

Koncentracije olova, žive i bakra u tri vrste riba Jadranskog mora

Nina Bilandžić, Marija Sedak i Maja Đokić



Uvod

Danas je teško izbjeći izlaganje teškim metalima zbog njihove velike uporabe uslijed suvremene industrijalizacije, rudarstva te urbanog onečišćenja koji doprinose dramatičnom povećanju zagađenja našeg okruženja, pitke vode, mora, zraka i tla. Poznato je preko 20 različitih teških metala koji mogu izazvati niz negativnih učinaka na ljudsko zdravlje (Dural i sur., 2007.). Zbog redovite uporabe ribe u ljudskoj prehrani te zbog njihovog nakupljanja u tkivima morskih životinja, brojne studije ispituju i prate prisuće teških metala u pojedinim ribljim vrstama u svrhu procjene njihove kontaminacije (Catsiki i Strogyloudi, 1999., Usero i sur., 2003., Keskin i sur., 2007., Uluozlu i sur., 2007., Türkmen i sur., 2009.).

Danas se smatra da su najopasniji kontaminanti teški metali: živa (Hg), olovo (Pb), kadmij (Cd) i arsen (As).

Međutim, bakar (Cu), premda esencijalni element, može prouzročiti toksične učinke, ukoliko je njegov unos kroz konzumaciju riba i ribljih proizvoda visok (Goyer, 1996.). Simptomi izlaganja djelovanju metala, u visokim koncentracijama ili pri akutnim trovanjima, mogu imati simptome poput glavobolje i slabosti. Toksični su učinci metala najčešće vezani na utjecaj na mozak i bubrege, ali neki metali poput As mogu imati kancerogene učinke. Živa je svakako jedan od najtoksičnijih teških metala u okolišu, uključujući litosferu, hidrosferu, atmosferu i biosferu. Poznato je da su ljudi ponajprije izloženi Hg kroz konzumaciju riba te morskih sisavaca u čijim se tkivima nakuplja Hg odnosno metil-Hg (Castro-González i Méndez-Armenta, 2008.). Trovanje metil-Hg uglavnom utječe na živčani sustav te izaziva obamrlost nogu i

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

ruku, probleme s vidom, demenciju i depresiju, a naročito je štetna za razvoj živčanog sustava u male djece te može utjecati na razvoj ploda (Jarup, 2003., Morris i sur., 2005.). Olovo može dovesti do niza zdravstvenih smetnji kao što su konvulzije, koma, zatajenje bubrega i prilikom dugotrajne izloženosti smrti. Unošenje Cu u prevelikoj količini, može prouzročiti toksične učinke kao što su ciroza jetre, dermatitis te živčane poremećaje (Storelli i sur., 2007.).

Prikladnost se primjene pojedinih vrsta riba za prehranu s obzirom na koncentraciju pojedinih metala u Republici Hrvatskoj procjenjuje prema najvišim dopuštenim koncentracijama propisanim Direktivom Europske Zajednice (EEC 2001.), odnosno prema toj Direktivi usklađenim Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (N.N. br. 154/2008.).

Svrha ovog rada je određivanje koncentracija metala u tri vrste riba ulovljenih u središnjem i južnom Jadranskom moru Republike Hrvatske tijekom 2009. godine: lokarda (*Scomber japonicus*), trlja kamenjarka (*Mullus surmuletus*) i gira (*Spicara smaris*). Određene su koncentracije Pb, Hg i Cu u mišićnom tkivu riba te procijenjene razlike u koncentracijama metala između promatranih vrsta. Procijenjena je i podobnost primjene riba za konzumaciju ljudi.

Materijali i metode

Uzorkovanje riba

Tijekom 2009. godine sakupljani su uzorci mišićnog tkiva tri vrste riba ulovljenih u srednjem i južnom Jadranu

Republike Hrvatske: 22 uzorka lokarde (*Scomber japonicus*), 26 uzoraka trlje kamenjarke (*Mullus surmuletus*) i 28 uzoraka gire (*Spicara smaris*). Uzorci su ribe držani na hladnom do dolaska u laboratorij gdje su podijeljeni u manje komade te do analize zamrznuti na -18 °C.

Priprema uzoraka

Uzorci su tkiva pripremani mokrim spaljivanjem u mikrovalnoj pećnici Anton Paar Multiwave 3000. Uzorci (2 g) se važu u teflonske posudice te se doda 1 mL H₂O₂ (30% p.a., Kemika, Hrvatska) i 5 mL HNO₃ (65% p.a., Kemika, Hrvatska). Mikrovalna se digestija provodi na 1200 W u koracima po 10, zadržavanjem 10 minuta na 1200 W te hladi 15 minuta. Bistra otopina kvantitativno se prenosi u odmjerne tikvice od 50 mL te dopuni do oznake ultračistom vodom (Milli-Q Millipore, 18.2 MΩcm⁻¹). Isti postupak koristi se za slijepu probu, ali bez uzorka.

Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS)

Koncentracije Pb i Cu određene su atomskim apsorpcijskim spektrometrom, Perkin Elmer Aanalyst 800 sa Zeeman-ovom korekcijom, primjenom grafitne tehnike mjerenjem apsorbance pri valnim duljinama 283,3 nm za Pb te 324,8 nm za Cu.

Za kalibraciju instrumenta korišteni su certificirani standardi za Pb, Hg i Cu od 1000 mg/L (Perkin Elmer, SAD). Radni standardi su pripremljeni razrijeđivanjem certificiranih standarda s 0,2% conc. HNO₃. U analizama su korišteni modifikatori za AAS (Perkin Elmer, SAD) magnezij-nitrat Mg(NO₃)₂

koncentracije 10 000 mg/L i paladij-nitrat Pd (NO₃)₂ koncentracije 10 000 mg/L.

Živa je određivana hidridnom tehnikom primjenom sustava FIAS-100 (Perkin Elmer, SAD) opremljenim s autosamplerom AS 93 plus (Perkin Elmer, SAD).

Određene su granice detekcije metala (mg/kg): Pb 0,005, Hg 0,0004 i Cu 0,0005. Iskorištenje, odnosno točnost metoda (% recovery ± standardna pogreška, n=4) provjerena je certificiranim referentnim materijalima: za Pb 97,1% ± 7,2% u mišićnom tkivu (CRM-CE278, EC-JRC-IRMM, Geel, Belgija), za Hg 95,7% ± 5,6% u tkivu tune (BCR 463, EC-JRC-IRMM, Geel, Belgija), za Cu 98,2% ± 4,9% u tkivu ribe (DORM-2, National Research Council, Kanada).

Statistička analiza

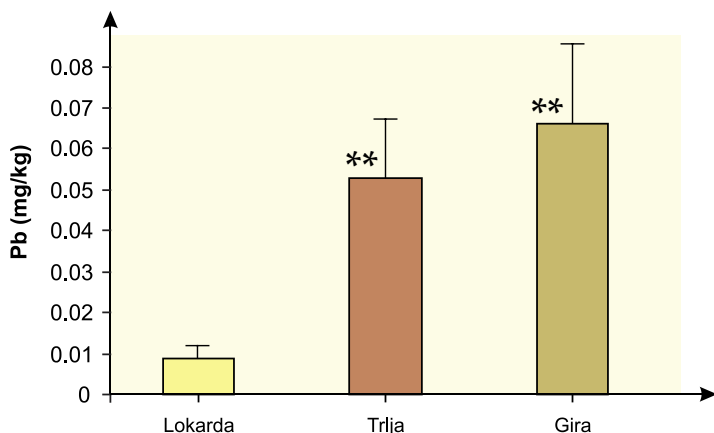
Statistička analiza provedena je programom Statistica® ('99 Edition, Copyright 1984.-1999., StatSoft®, Inc., Tulsa, SAD). Koncentracije Pb, Hg i Cu određene u mišićnom tkivu tri

vrste riba izražavane su kao minimalna i maksimalna određena koncentracija, srednja vrijednost ± standardna pogreška. Primijenjen je t-test za određivanje razlike u koncentracijama metala između tri vrste riba. Statistički značajne razlike izražavane su na nivou vjerojatnosti od 0,05.

Rezultati

Vrijednosti minimalnih, maksimalnih i srednjih vrijednosti koncentracija tri metala u tri vrste riba lokarde (*Scomber japonicus*), trlje kamenjarke (*Mullus surmuletus*) i gire (*Spicara smaris*) prikazane su u tablici 1. Koncentracije srednjih vrijednosti određivanja Pb, Hg i Cu prikazane su na slikama 1, 2 i 3.

Koncentracije Pb (mg/kg) za pojedinu vrstu ribe određene su u rasponu: lokarda 0,005-0,061, trlja 0,001-0,269 i gira 0,001-0,464. Najviša srednja koncentracija Pb određena je u mišićnom tkivu gire (0,464 mg/kg). Statistički značajno više vrijednosti koncentracija Pb utvrđene su u giri i



Vrijednosti označene ** statistički se značajno razlikuju od vrijednosti bez ** (p<0,01)

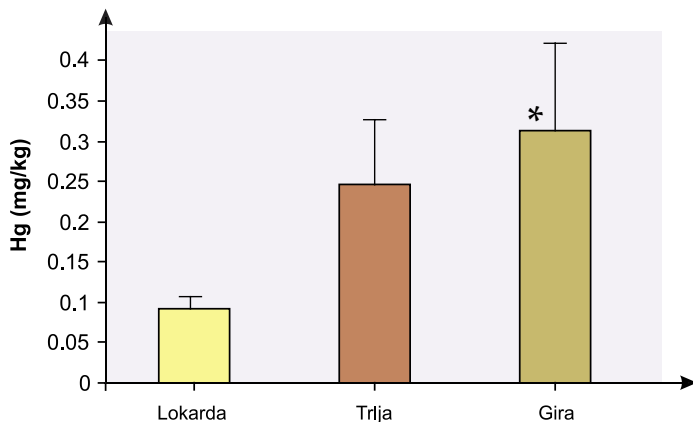
Slika 1. Koncentracije Pb (mg/kg) u tri vrste riba južnog i srednjeg Jadrana: lokarda (*Scomber japonicus*), trlja kamenjarka (*Mullus surmuletus*) i gira (*Spicara smaris*).

Tablica 1. Koncentracije Pb, Hg i Cu (mg/kg) u tri vrste riba južnog i srednjeg Jadrana tijekom 2009. godine.

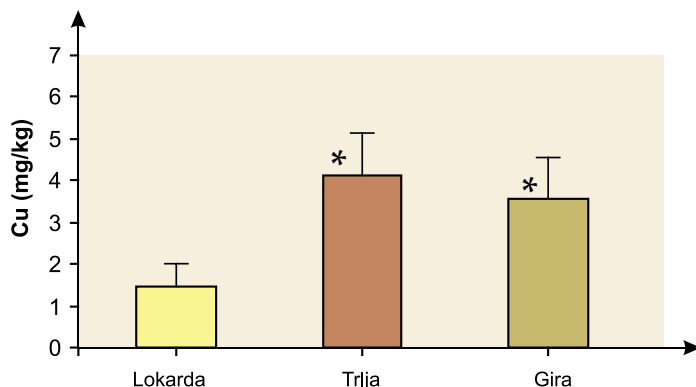
Riba	Metal	Broj uzoraka	Koncentracije (mg/kg)			
			Minimum	Maksimum	Srednja vrijednost	Standardna pogreška
LOKARDA	Pb	22	0,005	0,061	0,009	± 0,003
TRLJA		26	0,001	0,269	0,053**	± 0,014
GIRA		28	0,001	0,464	0,066**	± 0,019
LOKARDA	Hg	22	0,001	0,233	0,096	± 0,016
TRLJA		26	0,001	2,110	0,249	± 0,081
GIRA		28	0,001	2,065	0,337*	± 0,109
LOKARDA	Cu	22	0,001	8,78	1,66	± 0,537
TRLJA		26	0,020	16,94	4,09*	± 1,001
GIRA		28	0,081	18,55	3,73*	± 0,968

Statistički značajne razlike između vrsta za pojedini metal pri nivou značajnosti:

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$



Slika 2. Koncentracije Hg (mg/kg) u tri vrste riba južnog i srednjeg Jadrana: lokarda (*Scomber japonicus*), trlja kamenjar (*Mullus surmuletus*) i gira (*Spicara smaris*).



Slika 3. Koncentracije Cu (mg/kg) u tri vrste riba južnog i srednjeg Jadrana: lokarda (*Scomber japonicus*), trlja kamenjarke (*Mullus surmuletus*) i gira (*Spicara smaris*).

Vrijednosti označene * statistički se značajno razlikuju od vrijednosti bez * ($p < 0,05$)

trlji ($p < 0,01$, obje) u odnosu na vrijednosti određene u lokardi.

Raspon koncentracija Hg (mg/kg) u promatranim vrstama riba određen je za: lokarda 0,001- 0,233, trlja 0,001-2,11 i gira 0,001-2,065. Najniža srednja vrijednost Hg od 0,096 mg/kg utvrđena je u lokardi. Statistički značajno više vrijednosti Hg utvrđene su u giri ($p < 0,05$) u odnosu na vrijednosti Hg lokarde.

Koncentracije Cu (mg/kg) određene su u rasponu: lokarda 0,001- 8,78, trlja 0,02-16,948 i gira 0,081-18,55. Najviša srednja vrijednost koncentracija Cu utvrđena je u trlji (4,09 mg/kg). Utvrđene su statistički značajno više vrijednosti koncentracija Cu u giri i trlji ($p < 0,05$, obje) u odnosu na koncentracije Cu lokarde.

Rasprava

Različita istraživanja pokazala su da koncentracije metala u mišićnom tkivu riba značajno ovise o lokaciji ulova ribe (Kalay i sur., 1999., Bustamante i sur., 2003., Canli i Atli, 2003., Turkmen i sur., 2005., Dural i sur., 2007., Türkmen i

sur., 2009.). Razlike u koncentracijama metala između različitih vrsta riba ovise o starosti, veličini i dužini ribe, njezinim hranidbenim navikama, koncentraciji metala u vodi i vremenu izlaganja. Ovisi i o fizikalnim i kemijskim karakteristikama vode koje imaju znatan utjecaj na nakupljanje metala u riba kao što su: slanost, pH, tvrdoća i temperatura vode (Bryan i Langston, 1992., Al-Yousuf i sur., 2000., Canli i Atli, 2003., Watanabe i sur., 2003., Dural i sur., 2007.).

U ovom istraživanju srednje vrijednosti Pb u mišićnim tkivima triju vrsta riba lokarde (*Scomber japonicus*), trlje kamenjarke (*Mullus surmuletus*) i gire (*Spicara smaris*) kretale su se od 0,009 do 0,066 mg/kg. Dobivene vrijednosti su za 4,5 do 33 puta niže u odnosu na najvišu dopuštenu koncentraciju Pb od 0,3 mg/kg (EEC 2001., N.N. br. 154/2008.).

Dobivene koncentracije podudaraju se s koncentracijama Pb u određenim ribama iz središnjeg Jadrana, za trlju 0,036 mg/kg i lokardu 0,011 mg/kg (Sepe i sur., 2003.). Međutim, u istraživanju provedenom u istočnom Jadranu utvrđene su više koncentracije Pb u ra-

sponu 0,049-0,141 mg/kg u osliću i 0,057-0,158 mg/kg u trlji kamenjarki (Kljaković Gašparić i sur., 2002.). Koncentracije Pb u rasponu 0,002–0,07 za trlju i 0,01–0,02 za lokardu određene su u moru oko Katalonije, Španjolska (Falcó i sur., 2006.). Međutim, istraživanja koncentracija Pb (mg/kg) u različitim vrstama riba u morima Turske pokazala su više koncentracije koje su se kretale u rasponu: 2,98-6,12, 0,09–6,95 i 0,14–1,28 u sjevernom Mediteranskom i Egejskom moru (Canli i Atli, 2003., Türkmen i sur., 2005., Türkmen i sur., 2009.), 0,22–0,85 u srednjem Crnom moru (Tuzen, 2003.), 0,068–0,74 (Yilmaz i sur., 2007.) i 0,33-0,93 u Crnom i Egejskom moru (Uluzozlu i sur., 2007.).

Srednje koncentracije Hg (mg/kg) određene u ribama u ovome radu su: 0,096 za lokardu, 0,249 za trlju i 0,337 za giru. Ustvrdene su koncentracije ispod najviših dopuštenih koncentracija (EEC 2001., N.N. br. 154/2008.) od: 0,5 mg/kg za *Scomber species and Spicara species* te 1,0 mg/kg za trlju (*Mullus surmuletus*). U prijašnjim istraživanjima u Španjolskoj koncentracije Hg određene su u rasponu 0,14–0,36 mg/kg u trlji, 0,08–0,09 mg/kg u incunu, 0,12–0,29 mg/kg u osliću, 0,06–0,15 mg/kg u lokardi (Falcó i sur., 2006.), odnosno 0,01-0,023 mg/kg u tri vrste riba sjevernog Atlanskog mora Španjolske (Usero i sur., 2003.). Najviše koncentracije Hg od 0,39 mg/kg su utvrđene u osliću Jadranskog mora (Storelli i sur., 2005.) te u repatom zmijčinjaku (0,90 mg/kg) ulovljenom u Portugalu (Afonso i sur., 2007.).

Legislativa Europske Zajednice te hrvatska legislativa nema određene najviše dopuštene koncentracije Cu u

ribljim vrstama. Prema turskoj legislativi najviša dopuštena koncentracija Cu u ribama je 20 mg/kg (TKB, 2002.). U prijašnjim istraživanjima navedene su dopuštene koncentracije od 10 do 100 mg/kg u ribi (Nauen, 1983.). U ovome istraživanju određene su srednje koncentracije Cu (mg/kg): 1,66 za lokardu, 4,09 za trlju i 3,73 za giru. Dobivene vrijednosti Cu (mg/kg) su slične prijašnjim istraživanjima provedenim u različitim ribljim vrstama u morima Turske: 2,19-4,41, 0,639-2,976, 0,065–4,36, i 0,51-6,22 u sjevernom Mediteranskom i Egejskom moru (Canli i Atli, 2003., Turkmen i sur., 2005., Yilmaz i sur., 2007., Turkmen i sur., 2009.) i 0,23-9,49 u Mramornom moru (Keskin et al., 2007.). Međutim, više su u odnosu na određene koncentracije Cu (mg/kg) u mišićnom tkivu riba: 0,11-0,97 mg/kg sa sjevernog Atlantika (Celik i Oehlenschlager, 2004.), 0,4-1,5 u Španjolskoj (Usero i sur., 2003.), 0,26-0,82 u Tuzla laguni u Turskoj (Dural i sur., 2007.), 1,28-2,93 i 0,73-1,83 u Crnom i Egejskom moru (Tuzen, 2003., Uluzozlu i sur., 2007.).

Rezultati određivanja metala u ovome istraživanju pokazuju da su najviše koncentracije Pb i Hg utvrđene u giri, a Cu u trlji kamenjarki, dok mišićno tkivo lokarde sadrži najniže koncentracije tri određivana metala. Određene koncentracije su ispod najviših dopuštenih koncentracija propisanih legislativom Europske Zajednice i Republike Hrvatske. Dobiveni rezultati pokazuju stanje kontaminacije riba u priobalju srednjeg i južnog Jadrana te možemo zaključiti da je kontaminacija ovim metalima niska i da su istraživane vrste riba po-

godne za konzumaciju široke hrvatske populacije.

Sažetak

U ovome radu određivane su koncentracije metala olova (Pb), žive (Hg) i bakra (Cu) u mišićnom tkivu tri vrste riba iz središnjeg i južnog Jadranskog mora Republike Hrvatske: lokarda (*Scomber japonicus*), trlja kamenjarka (*Mullus surmuletus*) i gira (*Spicara smaris*).

Koncentracije Pb (mg/kg) određene su u rasponu: lokarda 0,005-0,061, trlja 0,001-0,269 i gira 0,001-0,464. Statistički značajno više koncentracije Pb utvrđene su u giri i trlji ($p < 0,01$, obje) u odnosu na vrijednosti određene u lokardi. Koncentracije Hg (mg/kg) u promatranim vrstama riba bile su u rasponu: lokarda 0,001-0,233, trlja 0,001-2,11 i gira 0,001-2,065. Statistički značajno više vrijednosti Hg utvrđene su u giri ($p < 0,05$) u odnosu na Hg trlje i lokarde. Koncentracije Cu (mg/kg) su određene u rasponu: lokarda 0,001-8,78, trlja 0,02-16,948 i gira 0,081-18,55. Utvrđene su statistički značajno više vrijednosti koncentracija Cu u giri i trlji ($p < 0,05$, obje) u odnosu na vrijednosti Cu lokarde. Određene koncentracije metala su ispod najviših dopuštenih koncentracija propisanih legislativom Europske Zajednice te Republike Hrvatske.

Rezultati određivanja metala u ovome istraživanju pokazuju da su najviše koncentracije Pb i Hg utvrđene u giri, Cu u trlji kamenjarki, dok mišićno tkivo lokarde ima najniže koncentracije tri

određivana metala. Dobiveni rezultati pokazuju da je kontaminacija promatranih ribljih vrsta ovim metalima niska te da su pogodne za konzumaciju široke hrvatske populacije.

