

Nova ravnateljica Uprave za veterinarstvo MPRRR mr. Sanja Šeparović

Željko Cvetnić



Osim izuzetno važnih javnih funkcija u veterinarstvu (dekan Veterinarskog fakulteta, ravnatelj Veterinarskog instituta), biti ravnatelj Uprave za veterinarstvo predstavlja veliki i značajan izazov kao i beskonačnu odgovornost za razvoj i prosperitet veterinarske struke. Uprava za veterinarstvo obavlja poslove zaštite zdravlja životinja, osiguranje zdravstveno ispravnih i neškodljivih proizvoda životinjskog podrijetla i provedbu drugih mjera veterinarskog javnog zdravstva; određuje i provodi mjere veterinarske zaštite okoliša, nadzire proizvodnju, promet i uporabu veterinarskih lijekova te brine o dobrobiti životinja. Ukratko, određuje ustroj te prati funkcioniranje veterinarske službe u svim njezinim segmentima.

U kratko vrijeme na čelu Uprave za veterinarstvo MPRRR dogodi-

le su se i znatne promjene. Nakon dugododišnjeg vođenja, Upravu za veterinarstvo s mjesta pomoćnika ministra i ravnatelja Uprave iz osobnih je razloga napustio dr. sc. Matko Brstilo. Naslijedio ga je dr. sc. Anđelko Gašpar koji je do tada bio načelnik veterinarske inspekcije, a tu je funkciju vrlo kratko obnašao. Po odluci ministra mr. sc. Božidara Pankrećića, krajem 2008., mr. Sanja Šeparović postala je vršiteljica dužnosti ravnateljice, a u siječnju 2009., Vlada Republike Hrvatske imenovala ju je ravnateljicom Uprave za veterinarstvo.

Mr. Sanja Šeparović je rođena u Varaždinu 1963. godine. Diplomirala je godine 1989., na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu s temom „Učestalost trihineloze u divljih životinja”. Njezino radno iskustvo započelo je:

Dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. vet. med., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

- 1990. - 1993. „Koka“ d.d. Tvornica stočne hrane, Varaždin
- Nutricionist
- 1993. - 1998. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE I ŠUMARSTVA, Uprava za veterinarstvo, Zagreb
- Savjetnik za međunarodni promet životinja
- Savjetnik za epizootologiju, otkrivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje zaraznih bolesti životinja
- 1998. - 1999. „PLIVA“ d.d., farmaceutska industrija, PP Veterina i agrar, Zagreb
Koordinator istraživanja
Strateški planer - analitičar
- 1999. - 2009. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE I ŠUMARSTVA, Uprava za veterinarstvo, Zagreb
- 1999. - 2000., Viši stručni savjetnik za epizootologiju, otkrivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje zaraznih bolesti životinja
- 2000. - 2006., Načelnica Odjela za zdravstvenu zaštitu životinja i veterinarsku praksu
- 2006. - 2009., Načelnica Sektora za zaštitu zdravlja životinja
- 2008. - 2009., Vršitelj dužnosti ravnatelja Uprave za veterinarstvo

Državni je stručni ispit položila 1994. godine. Magistrirala je na Veterinarskom fakultetu 2005. godine. Nakon diplomiranja, sudjelovala je u edukacij-

skim treninzima u zemlji i inozemstvu iz područja veterinarske epidemiologije te kontrole i suzbijanja zaraznih bolesti životinja. Napisala je više znanstvenih i stručnih članaka te kongresnih priopćenja iz područja zaštite zdravlja i dobrobiti životinja. Sudjeluje u radu kao autor i koautor stručnih priručnika i nacionalnih programa za otkrivanje i suzbijanje zaraznih bolesti životinja. Član je radne skupine za pripremu pregovora za poglavlje pregovora – pravne stečevine Europske Unije – 12. Sigurnost hrane.

Vidljivo je da je nova ravnateljica Uprave za veterinarstvo prošla sve razvojne faze u Upravi za veterinarstvo i sa svojim znanjem i iskustvom kvalificirana je da odgovori na zahtjeve ovog vrlo odgovornog i teškog radnog mjesta.



mr. Sanja Šeparović

Koncentracije kadmija i olova u organima divljih svinja lovniha područja Virovitičko–podravske, Osječko–baranjske i Vukovarsko–srijemske županije

Nina Bilandžić, Maja Đokić i Marija Sedak



Uvod

Nagli porast stanovništva te ubrzani tehnološki napredak u današnjem svijetu, uzrokuju izlaganje biljnog i životinjskog svijeta djelovanju teških metala. Industrijska proizvodnja, odnosno biotski i abiotski procesi uzrokuju zagađenja tla, atmosfere i vode teškim metalima, među kojima se posebno ističu kadmij, olovo, živa i arsen. Teški metali iz okoline ulaze u prehrambeni lanac i mogu utjecati na pojavu čitavog niza negativnih posljedica u životinja i ljudi kao što su ireverzibilni mutageni, teratogeni i kancerogeni učinci (Robards i Worsfold 1991.). Također se i ne razgrađuju te akutna i kronična izloženost uzrokuje njihovu akumulaciju u gotovo svim tkivima životinja, a najveće količine

nađene su u jetri i bubrezima (Santiago i sur., 1998.; Satarug i sur., 2003.).

Kronično izlaganje kadmiju uzrokuje oštećenje tubula bubrega i toksični utjecaj na reproduktivni sustav, odnosno smanjenu spermiogenezu i atrofiju testisa u životinja (Lu, 1991.). U goveda može uzrokovati različite kliničke nepravilnosti, kao što su gubitak apetita, anemija, slab rast, živčani simptomi, pobačaj i teratogene lezije, a u nekim slučajevima nema nikakvih kliničkih simptoma (Wentink i sur., 1988.; Seimiya i sur., 1991.; Kottferova i Korenekova 1998.).

Olovo djeluje na središnji i periferni živčani sustav te uzrokuje encefalopatiju, tupost, nemir, gastroenteritis i degeneraciju perifernih živaca, posebno

dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena suradnica, Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Marija SEDAK, dipl. ing. preh. tehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

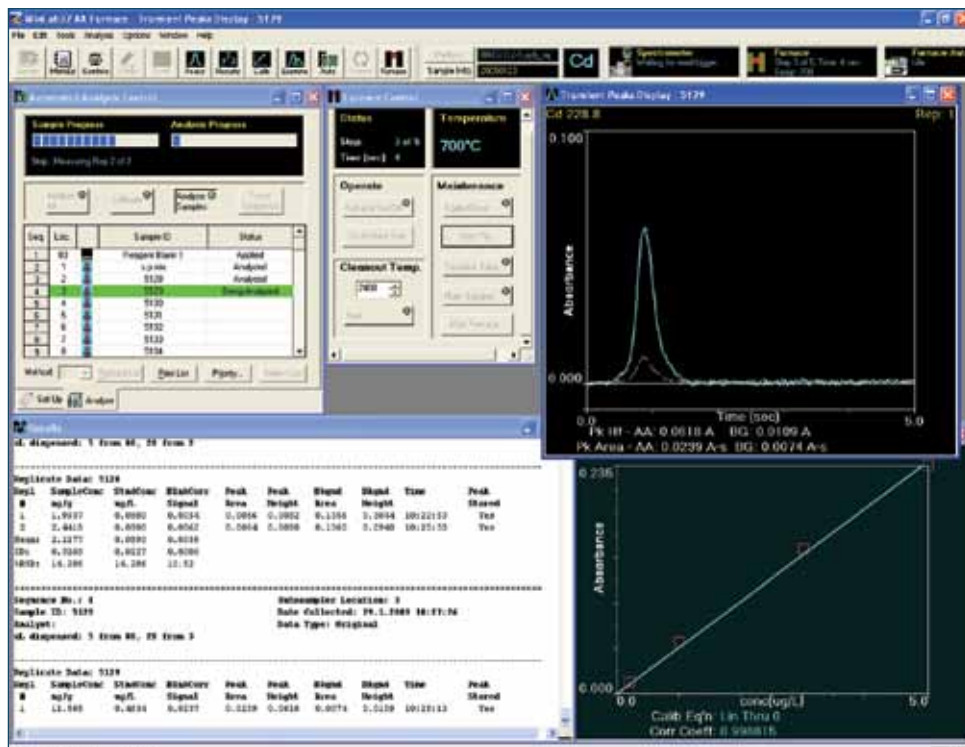
u slučajevima dugoročne ingestije malih količina (Van Oosdam i sur., 1999.). Ovisno o trajanju izloženosti i dozi moguća je akutna ili kronična nefropatija te poremećaj kardiovaskularnog sustava. Također otežava i sintezu hema, a time i hemoglobina te smanjuje vrijeme preživljavanja eritrocita pa je anemija dobro znana pojava trovanja olovom. Uz poznato kancerogeno djelovanje olovnih spojeva na pokusne životinje, dokazano je da velike količine olova uzrokuju toksični učinak na reproduktivne organe, odnosno da djeluju teratogeno pa i letalno na fetus (Lu, 1991.).

U radu su prikazani rezultati koncentracija kadmija i olova u tkivima

divljih svinja s područja Virovitičko-podravske, Osiječko-baranjske i Vukovarsko-srijemske županije uzorkovanih tijekom 2007. i 2008. godine.

Materijali i metode

U uzorcima 117 divljih svinja, odnosno 86 bubrega, 44 jetre i 117 mišića uzorkovanih na lovnim područjima Virovitičko-podravske, Osiječko-baranjske i Vukovarsko-srijemske županije, određivane su koncentracije kadmija i olova. Uzorci su sakupljeni u vrijeme lovnih sezona te do analize čuvani u označenim vrećicama na -20°C.



Slika 1. Analiza kadmija na atomskom apsorpcijskom spektrometru

Tablica 1. Iskorištenje AAS metoda za određivanje olova i kadmija analizom certificiranog referentnog materijala

	certificirana koncentracija BCR 185 R (mg/kg)	izmjerena koncentracija AAS (mg/kg)	iskorištenje metode (%)
OLOVO	172	165	95,93
KADMIJ	544	560	102,94

Priprema uzoraka

Uzorci tkiva pripremani su mokrim spaljivanjem u mikrovalnoj pećnici Anton Paar Multiwave 3000. Uzorci (2 grama) se važu u teflonsku posudicu te se doda 1 mL H_2O_2 (30% p.a.) i 5 mL HNO_3 (65% p.a.). Mikrovalna se digestija provodi na 1200 W u koracima po 10, zadržavanjem 10 minuta na 1200 W te hladi 15 minuta. Bistra se otopina kvantitativno prenosi u odmjerne tikvice od 50 mL te dopuni do oznake ultračistom vodom. Isti postupak koristi se za slijepu probu, ali bez uzorka.

Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS)

Koncentracije kadmija (Cd) i olova (Pb) određene su atomskim apsorpcijskim spektrometrom, Perkin Elmer Aanalyst 800 sa Zeeman-ovom korekcijom, primjenom grafitne tehnike (Slika 1.). Mjerenje se apsorbance provodi na 283,3 nm za olovo te 228,8 nm za kadmij.

Za kalibraciju instrumenta korišteni su certificirani standardi za kadmij i olovo (Perkin Elmer, USA) od 1.000 mg/L. Radni standardi su pripremljeni razrijeđivanjem certificiranih standarda s 0,2% conc. HNO_3 . U analizama su korišteni modifikatori za AAS (Perkin Elmer, USA) magnezij–nitrat $Mg(NO_3)_2$ koncentracije 10.000 mg/L i paladij–nitrat $Pd(NO_3)_2$ koncentracije 10.000 mg/L.

Iskorištenje, odnosno točnost metoda provjerena je certificiranim referent-

nim materijalom kemijskih elemenata u jetri (BCR-185R, EC-JRC-IRMM, Geel, Belgija) što je prikazano u Tablici 1.

Statistička analiza

Statistička je analiza rezultata provedena pomoću programa Statistica[®] ('99 Edition, Copyright 1984-1999, StatSoft[®], Inc., Tulsa, USA). Koncentracije olova i kadmija izražavane su kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija te je određivan median rezultata. Primijenjen je t-test za određivanje razlike između koncentracije kadmija i olova između različitih tkiva. Statistički znatne razlike izražavane su na nivou vjerojatnosti od 0,05.

Rezultati

Koncentracije kadmija i olova (mg/kg), odnosno raspon od namanje do najveće koncentracije u organima 117 divljih svinja prikazane su u Tablici 2. Najniže koncentracije kadmija određene su u mišićnom tkivu, odnosno olova u jetri. Srednja vrijednost koncentracija kadmija najviša je u bubrezima, a za olovo je najviša u mišićnom tkivu.

Najviše dopuštene količine (NDK) teških metala u Republici Hrvatskoj regulirane su Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (Narodne novine broj 154/2008.). Pravilnik ne navodi specifično najviše dopuštene

Tablica 2. Koncentracije olova i kadmija (mg/kg) u organima divljih svinja

tkivo	element	median	raspon koncentracija	srednja vrijednost $\pm$ SD
BUBREG	Pb	0,0455	0,01-19,76	0,622 $\pm$ 2,36
	Cd	1,73	0,001-18,92	2,964 $\pm$ 4,11
JETRA	Pb	0,058	0,01-0,225	0,74 $\pm$ 0,07
	Cd	0,23	0,001-1,136	0,251 $\pm$ 0,24
MIŠIĆ	Pb	0,0225	0,01-28,47	0,696 $\pm$ 3,47
	Cd	0,006	0,001-0,803	0,049 $\pm$ 0,21

količine elemenata za divljač te su u interpretaciji rezultata korištene vrijednosti utvrđene za svinje.

Na ukupan broj uzoraka tkiva u kojima su određivane koncentracije kadmija i olova, određen je udio uzoraka koji su prelazili najviše dopuštene količine elemenata što je prikazano u Tablici 3. U bubrežnom tkivu utvrđen je najviši

postotak uzoraka čije su koncentracije oba elementa više od dopuštenih.

Određivanjem je omjera koncentracija kadmija u jetri i bubregu utvrđeno da je znatno niži od 1 odnosno 0,085, dok je za olovo omjer jetra/bubreg 0,119. Također je utvrđeno da su koncentracije kadmija u bubrežima znatno više ($p < 0,05$) u odnosu na koncentracije

Tablica 3. Udio uzoraka tkiva divljih svinja čije su koncentracije kadmija i olova prelazile najviše dopuštene količine

tkivo	element	NDK (mg/kg)	Udio uzoraka iznad NDK (%)
BUBREG	Pb	0,5	11,6
	Cd	1	22
JETRA	Pb	0,5	-
	Cd	0,5	9,1
MIŠIĆ	Pb	0,1	4,3
	Cd	0,05	7,7

u jetri. Međutim, koncentracije olova u bubrezima nisu znatno različite od koncentracija u jetri.

Rasprava

U suvremenim istraživanjima, divlje životinje koje se slobodno kreću u prirodi, imaju važnu ulogu u procjeni zagađenja okoliša, posebice teškim metalima. Povećane koncentracije kadmija i olova utvrđene su u jetri i bubrezima jelena i divljih svinja u lovniim područjima ekosistema mediteranskih šuma sjeverne Španjolske (Santiago i sur., 1998.), lovniim područjima Poljske (Swiergosz i sur., 1993.; Falandysz, 1994.), Kanade, odnosno Quebec-a (Crête i sur., 1987.), kao i Sjedinjenih Američkih Država odnosno Oklahome (Kocan i sur., 1980.) i New Jersey-a (Stansley i sur., 1991.).

U ovome istraživanju koncentracije kadmija i olova u divljih svinja u najvećem broju uzoraka povišene su u bubrežnom tkivu, što se podudara s prijašnjim istraživanjima (Santiago i sur., 1998.). Također, koncentracije kadmija u bubrezima su znatno veće od koncentracija u jetri, kao i u prijašnjim nalazima (Glooschenko i sur., 1988.; Wolkers i sur., 1994.; Gasparik i sur., 2004.). Usporedbom koncentracija kadmija i olova u organima divljači i životinja iste starosti uzgojene na farmi, utvrđene su znatno više koncentracije oba elementa u divljači, posebno u bubrežnom tkivu (Wolkers i sur., 1994.).

U ovome radu omjer koncentracija kadmija jetra/bubreg znatno je niži od jedan. Prema prijašnjim istraživanjima

to ukazuje na dugoročnu izloženost malim koncentracijama kadmija, odnosno omjer se povećava proporcionalno s intenzitetom izloženosti metalu (Scheuhammer, 1987.). Starija divljač, jeleni i divlje svinje, u tkivima sadrže znatno veće koncentracije kadmija od mlađih životinja, što ukazuje na kroničnu izloženost tom metalu (Wolkers i sur., 1994.).

Rezultati ovog rada ukazuju na zabrinjavajuću činjenicu, da su u 7,7%, odnosno 4,3% uzoraka mišićnog tkiva, nađene povećane koncentracije kadmija, odnosno olova, što prema navedenom Pravilniku isključuje mišićno tkivo životinja iz uporabe za prehranu. Kako bi se u lovniim područjima Virovitičko–podravske, Osječko–baranjske i Vukovarsko–srijemske županije utvrdio uzrok kontaminacije okoliša olovom i kadmijem, potrebno je provesti detaljno istraživanje određivanja njihove koncentracije u tlu, bilju i vodi.

Prijašnja istraživanja uzročnika kontaminacije tla kadmijem, pokazuju da može nastati kao posljedica prirodnog prisustva kadmija u kamenju i tlu, odnosno primjenom vapnenačkih tla i fosfornih gnojiva, ili zbog otpadnih kanalizacijskih voda (Andersson i Bingefors, 1985.; Hellström i sur., 2007.). Na povećan unos kadmija u biljke odnosno žitarice, povrće i korjenasto bilje, uvelike utječe smanjenje pH tla nastalo zakiseljavanjem zbog kontaminacije kiselim kišama (Erikson i sur., 1996.). Rudarenje, taljenje i proizvodnja olovnih spojeva, toplane na ugljen te spalionice smeća i raznog otpadnog materijala, uveliko pridonose njegovoj emisiji, a time taloženju na

tlu i akumulaciji u biljkama, odnosno životinjama (Lu, 1991.). Utvrđeno je da u industrijski zagađenim područjima kao što su rudnici olova i industrijska postrojenja za preradu metala, rizik kontaminacije životinja olovom ovisi o blizini tvornica te starosti životinja (Patra i sur., 2006.).

Sažetak

Tijekom 2007. i 2008. godine u uzorcima bubrega, jetara i mišićnih tkiva 117 divljih svinja uzorkovanih na lovnim područjima Virovitičko-podravske, Osječko-baranjske i Vukovarsko-srijemske županije određivane su koncentracije kadmija i olova atomskom apsorpcijskom spektrometrijom.

Najniže koncentracije kadmija određene su u mišićnom tkivu, a olova u jetri. Srednja vrijednost koncentracija kadmija najviša je u bubrezima, dok je za olovo najviša u mišićnom tkivu. Također je utvrđeno da su koncentracije kadmija u bubrezima znatno više ($p < 0,05$) u odnosu na koncentracije u jetri. Određivanjem omjera koncentracija kadmija jetra/bubreg utvrđeno je da je znatno niži od 1 što upućuje na izloženost životinja malim koncentracijama kadmija u dužem periodu.

Najviše dopuštene količine teških metala u Republici Hrvatskoj regulirane su Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (N. N. br. 154/2008.). Pravilnik ne navodi specifično najviše dopuštene količine elemenata za divljač te su u interpretaciji rezultata korištene vrijednosti utvrđene za svinje. U 22% uzoraka

bubrega koncentracije kadmija bile su iznad najveće dopuštene količine (1 mg/kg), odnosno u 11,6% uzoraka bubrega olovo je prelazilo dopuštenu vrijednost od 0,5 mg/kg.

Rezultati ovog rada ukazuju na zabrinjavajuću činjenicu, da su u 7,7% odnosno 4,3% uzoraka mišićnog tkiva nađene povećane koncentracije kadmija, odnosno olova. Zbog toga se, prema navedenom Pravilniku, mišićno tkivo divljih svinja isključuje iz uporabe za prehranu.

Literatura

1. ANDERSSON, A. and S. BINGEFORS (1985): Trends and annual variations in Cd concentrations in grain of winter wheat. *Acta Agric. Scand.* 339-344.
2. CRÊTE, M., F. POTVIN, P. WALSH, J. L. BENEDETTI, M. A. LEFEBVRE, J. P. WEBER, G. PAILLARD, and J. GAGNON (1987): Pattern of cadmium contamination in the liver and kidneys of moose and white-tailed deer in Quebec. *Sci. Total. Environ.* 66, 45-53.
3. ERIKSON, J., I. ÖBORN, G. JANSSON, and A. ANDERSSON (1996): Factors influencing Cd-content in crops. Results from Swedish field investigations. *Swed. J. Agric. Res.* 26, 125-133.
4. GASPARIK, J., P. MASSÁNYI, J. SLAMECKA, M. FABIS and R. JURCIK (2004): Concentration of selected metals in liver, kidney and muscle of the red deer (*Cervus elaphus*). *J. Environ. Sci. Health Part A* 39, 2105-2111.
5. GLOOSCHENKO, V., C. DOWNES, R. FRANK, H. E. BRAUN, E. M. ADDISON and J. HICKIE (1988): Cadmium levels in Ontario moose and deer in relation to soil sensitivity to acid precipitation. *Sci. Total. Environ.* 71, 173-186.
6. FALANDYSZ, J. (1994): Some toxic and trace metals in big game hunted in the northern part of Poland in 1987-1991.

