwell Publishing, Ames, Iowa (307-318).
- KORÉNEKOVÁ, B. and M. KORÉNEK (2008): Čimbenici koji utječu na zdravstvenu ispravnost i kakvoću mesa divljači. *Meso X*, 356-368.
- KOVAČEVIĆ, D. (2001): Kemija i tehnologija mesa i ribe. Osijek: Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku.
- KOVAČEVIĆ, D., K. SUMAN, D. ŠUBARIĆ, K. MASTANJEVIĆ i S. VIDAČEK (2009): Investigation of homogeneity and physicochemical characterisation of the Homemade Slavonian Sausage. *Meso XI*, 338-344.
- MARKOV, K., J. FRECE, D. ČVEK, N. LOVRIĆ i F. DELAŠ (2010a): Aflatoksin M1 u sirovom mlijeku i vezanje aflatoksina pomoću bakterija mliječne kiseline. *Mljekarstvo* 60, 244-251.
- MARKOV, K., J. FRECE, D. ČVEK, A. TRONTEL, A.

- SLAVICA i D. KOVAČEVIĆ (2010b): Dominantna mikroflora fermentiranih kobasica od konjskog mesa. *Meso XII*, 217-221.
17. NIELSEN, D. S., T. JACOBSEN, L. JESPERSEN, A. G. KOCH and N. ARNEBORG (2008): Occurrence and growth of yeasts in processed meat products- Implications for potential spoilage. *Meat Sci.* 80, 919-926.
 18. PALEARI, M. A., V. M. MORETTI, G. BERETTA, T. MENTASTI and C. BERSANI (2003): Cured products from different animal species. *Meat Sci.* 63, 485-489.
 19. PERŠI, N. (2012): Ostaci okratoksina A u sirovinama i proizvodima od svinjskog mesa nakon subkroničnog tretmana. Disertacija. Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku.
 20. Pravilnik o mesnim proizvodima (Narodne novine 131/2012.)
 21. SENČIĆ, Đ., M. ŠKRIVANKO, D. KOVAČEVIĆ, D. SAMAC i J. NOVOSELEC (2010): Fizikalno-kemijska i senzorska svojstva slavonske šunke. *Meso XII*, 88-91.
 22. SIMONOVA, M., V. STROMPFOVA, M. MARCINAKOVA, A. LAUKOVA, A. S. VESTERLUND and M. L. MORATALLA (2006): Characterization of *Staphylococcus xylosum* and *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products. *Meat Sci.* 73, 559-564.
 23. SORIANO, A., B. CRUZ, L. GÓMEZ, C. MARISCAL and A. GARCIA RUIZ (2006): Proteolysis, physicochemical characteristics and free fatty acid composition of dry sausages made with deer (*Cervus elaphus*) or wild boar (*Sus scrofa*) meat: A preliminary study. *Food Chem.* 96, 173-184.
 24. STEVENSON, J. M., D. L. SEMAN and R. P. LITTLEJOHN (1992): Seasonal variation in venison quality of mature, farmed red deer stags in New Zealand. *J. Anim. Sci.* 70, 1389-1396.
 25. TRAJKOVIĆ, J., M. MIRIĆ, J. BARAS i S. ŠILER (1983): Analize životnih namirnica. Beograd: Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu.
 26. VOLPELLI, L. A., R. VALUSSO, M. MORGANTE, P. PITTIA, E. PIASENTIER (2003): Meat quality in male fallow deer (*Dama dama*): effects of age and supplementary feeding. *Meat Sci.* 65, 555-562.
 27. WALKER, R. and J. C. LARSEN (2005): Ochratoxin A: Previous assessments and issues arising. *Food Addit. Contam. Suppl.* 1, 6-9.
 28. WIKLUND, E., T. R., MANLEY, R. P. LITTLEJOHN and J. STEVENSON-BARRY (2003): Fatty acid composition and sensory quality of *Musculus longissimus* and carcass parameters in red deer (*Cervus elaphus*) grazed on natural pasture or fed a commercial feed mixture. *J. Sci. Food Agricul.* 83, 419-424.
 29. ZOMBORSZKY, G., I. SZENTMIHÁLYI, I. SARUDI, P. HORN and C. S. SZABÓ (1996): Nutrient composition of muscles in deer and boar. *J. Food Sci.* 61, 625-635.

Microbiological and mycotoxicological safety risks and characterization of homemade sausages of game meat

Ksenija MARKOV, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Associate Professor, Frane DELAŠ, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Full Professor, Jadranka FRECE, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Associate Professor, Faculty of Food Technology and Biotechnology Zagreb; Jelka PLEADIN, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Marija HORVAT, Grad. Food Technology Eng., Factory of Biscuits and Wafers Koestlin d.d., Bjelovar; Martina BEVARDI, Grad. Biotechnology Eng., Department of Public Health „Dr. A. Štampar“, Zagreb; Darja SOKOLIĆ MIHALAK, Grad. Biotechnology Eng., Croatian Food Agency, Osijek

The aim of this study was to determine the microbiological and mycotoxicological risk and physicochemical parameters of homemade sausages produced from meat of rabbit, deer, roe deer, wild boar and wild pigs. In sausage samples (n=15), bacteria of the family *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* and the yeast *Rhodotorula* sp. were determined, while strains of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Clostridium* were not detected. The dominant microflora were lactic acid bacteria, in the range from 3.30 to 5.00 log₁₀ cfu/g. The results of physicochemical parameters of game meat sausages indicate that fermented sausages are the highest quality sausage products. As game

is known as a biological indicator of pollution of habitats subject to contamination by toxic substances from the environment, and due to the possible carry-over effect, sausages were analyzed for the presence of mycotoxins. Ochratoxin A was detected in 86.7% of samples, ranging from 1.17 µg/kg in sausage from deer meat to 3.07 µg/kg in sausage from the meat of wild boar, whereas aflatoxin B1 and citrinin were determined in only one sample. Further research is necessary for systematic safety control of these meat products which are produced according to traditional recipes from family farms in Croatia.

Kakvoća kukuruzne silaže s obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava Koprivničko-križevačke županije tijekom 2012. godine

Manuela Zadravec, Marija Duvnjak, Jelka Pleadin, Kristina Kljak, Vesna Jaki Tkalec, D. Majnarić i M. Mitak



Uvod

Kukuruz (*Zea mays* L.) je treća svjetska žitarica nakon pšenice i riže. Zbog svog niskog pufernog kapaciteta, visoke suhe tvari i optimalne koncentracije topivih ugljikohidrata (Nkosi i sur., 2009.) silaža cijele biljke kukuruza danas predstavlja najvažniju silažnu kulturu u Republici Hrvatskoj, a i diljem svijeta. Siliranje je proces anaerobnog konzerviranja voluminozne krme mliječno kiselinskom fermentacijom čime se smanjuje mogućnost gubitka hranjivih tvari od žetve do konzumacije krme (Seglar, 2003., Fulgueira i sur., 2007.). Osnovni koraci u procesu siliranja su: brza uspostava anaerobnih uvjeta, brza proizvodnja mliječne kiseline i brzi pad pH te održavanje anaerobnih uvjeta prilikom skladištenja i korištenja silaža (Kung, 2001.).

Anaerobni uvjeti i brza produkcija mliječne kiseline, koja brzo snižava pH vrijednost silaže, inhibiraju aktivnost nepoželjnih mikroorganizama (kvasaca, plijesni, enterobakterija i klostridija) uzročnika kvarenja silaže. Ukoliko se pH ne smanji dovoljno

brzo, nepoželjni mikroorganizmi će nastaviti svoju aktivnost te će se time smanjiti vjerojatnost proizvodnje stabilne i kvalitetne silaže (Meeske 2005., Fulgueira i sur., 2007.). Uz mliječnu kiselinu, bakterije mliječne kiseline fermentacijom vodotopivih ugljikohidrata stvaraju i octenu kiselinu, dobar inhibitor kvasaca, a u tragovima je još moguća prisutnost maslačne i propionske kiseline, koje su netipični produkti fermentacije silaža i često su povezane s procesom kvarenja silaža (Kung i Stokes, 2001.).

Kvarenje silaže je posljedica aerobnih uvjeta u silaži (Reis, 2005.), što dovodi do razgradnje mliječne kiseline od strane kvasaca i nekih bakterija.

Razgradnjom mliječne kiseline dolazi do rasta pH silaže prema neutralnom području što za posljedicu ima veću aktivnost mikroorganizama odgovornih za kvarenje silaže. Kvarenje silaža dovodi do gubitka hranjivih tvari te zagrijavanja silaže i produkcije nepoželjnih produkata (maslačne kiseline, etanola, amonijaka,

Manuela ZADRAVEC, dr. med. vet., dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, docentica, dr. sc. Mario MITAK, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Marija DUVNJAK, dipl. ing. biotehnol., dr. sc. Kristina KLJAK, dipl. ing. kem., Agronomski fakultet, Zagreb; dr. sc. Vesna JAKI TKALEC, dr. med. vet., dr. sc. Darko MAJNARIĆ, znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut-Veterinarski zavod Križevci

slobodnih amina i amida) (Filya, 2003., Seglar, 2003.).

Pravilna priprema, skladištenje i klasifikacija su osnovni preduvjeti za optimalno korištenje silaža u hranidbi preživača. Međutim, silaža je istovremeno izrazito varijabilna u svojim karakteristikama zbog mnogih čimbenika koji mogu utjecati na kvalitetu procesa siliranja. Upravo zbog navedenog razloga, cilj ovog istraživanja je bio napraviti *screening* fermentacijskih i mikrobioloških karakteristika kakvoće silaža, proizvedenih u različitim uvjetima na obiteljskim gospodarstvima Koprivničko-križevačke županije.

Materijal i metode

Biljni materijal

Tijekom siječnja i veljače 2012. godine na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima s područja Koprivničko-križevačke županije prikupljen je 31 uzorak kukuruzne silaže. Uzorkovanje i priprema uzorka za analizu provedeni su u skladu s normama *ISO 6497:2002.* i *ISO 6498:1998.*

Mikrobiološka analiza

Za određivanje ukupnog broja bakterija u gramu korištena je metoda u skladu s normom *HRN EN ISO 4833:2003.* U 20 g usitnjene silaže dodano je 180 mL PPV + Tween 80 (Merck, Njemačka) te homogenizirano u stomaheru (Bag Mixer, Interscience, Francuska) kroz 3 minute. Tako dobiveno inicijalno razrjeđenje razrijeđeno je u koncentracijskom rasponu od 10^{-1} do 10^{-10} . Od svakog razrjeđenja u duplikatu odpipetiran je 1 mL alikvota u Petrijevu zdjelicu koja je potom zalivena s 12-15 mL Plate count agar-a (PCA) (Merck, Njemačka). Inokulum s agarom pažljivo je promiješan rotiranjem zdjelice po podlozi i inkubiran kroz 72 ± 3 h u aerobnim uvjetima na $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Nakon predviđenog vremena inkubacije izbrojane su porasle kolonije na agaru i utvrđen je broj bakterija u gramu.

Broj kvasaca i plijesni određen je u skladu s normom *ISO 21527-2:2008.* Inicijalno razrjeđenje i niz razrjeđenja napravljeni su na isti način kao i kod određivanja ukupnog broja bakterija u gramu. Alikvot od 0,1 mL niza razrjeđenja otopine nacijsjepljen je na DG 18 agar (Merck, Njemačka) i ravnomjerno razmazan L-štapicom po površini agara. Inokulirane ploče inkubirane su kroz 5 dana na $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$) u aerobnim uvjetima nakon čega su izbrojane porasle kolonije kvasaca i plijesni te je njihov broj određen u gramu.

Kemijska analiza

Određivanje kiselina

Po modifikaciji Flieg metode (Balzer, 1961.) u odmjernu tikvicu od 1L stavljeno je 100 g silaže, dodano 1 mL formaldehida i dopunjeno vodom do oznake. Promučkano je više puta i ostavljeno stajati preko noći te je sadržaj filtriran preko nabranog filter papira. Od filtrata je uzeto 200 mL, dodano 20 mL vapnenog mlijeka i 10 mL otopine bakrenog sulfata te ostavljeno stajati 1 sat. Sadržaj je potom dopunjen do oznake i filtriran preko nabranog filter papira.

Određivanje octene i maslačne kiseline: 200 mL bistrog filtrata stavljeno je u tikvicu zajedno s 5 mL sumporne kiseline (1+1) te priključeno na destilacijsku cijev. Destilacijski postupak proveden je tako da je tijekom 20 min. od prve kapi predestilirano 100 mL, a tijekom daljnjih 10 min. 50 mL.

Određivanje mliječne kiseline: u ostatak od 55 mL dodano je 55 mL otopine kromsumporne kiseline te uz povratno hladilo od početka vrenja kuhano 5 min. Potom je kroz hladilo dodano 100 mL vode i predestilirano 50 mL preko prve destilacijske aparature.

Tri dobivena destilata titrirana su s 0,05 M NaOH do slabo crvene boje uz fenolftalein kao indikator. Titracijske vrijednosti pomnožene su s 1,25 s obzirom na napravljeno razrjeđenje. Rezultati su

određeni računskim putem i izraženi kao postotci mliječne, octene i maslačne kiseline, a temeljem tabličnih podataka izvršeno je bodovanje te ocjena silaže.

Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost izmjerena je pH metrom (MP220, Mettler Toledo) uz pripremu 100 g uzorka silaže i dodatak 1000 mL destilirane vode.

Statistička analiza

Korelacija karakteristika kakvoće istraživanih silaža ispitana je uporabom CORR procedure SAS statističkog paketa (Statistical Analysis System, 2003.). Statistička značajnost postignuta je uz uvjet $P \leq 0,05$.

Rezultati i rasprava

Silirana voluminozna krma često sadržava više od 50% suhe tvari obroka mliječnih krava (Seglar, 2003.), stoga kakvoća silirane krme ima važan utjecaj na količinu i kakvoću mlijeka. Općenito je kontrola kakvoće silaža važan dio hranidbenog programa mliječnih farmi. U provedenom istraživanju pratila se kakvoća silaža kukuruzne biljke u uporabi, na domaćinstvima u Koprivničko-križevačkoj županiji, tijekom siječnja i veljače 2012. godine. Obzirom da je cilj ovog istraživanja bio vezan uz "screening" silaža u uporabi za navedeno razdoblje, podatci o dodavanim aditivima ili adsorbensima, kao ni o trajanju perioda izuzimanja silaža nisu uzimani.

Tabela 1. Rezultati osnovnih fermentacijskih parametara 31 uzorka kukuruzne silaže

Uzorak	pH	Ukupne kiseline g/kg svježeg uzorka	Omjer mliječna/octena kiselina
1	4,13	43,71	1,9
2	4,08	52,82	1,2
3	4,21	27,53	1,2
4	4,38	29,98	2,2
5	7,11	22,69	0,3
6	6,62	22,11	0,2
7	7,09	23,21	0,0
8	3,74	30,10	4,1
9	3,92	58,97	2,1
10	4,12	36,63	0,7
11	3,99	48,16	2,6
12	3,82	38,13	5,5
13	3,87	44,18	1,9
14	6,37	26,46	0,4
15	3,91	41,03	1,8
16	4,26	28,14	2,1
17	4,01	17,70	1,6
18	6,3	5,96	0,7
19	3,94	28,28	4,1
20	3,82	29,78	4,0
21	3,97	64,90	5,1
22	4,03	33,93	4,5
23	3,77	36,63	4,1
24	4,21	39,58	4,0
25	4,03	59,53	4,9
26	4,18	22,20	3,2
27	4,23	7,04	2,8
28	3,94	57,77	2,5
29	4,16	32,65	4,9
30	5,72	11,19	1,9
31	4,33	6,78	2,6

Tabela 2. Udjeli hlapivih u ukupnim kiselinama prema Fliege analizi u 31 uzorku kukuruzne silaže

Uzorak	Mliječna kiselina(%)	Octena kiselina (%)	Maslačna kiselina (%)	Ocjena po Fliege-u
1	63,39	33,24	3,36	dobra
2	53,62	46,38	0	dobra
3	54,31	45,69	0	dobra
4	68,98	31,02	0	vrlo dobra
5	24,42	75,58	0	zadovoljava
6	18,09	81,91	0	zadovoljava
7	3,84	96,16	0	zadovoljava
8	80,53	19,47	0	vrlo dobra
9	67,32	32,68	0	vrlo dobra
10	40,19	59,81	0	dobra
11	72,57	27,43	1,35	vrlo dobra
12	84,53	15,47	0	vrlo dobra
13	65,82	34,18	0	vrlo dobra
14	29,52	70,48	0	zadovoljava
15	64,08	35,92	0	vrlo dobra
16	68,02	31,98	0	vrlo dobra
17	62,21	37,79	0	vrlo dobra
18	40,76	59,24	0	dobra
19	80,31	19,69	0	vrlo dobra
20	79,85	19,78	0	vrlo dobra
21	83,52	16,48	0	vrlo dobra
22	81,87	18,13	0	vrlo dobra
23	80,43	19,57	0	vrlo dobra
24	79,56	19,88	0	vrlo dobra
25	83,03	16,97	0	vrlo dobra
26	75,95	24,05	0	vrlo dobra
27	73,86	26,14	0	vrlo dobra
28	71,61	28,39	0	vrlo dobra
29	83,19	16,81	0	vrlo dobra
30	65,69	34,31	0	vrlo dobra
31	72,27	27,73	0	vrlo dobra

Od pokazatelja kakvoće fermentacije, određena je pH vrijednost (tabela 1) i omjer fermentacijskih kiselina prema Fliege-u (tabela 2), a od mikrobioloških pokazatelja kvalitete fermentacije određene su ukupne bakterije i ukupni kvasci/plijesni (tabela 3). pH vrijednost se uobičajeno smatra brzim pokazateljem kakvoće fermentacije, jer se jednostavnom i jeftinom analizom, koja se može provesti na farmi, može ukazati na dobru ili lošu fermentaciju. U analiziranim kukuruznim silažama pH se kretao u rasponu od 3,74 do 7,11, od čega je većina imala pH niži od graničnog pH 4,2, a što pokazuje da je kukuruzna silaža uglavnom bila dobro silirana prema ovom pokazatelju kakvoće siliranja. Kvalitetno silirana silaža kukuruza ima pH između

3,7 i 4,2, uz iznimke do 4,5 ukoliko je riječ o silaži vlažnog zrna kukuruza (Kung, 2001., Kung i Stokes, 2001.). Visoke vrijednosti pH su pokazatelj loše fermentacije silaže i/ili mogućeg kvarenja silaže. Pokvarene silaže često imaju pH iznad 7,5 (Kung i Stokes, 2001.). Od svih kiselina koje nastaju fermentacijom prilikom siliranja, na pH najviše utječe sadržaj mliječne kiseline, što se može vidjeti i na primjeru analiziranih silaža. S porastom sadržaja mliječne kiseline u ukupnim kiselinama istraživanih silaža opada i pH vrijednost što je potvrdila i negativna korelacija (-0,85, $P < 0,001$) između ova dva pokazatelja.

Udio mliječne, octene i maslačne kiseline glavni je pokazatelj optimalnih uvjeta fermentacije. U optimalnim

uvjetima udio mliječne kiseline u ukupnim organskim kiselinama u silaži ne bi trebao biti manji od 65-70% (Kung i Shaver, 2001.). Dodatno, omjer mliječne i octene kiseline je isto tako jednostavan i dobar pokazatelj kakvoće fermentacije silaže. Od ukupnog broja analiziranih silaža njih 35% je imalo optimalan odnos mliječne i octene kiseline (tabela 1), s omjerom većim od 3:1 (Kung i Stokes, 2001.). U uzorcima pod rednim brojem 5, 6, 7 i 14 dominantna je octena kiselina; ona je slabija kiselina od mliječne kiseline te se pH vrijednost u navedenim silažama kretala oko 7. Posljedično su takve silaže svrstane po Fliege-u u razred zadovoljavajućih silaža koje su podložnije kvarenju nego li silaže s optimalnim sadržajem organskih kiselina (tabela 2). Ujedno, rezultati iz tabele 3. ukazuju na to da su u silažama 5, 6, 7 i 14 koncentracije kvasaca i plijesni veće od 10^5 cfu/g ($5 \log_{10}$ cfu/g) svježe mase silaže, a s obzirom da kvasci dodatno razgrađuju mliječnu kiselinu, ove silaže čini sklonijima zagrijavanju i nestabilnijima prilikom izuzimanja silaža (Kung, 2001., Kung i Stokes, 2001.). Dva uzorka kukuruzne silaže, redni broj 1 i 11 imali su redom 3,36 i 1,35% maslačne kiseline. Prisutnost maslačne kiseline u uzorcima silaža dokaz je sekundarne fermentacije klostridijama. Klostridije su jedne od najčešćih kontaminanata prisutnih u anaerobnim uvjetima u izrazito vlažnim silažama. One proizvode maslačnu kiselinu i dušične spojeve (amonijak, amine, amide) koji su rezultat sekundarne fermentacije i proteolize (Seglar, 2003.). Posljedica toga su silaže s velikim gubitcima suhe tvari, lošom konzumacijom i visokim udjelom štetnih spojeva, u prvom redu amonijaka.

Mikroorganizmi iz carstva gljiva (kvasci i plijesni) kontaminirajući krmu mogu izložiti životinje, ali i ljude, različitim bolestima (Gotlieb, 2002.). U 32% silaža utvrđen je broj kvasaca manji od 10^5 cfu/g ($5 \log_{10}$ cfu/g), dok su ostale silaže imale više od 10^5 cfu/g ($5 \log_{10}$ cfu/g). Prilikom izuzimanja silaža s brojem kvasaca većim

od 10^5 cfu/g (\log_{10} 5 cfu/g) potreban je oprez kako ne bi u aerobnim uvjetima izuzimanja došlo do gubitaka organske tvari, povišenja pH, zagrijavanja i rasta plijesni. Kvasci prethode pojavi plijesni u silaži, jer plijesni ne mogu rasti pri pH nižem od 4,5 (Seglar, 2003.). Smatra se da su koncentracije plijesni veće od 10^6 cfu/g (\log_{10} 6 cfu/g) svježe mase potencijalno štetne. Za plijesni su definirana četiri područja: $\leq 10^3$ cfu/g ($3 \log_{10}$ cfu/g) sigurno krmivo, 10^3 - 10^5 cfu/g (\log_{10} 3-5 cfu/g) tranzicijsko područje, 10^5 - 10^6 cfu/g (\log_{10} 5-6 cfu/g) potreban je oprez, $>10^6$ cfu/g ($6 \log_{10}$ cfu/g) krmivo potencijalno nije za konzumaciju (Taysom, 2002.).

Od ukupnog broja silaža, u njih 68% nisu određene plijesni. Silaže pod rednim brojem 14, 18 i 26 imale su zabrinjavajuće visoki udio plijesni ($>10^6$ cfu/g). U ostalih pet silaža u kojima su plijesni određene, broj nije prelazio zabrinjavajuću granicu. Općenito je preporuka da se u silažama u kojima je detektirana visoka prisutnost plijesni napravi analiza mikotoksina (Fulgueira i sur., 2007.).

Analizom povezanosti udjela mliječne kiseline (tabela 2) i mikrobioloških rezultata (tabela 3) utvrđena je statistički značajna negativna korelacija ($-0,62, P < 0,001$) između udjela mliječne kiseline i broja ukupnih bakterija te između udjela mliječne kiseline i ukupnog broja kvasaca i plijesni ($-0,60, P < 0,001$). Prema korelacijama, što je veći udio mliječne kiseline u ukupnim kiselinama u silaži, manje je prisutnih bakterija, kvasaca i plijesni. Ova povezanost u skladu je s djelovanjem mliječne kiseline – njenom brzom proizvodnjom opada i pH koji inhibira rast nepoželjnih mikroorganizama (Kung, 2001.). Prema istome autoru, kontinuiranom proizvodnjom mliječne kiseline smanjuje se i rast svih bakterija, uključujući i same bakterije mliječne kiseline.

Dobiveni rezultati fermentacijske i mikrobiološke analize uzoraka kukuruzne silaže s domaćinstava u Koprivničko-križevačkoj županiji pokazali su da je većina silaža zadovoljila kriterije kvalitetnog siliranja.

Tabela 3. Rezultati mikrobiološke analize 31 uzorka kukuruzne silaže sakupljenih s obiteljskih poljoprivrednih gospodarstva u Koprivničko-križevačkoj županiji

Uzorak	UBB ¹ log ₁₀ cfu/g	Kvasci i plijesni log ₁₀ cfu/g	Prisutnost mikroorganizama iz carstva gljiva ²
1	7,000	3,301	K
2	7,362	6,362	K
3	8,756	9,000	K
4	10,431	8,949	K
5	10,000	10,146	K
6	10,079	8,568	K
7	10,079	8,898	K
8	6,398	6,477	K
9	8,204	5,845	K
10	6,342	7,544	K
11	8,079	10,531	K
12	6,531	6,531	K
13	6,672	6,041	K
14	10,000	7,602	P/K
15	5,968	4,301	K
16	7,959	3,000	K
17	8,146	5,146	P
18	9,398	8,914	P
19	8,000	5,716	K
20	5,716	5,602	K
21	7,114	4,903	K
22	6,643	4,301	K
23	6,301	4,602	K
24	7,799	4,978	P
25	7,176	3,000	K/P
26	9,041	6,041	K/P
27	6,987	3,000	K/P
28	6,079	3,000	K/P
29	8,362	5,230	P
30	8,519	5,949	P
31	7,771	4,904	K

¹UBB = ukupne bakterije; ² kvasci=K i/ili plijesni=P

Sažetak

Kukuruzna silaža danas predstavlja najvažniju silažnu kulturu u Republici Hrvatskoj i diljem svijeta, a kontrola njene kakvoće važan je dio hranidbenog programa mliječnih farmi. Cilj je ovog istraživanja bio utvrditi fermentacijske i mikrobiološke karakteristike kakvoće silaža s obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava iz područja Koprivničko-križevačke županije. Početkom 2012. godine sakupljen je 31 uzorak kukuruzne silaže, proizvedene u različitim uvjetima. Određena je pH vrijednost i omjer fermentacijskih kiselina prema Fliege-u, a od mikrobioloških pokazatelja kakvoće fermentacije određene su ukupne bakterije, kvasci i plijesni. Izmjerene pH vrijednosti kretale su se u rasponu

od 3,74 do 7,11, od čega je većina uzoraka imala pH niži od graničnog (pH 4,2), pokazujući da je silaža bila uglavnom dobro silirana prema ovom pokazatelju kakvoće siliranja. U 35% uzoraka silaža određen je optimalan odnos mliječne i octene kiseline s omjerom većim od 3:1. Ujedno, 32% uzoraka imalo je broj kvasaca manji od 10⁵ cfu/g (5 log₁₀ cfu/g), a u 68% uzoraka plijesni nisu određene. Dobiveni rezultati fermentacijske i mikrobiološke analize uzoraka kukuruzne silaže pokazali su da, unatoč varijabilnosti, većina zadovoljava kriterije kvalitetnog siliranja.

Literatura

- BALZER, I. (1961): Analitičke metode određivanja kvalitete silaže. Krmiva 2, 41-44.

2. FILYA, I. (2003): The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of wheat, sorghum, and maize silages. *J. Appl. Microbiol.* 95, 1080–1086.
3. FULGUEIRA, C. L., S. L. AMIGOT, M. GAGGIOTTI, L. A. ROMERO and J. C. BAŠIĆIĆ (2007): Forage quality: techniques for testing. *Fresh Produce* 1, 121–131.
4. GOTLIEB, A. R. (2002): Mycotoxins in silage: a silent loss in profits. <http://www.insurance-portal.com/051502fcmold.pdf>.
5. HRN EN ISO 4833 (2003): Horizontalna metoda za brojanje mikroorganizama - Postupak brojanja pri 30 °C, Hrvatski zavod za norme, Zagreb, Hrvatska.
6. ISO 21527-2 (2008): Postupak brojanja kolonija kvasaca i plijesni u proizvodima koji imaju aktivnost vode manju ili jednaku 0,95.
7. ISO 6497 (2002): Animal feeding stuffs sampling.
8. ISO 6498 (1998): Animal feeding stuffs -- Preparation of test samples.
9. KUNG, L. (2001): Silage fermentation and additives. In: *Science and Technology in the Feed Industry. Proc. Alltech's Seventeenth Annual Symp.* (LYONS, T. P. and K. A. JACQUES eds.) Nottingham University Press, pp. 145-159.
10. KUNG, L. and SHAVER, R. D. (2001): Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on Forage* 3, 1-5. University of Wisconsin. <http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/Fermentation.pdf>
11. KUNG, L. and M. R. STOKES (2001): Analyzing silages for fermentation end products. http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/articles/analyzing_silages_for_fermentati.htm
12. MEESKE, R. (2005): Silage additives: Do they make a difference? *S. Afr. J. Anim. Sci.* 6, 49-55.
13. NKOSI, B. D., R. MESKE, D. PALIC, T. LANGA, K.-J. LEEUW and I. B. GROENEWALD (2009): Effects of ensiling whole crop maize with bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability, and growth performance of lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154, 193–203.
14. REIS, R. A., E. O. ALMEIDA, G. R. SIQUEIRA, T. F. BERNARDES, E. R. JANUSCKIEWICZ, and M. T. P. ROTH (2005): Microbial changes and aerobic stability in high moisture maize silages inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Proc. of the 14th International Silage Conference a satellite workshop of the 20th International Grassland Congress* (PARK, R. S. and M. D. STRONGE, eds.) Wageningen Academic Publishers, p. 223.
15. SEGLAR, B. (2003): Fermentation Analysis and Silage Quality Testing. *Proc. Minnesota Dairy Health Conference, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota*. http://www.cvm.umn.edu/dairy/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/documents/asset/cvm_22260.pdf.
16. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS; 2003): *OnlineDoc® Software Release 9.1.*, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
17. TAYSOM, D. (2002): U.S. Dairy Forage Research Center: Managing Forage Resources. <http://www.ars.usda.gov/Research/docs.htm?docid=11065>.