Literatura

1. AFONSO, C., H. M. LOURENC, ABREU DIAS, M. L. NUNES and M. CASTRO (2007): Contaminant metals in black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) caught off Madeira and the Azores. *Food Chem.* 101, 120–125.
2. AL-YOUSUF, M. H., M. S. EL-SAHAWAWI and S. M. AL-GHASIS (2000): Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci. Total Environ.* 256, 87–94.
3. BRYAN, G. and W. J. LANGSTON (1992): Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environ. Pollut.* 76, 89–131.
4. BUSTAMANTE, P., P. BOCHER, Y. CHEREL, P. MIRAMAND and F. CAURANT (2003): Distribution of trace elements in the tissues of benthic and pelagic fish from the Kerguelen Islands. *Sci. Total Environ.* 313, 25–39.
5. CANLI, M. and G. ATLI (2003): The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.* 121, 129–136.
6. CASTRO-GONZÁLEZ, M. I. and M. MÉNDEZ-ARMENTA (2008): Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 263–271.
7. CATSIKI, V. A. and E. STROGYLOUDI (1999): Survey of metal levels in common fish species from Greek waters. *Sci. Total Environ.* 237/238, 387–400.
8. CELIK, U. and J. OEHLenschLAGER (2004): Determination of zinc and

- copper in fish samples collected from Northeast Atlantic By DPSAV. Food Chem. 87, 343–347.
9. DURAL, M., GOKSU, M. Z. L. and A. A. OZAK (2007): Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. Food Chem. 27, 521–526.
 10. EEC (2001): Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Communities, L77.
 11. FALCÓ, G., J. M. LLOBET, A. BOCIO and J. L. DOMINGO (2006): Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. J. Agric. Food Chem. 54, 6106–6112.
 12. GOYER, R. A. (1996): Toxic effects of metals. In: C. D. Klaassen, Ed., Casarett & Doull's toxicology, McGraw-Hill, New York, 691–736.
 13. JARUP, L. (2003): Hazards of heavy metal contamination. Brit. Med. Bull. 68, 167–182.
 14. KALAY, M., O. AY, and M. CANLI (1999): Heavy metal concentrations in fish tissues from the Northeast Mediterranean Sea. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63, 673–681.
 15. KESKIN, Y., R. BASKAYA, O. OZYARAL, T. YURDUN, N. E. LULECI and O. HAYRAN (2007): Cadmium, lead, mercury and copper in fish from the Marmara Sea, Turkey. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 78, 258–261.
 16. KLJAKOVIĆ GAŠPARIĆ, Z., T. ZVONARIĆ, N. VRGOČ, N. ODŽAK and A. BARIĆ (2002): Cadmium and lead in selected tissues of two commercially important fish species from the Adriatic Sea. Water Res. 36, 5023–5028.
 17. MORRIS, M. C., D. A. EVANS, C. C. TANGNEY, J. L. BIENIAS and R. S. WILSON (2005): Fish consumption and cognitive decline with age in a large community study. Arch. Neurol. 62, 1849–1853.
 18. NAUEN, C. E. (1983): Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products. FAO Fish Circular 764, 102.
 19. Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi (N. N. br. 154/2008.).
 20. SEPE, A., L. CIARALLI, M. CIPROTTI, R. GIORDANO, E. FUMARI and S. COSTANTINI (2003): Determination of cadmium, chromium, lead and vanadium in six fish species from the Adriatic Sea. Food Addit. Contam. 20, 543–552.
 21. STORELLI, M. M., A. STORELLI, R. GIACOMINELLI-STUFFLER and G. O. MARCOTRIGIANO (2005): Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean sea: estimated weekly intake. Food Chem. 89, 295–300.
 22. STORELLI, M. M., G. BARONE, R. GAROFALO and G. O. MARCOTRIGIANO (2007): Metals and organochlorine compounds in eel (*Anguilla anguilla*) from the Lesina lagoon, Adriatic Sea (Italy). Food Chem. 100, 1337–1341.
 23. TKB (2002): Fisheries laws and regulations. Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Conservation and Control General Management. Ankara, Turkey.
 24. TÜRKMEN, A., M. TÜRKMEN, Y. TEPE and I. AKYURT (2005): Heavy metals in three commercially valuable fish species from Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. Food Chem. 91, 167–172.
 25. TÜRKMEN, M., A. TÜRKMEN, Y. TEPE, Y. TÖRE and A. ATES (2009): Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. Food Chem. 113, 233–237.
 26. TÜZEN, M. (2003): Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Food Chem. 27, 521–526.

27. ULUOZLU, O. D., M. TUZEN, D. MENDIL and M. SOYLAK (2007): Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. *Food Chem.* 104, 835–840.
28. USERO, J., C. IZQUIERDO, J. MORILLO and I. GRACIA (2003): Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environ. Internat.* 29, 949–956.
29. WATANABE, K. H., F. W. DESIMONE, A. THIYAGARAJAH, W. R. HARTLEY and A. E. HINDRICH (2003): Fish tissue quality in the lower Mississippi River and health risks from fish consumption. *Sci. Total Environ.* 302, 109–126.
30. YILMAZ, F., N. OZDEMIR, A. DEMIRAK and A. L. TUNA (2007): Heavy metal levels in two fish species *Leuciscus cephalus* and *Lepomis gibbosus*. *Food Chem.* 100, 830–835.

Lead, mercury and copper concentrations in three fish species from the Adriatic Sea

Nina BILANDŽIĆ, Ph.D., Grad. Biotechnology Eng., Scientific Associate, Maja DOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb

This paper describes the determination of concentrations of lead (Pb), mercury (Hg) and copper (Cu) in muscle tissue of three fish species from the central and southern Adriatic Sea of Croatia: mackerel (*Scomber japonicus*), red mullet (*Mullus surmuletus*) and picarel (*Spicara smaris*).

Pb concentration ranges were the following (mg/kg): 0.005–0.061 in mackerel, 0.001–0.269 in red mullet and 0.001–0.464 in picarel. Significantly higher Pb concentrations were found in picarel and red mullet ($p < 0.01$, both) compared those found in mackerel. Hg concentrations (mg/kg) in the observed fish species were in the following ranges: 0.001–0.233 in mackerel, 0.001–2.11 in red mullet and 0.001–2.065 in picarel. Significantly higher Hg values were found in picarel ($p < 0.05$) than in

mackerel and red mullet. Cu concentrations (mg/kg) were in the following ranges: 0.001–8.78 in mackerel, 0.02–16.948 in red mullet and 0.081–18.55 in picarel. Cu concentrations were significantly higher in picarel and red mullet ($p < 0.05$, both) than in mackerel. Metal concentrations obtained in the study were below the limits set forth in the EU and Croatian regulations.

Results of determination of metals in this study indicated that the maximum Pb and Hg concentrations were found in picarel and maximum Cu concentrations in red mullet, while mackerel had lowest concentrations of all three metals. The results indicate that metal contamination of the observed fish species is low and that they are suitable for consumption by the general population in Croatia.

Riketron® N

injekcijska otopina

antibakterijski lijek za sustavne infekcije, sulfonamidi i trimetoprim za konje, goveda i svinje

Sastav

1 mL žute injekcijske otopine Riketron N sadržava:

Sulfadimidin natrij 215,8 mg

Trimetoprim 40 mg

Pomoćne tvari: benzilni alkohol, voda za injekcije, N-metilpirolidon

Osnovna svojstva i djelovanje

Riketron N je kombinirani sulfonamidski pripravak potenciranog djelovanja. Aktivne tvari - sulfadimidin natrij i trimetoprim u osjetljivim bakterijama kože, na dva mjesta, sintezu folne kiseline. Time se postiže veća učinkovitost negoli što je očituje svaki od sastojaka zasebno. Kombinacija sulfadimidin-trimetoprim djeluje *in vitro* protiv mnogih gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija kao što su: *Actinobacillus* spp., *Actinomyces* bovis, *Bordetella* spp., *Corynebacterium* spp., *E. coli*, *Fusobacterium necrophorum*, *Haemophilus* spp., *Klebsiella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Nocardia* spp., *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp. te *Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* spp.

Potencirani sulfonamidi nisu učinkoviti protiv bakterija:

Leptospira spp., *Pseudomonas* spp. i *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Indikacije

Liječenje početnih stadija infekcijskih bolesti uzrokovanih bakterijama osjetljivim na kombinaciju sulfadimidin-trimetoprim u goveda, svinja i konja:

- primarne i sekundarne infekcije dišnog sustava (rinitis, bronhitis, pneumonija)
- infekcije probavnog sustava (koli infekcije, salmoneloza, infekcije nistiji)
- infekcije mokraćno-spolnog sustava (cistitis, uretritis, nefritis, metritis, MMA-sindrom kmača, mastitis)
- infekcije nakon operacijskih zahvata i septikemije
- druge infekcije (nekrotični pododermatitis, infekcije kože, papaka, oka, uha i dr.)

Način primjene i doze

Prije uvlačenja otopine u brizgaljku sadržaj u bočici treba dobro promućkati. Riketron N se aplicira i.m. u mišice vrata ili sporo i.v. Doza Riketrona-a N iznosi 1 mL/15 kg t.m./dan (16 mg obje djelatne tvari/kg/dan), a u slučaju težih infekcija 1 mL/10 kg t.m./dan (24 mg obje djelatne tvari/kg/dan). Liječenje, u pravilu, traje 3-5 uzastopnih dana. Primjeni treba nastaviti još najmanje 2 dana nakon što se povuku klinički znakovi infekcije.

* U konja se nakon i.v. primjene mogu javiti vrlo opasne šok reakcije. Riketron N se smije i.v. aplicirati samo ako je izravno ugrožen život jedinke. Prvo treba injicirati malu dozu i konja pažljivo promatrati; ako sve protekne dobro kasnije se može vrlo sporo injicirati preostali dio doze. Riketron N mora biti zgrisan na tjelesnu temperaturu. U slučaju prvih znakova akutne nepodnošljivosti primjenu treba prekinuti i započeti liječenje šoka.

Karencija

Meso i jestive iznutrice:

Svinja 10 dana

Govedo i konj 12 dana

Mlijeko krava 5 dana

MRL status - svi sulfonamidi i trimetoprim razvrstani su u Aneks I

Rok valjanosti

Označen je na opremi, u originalnoj ambalaži 3 godine. Sadržaj načete bočice treba utrošiti u roku 28 dana.

Pakiranje

100 mL

Proizvođač

AniMedica d.o.o., Senden-Bosnel, S.R. Njemačka

Zastupnik

Centralna veterinarska agencija d.o.o., Zagreb, R. Hrvatska

Cijena

42,50 kn / 100 mL



GVA

ANIMEDICA



(VINA) Jake snage sulfadimidina i trimetoprima okupljene u terapijskoj skupini za posebne namjene Riketron N, poznatoj po efikasnosti u srazu sa mnogobrojnim terorističko - bakterijskim organizacijama, počele su danas ujutro od 7 sati po lokalnom vremenu teško bombardiranje snažnih uporišta uzročnika primarnih i sekundarnih infekcija. Krizni stožer Centralne veterinarske agencije poslao je naputak svim snagama na terenu da se u slučaju pomanjkanja borbenih sredstava terapijske skupine Riketron N, iste mogu obnoviti

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Broj somatskih stanica i broj mikroorganizama u mlijeku namijenjenom izravnoj prodaji



M. Benić, B. Habrun, G. Kompes, Ž. Cvetnić, A. Kostelić i N. Maćešić

Uvod

Kakvoća mlijeka u Republici Hrvatskoj regulirana je Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka. (Narodne novine, 102/2000. od 17.10.2000.). Pravilnikom se utvrđuju zahtjevi kojima mora udovoljavati sirovo mlijeko pri otkupu, način ispitivanja njegove kakvoće te uvjeti kojima moraju udovoljavati ispitni laboratoriji. Za određivanje broja somatskih stanica i broja mikroorganizama uzima se jedan uzorak mjesечно na propisani način, a pretrage se obavljaju u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka Križevci (SLKM). Proizvođači mlijeka i mliječnih proizvoda koji su namijenjeni javnoj potrošnji, a nisu u sustavu kontrole sirovog mlijeka od strane SLKM-a, dužni su obaviti kontrolu sirovog mlijeka pretragom stajskih uzoraka mlijeka na somatske

stanice i ukupni broj mikroorganizama 4 puta godišnje u nekom od ovlaštenih laboratorija.

Važnost se određivanja higijenske kakvoće sirovog mlijeka ogleda u tome što je proizvođač hrane zakonski odgovoran za zdravlje potrošača. Osim toga, senzorske osobine proizvoda kao i vrijeme održivosti izravno ovise o broju somatskih stanica i broju mikroorganizama u sirovini iz koje su proizvedeni (Barbano i sur., 2006.).

Treba naglasiti da broj somatskih stanica ponajviše ovisi o zdravlju mliječne žlijezde, premda osim infekcije na njihov broj mogu utjecati i brojni čimbenici neinfektivne naravi.

Mikroorganizmi u sirovom mlijeku mogu potjecati iz unutrašnjosti vimena, s vanjske površine vimena te iz

Dr. sc. Miroslav BENIĆ, dr. vet. med., znanstveni suradnik, dr. sc. Boris HABRUN, dr. vet. med., znanstveni savjetnik, Gordan KOMPES, dr. vet. med., znanstveni novak, dr. sc. Željko CVETNIĆ, izvanredni profesor, Hrvatski veterinarski institut; dr. sc. Antun KOSTELIĆ, dr. vet. med., docent, Agronomski fakultet Zagreb; dr. sc. Nino MAĆEŠIĆ, dr. vet. med., viši asistent, Veterinarski fakultet Zagreb

okoliša krave (Bramley i McKinnon, 1990.). Iako inficirano vime može biti izvor kontaminacije, povećani je ukupni broj mikroorganizama najčešće posljedica manipulacije mlijekom nakon mužnje, a najčešći izvor kontaminacije je muzni pribor i oprema koja dolazi u izravni dodir s mlijekom kao što su dijelovi muznog uređaja, posude za mlijeko, cjedila itd. Inficirana je mliječna žlijezda rijetko uzrok povećanju ukupnog broja mikroorganizama i to uglavnom ako je inficirana streptokokima (Bramley i sur., 1984., Ryšanek i sur., 2009.). I u tim slučajevima povećanje broja mikroorganizama u stajskom uzorku mlijeka ovisi o broju inficiranih četvrti u stadu.

Materijal i metode

Uzorci su mlijeka dostavljeni u Hrvatski veterinarski institut u prvoj polovici 2009. godine putem veterinarske inspekcije i terenske veterinarske službe temeljem Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametnički bolesti i njihovom financiranju u 2009. godini.

Stajski su uzorci za određivanje broja somatskih stanica uzeti u plastične posudice s konzervansom kalijevim bikromatom.

Uzorci namijenjeni određivanju ukupnog broja mikroorganizama uze-

ti su u sterilne jednokratne epruvete i dostavljeni u HVI brzom dostavom.

Broj somatskih stanica određen je fluorooptoelektronskom metodom pomoću uređaja Fossomatic 5000basic, a broj je mikroorganizama određen metodom deseterostrukih razrijeđenja i naciepljivanjem na hranjivu podlogu *Plate count agar*.

Brojčani su rezultati obrađeni računalnim programom Stata 6.0 (Stata Corp. SAD).

Rezultati

Broj somatskih stanica određen je u ukupno 377 uzoraka, dok je ukupni broj mikroorganizama određen u 166 uzoraka. U 159 uzoraka određene su obje vrijednosti.

Broj somatskih stanica izražen kao geometrijska sredina iznosio je 185.000 ml⁻¹ (95% interval povjerenja 160.000-214.000 ml⁻¹) pri čemu je u 116 od ukupno 377 pretraženih uzoraka (30,8%) iznosio više od 400.000/ml.

Broj je mikroorganizama izražen geometrijskom sredinom iznosio 180.000/ml⁻¹ (95% interval povjerenja 123.000-263.000 ml⁻¹). Pritom je u 106 od 166 pretraženih uzoraka (63,9%) ukupni broj mikroorganizama iznosio više od 100.000/ml. U svega 24,5% uzoraka istovremeno je bilo manje od 400.000

Tablica 1. Broj somatskih stanica i broj mikroorganizama u pretraženim uzorcima

Parametar pretraživanja	Geometrijska sredina (x10 ³)	95 % Interval povjerenja (x10 ³)
Broj somatskih stanica	185	160 - 214
Ukupni broj mikroorganizama	180	123 - 263

Tablica 2. Kakvoća pretraženih uzoraka

	Parametar pretraživanja	
	Broj somatskih stanica	Broj mikroorganizama
Broj pretraženih uzoraka	377	166
U skladu s normativima	261	60
%	69,2	36,1
Izvan dopuštenih granica	116	106
%	30,8	63,9

Tablica 3. Razdioba uzoraka u odnosu na pretražene parametre

		Broj mikroorganizama ($\times 10^3$)		Ukupno
		<100	>100	
BSS ($\times 10^3$)	<400	39 (24,5%)	76 8 (47,8)	115 (72,3%)
	>400	20 (12,6%)	24 (15,1%)	44 (27,7%)
Ukupno uzoraka		59 (37,1%)	100 (62,9%)	159 (100%)

somatskih stanica i manje od 100.000 bakterija u 1 ml mlijeka, dok su u 15% uzoraka obje vrijednosti bile iznad granica propisanih normativima.

Rasprava

Proizvodnja je mlijeka u Republici Hrvatskoj obilježena brojnim promjenama u posljednjih nekoliko godina. Stupanjem na snagu Pravilnika o kakvoći svježeg sirovog mlijeka promjene su se ubrzale i imale su i još uvijek imaju za posljedicu smanjenje broja malih proizvođača uz istovremeno okrupnjavanje tržišno orijentiranih proizvođača. Kao ilustraciju navodimo podatke iz godišnjeg izvješća Središnjeg laboratorija za kontrolu mlijeka Križevci. Tako je u 2003. godini u količinskom

razredu do 6.000 litara godišnje bilo ukupno 33.936 proizvođača mlijeka s prosječnom godišnjom proizvodnjom od 2.638 litara. Istovremeno je bilo 180 proizvođača mlijeka s godišnjom proizvodnjom većom od 100.000 litara. U 2008. godini u količinskom razredu do 6.000 litara bilo je 9.959 proizvođača, dok je broj proizvođača u razredu preko 100.000 litara mlijeka porastao na 913 (Anon. 2009.). Razumljivo je da je provođenje higijenskih mjera tijekom mužnje, koje su temeljni uvjet za smanjenje mikrobne kontaminacije mlijeka, lakše izvedivo u većim uzgojima s uređenim izmuzištima.

Strukturne promjene nikako ne znače potpunu eliminaciju malih proizvođača, već prilagodbu pojedinih proizvođača na novostvorene uvjete

tržišta. Jedan od načina prilagodbe je tzv. izravna prodaja koja je definirana kao prodaja bez posrednika krajnjem potrošaču, a uključuje i preradu na gospodarstvu (Kovačić, 1994.). Interes za izravnu prodaju u porastu je u cijelom svijetu između ostalog i zbog sve većih ograničenja potpora u poljoprivredi. Smatra se da su promjenama na hrvatskom tržištu najviše pogođena mala i srednja seoska gospodarstva. U ovom načinu trženja interes pronalaze prodavatelji kroz više cijene i njihovo manje kolebanje, ali i kupci, jer dobivaju svježiji i kvalitetniji proizvod od poznatog proizvođača. Procjenjuje se da u Republici Hrvatskoj udio izravne prodaje mlijeka i mliječnih prerađevina u ukupnoj prodaji iznosi između 8 i 10%.

Kada je u pitanju broj somatskih stanica rezultati istraživanja ne odstupaju puno od dosadašnjih istraživanja. U istraživanju iz 2001. godine udio uzoraka s više od 400.000 somatskih stanica u 1 mL mlijeka varirao je od 17,7% do 39%, ovisno o mjesecu promatranja, odnosno od 22,6% do 34,2% promatrano po županijama (Benić i Mihaljević, 2002.). Napominjemo da prema podacima SLKM Križevci, udio mlijeka s manje od 400.000 somatskih stanica u 1 mL mlijeka, iznosi oko 90%. Usporedba s vrijednošću dobivenom u našem istraživanju nije moguća s obzirom da se radi o količinskom udjelu mlijeka, a ne o broju proizvođača.

Veća odstupanja uočena su kada je u pitanju ukupni broj mikroorganizama. Naime, prema podacima SLKM Križevci količinski udio mlijeka s više od 100.000 mikroorganizama u 1 mL mlijeka iznosi približno 20%. Premda

podatci zbog načina iskazivanja nisu usporedivi ipak napominjemo da je u našem istraživanju 63,9% uzoraka bilo higijenski neprihvatljivo zbog većeg broja mikroorganizama.