- Sci. Total. Environ. 141, 59-73.
7. HELLSTRÖM, L., B. PERSSON, L. BRUDIN, K. P. GRAWÉE, I. ÖBORN and L. JÄRUP (2007): Cadmium exposure pathways in a population living near a battery plant. *Sci. Total. Environ.* 373, 447-455.
 8. KOCAN, A. A., M. G. SHAW, W. C. EDWARDS and J. H. EVE (1980): Heavy metal concentrations in kidneys of white-tailed deer in Oklahoma. *J. Wild. Dis.* 16, 593-596.
 9. KOTTEROVÁ, J. and B. KORENEKOVÁ (1998): Distribution of Cd and Pb in the tissues and organs of free-living animals in the territory of Slovakia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 171-176.
 10. LU, F. C. (1991): In: *Basic toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment*. Taylor and Francis, New York, 248.
 11. PATRA, R. C., D. SWARUP, M. C. SHARMA and R. NARESH (2006): Trace mineral profile in blood and hair from cattle environmentally exposed to lead and cadmium around different industrial units. *J. Vet. Med. A* 53, 511-517.
 12. Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi (N. N. br. 154, 2008.).
 13. ROBARDS, K. and P. WORSFOLD (1991): Cadmium: Toxicology and analysis - a review. *Analyst* 116, 549-568.
 14. SANTIAGO, D., M. MOTAS-GUZMÁN, A. REJA, P. MARÍA-MOJICA, B. RODERO and A. J. GARCÍA-FERNÁNDEZ (1998): Lead and cadmium in red deer and wild boar from Sierra Morena Mountains (Andalusia Spain). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 730-737.
 15. SATARUG, S., J. R. BAKER, S. URBENJAPOL, M. HASWELL-ELKINS, P. E. REILLY, D. J. WILLIAMS and M. R. MOORE (2003): A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. *Toxicol. Letters* 137, 65-83.
 16. SCHEUHAMMER, A. M. (1987): The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: a review. *Environ. Pollut.* 46, 263-295.
 17. SEIMIYA, Y., H. ITOH, and K. OHSHIMA (1991): Brain lesions of lead poisoning in a calf. *J. Vet. Med. Sci.* 53, 117-119.
 18. STANLEY, W., D. E. ROSCOE and R. E. HAZEN (1991): Cadmium contamination of deer livers in New Jersey; human health risk assessment. *Sci. Total. Environ.* 107, 71-82.
 19. SWIERGOSZ, R., K. PERZANOWSKI, U. MAKOSZ, and I. BIREK (1993): The incidence of heavy metals and other toxic elements in big game tissues. *Sci. Total. Environ. Suppl.* 1, 225-231.
 20. WENTINK, G. H., T. H. WENSING, A. J. BAARS, H. VAN BEEK, A. A. P. A. ZEEUWEN and A. J. H. SCHOTMAN (1988): Effects of cadmium on some clinical and biochemical measurements in heifers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 40, 131-138.
 21. WOLKERS, H., T. WENSING and G. W. GROOT-BRUIJNDERINK (1994): Heavy metal contamination in organs of red deer (*Cervus elaphus*) and wild boar (*Sus scrofa*) and the effect on some trace elements. *Sci. Total. Environ.* 144, 191-199.
 22. VAN OOSTDAM, J., A. GILMAN, E. DEWAILLY, P. USHER, B. WHEATLEY, H. KUHNLEIN, S. NEVE, J. WALKER, B. TRACY, M. FEELEY, V. JEROME and B. KWAVNICK (1999): Human health implications of environmental contaminants in Arctic Canada: a review. *Sci. Total. Environ.* 230, 1-82.

Cadmium and lead concentrations in wild boar organs in the hunting grounds of the Counties of Virovitica and Podravina, Osijek and Baranja, and Vukovar and Srijem

Nina BILANDŽIĆ, Ph.D., Grad. Biotechnology Eng., scientific associate; Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng.; Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng.; Croatian Veterinary Institute Zagreb

In 2007 and 2008, samples of kidneys, liver and muscle tissue of 117 wild boars taken on the hunting grounds of the Counties of Virovitica and Podravina, Osijeka and Baranja, and Vukovar and Srijem were used to determine cadmium and lead concentration by means of atomic absorption spectrometry.

The lowest cadmium concentrations were found in muscle tissue, and those of lead in liver. Mean cadmium concentration was highest in kidneys, and that of lead in muscle tissue. Also, it has been determined that cadmium concentrations in kidneys are significantly higher ($p < 0.05$) compared to liver concentrations. Determination of liver/kidney cadmium concentration ratio has shown that it is significantly lower than 1 which points out to animal exposure to small cadmium concentrations through a rather long period.

Maximum permitted quantities of heavy metals in the Republic of Croatia

are set out in the Regulations on Maximum Permitted Quantities of Specific Contaminants in Food (Official Journal NN no. 154/2008). The Regulations do not specify maximum permitted quantities of these elements for game, and the values determined for domestic swine were used in the interpretation of the results. In 22% of kidney samples, cadmium concentrations exceeded the maximum permitted quantity (1 mg/kg), and in 11.6% of kidney samples, lead exceeded maximum permitted value of 0.5 mg/kg.

Results of this paper point out to a worrying fact that cadmium and lead concentrations were increased in 7.7% and 4.3% of muscle tissue samples respectively. For that reason, based on the Regulations, muscle tissue of wild boars is excluded from use in nutrition.

Provjera mogućnosti prenošenja goveđe virusne dijareje (BVD) od roditelja potomstvu

T. Keros, J. Balatinec, Ž. Cvetnić i M. Lojkić



Uvod

Uzročnik goveđe virusne dijareje mali je RNA virus koji pripada u rod *Pestivirus*, porodicu *Flaviviridae*, a srodan je virusu kolere u svinja te uzročnika borderske bolesti u ovaca.

Poznata su dva genotipa BVD virusa: Tip I i Tip II, a Tip II je udružen s više klinički izraženih bolesti uključujući hemoragijski sindrom. Svaki se genotip može još podijeliti na po dva biotipa: *citopatski* (CP) i *necitopatski* (NCP), a biotipovi se razlikuju prema ponašanju u staničnoj kulturi: CP-BVD virus oštećuje stanične kulture, a NCP-BVD virus ne oštećuje.

Genom BVD virusa oblikuje jednolančana pozitivna RNA (engl. *sense RNA*) veličine oko 12,5 kb koja nema poliadenilni rep. Genom sadrži jedan

kodirajući dio molekule RNA (engl. *Open Reading Frame-ORF*) dug oko 3900 kodona što se prepisuje u poliprotein koji se virusnim i staničnim enzimima procesuiru u zrele virusne proteine. Genom završava 5' i 3' netranslatirajućim regijama koje su važne za iniciranje translacije i stabilnost RNA te su visoko sačuvane regije genoma među svim virusnim izolatima (Couvreux i sur., 2007.).

Bolest se prenosi od životinja zaraženih BVD virusom, a mogu se zaraziti svi razvojni stadiji životinja uključujući i nerođeni fetus. Virus se kratko vrijeme razmnaža u respiratornome sustavu pa je prisutan u nazalnoj sluzi i u slini te se zaraza može prenijeti preko nečistih pojilica i hranilica. Gove-

Tomislav KEROS, dr. vet. med., asistent, Jelena BALATINEC, dipl. ing., asistent, dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. vet. med., znanstveni savjetnik, dr. sc. Mirko LOJKIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

da pak postaju trajno zaražena i kada su izložena BVD virusu preko transplacentarne infekcije, a virus se isto tako nalazi i u sjemenju zaraženih bikova pa se prenosi i sjemenom (Polak i Zmudzinski, 1999.; Daliri i sur., 2007.).

Uzgajivači goveda trpe velike gubitke zbog smrtnosti uzrokovanih BVD virusom. Poseban problem jesu infekcije bređih krava BVD virusom koje mogu prouzročiti pobačaj, prijevremeno teljenje ili porođaj teladi zakržljala rasta, a kadšto je moguće i da su telad izgledom zdrava, ali cijelog života ostaju nosiocima BVD virusa. Pri tome su nositelji zaraza jedinke zaražene BVD virusom prije rođenja, a zaraza najvjerojatnije nastaje u prvih 125 do 150 dana trudnoće i virus ostaje prisutan u njihovoj krvi, nazalnoj sluzi, slini, mokraći i gnoju.

Nositelji mogu živjeti godinama bez da obole od goveđe virusne dijareje, ali ih većina ugiba od mukozne bolesti dišnog sustava u prvoj godini života (Hamel i sur., 1995.; Mayers i sur., 2007.).

Uttenthal sa suradnicima posljednjih godina i drugi autori ističu mogućnost prijenosa BVD virusa potomstvu, od roditelja i napose od latentnih nositelja virusa te preporučuju testiranje životinja odmah po teljenju kako bi se provjerilo jesu li već zaražene (Vanroose i sur., 1998.; Uttenthal i sur., 2005.; Uttenthal i sur., 2006.).

Izložene činjenice su nas potakle da u našem Laboratoriju za dijagnostiku klasične svinjske kuge, molekularnu virologiju i genetiku provjerimo mogućnost zaraze potomstva BVD virusom od zaraženih roditelja

Materijal i metode

U istraživanju smo za dokazivanje BVD virusa uporabili 21 uzorak krvi od nasumce (randomski) odabranih goveda (17 krava i 4 bika) simentalke pasmine. Životinje su potjecale iz područja ugroženih od zaraze BVD, a prijašnjim je postupkom genotipizacije ustvrđeno njihovo srodstvo (engl. *interbreeding*).

Pasmina	Spol	
	M	Ž
Simentalac (n=21)	4	17

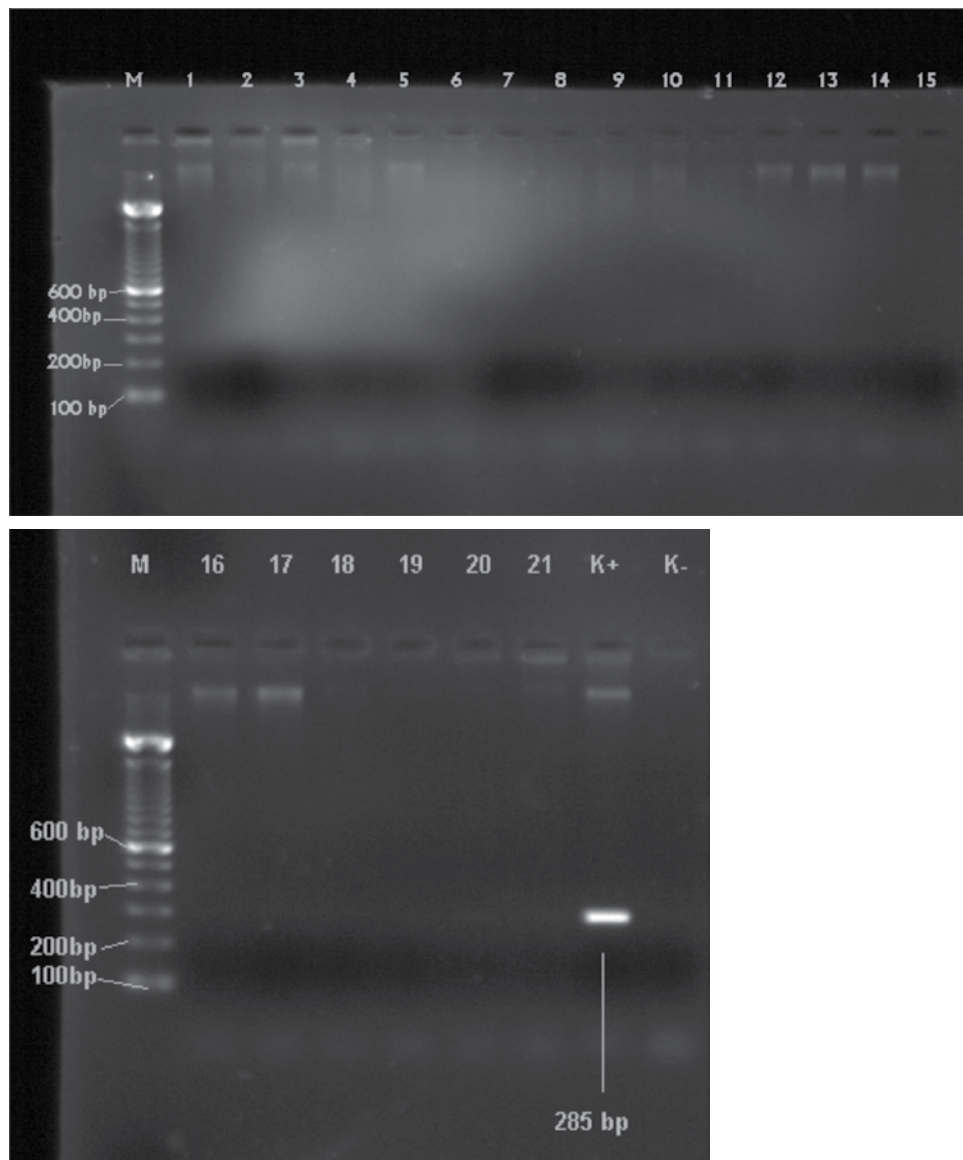
Tablica 1. Spol istraživane populacije

Krvni su uzorci uzeti venepunkcijom iz superficijalne jugularne vene i uneseni u sterilne epruvete koje su sadržavale antikoagulans (EDTA), a iz krvi smo virusnu RNA izolirali s pomoću kompleta *QIAamp* (tvrtke Qia-gen, Hilden, Njemačka).

Izolacija RNA

U postupku izolacije smo najprije pripremili reagense na način da smo dodali 310 µL liofilizirane noseće RNA (engl. *carrier RNA*), a nakon otapanja su alikvoti razdvojeni i smrznuti na -20 °C.

Postupak izolacije RNA započinje precipitacijom 560 µL priređenog AVL pufera koji sadrži noseću RNA. Potom u 1,5 mL ependorf epruvetu dodajemo 140 µL krvnog uzorka te sve promiješamo u automatskoj mješalici tijekom 15 sekundi i smjesu inkubiramo na sobnoj temperaturi tijekom 10 minuta. Naposljetku se smjesa kratko centrifugira 10 sekundi uz 8000 rpm i dodajemo 560 µL 96-100%-tnog etanola



Slika 1.a i b. Agarozni gel s amplikonima BVDV gena za 5'netranslacijsku regiju genoma (5'NTR). Umnoženo uporabom para početnica *Panpesti I* i *Panpesti II*.

te sve promiješamo tijekom 15 sekundi, a potom centrifugiramo tijekom 10 sekundi. U daljnjem se postupku 630 μ L precipitiranog uzorka unosi u 2 mL kolumnu i centrifugira tijekom 1 minute uz 8000 rpm te se uzorak prebaci u

novu kolumnu i centrifugira, a plutajući sloj (engl. *supernatant*) se odbaci. Cijeli je postupak potrebno jedanput ponoviti.

Sadržaju kolumnne dodajemo 500 μ L pufera AW1 i smjesu centrifugiramo tijekom 1 minute uz 8000 rpm,

te odbacimo plutajući sloj i po kolumni dodajemo 500 μ L pufera AW2, smjesu centrifugiramo uz maksimalni broj okretaja (rpm) tijekom tri minute. Zatim odbacimo plutajući sloj i ostatak centrifugiramo 1 minutu uz maksimalni broj okretaja, a kolumnu uklopimo u čistu 1,5 mL eppendorf epruvetu i dodamo 60 μ L pufera AVE te tijekom jedne minute inkubiramo na sobnoj temperaturi. Naposljetku smjesu centrifugiramo uz 8000 rpm te kolumnu odbacimo, a u epruveti ostane čista RNA. Ako se izolat RNA odmah ne koristi u daljnjem postupku, valja ga pohraniti u zamrzivač na -70°C .

Reverzna transkripcija

Ciljane netranslacijske regije (5'NTR) umažane su iz RNA izdvojene iz ukupne RNA sustavom *SuperscriptTM III First-Strand Synthesis System for RT-PCR* (Invitrogen, Carlsband, USA) za sintezu komplementarnog lanca cDNA. Postupak se reverzne transkripcije obavlja u uređaju *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems, Foster City, USA) i uključuje dvije faze. U prvoj se fazi priređuje reakcijska smjesa konačnog volumena 11 μ L koja sadrži 6 μ L izolata RNK, 1 μ L 50ng/ μ L nasumičnih početnica i 1 μ L 10 mM dNTP, a inkubira se na 65°C tijekom 5 minuta i potom na ledu tijekom 1 minute. U drugoj fazi se reakcijskoj smjesi dodaje 4 μ L 50 mM MgCl₂, 2 μ L 0,1 M DTT, 1 μ L Rnase-OUT i 1 μ L Super Script III Reverse Transcriptaze. Tako priređena reakcijska smjesa konačnog volumena 20 μ L inkubira se 10 minuta na 25°C , 50 minuta na 50°C i 5 minuta na 85°C .

Proizvode cDNA naposljetku pohranimo na $+4^{\circ}\text{C}$.

Lančana reakcija polimerazom (PCR)

Postupak lančane reakcije polimerazom (PCR) primijenjen je za umnažanje virusne cDNA veličine 285 bp uz uporabu para početnica *Panpesti I* (5' ATG CCC TTA GTA GGA CTA GCA 3') i *Panpesti II* (5' TCA ACT CCA TGT GCC ATG TAC 3') koje su specifične za 5' netranslacijsku regiju (5'NTR) virusnoga gena. Postupak PCR je obavljen uređajem *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems). Konačni volumen reakcijskih smjesa za PCR bio je 50 μ L, a uključivao je 6 μ L izdvojene DNA, 0,5 μ L 5U platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen), 5 μ L 10xPCR pufera, 1,5 μ L 50 mM MgCl₂, 20 pmol svake početnice i 1 μ L 10 mM dNTP. Nakon početne denaturacije na 94°C tijekom dvije minute slijedilo je 35 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 94°C tijekom 1 minute te vezanje početnica na 55°C tijekom 1 minute i produljivanje lanca na 72°C tijekom 1 minute, a naposljetku je slijedilo završno produljivanje na 72°C tijekom 10 minuta.

Elektroforeza u gelu

Elektroforeza se uz uvjete: 60 min, 60-70 V, 90 mA i sobna temperatura obavlja u 1,5%-tnom agaroznom gelu priređenom u 1X TBE pufferu, a kojem je pridodan etidijev bromid. Puffer 1X TBE se priređuje tako da se jednom dijelu 10X TBE pufera primiješa devet dijelova redestilirane vode. U jažice načinjene

u gelu unosi se 6 μ L uzorka cDNA pomiješanog s 1,0 μ L obojenog pufera za elektroforezu koji olakšava unošenje uzoraka u jažice i praćenje tijeka elektroforeze. Kao standard za određivanje molekulske mase uporabiti smo 100 bp DNA Ladder marker, a rezultati se promatraju uređajem UV-transiluminator (Vilber Lourmat, Torcy, Francuska).

Rezultati istraživanja i rasprava

U istraživanju smo rabili parove početnica *Panpesti* I (5' ATG CCC TTA GTA GGA CTA GCA 3') i *Panpesti* II (5' TCA ACT CCA TGT GCC ATG TAC 3') specifične za 5' netranslacijsku regiju koja je visoko očuvana među svim izolatima Pestivirusa. Primjenom lančane reakcije polimerazom (PCR) umnažali smo odsječak od 285 bp koji se može detektirati elektroforezom u agaroznom gelu.

U pokuse su bile uključene negativna kontrola (kontrola kontaminacije) koja ne sadrži uzorak virusne RNA nego je čista reakcijska smjesa i pozitivna kontrola, odnosno uzorak koji se u prethodnim istraživanjima pokazao pozitivnim na prisustvo virusne RNA.

Rezultati pretraga obavljenih u istraživanoj skupini životinja nisu pokazali prisustvo BVD virusa.

Infekcije bređih krava i junica BVD virusom mogu uzrokovati usmrćivanje fetusa, što je razlogom velikih gospodarskih gubitaka. Pobačaji pak ne moraju nastupiti odmah nakon što fetus uquine te prije pobačaja obično prođe i do nekoliko tjedana, a postoji i mogućnost da potomstvo izgledom bude zdravo, ali je prenositelj virusa

(Vanroose i sur., 1998.; Polak i Zmudzinski, 1999.; Vilcek i sur., 1999.; Utten-thal i sur., 2005.).

Svrha našeg istraživanja bila je provjeriti mogućnosti prenošenja BVD virusa od roditelja preživjelom potomstvu.

Ustaljeno mišljenje da se BVD virus može prenositi u sljedeću filijalnu generaciju nismo uspjeli potvrditi, ali niti opovrgnuti jer su se testirani uzorci krvi i sjemenja životinja (21 uzorak - 17 krvi i 4 sperme bikova) koje su međusobno u srodstvu pokazali negativnim na prisustvo BVD virusa.

Zaključak

U istraživanih uzoraka BVD virus nije otkriven. S obzirom da je riječ o skupim pretragama i teško provedivu postupku u opsežnom uzgoju goveda zaključujemo da životinje ne treba testirati odmah nakon njihova teljenja kako bismo provjerili jesu li trajno zaražene BVD virusom. Pozornost, pak, redovito valja pridati govedima u ugroženim područjima, a posebice se preporuča pretraga sperme bikova.

Rezultati naše prve provjere mogućnosti prenošenja zaraze BDV virusom od roditelja potomstvu ukazuju na potrebu i vrijednost takvih istraživanja. Stoga bi za dokazivanje rečene pretpostavke trebalo provesti dodatna istraživanja s većim brojem uzoraka što bi omogućilo ustvrđivanja eventualne prisutnosti virusa.