Quality of corn silage from family farms in Koprivnica-Križevci County during 2012

Manuela ZADRAVEC, DVM, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Mario MITAK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Marija DUVNJAK, BSc, Kristina KLJAK, BSc, PhD, Faculty of Agriculture, Zagreb; Vesna JAKI TKALEC, DVM, Darko MAJNARIĆ, DVM, PhD, Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute-Križevci Veterinary Institute

Corn silage is currently the most important silage culture in Croatia and around the world, and therefore its quality control is an important part of the dietary programmes of dairy farms. The aim of this study was to determine the characteristics of microbial fermentation and quality of silage from family farms in Koprivnica-Križevci County. A total of 31 samples of corn silage produced in different conditions were collected in early 2012, and their pH value and the ratio of acid fermentation by the Fliege-in method were determined. Microbiological quality indicators were determined according to fermentation bacteria, yeasts and moulds. The measured

pH values were in the range from 3.74 to 7.11, and the majority of samples had a pH lower than the limit (pH 4.2), demonstrating that the silage quality was generally good. Thirty-five percent (35%) of silage samples were determined to have an optimal ratio of lactic and acetic acid, with a ratio greater than 3:1. Also, 32% of samples had a yeast count of less than 10^5 cfu/g ($5 \log_{10}$ cfu/g), and 68% were not certainly not moulds. The obtained results of the fermentation and microbiological analysis of the samples of corn silage showed that, despite variability, most samples met the criteria of good silage production.

Ainil

Ainil je generički ketoprofen koji ima sljedeće indikacije:
Govedo

Protuupalno, analgetsko i antipiretsko liječenje sljedećih patoloških stanja:

- Upalni procesi pridruženi infekcijama dišnog sustava (obavezno antibiotsko liječenje);
- Akutni mastitis i edem vimena (obavezna primjena antibiotika);
- Akutni poremećaji mišićno-koštanog sustava (ozljede, hromost, upale zglobova i dr.) uz obaveznu etiološku terapiju;
- Pomoć u liječenju poslijeporođajne pareze pridružene teljenju.

Osim što mu je cijena **99,99 kn/50 ml**, **Ainil** ima
karencu za mlijeko **0** dana.

Da, **0** dana.



Vitamina AD3E

Vitamina AD3E su visokokonzentrirani liposolubilni vitamini AD3E

Doza za npr. kravu je **5 ml**

Da, **5 ml**.



Za više informacija kontaktirati uvoznika:
Centralna veterinarska agencija d.o.o. Zagreb
091 46 55 112
091 46 55 113



Aflatoksin M1 u mlijeku i mliječnim proizvodima

Nina Bilandžić, Ivana Varenina, Đurđica Božić, Marija Sedak, Maja Đokić, Božica Solomun Kolanović i Ž. Cvetnić



Uvod

Mikotoksini su toksične tvari koje nastaju metabolizmom pojedinih gljiva (*Aspergillus*, *Stachybotris*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cephalosporium*, itd.). Rast gljivica i stvaranje mikotoksina može se pojaviti u brojnim biljnim vrstama što može predstavljati ozbiljne rizike za zdravlje ljudi i životinja (Yannikuoris i Jouany, 2002.). U povoljnim uvjetima za razvoj gljivica, mikotoksini mogu nastati tijekom bilo koje faze proizvodnje i transformacije u prehrambeni proizvod (Slika 1). Prema tome, mikotoksini mogu biti proizvedeni u biljkama zaraženim u polju, tijekom žetve, tijekom skladištenja



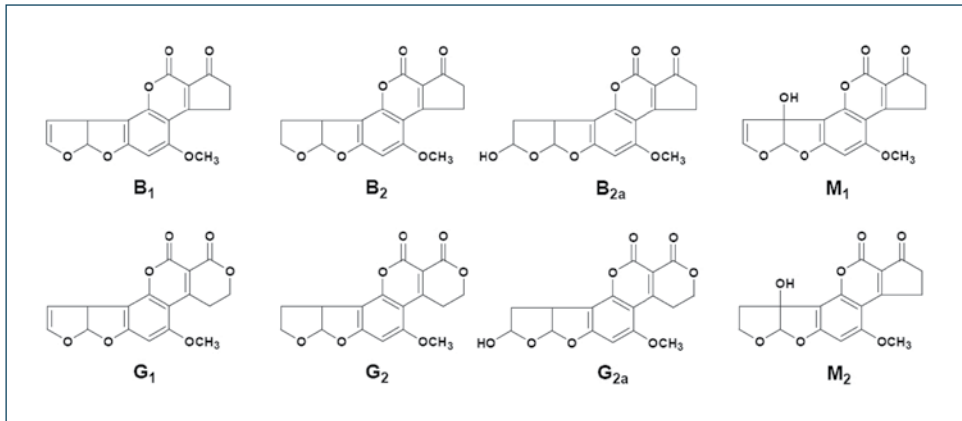
Slika 1. Primjer rasta toksikotvornih plijesni

i prijevoza, tijekom tehnološke transformacije i pri pripremi hrane (Husein i Brasel, 2001.).

Najčešće analizirani mikotoksini u hrani su aflatoksini, okratoksin (OTA), zearalenon (ZEA) i deoksivalenola (DON). Međutim, samo aflatoksini su podvrgnuti zakonskim ograničenjima u hrani za životinje. Poznato je 18 aflatoksina, a najvažniji predstavnici su aflatoksini B1, B2, G1, G2, pronađeni u hrani i krmivima te M1, M2 kao metabolički produkti aflatoksina B1 i B2 pronađeni u mlijeku i mliječnim proizvodima (Heshmati i Milani, 2010.) (Slika 2).

Aflatoksini su izrazito toksični, mutageni, teratogeni i karcinogeni spojevi, a aflatoksin B1 je najsnažniji poznati karcinogen. Unešeni u organizam mogu biti aktivirani ili inaktivirani mikrosomskim oksidazama i izazvati toksično oštećenje jetre, a ponekad i drugih organa. Istraživanja načina djelovanja aflatoksina B1 otkrila su njegov inhibicijski učinak na replikaciju DNK i RNK te na sintezu proteina, ali su dokazani i objavljeni učinci i

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, izvanredni profesor, Hrvarski veterinarski institut, Zagreb



Slika 2. Strukture aflatoksina

na citoplazmene membrane i na put oksidativne fosforilacije (Duraković i Duraković, 2003.).

Utvrđivanje prisutnosti aflatoksina u hrani za životinje je važno zbog moguće kontaminacije mlijeka u životinja hranjenih s aflatoksin-kontaminiranom hranom.

Legislativa za aflatoksine

Kao najjači karcinogen s toksičnim utjecajem aflatoksin B1 na ljude djeluje putem izravne konzumacije preko hrane ili kao metabolički zaostatak u hrani životinjskog podrijetla. Različitim pravilnicima su dane najviše dopuštene količine aflatoksina u hrani te hrani za životinje. Aflatoksini su moćni karcinogeni, teratogeni i mutageni, a aflatoksin B1 ima visoku stopu toksičnosti za životinje, nakon čega slijede aflatoksini M1, G1, B2 i G2 (Gourama i Bullerman, 1995.). Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasificirala je aflatoksin B1 koji se smatra najmoćnijim hepatokarcinogenim agensom u sisavaca u skupinu 1- klasa agenasa koji su svakako karcinogeni za ljude. Aflatoksin M1 je s druge strane klasificiran u dio grupe 2B, kao agens koji je eventualno karcinogen u ljudi (IARC, 1993., Maurice, 2002.).

U Hrvatskoj je Ministarstvo poljoprivrede izdalo Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012.) prema europskoj direktivi 466/2001/EC (EC, 2001.). Primjerice najviše dopuštene količine (NDK) aflatoksina B1 su za različite vrste hrane: 8 µg/kg za bademe, pistacije i koštice marelice namijenjenih za prehranu ljudi; 2 µg/kg za kikiriki, lješnjak i sušeno voće te žitarice i proizvode od žitarica; 5,0 µg/kg za kukuruz i rižu koji se sortiraju i drugačije fizikalno obrađuju prije uporabe za prehranu ljudi ili kao sastojak hrane. Niže vrijednosti za B1 od 0,1 µg/kg su određene za dječju hranu te za prerađenu hranu na bazi žitarica i hranu za dojenčad i malu djecu.

NDK za aflatoksin M1 za sirovo mlijeko, toplinski obrađeno mlijeko i mlijeko za proizvodnju mliječnih proizvoda je 0,05 µg/kg (50 ng/kg). Za početnu i prijelaznu hranu za dojenčad, uključujući početno i prijelazno mlijeko za dojenčad te hranu za posebne medicinske potrebe namijenjenu posebno dojenčadi NDK je 0,025 µg/kg aflatoksina M1.

Nadzor nad hranom za životinje provodi se prema Pravilniku o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje (Pravilnik 80/2010.) načinjen je prema

direktivi 2003/100/EC (EC, 2003.). Ovaj Pravilnik daje posebnu pozornost na koncentracije aflatoksina B1 u hrani za životinje obzirom na vrstu i starost životinja te životinje za proizvodnju mlijeka, odnosno obzirom na sirovine kada je udio vlage u hrani za životinje, preračunat na 12% (potpune i dopunske hrane). NDK za potpune krmne smjese za životinje za proizvodnju mlijeka je 5 µg/kg aflatoksina B1.

Aflatoksin M1

Aflatoksin M1 je hepatokarcinogeni metabolit, dobiven hidrosilacijom aflatoksina B1 pronađen u mlijeku krava koje su konzumirale hranu zagađenu aflatoksinom B1. Stopa apsorpcije aflatoksina i izlučivanje aflatoksina M1 u mlijeku, varira između pojedinih životinja, iz dana u dan te od jedne do druge mužnje. Nakon izloženosti životinja hranom s aflatoksinom B1 mlijeko je kontaminirano s hidrosil-metabolitom aflatoksina M1 (Veldman i sur., 1992.). Općenito se smatra da se otprilike 1-3% aflatoksina B1 prisutnog u hranjivu životinja pojavljuje kao aflatoksin M1 u mlijeku, što varira od životinje do životinje, vremenu izdavanja mlijeka i mnogim drugim faktorima. U krava s visokim prinosom mlijeka potrošnja znatno veće količine hrane može dovesti do prijenosa (carry-over) i do 6,2% (EFSA, 2004., Fink-Gremmels, 2008.). Dodatci s konzerviranom krmom, posebno silažom od kukuruza i trave se daju s obzirom na energetske potrebe stada s visokim prinosom mlijeka i smanjenja ispaše tijekom zimskih mjeseci. Smatra se da proizvodna stada goveda i ovaca koja su na ispaši imaju nizak rizik od kontaminacije. Rizik je u velikoj mjeri vezan na ishranu hranjivima na bazi zrna (Fink-Gremmels, 2008., Duarte i sur., 2013.).

Ako se koristi kontaminirana hrana, aflatoksin M1 će se pojaviti u mlijeku dva do tri dana nakon ingestije. Isto tako

dva do tri dana nakon primjene hranidbe bez aflatoksina dolazi do smanjenja koncentracija aflatoksina M1 u mlijeku (Pittet, 1998., Prandini i sur., 2009.).

U odnosu na aflatoksin B1 molekulu, karcinogenost aflatoksina M1 je oko 2-10% izvornog oblika (Creppy, 2002.). Čovjek može biti izložen aflatoksinu M1 putem endogene proizvodnje ili unosom mliječnim proizvodima. Najviše su izložena dojenčad i djeca, jer su najveći potrošači te namirnice, a ne smije se zanemariti i izlučivanje toksina u mlijeku žena koje doje (Turconi i sur., 2004.).

Aflatoksin M1 je relativno stabilan spoj u sirovom i obrađenom mlijeku na koji ne djeluje postupak pasterizacije ili prerade u sir. Ipak, uslijed njegove slabe topljivosti u maslacu i dobre apsorpcije u skuti, proizvodi kao što su maslac, skuta i sirutka pokazuju odstupanja u sadržaju aflatoksina M1 u odnosu na izvorno mlijeko. Prilikom procesa koji obuhvaćaju izdvajanje masnoće aflatoksin se veže na hidrofobni dio molekule kazeina te time dominira u nemasnim frakcijama (Van Egmond i sur., 1986.).

U sirutki, prilikom proizvodnje sira, razina aflatoksina M1 se kretala od razina koje se ne mogu detektirati do 84,1 ng/kg. Količina aflatoksina M1 zaostalog u sirutki izražavala se s faktorom obogaćenja, odnosno omjerom količine aflatoksina M1 u sirutki i količine aflatoksina M1 u mlijeku iz koje je proizvedena. Srednja vrijednost je iznosila 4,9 ng/kg. Razlog tomu je koncentriranje sirovog mlijeka prilikom proizvodnje (Kaniou-Grigoriadou i sur., 2004.). Tako je na primjer u sirevima u Turskoj u 27,5% uzoraka utvrđena koncentracije iznad 250 ng/kg (Sarimehmetoglu i sur., 2004.).

Određeni znanstveni radovi su pokazali kako postupak sazrijevanja sira utječe na razinu aflatoksina u siru. Utvrđeno je da nakon 2 mjeseca sazrijevanja sira pod kontroliranim uvjetima u uzorcima nije bilo

aflatoksina M1 (Kaniou-Grigoriadou i sur., 2004.). Tu činjenicu moguće je povezati sa znanstvenom potvrdom da mikroorganizmi, uključujući bakterije, kvasce, plijesni, aktinomicete i alge, imaju sposobnost ukloniti ili smanjiti razinu aflatoksina u hrani i hranjivima (Ciegler i sur., 1966.).

Spojevi aflatoksina su termostabilni te se pasterizacijom ne mogu reducirati. Aflatoksini se javljaju i u mlijeku obrađenom ultra-visokim temperaturama (engl. *high temperature processing, UHT*), fermentiranim proizvodima od mlijeka i to s čimbenikom obogaćenja od 3 do 5 u odnosu na izvorno mlijeko (Pietri i sur., 1997.).

Potvrđeno je da je kontaminacija mlijeka i mliječnih proizvoda i varijacije u koncentracijama povezana s geografskim položajem, dijelom države s obzirom na stupanj razvoja i godišnjim dobom (Celik i sur., 2005.). Također, prijenos aflatoksina od hrane do mlijeka (carry-over) u mliječnih krava je pod utjecajem različitih prehranbenih i fizioloških čimbenika, uključujući i režim hranidbe, stupanj digestije, zdravlje životinja, biotransformacijski kapacitet jetre te proizvodnju mlijeka (Duarte i sur., 2013.).

Hladne i tople sezone utječu na zagađenje aflatoksinima time što su u proljeće i ljeto dostupne svježije namirnice za prehranu stoke kao što su ispaša, trava, korov i sirova hranjiva. U vrijeme hladnih mjeseci puno se češće koriste suha pripremljena hranjiva ili koncentрати. U hrvatskim ruralnim područjima česta je ishrana suhim sijenom koje nepravilnim skladištenjem uz neadekvatne uvjete može rezultirati pojavom aflatoksikotvornih plijesni, a time i zagađenje hranjiva toksinima (Kamkar, 2005.).

Važni činitelji o kojima ovisi razina zagađenja aflatoksinima su temperatura i vlaga. Plijesni kao što su *A. flavus* i *A. parasiticus* lako rastu na hranjivima

sa sadržajem vlage između 13-18%, a pogodna relativna vlažnost zraka im je između 50 i 85% (Jay, 1992.). Temperatura pogodna za rast je oko 28 °C. Čimbenici kao što su vlažnost zemlje i oštećenje hranjiva koji su prouzročili insekti također povećavaju mogućnost razvoja takvih plijesni (Sarimehmetoglu i sur., 2004.).

Ipak, najčešći razlog zagađenju su i dalje neadekvatni uvjeti skladištenja. Zato se u Europskoj Uniji i svijetu provode kontrolni planovi čime se nadzire proizvodnja hranjiva za životinje i sadržaj aflatoksina M1 u mlijeku. Veliki dio farmi mliječne industrije koriste silažu sirka kao glavni izvor hrane. Sirak je prosolika žitarica koja dolazi s afričkog i azijskog kontinenta gdje je vlažnost od 85% i temperatura između 27 i 38 °C te je često kontaminirana toksikogenim plijesnima kojima pogoduju takvi uvjeti (*Aspergillus*) (Da Silva i sur., 2004.).

Analitičke metode za određivanje aflatoksina M1

Najviše dopuštene količine aflatoksina određene brojnim regulativama, kako kod nas tako i u svijetu, usmjerili su laboratorije prema razvijanju točnijih i preciznijih metoda. Na putu namirnica od proizvođača do stola prati se eventualna kontaminacija tijekom proizvodnje primjenom metoda koje su brze i jednostavne za primjenu *in situ*.

Analiza aflatoksina prvi put je provedena prije 30 godina i to tankoslojnom kromatografijom. Danas se za određivanje aflatoksina koriste imunokemijske metode (ELISA) kao orijentacijski testovi u rutinskim analizama, uglavnom zbog svoje jednostavnosti i brzine te zbog osjetljivosti određivanja manjom od 0,01 µg/L (Kim i sur., 2000., Lopez i sur., 2001., Pei i sur., 2009.). ELISA metode su bazirane na sposobnosti protutijela da

Tabela 1. Koncentracije aflatoksina M1 u različitim zemljama

Vrsta i kategorija mlijeka	Zemlja (godina)	Srednja vrijednost (ng/L)	% uzoraka koji je viši od 50 ng/L (EU propis)	Referenca
Pasterizirano i UHT mlijeko	Portugal (2011.)	23,4 ± 24,0	5%	Duarte i sur., 2013.
Sirovo kravlje mlijeko	Pakistan (2010.-2011.)	150,7 ± 11,9	76%	Iqbal i Asi, 2013.
UHT kravlje mlijeko	Brazil (2009.)	1000-4200	30,7 %	Oliveira i sur., 2013.
Sirovo kravlje mlijeko	Iran (2007.-2008.)	60,1 ± 57,4	36%	Rahimi i sur., 2010.
Ovčje mlijeko		28,1 ± 13,7	3,9%	
Kozje mlijeko		30,1 ± 18,3	6,7%	
UHT kravlje mlijeko	Španjolska (2008.)	9,69 ± 2,07	0%	Cano-Sancho i sur., 2010.
Sirovo kravlje mlijeko	Hrvatska (2009.)	18,4 ± 7,4	2,8%	Bilandžić i sur., 2010.
Zima-proljeće Ljeto-jesen		4,2 ± 4,4	0 %	
Pasterizirano mlijeko	Centralni Iran (2008.-2009.)	73,8 ± 11,2	26,7%	Fallah, 2010.
UHT kravlje mlijeko		74,3 ± 15,1	17,4%	
Pasterizirano mlijeko	Iran (2008.)	74,91 ± 23,82	80,6%	Sani i sur., 2010.
Sirovo kravlje mlijeko	Iran (2006.)	52,9 ± 4,4	33%	Nemati i sur., 2010.
Proljeće		17,4 ± 3,1		
Ljeto		22,3 ± 0,9		
Jesen		56,3 ± 6,6		
Sirovo kravlje mlijeko	Tajland (2006.-2007.)	50 ± 21	47,5%	Ruangwises i Ruangwises, 2009.
Ljeto		71 ± 28	66,3%	
Kišna sezona		89 ± 34	80%	
Sirovo kravlje mlijeko	Sirija (2005.-2006.)	143 ± 53,22	58,6%	Ghanem i Orfi, 2009.
Ljeto		67 ± 18,43	23,1%	
Sirovo ovčje mlijeko		19 ± 13,8	14,3%	
Pasterizirano mlijeko		492 ± 212,56	80%	
Mlijeko u prahu		12	0%	
Pasterizirano mlijeko	Tabriz, Iran (2008.)	50,55 ± 3,73	62%	Ghazani, 2009.
UHT kravlje mlijeko	Turska (2007.-2008.)	67 ± 11	31%	Tekinşen i Eken, 2008.
Pasterizirano mlijeko	Teheran, Iran (2005.)	72,2 ± 23,5	78%	Oveisi i sur., 2007.
Kozje pasterizirano mlijeko	Campinas, Brazil (2004.-2005.)	72 ± 48	25%	Oliveira i Ferraz, 2007.
Kozje UHT mlijeko		58 ± 44	50%	
Sirovo kravlje mlijeko	Zapadna Francuska (2003.)	14,3 ± 10,1	0%	Boudra i sur., 2007.
UHT kravlje mlijeko	Anatolia, Turska	108,17	47%	Unusan, 2006.
Sirovo kravlje mlijeko	Brazil (2002.-2003.)	13	9%	Shundo i Sabino, 2006.
Pasterizirano mlijeko		32	7,2%	
UHT kravlje mlijeko		34	7,1%	

razlikuju trodimenzionalnu strukturu mikotoksina. Na tržištu su dostupni različiti jednostavni testovi, brzi i pouzdani za određivanje aflatoksina B1, ukupne aflatoksine i aflatoxin M1.

U slučaju povišenih koncentracija aflatoksina, odnosno pozitivnih rezultata provode se potvrdne metode, koje su daleko osjetljivije i specifičnije te se u tu svrhu koristi tekućinska kromatografija s masenom spektrometrijom te visokodjelotvorna kromatografija s fluorescentnom detekcijom (Cavaliere i sur., 2006., Muscarella i sur., 2007.). U svrhu osiguranja kakvoće analitičkih rezultata provode se validacijske studije metoda koje uključuju točnost i preciznost te rutinske kontrole unutar laboratorija koje se zasnivaju na kontrolnim uzorcima.

Koncentracije aflatoksina M1 u mlijeku različitih država

Proveden je niz studija o pojavi aflatoksina M1 u mlijeku posebice u zadnjem desetljeću. U tabeli 1. prikazane su koncentracije aflatoksina M1 u mlijeku različitih zemalja s više kontinenata.

Istraživanja su pokazala varijacije koncentracija s obzirom na godišnje doba te su potvrdile povećanje koncentracija na više od 50 ng/L u vrijeme hladnih mjeseci kada se koriste hranjiva ili koncentрати (Tajkarimi i sur., 2008., Ruangwises i Ruangwises, 2009., Heshmati i Milani, 2010., Nemati i sur., 2010.).

Srednje koncentracije aflatoksina M1 određene ispod 24 ng/L utvrđene su u sirovom i UHT kravljem mlijeku iz Brazila, Francuske, Hrvatske, Španjolske i Portugala (Shundo i Sabino, 2006., Boudra i sur., 2007., Bilandžić i sur., 2010., Cano-Sancho i sur., 2010., Duarte i sur., 2013.). Međutim, nedavna istraživanja u Hrvatskoj pokazala su koncentracije višestruko veće od 50 ng/L u sirovom mlijeku (neobjavljeni rezultati).

Znatno povišene koncentracije aflatoksina M1 (> 140 ng/L) određene su

u sirovom kravljem mlijeku iz Pakistana i Sirije te izuzetno visoke koncentracije od 492 ng/L u pasteriziranom mlijeku iz Sirije (Ghanem i Orfi, 2009., Iqbal i Asi, 2013.).

U zadnjih nekoliko godina prikazane su brojne studije koncentracija aflatoksina M1 u Iranu u kravljem sirovom (Nemati i sur., 2010., Rahimi i sur., 2010.) i pasteriziranom mlijeku (Oveisi i sur., 2007., Ghazani, 2009., Fallah, 2010., Sani i sur., 2010.) srednjih vrijednosti od 52,9 do 74,91 ng/L. Paralelno određivanje koncentracije u ovčjem i kozjem mlijeku pokazalo je koncentracije niže od 31 ng/L (Rahimi i sur., 2010.).

U Brazilu je 20,9% uzoraka kravljeg mlijeka bilo pozitivno, a koncentracije su se kretale u području od 50 do 240 ng/L (Garrido i sur., 2003.). Utvrđene su i povećane koncentracije u kozjem pasteriziranom i UHT mlijeku u 25 odnosno 50% uzoraka (Oliveira i Ferraz, 2007.). U nedavnoj studiji u Brazilu koncentracije u UHT kravljem mlijeku kretale su se čak od 1000 do 4200 ng/L (Oliveira i sur., 2013.).

U europskim zemljama se provode stroge kontrole proizvodnje hranjiva za životinje i planovi praćenja aflatoksina M1 u mlijeku i mliječnim proizvodima, što je razlog niskih razina kontaminacije aflatoksinima. Zemlje sa slabo razvijenim sustavom kontrole hrane trebale bi preko nadležnih tijela povećati učestalost kontrole uzoraka te educirati proizvođače hranjiva za životinje i uzgajivače stoke o potencijalnim štetnim učincima aflatoksina.

Sažetak

Mikotoksin aflatoxin M1 je hepatokarcinogeni metabolit nastao hidroksilacijom aflatoksina B1 u mlijeku krava koje su konzumirale hranu zagađenu aflatoksinom B1. U odnosu na aflatoxin B1, karcinogenost aflatoksina M1 je oko 2-10% izvornog oblika. Izloženost aflatoksinu M1 u ljudi nastaje endogenom proizvodnjom

ili unosom mliječnim proizvodima. Kao najveći potrošači mlijeka dojenčad i djeca su najviše izloženi aflatoksinu M1. Aflatoksin M1 je relativno stabilan spoj u sirovom i obrađenom mlijeku te na njegovo prisustvo ne utječe postupak pasterizacije ili prerade u sir. Prijenos aflatoksina od hrane do mlijeka u mliječnih krava je pod utjecajem prehranbenih i fizioloških čimbenika, uključujući i režim hranidbe, stupanj digestije, zdravlje životinja, biotransformacijski kapacitet jetre te proizvodnju mlijeka. Smatra se da proizvodna stada goveda i ovaca koje su na ispaši imaju nizak rizik od kontaminacije. Rizik je u velikoj mjeri vezan na ishranu hranjivima na bazi zrna, posebno silaže od kukuruza i trave koje se daju pri smanjenju ispaše tijekom zimskih mjeseci i u gospodarstvima s intezivnom proizvodnjom mlijeka. Nakon korištenja kontaminirane hrane aflatoksin M1 će se pojaviti u mlijeku dva do tri dana nakon ingestije. U Europskoj Uniji su određene najveće dopuštene količine aflatoksina M1 za sirovo mlijeko, toplinski obrađeno mlijeko i mlijeko za proizvodnju mliječnih proizvoda 0,05 µg/L. Danas se pri određivanju aflatoksina M1 koriste orijentacijske metode među kojima je najzastupljenija ELISA metoda kao brza, jednostavna i pouzdana metoda. Metode tekućinske kromatografije s masenom spektrometrijom ili visokodjelotvorna kromatografija s fluorescentnom detekcijom primjenjuju se kao potvrdne metode. Proveden je niz studija o pojavi aflatoksina M1 u mlijeku posebice u zadnjem desetljeću. Koncentracije aflatoksina variraju s obzirom na godišnje doba te su utvrđene povećane koncentracije u vrijeme hladnih mjeseci kada se koriste hranjiva ili koncentрати u hranidbi krava. Znatno povišene koncentracije aflatoksina M1 u sirovom kravljem mlijeku određene su u Pakistanu, Siriji i Brazilu te u pasteriziranom mlijeku iz Sirije. Niske razine kontaminacije aflatoksinima određene su u europskim zemljama sa stalnim kontrolama proizvodnje hranjiva za životinje te planiranim praćenjem aflatoksina M1 u mlijeku i mliječnim proizvodima.