Uzimajući u obzir oba istražena parametra, svega 24,5% uzoraka udovoljava postavljenim kriterijima. Nasuprot tomu, 72,1% mlijeka pod redovitom mjesečnom kontrolom SLKM je tzv. EU klase, odnosno udovoljava postavljenim kriterijima uzimajući u obzir oba parametra. Ovako veliki broj uzoraka koji ne zadovoljavaju kriterije u našem istraživanju, vjerojatno je dobrim dijelom uzrokovan načinom dostave uzorka. Naime, budući da se u Hrvatskom veterinarskom institutu nekonzervirani uzorci pretražuju njepljivanjem deseterostrukih razrjeđenja na hranjive podloge, jasno je da je broj mikroorganizama veći u uzorcima koji su transportirani u neprikladnim uvjetima. Napominjemo da se uzorci za istovjetne analize u SLKM Križevci uzimaju u ambalaži s dodanim konzervansom i obrađuju strojno.

Kakvoća je mlijeka namijenjenog izravnoj prodaji u pogledu broja somatskih stanica, a posebno broja mikroorganizama nezadovoljavajuća i iziskuje veći angažman inspeksijskih i savjetodavnih službi s obzirom na znatan udio izravne prodaje u ukupnom prometu mlijeka i mliječnih prerađevina.

Sažetak

U radu je prikazan broj somatskih stanica i ukupni broj mikroorganizama

ma u uzorcima sirovog mlijeka onih proizvođača koji nisu u sustavu redovite mjesečne kontrole Središnjeg laboratorija za kontrolu mlijeka. Broj somatskih stanica određen je fluoroop-toelektronskom metodom na uređaju Fossomatic 5000basic, a ukupni broj mikroorganizama metodom deseterostrukih razrijeđenja i nacijskepljivanjem na hranjivu podlogu.

Geometrijska sredina broja somatskih stanica iznosila je 185.000 mL^{-1} (95% interval povjerenja $160.000\text{--}214.000 \text{ mL}^{-1}$). Utvrđeno je da broj somatskih stanica u 30,7% pretraženih uzoraka prelazi vrijednost 400.000 mL^{-1} . Geometrijska sredina ukupnog broja mikroorganizama iznosila je $180.000/\text{mL}^{-1}$ (95% interval povjerenja $123.000\text{--}263.000 \text{ mL}^{-1}$) pri čemu 37% uzoraka udovoljava kriterijima za I klasu, a 63% uzoraka pripada II klasi prema Uredbi o ciljnoj cijeni svježeg sirovog mlijeka.

Usporedbom dobivenih vrijednosti s vrijednostima dobivenim iz uzoraka koji su pod kontrolom Središnjeg laboratorija može se zaključiti da s obzirom na broj somatskih stanica nema većih odstupanja između proizvođača mlijeka koji su pod mjesečnom kontrolom SLKM i onih koji izravno prodaju mlijeko. Uočljive su razlike vidljive kada je u pitanju ukupni broj mikroorganizama pri čemu je u uzorcima mlijeka namijenjenima izravnoj prodaji daleko veća zastupljenost mlijeka nižeg razreda kakvoće.

Premda razlozi uočenih razlika mogu biti posljedica različite metodologije prikupljanja i obrade uzoraka

između ovih dviju skupina proizvođača mlijeka, poštivanje higijenskih standarda u primarnoj proizvodnji i obradi mlijeka zadaća je svakog proizvođača mlijeka kako bi se ispunili kriteriji higijenske kakvoće krajnjeg proizvoda.

Literatura

1. Anon. (2009): Izvješće o radu 2008. godini. Središnji laboratorij za kontrolu mlijeka. Zagreb 2009.
2. BARBANO, D. M., Y. MA and M. V. SANTOS (2006): Influence of Raw Milk Quality on Fluid Milk Shelf Life. *J. Dairy Sci.* 89, 15-19.
3. BENIĆ, M. i Ž. MIHALJEVIĆ (2002): Higijenska kakvoća sirovog kravljeg mlijeka u Republici Hrvatskoj. *Veterinarski dani*. Rovinj, 17-20. 10. 2002. Zbornik radova. Zagreb (55-56).
4. BRAMLEY, A. J., C. H. MCKINNON, R. T. STAKER and D. L. SIMPKIN (1984): The effect of udder infection on the bacterial flora of the bulk milk of ten dairy herds. *J. Appl. Bacteriol.* 57, 317-323.
5. BRAMLEY, A. J. and C. H. MCKINNON (1990): The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K.: *Dairy Microbiology*, Vol. 1. Elsevier Science Publishers, London (163-208).
6. KOVAČIĆ, D. (1994): Izravno tržišтво mlijeka u Hrvatskoj. Disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
7. RYŠANEK, D., MONIKA ZOUHAROVA and V. BABAK (2009): Major mammary pathogens as contributors of total bacterial counts in raw milk. *Acta Vet. Brno* 78, 455-461.

Somatic cell count and total bacteria count in milk for direct marketing

Miroslav BENIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Associate, Boris HABRUN, DVM, Ph.D., Scientific Advisor, Gordan KOMPES, DVM, Junior Researcher, Željko CVETNIĆ, DVM, Ph.D., Associate Professor, Croatian Veterinary Institute; Antun KOSTELIĆ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Faculty of Agriculture Zagreb; Nino MAČEŠIĆ, DVM, Ph.D., Senior Assistant, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb

Results of the somatic cell count (SCC) and total bacteria count (TBC) in milk samples for direct marketing are presented. SCC was determined using the fluorooptoelectric method using Fossomatic 5000basic, while total bacteria count was determined by plating decimal dilutions of milk samples.

SCC expressed as a geometric mean was 185,000 per ml (95% CI 160-214 x103) with 30.7% of samples greater than 400,000 per ml. Regarding total bacteria count, 37% of samples fulfilled the criteria for the higher hygiene category, while 63% of samples belonged to the lower category according to the Regulation of raw milk prices. The geometric mean of TBC was 180x103 per ml (95% CI 123-263 x103).

Comparison of the obtained results with data on samples under the monthly control of the Central Laboratory for Milk Control detected no obvious differences concerning SCC. However, the discrepancy is greater if total bacteria count is considered, as a higher proportion of samples with high values of the total bacteria count were found in the direct marketing group.

Although the applied methodology could have influenced the results and observed differences between the two groups of milk producers, milk producers must ensure hygienic conditions in order to meet standards, regardless of the type of marketing.

Utjecaj intrauterine aplikacije cefapirina na poboljšanje reproduktivne učinkovitosti krava

M. Samardžija, A. Klarić, J. Grizelj, D. Đuričić, T. Dobranić, Nikica Prvanović, G. Bačić, T. Karadjole, S. Vince i I. Folnožić



Uvod

Ocjena kvalitete rasplodne učinkovitosti stada zasniva na trajanju servis perioda i međutelidbenog razdoblja, indeksu osjemenjivanja, postotku koncepcije i postotku gravidnih plotkinja nakon prvog umjetnog osjemenjivanja (UO) (Kočila i sur., 2009.). Razdoblje puerperija obilježeno je involucijom organa spolnog sustava, obnavljanjem endometrija i dubljih struktura stijenske maternice, uklanjanjem bakterijske kontaminacije iz maternice, povratkom ciklične aktivnosti jajnika i početkom razdoblja laktacije (Noakes, 2009.).

U svrhu postizanja optimalnog međutelidbenog razdoblja, osjemenjivanjem bi ovisno i pasmini krava trebalo

započeti 50. do 60., odnosno do 100. dana dana post-partuma (Samardžija i sur., 2008.). Poremećaji nekog od fizioloških mehanizama nakon poroda vodi reproduktivnim nepravilnostima, slabijoj koncepciji te produženom servisnom i međutelidbenom razdoblju (Dobranić i sur., 2008.). Anestrus se u puerperiju definira kao izostanak simptoma estrusa krava u razdoblju kad bi krave trebalo osjemenjivati. Krave koje se ne gone u prvih 60 dana post-partuma smatraju se problematičnim te ih treba pregledati (Tomašković i sur., 2007.). Puerperalnim se bolestima smatraju patološka stanja roditelje u direktnoj ili indirektnoj vezi s porođajem koja

Dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. vet. med., docent, Veterinarski fakultet Zagreb; Ante KLARIĆ, dr. vet. med., Veterinarska stanica Tomislavgrad, BiH; dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. vet. med., docent, dr. sc. Tomislav DOBRANIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ, dr. vet. med., docentica, dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. vet. med., izvanredni profesor, dr. sc. Tugomir KARADJOLE, dr. vet. med., docent, Silvijo VINCE, dr. vet. med., viši asistent, Ivan FOLNOŽIĆ, dr. vet. med., znanstveni novak, Veterinarski fakultet Zagreb; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. vet. med., znanstveni suradnik, Veterinarska stanica Đurđevac

se klinički manifestiraju u tijeku puerperija. Puerperalne bolesti imaju velik gospodarstveni značaj jer uzrokuju štete koje se manifestiraju slabijom laktacijom, lošijom tjelesnom kondicijom i/ili jalovošću. Puerperalne se bolesti pojavljuju najčešće u prvim danima poslije teljenja (Oklješa, 1957.). U ovom smo radu istražili utjecaj cefalosporina I generacije (cefapirina) na trajanje servis perioda i postotak koncepcije krava nakon poroda te odredili značaj preventivne intrauterine aplikacije istih, nakon poroda u svrhu poboljšanja reproduktivne učinkovitosti krava.

Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na kravama Simentalske pasmine (n=19), starim 3 do 5 godina s Obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva Klarić, Tomislavgrad, BiH.

Krave su držane slobodno u skupnoj nastambi, hranjene livadnim sijenom i silažom po volji, a koncentratni je dio obroka određen po mliječnosti svake pojedine krave. U ljetnom obroku silaža se zamjenjuje svježom travom i pašom. Krave su prosječne mliječnosti 6.000 L po laktaciji. Sve se krave prije poroda odvajaju rodilište, a nakon poroda drže se s teladi 5 dana, nakon čega se telad odbija. Sve se krave pod nadzorom veterinar iz Veterinarske stanice Tomislavgrad, BiH, umjetno osjemenjuju spermom istog bika na poziv vlasnika.

Plotkinje su nasumičnim odabirom podijeljene u kontrolnu skupinu od 9 i pokusnu skupinu od 10 krava. Kontrolna skupina krava nije bila tretirana,

a kravama pokusne skupine je treći dan poslije poroda intrauterino apliciran cefapirin (benzatin cefapirin).

Svaka aplikacija sadržava 500 mg cefapirina koji predstavlja širokospektralni antibiotik prve generacije cefalosporina koji baktericidno djeluje na mnoge gram-pozitivne i gram-negativne bakterije. Otporan je na aktivnost bakterijskih β – laktamaza, a učinkovit je i u anaerobnim uvjetima upalno promijenjene maternice. Sadržaj se benzatin cefapirina pomoću injektora istiskuje u lumen maternice uz manualnu fiksaciju cerviksa *per rectum*.

Prikupljeni su i statističkim računalnim programom (Statistica 7.0., SAD) analizirani sljedeći podatci: servisno razdoblje, indeks osjemenjivanja, međutelidbeno razdoblje i postotak koncepcije.

Rezultati

Tablica 1. Vrijednosti reproduktivnih pokazatelja kontrolne skupine krava [SP – trajanje servisnog razdoblja / dani, IO – indeks osjemenjivanja, MR – trajanje međutelidbenog razdoblja / dani, SV – srednja vrijednost, SEM – standardna pogreška SV].

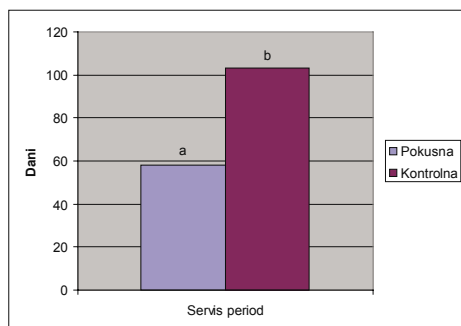
Krava	SP	IO	MR
1	92	1	376
2	48	1	329
3	130	2	385
4	90	1	371
5	123	2	435
6	172	2	540
7	120	2	408
8	107	2	385
9	48	1	328
SV	103,3	1,55	395,2
SEM	13,19	0,18	21,34

U tablici 1 su prikazane vrijednosti reproduktivnih pokazatelja svake pojedine krave kontrolne skupine te srednje vrijednosti za cijelu skupinu.

Tablica 2. Vrijednosti reproduktivnih pokazatelja pokusne skupine krava (SP – trajanje servis perioda / dani, IO – indeks osjemenjivanja, MR – trajanje međutelidbenog razdoblja / dani, SV – srednja vrijednost, SEM – standardna pogreška SV).

Krava	SP	IO	MR
1	53	1	333
2	55	1	338
3	52	1	338
4	59	1	340
5	45	1	325
6	45	1	330
7	91	3	371
8	54	2	336
9	63	2	342
10	65	2	348
SV	58,2	1,5	340,1
SEM	4,2	0,22	3,98

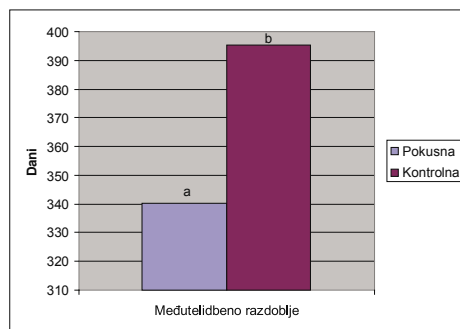
U tablici 2 su prikazane vrijednosti reproduktivnih pokazatelja svake pojedine krave pokusne skupine te srednje vrijednosti za cijelu skupinu.



Vrijednosti označene različitim eksponentom značajno se razlikuju ($p < 0,05$)

Grafikon 1. Usporedba trajanja servis perioda pokusne i kontrolne skupine krava.

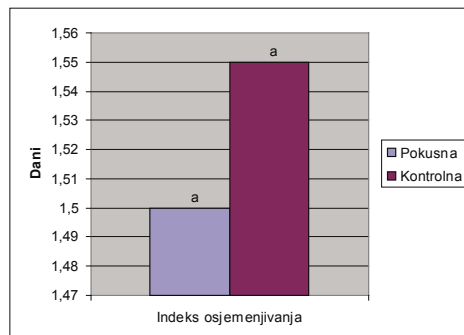
Servisno razdoblje krava u pokusnoj skupini iznosio je 58,2 dana, dok su krave u kontrolnoj skupini imale statistički značajno duže servisno razdoblje od 103,3 dana ($p < 0,05$).



Vrijednosti označene različitim eksponentom značajno se razlikuju ($p < 0,05$)

Grafikon 2. Usporedba trajanja međutelidbenog razdoblja pokusne i kontrolne skupine krava.

Međutelidbeno razdoblje u kontrolnoj skupini krava je iznosilo 395,2 dana, dok je u pokusnoj skupini dobiveno statistički značajno skraćeno istog razdoblja na 340,1 dan ($p < 0,05$).

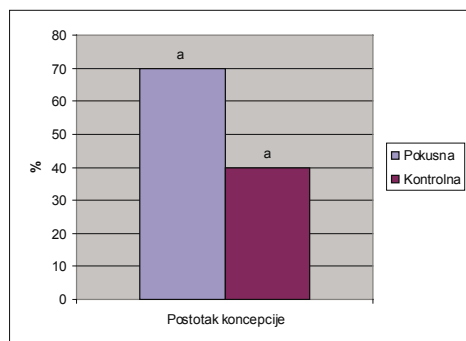


Grafikon 3. Usporedba indeksa osjemenjivanja pokusne i kontrolne skupine krava.

Indeks osjemenjivanja u pokusnoj skupini krava iznosio je 1,5 te je uočljivo niži u odnosu na isti indeks u kontrolnoj skupini krava koji je iznosio 1,55.

Postotak koncepcije nakon prvog osjemenjivanja u pokusnoj skupini kra-

va iznosio je 70% što je niže u odnosu na krave u kontrolnoj skupini (40%).



Grafikon 4. Usporedba postotka koncepcije pokusne i kontrolne skupine krava.

Rasprava

U svijetu je prihvaćeno rasplodnu učinkovitost krava ocijeniti na osnovu trajanja servisnog i međutelidbenog razdoblja, indeksa osjemenjivanja, postotka koncepcije i postotka gravidnih plotkinja nakon prvog umjetnog osjemenjivanja (Samardžija i sur., 2008.).

Risco i Hernandez (2002.) tretiraju krave sa zaostalom posteljicom ceftiofur hydrochloridom (prva skupina), estradiol cypionatom (druga skupina), dok treću skupinu krava ne liječe. Prosječno servisno razdoblje u krava tretiranih s estradiol cypionatom iznosilo je 124 dana, u krava tretiranih ceftiofur hydrochloridom (cefalosporini III generacije) 136 dana, a u krava kontrolne skupine 192 dana.

Naše istraživanje ostvaruje znatno bolje rezultate u krava pokusne skupine (servis period 58,2 dana, međutelidbeno razdoblje 340,1 dan). Nadalje, netretirane krave (kontrolna skupina) u našem pokusu ostvaruju rezultate približne kravama tretiranim estradiolom i cefalosporinima III

generacije gore spomenutih autora te znatno bolje od njihovih rezultata za krave kontrolne skupine. Razlog tomu svakako je i činjenica da smo, za razliku od spomenutih autora koji su istraživanje proveli na holstein kravama, istraživanje proveli na kravama simentalke pasmine. Poznato je da su visokomliječne krave holstein pasmine sklonije metaboličkim poremećajima (sindrom masne jetre, ketoza itd.) koji znatno produžuju povratak ciklične aktivnosti, povećavaju sklonost pojavi endometritisa i cista jajnika (Dobranić i sur., 2008.).

Goshen i Shpigel (2006.) dijagnosticirali su kronični endometritis u 18,6% krava i junica u Izraelu. Postotak koncepcije nakon prvog UO-a iznosio je 38,3%, 42,5% i 18% u zdravih, liječenih te neliječenih krava. Servisno razdoblje iznosilo je redom 140,5, 136,2 i 165,5 dana u zdravih, liječenih i neliječenih krava.

To je slabije od rezultata dobivenih u našem istraživanju kako za kontrolnu, a posebice za pokusnu skupinu što se također može protumačiti različitim proizvodnim svojstvima krava simentalke i holstein pasmine.

Goshen i Shpigel (2006.) navode da liječene i neliječene krave sa zaostalom posteljicom imaju postotak koncepcije nakon prvog umjetnog osjemenjivanja 33,3% i 34,3% u usporedbi s kravama bez zaostale posteljice (38,3%). U našem je istraživanju postotak koncepcije za kontrolnu skupinu iznosio 40% što je nešto bolji rezultat od njihovog, dok krave pokusne skupine u našem istraživanju imaju bolji postotak koncepcije (70%).

Brglez (2009.) istražuje trajanje servisnog i međutelidbenog razdoblja u

krava holsteinske i simentalke pasmine. Tako servisno razdoblje za krave holsteinske pasmine iznosi 121 dan, a 81 dan za simentalSKU pasminu. Isti autor za krave holsteinske i simentalke pasmine bilježi međutelidbeno razdoblje od 416, odnosno 363 dana.

Uspoređujući te rezultate s našima možemo uočiti da je servisno i međutelidbeno razdoblje u našoj pokusnoj skupini kraće od rezultata za obje pasmine u Brglezovom istraživanju, dok je međutelidbeno razdoblje najkraće u našoj pokusnoj skupini što je ujedno nešto bolje od rezultata za simentalke krave u Brglezovom istraživanju. Nadalje, holsteinske krave u spomenutom istraživanju imaju nešto duže međutelidbeno razdoblje od naših pokusnih životinja i simentalSKIH krava u istom istraživanju, ali kraće u odnosu na našu netretiranu, pokusnu skupinu.

Zaključak

Može se zaključiti da se preventivnom aplikacijom cefalosporina I generacije (cefapirina) intrauterino 3. dan nakon poroda, može znatno poboljšati reproduktivna učinkovitost krava simentalke pasmine. S obzirom da cefalosporini I generacije ne ostavljaju rezidue u mlijeku krava, tim više je njihova uporaba prikladna i preporučena u postupcima vezanim uz rasplodivanje krava.

Sažetak

Cilj istraživanja bio je odrediti značaj preventivne aplikacije cefalosporina I generacije (cefapirina) intrauteri-

no nakon poroda u cilju poboljšanja reproduktivne učinkovitosti krava. Istraživanje je provedeno na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu „Klarić“ (Tomislavgrad, BiH), na kravama simentalke pasmine ($n = 19$) starim 3 do 5 godina. Krave su podijeljene u dvije skupine. U kontrolnoj skupini bilo je 9, a u pokusnoj 10 krava. Kontrolna skupina nije bila tretirana, a kravama je u pokusnoj skupini intrauterino treći dan po porodu apliciran cefapirin. Usporedbom rezultata krave kontrolne skupine imale su značajno duže servisno razdoblje (103,3 dan) i međutelidbeno razdoblje (395,2 dan), u odnosu na krave pokusne skupine (58,2 i 340,1) ($P < 0,05$). Indeks osjemenjivanja krava kontrolne skupine (1,55) i postotak koncepcije nakon prvog umjetnog osjemenjivanja (40%) bili su slabiji od rezultata krava pokusne skupine (1,50 i 90%). Zaključeno je da se preventivnom aplikacijom cefalosporina I generacije (cefapirina) intrauterino 3. dan nakon poroda može znatno poboljšati reproduktivna učinkovitost krava simentalke pasmine. S obzirom da cefalosporini I generacije ne ostavljaju rezidue u mlijeku, njihova je uporaba prikladna i preporučljiva u postupcima rasplodivanja krava.