Sažetak

Današnje su pasmine goveda selekcionirane temeljem visoke proizvod-

nosti i prilagodljivosti farmskom uzgoju. Stoga u govedarstvu učinkovitom prevencijom i liječenjem uz nužno poznavanje genetike možemo spriječiti prenošenje bolesti na sljedeću filijalnu generaciju.

U radu su prikazani rezultati istraživanja uzoraka goveda koja su u srodstvu kako bi se u te skupine odredila mogućnost ili eventualna pojava BVD virusa u teladi.

Postupak je izdvajanje RNA iz uzoraka krvi goveda i sjemeni bikova pomoću kompleta QIAamp. Nakon lančane reakcije polimerazom (PCR) dobivene proizvode analiziramo gel elektroforezom kako bismo ustvrdili postoje li određene vrpce sljedovi koji ukazuju na prisutnost BVD virusa u pojedinom istraživanom uzorku.

Cilj je rada bio ustvrditi mogućnosti prijenosa BVD virusa od roditelja na sljedeću filijalnu generaciju. U slučaju mogućeg prijenosa trebalo bi životinje testirati odmah nakon rođenja kako bi se ustanovilo jesu li zaražene BVD virusom. U istraživanju pretpostavku o mogućem prijenosu infekcije nije bilo moguće potvrditi, ali ni otkloniti pa se ističe potreba dodatnog istraživanja s većim brojem uzoraka krvi te posebice sperme bikova.

Literatura

1. COUVREUR, B., C. LETELLIER, F. OLIVIER and P. DEHAN (2007): Sequence-optimised E2 constructs from BVDV-1b and BVDV-2 for DNA immunization in cattle. *Vet. Res.* 38, 819-834.
2. DALIRI, M., S. A. GHORASHI, D. MORSHEDI, T. HAJIAN and K. AFSHAR (2007): Detection of bovine viral diarrhoea virus in bovine semen using nested – PCR. *Iranian J. Biotechnol.* 5 (1), 48-51.
3. HAMEL, A. L., M. D. WASYLYSHEN and G. P. NAYAR (1995): Rapid detection of bovine viral diarrhoea virus by using RNA extracted directly from assorted specimens and a one-tube reverse transcription PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 33 (2), 287-291.
4. MEYERS, G., A. EGE, C. FETZER, M. FREYBURG, K. ELBERS, V. CARR, H. PRENTICE, B. CHARLESTON and E. M. SCHÜRMANN (2007): Bovine viral diarrhoea virus: prevention of persistent fetal infection by a combination of two mutations affecting E^{ms} RNase and N^{pro} protease. *J. Virol.* 81, 3327-3338.
5. POLAK, M. P. and J. F. ZMUDZINSKI (1999): Prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in bulls in artificial insemination centers in Poland. *Vet. Microbiol.* 64, 253-257.
6. UTTENTHAL, A., T. STADAJEK and B. NYLIN (2005): Genetic diversity of bovine viral diarrhoea viruses (BVDV) in Denmark during a 10- year eradication period. *Apmis.* 113 (7-8), 536-541.
7. UTTENTHAL, A., M. J. HOYER and C. GRODANL (2006): Vertical transmission of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in mousedeer (*Tragulus javanicus*) and spread to domestic cattle. *Arch. Virol.* 151 (12), 2377-2387.
8. VANROOSE, G., H. NAUWYNCK, A. VAN SOOM, E. VANOPDENBOSCH and A. DE KRUIF (1998): Replication of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in zona-free and zona-intact in vitro produced bovine embryos and the effect on embryo quality. *Biol. Reprod.* 58, 857-866.
9. VILCEK, S., T. W. DREW, A. MC-GOLDRICK and D. J. PATON (1999): Genetic typing of bovine pestiviruses from England and Wales. *Vet. Microbiol.* 69 (4), 227-237.

Assessment of Potential Risks for Transmission of Bovine Viral Diarrhoea (BVD) Virus From Parent to Progeny

Tomislav KEROS, DVM, assistant, Jelena BALATINEC, Grad. Eng., assistant, Željko CVETNIĆ, DVD, Ph.D, scientific advisor, Mirko LOJKIĆ, DVM, Ph.D, full professor; Croatian Veterinary Institute, Zagreb

The current breeds of beef cattle are selected for their high productivity and capacity for adaptation to farm breeding. In raising beef cattle, any disease transmission to the first filial generation can be prevented by implementing effective prevention and treatment strategies.

The paper shows the results obtained in the study of beef cattle samples of the same herd conducted to determine the potential risk and occurrence of bovine viral diarrhoea (BVD) virus in filial calves.

The technique employed includes RNA extraction from bovine blood and bull semen samples using the QIAamp kit. The polymerase chain reaction (PCR) products are then analysed by

gel electrophoresis to see whether there are any sequences indicating the presence of BVD virus in any of the study samples.

The aim of this paper is to assess the risk of BVD virus transmission from parent to the next 4filial generation. In case there is a potential risk of transmission, the animals should be tested immediately after birth to determine whether they are infected by BDV virus. Since the assumption of potential infection transmission could be neither confirmed nor refuted in this study, the need for further research involving a larger number of blood samples, particularly bull semen samples, is underlined.

DOMAĆE VIJESTI

(ISPITI.) Povratio se je ovijeh dana iz Italije naš sugradjanin g. Antun Dr. KOBLIŠKA, pošto je dovršio sve ispite na Bolonjskoj universiji. Ide do brzo u Crnogoru, kao veterinar.

„Glas dubrovački“ (Dubrovnik), 23, 183, 1886 (god. 2) (1. avgusta 1886.).

- Životinje koje šepaju
- nemaju nagon za parenjem,
 - produžen je period između teljenja,
 - manje jedu te stoga daju manje mlijeka,
 - imaju slabiji prirast i često su prerano izuzete iz uzgoja.

Pobrinite se za zdravlje papaka vaših životinja.

DermaVet®

*Promijenite navike životinja iz vašeg uzgoja, upotrebljavajte **DermaVet kupku** za papke i **DermaVet sprej** za papke.*



DermaVet®

sprej za papke je



- sprej s produljenim djelovanjem,
- koji tvori jedinstveni zaštitni sloj od polimera,
- sadrži ulje čajevca i organske kiseline te
- osigurava jaku i dugotrajnu antibakterijsku zaštitu za papke.

DermaVet®

kupka za papke je

- biorazgradiv pripravak, ekološki prihvatljiv i nije štetan za ljude,
- sadrži organske kiseline, ulje čajevca te sredstva za otapanje,
- djeluje u prisutnosti organskih tvari i pri niskim temperaturama,
- otvrdnjava i štiti papke.



lek veterina

prodani zdravlju živali

Uvoznici za Hrvatsku:
Vetfarm d.o.o., Tina Ujevića 20, Valpovo, tel.: 031 654 555, 099 215 46 56,
MedicalIntertrade, Dr. Franje Tuđmana 3, 10431 Sveta Nedelja, tel.: 01 33 74 022

Za više informacija o proizvodima DermaVet nazovite na **00 386 1 580 23 52**, pišite na info@lek-veterina.si ili posjetite našu internetsku stranicu www.lek-veterina.si/hr.

Lek Veterina d.o.o., Lipovci 251a, 9231 Beltinci, Slovenija
www.lek-veterina.si info@lek-veterina.si

Utjecaj dodavanja kalcijeva propionata u hrani na energetske status mliječnih krava

Z. Stojević, Natalija Filipović, Z. Tuček, Blanka Beer Ljubić,
K. Dolanski i Lina Bačar-Huskić



Uvod

Početak je laktacije prijelazno razdoblje u kojem dolazi do naglog povećanja potreba za tvarima nužnim za sintezu mlijeka, osobito energetskih; glukoza, masne tvari, bjelančevine. Specifičnosti probave u preživača onemogućuju dotok jednostavnih metabolita iz probavila, posebice glukoze. Naime, probava ugljikohidrata odvija se u predželucima fermentativnim procesima. Tako konačni produkt razgradnje ugljikohidrata nije glukoza već niže masne kiseline, ponajprije octena, propionska i maslačna. Glukoza, prijeko potrebna za osnovne životne procese kao i za sintezu mliječnog šećera, laktaze nastaje glukoneogenezom najvećim dijelom iz propionske kiseline.

Kronični nedostatak glukoze, osobito u početku laktacije, povećava učestalost metaboličkih poremećaja (Goff i Horst, 1997.; Hardeng i Edge, 2001.). Pad razine inzulina s posljedičnim porastom koncentracije glukagona rezultira povećanim opsegom lipolize i β -oksidacije nastalih masnih kiselina. Nastali acetyl-CoA ulazi u ciklus limunske kiseline, ali samo u količini koja je ovisna o raspoloživosti oksal-acetata, a koji ovisi o količini glukoze. Preostali acetyl CoA skreće u ketogenezu (Bruss, 1997.). Osobitost metabolizma preživača je niska koncentracija oksal-acetata u mitohondrijima (Vernon, 2005.) što dalje pridonosi nastanku ketonskih tijela. Dakle, osnovna prevencija u sprječavanju

Dr. sc. Zvonko STOJEVIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, dr. sc. Natalija FILIPOVIĆ, dr. vet. med., znanstveni suradnik, viši asistent, Veterinarski fakultet Zagreb; mr. sc. Zvonimir TUČEK, dr. vet. med., Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske, Zagreb; Blanka BEER LJUBIĆ, dipl. ing. biokem., stručni suradnik, Veterinarski fakultet Zagreb; Karlo DOLANSKI, dr. vet. med., Osatina proizvodnja promet i usluge u poljoprivredi, Semeljci, mr. sc. Lina BAČAR-HUSKIĆ, dipl. ing. agr., VETERINA d.d., Rakov Potok

metaboličkih poremetnji je dovoljna količina glukoplastičnih tvari. To može biti laktat (mliječna kiselina) koja vrlo lako prelazi u glukozu. Međutim, mliječna kiselina može polučiti jak toksični učinak. Vrlo široku primjenu ima i propilen glikol. No, novija istraživanja ukazuju kako i taj pripravak ima toksični učinak (Filipović i sur., 2008.). Preostaje jedino propionat (propionska kiselina) koja fiziološki nastaje vrenjem u predželucima. S tim u vezi željeli smo istražiti utjecaj dodavanja propionata u hranu na energetske metabolizam krava u početku laktacije.

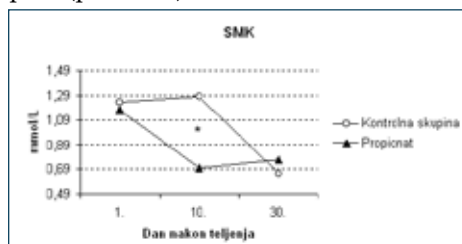
Materijal i metode

Pokusi su obavljeni na kravama holštajnske pasmine tijekom prvih 30 dana laktacije. Kontrolna skupina dobivala je hranu prilagođenu proizvodnom ciklusu. Pokusna skupina hranjena je istom hranom uz dodatak 80 g Ca-propionata po kravi u obliku komercijalnog pripravka Biomax tranzit® (Veterina d.d., Hrvatska) (sadržaj kalcijeva propionata 80%) 100 g po kravi dva puta dnevno. Krv za analize uzimana je prvi, deseti i trideseti dan laktacije punkcijom vratne vene, pomoću BD-Vacutainer® sustava (BD Diagnostics, Plymouth, Velika Britanija). Uzorci krvi centrifugirani su na 1.500 G tijekom 15 minuta i u izdvojenom serumu određena je na automatskom analizatoru (SABA 18, AMS, Rim, Italija) koncentracija slobodnih masnih kiselina (SMK), beta-hidroksimaslačne kiseline (BHB), ukupnog kolesterola, triglicerida, glukoze i ureje. Za određivanje koncentracija

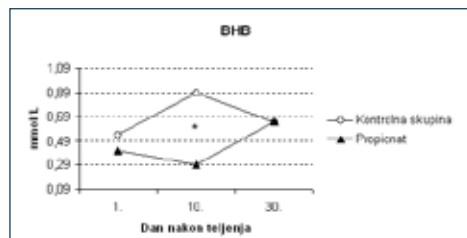
SMK i BHB korišteni su komercijalni kompleti reagensa tvrtke RANDOX Laboratories, Ltd. (Velika Britanija), a za određivanje ukupnog kolesterola, triglicerida, glukoze i ureje korišteni su komercijalni kompleti tvrtke Herbos Dijagnostika d.o.o., Sisak, Hrvatska). Rezultati su statistički obrađeni korištenjem računalnog paketa Statistica 7.1 (StatSoft, SAD). Razlike između kontrolne i pokusne skupine određene su pomoću Studentovog T-testa za nezavisne uzorke. Razlike su smatrane statistički značajnima ako je $p < 0,05$.

Rezultati

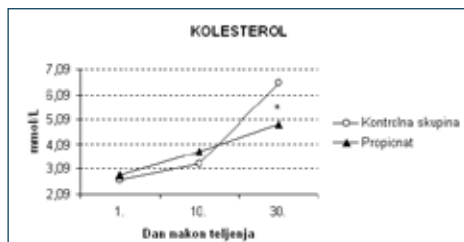
Rezultati pokusa prikazani su na slikama 1-6. Rezultati pokusa pokazali su značajno nižu koncentraciju SMK ($p < 0,05$) i BHB ($p < 0,05$) kod pokusnih krava desetog dana laktacije. U tridesetom danu laktacije ne postoji značajna razlika u koncentraciji ova dva pokazatelja. U toj fazi laktacije pokusna skupina krava imala je značajno nižu koncentraciju ukupnog kolesterola u plazmi ($p < 0,05$) i ureje ($p < 0,001$). Istovremeno zabilježena je značajno viša koncentracija glukoze u plazmi pokusne skupine ($p < 0,0001$).



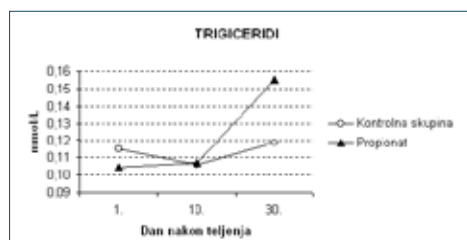
Slika 1. Kretanje koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu krava hranjenih dodatkom Ca-propionata (Biomax tranzit®) i kontrolne skupine krava 1., 10. i 30. dana laktacije; * - razlika između kontrolne i pokusne skupine $p < 0,05$



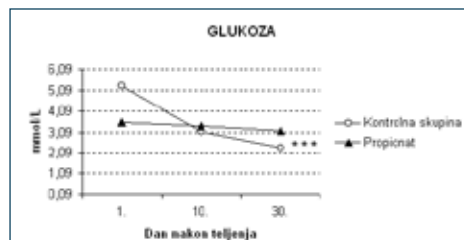
Slika 2. Kretanje koncentracija beta-hidroksi-maslačne kiseline u krvnom serumu krava hranjenih dodatkom Ca-propionata (Biomax tranzit®) i kontrolne skupine krava 1., 10. i 30. dana laktacije; * - razlika između kontrolne i pokusne skupine $p < 0,05$



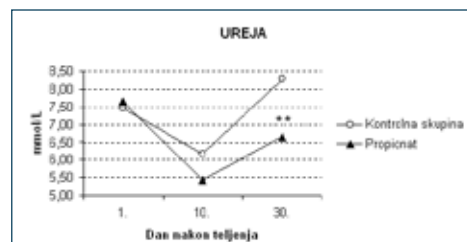
Slika 3. Kretanje koncentracija ukupnog kolesterola u krvnom serumu krava hranjenih dodatkom Ca-propionata (Biomax tranzit®) i kontrolne skupine krava 1., 10. i 30. dana laktacije; * - razlika između kontrolne i pokusne skupine $p < 0,05$



Slika 4. Kretanje koncentracija triglicerida u krvnom serumu krava hranjenih dodatkom Ca-propionata (Biomax tranzit®) i kontrolne skupine krava 1., 10. i 30. dana laktacije



Slika 5. Kretanje koncentracija glukoze u krvnom serumu krava hranjenih dodatkom Ca-propionata (Biomax tranzit®) i kontrolne skupine krava 1., 10. i 30. dana laktacije; *** - razlika između kontrolne i pokusne skupine $p < 0,0001$



Slika 6. Kretanje koncentracija ureje u krvnom serumu krava hranjenih dodatkom Ca-propionata (Biomax tranzit®) i kontrolne skupine krava 1., 10. i 30. dana laktacije; * - razlika između kontrolne i pokusne skupine $p < 0,001$

Rasprava

Kako pokazuju rezultati pokusa dodavanje Ca-propionata u hranu mliječnih krava pozitivno djeluje na energetske status krava u početnom dijelu laktacije. Navedeni zaključak donosi se

na osnovi praćenja koncentracija biokemijskih pokazatelja u krvi povezanih s energetske metabolizmom. Djelovanje propionata na energetske metabolizam očituje se njegovim glukoneogeničkim učinkom. Propionat se veže s CO_2 stvarajući sukcinat koji u ciklusu limunske kiseline stvara višak oksalacetata koji preko fosfoenol piruvata u konačnici daje prijeko potrebnu glukozu (Filipović i sur., 2007.). Na taj način umanjuje se kronični nedostatak glukoze, osobito u prvom periodu laktacije kada količina mlijeka naglo raste. Zbog pojave energetske disbalansa dolazi do mobilizacije tjelesnih masti što zbog oslabljene mogućnosti utilizacije SMK može dovesti do ketoze (Zammit, 1983.)

i pojave masne jetre (Grummer, 1993.). U našim istraživanjima zabilježili smo konstantnu koncentraciju glukoze u krvi pokusnih životinja uz istovremeni pad koncentracije u krvi kontrolne skupine tridesetog dana. Ovaj podatak upućuje na zaključak kako dodatak propionata održava normoglikemiju tijekom pokusnog razdoblja. Kretanja koncentracija masnih tvari u serumu krava ukazuju na anaboličke puteve u metabolizmu. Značajno niže koncentracije SMK pokusne skupine u desetom danu laktacije dovode se u vezu sa slabijom mobilizacijom tjelesnih masti što je od izrazitog značenja u pojavi ketoze. Ova opažanja podupire kretanje BHB kao osnovnog pokazatelja stvaranja ketonskih tijela (Stojević i sur., 2002.; Rabelo i sur., 2005.). Isto tako, u istom periodu koncentracija ukupnog kolesterola prati kretanja desetog dana laktacije kontrolne skupine da bi tridesetog dana bila značajno niža uz istovremeni porast koncentracije ukupnih triglicerida, iako ne značajan. Svi navedeni podatci dovode se u vezu s pojačanom sintezom masti u pokusne skupine, a u svrhu potrebe mliječne žlijezde. Kretanja koncentracije ureje i njezina značajno niža vrijednost u pokusne skupine mogu ukazati na smanjeni obim razgradnje tjelesnih bjelančevina. Ovakav zaključak temelji se na činjenici kako su i pokusna i kontrolna skupina hranjene u osnovi istom hranom. Opisani zaključci istraživanja temelje se na primjeni komercijalnog preparata Biomax®transit koji osim propionata sadrži vitamine, kvasce i minerale pa je njihove učinke teško izdvojiti. Daljnja istraživanja morala

bi biti usmjerena primjenom čistog propionata. Isto je tako neophodno istražiti učinak propionata u suhostaju neposredno pred telenje kao i u periodu iza trideset dana laktacije.

* Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta „Metabolizam minerala u domaćih životinja u uvjetima visoke proizvodnje i stresa“ (053-1080229-2104), provođenog uz popoturu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske i suradnji s «Veterinom d.d».

Sažetak

Početno razdoblje laktacije metabolički je najzahtjevnije, zbog naglog povećanja proizvodnje mlijeka. Specifičnost probave u preživača onemogućuje opskrbu organizma glukozom te se potrebe za glukozom namiruju glukoneogenezom, prije svega iz propionske kiseline, nastale procesom vrenja u buragu. Nastale količine propionske kiseline često nisu dovoljne za podmirenje potreba za glukozom. S tim u vezi istražili smo utjecaj dodavanja kalcijeva propionata u hrani na energetske metabolizam krava početkom laktacije, praćenjem biokemijskih pokazatelja u krvi. Pokusi su obavljeni na kravama holštajnske pasmine. Kontrolna skupina dobivala je hranu prilagođenu proizvodnom ciklusu. Pokusna skupina hranjena je istom hranom uz dodatak 80 g Ca-propionata svaki dan dvokratno, počevši od prvog do tridesetog dana laktacije. Krv za analizu uzimana je prvi, deseti i trideseti dan po porodu punkcijom vratne vene. U izdvojenom serumu određena je koncentracija slobodnih masnih kiselina

(SMK), beta-hidroksi maslačne kiseline (BHB), ukupnog kolesterola, triglicerida, glukoze i ureje. Rezultati pokusa pokazali su značajno nižu koncentraciju SMK i BHB ($p < 0,05$) kod pokusnih krava desetog dana laktacije. Tridesetog dana laktacije pokusna je skupina krava imala je značajno nižu koncentraciju ukupnog kolesterola u serumu ($p < 0,05$) i ureje ($p < 0,001$), kao i značajno višu koncentraciju glukoze ($p < 0,0001$).

Na osnovi dobivenih rezultata može se prepostaviti kako dodatak 160 g Ca-propionata dnevno u hranu za krave umanjuje razgradnju tjelesnih masti i stvaranje ketonskih tijela oko desetog dana laktacije te održava konstantnu koncentraciju glukoze u krvi. Pad koncentracije ureje tridesetog dana laktacije može se pripisati smanjenoj razgradnji tjelesnih bjelancevina.