Literatura

1. BILANDŽIĆ, N., I. VARENINA and B. SOLOMUN (2010): Aflatoxin M₁ in raw milk in Croatia. *Food Contr.* 21, 1279-1281.
2. BOUDRA, H., J. BARNOUIN, S. DRAGACCI and D. P. MORGAVI (2007): Aflatoxin M1 and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. *J. Dairy Sci.* 90, 3197-3201.
3. CANO-SANCHO, G., S. MARIN, A. J. RAMOS, J. PERIS-VICENTE and V. SANCHIS (2010): Occurrence of aflatoxin M1 and exposure assessment in Catalonia (Spain). *Revista Iberoamericana de Micología* 27, 130-135.
4. CAVALIERE, C., P. FOGLIA, C. GUARINO, F. MARZIONI, M. NAZZARI and R. SAMPERI (2006): Aflatoxin M1 determination in cheese by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1135, 135-141.
5. ÇELIK, T. H., B. SARIMEHMETOGLU and Ö. KÜPLÜLÜ (2005): Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk. *Vet. Arhiv* 75, 57-65.
6. CIEGLER, A., B. LILLEHOJ, R. E. PETERSON and H. H. HALL (1966): Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl. Microbiol.* 14, 934-939.
7. CREPPY, E. E. (2002): Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.* 127, 19-28.
8. DA SILVA, J. B., P. DILKIN, H. FONSECA and B. CORREA (2004): Production of aflatoxins by *Aspergillus flavus* and of fumonisins by *Fusarium species* isolated from Brazilian sorghum. *Braz. J. Microbiol.* 35, 182-186.
9. DUARTE, S. C., A. M. ALMEIDA, A. S. TEIXEIRA, A. L. PEREIRA, A. C. FALCÃO, A. PENA and C. M. LINO (2013): Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure. *Food Contr.* 30, 411-417.
10. ĐURAKOVIĆ, S. i L. ĐURAKOVIĆ (2003): Mikologija u biotehnologiji, Kugler, Zagreb.
11. EC (2001): Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off. J. Europ. Comm.*, L77, 1-13.
12. EC (2003): Commission Directive 2003/100/EC of 31 October 2003 amending Annex I of Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed. *Off. J. Europ. Comm.*, L285, 33-37.
13. EFSA (2004): Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal* 39, 1-27.
14. FALLAH, A. A. (2010): Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. *Food Chem. Toxicol.* 48, 988-991.
15. FINK-GREMMELS, J. (2008): Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. *Food Addit. Contam. A* 25, 172-180.
16. GARRIDO, N. S., M. H. IHA, M. R. SANTOS ORTOLANIDUARTE and R. M. FAVARO (2003): Occurrence of aflatoxins M1 and M2 in milk commercialized in Ribeirão Preto-SP, Brazil. *Food Addit. Contam. A* 20, 70-74.
17. GHANEM, I. and M. ORFI (2009): Aflatoxin M1 in

- raw, pasteurized and powdered milk available in the Syrian market. *Food Contr.* 20, 603–605.
18. GHAZANI, M. H. M. (2009): Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz (northwest of Iran). *Food Chem. Toxicol.* 47, 1624–1625.
 19. GOURAMA, N. and L. B. BULLERMAN (1995): *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: a review. *J. Food Protect.* 58, 1395–1404.
 20. HESHMATI, A. and J. M. MILANI (2010): Contamination of UHT milk by aflatoxin M₁ in Iran. *Food Contr.* 21, 19–22.
 21. HUSSEIN, H. S. and J. M. BRASEL (2001): Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167, 101–134.
 22. IARC (1993): International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Lyon, France, Vol. 56.
 23. IQBAL, S. Z. and M. R. ASI (2013): Assessment of aflatoxin M1 in milk and milk products from Punjab, Pakistan. *Food Contr.* 30, 235–239.
 24. JAY, J. M. (1992): *Modern Food Microbiology*, 4th ed., Chapman & Hall, New York.
 25. KAMKAR, A. (2005): A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Contr.* 16, 593–599.
 26. KANIOU-GRIGORIADOU, I., A. ELEFTHERIADOU, T. MOURATIDOU and P. KATIKOU (2005): Determination of aflatoxin M1 in ewe's milk samples and produced curd and Feta cheese. *Food Contr.* 16, 257–261.
 27. KIM, E. K., D. H. SHON, D. RYU, J. W. PARK, H. J. HWANG and Y. B. KIM (2000): Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit. Contam.* 17, 59–64.
 28. LOPEZ, C., L. RAMOS, S. RAMADAN, L. BULACIO and J. PEREZ (2001): Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Inter. J. Food Microbiol.* 64, 211–215.
 29. MAURICE, O. M. (2002): Risk assessment for aflatoxins in foodstuffs. *Inter. Biodeterior. Biodegrad.* 50, 137–142.
 30. MUSCARELLA, M., S. LO MAGRO, C. PALERMO and D. CENTONZE (2007): Validation according to European Commission Decision 2002/657/EC of a confirmatory method for aflatoxin M1 in milk based on immunoaffinity columns and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta* 594, 257–264.
 31. NEMATI, M., M. A. MEHRAN, P. K. HAMED and A. MASOUD (2010): A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. *Food Contr.* 21, 1022–1024.
 32. OLIVEIRA, C. A. F. and J. C. O. FERRAZ (2007): Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurised, UHT milk and milk powder from goat origin. *Food Contr.* 18, 375–378.
 33. OLIVEIRA, C. P., N. F. SOARES, T. V. OLIVEIRA and J. C. B. JÚNIOR (2013): Aflatoxin M1 occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fluid milk from Minas Gerais/Brazil. *Food Contr.* 30, 90–92.
 34. OVEISI, M.-R., B. JANNAT, N. SADEGHI, M. HAJIMAHMOODI and A. NIKZAD (2007): Presence of aflatoxin M1 in milk and infant milk products in Tehran, Iran. *Food Contr.* 18, 1216–1218.
 35. PEI, S. C., Y. Y. ZHANG, S. A. EREMIN and W. J. LEE (2009): Detection of aflatoxin M1 in milk products from China by ELISA using monoclonal antibodies. *Food Contr.* 20, 1080–1085.
 36. PIETRI, A., T. BERTUZZI, P. BERTUZZI and G. PIVA (1997): Aflatoxin M1 occurrence in samples of Grana Padano cheese. *Food Addit. Contam.* 14, 341–344.
 37. PITTET, A. (1998): Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds- An updated review. *Rev. Med. Vet.* 149, 479–492.
 38. PRANDINI, A., G. TANSINI, S. SIGOLO, L. FILIPPI, M. LAPORTA and G. PIVA (2009): On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food Chem. Toxicol.* 47, 984–991.
 39. Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. Ministarstvo poljoprivrede. *Narodne novine* 146/2012.
 40. Pravilnik o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. *Narodne novine* 80/2010.
 41. RAHIMI, E., M. BONYADIAN, M. RAFEI and H. R. KAZEMEINI (2010): Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food Chem. Toxicol.* 48, 129–131.
 42. RUANGWISES, S. and N. RUANGWISES (2009): Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurized milk of the school milk project in Thailand. *J. Food Protect.* 72, 1761–1763.
 43. SANI, A. M., H. NIKPOOYAN and R. MOSHIRI (2010): Aflatoxin M1 contamination and antibiotic residue in milk in Khorasan province, Iran. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2130–2132.
 44. SARIMEHMETOĞLU, B., O. KUPLULU and T. HALUK CELIK (2004): Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Contr.* 15, 45–49.
 45. SHUNDO, L. and M. SABINO (2006): Aflatoxin M1 in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. *Braz. J. Microbiol.* 37, 164–167.
 46. TAJKARIMI, M., F. ALIABADI-SH, A. SALAH NEJAD, H. POURSOLTANI, A. A. MOTALLEBI and H. MAHDAVI (2008): Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. *Food Contr.* 19, 1033–1036.
 47. TEKİNŞEN, K. K. and H. S. EKEN (2008): Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food Chem. Toxicol.* 46, 3287–3289.
 48. TURCONI, G., M. GUARCELLO, C. LIVIERI, S. COMIZZOLI, L. MACCARINI, A. M. CASTELLAZZI, A. PIETRI, G. PIVA and C. ROGGI (2004): Evaluation of xenobiotics in human milk and ingestion by the newborn-an epidemiological

- survey in Lombardy (Northern Italy). *Eur. J. Nutr.* 43, 191-197.
49. UNUSAN, N. (2006): Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food Chem. Toxicol.* 44, 1897-1900.
 50. VAN EGMOND, D. H. P., W. E. PAULSCH, H. A. VERINGA and P. L. SCHULLER (1977): The effect of processing on the aflatoxin M1 content of milk and milk products. *Archives de l' Institut Pasteur* 3, 381-390.
 51. VELDMAN, A., J. A. C. MEIJS, G. J. BORGGREVE and J. J. HEERES-VAN DER TOL (1992): Carry-over of aflatoxin B1 from cow's food to milk. *Anim. Product.* 55, 163-168.
 52. YANNIKUORIS, A. and J. P. JOUANY (2002): Mycotoxins in feed and their fate in animals: a review. *Animal Res.* 51, 81-99.

Aflatoxin M1 in milk and milk products

Nina BILANDŽIĆ, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, Ivana VARENINA, Grad. Biotechnology Eng., Đurđica BOŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Micotoxin aflatoxin M1 hepatocarcinogen metabolite formed by hydroxylation of aflatoxin B1 in the milk of cows fed by feed contaminated with aflatoxin B1. In relation to aflatoxin B1, aflatoxin M1 carcinogenicity is about 2-10% of the original form. Exposure to aflatoxin M1 in humans occurs endogenous production or entering dairy products. As the largest consumers of milk infants and children are most exposed to aflatoxin M1. Aflatoxin M1 is a relatively stable compound in raw and processed milk, and its presence does not affect the process of pasteurization or processing into cheese. Aflatoxin transfer from food to milk in dairy cows is influenced by nutritional and physiological factors, including feeding, degree of digestion, animal health, biotransformation capacity of the liver, and milk production. It is believed that the production of cattle and flocks of sheep that were grazing have a low risk of contamination. The risk is largely related to food nutrients based on grains, especially corn silage and grass that are given to reduce grazing during the winter months and in economies with intensive milk production. After using contaminated food aflatoxin M1 appears in milk two to three

days after ingestion. In the European Union, the maximum residue level of aflatoxin M1 in raw milk, heat-treated milk and milk production of dairy products were 0.05 mg/L. Today aflatoxin M1 concentrations in milk and milk products is determining use screening methods among which the most common used is ELISA method, as fast, simple and reliable method. Liquid chromatography with mass spectrometry or high performance chromatography with fluorescent detection applied as a confirmatory method. In the last decade were conducted a number of studies on the occurrence of aflatoxin M1 in milk Aflatoxin M1 concentrations vary according to the season and are set high concentrations in during the cold months when using nutrients and concentrates in the diet of cows. Significantly higher concentrations of aflatoxin M1 in raw cow's milk were determined in Pakistan, Syria and Brazil, and in pasteurized milk from Syria. Low levels of aflatoxin M1 contamination were determined in certain European countries with permanent controls production of nutrients for animals and the planned monitoring of aflatoxin M1 in milk and milk products.

NOVO IME ZA ZDRAVLJE ŽIVOTINJA

Danas smo Zoetis, kompanija s jedinim fokusom na zdravlje životinja, predana pružanju podrške Vama i Vašem poslovanju. I dalje smo dom ljudima i proizvodima kojima ste poklanjali svoje povjerenje duže od 60 godina pod imenom Pfizer Animal Health. I dalje smo predani tome da Vam osiguravamo lijekove, cjepiva i usluge koje su Vam potrebne. Radujemo se još boljoj suradnji s Vama.

ZA ŽIVOTINJE. ZA ZDRAVLJE. ZA VAS.

zoetis™

Serumski lipoproteini u mliječnih krava

V. Rade, Sandra Plužarić, Blanka Beer Ljubić, Lada Radin, Z. Stojić i Jasna Aladrović



Uvod

Lipidi u organizmu služe kao izvor energije ili ih organizam može uskladištiti u obliku naslaga masti (potkožno masno tkivo, retroperitonealno masno tkivo, abdominalno masno tkivo) i glavni su sastojci staničnih membrana te su važni u staničnoj signalizaciji kao steroidni hormoni ili kao glasničke molekule.

Masne su tvari u cirkulaciji s proteinima vezane u hidrofilne lipoproteinske komplekse koji predstavljaju transportni oblik tjelesnih masti. Koncentraciju ukupnih, kao i pojedinačnih lipida u organizmu reguliraju hormoni prednjeg režnja hipofize, štitaste žlijezde, gušterače i estrogeni. Koncentracija ukupnih i pojedinačnih lipida ovisi o dobi životinje, gravidnosti i laktaciji, kao i o vrsti i količini unešene hrane.

Organizam visokoproduktivnih mliječnih krava podvrgnut je metaboličkim naporima prouzročenim intenzivnom proizvodnjom i kratkim razdobljem suhostaja. Najveće se promjene zbivaju oko porođaja i početka laktacije. Uvid u energetske status životinja može se dobiti metaboličkim profil testom. Pri tome se najčešće određuju koncentracija glukoze, triacilglicerola, kolesterola, slobodnih

masnih kiselina (engl., *nonesterified fatty acids*, NEFA), beta hidroksimaslačne kiseline (BHB) te se tako mogu utvrditi poremećaji hranidbenog i metaboličkog statusa. Važan pokazatelj energetske statusa je i koncentracija serumskih lipoproteina.

Lipoproteini

Lipoproteini su osnovni prijenosni oblik masnih tvari u organizmu. Prema gustoći, dijele se u četiri osnovne skupine (Chapman, 1980., Štraus i Petrik, 2009.): hilomikroni, lipoproteini vrlo male gustoće (VLDL), lipoproteini male gustoće (LDL) i lipoproteini velike gustoće (HDL) (Tabela 1.).

Građa i uloga lipoproteina

Lipoproteini su skupina kvalitativno vrlo sličnih čestica koje sadrže masne komponente: triacilglicerole, kolesterol, fosfolipide te proteinske komponente koje se nazivaju apolipoproteini (Guyton i Hall, 2006.). Primarna uloga ovih molekula je prijenos lipidnih komponenti u krvi. Hilomikroni i lipoproteini vrlo niske gustoće (VLDL) sadrže vrlo visoku koncentraciju triacilglicerola

Vjekoslav RADE, dr. med. vet., Opća veterinarska praksa "A.N.D.A.R."; Sandra PLUŽARIĆ, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta „Dr. Doolittle“; dr. sc. Blanka BEER LJUBIĆ, dipl. ing. med. biokem., dr. sc. Lada RADIN, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Zvonko STOJVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Jasna ALADROVIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Zagreb

dok LDL imaju najveći udio kolesterola i fosfolipida (Tabela 1.). Tip serumskih lipoproteina koji ima najveći udio apolipoproteina i fosfolipida su lipoproteini visoke gustoće (HDL) (Guyton i Hall, 2006.). Hilomikroni prenose triacilglicerole iz probavnog sustava i u cirkulaciji se zadržavaju vrlo kratko vrijeme nakon obroka (Chapman, 1980., Štraus i Petrik, 2009.). VLDL prenosi triacilglicerole sintetizirane u jetri do perifernih stanica, dok su ostali lipoproteini važni za prijenos fosfolipida i kolesterola iz jetre u periferna tkiva, ili iz periferija natrag u jetru (Guyton i Hall, 2006.).

Glavni prijenosni oblik endogenih triacilglicerola u serumu je VLDL, a uklanjanjem triacilglicerola kroz nekoliko međuprodukata iz VLDL nastaje LDL koji prenosi kolesterol u jetrene stanice, nadbubrežnu žlijezdu i masno tkivo (Štraus i Petrik, 2009.). HDL sudjeluje u prijenosu kolesterola iz perifernih stanica u jetru putem „povratnog prijenosa kolesterola“ (engl. *reverse transport of cholesterol* RTC) te se izlučuje u žuč ili reciklira u nove lipoproteine (Fielding i Fielding, 1995.).

Koncentracija lipoproteina kao i udio pojedinih lipidnih komponenti u izdvojenim lipoproteinskim frakcijama ovisi o vrsti (Vitić i Stevanović, 1993.), dobi i spolu životinje (Ochoa i Marchelld, 1991.). Tako je HDL najzastupljeniji lipoprotein seruma životinja koje

gladuju te je stoga najzastupljenija frakcija tijekom energetskeg disbalansa u kasnoj gravidnosti i ranoj laktaciji krava (Bruss, 2008.). Najveći dio kolesterola u krvi vezan je upravo na njega (HDL-C) (Chapman i Forhez, 1985.).

Lipoproteini se uglavnom sintetiziraju u jetri gdje se ujedno sintetiziraju i kolesterol, fosfolipidi i triacilgliceroli dok se hilomikroni i male količine HDL sintetiziraju u crijevnom epitelu tijekom resorpcije masnih kiselina u crijevu (Štraus i Petrik, 2009.).

Kolesterol je prisutan u svakodnevnoj prehrani, i resorbira se polako iz gastrointestinalnog trakta u intestinalnu limfu. Vrlo dobro je topljiv u mastima, dok se u vodi slabo otapa. Može tvoriti estere s masnim kiselinama, tako da je oko 70% kolesterola u lipoproteinima plazme u obliku kolesterolnih estera. Osim što se u organizam unosi hranom, kolesterol se sintetizira i u tjelesnim stanicama. Najveći dio nastaje u jetri i cirkulira u lipoproteinima plazme dok ostale stanice u tijelu stvaraju male količine kolesterola, što je potkrijepljeno činjenicom da je sastavni dio membranske strukture svih stanica (Guyton i Hall, 2006.). Ipak, primarni izvor kolesterola stanicama su lipoproteini male gustoće. Brzina stvaranja endogenog kolesterola u organima ovisi o količini resorbiranoj iz hrane. Ta se regulacija provodi povratnom spregom promjenama aktivnosti 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA-reduktaze. Ovaj enzim

Tabela 1. Sastav lipoproteina krava (Stead i Welch, 1975., Bauchart, 1993.)

	Hilomikroni	VLDL	LDL	HDL
triacilgliceroli (%)	72-87	45-63	4-21	1-6
slobodni kolesterol (%)	4-6	3-9	6-8	1-6
kolesterol esteri (%)	1-4	5-15	31-36	13-33
fosfolipidi (%)	4-5	12-17	18-22	12-27
proteini (%)	2-3	8-16	22-32	39-74
gustoća (g/mL)	<0,95	<1,006	1,026-1,076	1,060-1,180

VLDL- lipoproteini vrlo male gustoće, LDL- lipoproteini male gustoće, HDL- lipoproteini velike gustoće

Tabela 2. Apolipoproteini u preživača (Bauchart, 1993.)

apolipoproteini	mjesto sinteze	lipoproteini
A-I	crijevo, jetra	hilomikroni, HDL
A-II	crijevo, jetra	HDL
A-IV	crijevo	hilomikroni, HDL
B-100	jetra	VLDL, LDL
B-48	crijevo (jetra)	hilomikroni, VLDL
C-I	jetra	hilomikroni, VLDL, HDL
C-II	jetra	hilomikroni, VLDL, HDL
C-III	jetra	hilomikroni, VLDL, HDL
C-IV	jetra	hilomikroni, VLDL, HDL
E	jetra	VLDL, HDL

katalizira nastanak mevalonata, što je odlučujući korak u biosintezi kolesterola (Berg i sur., 2002.).

Pored toga, sadržaj kolesterola reguliran je i putem receptora za LDL. Receptori za LDL i sami podliježu povratnoj regulaciji. Kada se u stanici nalazi obilje kolesterola, ne sintetiziraju se novi receptori za LDL pa se tako sprječava ulazak kolesterola iz LDL iz plazme (Berg i sur., 2002.).

Proteinske komponente lipoproteina nazivaju se apolipoproteini (Tabela 2.). Iako postoje varijacije u slijedu aminokiselina ovisno o vrsti, pojedini apolipoproteini u domaćih životinja su slični. Glavne klase apolipoproteina označene su slovima od A do E, ponekad je dodan i broj kako bi se razlikovala potklasa. Glavne klase i potklase pronađene u domaćih životinja su: A-I, A-II, A-IV, B48, B100, C-I, C-II, C-III, C-IV, i E (Mahley i sur., 1984., Kaneko i sur., 2008.). Apolipoproteini su strukturni dio lipoproteina i nalaze se u vanjskom omotaču čestice. Osim toga, neki apolipoproteini su aktivatori ili kofaktori enzima koji sudjeluju u metabolizmu lipoproteina (npr., apo C-II je aktivator lipoproteinske lipaze). Neki kao ligandi sudjeluju u vezanju lipoproteina na receptore (npr., apo B-100 i apo E) (Štraus i Petrik, 2009.).

Apo B-100 i apo B-48 strukturni su sastojci lipoproteina bogatih triacilglicerolima. Apolipoprotein B-100, se sintetizira u jetri, dio je VLDL i jedan je od najvećih polipeptidnih lanaca u sisavaca. Apolipoprotein B-48 dvostruko je manji, sintetizira se u tankom crijevu i dio je hilomikrona. Apo B-100 zajedno s apo E nalazi se na LDL i sudjeluju u vezanju LDL na receptore (Tabela 2.).

Apo A-I je važan za sintezu HDL i aktivator je lecitin kolesterol aciltransferaze (LCAT). Ovaj je enzim sastavni dio HDL, a katalizira esterifikaciju kolesterola prebacujući polovinu dugolančanih masnih kiselina (engl., *long chain fatty acids*, LCFA) iz fosfatidilkolina (lecitina) na kolesterol (Kaneko i sur., 2008.).

Apolipoprotein E jedinstven je među apolipoproteinima plazme zbog svojih raznih funkcija u metabolizmu lipida i lipoproteina. Apo E ima važnu ulogu u jetri pri preuzimanju lipoproteina. Kao integralna površinska komponenta, apo E posreduje preuzimanje hilomikrona i ostataka VLDL, ponašajući se kao ligand za receptore LDL. Vjeruje se da apoE ima važnu ulogu u metabolizmu kolesterola, posredujući preuzimanje HDL od strane jetre, što bi bio konačni stadij hipotetskog reverznog prijenosa kolesterola. Nadalje,

apo E reagira s lipoproteinskom lipazom i jetrenom lipazom u moduliranju hidrolize triacilglicerola. Istraživanja su pokazala da apo E, ima važnu ulogu također i u reguliranju razine lipoproteina u plazmi. Koncentracije apo E tijekom rane, srednje i kasne faze laktacije u krava su značajno više nego u nelaktacijskoj fazi (Takahashi i sur., 2003.).

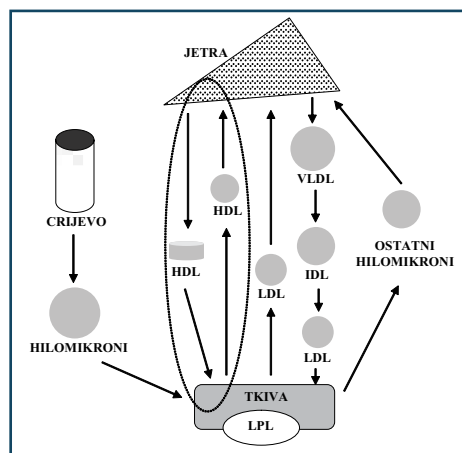
Metabolizam lipoproteina

Nakon razgradnje lipida u tankom crijevu i resorpcije glicerola i masnih kiselina, triacilgliceroli se u enterocitima resintetiziraju te se s fosfolipidima i kolesterolom u obliku hilomikrona prenose u jetru i masno tkivo. U stanicama masnog tkiva, triacilgliceroli hilomikrona razgrađuju se djelovanjem lipoproteinske lipaze (LPL) na glicerol i masne kiseline. Ostatni se hilomikroni uklanjaju iz cirkulacije putem receptora u jetri (Slika 1.). U jetri se iz endogenih triacilglicerola, kolesterola, fosfolipida i apolipoproteina sintetiziraju VLDL i HDL. Triacilglicerole s VLDL hidroliziraju lipoproteinske lipaze na endotelu kapilara (Kaneko i sur., 2008.). Tako iz VLDL, preko niza međuprodukata, u cirkulaciji nastaje LDL kao konačni produkt ovog metaboličkog puta (Tucker i Lange, 1978.). Uloga LDL je transport kolesterola u periferna tkiva i regulacija *de novo* sinteze na tim mjestima. Nasuprot tome, HDL imaju posebnu ulogu u metabolizmu kolesterola, jer uklanja kolesterol iz perifernih stanica i vraća ga u jetru (Fielding i Fielding, 1995.). HDL se ovisno o udjelu masnih tvari pojavljuje ili kao diskoidna čestica koja sadrži samo polarne molekule fosfolipida i kolesterola ili kao kuglasta čestica koja sadrži i polarne i nepolarne molekule (Fielding i Fielding, 1995.) (Slika 1.).

Metabolizam HDL povezan je s metabolizmom VLDL i hilomikrona putem apolipoproteina apo-E i apo-C-II koji se tijekom metaboličkih putova izmjenjuju. Na taj način, HDL predstavlja spremište apo-E i apo-C-II u cirkulaciji.

Osim razmjene apolipoproteina, između HDL i VLDL odvija se i razmjena triacilglicerola na HDL i kolesterol-estera na VLDL (Rye i Barter, 1994.).

Lipidne komponente lipoproteina podložne su oksidativnim promjenama. LDL je vrlo osjetljiv na oksidacijska oštećenja. Međutim, samo oksidirani LDL (ox-LDL) donosi kolesterol u stanice krvnih žila, djeluje i kao kemoatraktant za monocite, a može izazvati i stvaranje autoprotutijela kod ljudi i životinja (Steinberg, 1997.). U antioksidacijskoj zaštiti lipida u cirkulaciji važnu ulogu ima paraoksonaza 1 (PON 1) o kalciju ovisna esteraza koja se nalazi na HDL i u krvi uklanja lipidne perokside s LDL i HDL (Halliwell i Gutteridge, 1999.).



Slika 1. Metabolizam lipoproteina i povratni prijenos kolesterola [Beer Ljubić, 2010.]

Lipoproteini seruma mliječnih krava tijekom gravidnosti i laktacije

Tijekom gravidnosti, koja u krava prosječno traje od 275-285 dana (Tomašković i sur., 2007.), masno se tkivo prilagođava potrebama organizma. Tako u prvoj polovici gravidnosti u organizmu krave prevladavaju procesi lipogeneze, a u drugoj se fazi masti pohranjene u

masnom tkivu mobiliziraju za energetske svrhe organizma majke, za rast i razvoj ploda te na početku laktacije za proizvodnju mlijeka (Sampson i Jansen, 1984., McNamara i Hillers, 1986.).

S obzirom na specifičnost hranidbe u preživača (probava u predželucima), regulacija i koordinacija metabolizma ugljikohidrata i lipida između masnog tkiva, jetre, probavnog sustava i mliječne žlijezde glavne su komponente prilagodbe na laktaciju (Drackley, 1999., Vernon, 2005.). Metaboličke prilagodbe na laktaciju uključuju: povećani unos hrane i vode, povećanje kapaciteta probavnog trakta s povećanom sposobnošću resorpcije hranjivih tvari, povećani opseg lipolize i smanjeni opseg lipogeneze, povećani opseg glukoneogeneze i glikogenolize, iskorištavanje acetata za energetske potrebe (kod preživača), mobilizaciju tjelesnih bjelančevina, povećani opseg resorpcije minerala i mobilizaciju njihovih rezervi te povećani opseg resorpcije vode i povećanje volumena plazme (Beitz, 2004., Park i Lindberg, 2004.).

Unos hrane na početku laktacije u visokomliječnih krava često nije dostatan za zadovoljavanje uzdržnih potreba same životinje i proizvodnju mlijeka. Posljedica energetskeg disbalansa je povećana lipoliza i porast NEFA u plazmi (McNamara i Hillers, 1986., Bruss, 2008.). Zbog povećane mobilizacije masti i metabolizma serumskih lipoproteina javlja se povećani rizik od metritisa, mastitisa i zaostajanja posteljice što se može prevladati povećanim unosom energije putem masti u obroku tijekom posljednjih tjedana suhostaja (Kaneene i sur., 1997., Doepel i sur., 2002.). Davanje ovakvih obroka može povećati proizvodnju mlijeka i smanjiti učestalost metaboličkih poremećaja tijekom rane laktacije (Dohoo i Martin, 1984., Kaneene i sur., 1997.).

Masne kiseline u hranidbi preživača normalno su zastupljene s 3%, a podrijetla

su iz žitarica, silaže ili sjemenki koje su bogate linolenskom ili linolnom kiselinom (Palmquist i Jenkins, 1980., Medeiros i sur., 2010.). Velika energetska vrijednost masti je korisna u prevladavanju ograničenja u opskrbi energijom kod visokoproduktivnih preživača, naročito na vrhuncu proizvodnje mlijeka. Masti se mogu koristiti i u manipulaciji obrokom, jer utječu na resorpciju različitih sastojaka hrane. Naime, masti mogu pozitivno utjecati na smanjenje acidoze buraga, a do smanjene koncentracije mliječne masti dolazi zbog visokog udjela lakoprobavljivih ugljikohidrata u obroku i smanjene količine vlaknastih krmiva (Park i sur., 1988., Chilliard, 1992.). Isto tako, unos masti može promijeniti i odnose pojedinih masnih kiselina u mesu i mlijeku tako da budu poželjniji kao namirnica u prehrani ljudi (Marenjak i sur., 2008., Marenjak i sur., 2009.).

Krave koje su dobivale obroke bogate mastima tijekom suhostaja smanjile su pohranu triacilglicerola u jetri prvog dana poslije porođaja, što je popraćeno smanjenom koncentracijom NEFA u plazmi, povećanom beta oksidacijom palmitata u jetrenim peroksisomima i smanjenom esterifikacijom palmitata (Chilliard, 1992., Bjerre-Harpøth i sur., 2012.). Nakon porođaja, krave hranjene obrokom s visokim udjelom masti tijekom suhostaja smanjile su postotak i produkciju mliječne masti (Chilliard, 1992.).

Promjena koncentracije lipoproteina u serumu povezana je s metabolizmom lipida u jetri, a metabolička zbivanja povezana s deficitom energije dovode do povećane mobilizacije masti i serumskih lipoproteina (Kaneene i sur., 1997., Borchardt i Staufienbiel, 2012.).

Koncentracije serumске NEFA i kolesterola dobri su indikatori rizika od pojave ketoze kod mliječnih krava (Kannene i sur., 1997.). Općenito, koncentracija NEFA u serumu se

povećava tijekom rane laktacije, dok se koncentracije kolesterola u serumu smanjuju. Omjer koncentracija ova dva serumska metabolita može ukazivati na masnu infiltraciju jetre (Kaneene i sur., 1997.).

Koncentracija NEFA u plazmi poveća se prije i za vrijeme porođaja, rezultirajući povećanim unosom masnih kiselina u jetru, esterifikacijom masnih kiselina i pohranom u triacilglicerole. Koncentracija triacilglicerola u jetri povećava se 4 do 5 puta oko dva tjedna prije porođaja i prvog dana nakon teljenja (Grummer, 1993.). Povećanje jetrenih triacilglicerola nakon teljenja nije dramatično. Strategije da se smanje jetreni triacilgliceroli oko teljenja mogu smanjiti incidenciju ketoze (Grummer, 1993.). Mehanizmi za smanjeno nakupljanje masti u jetri krava hranjenih visoko masnom hranom tijekom suhostaja mogu uključivati i smanjen unos NEFA u jetru, pojačanu beta oksidaciju NEFA u jetri, smanjenu esterifikaciju NEFA i pojačan izlazak triacilglicerola iz jetre (Grum i sur., 1996., Bremmer i sur., 2000.). Nakupljanje triacilglicerola i nastanak masne jetre vjerojatno je posljedica smanjenog stvaranja apo B i smanjenog izlučivanja VLDL (Gibbons i sur., 2000.). Međutim, nastanak masne jetre ne mora nužno prouzročiti probleme u normalnim metaboličkim funkcijama jetre budući da jetreno tkivo može vratiti funkcionalnost nakon što se ukloni metabolički poremećaj koji je doveo do masne infiltracije.