Literatura

1. BRGLEZ, S. (2009): Trajanje servisnog i međutelidbenog razdoblja krava na području Veterinarske stanice Novi Marof. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
2. DOBRANIĆ, T., M. SAMARDŽIJA, V. DOBRANIĆ, S. VINCE, D. GRAČNER, N. STAKLAREVIĆ, J. GRIZELJ, N.

- PRVANOVIĆ and Z. ŽVORC (2008): Analyse der Ovarienaktivität der Holstein-Friesischer Kühe im Puerperium mit Hilfe des Stoffwechsel- und Hormonprofils. *Tierärztliche Umschau* 63, 65-71.
3. GOSHEN, T. and N. Y. SHPIGEL (2006): Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. *Theriogenology* 66, 2210-2218.
4. KOČILA, P., M. SAMARDŽIJA, T. DOBRANIĆ, D. GRAČNER, V. DOBRANIĆ, N. PRVANOVIĆ, Ž. ROMIĆ, N. FILIPOVIĆ, N. VUKOVIĆ and D. ĐURIČIĆ (2009): Einfluss der Energiebilanz auf die Reproduktionsfähigkeit von Holsteiner Kühen im Puerperium. *Tierärztliche Umschau* 64, 471-477.
5. NOAKES, D. E. (2009): The puerperium. In: *Veterinary Reproduction & Obstetrics*, 9th edit., ed. Noakes, D. E., T. J. Parkinson, G. C. W. England. W. B. Saunders Company Ltd. pp. 194-205.
6. OKLJEŠA, B. (1957): Porodiljstvo domaćih životinja. Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb.
7. RISCO, C. A. and J. HERNANDEZ (2002): Comparison of ceftiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performance in dairy cows affected with retained fetal membranes. *Theriogenology* 60, 47-58.
8. SAMARDŽIJA, M., T. DOBRANIĆ, S. VINCE, V. DOBRANIĆ, J. GRIZELJ, M. KARADJOLE, D. GRAČNER, LJ. BEDRICA and Z. ŽVORC (2008): Einfluss der Milchleistung auf die Fruchtbarkeitsstörungen bei Kühen im Puerperium. *Tierärztliche Umschau* 63, 123-127.
9. TOMAŠKOVIĆ, A., Z. MAKEK, T. DOBRANIĆ i M. SAMARDŽIJA (2007): Rasplodivanje krava i junica. (Ur. M. Samardžija, S. Vince i J. Grizelj). Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

The influence of cephalosporin intrauterine application on improvement of reproductive efficiency in cows

Marko SAMARDŽIJA, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Ante KLARIĆ, DVM, Veterinary Station Tomislavgrad, Bosnia and Herzegovina; Juraj GRIZELJ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Tomislav DOBRANIĆ, DVM, Ph.D., Full Professor, Nikica PRVANOVIĆ, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Goran BAČIĆ, DVM, Ph.D., Associate Professor, Tugomir KARADJOLE, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Silvijo VINCE, DVM, Senior Assistant, Ivan FOLNOŽIĆ, DVM, Junior Researcher, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Dražen ĐURIČIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Associate, Veterinary Station Đurđevac

The aim of this research was to determine the importance of preventive intrauterine application of first generation cephalosporin antibiotic (cephapirin) aimed at improving reproductive efficiency in cows. The study was carried out on the Klarić Family Farm

(Tomislavgrad, Bosnia and Herzegovina) on Simmental breed cows (n=19), 3 to 5 years old. Cows were divided into two groups. The control group consisted of 9, and the experimental group of 10 cows. The control group was not treated while cows in the ex-

perimental group were treated intrauterine with cephalapirin on the third day after birth. A comparison of the results indicated that cows in the control group had a significantly longer service period (103.3 days), and interpartal period (395.2 days) compared to cows in the experimental group (58.2 and 340.1 respectively) ($P < 0.05$). The insemination index in cows of the control group (1.55) and insemination conception rate after the first artificial insemination

(40%) were lower than in the experimental group (1.50 and 90% respectively). It could be concluded that the preventive intrauterine application of benzatin cephalapirin on the third day after birth can significantly improve the reproductive efficiency of Simmental breed cows. Since first generation cephalosporin antibiotics do not leave residues in milk, their use seems appropriate and recommended in reproductive procedures on cows.

SEOSKI GOSPODAR

KOLIKO JAJA MOŽE SNIJETI JEDHA KOKOŠ, Tačno se neće nigda kazati, jer to zavisi o više stvari. Kokoši jedne rase legu više od druge rase, one koje su bolje držane i hranjene moć će više snijeti nego gladne i neuredno držane i tako dalje. Ustanovilo se, da jedna dobra kokoš ima u svojoj utrobi 600 jaja, a toliko će jaja kokoš i snijeti, ako su okolnosti povoljne. Ali ni ovako doba starosti kokošje ne dava jednako jaja, tako se izračunalo da kokoš snese popriječno:

u 1. godištu života	15 - 20 jaja
u 2. godištu života	100 - 120 jaja
u 3. godištu života	120 - 135 jaja
u 4. godištu života	100 - 115 jaja
u 5. godištu života	60 - 80 jaja
u 6. godištu života	50 - 60 jaja
u 7. godištu života	35 - 40 jaja
u 8. godištu života	15 - 10 jaja
u 9. godištu života	1 - 10 jaja
svega ukupno	426 - 600 jaja.

“Crvena Hrvatska” (Dubrovnik), 13, 5, 1909 (god. 19) (15. veljače 1909.).

PRIRODNIM PUTEM DO ZDRAVIH PČELA



A P I G U A R D

REGISTRIRANI VETERINARSKO
MEDICINSKI PROIZVOD
(UP/I-322-05/09-01/259)

Varroa je pčelinji neprijatelj broj 1. U posljednje vrijeme postala je otporna na tretmane raznim lijekovima koji su do sada bili učinkoviti. Suočeni sa problemima rezistencije (otpornosti), rezidua (ostataka štetnih tvari iz neregistriranih lijekova u medu, vosku i drugim pčelinjim proizvodima) i smanjene učinkovitosti, vrijeme je za DRUGAČIJI PRISTUP.

Sporo otpuštajući gel timola - novi i efikasan tretman

- * Prirodan i netoksičan tretman
- * Visoka efikasnost protiv Varroa (u prosjeku 93%)
- * Rezistencija nije primjećena
- * Rezidue ne postoje u medu i vosku
- * Osigurava pojačanu higijenu (pčela) u košnici, a time sprečava povezane probleme
- * Smanjuje pojavnost CCD (kolaps pčelinje zajednice)
- * Krajnje jednostavna upotreba (2x50 mg plitica po košnici u razmaku od 14 dana)
- * Apiguard je siguran za pčele i njihovo leglo
- * Istodobno djeluje na više mjesta, čime smanjuje mogućnost ponavljanja invazije

Regionalni distributeri



Proizvođač

Zastupnik

VETERINARSKA AMBULANTA

KONJŠČINA d.o.o.

Tel: 049/464-777

Mob: 099/4654-654

VETERINARSKA STANICA d.o.o.

SENJ

Tel: 053/881-404

Fax: 053/884-864

SVE BOLJE VELEDROGERIJE



Vita (Europe) Ltd: 21/23 Wote Street,
Basingstoke, Hants, RG21 7NE, UK
Tel: +441256 473 175
Fax: +441256 473 179
www.vita-europe.com
www.apiguard.com



CVA d.o.o.
Zagreb, Utišinska 40
Tel: 01/2304-334
01/2304-335
Fax: 01/6604-031

Propisi i neke aktivnosti vezane uz problematiku transmisivnih spongiformnih encefalopatija (TSE-a) u Republici Hrvatskoj



Žaklin Acinger-Rogić, Branko Šoštarić, Sanja Šeparović i Željko Mihaljević

U tekstu koji slijedi bit će predstavljena kronologija i sadržaj propisa koji se odnose na mjere otkrivanja i kontrole transmisivnih spongiformnih encefalopatija u Republici Hrvatskoj (RH) kao i status zemlje za istu bolest.

Vezano na status RH u smislu procjene rizika od goveđe spongiformne encefalopatije (GSE), provedene u 2002. godini i podnošenja zahtjeva za novu procjenu stanje je sljedeće:

- Dana 27. lipnja 2002. službeno je od Glavnog znanstvenog odbora (*Scientific Steering Committee*) usvojeno mišljenje o Geografskom riziku goveđe spongiformne encefalopatije (GSE) u Hrvatskoj (*Geographical Risk of Bovine Spongiform Encephalopathy (GBR) in Croatia*), čime je Hrvatska svrstana u III. grupu zemalja (odnosno u grupu zemalja u

kojima je pojava bolesti moguća, ali ne i potvrđena ili je potvrđena na vrlo malom broju slučajeva). Cijela je procedura započela 23. listopada 2000. godine.

Procjena je rađena u skladu s EU Uredbom (EC) br. 999/2001. kojom je određen postupak za utvrđivanje epidemiološkog statusa Države članice ili treće zemlje s obzirom na GSE. Spomenuta Uredba utvrđuje pravila za sprječavanje, kontrolu i iskorjenjivanje transmisivnih spongiformnih encefalopatija (TSE) kod životinja te se primjenjuje na proizvodnju i stavljanje u promet živih životinja i proizvoda životinjskog podrijetla.

GSE status države može biti ustvrđen isključivo na temelju kriterija navedenih u Uredbi 999/2001., dodatku II, poglavlja A, a sastoji se od sljedećeg:

Žaklin ACINGER-ROGIĆ, dr. vet. med., stručna savjetnica, mr. sc. Sanja ŠEPAROVIĆ, dr. vet. med. ravnateljica, Uprava za Veterinarstvo, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja; dr. sc. Branko ŠOŠTARIĆ, znanstveni savjetnik, dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut

- a) ishod **analize rizika** koja identificira sve potencijalne čimbenike za pojavljivanje GSE te razvoj tih čimbenika tijekom vremena
- b) obrazovni program za veterinare, uzgajivače kao i za one koji se bave prijevozom, trgovinom i klanjem goveda, kojim se te ljude nastoji potaknuti da prijave sve slučajeve neuroloških manifestacija kod odraslih goveda
- c) obvezno prijavljivanje i ispitivanje svih goveda koja pokazuju kliničke znakove GSE
- d) sustav trajnog nadzora i praćenja GSE s posebnim naglaskom na rizične skupine, izvješćima o broju izvršenih pretraga i njihovim rezultatima koji se moraju čuvati najmanje sedam godina
- e) pretraživanje u odobrenom laboratoriju uzoraka mozгова ili drugih tkiva prikupljenih u okviru sustava nadzora GSE.

(a) **analiza rizika**, dakle, samo je jedan od segmenata u cilju dodjele GSE statusa zemlje, a temelji se na sljedećim čimbenicima:

- konzumacija od strane goveda mesnog i koštanog brašna ili čvaraka dobivenih od preživača
- uvoz mesnog i koštanog brašna ili čvaraka potencijalno kontaminiranih s TSE ili stočne hrane koja sadrži mesno i koštano brašno ili čvarke
- uvoz životinja ili jajnih stanica/embrija potencijalno zaraženih s TSE
- epidemiološki status zemlje ili regije s obzirom na transmisivne spongiformne encefalopatije kod životinja
- opseg poznavanja strukture goveđe,

ovčje i kozje populacije u zemlji

- izvor životinjskog otpada, parametri i postupci obrade takvog otpada te metode proizvodnje stočne hrane.

Utvrđivanje GSE statusa svake pojedine zemlje nužno je, ukoliko zemlja želi biti zadržana na popisu trećih zemalja odobrenih za izvoz u EU, odnosno trećih zemalja koje zahtijevaju za uvoz na vlastito područje, ispunjavanje istih uvjeta.

- Stupanjem na snagu propisa EK o novoj proceduri koja se provodi pri upućivanju službenog zahtjeva za priznavanje statusa zemlje u ovisnosti o GSE riziku, koje obavljaju European Food Safety Authority (EFSA) ili World Organisation for Animal Health (OIE), Uprava za veterinarstvo priprema dokumentaciju za priznavanje **statusa zemlje s kontroliranim GSE rizikom** sukladno važećem Pravilniku za sprječavanje pojave, kontrolu i iskorjenjivanje određenih transmisivnih spongiformnih encefalopatija (N.N. br. 85/09.).

Uprava mora dostaviti Europskoj komisiji zahtjev za utvrđivanje GSE statusa koji prate odgovarajuće informacije u skladu s kriterijima određenim Pravilnikom i podatke o mogućim čimbenicima rizika te promjenama u odnosu na prije navedene čimbenike rizika tijekom vremena.

Važeći kriteriji po kojima se određuje GSE status zemlje ili regije su brojni, od kojih izdvajamo:

- provedena analiza rizika, kojom su utvrđeni svi mogući čimbenici rizika za pojavu GSE i prethodne situacije u vezi tih čimbenika

- uspostavljen kontinuirani sustav nadziranja i praćenja GSE
- uspostavljen kontinuirani program edukacije i održavanja pozornosti veterinaru, stočara i radnika uključenih u prijevoz, stavljanje u promet i klanje goveda, radi poticanja prijave svakog slučaja gdje su utvrđeni klinički znakovi koji ukazuju na GSE u ciljanim podpopulacijama
- na snazi obveza prijavljivanja i istraživanja svih goveda koja pokazuju kliničke znakove koje ukazuju na GSE
- pretraga mozga ili drugih tkiva sakupljenih u okviru sustava nadziranja i praćenja provedena u odobrenom laboratoriju.

Hrvatska treba udovoljiti svim kriterijima da bi dobila status zemlje s kontroliranim GSE rizikom, a neki od kriterija su i da je Hrvatska zemlja:

- u kojoj se provela analiza rizika radi prepoznavanja povijesnih i postojećih čimbenika rizika
- koja je dokazala da se poduzimaju odgovarajuće mjere radi upravljanja svim utvrđenim rizicima
- koja je dokazala da je uspostavljeno nadziranje po zadanim uvjetima iz Pravilnika.

Pravilnikom za sprječavanje pojave, kontrolu i iskorjenjivanje određenih transmisivnih spongiformnih encefalopatija (N.N. br. 85/09.) je isto tako propisan i sustav monitoringa goveda, ovaca, koza i drugih životinja na TSE.

Godišnji se program praćenja TSE-a, temelji na aktivnom i pasivnom nadzoru, koji je u RH propisan godišnjom Naredbom o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i nji-

hovom financiranju u 2010. godini (N.N. br. 7/10.) te je Naredbom određeno da na GSE moraju biti pretražena:

- sva goveda starija od 24 mjeseca
- koja su zaklana iz nužde, odnosno upućena na prisilno (hitno) klanje od strane veterinara nakon nesreće ili zbog ozbiljnih fizioloških ili funkcionalnih poremećaja, uključujući poremećaje središnjeg živčanog sustava
- koja, pri *ante mortem* pregledu, pokazuju kliničke znakove zarazne bolesti ili znakove na temelju kojih se može posumnjati da su zaražene ili pokazuju fiziološke ili funkcionalne poremećaje, uključujući poremećaje središnjeg živčanog sustava.
- sva goveda starija od 30 mjeseci
- pri redovnom klanju za ljudsku prehranu
- koja su zaklana u okviru programa iskorjenjivanja bolesti, a ne pokazuju kliničke znakove bolesti.
- sva goveda starija od 24 mjeseca koja nisu zaklana za ljudsku prehranu (*uginula stoka, engl. fallen stock*), nego su
- uginula ili usmrćena na gospodarstvu, osim goveda usmrćenih u okviru suzbijanja epidemije, odnosno iskorjenjivanja bolesti
- uginula ili usmrćena tijekom prijevoza ili u klaonici.

Na grebež ovaca moraju biti pretražene sve ovce i koze starije od 18 mjeseci

- koje pokazuju kliničke znakove poremećaja središnjeg živčanog sustava

- kod uginuća iz bilo kojeg razloga
- pri redovnom klanju
- ukoliko su usmrćene, osim u slučaju kada se usmrćivanje obavlja sukladno programu iskorjenjivanja neke bolesti.

Isto tako u slučaju potrebe nadležno tijelo može odrediti, monitoring na TSE i kod drugih vrsta životinja osim goveda, ovaca i koza.

Nadalje, Pravilnikom je propisano i postupanje u slučaju sumnje ili potvrde TSE-a, a nekoliko mjera navodimo u nastavku

- za svaku životinju za koju se sumnja da je zaražena TSE-om mora se odrediti službena zabrana premještanja do dobivanja rezultata kliničkog i epidemiološkog ispitivanja od strane nadležnog tijela ili mora biti usmrćena u svrhu laboratorijskog ispitivanja pod službenim nadzorom
- ako je postavljena službena sumnja na TSE u goveda koje se nalazi na gospodarstvu, svim se drugim govedima na tom gospodarstvu ograničava premještanje do dobivanja rezultata ispitivanja, ako je postavljena službena sumnja na TSE za ovcu ili kozu koja se nalazi na gospodarstvu, svim drugim ovcama ili kozama na tom gospodarstvu službeno se ograničava premještanje do dobivanja rezultata ispitivanja
- ukoliko postoji dokaz prema kojemu gospodarstvo na kojem je životinja bila prisutna vjerojatno nije gospodarstvo na kojem je životinja mogla bila izložena TSE-u, nadležni veterinarski inspektor može odlučiti da se

samo životinji za koju se sumnja da je zaražena službeno odredi zabrana premještanja

- prema potrebi, nadležni veterinarski inspektor može odlučiti da se druga gospodarstva ili samo gospodarstvo izloženo zarazi stave pod službeni nadzor ovisno o dostupnim epidemiološkim podatcima
- ukoliko nadležno tijelo ne može isključiti mogućnost zaraze s TSE, životinja, ako je još živa, mora biti usmrćena; njen se mozak i druga tkiva koja odredi nadležni veterinarski inspektor, moraju odstraniti i poslati u odobreni laboratorij, nacionalni referentni laboratorij ili referentni laboratorij EU te pretražiti propisanim laboratorijskim metodama
- svi dijelovi tijela sumnjive životinje moraju biti zadržani pod službenom kontrolom do dobivanja negativne dijagnoze ili uništeni u skladu s Pravilnikom o nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi (N.N. br. 87/09.).

Mjere koje se provode nakon potvrđivanja TSE:

- nakon službene potvrde TSE, u najkraćem mogućem roku moraju biti provedene sljedeće mjere:
 - (a) svi dijelovi tijela životinje moraju biti uništeni osim materijala zadržanog za evidenciju
 - (b) istraživanje da bi se utvrdile sve životinje u riziku
 - (c) sve životinje u riziku i proizvodi podrijetlom od tih životinja, moraju biti usmrćene i uništene.

Do provođenja mjera, gospodarstvo na kojem se životinja nalazila kad

je potvrđena prisutnost TSE, mora biti stavljeno pod službeni nadzor, a premještanje životinja prijemljivih na TSE i proizvoda životinjskog podrijetla dobivenih od tih životinja dopušteno je s ili na gospodarstvo samo uz prethodno odobrenje od strane nadležnog veterinarskog inspektora, kako bi se osigurala brza sljedivost i identifikacija takvih životinja i proizvoda životinjskog podrijetla.

Ako postoji dokaz da gospodarstvo, u kojem se nalazila oboljela životinja u vrijeme kad je potvrđena TSE, vjerojatno nije gospodarstvo na kojem je ta životinja bila izložena TSE, nadležni veterinarski inspektor može odlučiti da se pod nadzor stave oba gospodarstva ili samo gospodarstvo na kojem je došlo do izlaganja bolesti.

U svrhu suzbijanja pojave TSE-a propisane su i odredbe koje se odnose na postupanje u hranidbi životinja, npr:

- zabranjena je hranidba preživača bjelančevinama podrijetlom od životinja
- zabrana se odnosi i na životinje koje nisu preživači i ograničena je u odnosu na hranidbu navedenih životinja proizvodima životinjskog podrijetla
- nadležno tijelo može odobriti, na temelju znanstvene procjene o hranidbenim potrebama mladih preživača i uzimajući u obzir mogućnost kontrole navedenih odstupanja, hranidbu mladih preživača bjelančevinama podrijetlom od riba
- u slučaju neutvrđenog rizika od pojave GSE-a na cijelom području ili pojedinoj regiji Republike Hrvatske,

zabranjen je izvoz ili skladištenje hrane za životinje iz uzgoja koja sadrži bjelančevine podrijetlom od sisavaca ili hrane za sisavce koja sadrži prerađene bjelančevine podrijetlom od sisavaca, osim hrane za pse, mačke i krznaše

- nadležno tijelo donosi pravila za sprječavanje unakrižne kontaminacije i o metodama uzorkovanja i analize nužnima za provjeru usklađenosti, uzimajući u obzir izvješća Europske komisije o pronalaženju, prerađivanju, kontroli i sljedivosti hrane životinjskog podrijetla.