Literatura

- BRUSS, M. L. (1997): Lipids and Ketones. In: Clinical biochemistry of domestic animals, 5th ed. (Kaneko, J. J., J. W. Harvey, M. L. Bruss). pp. 83-115. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
- FILIPOVIĆ, N., Z. STOJEVIĆ i L. BAČAR-HUSKIĆ (2007): Energetski metabolizam u krava tijekom razdoblja rane laktacije. *Praxis Veterinaria* 55, 91-100.
- FILIPOVIĆ, N., Z. STOJEVIĆ, B. BEER LJUBIĆ und N. POLJIČAK-MILAS (2008): Der Fettstoffwechsel bei Holstein-Kühen in der Trockenstehzeit und zu Laktationsbeginn. *Tierärztl. Umschau* 63, 59-64.
- GOFF, J. P. and R. L. HORST (1997): Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80, 1260-1268.
- GRUMMER, R. R. (1993): Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3882-3896.
- HARDENG, F. and V. L. EDGE (2001): Mastitis, ketosis, and milk fever in 31 organic and 93 conventional Norwegian dairy herds. *J. Dairy Sci.* 84, 2673-2679.
- RABELO, E., R. L. REZENDE, S. J. BERTICS and R. R. GRUMMER (2005): Effects of pre- and postfresh transition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 4375-4383.
- STOJEVIĆ, Z., S. MILINKOVIĆ TUR, M. ZDELAR-TUK, J. PIRŠLJIN, G. GALIĆ i I. BAČIĆ (2002): Minerali i metaboliti u krvi kao pokazatelji metaboličkih poremećaja u mliječnim krava. *Praxis Veterinaria* 50, 261-264.
- VERNON, R. G. (2005): Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *J. Dairy Res.* 72, 460-469.
- ZAMMIT, V. A. (1983): Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *Proc. Nutr. Soc.* 42, 289-302.

The Influence of Calcium-Propionate in Diet on Energy Status in Dairy Cows

Zvonko STOJEVIĆ, DVM, Ph.D., full professor, Natalija FILIPOVIĆ, DVM, Ph.D., scientific collaborator, senior assistant, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Zvonimir TUČEK, DVM, M.Sc., Center for Animal Reproduction of Croatia, Zagreb; Blanka BEER LJUBIĆ, B.Sc. biochem., professional collaborator, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Karlo DOLANSKI, DVM, Osatina production, transport and service in agriculture, Semeljci, Lina BAČAR-HUSKIĆ, B.Sc. agr., M.Sc., Veterina, Animal Health, Inc., Rakov Potok

The beginning of lactation is a metabolically most demanding period, because of rapid increase of milk production. The ruminant is completely denied of glucose, since all carbohydrates are converted to volatile fatty acids, by digestion in the forestomach. The vital glucose needs are satisfied by the gluconeogenesis in liver, primarily from propionate. The quantity of propionate, which originates from the fermentative digestion in rumen, is often insufficient to satisfy the need for glucose. In relation to above mentioned, we investigated the influence of the calcium-propionate supplement to diet of dairy cows on the energy metabolism in the beginning of lactation, by measuring of blood serum indicators of energy status. The research was conducted on Holstein-Friesian. Control group was fed with a standard diet, which was adapted to the phase of lactation. Experimental group was fed equally, with addition of 80 g of calcium propionate twice a day, beginning from the

first to the 30th day of lactation. Samples for blood analyses were taken on day 1, day 10 and day 30 after calving. In separated blood serum, the concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA), beta hydroxybutyrate (BHB), total cholesterol, triglycerides, glucose and urea were determined. The concentration of NEFA and BHB was significantly lower in experimental in comparison with control group, on day 10 of lactation ($p < 0.05$). On day 30 experimental group has had significantly lower concentration of total cholesterol and urea ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively) and higher concentration of glucose in serum ($p < 0.0001$). The presented data indicate that addition of 160 g of calcium propionate diminish mobilisation of body fat stores and production of ketones, and keeps the stabile concentration of blood glucose around the day 10 of lactation. Observed decrease in concentration of urea on day 30 of lactation is probably a result of the diminished protein degradation.

Kvasac (*Saccharomyces cerevisiae*) kao probiotik u hranidbi malih preživača

Tomislav Mašek i Željko Mikulec



Uvod

Unatoč više od pola stoljeća dugoj uporabi kvasca u hranidbi životinja, još uvijek postoji znatno nerazumijevanje što zapravo jesu pojedini proizvodi i na koji se način mogu upotrebljavati. Prva je uporaba kvasca bila kao izvora bjelančevina u obliku inaktiviranog kvasca (Eckles i Williams, 1925.; Carter i Phillips, 1944.). Znatno kasnije počinje njegova uporaba kao probiotika (male količine živih stanica) dok se danas upotrebljava i u nove svrhe poput: izvora mikroelemenata, izvora nukleotida, poboljšivača okusa, imunomodulatora, prebiotika, adsorbensa mikotoksina, smanjenja razine kolesterola itd. (Romero i Gomez-Basauri, 2003.).

Znanstvena, a kasnije i praktična zamisao o iskorištavanju mikroorganizama u hranidbi temeljila se na očiglednom pozitivnom učinku na proizvodnost životinja, naročito u stresnim uvjetima proizvodnje. Svi mikroorganizmi dodavani u obrok na

ovaj način nazvani su probioticima uz kasnije točno definiranje kao: živi mikroorganizmi koji služe kao dodaci hrani kako bi poboljšali ravnotežu u probavnom sustavu (Fuller, 1989.). Ponovni zamah interesu za probiotike dao je pad interesa za antibiotske promotore rasta uz istovremeno povećanje interesa za prirodnije promotore rasta. Potrebe tržišta pri tome slijede i znanstvena istraživanja o ovoj problematici pa je razumljiv i veliki porast broja radova o kvascima i njihovim probiotičkim svojstvima.

Općenito o mehanizmu djelovanja živih kultura i stanica kvasca

Pripravci kvasca kao probiotika po svom nastanku mogu biti ili žive kulture kvasca ili žive stanice kvasca.

Dr. sc. Tomislav MAŠEK, dr. vet. med., viši asistent; dr. sc. Željko MIKULEC, dr. vet. med., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Zagreb

Kultura kvasca dobiva se u fermentacijskom procesu od odabrane tekućine, žitarica i kvasca te sušenjem cijele kulture s medijem bez uništavanja nastalih metabolita (Newbold, 1995.). Poradi toga često se smatra kako je djelovanje kulture kvasca vezano i uz nastale metabolite. Nasuprot tome žive stanice kvasca dolaze u komercijalnim pripravcima samostalno ili s minimalnom količinom nosioca, ali uvijek bez medija na kojem su uzgojene (Dawson, 2000.). Takvi pripravci nastaju posebnim, uglavnom patentiranim, procesima koji omogućavaju veliki broj živih stanica. Usprkos ovim razlikama do sada nisu utvrđene znatnije razlike u djelovanju ove dvije vrste pripravaka ni u *in vitro* učinku na mikroorganizme buraga (Lynch i Martin, 2002.) niti u *in vivo* pokusima na kravama u laktaciji (Higginbotham i sur., 1994.).

Kvasci su aerobni organizmi i najvjerojatnije ne mogu rasti u anaerobnim uvjetima buraga i zbog toga moraju biti kontinuirano davani u obroku kako bi im se koncentracija održavala stalnom. Osnovna karakteristika svakog pripravka kvasca kao probiotika je soj i koncentracija živih stanica koja se izražava u CFU (*colony forming unit*) na g ili ml pripravka (Jouany, 1999.). Pojedini sojevi se znatno razlikuju u djelotvornosti pa su prilikom istraživanja u umjetnom buragu zabilježeni sojevi koji nemaju učinak na broj bakterija i fermentaciju, sojevi koji imaju znatan učinak na oba procesa i sojevi koji imaju djelomično djelovanje (Jouany i sur., 1991.; Newbold i sur., 1995.). O potrebi određenog broja živih stanica u pripravcima postoji mnogo rasprava.

Neki pripravci garantiraju vrlo visoke brojeve (npr. 10^9 CFU/g) i u obrok dolaze u vrlo malim količinama (1 do 10 g). Suprotno tome drugi proizvodi ne garantiraju tako velike brojeve živih stanica smatrajući kako nusproizvodi kvasca uključeni u pripravak (kultura) imaju bitno djelovanje.

U velikom broju istraživanja pokušalo se utvrditi način na koji kvasci djeluju unutar buraga. Dio istraživanja bio je usmjeren na životinju domaćina, a dio na mikroorganizme buraga. Iako su istraživanja mehanizama djelovanja kvasca izrazito kompleksna izgledno je kako središnje mjesto u učinku na proizvodnost životinja ima mikropopulacija buraga. Ipak, ponekad je vrlo teško jasno razdvojiti uzroke i posljedice pojedinih procesa u probavnom sustavu nastalih zbog djelovanja kvasca. Ako povećanje broja i/ili metaboličke aktivnosti mikrobiota uzmemo kao središte djelovanja kvasca tada mehanizme učinka možemo podijeliti na one koji dovode to toga (promjena uvjeta u buragu i dotok hranjivih tvari mikroorganizmima) i na posljedice koje će imati na probavu (povećana probavljivost pojedinih hranjivih tvari).

Kvasci imaju sposobnost stabilizacije uvjeta u buragu preko cijelog niza složenih mehanizama (Jouany, 1999.). Kao važnije možemo izdvojiti: uklanjanje kisika, smanjenje koncentracije laktata i opskrba mikroorganizama hranjivim tvarima. Kisik u buragu inhibira rast bakterija (Marounek i Wallace, 1984.) i adheziju celulolitičkih bakterija na celulozni materijal (Roger i sur., 1990.). Iskorištavanjem toga potencijalno toksičnog kisika kvasci mogu

pozitivno djelovati na uvjete za rast mikroorganizama u buragu (Rose, 1987.). U uvjetima buraga bakterije koje proizvode laktat (*Streptococcus bovis*) natječu se s kvascima za korištenje lako probavljivih šećera. Istovremeno, kvasci stimuliraju *Selenomonas ruminantium* i *Megasphaera elsdenii* u potrošnji laktata (Nisbet i Martin, 1993.; Martin i Street, 1995.). Budući da se istovremeno proizvodi manje laktata, a i više troši (Panchal i sur., 1984.) dolazi do pada koncentracije laktata i povišenja pH. *Saccharomyces cerevisiae* ima sposobnost intracelularnog nakupljanja malatne kiseline koja oslobođena u mediju za uzgoj stimulira rast *S. ruminantium* uz prisustvo mliječne kiseline (Nisbet i Martin, 1990.; Chaucheyras i sur., 1996.). Kulture kvasca mogu pozitivno utjecati na mikroorganizme poboljšavanjem opskrbe i drugim tvarima poput vitamina (Martin i Nisbet 1992.; Chaucheyras i sur., 1995.) i nepoznatih faktora rasta (Dawson, 2000.).

Danas se većina autora slaže kako je povećanje broja bakterija u buragu najkonzistentniji rezultat kod životinja tretiranih s kvascima (Williams i Newbold, 1990.; Wallace i Newbold, 1992.; Jouany i sur., 1999.a; Dawson, 2000.). Važno je napomenuti da je osim povećanja ukupnog broja ili samo pojedinih skupina vrlo bitan nalaz i povećanje metaboličke aktivnosti bakterija (Newbold, 1996.). Nekoliko je autora pažnju obratilo i na utjecaj kvasca na broj protozoa u buragu. Prema tim istraživanjima broj protozoa 6 sati nakon hranjenja poraste za 30% i 24 sata nakon hranjenja za 75% (Doreau i Jouany, 1998.; Jouany i sur., 1999.a). Isti

su autori primijetili i znatno manje varijacije u broju protozoa kod životinja tretiranih kvascem u odnosu na kontrolne skupine.

Fermentacija i probavljivost u buragu

Česta posljedica promjene u broju i aktivnosti mikroorganizama nakon stimulacije kvascem su promjene u fermentaciji i probavljivosti pojedinih tvari u buragu.

Djelovanje kvasca na procese fermentacije kod malih preživača vidljivo je u povišenju ukupne količine nižih masnih kiselina (Andrighetto i sur., 1993.; Corona i sur., 1999.; Abd El-Ghani, 2004.). Najveći broj autora ipak nije primijetio promjene u količini nižih masnih kiselina kod malih preživača (Flachowsky i sur., 1992.; Godfrey i sur., 1993.; Zelenak i sur., 1994.; Angeles i sur., 1998.; Garcia i sur., 2000.). U istraživanjima na kravama, osim povišenja ukupnih nižih masnih kiselina, česta je i promjena u omjerima, bilo u smjeru povišenja propionata (Erasmus i sur., 1992.; Plata i sur., 1994.; Miranda i sur., 1996.) ili povišenja acetata (Enjalbert i sur., 1999.; Robinson i Garrett, 1999.). Na osnovi izrazite varijabilnosti koncentracije nižih masnih kiselina možemo zaključiti da je učinak kvasca na njihovu razinu vjerojatnije posljedica indirektnog utjecaja preko mikropulacije nego direktan učinak. U svakom slučaju, porast nižih masnih kiselina može pojasniti poboljšanje proizvodnosti životinja nakon tretmana kvascem (Wallace i Newbold, 1992.).

Kao što je prije navedeno, veliki broj autora opisao je povećani broj celuloitičkih bakterija u buragu preživača nakon dodavanja kvasca. Logična posljedica toga je povećana aktivnost tih bakterija, a time i povećanje razgradnje celuloze. Mjerenjem aktivnosti polisaharid depolimeraza (xylanaza i karboksimetilcelulaza) potvrđen je pozitivan učinak kvasaca na celuloznu iako se količina celuloitičkih bakterija nije promijenila (Jouany i sur., 1998.; Jouany i sur., 1999.b). Upravo povećana probavljivost celuloznih frakcija je najkonzistentniji rezultat istraživanja probavljivosti kod ovaca (Chademana i Offer, 1990.; Abd El-Ghani, 2004.) i janjadi (Haddad i Gossous, 2005.; Titi i sur., 2008.). Povećanje ponekad može biti ekstremno visoko, čak do 12% (Jouany sur., 1998.). Probavljivost ostalih hranjivih tvari je vrlo rijetko poboljšana (Haddad i Gossous, 2005.). Prilikom primjene kvasca probavljivost neutralnih detergenskih vlakana raste s porastom količine koncentrata u obroku u pokusima provedenim u simulatorima buraga (Carro i sur., 1992.; Zelenak i sur., 1994.) i u pokusima na kravama (Williams i sur., 1991.). Temeljem takvih rezultata većina autora smatra da je porast broja i aktivnosti celuloitičkih bakterija glavni uzrok djelovanja kvasca na razgradnju vlakana (Callaway i Martin, 1997.; Koul i sur., 1998.) uz znatne varijacije ovisno o tipu vlakana (Roa i sur., 1997.). Kod ovaca su u ovom dijelu potrebna dodatna istraživanja da bi se točno ispitala interakcije omjera koncentrata i voluminoze na djelovanje kvasca. Chademana i Offer (1990.) su u pokusu na ovcama

primijetili da nakon dodavanja kvasca dolazi do porasta razgradnje organske tvari sijena. No, taj je porast bio potpuno neovisan o omjeru koncentrata i voluminoze u obroku. Svakako je potrebno upozoriti da je interakciju kvasca i razine vlakana u obrocima ovaca teško uspoređivati s kravama budući postoje značajne razlike u aktivnosti žvakanja i minimalne veličine čestica koje stimuliraju preživanje. Naime, poznato je da ovce mogu iskorištavati sitno mljevenu hranu bez probavnih poremetnji koje se često opažaju kod goveda (Cannas, 2004.)

Proizvodnja mlijeka

Prvo istraživanje u kojemu je nakon davanja aktivnog kvasca mliječnost krava porasla 1.1 kg/dan (Renz, 1954.) objavljeno je već 1954. godine. Nakon toga se sve do danas nastavljaju brojna istraživanja pa je reakcija mliječnih krava na primjenu kvasca dobro dokumentirana. Prema Dawson (2000.) u 22 istraživanja, koja su uključivala 9.039 mliječnih krava, tretman kvascem je rezultirao prosječnim povećanjem mliječnosti od 7,3%. Između pojedinih istraživanja postojala je velika varijabilnost koja je iznosila od 2% do 30% povećanja.

Kod malih preživača za proizvodnju mlijeka provedeno je znatno manje istraživanja pa iako se zapažaju slične pravilnosti kao kod krava, puno je teže donijeti zaključke o isplativosti korištenja kvasca. Povećanje količine mlijeka primijećeno je kod mliječnih koza (Reklewska i sur., 2000.; Sara i sur., 2003.; Abd El-Ghani, 2004.; Stella i

sur., 2007.) i mliječnim ovaca (Mašek i sur., 2008.a). Istovremeno je taj učinak u određenom broju istraživanja izostao kod koza i ovaca (Hadjipanayiotou i sur., 1997.; Salama i sur., 2002.). Iako neki autori u preglednim radovima ističu nekonzistentnost takvih rezultata važno je istaknuti da su gotovo sva istraživanja provedena u različitim okolnostima. Vidljiva znatna varijabilnost uzrokovana je nizom čimbenika od kojih su najvažniji: obrok, soj i doza kvasca, razdoblje laktacije, postupak sa životinjama i individualne razlike.

Danas prevladava zaključak kako je djelovanje kvasca na mliječnost najveće u obrocima s velikim količinama koncentrata lako dostupnim za fermentaciju ili suprotno pri obrocima siromašnim hranjivim tvarima. Kod krava su dokazane još suptilnije razlike ovisne i o vrsti krmiva (Quinonez i sur., 1988.; Carro i sur., 1992.; Wallace i Newbold, 1993.; El Hassan i sur., 1994.; Adams i sur., 1995.). Kod malih preživača zasad ima premalo pokusa s različitim obrocima da bi se mogli donijeti konkretni zaključci. Dosadašnji pozitivni učinci kod mliječnih koza bili su vidljivi kod obroka s količinom koncentrata od 60% do 40% i s različitim krmivima (Abd El-Ghani, 2004.; Stella i sur., 2007.). Posebno bitan čimbenik obroka je visoka razina nestrukturnih ugljikohidrata jer je bitan preduvjet za uspješno djelovanje kvasca putem poboljšanja puferske aktivnosti i smanjenja varijacija razine laktata u buragu (Giger-Reverdin i sur., 2004.) koji stimuliraju rast celulolitičkih bakterija (Chaucheyras-Durand i Fonty, 2002.).

Moderna tehnologija dovodi do proizvodnje pripravaka kvasca sa sve kon-

stantnijim i učinkovitijim djelovanjem. Ipak, u istraživanjima još uvijek postoje znatne razlike između djelotvornosti pojedinih pripravaka ovisno o soju i dozi pripravka. Poboljšanje proizvodnosti kod malih preživača znatno ovisi o dozi pripravka pa veće doze redovito dovode do značajnijih poboljšanja (Abd El-Ghani, 2004.; Mašek i sur., 2008.a). Važnost određivanja točnih doza djelotvornosti bitna je i za davanje preporuka za primjenu u komercijalnoj proizvodnji. Izračun ekonomske isplativosti treba uzeti u obzir cijenu pripravka za određenu dozu, ali i ostale bitne čimbenike poput broja ovaca u proizvodnom stadu i razinu proizvodnje. Prema rezultatima na mliječnim ovacima ekonomska isplativost vrlo je upitna pri niskim proizvodnjama (Mašek i sur., 2007.b). Pri konačnoj procjeni treba uzeti u obzir i velike varijacije u cijeni mlijeka kao i premije. U svakom slučaju, proizvođači moraju pratiti individualne situacije da bi procijenili ekonomičnost primjene.

Od nehranidbenih čimbenika bitno je spomenuti razdoblje laktacije. Djelovanje kvasca kod mliječnih krava očitije je u ranoj laktaciji u odnosu na središnju i kasnu (Harris i Lobo, 1988.; Günther, 1989.; Kellems i sur., 1990.). Sukladno tome, Mašek i sur. (2005.) su utvrdili izostanak djelovanja kvasca kod ovaca nakon 140 dana laktacije. Prema ovim rezultatima evidentan je bolji učinak kvasca kod što ranijeg početka davanja tijekom laktacije ili čak već u graviditetu, međutim, kod malih preživača to još nije dokazano i zahtijeva nastavak istraživanja.

Od objašnjenja pozitivnog utjecaja na mliječnost najznačajnijim se smatraju povećanje unosa suhe tvari i povećanje probavljivosti (Abd El-Ghani, 2004.; Stella i sur., 2007.). Budući da kvasci stimuliraju probavljivost hrane u buragu tijekom prvih 6 do 8 sati nakon hranjenja, u tom razdoblju životinje mogu unijeti veće količine suhe tvari kako bi popunile probavni sustav (Jouany 1999.). Osim preko povećane probavljivosti, kvasac vjerojatno može povećati unos hrane i kao poboljšivač ukusa (Lyons, 1994.). Iz tog razloga, unatoč znatno većim količinama mlijeka nakon tretmana kvascem, kondicija se ne pogoršava (Stella i sur., 2007.), a koze mogu čak i dobivati na težini (Salama i sur., 2002.). Porast unosa hrane kod mliječnih koza može biti vrlo visok od 12% (Abd El-Ghani, 2004.) do čak 15% (Stella i sur., 2007.) Veća količina mlijeka se osim s povećanjem probavljivosti i unosa hrane povezuje i s kvascem kao izvorom vitamina B kompleksa (Martin i Nisbet, 1992.; Chaucheryras i sur., 1995.). Ipak je malo vjerojatno da je to bitan uzrok poboljšanja proizvodnosti u istraživanjima u kojima je kemijski sastav obroka prilagođen vrsti i razini proizvodnje. Sličan zaključak vrijedi i za količinu cinka koju također neki autori spominju objašnjavajući kako kvasci predstavljaju njegov koncentrirani izvor (Williams, 1988.; Piva i sur., 1993.). Međutim, iako je malo vjerojatno kako vitamini B kompleksa i cink imaju bitan utjecaj na proizvodne rezultate u kontroliranim pokusima, ipak je nemoguće sa sigurnošću isključiti takav utjecaj pogotovo u sinergističkom učinku s ostalim čimbenicima.