Kolesterol je prisutan u svim lipoproteinskim frakcijama. Smanjena koncentracija lipoproteina u serumu karakteristična je za razdoblje oko porođaja (Kaneene i sur., 1997., Quiroz-Rocha i sur., 2009.). Pokazalo se da se koncentracija kolesterola u serumu mijenja tijekom gravidnosti i laktacije. U istraživanju Marinković (2010.) utvrđena je značajno veća koncentracija ukupnih

lipida, kolesterola i HDL 30 dana nakon porođaja u odnosu na dva tjedna prije porođaja i deset dana po porođaju. Najmanja koncentracija kolesterola nađena je u serumu oko porođaja te raste do 9 tjedana po porođaju (Gueorguieva i Gueorguiev, 1997., Guedon i sur., 1999.). Najviše vrijednosti zabilježene su sredinom laktacije, a najniže kod približavanja termina porođaja (Puppione i sur., 1980.). Pysera i Opalka (2000.) smatraju da je smanjenje koncentracije ukupnog kolesterola u krvi posljedica povećanih potreba za rast ploda i sintezu steroidnih hormona. Zabilježena je visoka pozitivna korelacija između serumskog kolesterola i proizvodnje mlijeka u ranoj laktaciji. Potaknute promjene u biosintezi, katabolizmu i izlučivanju kolesterola mogu se događati i u mliječnim krava. Korelacija između serumskog kolesterola i proizvodnje mlijeka tijekom rane i kasne laktacije, sugerira moguću ulogu alfa lipoproteina u dinamici proizvodnje mlijeka u mliječnim krava (Puppione i sur., 1980.).

Praćenje koncentracije kolesterola, NEFA kao i frakcija lipoproteina važan je dio procjene energetskeg statusa životinje i utvrđivanja poremećaja hranidbenog i metaboličkog statusa visokoproduktivnih mliječnih krava.

Sažetak

U radu je prikazan pregled istraživanja koncentracije lipida i frakcija lipoproteina u serumu mliječnih krava. Lipidi se u krvi prenose putem lipoproteina. Koncentracija serumske NEFA i kolesterola su dobri indikatori rizika pojave bolesti kod mliječnih krava. Koncentracija goveđeg serumskog kolesterola se mijenja tijekom gravidnosti i laktacije te ukazuje na ukupnu koncentraciju lipoproteina u serumu. Najviše vrijednosti zabilježene su sredinom laktacije, a najniže oko termina porođaja. Smanjena koncentracija lipoproteina u serumu je karakteristična za razdoblje oko porođaja. Povezana je s

metabolizmom lipida u jetri. Ukazuje na deficit energije što dovodi do povećane mobilizacije masti i intenzivnijeg metabolizma serumskih lipoproteina. HDL je najzastupljeniji lipoprotein seruma životinja koje gladuju te je stoga najzastupljenija frakcija tijekom energetskog disbalansa u kasnoj gravidnosti i ranoj laktaciji krava. Najveći je dio kolesterola u krvi vezan upravo na njega.

Literatura

1. BAUCHART, D. (1993): Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76, 3864-3881.
2. BEER LJUBIĆ, B. (2010): Utjecaj gladovanja na metabolizam masti u tovnih pilića hranjenih hranom s dodatkom organskoga selena. Disertacija, Veterinarski fakultet sveučilišta u Zagrebu.
3. BERG, J. M., J. L. TYMOCZKO and L. STRYER (2002): The Biosynthesis of membrane lipids and steroids. In: *Biochemistry*, Fifth Edition, W. H. Freeman And Company, San Francisco, USA, pp. 732-759.
4. BEITZ, D. C. (2004): Lipid Metabolism. In: *Dukes Physiology of Domestic Animals*, 12th edition. Ed: RECE, W. O., Cornell University press. Ithaca, London, pp. 516-534.
5. BJERRE-HARPØTH, V., N. C. FRIGGENS, V. M. THORUP, T. LARSEN, B. M. DAMGAARD, K. L. INGVARTESEN and K. M. MOYES (2012): Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *J. Dairy Sci.* 95, 2362-2380.
6. BORCHARDT, S. and R. STAUFENBIEL (2012): Evaluation of the use of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations in pooled serum samples for herd-based detection of subclinical ketosis in dairy cows during the first week after parturition. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 240, 1003-1011.
7. BREMMER, D. R., S. J. BERTICS, S. A. BESONG and R. R. GRUMMER (2000): Changes in hepatic microsomal triglyceride transfer protein nad triglyceride in periparturient dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83, 2252-2260.
8. BRUSS, M. L. (2008): Lipids and ketons. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th ed. Eds: KANEKO, J. J., W. HARVEY, M. L. BRUSS, Academic Press. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, pp. 81-115.
9. CHAPMAN, M. J. (1980): Animal lipoproteins: chemistry, structure and comparative aspects. *J. Lipid Res.* 21, 789-853.
10. CHAPMAN, M. J. and P. FORGEZ (1985): Lipid transport systems: some recent aspects in swine, cattle and trout during development. *Reprod. Nutr. Dev.* 25, 217-226.
11. CHILLIARD, Y. (1993): Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. *J. Dairy Sci.* 76, 3897-3881.
12. DOEPEL, L., H. LAPIERRE and J. J. KENNELLY (2002): Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 85, 2315-2334.
13. DOHOO, I. R. and S. W. MARTIN (1984): Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and diseases. *Can. J. Comp. Med.* 48, 1-5.
14. DRACKLEY, J. K. (1999): Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? *J. Dairy Sci.* 82, 2259-2273.
15. FIELDING, C. J. and P. E. FIELDING (1995): Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J. Lipid Res.* 36, 211-228.
16. GIBBONS, G. F., K. ISLAM and R. J. PEASE (2000): Mobilisation of triacylglycerol stores. *Biochem. Biophys. Acta* 1483, 37-57.
17. GRUM, D. E., J. K. DRACKLEY, R. S. YOUNKER, D. W. LaCOUNT and J. J. VEENHUIZENT (1996): Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79, 1850-1864.
18. GRUMMER, R. R. (1993): Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3882-3896.
19. GUEDON, L., J. SAUMANDE, F. DUPRON, C. COUQUET and B. DESBALS (1999): Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cows. Their relationship to the resumption of ovulation. *Theriogenology* 51, 1405-1415.
20. GUEORGUIEVA, T. M. and I. P. GUEORGUIEV (1997): Serum cholesterol concentration around parturition and early lactation in dairy cow. *Rev. Med. Vet.* 148, 241-244.
21. GUYTON, A. C. i M. D. HALL (2006): *Medicinska fiziologija*, jedanaesto izdanje, (KUKOLJA-TARADI, S., I. ANDREIS, urednici hrvatskog izdanja). Medicinska naklada Zagreb, strb. 841- 842 i 847-848.
22. HALLIWELL, B. and J. M. C. GUTTERIDGE (1999): Atherosclerosis. In: *Free radicals in biology and medicine*, 3rd edition. Oxford University Press, pp. 625-638.
23. KANEENE, B. J., R. MILLER, T. H. HERDT and J. C. GARDINER (1997): The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 31, 59-72.
24. KANEKO, J. J., W. HARVEY and M. L. BRUSS (2008): *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th ed. Academic Press. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto. Pp. 94.
25. MAHLEY, R. W., L. INNERARITY, S. C. RALL and K. H. WEISGRABER (1984): Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J. Lipid Res.* 25, 1277-1294.
26. MARENJAK, T. S., I. DELAŠ, N. POLJIČAK-MILAS and J. PIRŠLJIN (2009): Effect of non-protected sunflower oil supplementation on milk fatty acid profile and oxidative status in Simmental cows. *Archiv fur Tierzucht - Archives of Animal Breeding* 11, 592-597.
27. MARENJAK, T. S., N. POLJIČAK-MILAS, B. BEER-LJUBIĆ and J. PIRŠLJIN (2008): Auswirkungen der alimentären ungeschützten Sonnenblumenölsupplementation auf Stoffwechselparameter im Blutplasma und die Körperkondition von Simmentaler Kühen. *Tierarztl. Umsch.* 11, 592-597.
28. MARINKOVIĆ, I. (2010): Povezanost metabolizma masnih tvari i magnezija u krava tijekom kasne gravidnosti i rane laktacije. Diplomski rad, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zgrebu.
29. McNAMARA, J. P. and J. K. HILLERS (1986): Adaptations in lipid metabolism of bovine adipose

- tissue in lactogenesis and lactation. *J. Lipid Res.* 27, 150-157.
30. MEDEIROS, S. R., D. E. OLIVEIRA, L. J. AROEIRA, M. A. MCGUIRE, D. E. BAUMAN and D. P. LANNA (2010): Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid to grazing cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 93, 1126-1137.
 31. OCHOA, M. F. and J. A. MARCHELLO (1991): Bovine lipoprotein and apolipoprotein profiles as influenced by sex and growth. *J. Anim. Sci.* 69, 4030-4038.
 32. PALMQUIST, D. L. and T. C. JENKINS (1980): Fat in lactation rations: review. *J. Dairy Sci.* 63, 1-14.
 33. PARK, C. S., Y. J. CHOI, G. R. FISHER and G. R. ERICKSON (1988): Interactive influence of dietary protein and lipid in lactation. *Asian-austral. J. Anim. Sci.* 1, 7-12.
 34. PARK, C. S. and G. L. LINDBERG (2004): The Mammary Gland and Lactation. In: *Dukes' Physiology and Domestic Animals*. 12th ed. (REECE, W. O., ed.). Cornell University Press. Ithaca, London. Pp. 720-741.
 35. PUPPIONE, D. L., N. E. SMITH, C. K. CLIFFORD and A. J. CLIFFORD (1980): Relationships among serum lipids, milk production and physiological status in dairy cows. *Comp. Biochem. Physiol.* 65A, 319-323.
 36. PYSERA, B. and A. OPALKA (2000): The effect of gestation of dairy cows on lipid and lipoprotein patterns and composition in serum during winter and summer feeding. *J. Anim. Feed Sci.* 9, 411-424.
 37. QUIROZ-ROCHA, G. F., S. LEBLANC, T. DUFFIELD, D. WOOD, K. E. LESLIE and R. M. JACOBS (2009): Evaluation of parturition serum cholesterol and fatty acids concentrations as predictors of postpartum retention of the placenta in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 234, 790-793.
 38. RYE, K. A. and P. J. BARTER (1994): The influence of apolipoproteins on the structure and function of spheroidal, reconstituted high density lipoproteins. *J. Biol. Chem.* 269, 10298-10303.
 39. SAMPSON, D. A. and G. R. JANSEN (1984): Protein and energy nutrition during lactation. *Annu. Rev. Nutr.* 4, 43-57.
 40. STEAD, D. and V. A. WELCH (1975): Lipid composition of bovine serum lipoproteins. *J. Dairy Sci.* 58, 122-127.
 41. STEINBERG, D. (1997): Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J. Biol. Chem.* 272, 20963-20966.
 42. ŠTRAUS, B. i J. PETRIK (2009): Lipidi i lipoproteini. U: *Štrausova medicinska biokemija*. Urednice: DUBRAVKA ČVORIŠEĆ i IVANA ČEPELAK, Medicinska naklada Zagreb, str. 124-161.
 43. TAKAHASHI, Y., F. ITOH, T. OOHASHI and T. MIYAMOTO (2003): Distribution of apolipoprotein E among lipoprotein fractions in the lactating cow. *Comp. Biochem. And Physiol. Part B: Biochem. Molecular Biol.* 136, 905-912.
 44. TOMAŠKOVIĆ, A., Z. MAKEK, T. DOBRANIĆ i M. SAMARDŽIJA (2007): Fiziologija i patologija gravidnosti. U: *Rasplodivanje krava i junica*. Ur. M. SAMARDŽIJA, S. VINCE i J. GRIZELJ. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 45. TUCKER, A. R. and Y. LANGE (1978): Interaction of cholesterol, phospholipids and apoprotein in high density lipoprotein recombinants. *Biochem. Biophys. Acta* 513, 185-197.
 46. VERNON, R. G. (2005): Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *J. Dairy Sci.* 72, 460-469.
 47. VITIĆ, J. and J. STEVANOVIĆ (1993): Comparative studies of the serum lipoproteins and lipids in some domestic, laboratory and wild animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 1, 223-229.

Serum lipoproteins in dairy cows

Vjekoslav RADE, DVM, Veterinary Practice, „A.N.D.A.R.“; Sandra PLUŽARIĆ, DVM, Veterinary Practice “Dr. Doolittle”; Blanka BEER LJUBIĆ, BSc, PhD, Lada RADIN, DVM, PhD, Senior Assistant, Zvonko STOJEVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Jasna ALADROVIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

This paper presents an overview of previous research of lipid concentrations and lipoprotein fractions in the serum of dairy cows. Lipids in blood are transferred by lipoproteins and NEFA and cholesterol concentrations are good risk indicators of disease in dairy cows. Concentrations of bovine serum cholesterol change during pregnancy and lactation and are an indicator of the total concentration of serum lipoproteins. The highest values of cholesterol were recorded in mid-lactation, and the lowest around the calving term. A

reduced concentration of lipoproteins in serum is characteristic for the period around the calving term, and is associated with lipid metabolism in the liver. This indicates an energy deficiency that leads to increased fat mobilization and more intense metabolism of serum lipoproteins. HDL is the most common lipoprotein fraction of starving animals, and is therefore the most common fraction during the energy imbalance in late pregnancy and early lactation. The largest part of cholesterol is binded to this fraction.

Proljev neonatalne teladi u intenzivnom uzgoju



Ante Svetina, Marko Samardžija, Dražen Đuričić i Ljiljana Bedrica

Uvod

Novorođena je telad ekstremno osjetljiva na proljeve, pogotovo tijekom prva četiri tjedna života. Bolest je multifaktorijalne naravi, i unatoč opsežnim istraživanjima još uvijek ostaje glavni uzrok smrtnosti mlade teladi (Blanchard, 2012., Smith, 2012.). Procjenjuje se da 12-14% od ukupnog broja teladi na farmama oboli od akutnog proljeva, što je permanentna pojava. Proljev teladi je najskuplji zdravstveni problem na farmama goveda širom svijeta. Bolesna telad ima vodenastu stolicu, žuto sive ili zelene boje koja sadrži različite količine sluzi pomiješane s krvi. Bakterije i virusi napadaju sluznicu crijeva čineći poteškoće u resorpciji esencijalnih sastojaka mlijeka (Bicknell i Noon, 1993.). Gospodarski gubici nastaju zbog mortaliteta (Uetake, 2013.), gubitka na težini, usporenog rasta, smanjene otpornosti prema drugim bolestima i troškova liječenja. U SAD-u troškovi liječenja iznose od 100-120 dolara po teletu. U prosjeku 55% oboljele teladi uginu. U Njemačkoj uginu oko 650.000 teladi godišnje (1.800 teladi dnevno).

Prema podacima iz humane medicine u svijetu oko 10.000.000 djece umire zbog proljeva prije 5. godine života. Stoga malu djecu treba udaljiti od bolesne teladi (Bardiau i sur., 2012.).

Sam proljev nije bolest. On je posljedica nekog primarnog poremećaja. Otkrivanje primarnog uzroka omogućuje postavljanje racionalne terapije i preventive. Proljev nastaje onda kada je transport tekućine iz krvi u lumen crijeva (crijevna sekrecija) povećan i/ili je crijevna resorpcija smanjena. U teladi se dnevno sekrecijom izluči 100 litara tekućine iz krvi u lumen crijeva te se približno toliko reapsorbira natrag iz crijeva u krv. Bez obzira na uzrok proljeva, najprije je potrebno nadoknaditi tekućinu i elektrolite (Na, K, Cl, kao i bikarbonate). Postoji opasnost od dehidracije i šoka koji se progresivno pogoršava do smrtnog ishoda (Fisher i Martinez, 1975.).

Čimbenici se proljeva mogu svrstati u dvije kategorije:

1. čimbenici neinfekcijske naravi koji se često referiraju kao predisponirajući ili pogodovni čimbenici te
2. infekcijski čimbenici (neposredni uzroci).

Neinfekcijski čimbenici

Neinfekcijski uzročnici mogu biti vrlo štetni, jer telad čine prijemčivim ne samo za uzročnika proljeva već i za druge bolesti. Pored neinfekcijskih postoje

Ante SVETINA, redoviti profesor u mirovini, Zagreb; dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Veterinarska stanica Đurđevac

brojni infektivni uzročnici proljeva koji mogu biti prisutni samostalno ili u kombinaciji s drugim infekcijama. *E. coli* je vrlo čest i ozbiljan uzročnik proljeva teladi, a s obzirom na *E. coli* kao uzročnika nazvana je kolibaciloza. Ne postoje bitne razlike u kliničkim znacima između proljeva izazvanog *E. coli* i drugim bakterijskim infekcijama. Smrtni gubitci zbog infekcije s *E. coli* mogu biti izuzetno veliki, naročito u teladi stare tjedan dana (tabela 1) (Khang i sur., 2009., Blanchard, 2012.)

Proljev teladi zbog infekcije salmonelom češći je problem u SAD-u nego Europi. Salmoneloza uključuje ove kliničke znake: povišena temperatura, gubitak apetita, depresija, proljev i dehidracija. Vrlo je važno radi prevencije infekcije salmonelom dati kolostrum, jer je salmonela najopasnija u dobi teleta od mjesec dana (Slika 1) (Acress i sur., 1975.).



Slika 1. Dehidrirano tele

Infektivni čimbenici

Tri su skupine uzročnika:

Bakterije: *E. coli* (kolibaciloza)

Virusi: Rotavirusi, Coronavirusi

Protozoe: *Coccidia*, *Cryptosporidium*

Infekcija pojedinim uzročnikom vezana je za dob teleta. Infekcije su

Tabela 1. Neinfektivni uzročnici proljeva

Poteškoće s imunitetom	Pogreške u hranidbi
<ul style="list-style-type: none"> • Tele ne može primiti bilo kakva protutijela od majke dok je u uterusu, stoga se rađa bez imunoglobulina • Čim se rodi izloženo je bakterijama i virusima • Idealno je da tele primi kolostrum 6-8 sati poslije porođaja 	<p>Proljevi su češći u umjetno hranjene teladi zbog:</p> <ul style="list-style-type: none"> • napajanja mlijekom iz prljavih posuda • suviše hladnog ili toplog mlijeka • preranog davanja mliječnih zamjenica • zamjenice slabe kakvoće (puno biljnih proteina)
Pogreške u držanju (smještaju) teladi	Rizici za slab transfer imuniteta s krave na tele
<p>Smještaj u objektima loše higijene:</p> <ul style="list-style-type: none"> • slaba ventilacija • neadekvatna temperatura • vlažni podovi • puno izmeta • prenapučenost • neizoliranje bolesne teladi 	<ul style="list-style-type: none"> • Niska razina Ig u mlijeku zbog nedovoljnog suhostaja • Premlade junice u rasplodu • Neadekvatna ingestija kolostruma • Kolostrum slabe kakvoće • Sezonske razlike u apsorpciji Ig (telad rođena ljeti ima više Ig u serumu)

najčešće mješovite i sukcesivne. Infekcija jednim uzročnikom povećava osjetljivost prema drugom uzročniku (tabela 2) (Acres i sur., 1975.).

Liječenje je svakog proljeva u teladi, bez obzira na uzročnika veoma slično. Liječenje treba biti usredotočeno na korekciju dehidracije i acidoze te gubitak elektrolita. Antibiotike treba dati simultano s liječenjem dehidracije, (Kahn, 2005.). Ako je gubitak tekućine

veći od 8% od tjelesne težine doći će do upadanja očiju u očnu duplju, suhoće kože i depresije tako da životinja nije sposobna stajati. Gubitak tekućine više od 12% tjelesne težine rezultirat će smrću teladi (tabela 3) (Lorenz i sur., 2011.a). Većina dehidrirane teladi trpi od hipotermije. Topli pokrivač ili lampa tijekom terapije hipotermne teladi trebaju biti uključeni (tabela 4) (Kahn, 2005.).

Tabela 2. Patomehanizam djelovanja *E. coli*

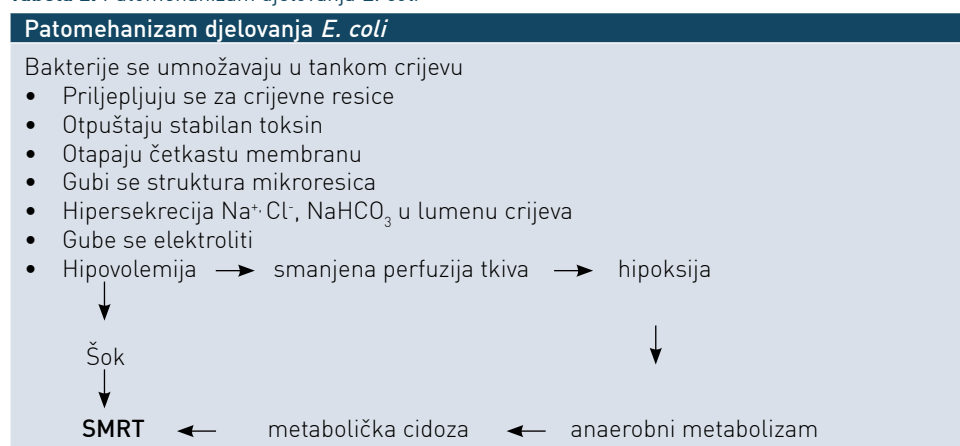


Tabela 3. Klinički znaci proljeva i procjena dehidracije na temelju kliničkih znakova

Klinički znaci proljeva:	Procjena dehidracije	
	Klinički znaci su:	Postotak dehidracije
<ul style="list-style-type: none"> • tekući feces, ponekad sadrži sluz i krv • pojava znakova dehidracije (upale oči, neelastična koža) • hladni ekstremiteti i uši • gubitak apetita • dehidracija napreduje • slabost (nemogućnost ustajanja) • gubitak svijesti • smrt zbog: <ul style="list-style-type: none"> - hipovolemijskog šoka - metaboličke acidoze 	proljev, bez drugih simptoma upale očne jabučice, neelastična koža	< 5% 6-7%
	depresija, suha koža, suhe sluznice	8-10%
	ležanje, hladni ekstremiteti, slab puls	11-12%
	smrt-uginuće	> 12%
	Količina tekućine koju bolesno tele treba dobiti dnevno: - težina teleta x postotak dehidracije (npr. 40 kg x 7% = 2,8L)	

Tabela 4. Fiziološki principi liječenja proljeva (bez obzira na uzročnika)

Prvi dan:	Drugi dan:
<ol style="list-style-type: none"> hitno korigirati acidozu nadoknaditi: <ul style="list-style-type: none"> tekućinu elektrolite energiju <p>to se postiže:</p> <ul style="list-style-type: none"> infuzijom NaHCO₃; glukoza odmah! dati NaHCO₃: 1 g/kg tjelesne mase ukupno u 2L i/v u venu jugularis ili ušnu venu (lakši način aplikacije) Mnoga telad je u hipotermiji pa ih treba ugrijati (lampa, zagrijani pokrivač) 	<ul style="list-style-type: none"> nastaviti terapiju otopinom NaHCO₃, u količini 10% od tjelesne mase (oko 4 L p/o) ne miješati NaHCO₃ s mlijekom – karbonati interferiraju s grušnjem mlijeka u sirištu acetati i propionati ne interferiraju s probavom mlijeka <p>karbonati su prikladniji za i/v primjenu, a laktati i protionati za p/o primjenu</p>

Preventiva ovisi o stupnju kontaminacije. Najbolji se rezultat u prevenciji proljeva postiže izoliranjem teladi iz kontaminiranog okoliša i davanjem prikladne količine kolostruma, idealno unutar prvih 6 do 8 sati po rođenju. U namjeri da se dobije maksimalna otpornost teladi prema bolesti, treba se uspostaviti program imunizacije za stado krava koje će se oteliti. Ako proljev zahvati stado teladi treba što prije izolirati bolesnu telad od zdravih. Nakon teljenja,

nove slučajeve treba tretirati čim se identificiraju. Bolesnu telad treba držati u dobro ventiliranoj i čistoj prostoriji i zaštititi ih od ekstremnih temperatura (tabela 5) (Kahn, 2005., Lorenz i sur., 2011.b).

Dobrom strategijom cijepjenja krava može se postići nekoliko desetaka puta veća koncentracija protutijela u kolostrumu nego u serumu krava. Kolostrum je najbolji zaštitnik teladi (tabela 6) (Givens i Marley, 2013.).

Tabela 5. Preventiva (glavne mjere)

A). Reducirati izlaganje novorođene teladi infekcijama	B) Povećati otpornost teladi
<ul style="list-style-type: none"> odmah odvojiti bolesnu telad od zdrave grupirati telad u mala stada prema dobi održavati: <ul style="list-style-type: none"> čistoću suhoću dobru ventilaciju strategiju „all in, all out“ ograničiti kretanje ljudi i opreme <ul style="list-style-type: none"> od farme do farme od starijih do mladih životinja 	<ul style="list-style-type: none"> cijepiti krave u suhostaju da se poveća količina protutijela u kolostrumu kolostrum dati što je prije moguće dati vitamine A, D₃, E

Tabela 6. Razina protutijela u krvi i mortalitet teladi

Razina protutijela	Broj teladi	Preživljavanje do odbića
Niska	24	29%
Srednja	18	72%
Visoka	141	94%

Zaključci

1. Glavni čimbenik preživljavanja neonatalne teladi je kvalitetan kolostrum.
2. Dobrom strategijom cijepljenja krava, može se postići 15-20 puta veća koncentracija protutijela u kolostrumu nego u serumu krava.
3. Preventivne mjere treba provoditi tijekom cijele godine, a ne samo oko porođaja.
4. Simptomatsko (supstitucijsko) liječenje proljeva treba provoditi odmah. Terapija se sastoji od nadoknade: tekućine, elektrolita i energije.

Sažetak

Proljev teladi je najskuplji zdravstveni problem na farmama goveda širom svijeta. Novorođena telad je ekstremno osjetljiva na proljeve, pogotovo tijekom prva četiri tjedna života. Bolest je multifaktorijalne naravi, koja unatoč opsežnim istraživanjima još uvijek ostaje glavni uzrok smrtnosti mlade teladi. U prosjeku 55% oboljele teladi ugine. Uzročnici proljeva mogu se svrstati u dvije kategorije: neinfekciozni (predisponirajući ili pogodovni) i infekciozni čimbenici (bakterije, virusi, protozoe). Infekcije su najčešće mješovite i sukcesivne; jedan uzročnik povećava osjetljivost prema drugom. Ne postoje bitne razlike u kliničkim simptomima između proljeva izazvanog različitim uzročnicima. Liječenje je slično bez obzira na uzročnika, a usredotočeno je na korekciju dehidracije, acidoze i nadoknadu elektrolita. Dehidrirana telad trpi od hipotermije pa ih treba utopli. Preventivno treba cijepiti krave u suhostaju, da se poveća količina protutijela u kolostrumu. Zato novorođenoj teladi kolostrum treba dati što je moguće ranije. Najbolji rezultat

u prevenciji proljeva postiže se izoliranjem teladi iz kontaminiranog okoliša. Preventivne mjere treba provoditi tijekom cijele godine, a ne samo oko porođaja.

Literatura

1. ACRESS, S. D., C. J. LAING, J. R. SAUNDERS and O. M. RADOŠTIĆ (1975): Acute undifferentiated neonatal diarrhoea in beef calves. I. Occurrence and distribution of infectious agents. *Can. J. Comp. Med.* 39, 116-132.
2. BARDIAU, M., B. TAMINIAU, J. N. DUPREZ, S. LABROZZO and J. G. MAINIL (2012): Comparison between a bovine and human enterohaemorrhagic *Escherichia coli* strain of serogroup O26 by suppressive subtractive hybridization reveals the presence of atypical factors in EHEC and EPEC strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 330, 132-139.
3. BICKNELL, E. J. and T. H. NOON (1993): Neonatal calf diarrhoea, *Animal Care and Health Maintenance, Cooperative Extension College of Agriculture, The University of Arizona, Tucson, Arizona*, 19-24.
4. BLANCHARD, P. C. (2012): Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhoea. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 28, 443-463.
5. FISHER, E. W. and A. A. MARTINEZ (1975): Studies of neonatal calf diarrhoea. III. Water balance studies in neonatal salmonellosis. *Br. Vet. J.* 131, 643-652.
6. GIVENS, M. D. and M. S. MARLEY (2013): Immunology of chronic BVDV infections. *Biologicals.* 41, 26-30.
7. KAHN, C. M. (2005): Intestinal Diseases in ruminants, In: *The Merck Veterinary Manual*, Merck & Co, inc., Whitehouse station, N. J. U.S.A., 220-233.
8. KHANG, Y. H., H. Y. PARK, Y. S. JEONG, J. A. KIM and Y. H. KIM (2009): Recombinant S-layer proteins of *Lactobacillus brevis* mediating antibody adhesion to calf intestine alleviated neonatal diarrhoea syndrome. *J. Microbiol. Biotechnol.* 19, 511-519.
9. LORENZ, I., J. F. MEE, B. EARLEY and S. J. MORE (2011a): Calf health from birth to weaning. I. General aspect of disease prevention. *Ir. Vet. J.* 1, 58-64.
10. LORENZ, I., J. FAGAN and S. J. MORE (2011b): Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Ir. Vet. J.* 64-79.

11. SMITH, D. R. (2012): Field disease diagnostic investigation of neonatal calf diarrhea. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 28, 465-481.
12. UETAKE, K. (2013): Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Anim. Sci. J.* 84, 101-105.