Isto je tako propisan i postupak koji se odnosi na uništavanje specificiranog rizičnog materijala:

- specificirani rizični materijal uključuje najmanje mozak, kralježničnu moždinu, oči i tonzile goveda starijih od 12 mjeseci te kralježnicu goveda u dobi koja je određena u skladu s posebnim postupkom, specificirani rizični materijal mora biti uklonjen i uništen, zabranjen je njegov uvoz
- razaranje, nakon omamljivanja središnjeg živčanog tkiva šipkom uvedenom u kranialnu šupljinu ili upuhivanje plina u kranialnu šupljinu u svezi s omamljivanjem, nije dozvoljeno primjenjivati na goveda, ovce i koze čije je meso namijenjeno prehrani ljudi ili hranidbi životinja.

Proizvodi životinjskog podrijetla dobiveni od materijala podrijetlom od preživača ili koji sadrže takav materijal moraju biti proizvedeni korištenjem

proizvodnih procesa, odobrenih u skladu s posebnim postupkom. Zabranjeno je korištenje kostiju podrijetlom od goveda, ovaca i koza iz zemalja ili regija s kontroliranim ili neutvrđenim rizikom od pojave BSE-a, za proizvodnju strojno otkošenog mesa (SOM).

Pravilnik o mjerama za otkrivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje goveđe spongiformne encefalopatije (N.N. br. 44/96.) prvi je poseban propis u RH u odnosu na GSE i propisan je još 1996. godine, u vrijeme kada je službeno potvrđeno da povezanost GSE u goveda i humanih TSE u Velikoj Britaniji ranih devedesetih ne može biti isključena.

Navednim Pravilnikom (N.N. br. 44/96.) propisano je obvezno prijavljivanje sumnje i oboljenja koji mogu ukazivati na goveđu spongiformnu encefalopatiju, kao i obvezno dijagnostičko ispitivanje takvih goveda. Propisuju se i mjere koje se provode u slučaju postavljanja temeljite sumnje na GSE.

1997. godine RH uvodi Naredbu o zabrani uporabe tkiva i organa te strojno iskošenog mesa preživača kao rizičnih sirovina, u kojima bi se mogao naći uzročnik goveđe spongiformne encefalopatije (BSE), u proizvodnji mesnih proizvoda (N.N. br. 129/97.), u kojoj stoji:

„Radi zaštite zdravlja ljudi, zabranjuje se u proizvodnji mesnih proizvoda namijenjenih javnoj potrošnji na domaćem i inozemnom tržištu uporaba: mozga, leđne moždine, očiju, grudne žljezde, slezene, crijeva te vidljivog limfnog i živčanog tkiva preživača te strojno iskošenog mesa kralježnice preživača ako prije iskoštavanja nije bila odstranjena leđna moždina.

Odredbe prethodnog stavka odnose se i na navedena tkiva i organe te strojno

iskošteno meso podrijetlom iz uvoza, ukoliko potječu iz država u kojima je prethodno bila utvrđena goveđa spongiformna encefalopatija (BSE).“

kao i Naredbu o zabrani uporabe bjelančevina podrijetlom od preživača (osim mlijeka i mliječnih prerađevina) u prehrani preživača (N.N. br. 28/97.).

Isto tako i kao reakcija na sve učestalije izbijanje bolesti goveđe spongiformne encefalopatije (GSE), popularnog naziva „kravlje ludilo“, nadležno tijelo izdaje cijeli niz naredbi u kojima se u početku zabranjuje uvoz i prevoz goveda i ovaca te njihovih proizvoda podrijetlom iz Ujedinjenog Kraljevstva i Republike Irske te uvoz goveđih i ovčjih tkiva visokog rizika (mozak, leđna moždina, oči, grudna žlijezda, slezena, crijeva, limfno i živčano tkivo, strojno iskošteno meso kralježnice, ako prije iskoštavanja nije bila odstranjena leđna moždina) i krmiva animalnog podrijetla (mesno brašno, koštano brašno, mesno-koštano brašno, kožno-mesno brašno, krvno brašno i jetreno brašno) podrijetlom iz zemalja s pojavom goveđe spongiformne encefalopatije.

Tijekom 2000. i 2001. godine slijede zabrane uvoza goveda, proizvoda podrijetlom od goveda i krmiva animalnog podrijetla (mesnog brašna, koštanog brašna, mesno-koštanog brašna, kožno-mesnog brašna, krvnog brašna, jetrenog brašna i ostalih krmiva koja sadrže bjelančevine) podrijetlom iz Kraljevine Nizozemske te ostalih zemalja u kojima se pojavila GSE.

U 2001. godini, izdaje se i Naredba o obveznom pretraživanju goveda na prisutnost uzročnika goveđe spongiformne encefalopatije (GSE) (N.N. br.

45/01.) u kojoj je propisano obvezno pretraživanje mozga zaklanih ili uginulih goveda starijih od 30 mjeseci na prisutnost uzročnika goveđe spongiformne encefalopatije.

Jedna od mjera u nizu mjera za suzbijanje i sprječavanje širenja TSE koju je propisalo nadležno tijelo je i Naredba o zabrani uporabe bjelančevina životinjskog podrijetla u prehrani životinja (N.N. br. 8/01.) koja ukida Naredbu o zabrani uporabe bjelančevina podrijetlom od preživača (osim mlijeka i mliječnih prerađevina) u prehrani preživača iz 1997. godine.

Zabrana se odnosila na mesno brašno, koštano brašno, mesno-koštano brašno, krvno brašno, jetreno brašno, kožno brašno, sušenu plazmu i ostale krvne proizvode, hidrolizirane bjelančevine životinjskog podrijetla, brašno od papaka, brašno od rogova, mesno brašno od peradi, brašno od perja, suhe čvarke, riblje brašno, dikalcijev fosfat, želatinu, sve ostale proizvode koji sadrže bjelančevine životinjskog podrijetla, sve vrste krmiva i gotove stočne hrane koji sadrže bjelančevine životinjskog podrijetla.

Zabrana se nije primjenjivala na riblje brašno za prehranu životinja osim preživača, mlijeko i mliječne proizvode, želatinu, koja nije podrijetlom od preživača te dikalcijum fosfat i hidrolizirane bjelančevine koji nisu dobiveni u objektima za utilizaciju.

U 2003. godini, izdana je Naredba koja po prvi puta spominje zabranu uvoza u Republiku Hrvatsku živih goveda, ovaca, koza, svinja, domaće peradi i riba i proizvoda podrijetlom od goveda, ovaca, koza, svinja, domaće peradi i riba u ovisnosti o podrijetlu

pošiljke, koja se ne primjenjuje na pošiljke podrijetlom iz zemalja I. i II. kategorije prema GBR (Geographical Risk of Bovine Spongiform Encephalopathy) procijeni SSC (Scientific Steering Committee) Europske Komisije osim Kanade.

Zabrana nije uključivala pošiljke: rasplodnih jaja, proizvoda od jaja, jednodnevne peradi, mlijeka i mliječnih proizvoda, morske ribe i drugih morskih organizama dobivenih ribolovom te proizvoda od istih, oplođene riblje ikre i riblje larve, hrane za kućne ljubimce, sjemeni za umjetno osjemenjivanje, zametaka, želatine i kolagena, crijeva i proizvoda životinjskog podrijetla namijenjenih isključivo industrijskoj uporabi. Nije se primjenjivala ni na pošiljke iz zemalja za koje središnje nadležno tijelo zemlje izvoznice potvrdi Ministarstvu poljoprivrede i šumarstva da u hranidbi životinja koje se uvoze i u hranidbi životinja od kojih potječu proizvodi koji se uvoze, nije korištena stočna hrana koja sadrži bjelančevine životinjskog podrijetla, osim ribljeg brašna za hranidbu životinja, osim u hranidbi preživača; mlijeka i mliječnih proizvoda koji se koriste u hranidbi životinja; želatine koja nije podrijetlom od preživača i dikalcijum fosfata i hidroliziranih bjelančevina, koje nisu dobivene u objektima za utilizaciju.

2004. godine Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva izdaje Naredbu o zabrani uvoza pošiljaka u Republiku Hrvatsku radi sprječavanja unošenja transmisivnih spongiformnih encefalopatija koja detaljno precizira koje se pošiljke i pod kojim uvjetima mogu uvesti u Repub-

liku Hrvatsku u smislu rizika od TSE (N.N. br. 79/04.), a 2007. godine izdaje novi Pravilnik za sprječavanje pojave, kontrolu i iskorjenjivanje određenih transmisivnih spongiformnih encefalopatija (N.N. br. 39/07.), a kojim su preuzete odredbe Uredbe 999/2001.

Aktivnosti Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI) povezane s animalnim TSE

Sustavna dijagnostika goveđe spongiformne encefalopatije (GSE) na Odjelu za Patologiju započela je tijekom 1995. godine, internom odlukom HVI-a, a osnivala se na histopatološkoj pretrazi mozga goveda, tada jedinoj dijagnostičkoj metodi.

Stručnjaci su HVI-a intenzivno surađivali s djelatnicima Uprave za veterinarstvo u priređivanju prvog Pravilnika vezanog za područje GSE objavljenog u N.N. br. 44. od 15. lipnja 1996. godine.

Hrvatska je, dakle, u razdoblju kraćem od dva mjeseca nakon ključnog očitovanja ministra zdravstva UK u Parlamentu 20. ožujka 1996. da se GSE može prenijeti na čovjeka, imala na snazi Pravilnik vezan uz predmetno područje otkrivanja i kontrole ove bolesti.

U veljači 2000. godine, HVI i Uprava za veterinarstvo izdaju publikaciju u obliku priručnika: Preventiva, dijagnostika i kontrola goveđe spongiformne encefalopatije. Ova je publikacija financirana od strane Svjetske banke u sklopu Projekta: Razvoj službi za potporu obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. U priručniku, namijenjenom veterinarima praktičarima i

veterinarskoj inspekciji, po prvi puta su u domaćoj literaturi iznijeti do potrebnih detalja opći podatci koji se odnose na bolesti iz TSE skupine, kao i prikazi svih bolesti iz skupine zasebno. Posebna pažnja posvećena je GSE-i, kako u veterinarskom, tako i u javno zdravstvenom i legislativnom aspektu.

U sklopu istoga projekta tijekom proljeća i ljeta iste godine održan je za veterinarske inspektore i veterinare praktičare niz predavanja u svim Zavodima HVI-a, sa sudjelovanjem više stotina polaznika.

S obzirom na opći europski odgovor na tzv. 2. GSE krizu s početka 2001. godine, Uprava za veterinarstvo i HVI izradili su: Program praćenja i dijagnostike animalnih spongiformnih encefalopatija, opsežni dokument kojim se u cjelini uređuju pitanja vezana uz područje. Vlada Republike Hrvatske prihvatila je navedni Program početkom 2001. godine.

Osnovom ovog Programa u proljeće 2001. godine na HVI-u su započeti opsežni građevinski radovi na izgradnji Laboratorija za brzu dijagnostiku GSE. Istovremeno su s nabavom opreme obavljane kadrovske i organizacijske pripremne radnje te edukacija djelatnika na novoj dijagnostičkoj metodi. Intenzivnim se radom djelatnika HVI-a uz neposrednu potporu Uprave za veterinarstvo uspjelo opremiti i pustiti u rad Laboratorij u zadanom roku, tj. prije 1. lipnja 2001. godine.

Početku rada Laboratorija prethodila je intenzivna terenska edukacija ovlaštenih veterinarskih inspektora na klaonicama koje je trebalo obučiti kako uzorkovati i dostaviti mozak goveda na pretragu. Radilo se o potpuno novom načinu uzorkovanja strogo određene

anatomske lokacije mozga, a svaki uzorak morao je biti popraćen propisanom dokumentacijom. S obzirom na mogući rizik od zaraze polaznici su u detalje upućeni u sigurnosne mjere. Programom su određene i značajne promjene koje su se odnosile na način klanja i naknadnu veterinarsku inspekciju mesa, ali i postupanje s tkivom specificiranog rizika.

Uz djelatnike Uprave za veterinarstvo, djelatnici su HVI-a bili glavni nositelji spomenutih edukacija koje su se obavljale na terenu u organizaciji Hrvatske veterinarske komore. Započevši u proljeće 2001. godine i nastavljajući se prema potrebama terena sve do 2009. godine edukaciju je prošlo više od 400 polaznika, a svaki od njih je prošao, uz teoretski i praktički dio treninga kojim je stekao vještinu uzimanja uzorka mozga.

Laboratorij je započeo s testiranjem uzoraka 14. svibnja 2001. godine, a Naredba o obveznom pretraživanju goveda na prisutnost uzročnika goveđe spongiformne encefalopatije (GSE), u čijem su sastavljanju sudjelovali i stručnjaci HVI-a, objavljena je u Narodnim novinama br. 45. od 18. svibnja 2001. Ovom Naredbom HVI je potvrđen kao službeni Laboratorij za obavljanje naređene pretrage.

Propisana metoda za provođenje laboratorijske dijagnostike je Prionics®-Check Western metodom.

Od citirane Naredbe (N.N. br. 45/01.) iz 2001. godine, uključujući važeću Naredbu o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2010. (N.N. br. 7/10.) određeno je testiranje životinja na GSE i grebež ovaca, a stručnjaci su HVI-a aktivno sudjelovali svake godine

u njihovoj pripravi, isto kao i u izradi Pravilnika.

Od ožujka 2007. godine u Laboratoriju se uvodi Prionics®-Check PrioSTRIP kao nova metoda dijagnostike GSE. Ovom metodom se rutinski pretražuju uzorci moždanog tkiva dok metoda Prionics®-Check Western služi kao konfirmativna metoda.

Pravilnikom za sprječavanje pojave, kontrolu i iskorjenjivanje određenih transmisivnih spongiformnih encefalopatija (N.N. br. 39/1997.), od 16. 4. 1997., HVI je proglašen Nacionalnim referalnim laboratorijem.

U siječnju 2009. godine, Laboratorij uvodi Prionics®-Check WesternSR kao rutinsku metodu u dijagnostici grebeža ovaca.

Tijekom 2008. godine u Laboratoriju je uveden sustav kvalitete prema normi HRN EN ISO/IEC 17025:2006, te su 2009. akreditirane dvije metode Prionics®-Check PrioSTRIP i Prionics®-Check Western.

Isto tako, Laboratorij sudjeluje u međulaboratorijskom testiranju s na-

Tablica 1. Prikaz ukupnog broja pretraženih uzoraka na TSE po godinama (od 15. svibnja 2001. do 1. ožujka 2010. godine)

Godina pretraživanja	Ukupni broj pretraženih životinja
2001.	9729
2002.	16011
2003.	13165
2004.	15132
2005.	16733
2006.	27431
2007.	25020
2008.	24936
2009.	34345
2010.	6497
UKUPNO	188999

cionalnim referalnim laboratorijima drugih zemalja. Zadnje međulaboratorijsko testiranje provedeno je s Neurocenter, Bern, Švicarska, referalnim laboratorijem OIE- a za transmisivne spongiformne encefalopatije

Osim specifične pretrage mozga na GSE ili grebež ovaca u Laboratoriju za brzu dijagnostiku TSE, Hrvatski veterinarski institut izravno je uključen u dijagnostiku TSE terenskim kliničkim pregledima sumnjivih slučajeva bolesti, kao i nastavnim patomorfološkim pretragama. Dodatnim, specifičnim laboratorijskim pretragama materijala djeluje se neizravno i na dijagnostiku TSE u diferencijalnom smislu.

Sažetak

Nadzor transmisivnih spongiformnih encefalopatija određen je Propi-

sima u Hrvatskoj još od 1996. godine, iako je na razini Hrvatskog veterinarskog instituta započeo još godinu dana ranije. Tijekom razdoblja od 1996. pa do datuma Nadležno tijelo je donijelo čitav niz propisa, pravilnika i naputaka kojima se regulira ovo područje.

Hrvatski veterinarski institut je uključen u različitim vidovima u proces monitoringa, dijagnostike, kao i u druge vidove suzbijanja ovih bolesti od samoga početka njihovog provođenja u Republici Hrvatskoj. Najizravniji dio je Laboratorij za brzu dijagnostiku TSE, koji je započeo s radom 2001. godine i od tada djeluje u kontinuitetu do danas, sa sveukupnim brojem od 188999 obavljenih pretraga.

U radu se kronološkim tijekom prikazuju najvažniji Propisi i druge djelatnosti vezani uz područje.

Regulations and activities pertaining to the issue of transmissible spongiform encephalopathy (TSE) in Croatia

Žaklin ACINGER-ROGIĆ, DVM, Expert Advisor, Sanja ŠEPAROVIĆ, DVM, M.Sc., Director, Veterinary Directorate, Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development; Branko ŠOŠTARIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Advisor, Željko MIHALJEVIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Surveillance of the transmissible spongiform encephalopathy group of diseases has been regulated in Croatia since 1996, though diagnostic activities began at the Croatian Veterinary Institute one year earlier. Since 1996, the competent authority has issued a number of legislative measures, ordinances and instructions regulating this field. The Croatian Veterinary Institute has been involved in the process of moni-

toring, diagnostics and eradication of this group of diseases since the beginning. The milestone of this process is the Laboratory for Rapid TSE Testing, which began diagnostic activities in 2001, and has since conducted a total of 188,999 tests. The paper outlines the most important legislative measures and other activities in chronological order.

Veterinarska imunologija u Hrvatskoj - prošlost, sadašnjost i budućnost - II. dio

I. Valpotić, J. Madić, Svjetlana Terzić, Maja Popović i F. Božić



Stanje umjeća (1985.-2009.)

Noviju su povijest veterinarske imunologije u Hrvatskoj stvarali istraživači iz 6 zavoda i 1 klinike Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagreb (VFSZ), iz Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI), Zagreb i Zavoda za animalnu fiziologiju (ZAF), Biološkog odsjeka PMF-a Sveučilišta u Zagrebu, kao i brojni vanjski suradnici i/ili doktoranti koji sada rade u drugim zavodima/klinikama VFSZ ili pak u drugim institucijama (njihova su imena pisana kurzivom). Treba spomenuti da je u tom razdoblju (1993.) publicirana „Veterinarska imunologija“ (slika 26) autora Tome Nagliča i Danka Hajsiga iz Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti (ZMZB) VFSZ. To je prva knjiga iz tog područja na hrvatskom jeziku i imala je veliki utjecaj na hrvatsku imunološku terminologiju.

Autori ove vrijedne knjige uveli su predmet „Veterinarska imunologija“ u program diplomske i poslijediplomske nastave studija veterinarske medicine na VFSZ u akademskoj godini 1991./1992.



Slika 26. Naslovnica knjige Veterinarska imunologija

U **Zavodu za biologiju (ZB)** VFSZ, Terezija Hrženjak je počela s istraživanjima iz područja veterinarske imunologije u ranim 1980-tim, radeći na utvrđivanju:

- imunogenosti citolipina – P izdvojenog iz velikog goveđeg metilja (*Fasciola hepatica*),
- molekularnih sličnosti antigena izdvojenih iz ličinki male pasje trakavice (*Echinococcus granulosus*) i tumorskih antigena čovjeka,
- mitogenosti lektina izdvojenih iz zrele ikre potočne pastrve (*Salmo trutta fario*) za humane limfocite.

Dr. sc. Ivica VALPOTIĆ, dipl. inž. biol., redoviti profesor, dr. sc. Josip MADIĆ, dr. vet. med., redoviti profesor, dr. sc. Maja POPOVIĆ, dr. vet. med., izvanredna profesorica, dr. sc. Frane BOŽIĆ, dr. vet. med., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Svjetlana TERZIĆ, dr. vet. med., znanstvena savjetnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

Polovicom 1980-tih, istraživački je rad Ivica Valpotića (slika 27) bio od velike važnosti za brzo priznavanje i prihvaćanje veterinarske imunologije u Hrvatskoj, kao posebne discipline u okviru opće imunologije.

Preduvjet za daljnji razvitak veterinarske imunologije bilo je opremanje imunobioloških laboratorija u ZB (slika 28) za provođenje staničnih i molekularnih kvantitativnih/kvalitativnih i funkcionalnih testova radi procjene imunosnog statusa domaćih životinja te uvođenja specifične/nescifične manipulacije sustavnim i lokalnim imunosnim odgovorom u svhu unapređenja njihova zdravlja, proizvodnosti i dobrobiti.