Razlog značajne varijabilnosti rezultata kod mliječnih životinja mogao bi biti i način aplikacije pripravka jer posipavanje kvasca po obroku jedanput dnevno ne mora rezultirati dovoljnim brojem živih stanica u buragu tijekom cijelog dana (Kung i sur., 1997.). Problem postaje bitan naročito iz razloga što načini primjene koji se redovito koriste u znanstvenim pokusima (intraruminalna aplikacija ili pojedinačne doze) moraju u terenskim uvjetima biti zamijenjene prikladnijim, ali i manje točnim (umješavanje u hranu, posipavanje po obroku).

Kemijski sastav mlijeka

Kemijski sastav mlijeka praćen je u gotovo svim istraživanjima na mliječnim životinjama kao vrlo bitan čimbenik. Prema većini autora najčešći rezultat dodavanja kvasca u obrok mliječnim kravama je brojčano povećanje postotka mliječne masti (rijetko statistički značajno) dok se količina bjelancevine ne mijenja (Piva i sur., 1993.). Kod malih preživača je manipulacija s kemijskim sastavom još znatna jer se većina mlijeka koristi za proizvodnju sira.

Količina mliječne masti nakon tretmana kvascem raste kod malih preživača i u ranoj laktaciji (Giger-Reverdin i sur., 1996.; Sara i sur., 2003.) i u središnjoj i kasnoj (Abd El-Ghani, 2004.; Mašek i sur., 2008.b). Ipak, ovaj učinak ponekad izostaje (Hadjipanayiotou i sur., 1997.; Salama i sur., 2002.) ili čak količina pada (Stella i sur., 2007.). Na osnovu ovakvih rezultata vidljivo je kako djelovanje kvasca na sastav mlijeka manje ovisi o razdoblju laktacije, a više o drugim

čimbenicima od kojih je najznatniji sastav obroka (Stella i sur., 2007.). Zanimljivo je da se ponekad količina mlijeka i sastav mlijeka mogu različito mijenjati pri istoj količini kvasca u obroku, ali s mijenjanjem izvora vlakana. Potvrdu tome dali su Williams i sur. (1991.) u istraživanju u kojemu su pronašli značajno veće količine mlijeka uz nepromijenjene količine mliječne masti kod omjera koncentrata i voluminoze 60:40 i sa sijenom kao izvorom vlakana, dok su sa slamom kao izvorom vlakana pronašli značajno povećanje mliječne masti uz nepromijenjenu količinu mlijeka. Osim kemijskog sastava obroka i vrste krmiva na količinu mliječne masti znatno utječe i doza priprema i kod ovaca (Mašek i sur., 2008.a) i kod koza (Abd El-Ghani, 2004.).

Kod životinja hranjenih sa *S. cerevisiae* primijećeno je povećanja broja i/ili aktivnosti mikroorganizama (Jouany i sur., 1998.; Jouany i sur., 1999.a,b) i poboljšanje u razgradivosti vlakana (Chademana i Offer, 1990.; Erasmus i sur., 1992.). Posljedične promjene u fermentaciji dovode do povećane količine octene kiseline koja je glavna preteča za stvaranje mliječne masti (Huhtanen, 1991.). Druga bitna preteča za sintezu mliječne masti je maslačna kiselina koja je također ponekad povišena nakon dodatka *S. cerevisiae* u obrok (Corona i sur., 1999.). Upravo porast nižih masnih kiselina, prvenstveno octene i maslačne, glavni je razlog za porast mliječne masti nakon tretmana kvascem (Giger-Reverdin i sur., 1996.). Međutim, poznavajući koliko su razine nižih masnih kiselina varijabilan čimbenik u hranidbi preživača, koja je

pod utjecajem velikog broja nutritivnih i nenutritivnih čimbenika, jasno je kako će i utjecaj kvasca na kemijski sastav mlijeka biti vrlo varijabilan i teško predvidljiv.

Kvasac vrlo rijetko utječe na razinu bjelančevina u mlijeku malih preživača (Hadjipanayiotou i sur., 1997.; Salama i sur., 2002.; Sara i sur., 2003.; Stella i sur., 2007.; Mašek i sur., 2008.a; Mašek i sur., 2008.b). Izuzetak su minimalna povećanja (Reklewska i sur., 2000.) ili smanjenja (Abd El-Ghani, 2004.). Vrlo slično je i s razinom laktoze na koju kvasac uglavnom ne utječe (Giger-Reverdin i sur., 1996.; Mašek i sur., 2005.; Stella i sur., 2007.; Mašek i sur., 2008.a; Mašek i sur., 2008.b).

Tovne karakteristike

Unos se suhe tvari hrane uglavnom ne poboljšava nakon primjene kvasca kod tovnje janjadi (Adams i sur., 1981.; Haddad i sur., 2005.; Mašek i sur., 2007.a; Kawas i sur., 2007.a; Kawas i sur., 2007.b) i jaradi (Titi i sur., 2008.). Izostalo poboljšanje vjerojatno je posljedica kemijskog sastava obroka, bilo velikih količina sirove bjelančevine (Kawas i sur., 2007.a) bilo velikih količina nestrukturiranih ugljikohidrata (Mašek i sur., 2007.a). Osim ovih objašnjenja bitno je napomenuti kako tovnje životinje i inače imaju vrlo visoke unose hrane tako da su značajna povišenja i inače malo vjerojatna.

Nasuprot unosu hrane utjecaj kvasca na karakteristike rasta je znatno veći. Dio autora je pronašao povećanje prosječnih dnevnih prirasta, konverzije hrane i završnih težina kod janjadi (Had-

dad i sur., 2005.; Mašek i sur., 2007.a; Abdelrahman i Hunaiti, 2008.) dok je povećanje kod ostalih autora izostalo kod janjadi (Kawas i sur., 2007.a; Titi i sur., 2008.) i jaradi (Titi i sur., 2008.). U slučajevima pozitivnog utjecaja kvasca na tovrne karakteristike utvrđen je bitan utjecaj barem dva čimbenika. Haddad i sur. (2005.) zapazili su znatan utjecaj doze priprema tako da je pozitivan učinak nestao nakon povećanja doze od 3 g na dan na dozu od 6 g na dan po životinji dnevno. Drugi čimbenik je obrada žitarica tako da su Mašek i sur. (2007.a) primijetili pozitivan učinak kvasca samo kod obroka koji je imao samljevene žitarice za razliku od obroka s dijelom cijelih žitarica. Najvjerojatniji uzrok tome je činjenica da obroci s dijelom cijelih žitarica dovode do povećane salivacije i bolje puferske aktivnosti u buragu (Kawas i sur., 2007.a; Kawas i sur., 2007.b). Zbog ovih činjenica, postavlja se pitanje ekonomske opravdanosti kvasca u tovu malih preživaca, ako se isti učinak može postići obradom žitarica (Kawas i sur., 2007.b). Slično kao i kod krava i junadi i kod malih preživaca primjećuje se trend razvijanja kombiniranih priprema kvasca s nekom drugom dodatnom tvari. Najčešće se radi o raznim kombinacijama *Saccharomyces cerevisiae* s drugim mikroorganizmima, enzimima ili aminokiselinama. Jedno takvo istraživanje proveli su Abdelrahman i Hunaiti (2008.) s pripremom koji je sadržavao *S. cerevisiae* i metionin. Rezultati pokusa su pokazali značajno poboljšanje tovrnih karakteristika, ali prema eksperimentalnom dizajnu nemoguće je utvrditi jesu li rezultati posljedica sinergističkog ili

pojedinačnog učinka. Dodavanje kvasca u obrok, uglavnom, ne utječe na randman i kemijski sastav mesa tovrne janjadi (Kawas i sur., 2007.; Mašek i sur., 2007.a) i jaradi (Titi i sur., 2008.). Izuzetak je rad Titi i sur. (2008.) koji su kod janjadi ustvrdili smanjeni randman zbog povećane težine praznog probavnog sustava. Isti autori su ustvrdili i razlike u sastavu mesa koje su bile vidljive kao povećana količina masti i smanjena bjelancevine kao i smanjeni omjer mesa prema kostima.

Zaključci

Istraživanja uporabe kvasca kao probiotika u hranidbi preživaca izrazito su varijabilna. Uzrok vjerojatno leži u različitoj efikasnosti pojedinih sojeva, dozama, sastavu obroka, ali i nehranidbenim čimbenicima poput: vrste proizvodnje, životinjske vrste, razdoblja laktacije ili tova. Bitni uvjeti za uspjeh primjene kvasca u hranidbi malih preživaca su istraživanja interakcije obroka i kvasca koja će omogućiti predviđanje hranidbenih okolnosti u kojima će pojedini sojevi i pripravci imati pozitivan učinak.

Sažetak

Poznavanje mehanizma djelovanja kvasca kao probiotika u hranidbi preživaca u posljednjih dvadesetak godina znatno je napredovalo. Rezultat toga je stvaranje velikog broja komercijalnih priprema baziranih na živim kulturama ili živim stanicama kvasca. Unatoč velikom broju istraživanja, koja

su potvrdila poboljšanje proizvodnosti preživača nakon tretmana kvascem, rezultati su vrlo varijabilni i teško predvidivi. Glavni uzroci proizlaze iz različite djelotvornosti pripravaka, ali i velikog broja čimbenika o kojima ovisi ekosustav buraga, a time i probava preživača. U istraživanjima na kravama i junadi poduzeti su znatni naponi kako bi se objasnila ova varijabilnost i jasnije definirale hranidbene situacije u kojima je pojedini pripravak djelotvoran. Primjena kvasca kao probiotika u obrocima za male preživače do sada nije sustavno obrađena zbog i inače znatno manje zastupljenosti u znanstvenim radovima. Ovaj rad će istražiti trenutačno poznate mehanizme djelovanja kvasca kao i njihovo međudjelovanje te razinu utjecaja na proizvodnost malih preživača.

Literatura

1. ABD EL-GHANI, A. A. (2004): Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. *Small Rumin. Res.* 52, 223-229.
2. ABDELRAHMAN, M. M. and D. A. HUNAITI (2008): The effect of dietary yeast and protected methionine on performance and trace minerals status of growing Awassi lambs. *Livest. Sci.* 115, 235-241.
3. ADAMS, A. L., B. HARRIS, H. H. VANHORN and C. J. WILCOX (1995): Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow and yeast. *J. Dairy Sci.* 78, 573-581.
4. ADAMS, D. C., M. L. GALYEAN, H. E. KIESLING, J. D. WALLACE and M. D. FINKNER (1981): Influence of viable yeast culture, sodium bicarbonate and monensin on liquid dilution rate, rumen fermentation and feedlot performance on growing steers and digestibility in lambs. *J. Anim. Sci.* 53, 780-789.
5. ANDRIGHETTO, I., L. BAILONI, G. COZZI and P. BERZAGHI (1993): Effects of yeast culture addition on digestion in sheep fed a high concentrate diet. *Small Rumin. Res.* 12, 27-34.
6. ANGELES, S. C. C., G. D. M. Mendoza, M. A. P. COBOS, M. M. G. CROSBY and F. A. P. CASTREJON (1998): Comparison of two commercial yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion in sheep fed on corn-stover diet. *Small Rumin. Res.* 31, 45-50.
7. CALLAWAY, E. S. and S. A. MARTIN (1997): Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80, 2035-2044.
8. CANNAS, A. (2004): Feeding lactating ewes. In: Pulina, G.: *Dairy sheep nutrition*. CABI Publishing. (79-108).
9. CARRO, M. D., P. LEBZIEN and K. ROHR (1992): Influence of yeast culture on the in vitro fermentation (Rusitec) of diets containing variable portions of concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 37, 209-220.
10. CARTER, H. E. and G. E. PHILLIPS (1944): The nutritive value of yeast proteins. *Fed. Proc.* 3, 123-128.
11. CHADEMANA, I. and N. W. OFFER (1990): The effect of dietary inclusion of yeast culture on digestion in the sheep. *Anim. Prod.* 50, 483-489.
12. CHAUCHEYRAS, F., G. FONTY, G. BERTIN and P. GOUET (1995): Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis*. *Curr. Microbiol.* 31, 201-205.
13. CHAUCHEYRAS, F., G. FONTY, G. BERTIN, J. M. SALMON and P. GOUET (1996): Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC1), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can. J. Microbiol.* 42, 927-933.
14. CHAUCHEYRAS-DURAND F. and G. FONTY (2002): Influence of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077) on

- microbial colonization and fermentations in the rumen of new-born lambs. *Microb. Ecol. Health Dis.* 14, 30–36.
15. CORONA, L., G. D. MENDOZA, F. A. CASTREJON, M. M. CROSBY and M. A. COBOS (1999): Evaluation of two yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion in sheep fed a corn stover diet. *Small Rumin. Res.* 31, 209–214.
 16. DAWSON, K. A. (2000): Some milestone in our understanding of yeast culture supplementation in ruminants and their implications in animal production systems. In: Lyons, T. P., K. A. Jacques: *Proceedings of Alltech's 16th annual symposium* Nicholasville, Kentucky.
 17. DOREAU, M. and J. P. JOUANY (1998): Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* on Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy. Sci.* 81, 3214–3221.
 18. ECKLES, C. H. and V. M. WILLIAMS (1925): Yeasts as a supplementary feed for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 8, 89–93.
 19. EL HASSAN, S. M., C. J. NEWBOLD and R. J. WALLACE (1994): The effect of yeast culture addition to diets of grass and grass silage on rumen bacterial numbers. *Anim. Prod.* 58, 451–452.
 20. ENJALBERT, F., J. E. GARRETT, R. MONCOULON, C. BAYOURTHE and P. CHICOTEAU (1999): Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 195–206.
 21. ERASMUS, L. J., P. M. BOTHA and A. KISTNER (1992): Effect of yeast culture supplementation on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75, 3056–3065.
 22. FLACHOWSKY G., K. TIROKE and M. MATTHEY (1992): Influence of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* as Yea-Sacc or Levaferm) on in Sacco dry matter degradability and ruminal parameters of variously fed small ruminants. *Arch. Tierernahr.* 42, 159–69.
 23. FULLER, R. (1989): A review: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 365–378.
 24. GARCÍA, C. C. G., M. G. D. MENDOZA, M. S. GONZÁLEZ, P. M. COBOS, C. M. E. ORTEGA and L. R. RAMÍREZ (2000): Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83, 165–170.
 25. GIGER-REVERDIN, S., D. SAUVANT, J. TESSIER, G. BERTIN and P. MORAND-FEHR (2004): Effect of live yeast culture supplementation on rumen fermentation in lactating dairy goats. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34, 59–60.
 26. GIGER-REVERDIN, S., N. BEZAULT, D. SAUVANT and G. BERTIN (1996): Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63, 149–162.
 27. GODFREY S. I., M. D. BOYCE, J. B. ROWE and E. J. SPEIJERS (1993): Changes within the digestive tract of sheep following engorgement with barley. *Austral. J. Agri. Res.* 44, 1093–1101.
 28. GÜNTHER, K. D. (1989): Yeast cultures succeed under German dairy conditions. In: LYONS, T. P.: *Biotechnology in the feed industry*. Alltech technical publications. Nicholasville. Kentucky. (39–46).
 29. HADDAD, S. G. and S. N. GOUSSOUS (2005): Effects of yeast culture supplementation on nutrient intake digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 118, 343–348.
 30. HADJIPANAYIOTOU, M., I. ANTONIOU and A. PHOTIOU (1997): Effects of the inclusion of yeast culture on the performance of dairy ewes and goats and the degradation of feedstuffs, *Livest. Prod. Sci.* 48, 129–134.
 31. HARRIS, B. and R. LOBO (1988): Feeding yeast culture to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 276–279.
 32. HIGGINBOTHAM, G. E., C. A. COLLAR, M. S. ASELTINE and D. L. BATH (1994): Effect of Yeast Culture and *Aspergillus oryzae* Extract on Milk Yield In a Commercial Dairy Herd. *J. Dairy Sci.* 77, 343–348.
 33. HUHTANEN, P. (1991): Effects of yeast

- culture supplement on digestion of nutrients and rumen fermentation in cattle fed on a grass silage barley diet. J. Agric. Sci. 64, 443-453.
34. JOUANY, J. P. (1999): Twenty years of research into yeast culture, now a standard in ruminant diets around the World. In: Lyons, T. P., K. A. Jacques: Proceedings of Alltech's 15th annual symposium. Nicholasville, Kentucky.
35. JOUANY, J. P., F. MATHIEU, J. SENAUD, J. BOHATIER, G. BERTIN and M. MERCIER (1998): The effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on the digestion of the cell wall fraction of a mixed diet in defaunated and refaunated sheep rumen. Reprod. Nutr. Dev. 38, 401-416.
36. JOUANY, J. P., F. MATHIEU, J. SENAUD, J. BOHATIER, G. BERTIN and M. MERCIER (1999a): Influence of protozoa and fungal additives on ruminal pH and redox potential. S. Afr. J. Anim. Sci. 29, 64-66.
37. JOUANY, J. P., F. MATHIEU, J. SENAUD, J. BOHATIER, G. BERTIN and M. MERCIER (1999b): Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on the population of rumen microbes and their polysaccharide activities. S. Afr. J. Anim. Sci. 29, 63-64.
38. JOUANY, J. P., G. FONTY, B. LASSALAS, J. DORE and P. GOUET (1991): Effects of live yeast cultures on feed degradation in the rumen as assessed by in vitro measurements. 21st Biennial conference on rumen fermentation, Chicago.
39. KAWAS, J. R., R. GARCÍA-CASTILLO, F. GARZA-CAZARES, H. FIMBRES-DURAZO, E. OLIVARES-SÁENZ, G. HERNÁNDEZ-VIDAL and C. D. LU (2007b): Effects of sodium bicarbonate and yeast on productive performance and carcass characteristics of light-weight lambs fed finishing diets. Small Rumin. Res. 67, 157-163.
40. KAWAS, J. R., R. GARCÍA-CASTILLO, H. FIMBRES-DURAZO, F. GARZA-CAZARES, J. F. G. HERNÁNDEZ-VIDAL, E. OLIVARES-SÁENZ and C. D. LU (2007a): Effects of sodium bicarbonate and yeast on nutrient intake, digestibility, and ruminal fermentation of light-weight lambs fed finishing diets. Small Rumin. Res. 67, 149-156.
41. KELLEMS, R. O., A. LAGERSTEDT and M. V. WALLENTINE (1990): Effect of feeding *Aspergillus oryzae* fermentation extract or *Aspergillus oryzae* plus yeast culture plus mineral and vitamin supplement on performance of Holstein cows during a complete lactation. J. Dairy Sci. 73, 2922-2928.
42. KOUL, V., U. KUMAR, V. K. SAREEN and S. SINGH (1998): Mode of action of yeast culture. (Yea-Sacc 1026) for stimulation of rumen fermentation in buffalo calves. J. Sci. Food Agric. 77, 407-413.
43. KUNG, L., E. M. KRECK, R. S. TUNG, A. O. HESSON, A. C. SHEPERD, M. A. COHEN, H. E. SWAIN and J. A. Z. LEEDLE (1997): Effects of a Live Yeast Culture and Enzymes on In Vitro Ruminant Fermentation and Milk Production of Dairy Cows. J. Dairy Sci. 80, 2045-205.
44. LYONS, P. (1994): Out of the black box. Feed Manage.
45. LYNCH, H. A. and S. A. MARTIN (2002): Effects of *Saccharomyces cerevisiae* Culture and *Saccharomyces cerevisiae* Live Cells on In Vitro Mixed Ruminant Microorganism Fermentation. J. Dairy Sci. 85, 2603-2608.
46. MAROUNEK, M. and R. J. WALLACE (1984): Influence of a commercial yeast supplement on the in vitro ruminal fermentation. Nutr. Rep. Inter. 40, 395-402.
47. MARTIN, S. A. and D. J. NISBET (1992): Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 75, 1736-1744.
48. MARTIN, S. A. and M. N. STREETER (1995): Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. J. Anim. Sci. 73, 2141-2145.
49. MAŠEK, T., Ž. MIKULEC, H. VALPOTIĆ, L. KUŠĆE, N. MIKULEC, E. STRAKOVA, V. ŠERMAN and N. MAS (2005): Effects of live yeast cells on production results of Croatian crossbred dairy sheep (preliminary results). VI. Kabrtovy dieteticke dny. Brno, 105-110.