Diarrhoea in neonatal calves in intensive farming

Ante SVETINA, Professor in retirement, Zagreb; Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Associate Professor, Ljiljana BEDRICA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Veterinary Practice Đurđevac

Calf diarrhoea (scours) is the most expensive health problem on cattle farms worldwide. Newborn calves are extremely susceptible to diarrhoea, particularly in the first four weeks of life. The illness has a multi-factorial nature and, despite extensive research, still remains the main cause of death in young calves. On average, 55% of affected calves perish. The causative agents of diarrhoea can be placed in two categories: non-infectious factors (predisposed or contributing) and infectious factors (bacteria, viruses, protozoa). Infections are most often mixed and successive; one causative factor increases susceptibility to another. There is no significant difference in the clinical symptoms between the diarrhoea

caused by different factors. Treatment is similar regardless of the cause, and is focused on alleviating dehydration and acidosis, and supplementing electrolytes. Dehydrated calves are also prone to hypothermia and should therefore be kept warm. Pregnant cows should receive preventative vaccination to increase the quantity of antibodies in the colostrum. Newborn calves should receive colostrum as soon as possible. The best results in the prevention of diarrhoea are achieved by isolating calves from the contaminated environment. Preventative methods should be carried out year round, not just around the time of birthing.

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

Zagreb, 18.VII. Na zagrebačkom veterinarskom fakultetu fakultet uredjena je klinika 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.).

Operacijsko liječenje tumora kože u pasa



Mirna Abaffy, Dražen Matičić, Marko Pećin i Hrvoje Borošak

Uvod

Dugi je niz godina kirurška ekscizija tumora u životinja bila jedina tehnika liječenja. U današnje vrijeme onkološki kirurzi moraju sagledati sve modalitete liječenja pacijenata s tumorom te razmotriti indikacije i kontraindikacije kirurškog postupka.

Prije terapijskog postupka za svaki se zloćudni tumor provodi klinička procjena stadija. Procjena prije operacije često nije posve točna, jer se neki parametri važni za određivanje stadija mogu točno ustvrditi tek tijekom operacije.

Pravilna inspekcija i palpacija pomaže da otkrijemo veličinu, širinu i dubinu tumora. Nakon pažljive inspekcije i palpacije koristimo se i radiografijom, kompjuteriziranom tomografijom ili magnetnom rezonancijom. Ti nam podaci pomažu u postavljanju dijagnoze, planiranju liječenja, prognozi liječenja te istraživanju tumora (Gilson i sur., 1998.).

Kirurško liječenje je još uvijek najčešći oblik liječenja tumora u veterinarskoj medicini, međutim nadopunjuje se kemoterapijom i radioterapijom.

Onkološki kirurg mora poznavati biologiju i patologiju tumora, mora biti vješt s principima i operacijskim tehnikama te razmišljanjima specifičnim za kirurgiju tumora.

Najčešće neoplazije kao izazov kirurškom pristupu

Tumori kože i potkožja

Tumori kože i potkožja su od samih početaka onkologije u životinja predstavljali najčešći izazov za kirurško izrezivanje. Ekscizijska biopsija kao metoda dijagnostike i liječenja neoplazija je upravo kod kožnih tumora predstavljala metodu izbora. Tumore kože i potkožja vlasnici i veterinari uočavaju tijekom rutinskih pregleda, šišanja, kupanja, četkanja ili timarenja.

U pasa je 80% kožnih tumora benigno. Od benignih tumora pojavljuju se: lipom, histiocitom, papilomi, adenom tubularnih žlijezda.

Najčešći maligni tumori su mastocitom, hemangiosarkom, fibrosarkom, melanom, karcinom bazalnih stanica i karcinom skvamoznih stanica (Vail i Withrow, 1996.).

Primjena kirurgije u dijagnostici tumora

Stara izreka „znaj što liječiš prije nego počneš liječiti“ predstavlja zlatno pravilo onkologije. Uzimanje reprezentativnog uzorka za histopatološku pretragu je

Mirna ABAFFY, dr. med. vet., dr. sc. Dražen MATIČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Marko PEĆIN, dr. med. vet., asistent, Hrvoje BOROŠAK, dr. med. vet., asistent, Veterinarski fakultet, Zagreb

najvažniji korak u dijagnostici neoplazije. Ispravna dijagnoza citologa, odnosno patologa o tipu i malignosti tumora, odnosno biološkom ponašanju od najveće je važnosti za planiranje operativnog postupka i prognoze liječenja (Slika 1.).

MR, CT, ultrazvuk, RTG pretraga, citologija, rutinske pretrage krvi i specifični testovi mogu dodatno pomoći u planiranju liječenja. Najveća je šansa za izlječenje u vrijeme prve operacije, a dramatično se smanjuje s ponovnom pojavom tumora.

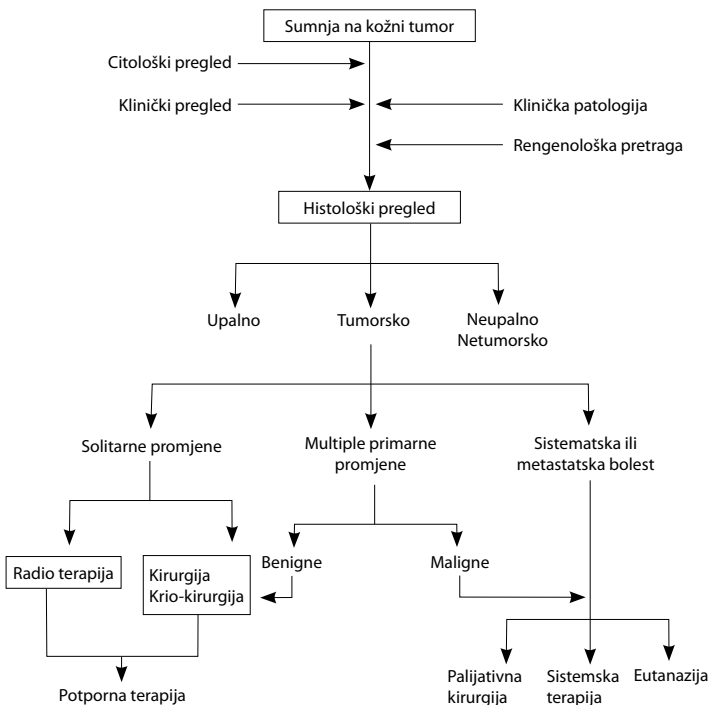
Danas je za određivanje stadija tumora u uporabi **TNM klasifikacija** za tumore životinja Svjetske zdravstvene organizacije (1980.) koja se zasniva na tri osnovna parametra: T – veličina i proširenost tumora; N– zahvaćenost limfnih čvorova; M– prisuće udaljenih metastaza. Stupanj lokalnog širenja tumora označuje se brojkama od 1 do 3, tako da je najmanja proširenost T1, a najveća T3. N0 znači da nema maligno promijenjenih limfnih

čvorova, a progresivna zastupljenost metastatskih čvorova se označuje od N1 do N3. Ako nema udaljenih metastaza označuje se s M0, a ako postoje metastaze na jednom organu M1, a na više od jednog M2 (Owen, 1980.).

Dijagnoza

Dijagnoza se kožnih tumora postavlja na osnovu kliničkog nalaza, rengenološke pretrage, citološke i patohistološke pretrage (Morrison i Hamilton, 2001.). Samo na osnovi kliničkog nalaza teško je postaviti dijagnozu, ali nalaz pojedinih promjena može sugerirati o kojem se tumoru radi (npr. ako na tumorskoj masi nađemo pigmentacije – sumnjamo na melanom, ako nađemo ulceracije – sumnjamo na karcinom skvamoznih stanica i mastocitni tumor, ako uočimo rast sličan cvijetači sumnjamo na papilome i karcinome skvamoznih stanica (Strafuss, 1976.).

Na malignost ukazuje brzi rast, ulceracije, duboke infiltracije i lokalne



Slika 1. Primjena kirurgije u dijagnostici tumora

limfadenopatije. Leukocitoza može indicirati upalni ili infektivni proces, no to je isto paraneoplastični (lažno – tumorski) znak povezan s velikim brojem tumora.

Hiperkalcinemija sa sekundarnom azotemijom (povećana količina dušika u krvi – mokraćna kiselina, amonijak i ureja) je zamjećena kod pacijenata s adenokarcinomima i karcinomima skvamoznih stanica (McGavin i Fishburn, 1975.).

Rengenološka pretraga je indicirana kod dubokih, infiltrirajućih tumora da se procijeni tkivo koje leži ispod tumora – poglavito koštano tkivo.

Citološkom se pretragom mogu izdiferencirati upalni, neupalni i neoplastični procesi. Za dobivanje materijala za citološku pretragu koriste se fine citološke igle. Ako citološka pretraga nije dovoljna za dijagnozu, neophodna je histološka pretraga prije početka liječenja.

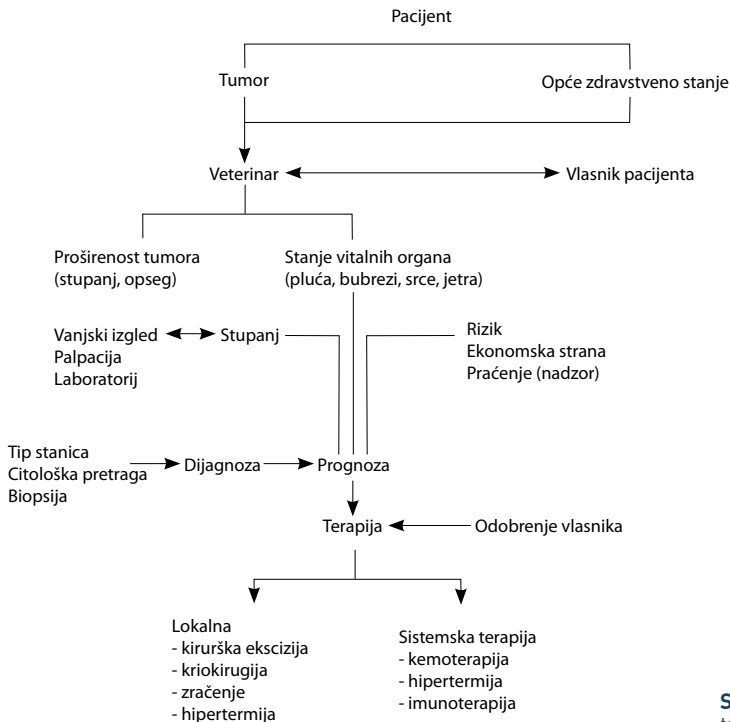
Ukoliko rezultati ovih pretraga ukazuju da bi trebalo već provedenu

terapiju mijenjati, preporuča se ubodna ili incizijska biopsija. U protivnom, bolje je provesti biopsijsku eksciziju.

Kožni tumori koji se najbolje dijagnosticiraju citološkom pretragom su: mastocitni tumori, melanomi i neki epitelni tumori. U ostalim slučajevima, iako citološka pretraga može izdiferencirati neoplastične od netumorskih promjena – daljnje definiranje tumora možda neće biti moguće (Laing, 1993.).

U svakom slučaju, kao optimalno rješenje za postavljanje rane dijagnoze kožnih tumora služe citološka i histološka pretraga.

Kada vlasnik životinje primjeti izraslinu na koži i životinju dovede k veterinaru, veterinar mora ustanoviti o kakvoj se promjeni tkiva radi i koliki je opseg tih promjena. U pojedinim situacijama prvo se dobije odgovor na drugo pitanje, jer je promjena lokalizirana, a tek onda na prvo pitanje, jer se odgovor dobije tek nakon biopsije. Svakako treba



Slika 2. Dijagnosticiranje tumora

provjeriti opće zdravstveno stanje i funkcije vitalnih organa (srce, jetra, bubrezi, pluća) da bismo mogli ocijeniti koju vrstu terapije tumora životinja može podnijeti.

Diferencijalna dijagnoza

Od kožnih tumora diferencijalno dijagnostički treba razlikovati upalne promjene i apscese, granulome, eozinofilne plakove i autoimuna stanja. Upalna stanja otkrijemo citološkom pretragom zbog predominirajućeg prisustva upalnih stanica.

Diferencijalno dijagnostički treba isključiti i neupalne i netumorske patološke procese: epidermalne i folikularne ciste, hiperplaziju lojnih žlijezda, dermoide i fibrozne polipe (Baker i Stannard, 1975.).

Kirurško liječenje pacijenata s tumorom kože

Kirurško je liječenje još uvijek najčešći oblik liječenja tumora u veterinarskoj medicini, a nadopunjuje se kemoterapijom i radioterapijom.

Onkološki kirurg mora poznavati biologiju i patologiju tumora, mora biti vješt s principima i operacijskim tehnikama te razmišljati o specifičnim za kirurgiju tumora. Kirurško se liječenje temelji na pretpostavci da je zloćudni tumor u svom početku lokalna bolest, i tek kasnije nakon duže ili kraće latencije, nastaje diseminacija zloćudnih stanica. U pojedinim slučajevima uznapredovale bolesti, kirurško izrezivanje tumora može dovesti samo do smanjene kvalitete života (Flanders, 2001.).

Priprema i uzimanje tumorskog materijala

Prijeoperacijsko planiranje uključuje definiranje cilja zahvata koji može biti izlječenje, citoredukcija ili bolja kvaliteta života. Priprema za operaciju podrazumijeva detaljan prijeoperacijski pregled radi utvrđivanja općeg stanja

pacijenta i planiranje rekonstrukcije operacijske rane nakon uklanjanja tumora.

Detaljnim anamnezom i kliničko patološkim pregledom treba utvrditi postoje li ugroze anestezijom ili operativnim postupkom, odnosno koliko utječu na poslijeoperacijski tijek i oporavak pacijenta. Opće stanje većeg broja pacijenata sa zloćudnim tumorom je poremećeno, što može biti posljedica lokalizacije tumora, ali i razvoja paraneoplastičnog sindroma (Ogilvie, 1989.).

Prije operacije je potrebno korigirati svaki funkcionalni i metabolički poremećaj da bi se smanjio mortalitet i morbiditet pri kirurškom zahvatu.

Nakon utvrđivanja stanja nužno je parenteralnom terapijom korigirati anemiju, bjelanjčevine plazme, faktore zgrušavanja krvi, elektrolite itd.

U mnogim slučajevima veliki izazov za operatera predstavlja rekonstrukcija operativne rane te je neophodno poznavanje tehnika plastične kirurgije.

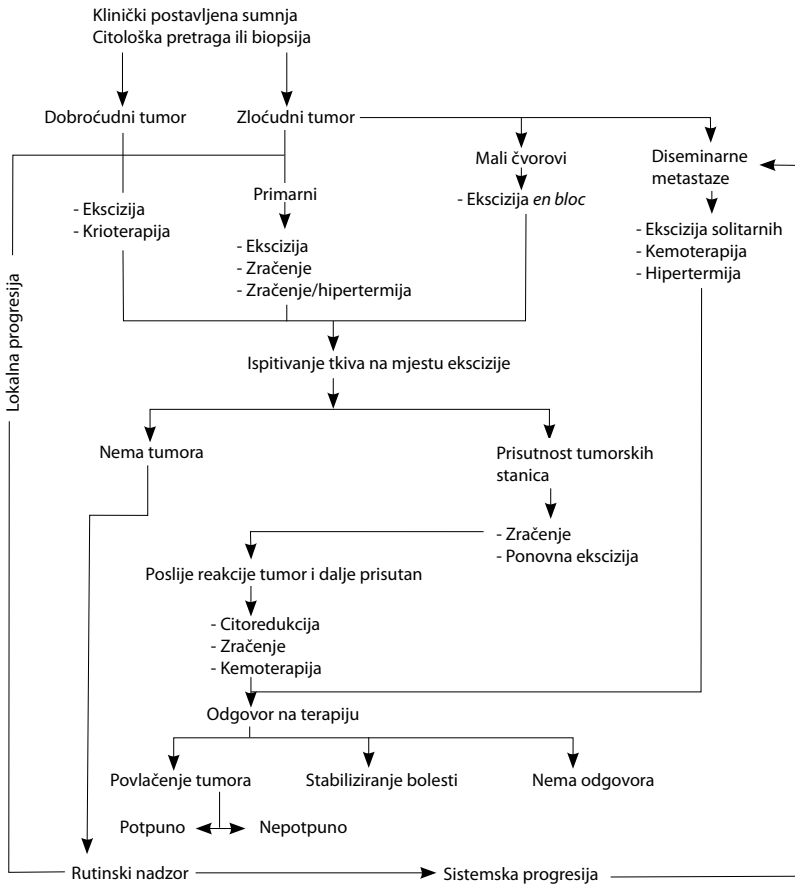
Dijagnoza kožnih tumora se postavlja na osnovu kliničkog nalaza, rengenološke pretrage, citološke i patohistološke pretrage. Ispravna dijagnoza citologa, odnosno patologa o tipu i malignosti tumora, odnosno biološkom ponašanju od najveće je važnosti za planiranje operativnog postupka i prognoze liječenja.

MR, CT, ultrazvuk, RTG pretraga, citologija, rutinske pretrage krvi i specifični testovi mogu dodatno pomoći u planiranju liječenja (Withrow, 1998.).

Rengenološka je pretraga indicirana kod dubokih, infiltrirajućih tumora da se procijeni tkivo koje leži ispod tumora – poglavito koštano tkivo.

Citološkom se pretragom mogu izdiferencirati upalni, neupalni i neoplastični procesi. Za dobivanje materijala za citološku pretragu koriste se fine citološke igle. Ako citološka pretraga nije dovoljna za dijagnozu, neophodna je histološka pretraga prije početka liječenja.

Ukoliko rezultati ovih pretraga ukazuju da bi trebalo već provedenu terapiju mijenjati, preporuča se ubodna



Slika 3. Shematski prikaz mogućnosti liječenja tumora kože

ili incizijska biopsija. U protivnom, bolje je provesti biopsijsku eksciziju.

Aspiracija iglom primjenjuje se u slučajevima procesa u štitnoj žlijezdi, limfnim čvorovima, ali i drugim organima. Pod kontrolom ultrazvuka, dijaskopije ili endoskopom mogu se uzimati i uzorci tkiva iz dubine tijela pacijenta. Citološka interpretacija aspiriranog sadržaja ne daje uvijek točnu dijagnozu, ali nam može reći radi li se o upalnom procesu ili neoplaziji. Potencijalni rizici nakon aspiracije iglom su: nastanak fistule, krvarenje, širenje infekcije i rasijavanje tumora. Kao i kod drugih bioskopskih postupaka, kontraindikacija je jaka koagulopatija (Ehrhart, 1998.).

„Skin biopsy punch“ se instrumenti primarno koriste u dermatologiji i pomoću njih se biopsiraju površinski solidni tumori.

„Tru-cut“ se iglom radi biopsija neoplazija u potkožju ili abdomenu.

U nekim je slučajevima patologu potreban veći uzorak da postavi konačnu dijagnozu, a kod nekih izraslina nemoguće je dobiti sadržaj iglom. Stoga je potrebno raditi incizijsku ili ekscizijsku biopsiju, a odabir se temelji na terapijskim posljedicama svakog postupka.

Incizijska je biopsija zahvat kojim se iz većeg tumora s kirurškim nožem uzima uzorak tkiva za histološku pretragu, s minimalnim oštećenjem ostatka

tumora ili okolnih tkiva. Tako dobiven uzorak mora obuhvatiti tumorsko tkivo od površine do najdubljih slojeva. Nedostatak incizijske biopsije je taj što se otvaraju limfni putevi pa se njima mogu implantirati maligne stanice.

Ekscizijska je biopsija kirurški postupak kod kojeg izrezujemo čitavu sumnjivu izraslinu bez pokušaja da dobijemo rubove od okolnog nepromijenjivog tkiva. Ekscizijska biopsija ima dijagnostičko i terapijsko značenje, međutim budući da kod te tehnike biopsije ne radimo eksciziju sa širokim rubom, ekscizija može biti nepotpuna i dovesti do mikroskopski rezidualnih bolesti. Neoplazija slezene, neoplazija pluća i mliječne žlijezde su slučajevi izbora ekscizijske biopsije (Kessler, 2008.).

Nakon biopsije kirurg treba preuzeti brigu oko dobivenog uzorka i upoznati patologa s potpunom anamnezom i opisom procesa na pacijentu da mu pomogne postaviti točnu dijagnozu.

Tipovi kirurških zahvata

Kirurški zahvat za izlječenje ima za cilj radikalno, odnosno potpuno odstraniti tumor. Pri nepotpunoj ekstirpaciji otvaraju se limfne i krvne žile te se narušava prirodna brana koja sprječava lokalno širenje tumora. Upravo se nakon neradikalnih operacija tumora može očekivati brz lokalni recidiv, ali i razvoj metastaza. Maligne stanice mogu ući u ranu iz primarnog tumora te iz otvorenih limfnih i krvnih žila.

Pravilno odabrana anestezija, aseptična kirurška tehnika, brižna manipulacija, sprječavanje lokalnog recidiva, perioperativna i postoperativna briga za pacijenta imperativi su kirurškog pristupa liječenju pacijenata oboljelih od tumora.

Prilikom kirurških zahvata moramo poštivati sljedeće principe, odnosno kirurške tehnike:

- ne oštetiti tumor
- izbjegavati dodirivanje ulceriranih dijelova tumora rukavicama ili instrumentima
- izolirati tumor od ostatka kirurške rane
- podvezati krvne žile prije rezanja
- oštro izrezivati
- upotrebljavati monofilamentne niti
- upotrebljavati nove kirurške rukavice, instrumente i kirurške krpe prilikom rekonstrukcije rane (Flanders, 2001.).

Lokalna je resekcija kirurški zahvat koji se primjenjuje u pacijenata s tumorima koji ne metastaziraju, odnosno ne prodiru znatnije u zdravo tkivo.

Kod zloćudnih tumora, budući da nisu inkapsulirani, linije resekcije moraju ići kroz zdravo tkivo, odnosno uz ekstripirani tumor mora ostati tanji ili deblji sloj zdravog tkiva.

Radikalna se resekcija provodi u životinja oboljelih od zloćudnih tumora koji jače infiltriraju zdravo tkivo, uz žrtvovanje okolnog tkiva, većih krvnih žila, živaca itd., a ako je potrebno organ treba i amputirati.

Radikalna resekcija s „en bloc“ ekstirpacijom limfnih čvorova - izvodi se u pacijenata oboljelih od zloćudnih tumora koji redovito metastaziraju limfnim putovima i u kojih blizu primarnog tumora nalazimo maligno promijenjene limfne čvorove. Ako bi se tumor samo radikalno resecirao, otvorile bi se limfne žile, izašle zloćudne stanice i pojavio bi se lokalni recidiv. Limfni čvorovi kod pacijenata oboljelih od tumora važni su zbog svoje imunosne uloge te je tako postupak s regionalnim limfnim čvorom kontroverzan u humanojoj i veterinarskoj onkologiji. Općenito je mišljenje da limfni čvorovi koji su klinički zahvaćeni tumorom trebaju biti uklonjeni. Premda taj postupak neće povećati mogućnost izlječenja, smanjit će letalitet zbog lokalne bolesti.

Operacije se u slučaju recidiva izvode kod tumora nižeg stupnja malignosti te

ako se nakon te operacije može očekivati dulja remisija.

Palijativne su operacije simptomatske operacije kojima se liječe ili ublažuju simptomi poput: bolova, krvarenja, opstrukcije, itd. Tim se operacijama ne može spriječiti smrt od maligne bolesti, ali se mogu ukloniti simptomi koji pogoršavaju morbiditet i ubrzavaju mortalitet.

Redukcijske su operacije kirurški postupci koji se temelje na pretpostavci da će se uklanjanjem glavine tumora (debulking) uz citostatike i/ili zračenje zaustaviti ili usporiti maligna bolest.

Operacije se metastaza provode u slučajevima nediseminiranih metastaza. Rezultati su pokazali da pacijenti sa solitarnom metastazom u plućima, jetri ili mozgu imaju dobru prognozu, ako se napravi ekscizija.

Za veterinarske pacijente predložen je standardni opis resekcije rubova koji se temelji na adaptaciji sustava muskuloskeletnih tumora u humanoj medicini.

Predložena su četiri temeljna tipa resekcije:

1. Intrakapsularna resekcija – uklanjanje dijela po dijela tumora unutar njegove kapsule. Ovaj se postupak koristi kod uklanjanja koštanih cista.

2. Rubna resekcija – kod nje ravnina resekcije ide kroz reaktivnu zonu, a tumor i njegova pseudokapsula uklone se resekcijom. Primjer su operacije benignih tumora kao što su lipomi.

3. Široka ekscizija - operativni postupak liječenja pacijenata s tumorom kod kojeg isijecamo tumor zajedno s pseudokapsulom, reaktivnom zonom i rubom nepromijenjenog tkiva (pr. djelomična mandibulektomija).

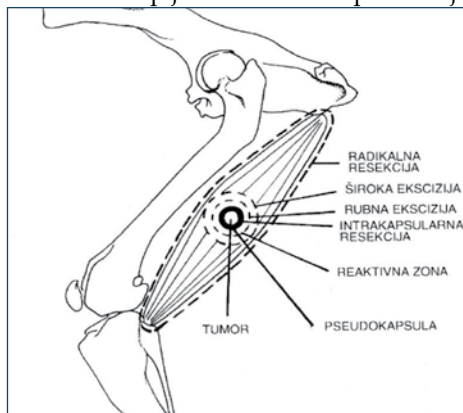
Kirurški bi rubovi ekscizije trebali biti barem 1 cm okolo i u dubinu oko tumorske mase.

4. Radikalna ekscizija - kod ove metode izrezujemo tumor zajedno s organom, odnosno tkivom na kojem se nalazi. Primjeri su: splenektomija, lobektomija ili amputacija (Kessler, 2008.).

Pomoćna terapija

Lokalizirani kožni tumori koji se ne mogu kirurški ukloniti ili su djelomično uklonjeni izlažu se zračenju sa ili bez primjene hipertermije. Na zračenje su osjetljiviji epidermalni tumori nego mezenhimalni – vezivnotkivni. Nakon toga se primjenjuje sistematska terapija (citostatici, kortikosteroidi itd.) ili ekscizija.

Kod diseminiranih tumora koristi se kemoterapija sa ili bez hipertermije



Slika 4. Shematski prikaz tumora i mogućnosti resekcije

i imunoterapije, a ona se koristi i da se pojača učinkovitost operacije ili zračenja. Kombinacija ovih metoda koristi se kod velikih infiltrativnih i metastatskih procesa, kod pokušaja iskorjenja primarnog tumora, kod tretiranja zahvaćenih ili potencijalno zahvaćenih limfnih čvorova te kod terapijanja potencijalnih metastaza (Shapiro i sur., 1988.).

Cilj liječenja je reducirati tumorsku masu do onog stupnja kada će sam organizam svojim imunološkim sustavom ukloniti ostatke diseminiranog tkiva.

Pomoćna (dodatna, potporna) terapija je indicirana ako kirurška ekscizija nije bila kompletna i ako pretraga ukazuje na invazivan tumor.

Kod malignih tumora ekstremiteta moguća je i amputacija, a kastracija može smanjiti rizik od recidiva kod adenoma

perianalnih žljezda (Wilson i Hayes, 1979.).

Antitumorski agensi koji se uspješno koriste su i glukokortikoidi (mastocitomi), Bleomycin (karcinom skvamoznih stanica) i Adriamycin (fibrosarkom).

Kod tumora s velikom incidencijom recidiva (fibrosarkom, hemangiosarkom, mastocitom) i metastaza (karcinom skvamoznih stanica, mukokutani melanom i perianalni adenom) preporuča se povremena reevaluacija (vrjednovanje) (Vail i sur., 1990.).

Krio – kirurgija (smrzavanje) se koristi kod tumora kapaka i kod ostalih malih epitelnih tumora. Kontraindicirana je kod velikih tumora.

Najčešći maligni tumori su tumori mastocita kod pasa. Kod njih se za ublažavanje simptoma koristi palijativna (ublažavajuća) kirurška ekscizija, ali su ipak recidive česte. Bolji učinak se postigne agresivnom sistematskom terapijom (citostatici, kortikosteroidi itd.).

Sistemske tumore s kožnim manifestacijama uključuju mastocitne tumore i limfosarkome. Tumori koji često metastaziraju na kožu su: sarkomi mliječne žljezde, hemangiosarkomi i mješoviti karcinom. Ukoliko se primarni tumor ne može tretirati, iz humanih se razloga preporuča eutanazija.

Kirurgija kao dio multidisciplinarnog pristupa

Dok kirurzi neprestance razvijaju nove učinkovite i manje traumatske tehnike za liječenje tumora, kompletan postupak liječenja tumora zahtijeva stručnjake raznih specijalnosti. Multidisciplinarni pristup potencira prednosti terapije i postotak izlječenja, dok na najmanju moguću mjeru smanjuje popratne učinke.

Kirurška operacija može biti kombinirana s prijeoperacijskom ili poslijeoperacijskom dodatnom terapijom kao što je zračenje ili kemoterapija. Uspješna prijeoperacijska dodatna

terapija može učiniti prije neoperabilne tumore operabilnim, smanjiti potrebu radikalne resekcije te smanjiti učestalost rasijavanja tumora i metastaziranja. Cilj poslijeoperacijske dodatne terapije jest uništiti mikroskopske tumore koji su preostali poslije kirurškog odstranjenja tumora. Poslijeoperacijska radioterapija može biti učinkovitija, jer operacija smanjuje jezgru tumora i uklanja hipoksične, radiorezistentne stanice u sredini velikih tumora.