Njegov je rad imao iznimno teorijsko i praktično značenje, posebice kroz mentorstvo brojnim magistrantima (3) i doktorantima (12) i voditeljstvo vrlo zapaženih znanstvenih projekata (8 domaćih i 5 međunarodnih), koji su bili usredotočeni na unapređenje zdravlja i proizvodnosti životinja imunološkim pristupima. Ovdje navodimo samo ključne istraživačke teme i/ili njihove ishode, koje su on i njegovi suradnici, uključujući i magistrante/doktorante te strane znanstvenike (imena su navedena u zagradama), obrađivali i/ili postizali od 1981. do danas:

- humoralna i stanična imunost konja prirodno ili pokusno inficiranih vi-

rusom IAK; izvorni nalaz različitosti liziranja autolognih virusom inficiranih stanica s pomoću testa izravne citotoksičnosti i citotoksičnosti ovisne o protutijelu tijekom lentivirusne infekcije

- jedinstvene osobitosti reaktivnosti limfocita na nescifične/specifične podražaje u domaćih životinja na-



a)



b)



Slika 27. Prof. dr. sc. Ivica Valpotić



c)

Slika 28. Imunobiološki laboratoriji za a) stanične kulture, b) protočnu citometriju i c) imunofluorescenciju u ZB

mijenjenih prehrani (svinja, govedo, ovca, koza) i pratitelja čovjeka (pas, mačka, konj)

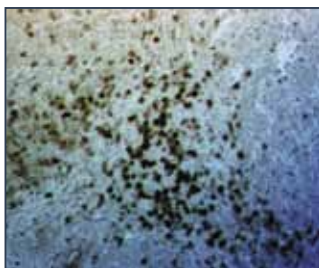
- pasivni prijenos imunosti u svinje i imunoprotivni potencijal pripravka alogenskih imunoglobulina u preventivi proljeva sisajuće prasadi
- *in vitro* i *in vivo* imunomodulacijski učinci egzogenih i endogenih modifikatora imunskog odgovora (MIO) u vrsta od interesa za veterinu, napose u mlade prasadi
- dobno ovisna reaktivnost svinjskih limfocita periferne krvi na uobičajene mitogene, specifične antigene ili alogenske stanice
- uspostavljanje enzimskog imunskog postupka za otkrivanje svinjskih enterocitnih receptora za adheziju fimbrijskog antigena F4ac enterotoksigenih sojeva bakterije *Escherichia coli* (ETEC)
- pretraživanje svinjskih limfocita iz

periferne krvi i Peyerovih ploča na prisutnost homologa adhezivnog receptora za F4ac antigen

- svinjski leukocitni diferencijacijski (engl. cluster of differentiation; CD) antigeni i njihova distribucija na limfoidnim/mijeloidnim subpopulacijama stanice u limfatičkim tkivima i organima (slika 29); sudjelovanje u svojstvu voditelja istraživanja ovlaštenog laboratorija za testiranje monoklonskih protutijela (mPt) reaktivnih sa svinjskim limfoidnim CD antigenima za tri Međunarodne radionice o svinjskim CD antigenima održane između 1992. i 1998. godine
- temeljne i praktične spoznaje o obrambenom potencijalu crijevnog mukoznog imunskog sustava svinje i mogućnostima egzogene manipulacije tim sustavom radi unapređenja zdravlja probavnog sustava odbijene prasadi rezultat su višegodišnje suradnje s međunarodno priznatim znanstvenicima (slika 30) iz SAD (a), Mađarske (b) i Engleske (c)
- utvrđivanje imunofenotipske specifičnosti i funkcije imunskih stanica svinje djelatnih u obrani mukoznih površina crijeva od enteričkih infekcija bakterijske etiologije
- modulacija crijevnog mukoznog imunskog sustava svinje s pomoću F4⁺ i F18⁺ neenterotoksigenih cjepnih sojeva bakterije *E. coli* (ne-ETEC), MIO/mukoznih adjuvansa i/ili prebiotika/probiotika radi preventive/kontrole kolidiareje (KD)/kolienterotoksemije (KE) odbijene prasadi (Ivica Valpotić)
- imunogenične i molekularne osobitosti izolata Nova scotia-1 podvrste oblika *Trichinella spiralis nativa* (Albert Marinculić)



29. a)



29. b)



29. c)



29. d)

Slika 29. Imunohistološka identifikacija i distribucija imunskih stanica/molekula u jejunumu prasadi tijekom postnatalne ontogeneze imunskog sustava: a) IgA⁺ plazma stanica u lamini propriji resica, a sekrecijski IgA u lumenu kripti (3. tjedan života), b) CD45RC⁺ pamteće stanice u interfolikularnim područjima Peyerovih ploča (6. tjedan života), c) CD4⁺ pomoćnički i d) CD8⁺ citotoksički T limfociti (7. tjedan života) u lamini propriji resica i između kripti; PAP metoda, povećanje x 200.

- određivanje pokazatelja staničnog imunskog odgovora u limfatičkim tkivima probavnog sustava (LTPS) prasadi pokusno inficirane ETEC ili ne-ETEC sojevima bakterije *E. coli* (Nada Vijtiuk)
- humoralni i stanični imunski odgovor konja hiperimuniziranih tetanusnim toksoidom (Nikica Petrinec)
- obrasci fenotipske ekspresije i tkivne distribucije svinjskih CD⁺ imunskih stanica (Marija Tomašković)
- sinergistički učinak levamisola na imunostimulacijsko djelovanje živih oralnih cjepiva protiv KD odbijene prasadi (Frane Božić)
- humoralna i stanična imunost prasadi imunizirane atenuiranim sojem Kina virusa KSK ili glikoproteinom E2 virusa KSK (Svjetlana Terzić)
- imunofenotipske i funkcijske osobitosti subpopulacija T i B stanica u LTPS prasadi pokusno cijepljene adherentnim ne-ETEC sojem bakterije *E. coli*
- modulacija crijevne mukozne imu-

nosti u odbijene prasadi fimbrijskim antigenima bakterije *E. coli* i/ili MIO (Lidija Šver)

- stimulacija nespecifične imunosti pripremkom inaktiviranog virusa *Parapoxvirus ovis* umanjuje uginuća mlade prasadi (Marcela Šperanda)
- unaprjeđenje reproduksijskih osobitosti rasplodnih bikova simentalke pasmine s pomoću imunomodulatora Baypamuna
- imunostimulacijsko djelovanje levamisola poboljšava kvalitetu sperme nerastova, dok homeopatski pripravak Traumeel nije bio učinkovit u ovom model sustavu (Franjo Marković)



30. a)



30. b)



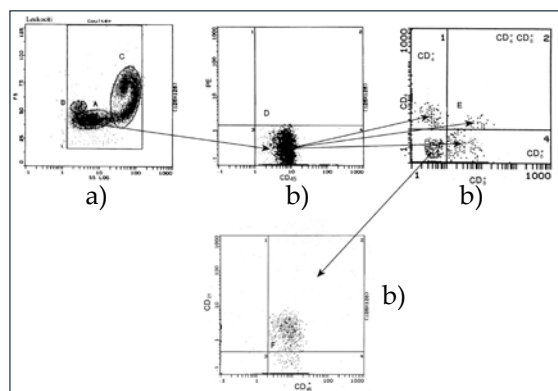
30. c)

Slika 30. Dr. sc. Evelyn Dean-Nystrom (a) iz National Animal Disease Center, Ames, Iowa, akademik Bela Nagy (b) iz Veterinary Medical Institute of Hungarian Academy of Sciences, Budimpešta i prof. dr. sc. Christopher Stokes (c) iz School of Clinical Veterinary Sciences, University of Bristol

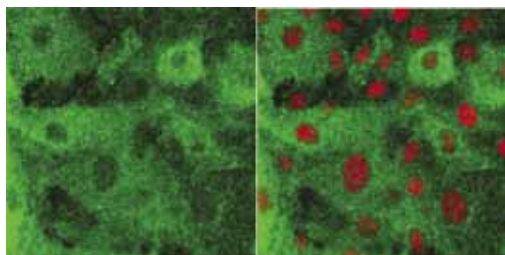
- stanični imunosni odgovori prasadi oboljele od sindroma kržljanja odbijene prasadi (SKOP) povezani su s jačinom promjena u njihovim limforetikularnim tkivima (*Željko Mihaljević*)
- imunofenotipske i morfometrijske osobitosti imunosnih stanica sluznice tankoga crijeva odbijene prasadi imunizirane živim oralnim cjepivom protiv KE
- imunohistološka i histomorfometrijska analiza crijevnog imunosnog sustava svinje tijekom perinatalne ontogeneze i nakon egzogene imunomodulacije (Ana Kovšca Janjatović)
- funkcionalni *in vitro* testovi stanične

imunosti u konja inficiranih virusom IAK pokazuju homologiju s protuvirusnim odgovorom u oboljelih od sindroma stečene imunodeficijencije

- imunosupresija *in vivo* i *in vitro* odgovora limfocita svinje izazvana oblicem *T. spiralis* ili ekskretorno-sekretornim (ES) antigenima parazita (*Marijan Gerenčer*)
- identifikacija i distribucija subpopulacija CD⁺ leukocita u odjeljcima LTPS svinje s pomoću imunofluorescentne ili imunoperoksidazne metode
- razlučivanje citolitičkih i supresorskih T stanica u sluznici tankoga crijeva prasadi s pomoću proteinskog S-100 biljega (*Gordana Lacković*)
- imunološka karakterizacija adhezina sličnih imunoglobulinima izdvojenih iz gujavice *Eisenia foetida*
- citometrijske analize postnatalnog razvitka i sazrijevanja stanične imunosti u psa, mačke, goveda, konja, koze, ovce, svinje, kunića i pileta temeljem ekspresije leukocitnih/limfocitnih CD antigena (slika 31)
- utvrđivanje protustresnog učinka imunomodulatora Baypamuna temeljem pada razine kortizola u



Slika 31. Citometrijsko razlučivanje leukocita periferne krvi 8 tjedna starog praseta temeljem: (a) veličine i zrnatosti stanica na limfocite (A), monocyte (B) i granulocyte (C), te površinskih biljega obilježenih mPt na (b) CD45⁺ limfocite (D), CD4⁺ ili CD8⁺ T limfocite (E) i CD45⁺/CD21⁺ B limfocite (F)



Slika 32. Imunocitokemijski prikaz ekspresije diferencijacijskog biljega citokeratina 19 na epitelnim stanicama izdvojenim iz kože svinje, biomedicinskog modela za razvitak i optimizaciju uzgoja kultura matičnih i diferenciranih stanica za staničnu terapiju

plazmi bređih nazimica nakon pregrupiranja

- praćenje kvalitativnih/kvantitativnih promjena u profilima imunostanih stanica pjetlića nakon kopunizacije, odnosno tovnih pilića nakon imunizacije živim ili inaktiviranim cjepivom protiv NB s pomoću protočne citometrije
- određivanje promjena u ekspresiji leukocitnih površinskih CD molekula u krava prirodno inficiranih virusom enzootske leukoze goveda (ELG)
- razvoj i optimizacija tehnologije uzgoja diferenciranih i nediferenciranih stanica psa, mačke, svinje (slika 32) i konja za primjenu u veterinarskoj medicini, napose reparativnoj kirurgiji (Maja Popović; slika 33).
- Imunobiološka i molekularna istraživanja bakterija iz roda klamidija domaćih životinja (Ksenija Vlahović)

Nadalje, treba pripomenuti da je I. Valpotić član AAVI (od 1989.), bivši član VIC IUIS (1993.-1996.) te da je 2004. godine nagrađen Godišnjom državnom nagradom za znanost za istraživački rad u veterinarskoj imunologiji (slika 34).

U **Zavodu za biologiju i patologiju riba i pčela** istraživanja imunologije riba bila su usmjerena na:

- utvrđivanje antigenskih osobitosti virusa *Rhabdovirus carpio* uzročnika

proljetne viremije šarana (Zdravko Petrincec)

- imunoprofilaksu vibrioze (*Vibrio anguillarum*) i jersinioze (*Yersinia ruckeri*) u kalifornijske pastreve *Onchorhynchus mykiss* (Dražen Oraić)
- cijepljenje šarana protiv proljetne viremije inaktiviranim virusnim cjepivom
- otkrivanje uloge štapićastih stanica u staničnoj imunosti šarana (Željka Matašin; slika 35)



Slika 33. Prof. dr. sc. Maja Popović



Slika 34. Nagrada dodijeljena prof. dr. sc. I. Valpotiću u području biomedicinskih znanosti za značajno znanstveno dostignuće, otkriće mehanizama modulacije crijevne mukozne imunosti bakterijskim antigenima i MIO na modelu domaće svinje



Slika 36. Prof. dr. sc. Frane Božić

U Zavodu za farmakologiju i toksikologiju

Frane Božić (slika 36) je krajem 1990-tih istraživao imunitet na parazite, a potom se od 2000. godine bavi imunofarmakologijom, i uvodi model egzogene imunomodulacije u domaće svinje. Njegova su istraživanja bila usmjerena na:

- analiziranje $\gamma\delta$ TCR⁺ na intestinalnim intraepitelnim limfocitima (i-IEL) u lokalnoj imunosti miša/svinje protiv pokusne invazije oblicima *T. spiralis* i *T. pseudospiralis*; što je bila prva fenotipska karakterizacija IEL u tankom crijevu miša
- utvrđivanje rane proliferacije i-IEL, ovisno o dozi, nakon pokusne crijevne infekcije oblicem *T. spiralis* i njihova uloga u otpornosti s obzirom na ubrzavanje izbacivanja parazita
- istraživanje modulacijskog učinaka imunosupresivnih lijekova, poput deksametazona na hiperplaziju vrčastih stanica jejunuma tijekom crijevne infekcije miša oblicem *T. spiralis*
- uspostavljanje imunosne zaštite svinje od trihineloze s pomoću pokusne



Slika 35. Prof. dr. sc. Željka Matašin

cijepne vrste oblika *T. nativa*

- praćenje proliferacije crijevnih CD45RA⁺ i CD45RC⁺ stanica u odbijene prasadi nakon poticanja pokus-

nim oralnim F4ac⁺ ne-ETEC cjepivom protiv kolibaciloze svinja

- definiranje sinergističkog učinka levamisola, kao mukoznog adjuvansa, u poticanju crijevnih T limfocita u kombinaciji sa živim atenuiranim F4ac⁺ ne-ETEC pokusnim cjepnim sojem protiv proljeva odbijene prasadi.

Na 9. Međunarodnom kongresu Europske udruge za veterinarsku farmakologiju i toksikologiju održanom od 13. do 18. srpnja 2003. godine u Portugalu, F. Božić je dobio priznanje za najbolje usmeno priopćenje pod naslovom „levamisol stimulira crijevni imunosni odgovor T stanica u odbijene prasadi cijepjene protiv kolibaciloze“ (slika 37).

U Klinici za unutrašnje bolesti nedavno su počela istraživanja pripadna području veterinarske imunologije pod voditeljstvom Vladimira Mrljka (slika 38), uz suradnju Vesne Matijatko, Renate Barić Rafaj i Nade Kučer. Njihova su istraživanja bila usmjerena na utvrđivanje ranog diagnosticiranja protozojskih infekcija pasa, napose babezi- oze, praćenjem plazmatskih sustava aktiviranih tijekom bolesti:

- proteina akutne faze, poput C-reaktivnog proteina i haptoglobina
- neopterina
- metabolita arahidonske kiseline, koji upućuju na izbijanje infekcije i pojavu upale u oboljelih životinja.

ZMZB s klinikom, smatra se organizacijskom jedinicom VFSZ gdje je veterinarska imunologija rođena u ranim 1920-tim godinama kao akademska istraživačka disciplina u okviru opće imunologije. Za znatne napretke u aspektima veterinarske



Slika 37. Priznanje dodijeljeno prof. dr. sc. F. Božiću i suradnicima za najbolje priopćenje, u okviru teme o terapeutima na 9. kongresu EAVPT održanom 2003. godine u Lisabonu, o imunomodulacijskom učinku levamisola

imunologije (između 1960-tih i 1990-tih), napose u vakcinologiji, zaslužan je Slavko Cvetnić zbog svojih iznimnih postignuća u:

- pripravljanju diagnostičkih postupaka i provođenju imunoprofilakse influence konja s pomoću inaktiviranog cjepiva nakon određivanja virusa A₂-equi (H3N8)
- otkrivanju specifičnih protutijela za humanu influencu u konja i svinje
- pripravljanju indirektnog hemaglutinacijskog testa za diagnostiku zaraznog goveđeg rinotraheitisa (ZRG) i atenuiranog virusnog cjepiva protiv goveđeg herpesvirusa 1
- vrednovanju imunoprofilakse goveđih respiratornih bolesti s pomoću atenuiranog dvovaljanog cjepiva pripravljenog od goveđeg herpesvirusa 1 i virusa parainfluenca 3
- otkrivanju serumskih protutijela za adenovirus 1, uzročnik GVD, i virus goveđe imunodeficijencije
- istraživanju doza inaktiviranog ili atenuiranog cjepiva u imunoprofilaksi BA i potencijalna uporaba marker cjepiva
- utvrđivanju imunogenosti soja F



Slika 38. Prof. dr. sc. Vladimir Mrljak

virusa NB i podjedinичnog cjepiva protiv NB pripravljenog od soja La Sota virusa

- određivanju zaštitne sposobnosti cjepiva protiv epidemijskog tremora peradi (Slavko Cvetnić).

U okviru recentnijih istraživanja u području veterinarske imunologije (od sredine 1960-tih do danas), djelatnici ZMZB (imena se nalaze u zgradama) su:

- istraživali imunogenost soja F virusa NB umnoženog u linijskoj kulturi stanica humanog amniona (FL) i epizootiološku opravdanost cijepljenja peradi protiv zaraznog bronhitisa
- utvrđivali imunost teladi nakon cijepljenja atenuiranim parainfluenca 3 virusom
- vrednovali djelotvornost atenuiranog gE marker cjepiva protiv AB svinja
- utvrđivali specifična protutijela za pasji/svinjski parvovirus, goveđi adenovirus, virus influence konja u čovjeka, virus parainfluenca 3 u ovaca/koza, humani virus influence u ptica, ovaca/koza i divljih svinja, virus KSK, virus RRSS i virus GVD u divljih svinja (Željko Župančić)
- nastavili rad I. Zaharije i utvrdili s pomoću mikroskopskog aglutinacijskog postupka, protutijela specifična za 10 seroloških skupina leptospira u Hrvatskoj
- sustavno pratili seroprevalenciju

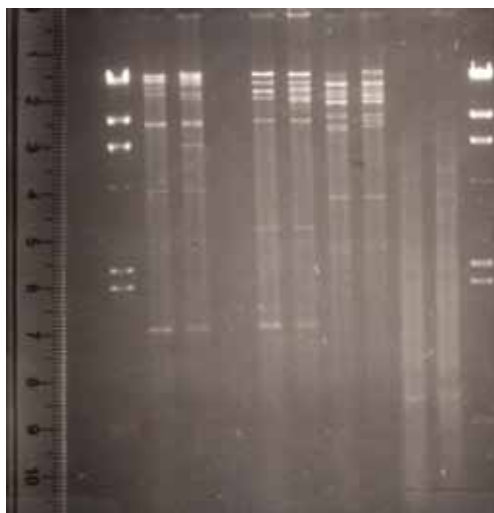
leptospiroza u životinja i čovjeka i prvi utvrdili tu bolest u mačke i zeca u Europi (Zvonko Modrić)

- nastavili rad D. Petrovića na dijagnostici IAK, i proširili istraživanja na serološko dokazivanje distribucije te retrovirusne bolesti u Hrvatskoj, Sloveniji i Bosni i Hercegovini
- uspostavili izvorni postupak za proizvodnju antigena virusa iz slezene konja inficiranih virusom IAK
- istraživali povezanost između influence domaćih i divljih životinja s onom u čovjeka uporabom različitih seroloških postupaka za otkrivanje specifičnih protutijela (Berislav Jukić)
- vrjednovali zaštitnu sposobnost cjepiva u imunoprofilaksi/imunoterapiji goveđih dermatofitoza i nekrotičnog enteritisa svinja
- serološki pratili infekcije konja virusom konjske influence A₁-equi te bakterijama *Salmonella abortusequi* i *Actinobacillus pleuropneumoniae*
- serološki utvrdili prisutnost bakterije *Mycoplasma equigenitalium* u

spolnim organima konja i goveda; što je bio prvi nalaz ove bakterije u pastuha u svijetu

- odredili antigenske i genomske osobitosti bakterija *M. mycoides* subsp. *mycoides* i *M. conjunctivae* izdvojenih iz kozlića i ovaca (Tomo Naglić)
- pripravili toksoidno cjepivo protiv gangrenoznog mastitisa ovaca (bluebag) za imunoprofilaksu te bolesti u Hrvatskoj (*Danko Hajsig*)
- istraživali zaštitnu sposobnost inaktiviranih i disociranih cjepiva protiv influence konja i uspostavljali jedn-osmjernu radijalnu hemolizu za dijagnostiku te bolesti
- primjenjivali imunoprofilaksu AB i ZRG u svinja, odnosno goveda
- proučavali imunobiologiju ZRG (izotipove protutijela u serumu i mukoznim sekretima) u pokusno inficirane teladi nakon inokulacije, reinfekcije i reaktivacije virusa s pomoću različitih postupaka imunoenzimskog testa
- utvrdili imunogene osobitosti soja Zagreb herpesvirusa 1 (delecijskog