50. MAŠEK, T., Ž. MIKULEC, H. VALPOTIĆ, S. PAHOVIĆ, B. STIPETIĆ i D. PERKIĆ (2007a): Utjecaj kulture kvasca (*saccharomyces cerevisiae*) na proizvodne rezultate janjadi u tovu hranjene obrokom s mljevenim ili cijelim žitaricama. *Krmiva*. 4, 179-187.
51. MAŠEK, T., Ž. MIKULEC, H. VALPOTIĆ, N. MIKULEC, N. ANTUNAC, S. PAHOVIĆ, L. KUŠĆE, B. STIPETIĆ, D. KUŠIĆ i D. PERKIĆ. (2007b): Upotreba živih kultura i stanica kvasca u hranidbi mliječnih ovaca i tovnje janjadi: pregled trogodišnjih istraživanja. *Zbornik sažetaka, Veterinarska znanost i struka*. Zagreb, 25-26.
52. MAŠEK, T., Ž. MIKULEC, H. VALPOTIĆ, N. ANTUNAC, N. MIKULEC, Z. STOJEVIĆ, N. FILIPOVIĆ and S. PAHOVIĆ (2008a): The Influence of Live Yeast Culture (*Saccharomyces Cerevisiae*) On Milk Production and Composition, and Blood Biochemistry of Grazing Dairy Ewes during the Milking Period. *Acta Vet. Brno*. In Press.
53. MAŠEK, T., Ž. MIKULEC, H. VALPOTIĆ, L. KUŠĆE, N. MIKULEC and N. ANTUNAC (2008b): The influence of live yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) on the performance of grazing dairy sheep in late lactation. *Vet. Arh*. 2, 95-104.
54. MIRANDA, R. L. A., M. G. D. MENDOZA, J. R. BARCENA-GAMA, M. S. S. GONZALEZ, R. FERRARA, C. M. E. ORTEGA and P. M. A. COBOS (1996): Effect of *Saccharomyces cerevisiae* or *Aspergillus oryzae* cultures and NDF level on parameters of ruminal fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63, 289-296.
55. NEWBOLD, C. J. (1995): Microbial feed additives for ruminants. In: Wallace R. J., Chesson: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. VCH. New York. (259-278).
56. NEWBOLD, C. J. (1996): Probiotics for ruminants. *Ann. Zootech.* 45, 329-335.
57. NEWBOLD, C. J., R. J. WALLACE, X. B. CHEN and F. M. MCINTOSH (1995): Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* Differ in Their Effects on Ruminal Bacterial Numbers in Vitro and in Sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1811-1818.
58. NISBET, D. J. and S. A. MARTIN (1990): Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 3515-3518.
59. NISBET, D. J. and S. A. MARTIN (1993): Effects of fumarate, L-malate, and an *Aspergillus oryzae* fermentation extract on D-lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Curr. Microbiol.* 26, 133-136.
60. PANCHAL, C. J., I. RUSSEL, A. M. SILLS and G. G. STEWART (1984): Genetic manipulation of brewing and related yeast strains. *Food Technol.* 38, 99-111.
61. PIVA, G., S. BELLADONNA, G. FUSCONI and F. SICBALDI (1993): Effects of Yeast on Dairy Cow Performance, Ruminal Fermentation, Blood Components, and Milk Manufacturing Properties. *J. Dairy Sci.* 76, 2717-2722.
62. PLATA, F. P., G. D. MENDOZA, M. J. R. BARCENA-GAMA and M. S. GONZALEZ (1994): Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49, 203-210.
63. QUINONEZ, J. A., L. A. BUSH, T. NALSEN and G. D. ADAMS (1988): Effects of yeast culture on intake and production of dairy cows fed high wheat rations. *J. Dairy Sci.* 71, 275. (Abstract).
64. REKLEWSKA, B., Z. RYNIIEWICK, J. KRZYZEWSKI, A. KARASZEWSKA, M. GORALCZYK, K. ZDZIARSKI, T. NALECZ-TARWACKA and N. STRZALKOWSKA (2000): Dietary manipulation of milk protein content in goats, *Ann. Warsaw Agric. Univ. Agric.* 35, 133-143.
65. RENZ, F. (1954): Milk production with the active yeast concentrate „Astrol“. *Zuchtungskunde*. 26, 228-234.
66. ROA, V. M. L., J. R. BARCENA-GAMA, M. S. GONZALEZ MENDOZA, C. M. E. ORTEGA and B. C. GARCIA (1997): Effect of fiber source and a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*1026) on digestion and the environment in the rumen of cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 64, 327-336.

67. ROBINSON, P. H. and J. E. GARRETT (1999): Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to post partum diets and on lactational performance. *J. Anim. Sci.* 77, 988-999.
68. ROGER, V., G. FONTY, G. KOMSAR-ZUCK-BONY and P. GOUET (1990): Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose (Avicel) of the ruminal bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 3081-3087.
69. ROMERO, R. and J. GOMEZ-BASAU-RI (2003): Yeast and yeast products, past, present and future: from flavors to nutrition and health. In: Lyons, T. P., K. A. Jacques: Proceedings of Alltech's 19th annual symposium. Nicholasville, Kentucky. USA, 23-34.
70. ROSE, A. H. (1987): Yeast culture. A microorganism for all species: A theoretical look at its mode of action. In: Lyons, T. P., K. A. Jacques: Biotechnology in the feed industry. Alltech technical publications. Nicholasville. Kentucky. USA, 113-118.
71. SALAMA, A. A. K., G. CAJA, D. GARIN, E. ALBANELL, X. SUCH and R. CASALS (2002): Effects of adding a mixture of malate and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on milk production of Murciano-Granadina dairy goats. *Anim. Res.* 51, 295-303.
72. SARA, A., V. CIGHI, A. ODAGIU and C. SICHET (2003): YEA-SACC 1026 response in sheep: milk production and lamb performance to weaning. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Romania.
73. STELLA, A. V., R. PARATTE, L. VALNEGRI, G. CIGALINO, G. SONCINI, E. CHEVAUXDELL, V. ORTO and G. SAVOINI (2007): Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, milk composition, blood metabolites, and faecal flora in early lactating dairy goats. *Small Rumin. Res.* 67, 7-13.
74. TITI, H. H., R. O. DMOUR and A. Y. ABDULLAH (2008): Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs and Shami goat kids fed yeast culture in their finishing diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 142, 33-43.
75. WALLACE, R. J. and C. J. NEWBOLD, (1992): Probiotics for ruminants. In: Fuller, R.: Probiotics: The scientific basis. Chapman and Hall. London (317-353).
76. WALLACE, R. J. and C. J. NEWBOLD, (1993): Rumen fermentation and its manipulation. The development of yeast cultures as feed additives. Probiotics for ruminants. In: Lyons, T. P., K. A. Jacques: Biotechnology in the feed industry. Alltech technical publications. Nicholasville. Kentucky. USA, 173-192.
77. WILLIAMS, P. E. V. (1988): The action of yeast cultures in the rumen. *Feed Compounder* 8, 14-15.
78. WILLIAMS, P. E. V., C. A. G., TAIT, G. M. INNES and C. J. Newbold (1991): Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. *J. Anim. Sci.* 69, 3016-3026.
79. WILLIAMS, P. E. and C. J. NEWBOLD (1990): Rumen probiosis: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: Haresign W., D. J. A. Cole: Recent advances in animal nutrition. Butterworths. London (211-212).
80. ZELENAK, I., V. JALČ, V. KMET and P. SIROKA (1994): Influence of diet and yeast supplement on in vitro ruminal characteristic. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49, 211-221.

Yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) as a Probiotic in Small Ruminant Nutrition

Tomislav MAŠEK, DVM, Ph.D., senior assistant; Željko MIKULEC, DVM, Ph.D., associate professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb

Understanding of yeast as a probiotic in ruminant nutrition advanced during the last twenty years. The result is development of a large number of commercial products that are based on live yeast cultures or live yeast cells. Despite large number of trials that confirmed the improved productivity of ruminants after yeast treatment, results are very variable and difficult to predict. The basic reasons are differences in product efficiency and a large number of factors that influence rumen ecosystem and consequently ruminant

digestion. Intense research efforts have been conducted on cattle to clarify the variability as well as to define dietary situations in which certain product is effective. The yeast as a supplement for small ruminants was not systematically described because of lower representation in scientific investigations. This paper will examine currently known modes of action of yeast and their interactions as well as the level of influence on production results of small ruminants.

NEURED OVNI DIO

J. G. U Čakovcu, dne 3. siečnja 1860.

... Prigodom ove godine u Varaždinu dèržanom nagrađivanju posiednikah izvèrstnih kobilah osim jedne ili dvie sve nagrade dobiše Medjumurci, dakle zašto ona vika, neka se takovo nagrađivanje u Čakovcu nedèrži, a ipak je to mjesto sredotočje za Medjumurje i već s početka u tu svèrhu po vladi opredieljeno. Poznam seljanina, kog uplaši šestkratna maltovina, koju bi platiti imao, i toga radi volio je ostat kod kuće nego li tolik provalit put i to je uzrok, da se iz kotara štrigovskoga, gdje ipak najizvèrstnijih konjah imade, nijedan za nagradu natjecao nije.

„Carsko-kr. službene narodne novine“ (Zagreb), 7, 19, 1860 (god. 26) (10. siečnja 1860.).

Ecoacid® S

SIGURAN I DJELOTVORAN

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



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

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



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

Detajnije informacije možete dobiti od firme:

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 70 739, E-mail: krka-farma@zcg.hinet.hr, www.krka-farma.hr

za uporabu u veterini

pomoć za optimalnu probavu

Home
Vet

Prodigest® forte

prašak za peroralnu suspenziju



- sprječava i liječi acidozu buraga
- potiče razvoj i obnovu mikroflore u buragu
- sadržava nikotinamid koji poboljšava mliječnost i smanjuje opasnost od pojave ketoze
- primjeren za dopunsko liječenje indigestija pri ketozi, puerperalnoj parezi ili recidivirajućem nadmu junadi u tovu



Sastav: Magnezijev karbonat, nikotinamid (vit. B₃), suhi kvasac i sirutka u prahu. **Kontraindikacije:** Nisu poznate. **Nuspojave:** Nisu poznate. **Način izdavanja:** Bez recepta. **Način čuvanja:** Na suhom mjestu, pri sobnoj temperaturi (do 25° C) i izvan dosega djece. **Oprema:** Troslojne vrećice sa 200 g praška.

Prije uporabe pažljivo pročitajte uputu!



*Naša inovativnost i znanje
za djelotvorne i neškodljive
proizvode vrhunske kakvoće.*

Detaljnije informacije možete dobiti od firme:

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-farma.hr

Perianalna fistula u pasa

Dražen Vnuk, Ladislav Korenj i Valentina Gusak



Uvod

Perianalna fistula (analna furunkuloza, perianalni sinus) kronična je progresivna bolest praćena ulceracijama i fistularnim kanalima na koži oko anusa. Fistularni kanali mogu se širiti od kože prema potkožju, analnim vrećicama pa se čak mogu otvarati i u rektum. Bolest se najčešće uočava u njemačkih ovčara te u drugih ovčarskih pasmina pasa, ali je opisana i u irskih setera i labradora. Češće se javlja u životinja starijih od 7 godina. Predispoziciju njemačkih ovčara za nastanak ove bolesti pripisujemo niskom nošenju repa koji ima široku bazu. Bolest se javlja i u muških i u ženskih životinja (Aronsohn, 2002.).

Za nastanak bolesti postoji nekoliko teorija. Infekcija i obstrukcija analnih kripti i sinusa s nastankom mikroapscesa, upala analnih vrećica, upala apokrinih žlijezda, infekcija

dlačnih folikula, fekoliti smješteni u analnim skriptama, hipotireoidizam i imunološki odgovor organizma bitni su u nastanku ove bolesti, ali nijedna teorija nije potvrđena. Životinje s ovom bolesti često imaju problema i s ostalim kožnim bolestima. Analne vrećice u njemačkih ovčara smještene su duboko pa je česta posljedica upale, ruptura analne vrećice i nastanak apscesa. Upalu primarno uočavamo na koži u području izvodnih kanalića analnih vrećica pa se smatra da su analne vrećice sekundarno zahvaćene kod perianalne fistule. Međutim, danas je najzastupljenija teorija da se radi o imunološkom defektu. To dokazuje ekspresija mRNA za citokine u oboljelih pasa, a također su ostvareni i dobri rezultati liječenja ove upale započete imunosupresivnim lijekom ciklospori-

Dr. sc. Dražen VNUK, dr. vet. med., docent, Ladislav KORENJ, apsolvent, Valentina GUSAK, dr. vet. med., Veterinarski fakultet Zagreb



Slika 1. Perianalna fistula u njemačkog ovčara

nom (suprimira T-limfocite). Isto tako uočena je povezanost pojavljivanja perianalnih fistula u pasa s kolitisom. Jamieson i sur. (2002.) su u 50% pasa s dijagnosticiranim perianalnim fistulama potvrdili kolitis učinjenom biopsijom kolona.

Vlasnici prvo uočavaju da pas liže anus ili se grize oko njega, otežano defecira, ima sukrvavo gnojno iscjeđak iz okolice anusa, nisko nosi rep, ima proljevastu ili kašastu stolicu ili je stolica pomiješana sa svježom krvi te da nekontrolirano prazne feces. Na pregledu se uočavaju fistularni kanali smješteni dorzolateralno od anusa, ali u uznapređovalim slučajevima anus je potpuno okružen fistularnim kanalima. Diferencijalno dijagnostički potrebno je isključiti fistulu analnih vrećica i rektokutanu fistulu. Fistula analne vrećice pojavljuje se ventrolateralno od anusa, ima pravilne rubove i završava slijepo, a rubovi su joj prekriveni gnojem. Ispiranjem analne vrećice dolazi do cijedenja sadržaja analne vrećice kroz fistulu. Isto tako, liječenjem fistule analne vrećice antibioticima i ispi-

njem analne vrećice najčešće se izazove njeno zatvaranje za razliku od perianalne fistule gdje je liječenje složenije i dugotrajnije. Rektokutana fistula prepoznaje se po fekalnoj inkontinenciji i rubovima prekrivenim fecesom (Aiello, 1998.; Aronsohn, 2002.).

Prilikom digitorektalne pretrage potrebno je životinju sedirati, jer životinja bolno reagira već na podizanje repa. Digitorektalnom pretragom potrebno je utvrditi prisutnost anorektalne stenoze, tonus analnog sfinktera te stanje analnih vrećica i njihovih izvodnih kanala. Kod dugotrajnih perianalnih fistula uočava se anorektalna stenoza jer zbog kronične upale dolazi do nastanka ožiljka u okolici anusa. Često se može uočiti i okolica anusa zaprljana fecesom. To može biti posljedica smanjenog tonusa analnog sfinktera ili nastanka komunikacije fistule s rektumom. Prilikom ispiranja analnih vrećica može se uočiti i nastanak komunikacije kože i analne vrećice ili njenog izvodnog kanala. To vrlo često veterinare uputi u liječenje fistule analne vrećice, a zapravo se radi u sekundarnom uključivanju analne vrećice jer se nalazi u području kronične upale uzrokovane perianalnom fistulom (Hedlund, 1997.).

Liječenje perianalnih fistula u njemačkih ovčara veliki je izazov za veterinare. Bolest nije moguće uvijek izliječiti, ali ju je moguće kontrolirati i usporiti njen razvoj. Liječenje možemo podijeliti na dva dijela. Prvi dio liječenja odnosi se na uklanjanje nekrotičnog tkiva, a drugi dio liječenja na imunosupresivnu terapiju.

Cilj kirurškog liječenja je uklanjanje promijenjenog i nekrotičnog tki-



Slika 2. Perianalna fistula u njemačkog ovčara

va. Pritom se uzorak tkiva šalje na patohistološku pretragu da se isključi mogućnost nastanka neoplazije. Kirurškim liječenjem postiže se uspjeh od 46 do 70%, ali su najčešće komplikacije kirurškog liječenja nastanak analne strikture i fekalne inkontinencije (13 do 29%). Krioterapija i elektrokauterizacija mogu se koristiti pri lakšim slučajevima ove bolesti, a kao komplikacije opisane su nastanak striktura i recidiviranje (Aronsohn, 2002.).

Pod kirurškim liječenjem podrazumijevamo potpuno uklanjanje svih fistularnih kanala u perianalnom području. Analne vrećice i njihovi izvodni kanali vrlo su često sekundarno zahvaćeni ovom bolešću pa je često potrebna bilateralna analna sakulek-

tomija. Oko pojedinog fistularnog kanala učini se kružni rez te se izreže promijenjena koža, potkožje i fascija, a po potrebi i promijenjeni analni sfinkter zahvaćen upalom, nekrozom ili fibrozom koja je dovela do analne strikture. Rana se ispere fiziološkom otopinom. Rekonstrukcija rane radi se monofilamentnom niti debljine 3-0 ili 4-0, šivanjem submukoze rektuma s potkožjem te šivanjem kože sa sluznicom rektuma. Mrtvi prostori pokušaju se rekonstruirati, a ako je to nemoguće postavljaju se drenovi. Ako je prisutna napetost na rubovima rane, moguće je *per secundam* zaraštanje rane. Ako je većina anusa zahvaćena perianalnom fistulom potrebno je učiniti djelomičnu ili potpunu anoplastiku. Kružni rez se radi oko anusa te se uklanjaju promijenjeni dijelovi anusa i analnog sfinktera, a po potrebi i analne vrećice. Nakon uklanjanja nekrotičnog tkiva rana se ispere te se započinje rekonstrukcija. Potkožje se šiva na serozu, mišićnicu i submukozu resorptivnom monofilamentnom niti pojedinačnim čvorastim šavom, a koža na sluznicu rektuma neresorptivnim monofilamentom pojedinačnim čvorastim šavom. Nakon operacijskog zahvata potrebno je osigurati dobru analgeziju. Perineum je potrebno čistiti tri do četiri puta dnevno (Aronsohn, 2002.).

Isto tako, preporuča se visoka amputacija repa samostalno ili u kombinaciji s kirurškom resekcijom nekrotičnog tkiva. Amputacijom repa poboljšava se ventilacija perianalnog područja, mjenja se lokalna mikroklima i smanjuje fekalna kontaminacija. Rep se amputira u visini drugog ili

trećeg repnog kralješka. Uspješnost ove metode je od 60 do 80%, iako se na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju u Zagrebu niti jedan vlasnik njemačkog ovčara nije odlučio za visoku amputaciju repa.

Imunosupresijsko liječenje perianalnih fistula koristi se već oko 10 godina. Danas je ono najčešće korišteno u liječenju perianalne fistule u pasa. Uspješnost liječenja je od 54 do 85% što je slično kao i kod kirurškog liječenja, ali za razliku od kirurškog liječenja nije uočen nastanak striktura ili fekalne inkontinencije. Liječenje traje od 4 do 18 tjedana i poprilično je skupo. Od imunosupresiva lijek izbora je ciklosporin najviše korišten u humanoj medicini nakon transplantacija organa za sprječavanje reakcije odbacivanja organa, a također i u liječenju nekih autoimunih bolesti. Već nakon dva tjedna liječenja ciklosporinom može se uočiti poboljšanje, a potrebno je najmanje 8 tjedana liječenja da bi došlo do potpunog nestanka perianalnih fistula. Preporuča se ciklosporin davati skupa s ketokonazolom jer oba lijeka razgrađuje citokrom P-450 u jetri pa se davanjem ketokonazola doza ciklosporina može smanjiti i do 70%. Preporučena doza ciklosporina je 1 mg/kg svakih 12 sati, a ketokonazola 5 mg/kg također svakih 12 sati. Oba lijeka daju se peroralno. Ako se ciklosporin daje samostalno njegova je doza 2-4 mg/kg svakih 12 sati. Resorpcija ciklosporina različita je u pojedinim pasa pa je stoga potrebno odrediti koncentraciju ciklosporina u krvi nekoliko dana nakon početka liječenja. Hardie i sur. (2005.) koristili su za liječenje perianalnih fistula cik-

losporin u dozi 4 mg/kg PO svakih 12 sati. 69% pasa potpuno su izliječeni i nije bilo potrebno dodatno kirurško liječenje. Liječenje je prosječno trajalo 8,8 tjedana. U 58% pasa uočeni su nuzučinci liječenja ciklosporinom (proljevanje, otpadanje dlake, povraćanje, letargija, hromost i agresivnost). Međutim, u 35% pasa uočen je recidiv čak i u pasa u kojih je došlo do potpunog zatvaranja perianalnih fistula nakon liječenja ciklosporinom.

Dugotrajno liječenje kortikosteroidima nema prednosti pred dugotrajnim liječenjem ciklosporinom. Isto tako se za liječenje perianalnih fistula može koristiti i kombinacija azatioprina i metronidazola. Azatioprin se daje u dozi 50 mg po psu, a metronidazol u dozi 400 mg po psu. Oba lijeka daju se peroralno jedanput dnevno. Azatioprin izaziva puno jaču imunosupresiju od ciklosporina smanjujući i staničnu i humoralnu imunost. Metronidazol djeluje kao imunomodulator i sprečava rast anaerobnih bakterija u perianalnom području. Ova kombinacija manje je učinkovita od kombinacije ciklosporina i ketokonazola, ali je jeftinija. Isto tako se može koristiti da smanji veličinu perianalne fistule i tako olakša mogućnost izvođenja operacijskog zahvata (Tisdall i sur., 1999.).

Veterinari za liječenje perianalnih fistula vrlo često koriste antibiotike, kortikosteroide te antiseptične otopine. Međutim, ovakvim liječenjem možemo samo ublažiti simptome bolesti, ali je ne možemo izliječiti.

Najbolji rezultati postižu se kombinacijom imunosupresijskog i kirurškog liječenja. Klein i sur. (2006.) potpuno su

izliječili 21 od 25 pasa koje su prethodno liječili imunosupresijskom terapijom (ciklosporin, ciklosporin i ketokonazol, azatioprin i prednizolon), a nakon toga su izrezali preostalo tkivo perianalne fistule. U četiri psa u kojih je uočen recidiv perianalne fistule nije potpuno obrezano tkivo perianalne fistule.

Liječenje ove bolesti dugotrajno je i komplicirano. Stoga je potrebno razgovarati s vlasnicima životinje prije početka liječenja, upozoriti ih na moguće komplikacije liječenja te na cijenu koštanja liječenja. Budući da je recidiviranje vrlo često i u pojedinim slučajevima ni nakon ponovljenog liječenja ne može doći do izlječenja te pas trpi jake bolove u području anusa, vlasnici se ponekad odlučuju za eutanaziju psa.