Sažetak

Uloga kirurgije u onkološkoj terapiji uključuje oštru kiruršku eksciziju tumora skalpelom. Kirurzi danas koriste modernije tehnike kao što su: elektrokirurgija, krio-kirurgija i laserska kirurgija. Iako su mnogi tumori podložni samo kirurškoj terapiji, kirurg je danas član mnogo većeg tima koji uzima u obzir sve aspekte veze pacijent-tumor. Neotkrivene su metastaze najčešći razlog neuspjeha kirurškog liječenja tumora. U većini je slučajeva tumor metastazirao kada je i dijagnosticiran. Kada lokalizacija kožnih tumora to dopušta, potpuna kirurška ekscizija je izbor liječenja zbog toga što je instantno izlječenje omogućeno. Potpuna ekscizija mora sadržavati cijeli tumor i odgovarajuće granice normalnog tkiva i mora spriječiti prijenos tumorskih stanica iz rane. Kada lokalizirane kožne tumore nije moguće ukloniti ili ako su djelomično uklonjeni primjenjujemo terapiju zračenjem u kombinaciji sa ili bez hipertermije. Ove procedure mogu biti nastavak na eksciziju ili sistemske terapije. Kemoterapija se koristi kod diseminiranih tumora ili ako se želi postići djelotvornost kirurškog zahvata ili zračenja. Od benignih tumora pojavljuju se: lipom, histiocitom, papilomi, adenom tubularnih žljezda. Najčešći maligni tumori su: mastocitom, hemangiosarkom, fibrosarkom, melanom, karcinom bazalnih stanica i karcinom skvamoznih stanica. U radu se navode kirurške tehnike resekcije kožnih tumora.

Literatura

1. BAKER, B. B. and A. A. STANNARD (1975): Nodular panniculitis in the dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 167, 752-758.

2. EHRHART, N. (1998): Principles of Tumor Biopsy. In: MURTAUGH, R. J.: Clinical Techniques in Small Animal Practice. W. B. SAUNDERS, pp. 10-16.
3. FLANDERS, J. M. (2001): Principles of Surgical Oncology. In: ROSENTHALL, R. C.: Veterinary Oncology Secrets. Hanley&Belfus inc., pp. 55-60.
4. GILSON, S. D. (1998): Principales of Surgery for Cancer Palliation and Treatment of Metastases. In: MURTAUGH, R. J.: Clinical Techniques in Small Animal Practice. W. B. SAUNDERS, pp. 65-69.
5. KESSLER, M. (2008): The Secrets of how to take Tumor Biopsy. Winter Oncology seminar. Postojna, Slovenia.
6. LAING, E. J. (1993): Oncology. In: BORJAP, M. J., ed. Disease mechanisms in small animal surgery. Lea&Fabiger, pp. 84-89.
7. MCGAVIN, M. D. and F. FISHBURN (1975): Perianal adenom of aprocline origin in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 166, 388-394.
8. MORRISON, W. B. and T. A. HAMILTON (2001): Diagnosis of Neoplasia. In: SLATTER, D. H.: Textbook of Small Animal Surgery, Sec. Ed. W. B. Saunders Company, pp. 2027-2052.
9. OGILVIE, G. K. (1989): Paraneoplastic syndromes. In: WITHROW S. J., MACEWAN E. G.: Clinical Veterinary Oncology. J. B. Lippincott, pp. 29-38.
10. OWEN, L. (1980): TNM Classification of tumor in domestic animals Geneva, World Health Organization.
11. SHAPIRO, W., et al. (1988): Cisplatin for tretment of transtional cell and squamus all carcinom in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 193, 1530-1533.
12. STRAFUSS, A. S. (1976): Squamous cell carcinoma in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 168, 425-432.
13. VAIL, D. M. and S. J. WITHROW (1996): Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: WITHROW, S. J., MACEWAN E. G.: Small Animal Clinical Oncology, 2nd ed. Philadelphia, SAUNDERS, W. B., pp. 167-191.
14. VAIL, D. M., et al. (1990): Perianal adenocarcinoma in the canino male: A retrospective study of 41 cases. J. Am. Vet. Med. Assoc. 26, 329-335.
15. WILSON, G. P. and H. M. HAYES (1979): Castration for tretment of perianal glaud neoplasmus in the dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 174, 1301-1307.
16. WITHROW, S. J. (1998): The Evolution of Veterinary Surgical Oncology. In: MURTAUGH, R. J.: Surgical Oncology. Clinical techniques in Small Animal Practice. W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA.

Surgical treatment of skin tumors in dogs

Mirna ABAFFY, DVM, Dražen MATIČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Marko PEĆIN, DVM, Assistant, Hrvoje BOROŠAK, DVM, Assistant, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The skin is the origin of about one-third of canine neoplasms. Many factors affect the selection of patients with neoplasms for surgical therapy. A neoplasm's biological behavior, location, and extent are considered, as well as the patient's overall health. Curability is not always feasible, yet surgery often improves the quality of life without eliminating the disease. Epidermal tumors account up to 28% of canine tumors and include basal cell tumors, melanocytic tumors and prickle cell tumors. Cutaneous tumors such as malignant melanoma, mast cell tumor, and fibrosarcoma require wide primary

excision. Tumors frequently may be classified as carcinoma (epidermal, adnexal), round cell (melanoma, lymphoma, plasmacytoma, histiocytoma, mast cell tumor, transmissible venereal tumor) or supporting tissue (soft-tissue tumors). The role of surgery in oncological therapy involves sharp surgical excision of the neoplasm with a scalpel. Surgeons now use more modern techniques such as electrosurgery, cryosurgery and laser surgery. This paper gives an overview of the surgical techniques applied in the removal of skin tumors.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

**antibakterijski lijek za sustavne infekcije
fluorokinolon, enrofloksacin 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 enzootske 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.

Limfom u mačaka III.

Liječenje



Doroteja Andreić, Dalibor Potočnjak i Nada Kučer

Liječenje

Nakon citološke ili histopatološke dijagnoze prognoza i mogućnosti terapije rješavaju se s vlasnikom. Terapija se dijeli na: kiruršku, kemoterapiju i radioterapiju te u bilo kojoj kombinaciji navedena tri tipa terapije. Prognoza je povoljnija u životinja koje reagiraju na terapiju, koje su FeLV negativne, u ranom stadiju bolesti te u substadiju *a*. Ipak, čak i ako je mačka u I. stadiju ektranodalnog limfoma, obično se diseminacija procesa javlja nekoliko tjedana do mjeseci nakon dijagnoze (Couto, 2000., Couto, 2001.). Prema tome, najbolji se rezultati postižu kemoterapijom (Parshley i sur., 2011.) jer svi solitarni limfomi imaju tendenciju diseminaciji nakon određenog vremena (Couto, 2000., Couto, 2001., Raskin, 2010., Bound i sur., 2011.). Kirurška se i/ili radioterapija koristi kod lokaliziranih limfoma prije ili za vrijeme kemoterapije. Iznimka su tome solitarni gastrointestinalni limfom kada masa obstruira lumen probavnog sustava. Tada je masu potrebno kirurški ekstirpirati. Mačke s nazalnim limfomom imaju najbolju prognozu zbog toga što lokalna radioterapija (ili kemoterapije u slučaju da radioterapija nije dostupna) završava s odličnom kontrolom bolesti te srednjim vremenom preživljavanja od

1,5 godina. Netretirane životinje nakon dijagnosticiranja bolesti žive u prosjeku 4 do 6 tjedana (Vail i Thamm, 2004.), odnosno 4 do 8 tjedana (Couto, 2000., Couto, 2001.). U početku su rezultati terapije povoljni, jer 50% do 75% mačaka odgovara na multipreparatnu kemoterapiju (Parshley i sur., 2011.). No, u većine životinja (65% do 75%) javlja se relaps u obliku diseminirane bolesti koja je otporna na kemoterapiju (Couto, 2000., Couto, 2001.). Srednje vrijeme preživljavanja mačaka tretiranih kemoterapijom (bez obzira je li korištena radioterapija i/ili kirurško odstranjivanje) je 6 do 9 mjeseci (Couto, 2000., Couto, 2001., Malik i sur., 2003.), odnosno 2 do 8 mjeseci (Jeglum i sur., 1987., Mooney i sur., 1989., Rassnick i sur., 1999., Milner i sur., 2005.). FeLV pozitivne mačke prežive znatno kraće (3 do 4 mjeseca), dok FeLV negativne imaju ovisno o zahvaćenoj anatomskoj lokaciji bolju prognozu i prežive 9 do 18 mjeseci (Couto, 2001.). FIV status ne utječe na prognozu (Malik i sur., 2003.). U pravilu, limfomi visokog stupnja malignosti bolje reagiraju na kemoterapiju od limfoma niskog stupnja malignosti. Limfomi srednjeg stupnja malignosti često slabo reagiraju na kemoterapiju.

Terapija se limfoma u mačaka dijeli u nekoliko faza ili strategija (Couto,

Doroteja ANDREIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Dalibor POTOČNJAK, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Nada KUČER, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet Zagreb

Tabela 1. CHOP protokol za mačke s limfomom (Wisconsin-Madison Sveučilište, SAD).

Tjedan tretmana	Lijek, doza i način aplikacije
1	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v L-asparaginaza: 400 U/kg s/c Prednisolon: 2 mg/kg p/o
2	Ciklofosfamid: 200 mg/m ² i/v Prednisolon: 2 mg/kg p/o
3	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v Prednisolon: 1 mg/kg p/o
4	Doksorubicin: 25 mg/m ² i/v Prednisolon: 1 mg/kg p/o*
6	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v
7	Ciklofosfamid: 200 mg/m ² i/v
8	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v
9	Doksorubicin: 25 mg/m ² i/v
11	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v
13	Ciklofosfamid: 200 mg/m ² i/v
15	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v
17	Doksorubicin: 25 mg/m ² i/v
19	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v
21	Ciklofosfamid: 200 mg/m ² i/v
23	Vinkristin: 0,5-0,7 mg/m ² i/v
25	Doksorubicin: 25 mg/m ² i/v

* Prednisolon (1 mg/kg p/o) se od ove točke nadalje aplicira svakodnevno.

2000., Couto, 2001.): indukcija remisije, intenzifikacija (ova faza je prisutna samo kada ne dolazi do remisije tumora), održavanje te reindukcija remisije. Odmah nakon dijagnoze koristi se relativno agresivna multipreparatna kemoterapija kako bi se inducirala remisija. Remisija se definira kao kompletno nestajanje svih znakova tumora. Remisija ne znači da je životinja izliječena, već da neko vrijeme kvalitetno živi bez problema prouzročenih tumorom. Iako su se simptomi tumora povukli, mikroskopske količine tumora i dalje mogu biti prisutne u tijelu. Indukcija remisije traje 6 do 8 tjedana. Pacijenti svaki tjedan dolaze veterinaru te im se intravenozno aplicira antimitotski preparat. Ujedno se pacijent i pregleda te se preporuča napraviti KKS. Na kraju faze se smatra da je pacijent u potpunoj remisiji (došlo je do potpunog nestanka svih neoplastičnih masa) te se prelazi u fazu održavanja. U ovoj se fazi

kemoterapeutici apliciraju peroralno te radi toga nije potrebno tjedno promatranje pacijenta. Pacijenti se naručuju svakih 6 do 8 tjedana. Ova faza traje dok se tumor ne vrati i onda se prelazi u fazu reindukcije. Ova je faza slična prvoj u kojoj se koristi intenzivna terapija. Kada se postigne remisija, pacijent se ponovno stavlja na održavanje, ali ovaj puta s modificiranom multipreparatnom kemoterapijom. Intenzifikacija je međufaza prve i druge faze koja se koristi u slučajevima kada nakon prve faze pacijent nije u remisiji. U tom slučaju kemoterapeutcima se dodaje i L-asparaginaza prije nego li se prijeđe u drugu fazu. Mačke koje postignu remisiju imaju bolju prognozu za dulji i kvalitetniji život nego mačke koje ju nisu postigle (Vail i sur., 1998., Milner i sur., 2005., Lingard i sur., 2009.).

Radioterapija je izvrstan oblik terapije za pacijente s nazalnim, ektranodalnim i solitarnim limfomom (Parshley i sur.,

Tabela 2. VELPAC-C protokol za liječenje limfoma u mačaka koji se koristi na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu. Tretman traje 24 tjedna. Doza citoksana se zaokružuje prema dolje, na najbližih 25 mg. Citoksan/Adriamicin se daju samo ako se u krvi nalazi više od 3000/ μ L neutrofila te se prestaju davati ako se javi cistitis. U tom se slučaju daje klorambucil po istom principu u dozi od 15 mg/m² dnevno 4 dana u sljedeća 3 tjedna. Doze se citoksana i adriamicina snižuju za 25% ako je broj neutrofila u nadiru manji od 1000/ μ L. Lijekovi se daju u sljedećim dozama: Adriamicin (ADRIA): 25 mg/m² i/v., Vinkristin (VCR): 0,75 mg/m² i/v., (0,5 mg/m² i/v u 2. u drugom tjednu), Citoksan (CTX): 300 mg/m² p/o., L-asparaginaza (L-ASP): 10000 u/m² i/m., Prednisolon (PRED): 40 mg/m² p/o.

Tjedan tretmana	Lijek
1.	VCR, PRED (davati dnevno u 1. tjednu, nakon toga svaki drugi dan)
2.	ADRIA, VCR (u dozi od 0,5 mg/m ²)
3.	VCR, prekontrolirati kompletnu krvnu sliku
4.	ADRIA, prekontrolirati kompletnu krvnu sliku
5.	prekontrolirati kompletnu krvnu sliku
7.	VCR, CTX
8.	L-ASP, prekontrolirati kompletnu krvnu sliku
9.	L-ASP
12.	VCR, CTX
15.	ADRIA
18.	ADRIA
21.	ADRIA
24.	ADRIA

2011.). Naime, stanice limfoma su radiosenzitivne te se poboljšanje vidi za nekoliko sati ili dana nakon početka terapije (Couto, 2000., Couto, 2001.). Ipak, limfom se ne smije podcijeniti. Iako je poznato da se nakon radioterapije solitarnih limfoma može postići izliječenje, takvi su slučajevi jako rijetki (Couto, 2000., Couto, 2001.). Većina solitarnih limfoma prije ili poslije postane diseminirana (Couto, 2000., Couto, 2001.) pa se samo kirurška ili radioterapija ne preporuča. Radioterapija se najbolje koristi kao nadopuna za kemoterapiju (Bound i sur., 2011.). Isto vrijedi i za kiruršku terapiju.

Osim navedenog, po potrebi koristimo i potpurnu terapiju. Tu spadaju: tekućinska terapija, aplikacija stimulatora apetita, antiemetici te postavljanje fagostome. Po potrebi valja obaviti torakocentezu te terapiju kisikom.

Postoje različiti protokoli kemoterapije (Mooney i sur., 1989., Mehoney i sur.,

1995., Moore i sur., 1996., Kristal i sur., 2001.): COP (C, cyclophosphamide, O, oncovin/vincristine, P, prednisolone), DOX (doksorubicin) i CHOP (C, cyclophosphamide, H, doksorubicin, O, oncovin/vincristine, P, prednisolone). Najčešći koji se koristi je COP protokol. Taj protokol je najčešći jer ima veći stupanj remisije i preživljavanja od protokola baziranih na doksorubicinu (Teske i sur., 2002.). Istraživanje je u Velikoj Britaniji pokazalo da je 83% vlasnika mačaka s limfomom koje su tretirane COP protokolom sretno što je dopustilo tretiranje tim protokolom (Tzannes i sur., 2008.). Utvrđeno je i da bi 87% navedenih vlasnika tim protokolom tretiralo i drugu mačku u slučaju da je to potrebno (Tzannes i sur., 2008.). Drugi autori navode da je CHOP protokol bolji od COP protokola jer je djelotvorniji (Vail i Thamm, 2004.). Primjer CHOP protokola koji se koristi u SAD-u (Wisconsin-

Tabela 3. C.O.P. protokol za kemoterapiju mačjeg limfoma koji se koristi na klinikama Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Protokol traje 52 tjedna. Citoksan se daje samo ako je broj neutrofila viši od 3000/ μ L. Doza citoksana se snižuje za 25% ako je broj neutrofila u nadiru (2. i 5. tjedan terapije) niži od 1000/ μ L. Doze kemoterapeutika su sljedeće: Vinkristin (VCR): 0,5-0,75 mg/m² i/v., Citoksan (CTX): 300 mg/m² p/o., Prednizolon (Pred): 40 mg/m² p/o dnevno.

Tjedni tretmana	Lijek
1.	VCR, CTX, Pred
2.	VCR, prekontrolirati kompletnu krvnu sliku
3.	VCR
4.	VCR, CTX
5.	prekontrolirati kompletnu krvnu sliku
7.	VCR, CTX
10.	VCR, CTX
13.	VCR, CTX
16.	VCR, CTX
19.	VCR, CTX
22.	VCR, CTX
25.	VCR, CTX
28.	VCR, CTX
31.	VCR, CTX
34.	VCR, CTX
37.	VCR, CTX
40.	VCR, CTX
43.	VCR, CTX
46.	VCR, CTX
49.	VCR, CTX
52.	VCR, CTX

Madison Sveučilište) naveden je u tabeli 1 (Vail i Thamm, 2004.).

Doksorubicin se koristi kao tzv. „rescue protokol“ kod limfoma koji su postali COP ili CHOP rezistentni (Calvert i Leifer, 1981., Van Vechten i sur., 1990.). Rescue protokol je naziv za protokol koji se koristi za tretiranje refraktornih limfoma (Oberthaler i sur., 2009.). Taj protokol se često koristi i u terapiji limfoma, kada je prvotna terapija zakazala, da bi se inducirala remisija i produljilo vrijeme preživljavanja (Oberthaler i sur., 2009.). No, postizanje sekundarne remisije u mačaka je teško što je vrlo frustrirajuće i za vlasnika i za veterinara (Oberthaler i sur., 2009.), samo 22% mačaka reagiralo je na terapiju, a samo 9% njih postiglo

je potpunu remisiju (Oberthaler i sur., 2009.). Preživljavanje je nakon rescue protokola s doksorubicinom 14,6 mjeseci u mačaka koje su reagirale na terapiju odnosno 4,3 mjeseca u onih koje nisu (Oberthaler i sur., 2009.). Osim kao rescue protokol, doksorubicin se koristi i kao jednopreparatna terapija za indukciju remisije limfoma u mačaka, no potpuna se remisija događa samo u 26% do 32% mačaka (Peaston i Maddison, 1999., Kristal i sur., 2001.). Doksorubicin je najučinkovitiji kada se koristi u indukciji jer su tada stanice najosjetljivije i imaju manju mogućnost razviti rezistenciju (Oberthaler i sur., 2009.). Na terapiju doksorubicinom općenito ne reagiraju mačke s limfomom velikih stanica

(Oberthaler i sur., 2009.), a najbolje reagiraju mačke s limfomom malih i srednje velikih stanica (Oberthaler i sur., 2009.). Ako se doksorubicin daje u multipreparatnom protokolu, poboljšava se njegova širina djelatnosti (Oberthaler i sur., 2009.).

Na klinici za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu koriste se dva protokola u liječenju limfoma mačaka: VELCAP-C (Tabela 2.) i C.O.P. protokol (Tabela 3.).

Ako se radi o paraneoplastičnom sindromu, najbolji način tretiranja je tretirati sam tumor (Cavana i sur., 2009.). Imunoterapija je rijetko učinkovita, ali u nekih pacijenata se javilo poboljšanje nakon uporabe imunoglobulina, steroida ili plazmafereze (Mariani i sur., 1999., Hannorat i Antoine, 2007.).

Sažetak

Terapija može biti: kirurška, kemoterapija ili radioterapija te bilo koja kombinacija navedena tri tipa terapije. Oblik terapije ovisi o tipu i lokalizaciji limfoma te o zahvaćenosti organa. No, zbog mogućnosti da lokalizirani limfom diseminira, kao osnovna terapija upotrebljava se kemoterapija, a kirurška ekstirpacija i radioterapija su samo nadopuna osnovnoj terapiji.

Literatura

- BOUND, N. J., S. L. PRIESTNALL and M. P. CARIOU (2011): Lingual and renal lymphoma in a cat. *J. Feline. Med. Surg.* 13, 272-275.
- CALVERT, C. A. and C. E. LEIFER (1981): Doxorubicin for treatment of canine lymphosarcoma after development of resistance to combination chemotherapy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 179, 1011-1012.
- CAVANA, P., F. SAMMARTANO, M. T. CAPUCCHIO, D. CATALANO, A. VALAZZA and A. M. FARCA (2009): Peripheral neuropathy in a cat with renal lymphoma. *J. Feline. Med. Surg.* 11, 869-872.
- COUTO, C. G. (2000): Advances in treatment of the cat with lymphoma in practice. *J. Feline. Med. Surg.* 2, 95-100.
- COUTO, C. G. (2001): What is new on feline lymphoma? *J. Feline. Med. Surg.* 3, 171-176.
- HONNORAT, J. and J. C. ANTOINE (2007): Paraneoplastic neurological syndromes. *Orphanet. J. Rare. Dis.* 2, 22-29.
- JEGLUM, K. A., A. WHEREAT and K. YOUNG (1987): Chemotherapy of lymphoma in 75 cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190, 174-178.
- KRISTAL, O., S. E. LANA, O. OGILVIE, W. M. RAND, S. M. COTTER and A. S. MOORE (2001): Single agent chemotherapy with doxorubicin for feline lymphoma: a retrospective study of 19 cases (1994 - 1997). *J. Vet. Intern. Med.* 15, 125-130.
- LINGARD, A. E., K. BRISCOE, J. A. BEATTY, A. S. MOORE, A. M. CROWLEY, M. KROCKENBERGER, R. K. CHURCHER, P. J. CANFIELD and V. R. BARRS (2009): Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. *J. Feline. Med. Surg.* 11, 692-700.
- MALIK, R., L. J. GABOR and P. J. CANFIELD (2003): Lymphoma in Australian cats - lessons for Europe? *J. Feline. Med. Surg.* 5, 147-150.
- MARIANI, C. L., S. B. SHELTON and J. C. ALSUP (1999): Paraneoplastic polyneuropathy and subsequent recovery following tumor removal in a dog. *J. of the Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 302-304.
- MEHONEY, O., A. S. MOORE, S. M. COTTER, S. J. ENGLER, D. BROWN and D. G. PENNINGCK (1995): Alimentary lymphoma in cats: 28 cases (1988 - 1993). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207, 1593-1598.
- MILNER, R. J., J. PEYTON, K. COOKE, L. E. FOX, A. GALLAGHER, P. GORDON and J. HESTER (2005): Response rates and survival times for cats with lymphoma treated with the University of Wisconsin - Madison chemotherapy protocol: 38 cases (1996 - 2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1118-1122.
- MOONEY, S. C., A. A. HAYES, E. G. MACEWEN, R. E. MATUS, A. GEARY and B. A. SHURGOT (1989): Treatment and prognostic factors in lymphoma in cats: 103 cases (1977 - 1981). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 194, 696-702.
- MOORE, A. S., S. M. COTTER, A. E. FRIMBERGER, C. A. WOOD, W. M. RAND and D. A. L'HEUREUX (1996): A comparison of doxorubicin and COP for maintenance of remission in cats with lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.* 10, 372-375.
- OBERTHALER, K. T., E. MAULDIN, P. M. McMANUS, F. S. SHOFER and K. U. SORENMO (2009): Rescue therapy with doxorubicin-based chemotherapy for relapsing or refractory feline lymphoma: a retrospective study of 23 cases. *J. Feline. Med. Surg.* 11, 259-265.
- PARSHLEY, D. L., S. M. LARUE, B. KITCHELL, D. HELLER and R. S. DHALIWAL (2011): Abdominal irradiation as a rescue therapy for feline gastrointestinal lymphoma: a retrospective study of 11 cats (2001 - 2008). *J. Feline. Med. Surg.* 13, 63-68.
- PEASTON, A. E. and J. E. MADDISON (1999): Efficacy of doxorubicin as an induction agent for cats with lymphosarcoma. *Aust. Vet. J.* 77, 442-444.

19. RASKIN, R. E. (2010): Lymphoma. In: SCHAER, M.: Clinical Medicine of the Dog and the Cat, Manson Publishing, Great Britain (281).
20. RASSNICK, K. M., G. N. MAULDIN, S. D. MOROFF, G. E. MAULDIN, M. C. MCENTEE and S. C. MOONEY (1999): Prognostic value of argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) staining in feline intestinal lymphoma. J. Vet. Intern. Med. 13, 187-190.
21. TESKE, E., G. STRATEN, R. VAN NOORT and G. R. VAN RUTTEMAN (2002): Chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine, and prednisolone (COP) in cats with malignant lymphoma: new results with an old protocol. J. Feline. Med. Surg. 2, 83-90.
22. TZANNES, S., M. F. HAMMOND, S. MURPHY, A. SPARKES and L. BLACKWOOD (2008): Owners 'perception of their cat' quality of life during COP chemotherapy for lymphoma. J. Feline. Med. Surg. 10, 73-81.
23. VAN VECHTEN, M., S. C. HELFAND and K. A. JEG LUM (1990): Treatment of relapsed canine lymphoma with doxorubicin and dacarbazine. J. Vet. Intern. Med. 4, 187-191.
24. VAIL, D. M., A. S. MOORE, G. K. OGILVIE and L. M. VOLK (1998): Feline lymphoma (145 cases): proliferation indices, cluster of differentiation 3 immunoreactivity, and their association with prognosis in 90 cats. J. Vet. Intern. Med. 12, 349-354.
25. VAIL, D. M. and D. H. THAMM (2004): Lymphoma. In: ETTINGER, S. J. and E. C. FELDMAN: Textbook of Veterinary Internal Medicine, 6th Edition, Elsevier Saunders, USA, (732-741).

Lymphoma in Cats III – Therapy

Doroteja ANDREIĆ, DVM, Dalibor POTOČNJAK, DVM, PhD, Full Professor, Nada KUČER, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

Lymphoma is managed with chemotherapy, radiotherapy or via surgical extirpation, or a combination of the three. The type of therapy depends on the type and location of the tumor, and the infiltration

of the organ. Since even localized tumors tend to disseminate, chemotherapy is the basic therapy for managing lymphoma, with radiotherapy and surgery used as additions to chemotherapy.

DOMEĆE VIESTI

NOVI PROJEKT ZA TRŽNICU. Prvobitno je bilo određeno, da će se gradska tržnica urediti u bivšoj jašioni u produljenoj Jurišićevoj ulici. Kasnije kao da je taj projekt zabačen, jer je sa adaptacijom sve dulje i dulje odgadjano. Sada se javlja novi projekt, koji će sigurno prihvatiti kupujuće občinstvo. Usled udaljenosti projektirane tržnice od centra grada - Jelačićevog trga, čulo se je dosta prigovora u občinstvu. To je potaklo nekoliko poduzetnijih i imućnijih gradjana, da su se sastali na dogovor na kom je stvoreno „dioničarstvo društvo za unapredjenje tržnice“. Ovo je društvo prihvatilo mnijenje kupujućeg občinstva i odlučilo sagraditi tržnicu u neposrednoj blizini Jelačićevog trga.

„Obzor“ (Zagreb), 294, 2, 1907 (god. 48) (31. listopada 1907.).

Primjena eteričnih ulja lavandi i lavandina u biomedicini i veterinarskoj medicini

Ksenija Vlahović, G. Mršić, D. Popović, Maja Jelena Petek, Branka Gršković, I. Špoljarić, Tatjana Mršić, Ana-Marija Šantek Pulić, D. Špoljarić, Iva Popović, Nevenka Čelepirović, D. Kezić, Lidija Kozračinski, D. Mihelić, D. Žubčić i Maja Popović



Uvod

Eterična su ulja smjese hlapivih, biološki aktivnih molekula dobivenih iz nekih biljnih vrsta i njihovih hibrida metodama destilacije ili tiještenja (Lis-Balchin i Hart, 1997., 1999., Kuštrak, 2005.). Njihova primjena u preventivne i terapijske svrhe u ljudi i/ili životinja naziva se aromaterapija (Grosjean, 1994.). Ta je terapija bila dobro poznata već u doba starih Egipćana, odnosno nekoliko tisuća godina prije Krista, koji su iz biljaka izdvajali brojna mirisna ulja i primjenjivali ih za masažu i njegu kože, a cvjetove i u procesu mumifikacije ljudi. Kraljici Kleopatri aromaterapija je bila najdraži način njege tijela i duha. Kasnije su stari Grci i Rimljani koristili biljke i njihova ljekovita i mirisna svojstva u masaži, kozmetici i liječenju. Potom su stare arapske civilizacije prije 3000 godina usavršile metodu destilacije biljnih ekstrakata te su pripremali recepture za proizvodnju mirisnih ulja. Koristili su ih kod poremećaja rada bubrega i želuca. U

devetnaestom stoljeću Francuska postaje i ostaje vodeći proizvođač parfema, eteričnih ulja i kozmetike te intenzivno istražuje i primjenjuje aromaterapiju (Upson i Andrews, 2004.). Godine 1937. francuski je kemičar i proizvođač parfema Rene-Maurice Gatefosse, prvi opisao terapijski učinak eteričnih ulja lavande, nakon što je zbog eksplozije u svom laboratoriju, opečene ruke uronio u spremnik s eteričnim uljem. Osim u Francuskoj od sredine prošlog stoljeća aromaterapija se razvija u Engleskoj i Njemačkoj, a pojačano zanimanje za nju proizlazi iz davno poznatog utjecaja mirisa na čovjekovo psihičko i fizičko stanje (Wynn i Fougere, 2007.).