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



Slika 40. Prof. dr. sc. Josip Madić

Slika 39. Snimka agaroznog gela s elektroforetski razdvojenim fragmentima DNA cjepnog soja Zagreb govedeg herpesvirusa 1 i terenskog izolata Iowa s pomoću restrikcijskih enzima (RE): 1 = λ_{H} (standard poznatih veličina restrikcijskih fragmenata), 2 = Zagreb i 3 = Iowa (RE: BstEII), 4 = Zagreb i 5 = Iowa (RE: EcoRI), 6 = Zagreb i 7 = Iowa (RE: HindIII), 8 = Zagreb i 9 = Iowa (RE: PstI), 10 = λ_{H} (standard, odozgo prema dolje: 23,2; 9,5; 6,5; 4,4; 2,3 i 2,0 Kb)

mutanta za gen koji kodira gE); što je bio prvi nalaz i molekularna analiza genoma takvog prirodnog mutanta u svijetu (slika 39) koji je promijenio strategije kontrole i preventive ZRG

- testirali djelotvornost cjepiva protiv pasje i svinjske parvoviroze temeljem precipitiranih imunih kompleksa
- utvrdili prisutnost specifičnih neutralizacijskih protutijela za virus West Nile u konja u Hrvatskoj
- serološki i epizootiološki utvrdili distribuciju virusa ELG, virusa imunodeficijencije goveda i virusa leukemije/imunodeficijencije mačke (Josip Madić; slika 40)
- proučavali razine i kinetiku humoralnih imunskih odgovora u mačke i psa s dermatofitozama nakon prirodne ili pokusne infekcije vrstama gljivica kao što su *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum* i *Trichophyton mentagrophytes*
- određivali osobitosti citoplazmatskog antigena sojeva *M. canis* izdvojenih iz psa i čovjeka s pomoću SDS-PAGE postupka i pripremali mPt specifična za te antigene
- klinički istraživali alergijske bolesti pasa i mačaka (napose atopijski dermatitis pasa izazvan alergenom iz gljivice *Malassezia pachydermatitis*) temeljem izvorno postavljenog indirektnog imunofluorescencijskog dijagnostičkog postupka (Ljiljana Pinter)
- serološki istraživali epizootologiju i epidemiologiju infekcijskih bakterijskih bolesti, napose zoonoza poput leptospiroze i Lymške borelioze
- dijagnosticirali leptospire u domaćih i divljih životinja te u čovjeka s pomoću seroloških i molekularnih



Slika 41. Prof. dr. sc. Albert Marinculić



Slika 42. Prof. dr. sc. Zdenko Biđin

postupaka

- uspostavili imunoenzimski postupak za dijagnostiku Lymške borelioze u psa
- utvrđivali prisutnost serumskih protutijela za virus humane influence u divlje svinja i ptica
- klinički utvrđivali djelotvornost autocjepiva protiv goveđe papilomatoze (Nenad Turk)
- istraživali seroprevalenciju IAK u Hrvatskoj uporabom izvorno pripremljenog virusnog antigena u linijskoj kulturi stanica (fibroblasta) konjske kože s pomoću GDP postupka (Vilim Starešina)
- proučavali nespecifične protuvirusne i protustresne učinke imunomodulatora Baypamuna na širenje virusa BA i razinu kortizola nakon transporta prasadi (Nevenka Biuk Rudan).

U **Zavodu za parazitologiju i invazijske bolesti** istraživanja imunosti na parazite započeo je Damir Rapić (uz potporu suradnika iz ZB) sredinom 1980-tih. Utvrdio je imunosupresivne učinke oblića *T. spiralis* i ES antigena parazita na *in vivo* i *in vitro* odgovore limfocita pokusno invadiranih svinja, odnosno njihovih stanica pretretiranih ES antigenima. Međutim, uskoro potom otišao je s VFSZ, a njegov je rad nastavio Albert Marinculić (slika 41). Njegova su

opsežna istraživanja bila usmjerena na:

- uspostavljanje postmortem dijagnoze trihineloze svinja ELISA postupkom uporabom izvorno pripravljenog ES antigena iz mišićnih ličinki oblića *T. spiralis*
- određivanje seroprevalencije trihineloze temeljem prisutnosti specifičnih protutijela u svinja s farmi u Njemačkoj i Hrvatskoj; s time da je protutijela bilo moguće otkriti samo u životinja s više od 0,38 ličinki po gramu mišićne mase
- utvrđivanje izbacivanja adulta oblića *T. spiralis* nakon upalnog odgovora i znatnog porasta brojnosti $\alpha\beta\text{TCR}^+$ i CD8^+ i-IEL T u miševa pretretiranih deksametazonom
- određivanje imunogenosti i cjepnog potencijala arktičke vrste parazita *T. nativa* u svinje temeljem dokazivanja prisutnosti sIgA protutijela s pomoću imunobloting postupka i izazivačkom infekcijom s oblicem *T. spiralis*
- standardiziranje pripravljanja ES antigena (s pomoću SDS-PAGE i imunobloting postupka) iz različitih razvojnih stadija oblića *T. spiralis* za serodijagnostiku trihineloze svinje i čovjeka; najveća je specifičnost utvrđena s antigenom iz stihocita
- istraživanje seroprevalencije zoonoze, lišmanioze psa, u endemskim područjima Hrvatske (Dalmacija) s pomoću DOT ELISA postupka; gotovo 43% pretraženih pasa bilo je seropozitivno
- pripravljanje alternativnog dijagnostičkog antigena izdvojenog iz simbiotskih bičša iz insekta *Crithidia luciliae*, s obzirom da se standardni antigen za DOT ELISA postupak

proizvodi u *in vitro* uvjetima iz promastigota, koji su potencijalno infektivni za čovjeka.

U **Zavodu za bolesti peradi s klinikom** početak istraživanja u području veterinarske imunologije podudara se s njegovim osnivanjem 1968. godine. Naime, osnivač Zavoda M. Kralj već je i prije radio u tom području. Tako je u novoosnovanom Zavodu, započeo rad s grupom mladih istraživača među kojima su bili najistaknutiji Hrvoje Mazija i Zdenko Biđin (slika 42). Njihove su istraživačke aktivnosti bile usmjerene na:

- provođenje specifične imunoprofilakse NB u kokoši i vrjednovanje imunogenosti pokusnog cjepnog soja virusa NB umnoženog u linijskoj kulturi stanica FL
- unaprjeđivanje specifične hemaaglutinacije virusa NB uklanjanjem nespecifičnih inhibitora iz seruma fazana
- pojačavanje urođene imunosti protiv NB u fazanskih pilića cijepljenjem njihovih roditelja
- utvrđivanje specifičnih protutijela protiv brojnih ptičjih virusa (kao što su CELO-viroza reovirusni artritis, zarazni bronhitis/laringotraheitis i encefalomijelitis); što je zapravo bio prvi nalaz humoralnog imunogenog odgovora peradi na te virusne infekcije
- pripravljanje novog cjepiva protiv CELO-viroze i unaprjeđivanje djelotvornosti cjepiva protiv NB, zarazne bolesti burze (ZBB) te zaraznog bronhitisa
- serološko utvrđivanje specifičnih protutijela za virus sindroma pada nesivosti (SPN '76).

Kada je M. Kralj otišao u mirovinu,

H. Mazija, Z. Biđin i Estella Prukner Radovčić, u suradnji s tadašnjim doktorantima *Ivanom Lojkić* i *Irenom Ciglar*, te s dvoje znanstvenih novaka (Željko Gottstein i Danijela Horvatek, koji su u međuvremenu također doktorirali) usmjeravaju svoja istraživanja na:

- utvrđivanje imunosupresije specifičnog imunosnog odgovora na homologne/heterologne antigene virusa ZBB i genetska karakterizacija virusa
- imunosupresijske bolesti purana, poput astroviroze i reoviroze
- standardiziranje specifične zaštite nekih cjepiva za perad (napose cjepiva protiv NB) primjenjenih ultrazvučnom aerosolizacijom u laboratorijskim i terenskim uvjetima
- umanjivanje kontaminacije nekih živih cjepiva za perad lentivirusima
- serološku dijagnostiku rinotraheitisa purana; što je bio prvi nalaz te bolesti u Hrvatskoj
- uspostavljanje serološke dijagnostike klamidioze i klamidioze u domaće peradi i slobodno živućih ptica
- nove pristupe u cijepljenju protiv virusnih bolesti peradi i divljih ptica temeljene na cijepljenju aerosolom u valionici; ovakav izvorno opisani način davanja cjepiva ima znanstveno značenje za veterinarsku imunologiju (naime, put unosa mikročestica cjepnog imunogena u dišni sustav izaziva imunosnu zaštitu), kao i praktičnu vrijednost za peradarsku proizvodnju.

U HVI je znatan udjel znanstvenih istraživanja usmjeren prema aspektima veterinarske imunologije, napose prema onima koji se odnose na dijagnostiku, kontrolu i preventivu infekcijskih bolesti životinja od značenja za veterinarsku medicinu. Imeđu 1970-tih i 1990-tih go-

dina, Mirko Lojkić je provodio intenzivna istraživanja u svezi pripravljanja i vrednovanja cjepiva protiv bolesti svinja (transmisivnog gastroenteritisa, BA, parvoviroze i rotaviroze) i goveda (ZRG/zaraznog pustularnog vulvovaginitisa).

U zadnjih je desetak godina, nekoliko djelatnika HVI radilo u području veterinarske imunologije, odnosno na sljedećim njezinim aspektima:

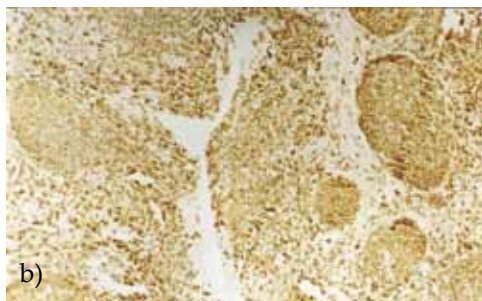
- sustavno praćenje epizootologije i epidemiologije bakterijskih bolesti (Željko Cvetnić; slika 43), posebice zoonoza domaćih i divljih životinja (bruceloze, leptospiroze, svinjske/goveđe tuberkuloze i Q-groznice), kao i nekih virusnih bolesti (GVD, borderske bolesti, CBS, KSK (Lorena Jemeršić) s pomoću seroloških i molekularnih metoda
- karakterizacija fenotipskih/funkcijskih obrazaca stanične imunosti i utvrđivanje odgovora protutijelima u prasadi nakon cijepljenja s podjedinničnim ili atenuiranim cjepivom protiv KSK, s pomoću protočne citometrije, imunohistologije (slika 44), testa stimulacije limfocita (TSL) i/ili ELISA postupka (Svjetlana Terzić; slika 45)
- imunofluorescencijska (IF) pretraga na virus bjesnoće (slika 46) u domaćih i divljih sisavaca (Željko Čač)
- vrednovanje imunogenosti inaktiviranog podjediničnog cjepiva protiv



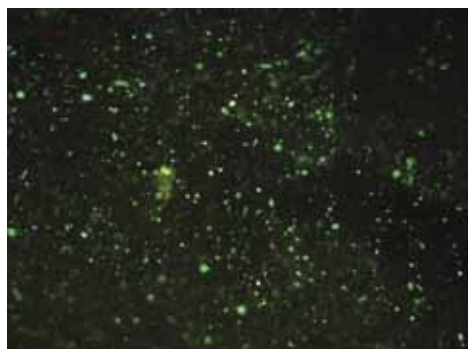
Slika 43. Prof. dr. sc. Željko Cvetnić



Slika 45. Dr. sc. Svjetlana Terzić



Slika 44. Imunohistološka identifikacija i distribucija CD21⁺ B limfociti (a) i CD45RA⁺ djevičanskih limfoidnih stanica u tonzilama odbijenog praseta 28. dana nakon imunizacije atenuiranim cjepivom (soj Kina), odnosno podjediničnim gpE2 cjepivom protiv KSK; ABC metoda, povećanje x 60.



Slika 46. Mikroskopska slika IF nalaza uzročnika bjesnoće u uzorku moždanog tkiva lisice

- parvoviroze svinje (Besi Roić),
- kvalitativna/kvantitativna analiza subpopulacija svinjskih CD⁺/SWC⁺ imunskih stanica u odbijene prasadi zaražene CBS i uspoređivanje njihovog staničnog imunskog statusa s promjenama izazvanim virusom u limforetikularnom tkivu (Željko Mihaljević)
- citometrijska analiza goveđih leukocitnih subpopulacija u sekretima vimena krava s mastitisom (Miroslav Benić)
- uspostavljanje imunoenzimnog postupka za otkrivanje protutijela protiv oblića *T. spp* u svinje (Sanja Bosnić)
- imunomodulacija humoralne imunosti nerastova levamisolom i

istraživanje uporabe RIA postupka za otkrivanje promjena u razinama serumskog IgG (Nina Bilandžić)

- optimizacija seroloških dijagnostičkih postupaka, napose postupka inhibicije hemaglutinacije za otkrivanje protutijela protiv virusa NB, SPN '76 i zaraznog bronhitisa (ZB; sojevi M-41, 793/B, D-1466 i D-276) i ELISA postupka za utvrđivanje protutijela specifičnih za uzročnika ZBB, ZB, ptičje gripe (u domaćih i divljih ptica), ptičjeg encefalomijelitisa, rinotraheitisa purana, sindroma otečene glave, reoviroze, Marekove bolesti i kokcidioze te infekcija izazvanih bakterijom *Salmonella typhimurium* radi procjene imunskog statusa jata
- istraživanja interferona (IFN-) α i γ u kokoši izloženih prirodnoj ili pokusnoj infekciji virusom infektivne anemije i ZBB s pomoću postupka hibridizacije mRNK (Vladimir Savić; slika 47)
- praćenje imunosti nakon cijepljenja



Slika 47. Dr. sc. Vladimir Savić

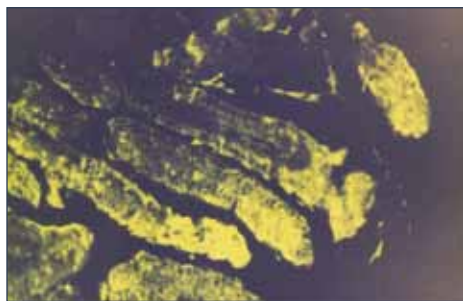
protiv virusa NB i analiza imunosupresivnog učinka virusa temeljem utvrđivanja ekspresije mRNK za IFN- α , IFN- γ i interleukin (IL)-2 s pomoću RT-PCR postupka, kao i citometrijskom kvantifikacijom fenotipova subpopulacija leukocita u punoj krvi (Mirta Balenović)

- utjecaj akutnih toplinskih stresora na humoralne imunosne odgovore pilića u tovu i kokoši nesilica lakih pasmina (Milivoj Mikec)
- serodijagnostika infekcija bakterijskim vrstama (*Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasma gallisepticum* i *Mycoplasma synoviae*) ili virusom ptičje leukoze, odnosno reovirusom s pomoću ELISA postupka, serumskog aglutinacijskog testa i imunodifuzijskog testa u gelu (Tatjana Amšel Zelenika i Irena Lukač Novak).

Premda je samo dio istraživačke djelatnosti prof. dr. sc. Ivana Bašića i suradnika u ZAF, bio usmjeren prema području veterinarske imunologije, imao je iznimno teorijsko i praktično značenje, napose u mentorstvima i voditeljstvu pionirskih projekata (u ranim 1980-tim) u kojima su se bavili poredbenom imunologijom i unaprjeđivanju zdravlja životinja.

Njegovi su glavni doprinosi suvremenoj imunobiologiji vrsta od značenja za veterinu sljedeći:

- utvrđivanje fenotipskih i funkcijskih osobitosti pasjih, konjskih i svinjskih limfocita s pomoću TSL i rozetnih metoda
- umanjivanje perinatalnih gubitaka prasadi primjenom imunoterapije alogenskim imunoglobulinima izdvojenim iz svinjske plazme s pomoću metode sedimentiranja u polietilenglikolu (PEG)



Slika 48. Unos svinjskog IgG obilježenog FITC-om u enterocite jejunuma neonatalnog praseta 5 sati nakon peroralnog davanja; fluorescencija u apikalnom dijelu crijevnih resica pod UV-mikroskopom, povećanje x 190

- određivanje utjecaja peroralno primijenjenih alogenskih imunoglobulina na staničnu i humoralnu imunitet neonatalne prasadi (u suradnji s I. Valpotićem)
- zaštita neonatalne prasadi od pokusne infekcije bakterijom *Leptospira interrogans* serovar *pomona* oralnom primjenom alogenskih imunoglobulina (u suradnji sa Z. Modrićem)
- istraživanje unosa i transporta alogenskih imunoglobulina obilježenih FITC-om (slika 48) ili radioaktivnim jodom (^{131}I) u tanko crijevo neonatalne prasadi (u suradnji sa Stipicom Ćuricom).

Iscrpnji detalji o radovima povezanim s gore spomenutim postignućima u veterinarskoj imunologiji koji su objavljeni nakon 1997. godine mogu se pronaći na <http://bib.irb.hr>, traženjem prema imenu autora (ili suautora) ili prema broju institucije ugovaratelja projekta. Raniji radovi mogu se dobiti u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici ili zatražiti od autora.

Budući izazovi

Veterinarska imunologija i dalje pronalazi nove izazove u okviru

Tablica 1. Znanstveni projekti pripadni veterinarskoj imunologiji odobreni za financiranje od MZOŠ Hrvatske u razdoblju od 2007.-2011. godine i broj ZN i /ili doktoranata koji rade na tim projektima; projekt pod rednim brojem 2 odobren je u 2008. godini

Red. br.	Naziv projekta	Voditelj projekta (Institucija)	Br. ZN na projektu		Br. doktoranata/ magistranata (ZN/ostali) na projektu
			s dr. sc.	bez dr. sc.	
1.	Imunoadjuvantni i zaštitni učinci propolisa u životinja	Vesna Benković* (ZAF)	-	-	-
2.	Imunohematologija i akutno fazni odgovor u preživača i mesojeda	Ljiljana Bedrica (VFSZ)	-	1	1/5
3.	Imunosupresivni i crijevni virusi peradi u Hrvatskoj	Zdenko Biđin (VFSZ)	-	1	1/-
4.	Imunomodulacijski učinci le- vamisola kod svinja	Frane Božić (VFSZ)	-	-	-/1
5.**	Molekularna epizootiologija značajnih bakterijskih zoonoza	Željko Cvetnić (HVI)	-	2	2/2
6.	Imunologija i epizootiologija aktualnih virusnih bolesti životinja	Josip Madić (VFSZ)	-	1	1/2
7.	Vakcinacijski potencijal <i>T. nativa</i> u zaštiti svinja od trihineloze	Albert Marinculić (VFSZ)	1	1	1/-
8.	Imunosna zaštita u bolestima peradi drugih ptica	Hrvoje Mazija (VFSZ)	1	1	1/1
9.**	Akutno fazni odgovor i aktivnost plazmatskih sustava u babeziozi	Vladimir Mrljak (VFSZ)	-	2	2/2
10.**	Genetička karakterizacija virusa ptičje gripe i Newcastleške bolesti izdvojenih u Hrvatskoj	Vladimir Savić (HVI)	1	-	-/1
11.	Prirodni imunomodulatori i antioksidansi u optimizaciji uzgoja svinja	Marcela Šperanda (PFSO)	-	-	1/1
12.	Učinci i transformacija veterinarskih lijekova i vakcina u životinja	Svjetlana Terzić (HVI)	-	-	-/1
13.**	Molekularna epizootiologija i epidemiologija leptospiroze	Nenad Turk (VFSZ)	-	1	1/2
14.	Kolidiarijea i kolienterotoksemija prasadi: mukozna imunost i imunomodulacija	Ivica Valpotić (VFSZ)	1	2	2/1

*Voditelj projekta od 1. 6. 2009. godine nakon umirovljenja prof. dr. sc. I. Bašića.** Pretežiti dio programa istraživanja ovih projekata odnosi se na veterinarsku imunologiju, premda njihovi naslovi upućuju na molekularne i/ili genetičke pristupe.

hrvatske znanstvene zajednice, u komparativnoj i kliničkoj imunologiji, kao i one u „ostatku svijeta“, posebice u zemljama EU, a prema zahjevima Federacije veterinaru Europe (FVE). Međutim, samo će dio tih izazova biti ostvaren, i to prilično skroman dio, ali proporcionalan razmjerno malom broj istraživača koji se bave veterinarskom imunologijom u nas. Naime, očekuju se postignuća i ishodi 14 znanstvenih projekata (13 odobrenih u 2007. i 1 u 2008. godini) Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa (MZOŠ) Hrvatske kroz znanstvene publikacije i znanstveni doprinos njihovih istraživačkih timova sastavljenih od 3 do 12 istraživača po projektu. Ti su istraživački pothvati potpomognuti istraživačkom aktivnosti 16 znanstvenih novaka (ZN), koji su ili doktorirali (4) ili su doktoranti (12). Treba spomenuti da još 20 doktoranata/magistranata, koji nisu ZN, izrađuju disertacije/magisterije u okviru tih 14 projekata MZOŠ (tablica 1).