Sažetak

Perianalna fistula kronična je progresivna bolest koja se najčešće uočava u njemačkih ovčara. U etiologiji bolesti smatra se da bitnu ulogu imaju autoimunosne reakcije. Bolest se dijagnosticira kliničkim pregledom i uočavanjem brojnih fistularnih kanala u okolici anusa. Liječenje bolesti sastoji se od konzervativnog ili kirurškog liječenja. Konzervativno liječenje sastoji se od primjene imunosupresiva (najčešće ciklosporina), ali je dugotrajno i skupo, a uspješnost ovakvog liječenja je 54 do 85%. Kirurško liječenje sastoji se od uklanjanja promijenjenog tkiva fistule i po potrebi analne sakulektomije. Uspješnost kirurškog liječenja je 46 do 70%, a nedostaci su mogućnost nastanka fekalne inkontinencije te

nastanak strikture. U novije vrijeme preporuča se kombiniranje konzervativnog i kirurškog liječenja pri čemu se uspješnost povećava iznad 80%.

Literatura

1. AIELLO, S. E. (1998): Rectum and anus. The Merck veterinary manual. 8th ed., Merck & co., inc., New Jersey, pp. 147-152.
2. ARONSON, L. (2002): Rectum and Anus. In: Textbook of Small Animal Surgery, third edition (Slatter, D.H., ured.). Saunders, Philadelphia, pp. 682-708.
3. HARDIE, R. J., S. P. GREGORY, J. TOMLIN, C. STURGEON, V. LIPSCOMB and J. LADLOW (2005): Cyclosporine treatment of anal furunculosis in 26 dogs. Journal of small animal practice 46 (1), 3-9.
4. HEDLUND, C. S. (1997): Surgery of the perineum, rectum and anus. In: Small animal surgerys (Fossum et al., eds.), Mosby, St. Louis, pp. 335-366.
5. JAMIESON, P. M., J. W. SIMPSON, B. M. KIRBYAND and R. W. ELSE (2002): Association between anal furunculosis and colitis in the dog: preliminary observations. Journal of small animal practice 43 (3), 109-114.
6. KLEIN, A., A. DENEUCHE, P. FAYOLLE, A. HIDALGO, S. SCOTTI, L. ZILBERSTEIN, C. DESBOIS, D. TESSIER, P. MOISSONNIER and V. VIATEAU (2006): Preoperative Immunosuppressive Therapy and surgery as a treatment for Anal Furunculosis. Veterinary Surgery 35 (8), 759-768.
7. TISDALL, P. L. C., G. B. HUNT, J. A. BECK and R. MALIK (1999): Management of perianal fistulae in five dogs using azathioprine and metronidazole prior to surgery. Australian Veterinary Journal 77 (6), 374-378.

Canine perianal fistula

Dražen VNUK, DVM, Ph.D., Assistant Professor; Ladislav KORENJ, Diploma Candidate; Valentina GUSAK, DVM, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb

Perianal fistula is a chronic progressive disease most frequently observed in German Sheppard dogs. In disease etiology, it is deemed that a significant role is held by autoimmune reactions. The disease is diagnosed by a clinical examination and observation of numerous fistular channels surrounding the anus. Therapy consists of conservative or surgical treatment. Conservative treatment consists of administration of immunosuppressives (most frequently

cyclosporine) but it takes time and is expensive, and its success ratio is 54 to 85%. Surgical treatment consists of removal of modified fistula tissue and anal saccullectomy where required. Surgical treatment has 46 to 70% success ratio and its drawbacks are possible fecal incontinence and stricture. Recently, combination of conservative and surgical treatment is recommended, with success ratio exceeding 80%.

RIJEŠENO JE PITANJE GRADNJE PERADARNICE NA OPATOVINI

Javili smo već, da de se u Zagrebu doskora pristtnpiti izgradnji peradarnice na Opatovini, da bi se tako spriječile nehigijenske prodavanje peradi u Zagrebu. S time u vezi raspisuje gradsko poglavarstvo jeftimbu za izdavanje tesarskih, limarskib, pokrifeačkih i Ubilačkih radova. Jeftimbena rasprava održat de se putem pismenih ponuda.

Poduzetnici koji bi htjeli uzeti izvedbe navedenih radova, imadu vlastoručno potpisane, po zakonu o taksama biljegovane i valjano zapečaćene ponude predati lično ili po zamjeniku dana 8, lipnje Gradskom poglavarstvu i III. katu soba br. 111.

“Hrvatski dnevnik” (Zagreb), 13, 7, 1936 (god. I) (6. lipnja 1936.).

Citometrijska analiza udjela subpopulacija leukocita periferne krvi odojaka velikog jorkšira

Anamaria Ekert Kabalin, T. Balenović, Maja Popović,
I. Valpotić, Ž. Pavičić i D. Kezić



Uvod

Primjena protočne citometrije (engl. *flow cytometry*) ima sve veću važnost u suvremenoj veterinarskoj medicini. Danas se ona uglavnom koristi u hematologiji i imunologiji, iako je njena primjena mnogo šira: molekularna genetika, citogenetika, biokemija, interna medicina, mikrobiologija, patologija, toksikologija. Glavna područja primjene ove metode u suvremenoj hematologiji uglavnom se odnose na fenotipske i funkcionalne analize stanica krvi. Tom metodom dobivaju se podatci o relativnom i apsolutnom broju pojedine stanične linije ili subpopulacije u ukupnoj leukocitnoj populaciji. Uvođenjem protočne citometrije u rutinsku analizu diferencijalne krvne slike skratilo bi se vrijeme potrebno za dosadašnje uobičajeno brojanje poje-

dinih subpopulacija na krvnim razmazima. Protočna citometrija predstavlja objektivnu metodu visoke osjetljivosti i velike brzine analize (Pesch i sur., 1997.; van Eden i sur., 1999.; Dorn i sur., 2002.; Ormerod, 2002.; Šiftar i Kardum Paro, 2003.; Popović i Valpotić, 2004.; Popović i sur., 2005.; Batinić i sur., 2006.; Ekert Kabalin i sur., 2008.).

Ukupni broj leukocita visok je kod rođenja, kratko nakon toga opada, a potom raste do oko petog tjedna života (Thorn, 2000.). Stvarni broj stanica je prilično varijabilan. Upcott i sur. (1973.) navode da su neutrofilni granulociti predominantni pri rođenju. Za razliku od limfocita, granulociti se smatraju potpuno funkcionalni kod rođenja (Schwager i Schulze, 1997.). Kratko nakon poroda počinje smanjenje broja

Dr. sc. Anamaria EKERT KABALIN, dr. vet. med., docent, dr. sc. Tomislav BALENOVIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, dr. sc. Maja POPOVIĆ, dr. vet. med., izvanredni profesor, dr. sc. Ivica VALPOTIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, dr. sc. Željko PAVIČIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, Dubravko KEZIĆ, dr. vet. med., znanstveni novak, Veterinarski fakultet, Zagreb

neutrofilnih granulocita, a raste broj limfocita, što rezultira promjenom udjela neutrofila i limfocita. Kako raste broj limfocita, tako raste i udio funkcionalno zrelih limfocita, tako da su u dobi od 3 do 4 tjedna zrelost limfocita, udjeli pojedinih subpopulacija leukocita i funkcija slični onima kod odraslih životinja (Schwager i Schulze, 1997.). Udio eozinofilnih granulocita je najniži pri rođenju i počinje rasti rano – već drugi dan života, ili nešto kasnije – u četvrtom tjednu života. Općenito, eozinofili malo pridonose ukupnom broju leukocita u zdravih svinja, neovisno o dobi životinja (Egeli i sur., 1998.; Evans, 2000.). Udio bazofilnih granulocita je nizak u svakoj dobi (Upcott i sur., 1973.; Evans, 2000.). Udio monocita fluktuira te se istraživači slažu da njihov broj općenito malo pridonosi (<10%) ukupnom broju leukocita (Egeli i sur., 1998.; Thorn, 2000.).

Višestruko je značenje ovog istraživanja: uz utvrđivanje kretanja udjela pojedinih subpopulacija leukocita periferne krvi u odojaka tijekom cijelog razdoblja sisanja, cilj rada je i približiti metodu protočne citometrije kliničkoj veterinarskoj praksi te ispitati njenu primjenjivost i prednosti u odnosu na klasičnu metodu utvrđivanja diferencijalne krvne slike pomoću krvnih razmaza.

Materijal i metode

Istraživanjem je obuhvaćeno 48 odojaka pasmine veliki jorkšir iz 17 legala krmača koje su se oprasile tijekom travnja i svibnja. Odojcima je višekratno vađena krv (24 +/- 12 sati na-

kon poroda, 7., 14. i 21. dan života) kako bi se obuhvatile promjene koje nastaju tijekom rasta i razvoja prasadi za vrijeme sisanja. Krv je vađena iz *v. cave cranialis* pomoću vacutaner epruveta s EDTA kao antikoagulansom u količini od 1,1 mL. Po 1 mL krvi korišten je potom za određivanje ukupnog broja leukocita, a 0,1 mL je odvojen u epruvete za određivanje pojedinih subpopulacija leukocita primjenom protočnog citometra. Ukupni broj leukocita određen je pomoću automatskog analizatora Serono-Baker Diagnostics, System 9000+ (Inc. Cascade Drive, Pennsylvania, USA). U uzorcima periferne krvi određen je udio pojedinih subpopulacija leukocita pomoću aparata za protočnu citometriju EPICS XL (Beckman Coulter, USA). Dobiveni rezultati obrađeni su programom Statistica 7 StatSoft, Inc., 2005.

Rezultati i rasprava

Na Grafu 1 dan je primjer citometrijskog prikaza odvajanja leukocita periferne krvi svinja s obzirom na njihovu veličinu i zrnatost.

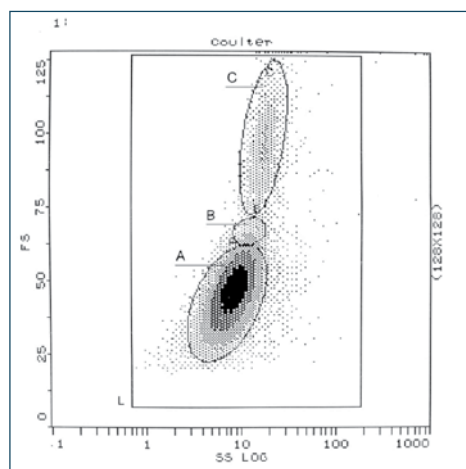
Dobiveni podatci o broju leukocita te postotnom udjelu limfocita, monocita i granulocita u heterogenom uzorku pune venske krvi dani su u tablici 1.

Utvrđeni se broj leukocita u odojaka nalazi tijekom cijelog promatranog razdoblja unutar referentnog raspona za svinje. Nakon što je tijekom prvog tjedna zabilježen pad udjela limfocita (tako da se u odojaka u dobi od 7 dana prosječni udio limfocita nalazio nešto ispod donje referentne granice), u kas-

Tablica 1. Prosječan broj leukocita te udio pojedinih subpopulacija u odojaka tijekom razdoblja sisanja

Dob odojaka (broj životinja)	Leukociti ($\times 10^9/L$)			Limfociti (%)			Granulociti (%)			Monociti (%)		
	arit.sred.	$\pm$	SD	arit.sred.	$\pm$	SD	arit.sred.	$\pm$	SD	arit.sred.	$\pm$	SD
1. dan (n=48)	11,08	$\pm$	6,3	41,5 ^a	$\pm$	3,6	53,0 ^a	$\pm$	3,5	5,5 ^{a,b,c}	$\pm$	1,3
7. dan (n=42)	13,35	$\pm$	3,6	38,4 ^{a,b,c}	$\pm$	2,1	56,9 ^{a,b,c}	$\pm$	2,6	4,7 ^a	$\pm$	1,0
14. dan (n=40)	12,39	$\pm$	3,5	41,6 ^b	$\pm$	2,4	53,8 ^b	$\pm$	2,3	4,6 ^b	$\pm$	0,5
21. dan (n=39)	14,45	$\pm$	5,9	42,3 ^c	$\pm$	0,9	52,9 ^c	$\pm$	1,0	4,8 ^c	$\pm$	0,6

^{a,b,c} vrijednosti označene istim slovom unutar pojedine kolone statistički se znatno razlikuju ($p < 0,01$)



Graf 1: Citometrijski prikaz odvajanja leukocita periferne krvi svinja s obzirom na njihovu veličinu i zrnatost. Na grafikonu su vidljive tri ograde: A = limfociti, B = monociti, C = granulociti, kojima se omeđuju subpopulacije leukocita

nijem je razdoblju zabilježen njihov porast, a paralelno s time opadanje udjela granulocita. Navedeni rezultati u suglasju su s ranije citiranim autorima te upućuju na sazrijevanje imunološkog sustava. S obzirom da je raspon unutar kojeg se kreće udio monocita relativno mali te se nalazi unutar referentnog raspona, mišljenja smo da uočena razlika njihova udjela nije od većeg kliničkog značaja.

Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata mogli bismo zaključiti da je metoda protočne citometrije objektivna i ponovljiva te stoga pogodna za vrjednovanje imunostatusa zdravih odojaka. Prednost te metode je i u tome da su za analizu potrebne male količine uzoraka pa je njihovo uzimanje jednostavnije, a time i prihvatljivije posebice za novorođene životinje. U usporedbi s klasičnom metodom utvrđivanja diferencijalne krvne slike očitavanjem krvnih razmaza, ova metoda je brža te uzima u obzir veći broj stanica po pojedinom uzorku, što omogućuje objektivniju procjenu udjela pojedinih leukocitnih subpopulacija. Uz navedeno, omogućuje i pohranu podataka, njihovu istovremenu ili naknadnu obradu, analizu, interpretaciju rezultata te slikovni prikaz.

Napomena

Prošireni sažetak rada objavljen je u Zborniku radova s 20-tog IPVS kongresa (International Pig Veterinary Science Congress), u Durbanu, Južnoafrička Republika, 2008. godine.

Istraživanje je dio projekata MZOŠ RH broj 053-0532265-2238, 053-0532265-2225 i 053-0532265-2242.

Literatura

1. BATINIĆ, D., L. RNJAK i K. DUBRAVČIĆ (2006): Protočna citometrija u hematologiji. *Pediatr. Croat.* 50 (Supl 1), 176-182.
2. DORN, A. D., W. R. WATERS, V. M. BYERS, B. A. PESCH and M. J. WANNEMUEHLER (2002): Characterization of mitogen-stimulated porcine lymphocytes using a stain fluorescent dye (PKH2) and multicolor flow cytometry. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 67, 1-10.
3. EGELI, A. K., T. FRAMSTAD, H. MORBERG (1998): Clinical Biochemistry, Haematology and Body Weight in Piglets. *Acta. Vet. Scand.* 39, 381-393.
4. EKERT KABALIN, A., T. BALENOVIĆ, M. POPOVIĆ, M. ŠPERANDA, T. ŠPERANDA, I. VALPOTIĆ und Ž. PAVIČIĆ (2008): Durchflusszytometrische Analyse von Leukozyten-populationen im peripheren Blut von Saugferkeln. *Tierärztliche Umschau* 63 (5), 259-265.
5. EVANS, E. W. (2000): Interpretation of Porcine Leucocyte Response. U: FELDMAN, B. F., J. G. ZINKL, N. C. JAIN: *Schalm's Veterinary Hematology*. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sidney, Tokyo, 411-416.
6. ORMEROD, M. G. (2002): *Flow Cytometry. A practical approach* 3th ed. Oxford University Press.
7. PESCH, B., V. RAJARMAN, M. E. KEHRLI and Jr., J. A. HARP (1997): First International Virtual Conference of Infectious Diseases of Animals. www.nad.ars.usda.gov/virtconf Poster # G00081.
8. POPOVIĆ, M. i I. VALPOTIĆ (2004): Primjena protočne citometrije u veterinarskoj medicini. *Hrvatski veterinarski vjesnik* 12 (3-4), 13-14.
9. POPOVIĆ, M., M. M. KARDUM PARO, H. VALPOTIĆ, Ž. PAVIČIĆ, N. VUJICA i I. POPOVIĆ (2005): Citometrijska analiza dobno ovisnih imunohemtoloških pokazatelja u perifernoj krvi nekih domaćih sisavaca, *Vet. stn.* 36 (5-6), 263-268.
10. SCHWAGER, J. and J. SCHULZE (1997): Maturation of the mitogen responsiveness, and IL2 and IL6 production by neonatal swine leukocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 57, 105-119.
11. ŠIFTAR, Z. i M. KARDUM PARO (2003): Priručnik: Medicinsko biokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi: Imunofenotipizacija stanica, značaj i primjena u kliničkoj praksi. Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
12. THORN, C. E. (2000): Normal Hematology of the pig. In: Feldman, B. F., J. G. Zinkl, N. C. Jain: *Schalm's Veterinary Hematology*. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sidney, Tokyo, 1089-1095.
13. UPCOTT, D. H., C. N. HEBERT and M. ROBINS (1973): Erythrocyte and leukocyte parameters in fetal and neonatal piglets. *Res. Vet. Sci.* 15, 8-12.
14. VAN EDEN, S. F., M. E. KLUT, B. A. M. WALKER and J. C. HOGG (1999): The use of flow cytometry to measure neutrophil function. *Journal of Immunological Methods* 232, 23-43.

Cytometric analysys of leukocyte subpopulations in blood of Yorkshire piglets

Anamaria EKERT KABALIN, DVM, Ph.D., assistant professor, Tomislav BALENOVIĆ, DVM, Ph.D., full professor, Maja POPOVIĆ, DVM, Ph.D., associate professor, Ivica VALPOTIĆ, DVM, Ph.D., full professor, Željko PAVIČIĆ, DVM, Ph.D., full professor, Dubravko KEZIĆ, DVM, junior researcher, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb

Application of flow cytometry has increasing importance in modern veterinary medicine. Introducing flow cytometry in routine blood tests instead of present blood smears could speed the process significantly. Aims of this research are to determine participation of subpopulations in pigs during suckling period, and to present flow cytometry methods to clinic veterinary practice. Within this research we included 48 piglets of Yorkshire breed from 17 sows on the farm in the east parts of Croatia.

Blood was taken multiple times: 24 +/-12 hours after birth, 7. 14. and

21. day of life. Established increase in number of leukocytes during suckling period is connected with physiologically maturation of piglets. Higher percentage of granulocytes compared to the lymphocytes is in accordance with other authors that studied newborn piglets. Considering these data we could conclude that flow cytometry is objective and reproducible and with that suitable for monitoring health status of young piglets. Advantage of this method is in small amount of sample needed for analysis. In that way sampling is simpler, quicker and more acceptable for young animals.

BJESNOĆA

HRVATSKA. Dne 31. kolovoza prošle godine ugrizao je bijesan pas 19 osoba u Oborovu kraj Zagreba, isto tako jednog konja, koji je obolio od bjesnoće i bio utamanjen.

„Oesterreichische Monatsschrift für Thierheilkunde“ (Wien), 10, 478, 1893 (18. Jahrgang).

558,45 kn/L



CEVA S.A.

QUINOCOOL 1,0 L



ENROFLOKSACIN + KOLISTIN

Otopina za primjenu u vodi za piće, antibakterijski lijek za sustavne infekcije kokoši i purana; enrofloksacin 100,0 mg/mL, kolistin sulfat 106 IU/mL. **Indikacije:** Kronična respiratorna bolest, upala zračnih vrećica, zarazni sinovitis, kolibaciloza, salmoneloza, kolera peradi, bordeteljoza purana, zarazna korica, vrbanae, klamidioza.

Kontraindikacije: ne davati konзумnim nesilicima. **Zašto kombinacija enrofloksacina sa kolistinom?** Različiti mehanizmi djelovanja, sprječavaju porast rezistencije, sinergistički učinak, djeluju na *Mycoplasma iowae* i *Mycoplasma synoviae*. **Dozice:** enrofloksacin 10 mg/kg t.m./dan; kolistin sulfat 5 mg/kg t.m./dan ili kod uzimanja vode ad libitum kod prosječne potrošnje 1 mL na 2 L vode. Ako se zna prosječna t.m. davati 10 mL/100 kg t.m./dan. Liječenje traje 3 – 5 dana (salmoneloza, kronične i mješovite infekcije 5 – 10 dana). **Karcenija:** kokoši i purani 3 dana. **Oprema:** Plastična boca sa čepom na zavrtanj sa 1000 mL otopine.

Dodatke informacije: Kontinuirano davanje enrofloksacina može dovesti do rezistencije poglavito *E.coli* i *Salmonella* spp. koje imaju vrlo učinkovite mehanizme razvoja rezistencije. Kolistin do sada nije korišten u RH. Prema testiranjima HVI 96% izolata *E.coli* i praktički svi testirani izolati *salmonela* su osjetljivi prema kolistinu.

DOSTUPNO U SVIM BOLJIM VELEDRUGERIJAMA

EU – priznanje Centru za umjetno osjemenjivanje (CUO) goveda u Varaždinu

Božidar Šimunić

Centar za umjetno (CUO) osjemenjivanje goveda sagradila je 1960. godine Veterinarska stanica Varaždin i bio je tada najsuvremeniji Centar za UO goveda u bivšoj državi. Po njemu je kasnije sagrađen isto takav u Osijeku i u Italiji u mjestu Villa Nova. U vremenskom razdoblju do 2004. godine Centar je najprije odigrao znakovitu ulogu u proizvodnji sperme za populaciju krava simentalске pasmine sjeverne Hrvatske, a zatim važnu ulogu u Programu gojdbene izgradnje u govedarstvu Hrvatske osnivanjem Stanice za ispitivanje proizvodnih svojstava goveda provjeravanjem bikova dobivenih umjetnim osjemenjivanjem na području cijele Hrvatske.