Lavanda je od davnina bila jedna od najomiljenijih aromatičnih ljekovitih biljaka. U Novom zavjetu sveti Marko govori o eteričnom ulju lavande kao o vrlo vrijednom ulju. Rimljani su lavandom stvarali ugodan miris kupeljima pa odatle i njezino ime, koje potječe od

Dr. sc. Ksenija VLAHOVIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, Daniel ŠPOLJARIĆ, dr. med. vet., asistent-znanstveni novak, dr. sc. Dubravko KEZIĆ, dr. med. vet., viši asistent – znanstveni novak, dr. sc. Lidija KOZRAČINSKI, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Damir MIHELIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Damir ŽUBČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Maja POPOVIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Gordana MRŠIĆ, dipl. ing., docent, dr. sc. Maja Jelena PETEK, dipl. ing., dr. sc. Branka GRŠKOVIĆ, dipl. ing., docentica, Igor ŠPOLJARIĆ, dipl. krim., Centar za forenzična ispitivanja istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“, Zagreb; Davor POPOVIĆ, dipl. ing. agr., stručni suradnik, Genera d.o.o., Kalinovica, Rakov Potok; dr. sc. Tatjana MRŠIĆ, dipl. ing., mag. pharm, studentica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb; Ana-Marija ŠANTEK PULIĆ, dipl. ing., mag. pharm., stručna suradnica, Ljekarne Prima-Pharme Zagreb; dr. sc. Iva POPOVIĆ, dr. med., Klinika za traumatologiju KBC „Sestre milosrdnice“ Zagreb; dr. sc. Nevenka ČELEPIROVIĆ, dipl. ing., Hrvatski šumarski institut, Jastrebarsko

latinske riječi lavare, što znači „prati se”. Za vrijeme Pinijs, rimljani su lavandu koristili kao ljekovito sredstvo. U kineskoj tradicionalnoj medicini lavandom su se liječili neplodnost, anksioznost, groznica i različite infekcije (Upson i Andrews, 2004.). U antici je osim mirisa, lavanda bila cijenjena i zbog svog umirujućeg i dezinficirajućeg djelovanja, a u srednjem vijeku i renesansi lavanda se posipala po podu kuća i crkvi kako bi odagnala pojavu kuge. U viktorsko doba koristi se kao afrodizijak (Marković, 2005.). Domaćice su je stavljale u ormare i ladice da odjeći podari ugodan miris i otjera moljce. Poznati talijanski travar iz 16. stoljeća, Matiooli naročito ju je preporučao kod bolesti mozga, kao što su: epilepsija, apopleksija, spazam i paraliza. Smatra se da lavanda djeluje i na lavove i tigrove u zoološkim vrtovima, odnosno da pod njezinim utjecajem postaju pitomiji (Greblo, 2009.). Shodno značenju lavande u aromaterapiji u drevnoj medicini u ovom ćemo radu prikazati potencijale primjene eteričnog ulja dobivenog iz prave lavande, lavandina, te hrvatskog kultivara „Budrovka” u području biomedicine s posebnim značenjem za veterinarsku medicinu.

Lavanda

Lavanda (*Lavandula angustifolia*) je cvjetnica iz porodice usnjače (carstvo: *Plantae*; razred: *Magnoliophyta*; Klasa: *Magnoliopsida*; porodica: *Lamiaceae*; rod: *Lavandula*) podrijetlom iz zapadnog Sredozemlja, ponajprije Pireneja i drugih planina u sjevernoj Španjolskoj. Rodu Lavanda (*Lavandula*) pripada preko 48 različitih vrsta, brojnih hibrida i uzgojenih klonova lavande koji su danas rasprostranjeni diljem Mediterana, sjeverne Afrike i jugoistočnih predjela Indije (Upson i Andrews, 2004.). Najstarija i najpoznatija uzgojena vrsta je uskolisna, francuska lavanda *Lavandula angustifolia* Mill. (sinonimi *Lavandula officinalis* (Chaix) i *Lavandula vera* (De Canolle) ili prava lavanda poznata pod



Slika 1. *Lavandula angustifolia* uzgojena na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)

narodnim imenima: lavandula, lavendl ili lefendel (slika 1).

Prvi zapisi o pravoj lavandi potječu iz 13. stoljeća i od tog vremena se ona širi po srednjoj Europi. Prava lavanda je višegodišnja biljka koja raste u obliku poluloptastog grma visine 40 do 60 cm i promjera 80 do 120 cm. Cvjetne su grane jednostavne, duge 20 do 40 cm. Životni je vijek uzgojene lavande do 30 godina. Listovi su uski, linearno duguljasti, slični listovima ružmarina. Mladi su listovi savinuta ruba i dlakavi, a poslije su plosnati i goli. Sitni su cvjetovi modroljubičaste boje, a razvijaju se u cvatovima u gornjem dijelu izdanaka. Izdanci su na svojim gornjim dijelovima više obrasli lišćem, dok se na vrhu razvijaju cvatovi koji oblikom podsjećaju na klasove (pršljenove). U vremenu cvatnje polumjer grma iznosi 80-120 cm. Lavanda prvi puta cvate u mjesecu lipnju, a drugi puta u rujnu (Pohajda, 2006.) (slika 2).

Lavanda najbolje uspijeva u toploj sredozemnoj klimi. Raste na suhim i toplim obroncima, a uspijeva i na kamenitom tlu. U Republici Hrvatskoj, lavanda se počela uzgajati u Dalmaciji u vrijeme vinske krize poslije Prvog svjetskog rata. Na otocima Hvaru, Braču i Visu te u dalmatinskom zaleđu uzgajale su se kulture prave lavande i njihovi hibridi. Danas su glavna područja uzgoja lavande sela Grablje i Brusje na otoku Hvaru.



Slika 2. Grm *Lavandula angustifolia* u cvatnji na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)



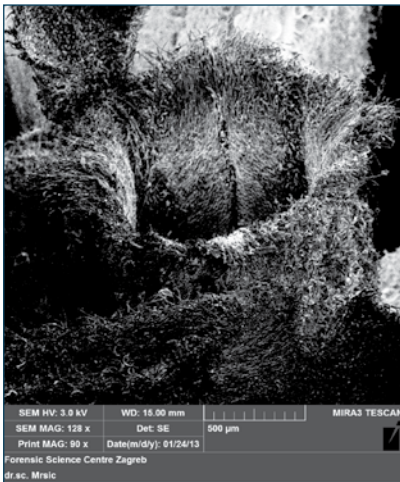
Slika 3. Hrvatski lavandin Budrovka (*Lavandula hybrida Dalmatica*) uzgojena na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)

Lavandini

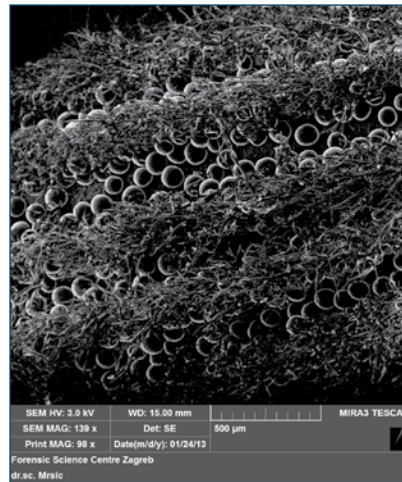
Lavandula se spontano križa pa postoje mnogi križanci, podvrste, varijeteti i forme. O hibridu *Lavandula intermedia* postoje prvi zapisi iz 16. stoljeća. Danas je poznato više od 30 podvrsta i hibrida ove plemenite biljke s različitim bojama cvjetova. Za razliku od prave lavande, hibridna lavanda (Lavandin) je zbijeniji grm visok 80 do 100 cm, promjera više od 150 cm. Cvjetne stabljike su razgranate i duge 60 do 90 cm. Za razliku od prave lavande, hibridna lavanda je sterilna, odnosno sjeme joj je neplodno (Upson i Andrews, 2004.). Najpoznatiji hrvatski lavandin je kultivar Budrovka (*Lavandula hybrida Dalmatica*). Budrovka je nastala prirodnim križanjem između prave lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) i širokolisne lavande (*Lavandula latifolia* Vill.). Otkrivena je 1948. godine na Hvaru u vrtu obitelji Budrović (Kuštrak, 2005.). Budrovka se od drugih kultivara razlikuje morfološki po tamnozelenim listovima i izrazito plavim cvjetovima, a i po ulju koje je specifičnog mirisa (slike 3, 4).

Oblik grma u cvatu je obješenog, pendulastog tipa te zbog toga grmovi

izgledaju veće i zauzimaju veću površinu. Grm je veličine 80-120 cm, a prilikom cvatnje ona iznosi i do 150 cm. Cvjetne stapke su im duže, a osim glavne stapke, imaju još i dvije postrane stapke. Prvi put cvate krajem mjeseca srpnja, a drugi puta tijekom rujna. Osim na mediteranskom području kultivar Budrovke se uspješno uzgaja i u kontinentalnim krajevima, na nadmorskoj visini do 1200 m. Hibrid Budrovka može podnijeti niske temperature i do -20 °C. Uspijeva na laganim, pjeskovitim ili šljunčanim ocjeditim terenima. O izloženosti suncu izravno ovisi kakvoća i kvantiteta eteričnog ulja. Oblačno vrijeme može utjecati na smanjenje količine eteričnog ulja za 30-50%. Pogodna su i glinasto-humusna tla na krečnjacima ili kalcitnim stijenama (Pohajda, 2006.). Važno je istaknuti da lavandin ne podnosi kisela i vlažna tla, a na parceli se ne smije zadržavati površinska voda. Ako su tla kisela, mogu se popraviti kalcifikacijom zemljišta (slika 5.).



Slika 4a



Slika 4b

Slike 4a i 4b. Elektronskim mikroskopom Tescan (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić), vizualizacija cvijeta (A) i njegovih žlijezda, odnosno egzogenih spremnika eteričnog ulja (B) hrvatskog lavandina Budrovka (*Lavandula hybrida Dalmatica*) uzgojenog na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)

Eterična ulja lavande i lavandina

Eterična ulja dobivena iz lavande i/ili lavandina imaju znatnu industrijsku i ekonomsku vrijednost te široku primjenu u kozmetičkoj, parfumerijskoj i prehrambenoj industriji, aromaterapiji, kulinarstvu, pčelarstvu, svjećarstvu te izradi suvenira (slika 6.) i prirodnih repelenta.

Ulja su zbog svojih blagotvornih svojstava od davnina poznat prirodni lijek. Najčešće se dobivaju metodom parne destilacije svježih i uvenulih cvjetova, odnosno vršaka stabiljke s cvatovima (slika 7.)

Ulje je lavande i/ili lavandina bezbojna ili žućkasta tekućina, karakteristično ugodnog mirisa i aromatično, ljuto-gorkastog okusa (slika 8.).

Metodom parne destilacije od lavandina se dobije veća količina ulja (u prosjeku 0,9 - 3% po biljci) u odnosu na onu dobivenu iz prave lavande (u prosjeku 0,5 - 1,5% po biljci). Međutim, ulje dobiveno od prave lavande u odnosu na ulje lavandina je bolje kakvoće, jer



Slika 5. Grm hrvatskog lavandina Budrovka (*Lavandula hybrida Dalmatica*) u cvatu na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)

sadrži veći postotok esterskih spojeva. U eteričnom ulju prave lavande (*Lavandula angustifolia*) najzastupljeniji su monoterpenki esteri (najvažnijeg linalil-acetata ima oko 50%), dok s nešto manjim udjelom sudjeluje i monoterpenki alkohol linalol (oko 40%). Prava lavanda sadrži samo tragove kamfora, zbog čega joj je miris finiji, a primjena sigurnija od ulja lavandina. Naime, ulja različitih



Slika 6. Suveniri OPG-a s područja Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)



Slika 8. Eterično ulje lavande/lavandina dobiveno parnom destilacijom na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)



Slika 7. Parni destilator za dobivanje eteričnog ulja lavande/lavandina koji se nalazi na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)

lavandina siromašnija su linalil-acetatom i sadrže ga u prosjeku 7-16%, ali su bogatija kamforom (u prosjeku od 4 do 11%) (tabela 1).

U Hrvatskoj je najcjenjeniji lavandin Budrovka, čije je ulje bogato linalolom, a siromašnije linalil-acetatom. Ulje Budrovke, u odnosu na ulje prave lavande, sadrži više kamfora (u prosjeku 10%). To se posebice odnosi na ulja dobivena iz lavandina koji rastu na Hvaru i drugim dalmatinskim otocima,

dok eterična ulja iz lavandina u Istri i kontinentalnom dijelu Hrvatske sadrže znatno manje količine kamfora, ovog neurotoksičnog ketona (Kuštrak, 2005.). Tome u prilog govore i rezultati analize eteričnog ulja hrvatskog lavandina Budrovke, uzgajane na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije, metodom vezanog sustava plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS; Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“, MUP, RH) (slika 9).

Poznato je, naime, da primjena eteričnih ulja lavande i/ili lavandina u aromaterapiji ovisi o njihovom kemijskom sastavu, kao i o odnosu udjela pojedinih sastavnica tih eteričnih ulja.

Primjena eteričnih ulja lavandi i lavandina u biomedicini i veterinarskoj medicini

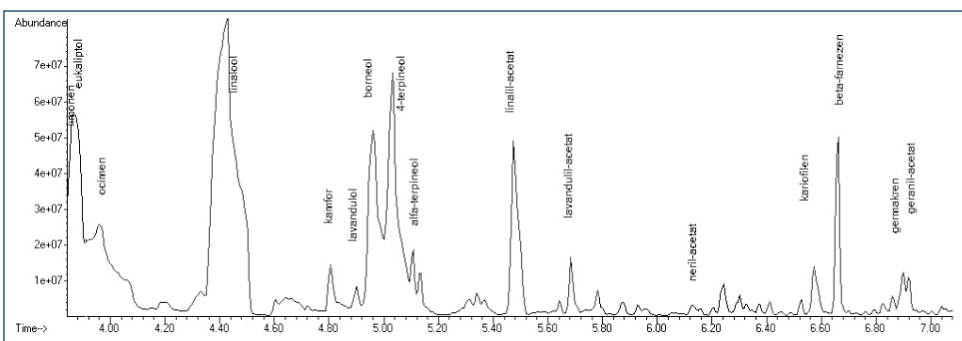
U humanoj veterinarskoj i medicini lavanda je „majka“ u simbolici ulja, a esencijalno ulje ružmarina kemotipa *verbenon* je „otac“ (Kuštrak, 2005.).

Tabela 1. Kemijski sastav najznačajnijih sastavnica eteričnih ulja dobivenih parnom destilacijom iz prave lavande i lavandina (Kuštrak, 2005.).

Kemijske sastavnice eteričnih ulja	Prava lavanda (%)	Lavandin (%)
kamfor - keton	0,5 – 1	4 - 11
1,8-citonenl- terpen	/	10
linalilacetat- terpen	35 – 50	7 - 16
linalool - terpen	30 – 40	40 - 45

Eterično ulje lavandina ima drugačije djelovanje od onoga prave lavande, a i bogatije je kamforom. Tako, ulje prave lavande (*Lavandula angustifolia*) ima umirujuće djelovanje dok ulje lavandina (*Lavandula hybrida Dalmatica*) analgetsko djelovanje. Slijedom toga ulja se prave lavande i lavandina koriste za različite primjene tj. potrebe. Zbog specifičnog sastava i jakog antibakterijskog, antivirusnog i ekspektoranskog djelovanja ulje se širokolisne lavande (*L. Latifolia Medicus*) upotrebljava kod dišnih i crijevnih infekcija. S obzirom na činjenicu da od 2006. godine europske upute ograničavaju nekliničku uporabu antibiotičkih poticatelja rasta u proizvodnji domaćih životinja namijenjenih za ljudsku prehranu, bilo bi od interesa utvrditi potencijale eteričnih ulja lavande i/ili lavandina kao mogućih prirodnih alternativa antibiotičkim poticateljima rasta u stočnoj hrani. Španjolska (francuska) lavanda (*L. Stoechas L.*) je izvrsna za serozne otitise dok je njezina uporaba u svim drugim slučajevima zabranjena zbog visokog sadržaja ketona (do 80%). Eterična

ulja lavande i/ili lavandina mogu se upotrebljavati oralno, inhalacijski i dermalno te su indicirani kod: spazama u probavnom sustavu (oralno), nesanice (dermalno, oralno, inhalacijski), grčeva mišića (dermalno i oralno) i alergijskih i infektivnih upala kože (dermalno) (Delaveau i sur., 1989., Guillemain i sur., 1989.). Hidrolat se lavande najčešće koristi u tretmanu upalnih bolesti kože te kod bakterijskog konjuktivitisa (Marković, 2005.). Ulje i ekstrakti u obliku šampona, losiona, ili regeneratorskih koriste se u kozmetici ljudi, ali i njihovih kućnih ljubimaca. U veterinarskoj etnomedicini najčešće preporučeni postupak pripreme pripravaka lavande i/ili lavandina je 2 prstohvata biljke dodati u 0,70 L prokuhane vode. Od davnina je poznato i repelentsko svojstvo lavande (Plant, 1920., Plant i Miler, 1926.). Lavandino ulje je djelotvorno u suzbijanju ušiju i drugih parazita, pri čemu su naročito jake njegove germicidne osobitosti. U Francuskoj ga smatraju korisnim antihelmintikom. Eterična ulja lavande i/ili lavandina testiranjem *in vitro* i *in vivo* pokazala su snažnu vermicide aktivnost



Slika 9. GC-MS kromatogram ulja hrvatskog lavandina Budrovka (*Lavandula hybrida Dalmatica*) uzgojenog na OPG-u na području Sisačko-moslavačke županije (izvor slike: autori teksta)

Tabela 2. Uputa za primjenu pripravaka od lavande/lavandina u veterinarskoj medicini

DOZE (Skidmore-Roth, 2001.)	Esencijalno ulje p/o 2-4 kapljice na kockicu šećera. Čaj p/o 1-2 žličice cvijeta lavande prelići šalicom vruće vode i ostaviti 10-15 minuta. Tinktura p/o uzeti do 2 mL tri puta dnevno. Lokalna uporaba: 1-2 šalice cvijeta staviti u čajnik, kada zakuha uliti u vodu za kupanje Kod kroničnih eksterne otitisa: 2 kapi esencijalnog ulja lavande kapati 2-3 puta dnevno.
KONTRAINDIKACIJE (Skidmore-Roth, 2001.)	Ne koristiti u trudnoći i dojenju. Mačkama ne davati esencijalno ulje lavande p/o i ne masirati ih bilo kojim esencijalnim uljem!
NUSPOJAVE (Skidmore-Roth, 2001.)	Središnji živčani sustav: glavobolja, pospanost, vrtoglavica, euforija. Gastrointestinalni sustav: povraćanje, povećan apetit, Koža: hipersenzivne reakcije, kontaktni dermatitis.
REAKCIJE S LIJEKOVIMA (Skidmore-Roth, 2001.)	Antihistamini, opioidi, sedativi/hipnotici, alkoholi mogu povećati sedativni učinak pa treba izbjegavati davanje lavande.
ANTISTRESNA MJEŠAVINA ESENCIJALNIH ULJA ZA KONJE (Grosjean, 1994.)	Lavanda/Lavandin 15 mL; Mažuran 10 mL; Bosiljak 5 mL; Verbena 2 mL; Promiješati i dodati 60 mL ulja pšeničnih klica. Davati dva puta dnevno po 30 kapi.

te jaku bioaktivnost protiv šugaraca *Psoroptes cuniculi* kunića. U svinja tijekom transporta u kamionima kojih je stelja bila natopljena eteričnim uljem zabilježen je blag intezitet „putničke bolesti“ (Bradshaw i sur., 1998.). Pokazalo da su psi u automobilu bili mirniji kad se njihova prostirka poprskala s 5 mL pripravka esencijalnog ulja lavande i/ili lavandina (Wells, 2006.). U utočištu za pse čiji su prostori bili prskani eteričnim uljem lavande i/ili lavandina utvrđeno je da su životinje bila mirnije (Graham i sur., 2005.). Iako su poznati za životinje brojni ljekoviti učinci pripravaka lavande i/ili lavandina, za mačke su njihova eterična ulja toksična. Naime, u jetri se terpeni iz eteričnih ulja spajaju u konjugate s glukuronskom kiselinom. Takvi su konjugirani metaboliti topivi u vodi i lako se izlučuju putem bubrega i fecesa. Međutim, mačke zbog fiziološkog nedostatka enzim glukuronil-transferaze ne mogu eliminirati tvari putem jetrene glukuronizacije što posljedično prouzroči nakupljanje toksičnih metabolita u tijelu (Wynn i Fougere, 2007.). Nadalje,

poznato je da lavandu i/ili lavandine vrlo rado jedu ovce i koze, posljedično čemu je njihovo mlijeko i sir slatkastog okusa, ali se sprječava brzo zakiseljavanje mlijeka.

Dakle, u okviru veterinarske medicine, je važno da točno znamo koji oblik pripravka lavande i/ili lavandina upotrebljavamo ovisno o vrsti životinja, dobi i spolu (tabela 2.)

Sažetak

Aromaterapija je primjena eteričnih ulja u preventivne i terapijske svrhe ljudi i životinja. U humanoj i veterinarskoj etnomedicini lavanda je „majka“ u simbolici ulja, a esencijalno ulje ružmarina kemotipa *verbenon* je „otac“. Primjena eteričnih ulja lavande i/ili lavandina u aromaterapiji ovisi o njihovom kemijskom sastavu, kao i o odnosu udjela pojedinih sastavnica tih eteričnih ulja. Tako ulje prave lavande (*Lavandula angustifolia*) ima umirujuće djelovanje dok ulje lavandina (*Lavandula hybrida Dalmatica*) analgetsko djelovanje. Nadalje, u okviru veterinarske etnomedicine, neobično je važno da točno znamo koji oblik pripravka lavande i/ili lavandina upotrebljavamo ovisno o vrsti dobi i spolu životinje.

Ovaj rad proizašao je u okviru istraživanja na VIP projektu (voditeljica prof. dr. sc. Maja Popović), financiranog od strane Ministarstva poljoprivrede i Podravke d.d. (2012-11-17) te Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta (053-0532265-2255).

Literatura

- BRADSHAW, R. H., J. N. MARCHANT, M. J. MEREDITH and D. M. BROOM (1998): Effects of lavender straw on stress and travel sickness in pigs. *J. Altern. Complement. Med.* 4, 271-275.
- DELAVEAU, P., J. GUILLEMAIN, G. NARCISSE, and A. ROUSSEAU (1989): Neurodepressant effects of lavender essential oil. *C. R. Seances Soc. Biol. Ses. Fil.* 183, 342-348.
- GRAHAM, L., D. L. WELLS and P. G. HEPPER (2005): The influence of olfactory stimulation on the behaviour of dogs housed in a rescue shelter. *Applied Anim. Behaviour Sci.* 91, 143-153.
- GREBLO, K. (2009): Antioksidativno i antimikrobno djelovanje eteričnog ulja i ekstrakata lavande. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, str. 5-11.
- GROSJEAN, N. (1994): Veterinary Aromatherapy. Saffron Waldon.
- GUILLEMAIN, J., A. ROUSSEAU and P. DELAVEAU (1989): Neurosedative effects of essential oil of *lavandula angustifolia* Mill. *Annales Pharmaceutiques Francaises* 47, 337-343.
- KUŠTRAK, D. (2005): Farmakognozija – Fitofarmacija. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb.
- LIS-BALCHIN, M. and S. HART S (1997): A preliminary study of the effect of essential

- oils on skeletal and smooth muscle in vitro. *J. Ethnopharmacol.* 58, 183-187.
- LIS-BALCHIN, M. and S. HART (1999): Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller). *Phytother Res.* 13, 540-542.
- MARKOVIĆ, S. (2005): Fitoaromaterapija, monografije esencijalnih ulja i ljekovitih biljaka, temelji fitoaromaterapije. Centar Cedrus. Zagreb.
- POHAJDA, I. (2006): Lavanda. Hrvatski zavod za poljoprivrednu, savjetodavnu službu: <http://www.hzps.hr>.
- PLANT, O. H. (1920): The effect of carminative volatile oils on the muscular movements of the intestine. *J. Pharm. Exp. Ther.* 16, 311-325.
- PLANT, O. H. and G. H. MILLER (1926): Effects of carminative volatile oils on the muscular activity of the stomach and colon. *J. Pharm. Exp. Ther.* 27, 149-164.
- SKIDMORE-ROTH, L. (2001): *Mosby's Handbook of Herbs and Natural Supplements*. Mosby, St. Louis.
- UPSON, T. M. and S. A. ANDREWS (2004): *The Genus Lavandula*. Botanical Magazine Monograph. Royal Botanic Gardens, Kew.
- WELLS, D. L. (2006): Aromatherapy for travel-induced excitement in dogs. *JAVMA* 229, 964-967.
- WYNN, S. G. and B. J. FOUGERE (2007): *Veterinary herbal medicine*. Mosby Elsevier.

Korištene web stranice:
www.pyrus-mm.hr/podlinkovi_priroda/lavanda.htm; 05.06.2009.
www.lavander.hr; 01.06.2009.
www.organicashitaba.com/pc.html; 29.05.2009.
www.aromatica.hr/hrv/page.asp?id=o_proizvodima&sub=proiz2; 01.06.2009.
www.agroklub.com/hortikultura/proizvodnja-lavande-budrovke/6555/; 08.01.2013.

Application of lavender and lavender hybrid essential oils in biomedicine and veterinary medicine

Ksenija VLAHOVIĆ, DVM, Full Professor, Daniel ŠPOLJARIĆ, DVM, Assistant-Junior Researcher, Dubravko KEZIĆ, DVM, PhD, Assistant-Junior Researcher, Lidija KOZAČINSKI, DVM, PhD, Full Professor, Damir MIHELIC, DVM, PhD, Full Professor, Damir ŽUBČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Maja POPOVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Gordan MRŠIĆ, BSc, PhD, Assistant Professor, Maja Jelena PETEK, BSc, PhD, Branka GRŠKOVIĆ, BSc, PhD, Assistant Professor, Igor ŠPOLJARIĆ, BSc, Forensic Science Centre "Ivan Vučetić", General Police Directorate, Ministry of Interior, Zagreb; Davor POPOVIĆ, BSc., Expert Associate, Genera d.o.o., Kalinovica, Rakov Potok; Tatjana MRŠIĆ, BSc, MSc, Expert Associate, PhD student, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Zagreb; Ana-Marija ŠANTEK PULIĆ, BSc, MSc, Expert Associate, Pharmacy Prima-Pharme Zagreb; Iva POPOVIĆ, DM, PhD, Clinic of traumatology, Clinical Hospital Sister of Mercy, Zagreb; Nevenka ČELEPIROVIĆ, BSc, PhD, Croatian forest research Institute, Jastrebarsko

Aromatherapy is the use of essential oils in prevention and therapy for humans and animals. In human and veterinary ethno medicine, lavender is known as the 'mother' oil, and rosemary essential oil of the verbenon chemo type is the 'father'. The use of essential oils of lavender and its hybrids in aromatherapy depends on their chemical composition, and the ratios of certain

constituents in the essential oil. The oil of true lavender (*Lavandula angustifolia*) has a soothing effect while the oil of the lavender hybrid (*Lavandula hybrida dalmatica*) has an analgesic effect. In veterinary medicine, it is important to know which preparation of lavender and/or its hybrids are used depending on the species, age and gender of the animal.

Izvadci iz povijesti veterinarstva u Varaždinu



Marijan Sabolić

Uvod

Praktično veterinarstvo u Varaždinu ima veoma dugu povijest i proteže se kroz, ni manje ni više, tri stoljeća. Prema pronađenim povijesnim podacima započinje u prvoj polovici devetnaestog stoljeća. Dakako, vezano je uz razvoj veterinarskog školstva kako u Europi tako i u Hrvatskoj. Do osnivanja Veterinarske visoke škole u Zagrebu, 1919. godine, Hrvati studenti veterinarske medicine školovali su se na veterinarskim učilištima, Veterinarskim visokim školama, u *Beču, Budimpešti, Pragu, Brnu, Lavovu* i drugdje. Nakon osnivanja Veterinarske visoke škole u Zagrebu, a napose nakon njezina preustroja u Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, takova potreba više nije postojala. Dapače, mnogi će upravo u Zagrebu nastaviti drugdje započeto školovanje ili nastaviti svoju naobrazbu tijekom doktorskih studija.

Tijekom posljednjih gotovo stotinu godina studij veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu završio je veliki broj Varaždinaca. Jednako tako veliki broj veterinaru iz drugih krajeva Hrvatske upravo je Varaždin odabrao kao mjesto u kojemu su mnogi kao veterinari odradili svoj, neki čak i sveukupni radni vijek. To

je naročito izraženo nakon pedesetih godina prošlog stoljeća kada je osnovana Veterinarska stanica Varaždin sa svojim područnim ambulantom. Osnivanje drugih organizacija čija je djelatnost bila stočarska proizvodnja, proizvodnja namirnica animalnog podrijetla ili proizvodnja hrane za životinje jednako tako otvorila je mogućnost zapošljavanja veterinaru za potrebe takvih organizacija. Kasnije će i takve organizacije moći organizirati, uz dopuštenje nadležnog Ministarstva i svoje veterinarske službe koje će moći obavljati i neke poslove iz domene javnih ovlasti, primjerice različita cijepljenja, dakako, isključivo u svojim proizvodnim pogonima. Otvoren je veliki broj radnih mjesta za veterinare. Ubrzo će se iznjedriti vrijedan veterinarski kadar pa i vrhunski stručnjaci koji će se uz to profilirati i usmjeriti struku k znanosti i njezinoj ugradnji u praksu.

Nakana je ovog članka upoznati čitateljstvo s nekima od pionira veterinarstva u Varaždinu, onih prvih, onih najstarijih, onih koji su školujući se u Beču, Budimpešti, Brnu, Lavovu i drugdje, nakon povratka ili dolaska u Varaždin utirali put veterinarstvu na varaždinskom području.

Mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica d.d. Varaždin

Za povijest veterinarstva u Varaždinu od posebnog je značaja ime **g. Maksima Šmidta**. Budući nisu pronađeni drugi podatci čini se da je upravo on bio **prvi veterinar koji je radio u Varaždinu**. Rodio se u Zagrebu 1. rujna 1821. Nakon što je završio nižu ili višu Gimnaziju u Zagrebu (nije poznato!), „*izučio je nauke gospodarstva, živinarstva s pripadajućim znanostima kao prirodoslovlje, lučbu (kemija-op. autora) i botaniku na Bečkom i Peštanskom učilištu s odličnim uspjehom*“ stekavši naslov „*poveljni živino-liečnik*“. Oko polovice 19. stoljeća radio je kao upravitelj i računovođa na jednom vlastelinstvu u Varaždinu, ali i veterinarske poslove. U razdoblju od 1845. do 1851. godine obavljao je i dužnost „*začast. žup. liečnikom životinjah slavne županije varaždinske*“. Istu dužnost kasnije je obavljao i u Zagrebu. Čini se da je tijekom školovanja stekao, osim veterinarske i agronomsku naobrazbu te naobrazbu financijskog stručnjaka. Kao vrstan veterinar, predavač i pedagog odlazi na Gospodarsko-šumarsko učilište u Križevce. U terenskoj praksi, koju je čini se obavljao do 1865. godine, naročito se istaknuo u suzbijanju goveđe kuge diljem Hrvatske. Istaknuo se i u bavljenju znanstvenim radom. Bio je svestran. Bavio se glazbom, pisao kazališne kritike, novele i putopise. Umro je 23. siječnja 1883. godine (Lovreković, 1986.).

Među prvim veterinarima u Hrvatskoj bio je **g. Josip Černy**, rođen 1837. g. u Grosspertozu u Češkoj. Veterinarske nauke studirao je na **Vojno-veterinarskom institutu i Veterinarskoj visokoj školi u Beču, Austro-Ugarska Monarhija** (*Kayserlich und Königliche Militär-Thierarznei-Institutes und der Thierärztlichen Hochschule in Wien, Österreichisch-Ungarische Monarchie*) kao vojni stipendist. Malo je podataka o njegovu službovanju i životnom putu sačuvano, ali je **poznato da je radio u Varaždinu** odakle je 1884. premješten

u Zagreb gdje je kao carski i kraljevski nadveterinar postavljen za upravitelja i učitelja Zemaljske i potkivačke škole osnovane 19. prosinca 1885. godine. Josip Černy napisao je 1892. godine prvi udžbenik za polaznike Hrvatsko-slavonske zemaljske potkivačke škole pod naslovom „*Nauka o potkivanju konjah*“. U isto vrijeme bio je i veterinar Zemaljske pastuharne pod čijim je zapovjedništvom bila i Zemaljska potkivačka škola. Godine 1897. Potkivačka škola se odvaja od pastuharne, a Černy je postavljen za njezinog ravnatelja. Tu je dužnost obavljao do 1. siječnja 1899. kada je dužnost ravnatelja preuzeo Eugen Podaubsky. Nakon toga se gubi svaki trag o njegovu životu i radu. Pretpostavlja se da se vratio u Češku gdje je i umro (Gomerčić i Vučevac Bajt, 2003.).

Na **Vojno-veterinarskom institutu i Veterinarskoj visokoj školi u Beču, Austro-Ugarska Monarhija**, studirao je i 12. lipnja 1900. godine diplomirao **g. Josip Makuc** i danas sa štovanjem spominjano ime kako među veterinarima tako i među žiteljima i njihovim pokoljenjima u varaždinskom kraju pa i šire. Gospodin Makuc je bio podrijetlom iz Küstenland-a, austrijskog primorja u ondašnjoj Carskoj i Kraljevskoj Austro-Ugarskoj dvojnoj monarhiji. Točnije, rođen je, ovisno o govornom području, u Peumi, Piumi ili Pevmi što su ondašnji sinonimi za današnju Goricu, a u sastavu Austro ugarske monarhije, na njemačkom govornom području zvala se Görz. Po završetku studija veterinarsku je praksu obavljao na području Varaždina da bi 27. travnja 1908. godine pristupio vojsci kao „*Militär-Untertierarzt*“. Veoma uspješan u poslu 30. listopada 1911. godine biva unaprijeđen i postaje „*Militärtierarzt*“. Konačno, 1. studenog 1916. godine postaje „*Militär-Obertierarzt*“. Po završetku I. svjetskog rata vraća se u Varaždin i pristupa jugoslavenskoj vojsci iz koje ubrzo odlazi u pričuvu

kao veterinarski kapetan I. klase. Od Poglavarstva slobodnog i kraljevskog grada Varaždina dobio je dopuštenje za obavljanje privatne veterinarske prakse sa svim uvjetima kojima mora udovoljiti veterinar pri obavljanju privatne prakse, a naročito na obveze pri obavljanju poslova javnih ovlasti i obvezne suradnje s Poglavarstvom i *ovooblasnim* veterinarom. Nastavio je raditi u privatnoj praksi sve do 1945. godine. Umro je u Varaždinu 20. listopada 1957. godine. Pokopan je na Gradskom groblju u Varaždinu 22. listopada 1957. (Šimunić, 2000.).

Veterinarsku visoku školu u Beču završio je i **g. Žiga Brüll** rođen 16. prosinca 1881. godine u Novoj Gradiški. Nakon što je 6. lipnja 1904. diplomirao odlazi na služenje vojnog roka te je postavljen za rezervnog vojnog podveterinara u Artiljerijsku pukovnicu 13. Zbora. Po odsluženju vojnog roka, **godine 1906. imenovan je gradskim veterinarom u Varaždinu**. Nakon što je godinu dana proveo na Bujatričkoj klinici Veterinarske visoke škole u Beču izradio je doktorsku disertaciju. Promoviran je 12. srpnja 1911. godine. U proljeće 1914. godine dr. Žiga Brüll imenovan je kotarskim veterinarom i premješten je iz Varaždina u Vukovar. Četiri godine provesti će u Prvom svjetskom ratu za što je odlikovan „*Zlatnim križem za zasluge s krunom na vrpici kolajne za hrabrost*“. Bilo je to prvo odlikovanje koje je u Prvom svjetskom ratu dodijeljeno jednom austrougarskom veterinaru. Nakon rata mijenja desetak radnih mjesta, a svoj će radni vijek završiti u Veterinarskom eksperimentalnom zavodu. Umrovljen je 1946. godine. Svoj životni put završio je u Zagrebu 11. rujna 1978. godine (Karlović, 2010.).

Veterinarske nauke na **Veterinarskoj visokoj školi u Beču** studirao je i **g. Božidar Fuksa**. Rođen je 5. prosinca 1901. godine u Grubišnom Polju. Diplomirao je na Veterinarskoj visokoj školi u Beču 29. listopada 1926. Doktorirao je

također u Beču 1936. godine obranivši doktorsku disertaciju pod naslovom „*Untersuchungen über die physikalischen Eigenschaften der Wolle des Cigajaschafes in verschiedenem Alter*“. Njegov bogati radni vijek završen je umirovljenjem 1967. godine. U Varaždinu je službovao kao **veterinar Gradskog NO-a Varaždin (od 1952.-1954.) te kao veterinarski inspektor, djelatnik Veterinarske stanice Varaždin (1954.-1967.)**. Zanimljivost iz života dr. Fukse jest da je upravo on bio **prvi hrvatski veterinar koje je završio edukaciju iz umjetnog osjemenjivanja**. U vrijeme kada je radio kao veterinar u Apatinu, dekretom od 16. siječnja 1940. izdanom od *Veterinarskog odeljenja, Ministrstva poljoprivrede u Kraljevini Jugoslaviji* s potpisom ministra dr. Branka Čubrilovića određen je da bude jedan od trojice veterinara koji su u veljači i ožujku 1940. godine bili upućeni u Bugarsku, na Veterinarski fakultet u Sofiju „*radi pohađanja kursa veštačkog oplodivanja životinja*“. Tečaj je vodio dr. K. Bratanov učenik čuvenog ruskog profesora Milovanova. U to je vrijeme dr. Fuksa radio kao „*sreski veterinar*“ u Apatinu. Nakon povratka u Apatinu, kada se s pravom očekivala primjena umjetnog osjemenjivanja u praksi, rat koji se u Europi već razbuktao onemogućio je dr. Fuksi da znanje stečeno na tomu tečaju primjeni u praksi. Ratno zarobljeništvo, povratak u Hrvatsku, zapošljavanje u ratnim uvjetima, opća neimaština svakako nisu bili pogodni za pokretanje akcije umjetnog osjemenjivanja. Prilike u kojima se našao zauvijek su ga udaljile od mogućnosti da bude prvi hrvatski veterinar koji će umjetno osjemenjivanje primijeniti u praksi. Nije čak nikada dobio niti priliku da stečeno znanje na tečaju potvrdi u praksi. Svoj radni vijek završio je 1967. godine kao veterinarski inspektor u Veterinarskoj stanici Varaždin. Životni put završio je u Varaždinu 5. siječnja 1979. godine (Šimunić i Karlović, 2007.).

Veterinarsku visoku školu u Beču pohađao je i završio i **g. Jakob Bubanić**. Nije poznato kada. Nije poznato niti kada i gdje je rođen. No, poznato je da je neposredno pred Prvi svjetski rat radio u Kostajnici i Dvoru. Nakon vojevanja na austro ugarskim bojišnicama, kao vojni podveterinar, odlikovan „Zlatnim križem za zasluge te kolajnom za hrabrost“, vratio se u Dvor. Uslijediti će boravak u Novom Marofu, Vinkovcima te Krapini. Od godine 1940.-1941. bio je veterinarski savjetnik u Veterinarskom odsjeku Banske vlasti u Banovini Hrvatskoj. Nakon 1941. godine **radi u Varaždinu, sjedištu Velike župe Zagorje, kao župski veterinar**. Nije poznato kako dugo. Na žalost ne samo to. Nikakvi podatci iz njegova života poslije nisu poznati (Karlović, 2011.).

Student **Veterinarske visoke škole u Lavovu, Austro-Ugarska Monarhija** (*Цісарсько-королівська Ветеринарна школа зі школою кування коней з клінікою-стаціонаром для тварин у Львові, Cisarsioo-korolivsioa Veterinarna shkola zi shkoloiu kuvannia konei z klinikoistacionarom dlia tvarin u Lioovi, King veterinary school with horseshoe and clinic for animal in Lviv*) bio je **g. Vjekoslav Vernik**, rođen u Varaždinu 24. travnja 1898. godine. Diplomirao je 27. svibnja 1922. godine na Veterinarskoj visokoj školi u Lavovu, a promovirao 27. listopada 1923. godine obranom doktorske disertacije na Veterinarskoj visokoj školi u Zagrebu s temom „O fenotipičnim morfološkim različitostima bakterija“. Na istom veterinarskom učilištu studirao je i **g. Ivan Poslušny** rođen u Varaždinu 19. rujna 1896. godine. Diplomirao je 29. travnja 1922. Promovirao je na Veterinarskoj visokoj školi u Zagrebu 27. listopada 1923. godine po obrani disertacije na temu „Sterilizacija ovine pomoću tripaflavina“ (Rapić, 1969.).

Na **Veterinarskoj visokoj školi u Budimpešti, Austro-Ugarska Monarhija**, (*Magyar Királyi Állatorvosi Főiskolára*,

Budapest, Royal College of Veterinary Medicine, Budapest) studirao je **g. Roman Majnarić**. Rođen je 07. kolovoza 1889. u Ravnoj Gori kod Delnica. Diplomirao je na Veterinarskoj visokoj školi u Budimpešti 15. siječnja 1913. godine. Promovirao je na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu 31. ožujka 1932. s temom „Prilog poznavanju uzročnika furunkuloze kod riba“. Nakon što je diplomirao na Veterinarskoj visokoj školi u Budimpešti postao je **asistent profesora dr. Rudolfa Manningera** jednog od autora „veterinarske biblije“, kapitalnog djela veterinarske medicine: *Hutyra-Marek-Manninger: „Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere“*. Neposredno pred Prvi svjetski rat **počinje raditi u Varaždinu na mjestu gradskog veterinara**. Ubrzo biva mobiliziran, ali se 1917. godine vraća u Varaždin, ponovno na mjesto gradskog veterinara. Na tom mjestu ostaje cijelo vrijeme Kraljevine Jugoslavije i Nezavisne Države Hrvatske. Radno veoma aktivan ostati će zapamćen kao inicijator i voditelj rekonstrukcije i adaptacije gradske klaonice u Varaždinu (između 1926. i 1930. godine). S posebnom pedantnošću brinuo se o provođenju reda i higijene u mesnicama i tržnici. Ostatak će upamćen kao strogi, ali pravedan veterinarski nadzornik. Nakon što je u Beču nabavio trihinoskop uvodi trihinoskopski pregled mesa. Kao asistent profesora Manningera stekao je znanja o važnosti infektivnih bolesti kao i primjeni suvremenih metoda u veterinarskoj praksi. U njegovo je vrijeme u Varaždinu bila uzorno organizirana služba neškodljivog uklanjanja lešina, primjerno održavanje stočnog groblja kao i briga o kontroli i uklanjanju pasa lualica kao važnoj karici u suzbijanju bjesnoće. Umro je u Varaždinu 01. siječnja 1973. godine (Šimunić, 2000.).

Na **Vojno-veterinarskom institutu i Veterinarskoj visokoj školi u Beču, Austro-Ugarska Monarhija i Veterinarskoj visokoj školi u Brnu**,

Čehoslovačka (*Vysoke školy zverolekarske, Brno, Československe, Colleege of Veterinary Surgeons, Brnu, Chechoslovakia*) određeno vrijeme proveo je i rođeni Varaždinac g. **Ivo Babić**. Diplomirao i promovirao je na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu gdje je postao ugledan sveučilišni profesor (Gomerčić i Vučevac Bajt, 2003.).

Nakon što je regent Aleksandar, 31. kolovoza 1919. godine potpisom Uredbe kojom se ustavnim putem ustrojava Veterinarska visoka škola u Zagrebu, 28. svibnja 1923. godine podijeljena je prva diploma. Godine 1924., 07. prosinca, Veterinarska visoka škola u Zagrebu preimenovana je u Veterinarski fakultet u Zagrebu i postaje sastavnicom Sveučilišta u Zagrebu.

Iste godine, 27. listopada, provedene su na novo utemeljenom Veterinarskom fakultetu i prve doktorske promocije. Među četvoricom prvih kojima je, nakon završenog studija na Veterinarskoj visokoj školi u Lavovu, podijeljen naslov doktora veterinarske medicine bila su i dvojica naših sugrađana Varaždinca, gospoda - **Ivan Poslušny i Vjekoslav Vernik** (Rapić, 1969.).

Već dijelom spomenuto. Nakon studija na Veterinarskoj visokoj školi u Beču i Brnu, godine 1924., kao 3. diplomant Veterinarske visoke škole u Zagrebu diplomirao je još jedan Varaždinac - gospodin **Ivan Babić**. Samo godinu dana kasnije on je kao 5. doktorant na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu promoviran u doktora veterinarske medicine. G. **Ivan Babić** kasnije postaje ugledan znanstvenik i profesor patološke anatomije i sudskog veterinarstva te parazitologije na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu (Gomerčić i Vučevac Bajt, 2003.).

Izučavanje povijesti veterinarstva u Varaždinu donosi još pregršt nadasve zanimljivih i važnih podataka.

Primjerice, brojnost veterinarara ili pak stečena akademska zvanja. Pod uvjetom

da su pronađeni svi podatci, od polovice devetnaestog stoljeća pa do danas, dakle u više od 150 godina, u veterinarstvu Varaždina sudjelovalo je 237 doktora veterinarske medicine (123 rođena u Varaždinu). Čini se da je u Varaždinu profesija „doktor veterinarske medicine“ poglavito muško zanimanje, jer su se među 237 doktora veterinarske medicine našle samo 24 dame. Cjeloživotno obrazovanje, bavljenje znanosti kao i ugrađnja znanosti u praksu odlika je varaždinskih veterinarara. Dakako, ne samo onih kojima je Varaždin domicilijum već i svih onih drugih koji su došli u Varaždin i posvetili se svojoj struci upravo u Varaždinu. Specijalistički ili znanstveni magisterij postigla su 42 doktora veterinarske medicine, a 34 doktorat znanosti.

Publicistika je jedna od značajki koja naročito krase veterinarstvo Varaždina.

Tu svakako prednjače veterinari Veterinarske stanice Varaždin koji su objavili više od pet stotina znanstvenih i stručnih rasprava, članaka, aktualnih tema, polemika, zapisa, popularnih štiva. K tomu treba dodati i tri objavljene knjige. Tko su autori tih publikacija? Neupitno je, to su neimari veterinarstva, koji uz svoj redoviti posao, nisu žalili niti vremena niti truda da baveći se istraživačkim radom kao praktičari, ne žaleći osobne slobode pa i na uštrb vlastitih obitelji, ali uz njihovo puno razumijevanje, učine veterinarstvo Varaždina i Veterinarsku stanicu Varaždin znanom i izvan granica naše zemlje. Kada se k tomu uzme da je to bio i jest, kad se radi o terenskom praktičnom veterinarstvu, posao za srce i dušu, posao izvan ikakvih novčanih potpora dapače često i na trošak istraživača, njihov je obol to veći. Istina, mora se dati do znanja. To je, u odnosu na ukupni broj, veoma mali broj veterinarara, posebice kada se radi o autorskim radovima. S puno ponosa treba kazati i ovo: na veliko zadovoljstvo istraživača

praktičara, autora publikacija, taj je rad bio i te kako cijenjen u znanstvenim institucijama, a publikacije ocijenjene redovito veoma pozitivnim recenzijama.

Veterinari uposlenici „Koke“ Varaždin, najvećeg proizvođača mesa peradi i prerađevina mesa peradi, kako u bivšoj državi tako i u Hrvatskoj, autori su gotovo sedamdeset publikacija te više od dvadeset idejnih i provedbenih tehnoloških projekata koji su peradarsku proizvodnju u Hrvatskoj doveli na svjetski nivo.

Tu je i desetak radova koje su publicirali djelatnici drugih varaždinskih organizacija koje upošljavaju ili su upošljavale veterinare.

Uvjeren sam da je varaždinsko praktično veterinarstvo glede narečenoga pa i u mnogo čemu drugomu, stjegonoša u Hrvata.

Sažetak

U članku su prikazani izvadci iz netom završene autorove knjige pod naslovom „Iz povijesti veterinarstva u Varaždinu“. Nakana je ovog članka upoznati čitateljstvo s pionirima veterinarstva u Varaždinu, onih prvih, onih

najstarijih, onih koji su školujući se u Beču, Budimpešti, Brnu, Lavovu i drugdje, nakon povratka ili dolaska u Varaždin utirali put veterinarstvu na varaždinskom području. Autor ukratko predstavlja brojnost veterinara u Varaždinu tečajem posljednjih sto pedeset godina, brojnost publiciranih bibliografskih jedinica te stečenih akademskih titula magistara i doktora znanosti.

Literatura

1. GOMERČIĆ, H. i VESNA VUČEVAC BAJT (2003): Zasluzni hrvatski veterinari, II. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
2. KARLOVIĆ, M. (2010): Dr. Žiga Brüll, jedan od najstarijih pokojnih veterinara u Hrvatskoj. Vet. stn. 41, 369-377.
3. KARLOVIĆ, M. (2011): Jakob Bubanić, podatci iz biografije. Usmeno priopćenje.
4. LOVREKOVIĆ, S. (1986): O Maksimu Šmidtu (1821.-1883.) s osvrtom na njegov znanstveni rad. Vet. stn. 17, 41-47.
5. RAPIĆ, S. (1969): 50 godina Veterinarskog fakulteta 1919 -1969. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
6. ŠIMUNIĆ, B. (2000): 50 godina Veterinarske stanice Varaždin. Varaždin: Veterinarska stanica Varaždin.
7. ŠIMUNIĆ, B. i M. KARLOVIĆ (2007): Dr. Božidar Fuksa: Prvi hrvatski veterinar specijaliziran za poslove umjetnog osjemenjivanja. Vet. stn. 38, 43-48.

Excerpts from the history of Veterinary Medicine in Varaždin

Marijan Sabolić, DVM, MSc, Veterinary Practice, Varaždin

The article provides excerpts from the recently published book by this author entitled *Iz povijesti veterinarstva u Varaždinu* (From the history of veterinary medicine in Varaždin). The intent of the article is to inform readers of the pioneers of veterinary medicine in Varaždin, the first, the oldest, those who were schooled in Vienna, Budapest, Brno, Lavovo and elsewhere,

and who upon their return or arrival to Varaždin blazed the trail for veterinary medicine in the Varaždin region. The author briefly presents the number of veterinarians in Varaždin over the past 150 years, the number of published biographical units and the academic degrees of master and doctor of veterinary medicine attained.

BAKTERIJSKE I GLJIVIČNE ZOOZOZE

Prof. dr. sc. Željko Cvetnić
stručna knjiga

ISBN: 978-953-176-619-7

Izdavači: Medicinska naklada Zagreb i
Hrvatski veterinarski institut Zagreb
Cijena knjige: 294,00 kn



U vrijeme sveprisutne globalizacije, kada se promiče ideja „Jedno zdravlje – Jedan svijet“ prof. dr. sc. Željko Cvetnić napisao je knjigu o bakterijskim i gljivičnim zoonozama te kao mikrobiolog pridonio osvještavanju šire čitalačke publike o važnost tih bolesti i njihovoj ulozi u javnom zdravlju. Osim veterinara, problematikom zoonoza bave se i mnogi drugi stručnjaci: medicinari, zoolozi, šumari, biolozi, ekolozi i drugi. Svima njima, ali i studentima fakulteta biomedicinskog područja namijenjena je ova knjiga, koncipirana tako da pruži cjelovit prikaz temeljnih znanja nužnih za razumijevanje bakterijskih i gljivičnih zoonoza. U njoj autor opisuje 17

bakterijskih rodova, navodi 139 različitih vrsta bakterija i gljivica, opisuje 81 bolest u životinja i 54 bolesti u čovjeka. Pri tome se rukovodi činjenicom da je svaka zoonoza jednako važna bez obzira javlja li se sporadično, zahvaća li kao enzootija samo određeno područje ili je globalna. Ipak, najviše prostora posvećuje tuberkulozi, brucelozi, leptospirozi, salmonelozi, bedrenici, infekcijama vrstom *Staphylococcus aureus* i dermatofitozama. Svaka je bolest najprije definirana, ukratko opisana njezina povijest, geografska proširenost, etiologija i epizootiologija, zatim patogeneza i detaljna klinička slika te patološke promjene, (diferencijalna) dijagnostika, liječenje i profilaksa. Pri iznošenju cjelokupne građe težište je stavljeno na opis bolesti u životinja, a na kraju svih relevantnih čimbenika pojave bolesti u životinja, posebno se obrađuje značenje bolesti za čovjeka. Popis rabljene literature, više od 1000 citiranih referencija, nalazi se na kraju svakog poglavlja. Veoma opsežna građa prikazana je na 327 stranica (formata 21 x 27 cm), unutar 41 poglavlja. Privlačnosti i posebno vrijednosti ove knjige pridonosi gotovo 200 izvornih ilustracija i 26 tabelarnih prikaza.

Ova knjiga proizašla je iz dugogodišnjeg iskustva autora prof. dr. sc. Željka Cvetnića u radu na dijagnostici, suzbijanju i iskorjenjivanju važnih bakterijskih zoonoza. U tom je poslu surađivao s eminentnim europskim stručnjacima što se može razabrati iz citirane literature u kojoj se navode njegovi radovi objavljeni u koautorstvu sa stranim istraživačima. Medicinska publicistika obogaćena je ovim sveobuhvatno napisanim udžbenikom o bakterijskim i gljivičnim zoonozama, prvim djelom takve vrste u Republici Hrvatskoj.

Vjerujem da će ova stručna knjiga nadahnuti virusologe i parazitologe da napišu slična djela iz svojih područja te da ćemo uskoro imati trilogiju svih dosad poznatih bolesti sa zoonotskim potencijalom.

Vlasta HERAK PERKOVIĆ



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: lijekovitu tvar fipronil 67 mg; Pipeta (1,34 ml) sadržava: lijekovitu tvar fipronil 134 mg; Pipeta (2,68 ml) sadržava: lijekovitu tvar fipronil 268 mg; Pipeta (4,02 ml) sadržava: lijekovitu tvar fipronil 402 mg; Pipeta (0,5 ml) sadržava: lijekovitu 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 lakšoj 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.

30. godišnjica Veterinarske stanice Varaždin

Marijan Sabolić



Godine 1980. Veterinarska stanica Varaždin obilježila je 30 godina svojeg postojanja. Svečanost obilježavanja

obljetnice, koju su uveličali mnogi uglednici, održana je u prostorijama Veterinarske stanice Varaždin.



S lijeva na desno: dr. sc. Valent GROŠINIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Slobodan JUZBAŠIĆ, dr. med. vet., prof. dr. sc. Srđan RIŽNAR, dr. med. vet. i dr. sc. Eugen STRAHONJA, dr. med. vet.



Stoji: dr. sc. Petar LUKMAN, dr. med. vet., sjede: prof. dr. sc. Miroslav HERAK, dr. med. vet., prof. dr. sc. Melita HERAK, dr. med. vet. i dr. sc. Hrvoje PAVUNA, dr. med. vet.

Pozivaju se svi čitatelji „Veterinarske stanice“ da pošalju fotografiju (poštom, e-mailom ili po dogovoru, glavnom uredniku - kontakt: 091/2390-157; smarko@vef.hr), s fakulteta, s terenske nastave, iz prakse, kongresa, simpozija, skupa ili iz neke druge prigode vezane uz veterinarsku djelatnost. Uz fotografiju treba poslati naslov, kratki opis zbivanja vezanih uz fotografiju, mjesto i vrijeme nastanka te osobe s fotografije s punim imenom i prezimenom i titulom. Fotografije će nakon selekcije biti vraćene pošiljatelju.

Mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica d.d. Varaždin



Hrvatski veterinarski institut

Hrvatski veterinarski institut

10000 Zagreb, Savska cesta 143

tel.: (01) 6123 -600

www.veinst.hr



Odjel za veterinarsko javno zdravlje

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 primijenjuje orijentacijske analize te potvrđne metode atomske apsorpcijske spektrometrije, tekućinske i plinske kromatografije s masenom detekcijom. U 2010. g. Laboratorij je proglašen Nacionalnim referencijalnim laboratorijem (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 leukomalahitno 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 govede DNA u krmivima i krmnim smjesama.

Hematološke i biokemijske pretrage koje se obavljaju 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).

In memoriam - Stjepan Frčko, dr. med. vet. 1959. - 2013.



Dana 20. ožujka 2013. g. prestalo je zauvijek kucati srce Stjepana Frčka, doktora veterinarske medicine, plemenita i marljiva čovjeka, dobra sina, muža i roditelja te dobra veterinar. Stjepan Frčko rođen je 18. 02. 1959. g. u Zagrebu gdje je završio osnovnu i srednju školu. Veterinarski fakultet u Zagrebu upisao je školske godine 1977./78. g., a diplomirao je 25. 5. 1983. g. Nakon završenog veterinarskog fakulteta kao veterinar počeo je raditi u Veterinarskoj stanici Grubišino Polje u kojoj je obnašao dužnost predsjednika uprave od 1996.-1999. g. Uz svakodnevne je veterinarske poslove Stjepan Frčko postao član Županijske skupštine Bjelovarsko-Bilogorske županije od 1993.-1996. g. U razdoblju od 2001.-2002. g. obnašao je dužnost zamjenika predsjednika nadzornog

odbora tvrtke Veliki Grđevac d.o.o. Godine 2000. otvara Veterinarsku ambulantu „Nova“ d.o.o. u Križu u kojoj je radio u svojstvu direktora i terenskog veterinar. sve do smrti. Zbog svojih aktivnosti Stjepana Frčka odlikovao je Predsjednik Republike Hrvatske dr. Franjo Tuđman Redom Hrvatskog pletera 1997. g.

Iz naših veterinarskih redova otišao je još jedan dobar čovjek i dobar veterinar, otišao je čovjek koji je cijenio svaki vid veterinarske djelatnosti, a posebno Veterinarski fakultet koji mu je bio čest gost na terenskoj nastavi. Bio je u nekim stvarima ispred vremena u kojem je živio, što je imalo za posljedicu čestog nerazumijevanja i neshvaćanja, a što je sigurno tražilo dodatnu energiju u profesionalnom obavljanju svih poslova. Uz obavljanje svih veterinarskih poslova, društveno političkih aktivnosti, probijao je led u privatizaciji, otvaranju ambulanta i dobivanju koncesije. Svima koji smo na bilo koji način poznavali pokojnog Stjepana nedostajati će uvijek veseli osmeh na crvenome licu, blagi djetinjasti pogled te dobar, optimističan, marljiv čovjek, prijatelj i veterinar. Iako je sve bitke dobivao, vjerovao je da će dobiti i ovu posljednju, no na žalost neizlječiva bolest bila je neumoljiva i jača od svega. I dok njegovo tijelo počiva u pitomim obroncima prigrorskih brežuljaka čekajući uskrснуće, neka mu je laka hrvatska zemlja s kojom se ponosio i koju je iznad svega volio.

Petar DŽAJA

**AEROSOL
LIPOAKTIVNA PJENA S
OZONIZIRANIM BILJNIM
ULJEM I SASTOJECIMA ZA
OMEKŠAVANJE**

Riger spray je ekspandirajuća pjena sa specijalnim elementom u svojoj formuli koji daje bolji učinak zarastanja, omekšavanja i ublažavanja, kombinirajući germicidno i cikatrizacijsko djelovanje.



**NOVO
REVOLUCIONARNO**

- Dezinfekcija vaginalnog kanala (neposredno nakon telenja)**
- Ozlijede sluznice vaginalnog kanala**
- Dezinfekcija pupka teleta (neposredno nakon telenja)**
- Patološki iscjedak u vrijeme puerperija**
- Kataralni metritis, gnojni metritis ...**
- Posjekotine, ragade, ozlijede, čirevi, edem vimena**

KARENCIJE NEMA !!!

CIJENA: 199,99 kn
Cijena je izražena bez PDV-a

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Centralna veterinarska
agencija d.o.o.
tel. 01/2304-334
-335
01/6571-661
fax. 01/6604-031

+ NOVAGEN

GVA

- 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 ambulantomama.
- 4) Bit će u njemu i društvenih vijesti, obavijesti, najava i osvrta 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 Aujezskogoga. 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. KRUEWIG (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.