CUO Varaždin je već od 1969. godine razvio suradnju i partnerske odnose na stručnom i znanstvenom polju na području reprodukcije u govedarstvu s najvećim svjetskim Centrom za

UO goveda simentalске (Fleckvieh) pasmine Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch (BVN) u Njemačkoj. Nakon 45 godina uspješnog rada bilo je nužno obnoviti Centar i prilagoditi rad novim potrebama suvremene proizvodnje u govedarstvu Hrvatske. Veterinarska stanica Varaždin nije mogla sama osigurati modernizaciju i obnovu pa je predloženo BVN-u dugogodišnjem partneru da u taj program uđu zajednički. Ubrzo je nađen zajednički interes za partnerstvo te je 16. studenog 2004. godine potpisan ugovor između Veterinarske stanice Varaždin i BVN-a iz Neustadt-a o osnivanju nove tvrtke pod imenom "CUO VARAŽDIN / BVN CENTAR ZA UMJETNO OSJEMENJIVANJE GOVEDA d.o.o. VARAŽDIN.

BVN kao jedan od osnivača s većinskim udjelom u zajedničkoj tvrtci i s bogatim iskustvom preuzima brigu



Slika 1. Obnovljen CUO Varaždin



Slika 2. Centrala BVN Neustadt / Aisch

dr. sc. Božidar Šimunić, dr. vet. med., umirovljeni znanstveni savjetnik, Varaždin

o kompletnoj obnovi zajedničkog Centra t. j. obnovi zgrade objekta, stajskih prostora za visokovrijedne rasplodne bikove, laboratorij i njegovu opremu najmodernijom aparaturom za kontrolu kvalitete sperme i konzerviranje u tekućem dušiku. Isto tako BVN je preuzeo opskrbu Centra bikovima iz najboljeg svjetskog uzgoja simental-ske (Fleckvieh) pasmine u Njemačkoj. Radovi su započeli u 2005. i završili koncem 2006. godine, a redovita proizvodnja duboko smrznute (DS) sperme započela je punim kapacitetom s 20 bikova u mjesecu veljači 2007. godine.

Obnovljeni Centar danas se ubraja među najmodernije u Europi, a izgrađen je i opremljen po europskim standardima uz poštivanje Zakona o dobrobiti životinja i zaštiti okoliša.

Genetski posebno vrijedni bikovi se slobodno kreću svaki u svojem boksu u staji i ispustu izvan staje. Higi-



Slika 3. Bikovi u slobodnom držanju



Slika 4. Sigurnost osigurava ulazna karantena

jena bikova se osigurava tuširanjem u posebnim boksovima za tuširanje u predprostoru dvorane za uzimanje sperme. Cijeli objekt je ogradom izoliran od okoline, a osoblje koje ulazi u objekt obavezno prolazi kroz posebnu prostoriju karantenu.

U potpuno novo uređenom laboratoriju uvedena je tehnologija ocjene kvalitete sperme i postupka sa spermom koja se primjenjuje i u centralnom laboratoriju u BVN- u Neustadt/Aisch-u.

Nakon provedene rekonstrukcije Centra u kojoj su poštivani svi kriteriji propisani za Centre za UO u Europi nije čudno da je EU-Komisija 1. kolovoza 2007. godine dala CUO/BVN u Varaždinu priznanje kao zajedničkoj tvrtci partnera Veterinarske stanice Varaždin i BVN-a. Tim priznanjem od EU-a uvršten je CUO Varaždin/BVN u članstvo najveće europske organizacije za umjetno osjemenjivanje goveda simental-ske (Fleckvieh) pasmine u Europi predvođene BVN-om. U toj zajednici su još 3 Centra za UO u zemljama članicama EU-a u sličnim partnerskim odnosima (Poljska, Rumunjska, Slovačka). Nakon ovog priznanja sperma bikova proizvedena u CUO Varaždin može se sada distribuirati i prodavati u cijeloj Europi, kao i sperma proizvedena u drugim Centrima plasirati u Hrvatskoj.

Ovo priznanje našlo je i publicitet u časopisu „Zuchtwahl und Besamung“, koji se distribuira stočarskim organizacijama u cijelom svijetu pod naslovom: „EU-Anerkennung der Besamungsstation CUO in Varazdin, Kroatien“ (Leiding, 2007.). U njemu je CUO Varaždin opisan u riječi i slici na najpohvalniji način.

Sažetak

Dugogodišnji stručni suradnici od 1969. godine Veterinarska stanica Varaždin i Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch dogovorili su se i potpisali 16. studenog 2004. ugovor o osnivanju zajedničke tvrtke „CUO VARAŽDIN / BVN CENTAR ZA UMJETNO OSJEMENJIVANJE GOVEDA d.o.o. VARAŽDIN.“ Brigu o obnovi preuzeo je BVN, a proizvodnja sperme započela je u veljači 2007. godine s 20 bikova Fleckvieh pasmine iz odabranih uzgoja Njemačke.

CUO Varaždin je dobio priznanje od Komisije EU 1. kolovoza 2007. godine, jer je obnovljen u skladu s europskim standardima propisanim za Centre za umjetno osjemenjivanje goveda. Danas je CUO Varaždin prvi Centar za UO goveda u Hrvatskoj s priznanjem Komisije – EU-a.



Slika 5. Moderno opremljen laboratorij

Literatura

1. Leiding, C. L. (2007): EU- Anerkennung der Besamungsstation CUO in Varazdin , Kroatien. Zuchtwahl und Besamung, 158, 26.

Eu – Acknowledgment to the Bovine Artificial Insemination Centre in Varaždin

Božidar ŠIMUNIĆ, DVM, Ph.D., retired scientific adviser, Varaždin

Following many years of mutual cooperation dating back to 1969, the Veterinary Station Varaždin and Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch negotiated and executed on 16 November 2004, the Agreement on Establishing of Joint Company VARAŽDIN ARTIFICIAL INSEMINATION CENTRE / BVN BOVINE ARTIFICIAL INSEMINATION CENTRE Ltd. VARAŽDIN . BVN has undertaken to ensure the reconstruction and the production of sperm started in February 2007 with 20

Fleckvieh bulls from selected German breeds.

Varaždin Artificial Insemination Centre was acknowledged by the EU Commission on 1 August 2007 as it was reconstructed in compliance with the EU standards set out for Bovine Artificial Insemination Centres. Currently, Varaždin Artificial Insemination Centre is the first of its kind in Croatia with an EU Commission acknowledgment.

ANTIPARAZITICI



NEOPITROID® EC 20 KONCENTRAT ZA
PRIPRAVU EMULZIJE INSEKTICIDA I EKTOPARAZITIKA
za goveda, ovce, svinje, konje, pse i mačke

GAMACID® D
SUSPENZIJA
za ovce

NILVERM
OTOPINA ZA INJEKCIJU I PERORALNA OTOPINA
za goveda, ovce, svinje, perad i golubove

PRAZINON® plus
TABLETA
za pse

PRAZINON®
OTOPINA ZA INJEKCIJU
za pse i mačke

MONIL®
BOLUS I TABLETA
za goveda i ovce

MONIL® 5%
PERORALNA SUSPENZIJA
za goveda i ovce

PIPERAZIN CITRAT
PRAŠAK ZA PERORALNU PRIMJENU
za goveda, ovce, svinje, konje, pse, mačke, perad i golubove

IVERKTIN® 1%
OTOPINA ZA INJEKCIJU
za goveda, ovce i svinje

Veterinarska toksikologija

drugo obnovljeno i dopunjeno izdanje

Autori: Vjekoslav Srebočan i Emil Srebočan

Izdavač: Medicinska naklada, 2009.

ISBN 978-953-176-404-9



Sveučilišni udžbenik „Veterinarska toksikologija, drugo obnovljeno i dopunjeno izdanje“ važan je doprinos stručnoj i znanstvenoj literaturi iz područja veterinarske toksikologije. U ovom izdanju na 515 stranica s 92 ilustracije, tvrdog uveza, osuvremenjena je materija koju sadrži prvo izdanje i dopunjena biotoksinima nekih otrovnih biljaka i venomima životinja otrovnica, te nekim otrovima koji nisu obrađeni u prvom izdanju. Kako je toksikologija u veterinarskom studiju multidisciplinarna znanost koja se uklapa u područje kliničke toksikologije, toksikologije reprodukcije, imunotoksikologije, toksikologije prehrane, toksikologije životinjskih namirnica, forezičke toksikologije i ekotoksikologije, tako je i ovaj udžbenik koncipiran pa su za svaku otrovnu tvar, ili skupinu srodnih otrovnih tvari, obrađene: 1. fizikalno-kemijske osobitosti koje su značajne za razumijevanje kinetike i dinamike otrova u organizmu, 2. primjena, kad se radi o pesticidima, 3. izvori otrovanja, 4. otrovnost, 5. metabolizam (kinetika i mehanizmi toksičnog učinka), 6. klinička slika, 7. patološko-morfološke i patološko-histološke promjene, 8. dijagnostika, 9. terapija, zatim 10. os-

taci otrova u tkivima otrovane ili kontaminirane i prisilno zaklane životinje, 11. subletalno djelovanje, u kojem je obrađen utjecaj na obranu organizma, na produkciju i reprodukciju, pojavu neoplazija te 12. ekotoksikologiju otrovne tvari, kad se radi o štetnom učinku na korisnu faunu. Otrovnost tvari koje su u udžbeniku obrađene pripadaju skupini „aktualnih otrova“ u veterinarskoj patologiji. To su otrovi koji se upotrebljavaju u zaštiti bilja i kojima su životinje najčešće neposredno izložene (pesticidi), zatim otrovne tvari koje mogu biti zagađivači stočne hrane (pesticidi, kovine, industrijski zagađivači, mikotoksini), tvari koje služe kao hrana (dušikovi spojevi) pa mogu biti potencijalno otrovne te otrovno bilje i venomi životinja otrovnica. Kao sveučilišni udžbenik primarno je namjenjen studentima veterinarske medicine te veterinarima na terenu, ali će biti od koristi i srodnim strukama: agronomima stočarskog smjera, prehranbenim tehnolozima i biolozima koji se bave ekotoksikologijom.

Knjiga je izašla iz tiska u veljači 2009. godine, a cijena je 300,00 kn.

Andreja PREVENDAR CRNIĆ

Lažna trudnoća ?

Neka se muči dok ne prođe samo?



ILI NEKA PROĐE ODMAH?

Galastop!

Rješenje hormonalnog problema bez upotrebe hormona!



Off label – pobačaj, pyometra, indukcija estrusa,
preoperativni tretman tumora mliječne žlijezde



U svim boljim veledrogerijama

Posjet Veterinarskom institutu Brno u svibnju 1978. godine

Na temelju dogovora direktora Veterinarskog instituta u Zagrebu dr. sc. Čedomira PAUKOVIĆA i direktora Veterinarskog instituta u Brnu dr. sc. Jana STEPANEKA, posjetili su u svibnju 1978. godine djelatnici Veterinarskog fakulteta instituta Zagreb i djelatnici Svinjogojske farme Belje-Darda Veterinarski institut Brno. Povod su bili tadašnje pojave transmisivnog gastro-

enteritisa i naša iskustva s primjenom eksperimentalnog atenuiranog TGE cjepiva koje je izrađeno u Veterinarskom institutu Zagreb, a koristilo se u svinjogojskim farmama Hrvatske. Na priloženoj fotografiji snimljenoj prigodom posjete prisutni su djelatnici svih triju organizacija.

Maks KARLOVIĆ



1. Vlado DRŽANIĆ, 2. Josip ŠAGUD, 3. mr. sc. Mirko LOJKIĆ, 4. Ferenc ASTALOŠ, 5. Duško TOPALOVIĆ, 6. dr. sc. Jaroslav MENŠIK, 7. gđa. MENŠIK, 8. dr. sc. Jan STEPANEK i 9. Josip PIVAC.
Snimio dr. Č. PAUKOVIĆ.

In memoriam

Dimitrije BULAT, rođen 30. 7. 1926. u Otočcu, diplomirao 22. 11. 1952. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio kao veterinar u Veterinarskoj stanici Ernestinovo (1956. - 1958.), u Veterinarskoj stanici Sesvete (1958. - 1963.), u novinskom poduzeću „Zadružna štampa“ Zagreb (1963. - 1969.), u Udruženom zavodu za osiguranje i reosiguranje Filijala Zagreb (1969. - 1970.), u „Croatia“ Zavodu za osiguranje i reosiguranje Filijala Zagreb (1970. - 1975.) i u „Croatia“ zajednici osiguranja, Zajedničke službe, Filijala Zagreb do odlaska u mirovinu (1975. - 1988.). Umro 23. 4. 2007. u Zagrebu.

Ivan KOSOVEC, rođen 28. 6. 1928. u mjestu Okoli (Kutina), diplomirao 26. 2. 1957. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio kao veterinar u Veterinarskoj stanici Staro Petrovo selo (1957. - 1958.), u Veterinarskoj stanici Križ (1958. - 1976.), u Skupštini zajednice općina Zagreb (1976. - 1986.), u Republičkom komitetu za poljoprivredu i šumarstvo Zagreb (1906. - 1990.), u Ministarstvu poljoprivrede i šumarstva Zagreb (1990. - 1991.), u Ministarstvu poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Zagreb (1991. - 1992.) i u Ministarstvu poljoprivrede i šumarstva Zagreb do odlaska u mirovinu (1992. - 1993.). Umro 4. 7. 2007. u Zagrebu.

Stjepan MATIĆ, rođen 17. 3. 1931. u Čitluku, diplomirao 28. 6. 1957. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio kao veterinar u Veterinarskoj stanici Sinj (1957.), u Veterinarskoj stanici Knin (1957. - 1959.), u „Sljemenu“ poduzeću za promet i prehrambenu proizvodnju Sesvete (1960. - 1970.), u Republičkom zavodu za zaštitu zdravlja Zagreb (1970. - 1973.), u Zavodu za zaštitu zdravlja SR Hrvatske Zagreb do odlaska u mirovinu (1973. - 1991.). Umro 15. 7. 2008. u Zagrebu.

Vicko FILIPOVIĆ, rođen 1. 1. 1926. u Jugovom polju (Virovitica), diplomirao 30. 1. 1953. u Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio kao veterinar desetak godina u Bosni i Hercegovini: u Ključu (1953. - 1955.), u Prijedoru (1955. - 1957.), u Ključu (1957. - 1959.), u Bosanskoj Gradiški (1959. - 1960.) u Poljoprivrednom dobru Ravan - Bosanska Dubica (1960. - 1962.) i u Skupštini općine Bosanska Dubica (1962. - 1965.) odnosno u Republici Hrvatskoj: u Veterinarskoj stanici Podravska Slatina - Ambulanta Nova Bukovica (1965. - 1972.) i u Veterinarskoj stanici Podravska Slatina do odlaska u mirovinu (1972. - 1990.). Umro 7. 10. 2007. u Podravskoj Slatini.

Maks KARLOVIĆ

In memoriam dr. sc. Vicko Filipović 1926. – 2007.



Gospodin Vicko Filipović rođen je 1926. godine u Jugovom Polju, gdje mu se obitelj doselila iz hrvatskog primorja. Gimnaziju je završio u Virovitici, a Veterinarski fakultet u Zagrebu. Krajem pedesetih godina zaposlio se kao veterinar i sanitarni inspektor u Bosanskoj Dubici, koja je bila grad pobratim tadašnje Podravske Slatine. Nakon Bosanske Dubice zapošljava se kao veterinar U Novoj Bukovici, a poslije toga u Slatini gdje je ostao do umirovljenja. Kroz svoj radni vijek kolegama je služio kao primjer po svojoj marljivosti i radnoj disciplini. Seljaci ga pamte kao poštenog, nesebičnog i stručnog veterinara, koji im je uvijek bio spreman pomoći. Kod njega je uvijek bila prisutna opredijeljenost struci i kroz to briga za pojedinca - čovjeka i domovinu.

Član Matice hrvatske postao je četrdesetih godina, a godine 1971., u to vrijeme kao direktor veteri-

narske stanice u Novoj Bukovici i dugogodišnji član MH, postao je sudionik Hrvatskog proljeća - zadužen za povezivanje sa selima s područja Nove Bukovice: Miljovec, Mikleuš, Nova Bukovica. Bio je član Predsjedništva Općinskog odbora Socijalističkog saveza Podravska Slatina.

Nakon sloma Hrvatskog proljeća osuđen je na dvije godine zatvora uvjetno na šest mjeseci, smijenjen s funkcije direktora i ostao je bez zaposlenja. Činjenica da mu ni supruga nije radila i k tome s dvoje djece nije ga pokolebalo u njegovoj misiji. Jednom prilikom je rekao „Meni je uvijek misao vodilja bila: Hrvat sam, ponosim se svojim, tuđe poštujem“.

S tom mišlju kao jedini delegat iz Slatine u prosincu 1990. godine sudjelovao je na obnoviteljskoj skupštini Matice hrvatske u Zagrebu. Rad u Matici hrvatskoj smatrao je svojom životnom zadaćom i velikim zalaganjem, radom i nesuspregnutim emocijama okupio je entuzijaste Slatinčane i neizmjereno je doprinio obnovi Ogranka Matice hrvatske u Slatini tijekom 1990. godine. U nekoliko je mandata bio dopredsjednik i član Predsjedništva Ogranka Matice hrvatske u Slatini.

Nakon osamostaljenja obnašao je dužnost vijećnika iz redova Hrvatske demokratske zajednice u prvom sazivu Gradskog vijeća grada Slatine u razdoblju od 1993. do 1997. godine.

Zavičajni muzej Slatina čuva dva intervjua s gospodinom Filipovićem.

Jedan je na temu Matice hrvatske, a drugi na temu pčelarstva. Po svemu bih rekla da je ljubav za jedno i drugo ponio iz svoje roditeljske kuće. Rekao je da je rođen s pčelama, jer mu je otac Ivan bio pčelar, a prvu je košnicu - tzv. baračku otac donio sa sobom, kad su 1926. godine doselili u ove krajeve. Za veliki doprinos razvoju pčelarstva i za izniman angažman u promicanju kulturne baštine slatinskog kraja 2005. godine dodijeljena mu je zahvalnica građa Slatine.

U vrijeme dodjeljivanja zahvalnice već je nekoliko godina bio zbog teške bolesti vezan uz krevet. Tijekom tog vremena ljubav koju je sam nesebično dijelio drugima uzvratili su mu u prvom redu njegovi najbliži - supruga i ostali članovi obitelji. A svi mi ostali, opterećeni svakodnevnim brigama, vjerojatno nedovoljno.

Zahvalnost za ljudsku riječ koju je pružao pojedincima i građansku hrabrost u istrajnosti na borbi za poštenu rad, istinu, marljivost te za pokazani primjer kako se stručnim radom i opredjeljenjem za knjigu i kulturu voli domovina izrekao je u ime članova Ogranka Matice hrvatske predsjednik Ogranka gospodin Saša Vujanović. Članovi Ogranka - njegovi najbliži suradnici odali su mu posljednju počast počasnim stražama neposredno pred sahranu.

Vicko Filipović je sahranjen na slatinskom gradskom groblju, ispraćen mnogobrojnim sugrađanima, suradnicima, članovima obitelji sunčanog ponedjeljka 8. listopada 2007. godine, na Dan neovisnosti Republike Hrvatske.

Dragica ŠUVAK

- 1) Časopis "Veterinarska stanica" objavljivat će u prvom redu članke o djelatnosti veterinarskih stanica imajući pri tome na umu njihovu javnu funkciju propisanu zakonima, pravilnicima, uredbama i drugim propisima. Pritom će se objavljivati članci o ustrojstvu veterinarskih stanica i o njihovoj preobrazbi u skladu s razvojem društvenih odnosa na selu.
- 2) "Veterinarska stanica" nastojat će pružati stručnjacima nove spoznaje iz znanosti i napose prakse u zemljama s razvijenim stočarstvom.
- 3) U našem časopisu tiskat će se znanstvene i stručne rasprave prije svega za stručnjake koji rade u veterinarskim stanicama i ambulantama.
- 4) Bit će u njemu i društvenih vijesti, obavijesti, najava i 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.).
- 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 Micro-soft okružju na računalu ili u nemogućnosti izrade na računalu na paus-papiru, a fotografije (obične i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.
- 12) Rukopisi se ne vraćaju.
- 13) 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. U:
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., Ljil-
jana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ
i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv
svinja na eksperimentalnu inakti-
viranu vakcinu bolesti Aujezskoga.
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.
stanica, 14 (4) 1-7.
8. **neka druga rasprava:** BOLLWAHN,
W. und B. KRUEDEWIG (1972): Die

symptomatische Behandlung der
Gratschstellung neugeborener Fer-
kel. Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 229
-231 (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI,
H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H.
KÖNIG und J. NICOLET: Vorkom-
men und Bedeutung von Sch-
weinekrankheiten: Analyse eines
Sektionsguts (1971 - 1973) Schweiz.
Arch. Tieheilk. 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 sa
kompjuterskim zapisom u Microsoft
Word programu na disketi od 3.5 inča
ili CD disku molimo poslati na adresu
glavnog urednika:

Doc. dr. sc. Marko Samardžija, Veteri-
narski fakultet, Heinzelova 55, 10000
Zagreb.

Radovi se mogu poslati i
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 funk-
ciju 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
objavljivani u časopisu.