Sumirajući dostupne podatke o tih 14 projekata, nakon tri godine njihova trajanja, možemo reći da će daljnji tijek istraživanja biti usredotočen na:

- unaprjeđivanje kontrole i preventive infektivnih bolesti životinja daljnjim provođenjem temeljnih i primijenjenih imunoloških istraživanja radi boljeg razumijevanja urođene ili stečene imunosti na niz značajnih uzročnika bolesti (kao što su virusi ptičjeg probavnog i dišnog sustava, goveđi limfocitotropni virus, pasji protozooni, svinjske crijevne bakterije te zoonotske bakterije, uključujući leptospire) u cilju pripravljanja sigurnih i djelotvornih sredstava za specifičnu i/ili nespecifičnu imunizaciju protiv

tih organizama i njihovih proizvođa, kao i prihvaćanjem izazova koje postavljaju nove bolesti (RRSS, GSE, CBS i VPIP) i onih koje se ponovno pojavljuju (influenca ptica, Lymška boreliozna i leptospiroza), a među njima su pretežito zoonoze

- unaprjeđivanje mjera za kontrolu i/ili preventivu sigurnosti hrane s pomoću novopripremljenih cjepiva protiv parazitskih nematoda u hrani te praćenjem njihovih učinaka, kao i učinaka novih lijekova (s posebnom pažnjom na njihovu transformaciju u životinja namijenjenih ljudskoj prehrani), na imunosne pokazatelje u životinja
- imunostimulaciju imunosnih odgovora na spomenute uzročnike bolesti, a time i pojačavanje otpornosti na infektivne bolesti koje izazivaju, s pomoću specifične imunoprofilakse, uključujući pripravljanje i davanje cjepiva, nespecifične imunomodulacije s prirodnim i sintetskim MIO, adjuvansima ili nutraceuticima te imunosnog oporavka s antioksidansima.

Propisi o uporabi lijekova, posebice o nekliničkoj uporabi antibiotika u životinja namijenjenih ljudskoj prehrani, rezultirali su porastom ulaganja u istraživanja u području veterinarske imunologije. Napose se ulaže u istraživanja temeljnih veterinarskih vrsta radi postupnog unaprjeđivanja prevencije bolesti, kao i radi pripravljanja bioloških pripravaka za imunizaciju (kao što su DNK, jestiva i mukozna cjepiva te prirodni MIO i nutraceutici), ponajprije zbog zdravlja i dobrobiti životinja, ali i ljudi, u svrhu proizvodnje sigurnije hrane i pogodnijih biomedicinskih modela. Dobar slogan Babiuka i sur. (1999.), „od DNK do tanjura s obrokom“, najbolje sažima prije

spomenuto i vrijedan je spominjanja, jer je ispravno sročeno. Do danas je ostalo službeno geslo FVE, koje stimulira i veterinarske imunologe za daljnja istraživanja u onih vrsta i u onim područjima imunologije o kojima se do sada malo zna.

Zaključne pripomene

Veterinarske imunologe ne treba podsjećati da je naše područje najvažniji izvor znanja za razvijanje novih tehnologija u proizvodnji zdravijih životinja, sigurnijih animalnih namirnica i međunarodne trgovine životinjama i njihovim proizvodima bez sanitarnih barijera. Stoga su nužna veća ulaganja u farmaceutsku industriju, u proizvodnju novih lijekova i cjepiva, radi osiguranja inovacija, poboljšavanja zdravlja životinja (napose stoke i peradi te kućnih ljubimaca, riba i morskih sisavaca) i dijagnoze i prevencije njihovih bolesti u cilju postizanja sigurnijih animalnih namirnica i učinkovitijeg javnog zdravstva. Optimalno ispunjavanje tih i takvih ciljeva veterinarske imunologije zahtijeva njezinu potpunu integraciju s temeljnom i humanom imunologijom, kao i protok informacija i komunikaciju između veterinarskih imunologa i ostalih pripadnika znanstvene zajednice imunologa, bez obzira na vrste kojima se bave.

Zahvala

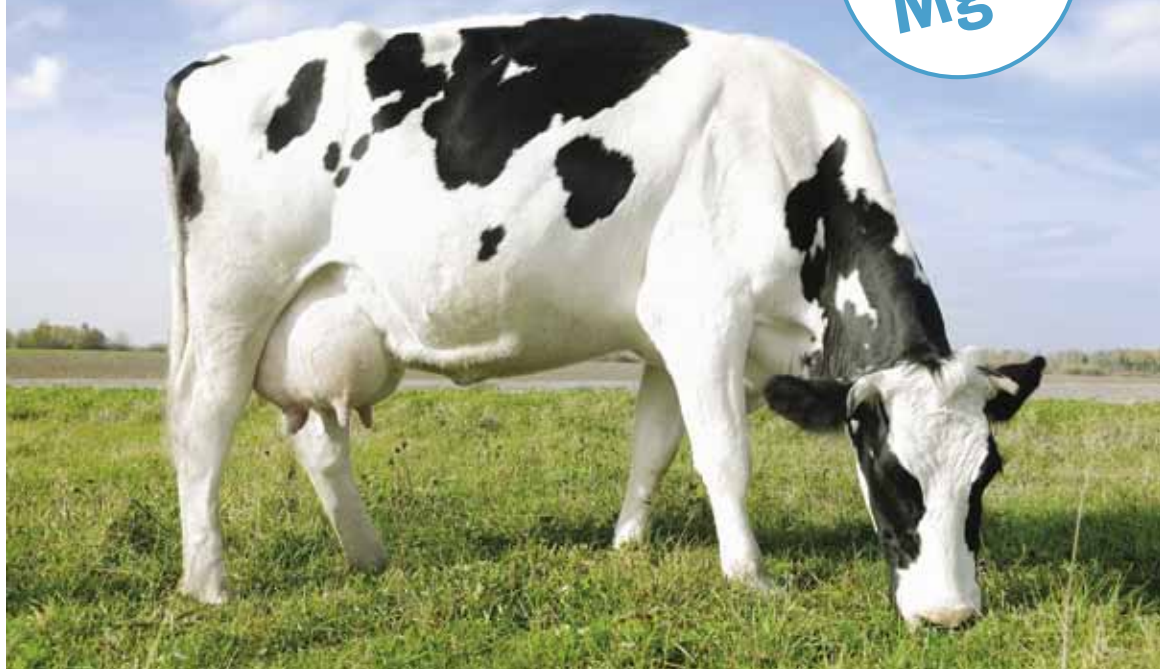
Prikupljanje ovalike količine podataka ne bi bilo moguće bez pomoći i savjeta kolega s VFSZ: Zdenka Bidina, Alberta Marinculića, Željke Matašin i Vladimira Mrljka, kao i iz HVI: Željka Cvetnića i Vladimira Savića. Zahvalni smo im zbog njihovog truda i volje da, unatoč svojih obveza, pomognu u stvaranju ove kompilacije.

Literatura

1. BABIUK, L. A., S. van DRUNENLITTEL-van den HURK and S. L. BABIUK (1999): Immunization of animals: from DNA to dinner plate. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 72, 189-202.
2. BEGO, U. (1982): Bibliografija 1969-1979. U: 60 godina Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu, Tisak NIŠRO, Varaždin, str. 273-275.
3. CHARLEY, B. (1996): The immunology of domestic animals: its present and future. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 53, 3-6.
4. CHARLEY, B. (1998): Preface. In: Pastoret, P. P., P. Griebel, H. Bazin, A. Govaerts (eds.) *Handbook of Vertebrate Immunology*. Academic Press, San Diego, str. xix.
5. CHARLEY, B. and B. N. WILKIE (1994): Why study the immunology of domestic animals. *Immunologist* 2, 103-105.
6. HEIN, W. R. (1995): Sheep as experimental animals for immunological research. *Immunologist* 3, 12-18.
7. KLEIN, J. (1995): Erlich and Darwin: Homochauvinism in immunology. *Immunol. Cell Biol.* 73, 103-108.
8. LUNNEY, J. K., C. FOSSUM, G. V. ALM, F. STEINBACH and E. WATTRANGE (2002): Veterinary immunology: opportunities and challenges. *Trends. Immunol.* 23, 4-6.
9. NAGLIĆ, T. i D. HAJSIG (1993): Veterinarska imunologija. Školska knjiga, Zagreb.
10. REŽEK, A. (1971): Bibliografija 1919-1969. U: 50 godina Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu, Tisak JAZU, Zagreb, str. 399-409.
11. STEINBACH, F., S. CARTER, B. CHARLEY and C. FOSSUM (2004): Passage from India: the First European Veterinary Immunology Workshop. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 100, 99-103.
12. TOPOLNIK, E. (1972): Razvoj veterinarske bakteriologije i imunologije u Hrvatskoj od 1923. godine. Prvi simpozij o povijesti veterinarske mikrobiologije i imunologije u Hrvatskoj od 1923. godine. Tisak JAZU, Zagreb, str. 119-126.
13. TOPOLNIK, E. (1976): Profesor dr. Andrija Hupbauer (1886-1949). U: Rapić, S. (ur.) *Zaslužni veterinari Hrvatske*, Tisak JAZU, Zagreb, str. 81-84.

Izbalansirani izvor kalcija i magnezija
u terapiji i profilaksi hipokalcemije i
hipomagnezijemije goveda.

Ca^{++}
 Mg^{++}



KAL-MAG[®] 40%

otopina za injekcije



VETERINA

VETERINA d.o.o.
Svetonedeljska 2 • Kalinovica
10436 Rakov Potok • Hrvatska
www.veterina.hr

PRIJE PRIMJENE PAŽLJIVO PROČITAJTE UPUTU O VETERINARSKO-MEDICINSKOM PROIZVODU! O RIZICIMA I NUSPOJAVAMA POSAVJETUJTE SE S VETERINAROM.

Epizootija bjesnoće u ovaca

prikaz slučaja

B. Šoštarić, Ž. Čač, Ivana Lojkić, Ž. Mihaljević, D. Deždek i D. Novosel



Uvod

Bjesnoća je u Republici Hrvatskoj, u tipičnom silvatičnom obliku, prisutna neprekidno od proljeća 1977. godine, pri čemu je crvena lisica (*Vulpes vulpes*) glavni rezervoar i širitelj virusa u slobodnoj prirodi. U spomenutoj je godini zaraza dokazana u četiri lisice, jedne divlje mačke i četiri psa (Karlović i Lojkić, 1981.).

Tijekom 33-godišnjeg epidemij-skog razdoblja, do kraja 2009. godine, u rabiološkim laboratorijima Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI), uz mnogobrojne vrste divljih i domaćih životinja, bjesnoća je tehnikom fluorescirajućih protutijela dijagnosticirana i u 134 ovce. Ta brojka stoga stavlja ovce, odmah poslije pasa i mačaka, na treće mjesto po učestalosti pozitivnih nalaza bjesnoće kod domaćih životinja u Hrvatskoj (tablica 1).

U posljednje tri godine bjesnoća je utvrđena u 17 ovaca, i to: 2007. u 3 ovce u 2 općine, 2008. u 8 ovaca u 5 općina i 2009. u 6 ovaca u 4 općine.

Usporedimo li ove podatke s onima za početak 2010. godine, kada je od 19. siječnja do zaključno 18. veljače, dakle u razdoblju kraćem od mjesec dana bjesnoća dijagnosticirana u 11 ovaca u tri općine. Samom je vizualnom usporedbom podataka uočljivo povećanje broja dijagnosticiranih bijesnih ovaca.

Općine iz kojih su dostavljene zaražene ovce ne graniče uzajamno, tako da se epizootiološki ne može posumnjati na isti izvor zaraze. Iz jedne je općine dijagnosticiran jedan izolirani slučaj u stadu. Međutim, iz druge općine iz dva različita stada, koja su fizički jedno od drugoga udaljena oko stotinjak metara, tijekom istoga tjedna dijagnosticirana su po dva slučaja iz svakoga stada, što svakako potiče sumnju u isti izvor infekcije. Konačno, iz treće općine, u samo jednom stadu u 3 dana je dijagnosticirano 6 pozitivnih slučajeva pa se najvjerojatnije radi o istom izvoru infekcije.

Dr. sc. Branko ŠOŠTARIĆ, dr. vet. med., znanstveni savjetnik, dr. sc. Željko ČAČ, dr. vet. med., znanstveni suradnik, dr. sc. Ivana LOJKIĆ, znanstvena suradnica, dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, dr. vet. med., znanstveni suradnik, mr. sc. Danko DEŽDEK, dr. vet. med., stručni suradnik, Dinko NOVOSEL, dr. vet. med., znanstveni novak, Hrvatski veterinarski institut Zagreb

Tablica 1. Dijagnosticirani slučajevi bjesnoće kod domaćih životinja u Republici Hrvatskoj od 1977. do 2009. godine (podaci HVI, Zagreb)

Vrsta životinje	Ukupni broj dijagnosticiranih	Godina prvog nalaza nakon pojave silvatične bjesnoće
pas	380	1977.
mačka	334	1978.
ovca	134	1981.
govedo	131	1983.
koza	47	1983.
konj	20	1984.
magarac	11	1984.
svinja	9	1984.
kunić	3	1991.
ukupno	1 069	1977.

Do 18. veljače 2010. godine bjesnoća je u Hrvatskoj dijagnosticirana u 17 slučajeva različitih vrsta domaćih životinja: tri psa, dvije mačke, 11 ovaca i jedne koze. Gotovo polovicu od ovog broja čine životinje iz jednog stada/dvorišta, iz kojega je u jednoj epizootiji, od 6. do 10. veljače bjesnoća dijagnosticirana u pet ovaca, jednog ovna i jedne mačke.

Epizootija s tako velikim brojem oboljelih ovaca u jednom stadu, prema našim podatcima, nije do sada zabilježena u Hrvatskoj.

S obzirom na nespecifičnu kliničku sliku kod ovaca, bolest može lako krivo interpretirati nedovoljno upućen veterinar, usprkos detaljnom pregledu životinja. Takve greške mogu imati vrlo ozbiljne posljedice, ponajprije za izložene i potencijalno zaražene ljude, ali i za djelatnike veterinarske službe koji snose i odgovornost.

Izvan je dosega interesa ovoga rada detaljnija analiza gospodarskih gubitaka u različitim vidovima uzrokovana predmetnom epizootijom. Budući da svi slučajevi bjesnoće kod ovaca imaju u gospodarskom smislu slične posljedice, navest ćemo samo najočitije.

U samome su stadu gubitci nastali ugibanjem, troškovima cijepljenja životinja, izgubljenom dobiti zbog dugotrajne karantene te troškovima transporta lešina na dijagnostiku. Vlasnik ne snosi troškove dijagnostike, ali se oni namiruju sredstvima iz državnog proračuna baš kao i cijepljenje svih ljudi koji su bili u dodiru s oboljelim ovcama. Najzad, i provođenje propisanih veterinarsko inspekcijskih radnji s ciljem suzbijanja i iskorjenjivanja zaraze isto se tako namiruje iz proračuna.

Tijekom obavljanja dijagnostičkih radnji u HVI-u je o predmetnom slučaju prikupljena detaljna anamneza s ilustrativnim podatcima o tijeku i kliničkim oblicima bolesti gotovo za svaku pojedinu oboljelu životinju.

Isto tako na svim dostavljenim lešinama obavljena je i detaljna razudba u uvjetima prosekture, čime su dobivene dodatne informacije o patoanatomskim nalazima kod bjesnoće u ovaca.

Mogućnost studiranja posve svježih lešina, osobito u tolikom broju, iznimno je rijetka u našoj praksi, jer se na dijagnostiku bjesnoće kod ovaca uglavnom dostavljaju dekapitirane glave; rjeđe se dostavljaju čitave lešine, a one su, vrlo

često zbog odlične toplinske izoliranosti ovce runom, u takvom stadiju postmortalnih promjena pa nisu podobne za detaljniju patoanatomsku dijagnostiku. Anamnestički podatci koji se odnose na kliničku sliku u popratnim dopisima najčešće nisu navedeni, ili su dužine sms poruke.

Povezivanjem anamnestičkih podataka i patoanatomskih nalaza u konkretnom slučaju jedinstvene epizootije, s laboratorijskom potvrdom bjesnoće u svakom pojedinom obrađenom slučaju, dobiva se cjelovitija slika o procesu.

Svrha je ovoga rada kronološki i precizno prikazati dotičnu epizootiju i dobivene rezultate obavljenih pretraga, da bi veterinarskoj službi, u najširem smislu, bile dostupne neposredne informacije o ovoj bolesti kod ovaca, a samim time i njezino kliničko prepoznavanje olakšano.

Naš slučaj

Anamnestički podatci

Anamnestički podatci su prikupljeni od vlasnika stada u subotu 6. veljače 2010., koji je samoinicijativno, bez veterinarske uputnice, svojim prijevozom dostavio na HVI jednu moribundnu ovcu na eutanaziju i nastavnu dijagnostiku.

Dio podataka koji se odnosi na lešine dostavljene na HVI u utorak 9. veljače, dobiven je naknadno telefonom od vlasnika i njegove supruge.

Vlasnici već više godina posjeduju stado ovaca slovenske i jezersko-solčevske pasmine, koje drže za prodaju janjadi, a za remont stada koriste podmladak isključivo iz vlastitog uzgoja.

Plotkinje se uredno janje svake godine, a prinosi su dva odbita janjeta po porodu.

Od 2008. godine u stado nije uvedena niti jedna novonabavljena jedinka, a tijekom 2009. u stadu, osim jednog janjeta s proljevom, nije uginula niti jedna životinja.

Početkom 2010. u stadu se nalaze sveukupno 203 životinje i to: 90 ovaca, 30 pripuštenih šilježica, tri ovna i 80 janjadi oba spola različite dobi.

Za vrijeme proljetnih i ljetnih mjeseci stoka se napasuje, a po zimi se drži isključivo u štali i hrani sijenom, prekrupom više vrsta žitarica uz dodatak odgovarajućeg premiksa i kuhinjske soli. Zbog vremenskih uvjeta stado nije izvan štale boravilo duže od tri mjeseca. Prehrana ne uključuje silažu, sjenažu, silirano zrno kukuruza ili pivski trop. U štali se drže samo ovce, a u objekt, koji je solidno građen, ne mogu ući psi ili lisice.

Na gospodarstvu se ne drže svinje niti vlasnici, koji vode brigu o stoci, sa svinjama dolaze u izravan dodir.

Na ponovljeno pitanje jesu li primijetili da je u štali bila lisica, vlasnici niječu svaku mogućnost, ali se prisjećaju da je „nešto“ koncem 2009. godine odvuklo novorođeno janje na hodnik štale i pojelo mu glavu. Nekako u to vrijeme gazdarica je na nosu jedne ovce vidjela točkaste krastice, ali se ne sjeća o kojoj se ovci radilo, tim više što su se sve ovce ponašale uobičajeno.

Od ostalih životinja u dvorištu se nalazi pas, koji je propisno cijepljen protiv bjesnoće tijekom posljednje tri godine i mačka koja nije cijepljena.

Polovinom siječnja 2010. za vrijeme jutarnjeg hranjenja u štali je nađena

mrtva ovca koja je dojila svoja dva janjeta u dobi oko tri tjedna. Prije smrti, plotkinja nije pokazivala nikakve znakove bolesti ili promjene ponašanja, a kako je bila jedna od najstarijih ovaca u stadu, to su vlasnici naglu smrt povezivali s iscrpljenošću. Naime, njena je janjad odlično napredovala, a životinja se zbog starosti vjerojatno nije mogla izboriti za dovoljno koncentrata na jaslama, a i sa zubima je već neko vrijeme imala problema.

Dana 28. siječnja uginula je jedna pripuštena šilježica. Životinja je na početku bolesti bila u odličnoj kondiciji, a do uginuća je болоvala oko osam ili čak 10 dana. Vlasnica, koja hrani stoku, prvo je primijetila da se šilježica odvaja od ostatka stada i da slabije prilazi jaslama i koncentratu. Prvih dva do tri dana bolovanja još je jela, nakon čega je prestala jesti pa su ju vlasnici liječili antibioticima, ali bez znakova poboljšanja. Tri do četiri dana prije uginuća životinja je pojačano slinila pa joj se iz usta cijedio 5-10 cm dugačak tračak sline. Posljednja dva dana bolesti kao da „pregutava“, iako nije uzimala ni hranu ni vodu. Istovremeno, dakle dva dana prije uginuća šilježica je usprkos zanošenju u hodu još uvijek pokretna i činilo se da su joj prednje noge ukočene. Zaleгла je tek nekoliko sati prije uginuća. Vlasnik je lešinu duboko zakopao na svom posjedu.

Dan ili dva nakon uginuća opisane šilježice, dakle 29. ili 30. siječnja, obolijeva pod istim simptomima još jedna šilježica. Zapravo, da prva dva dana i nije bila bolesna, samo je, kao i prethodno uginula životinja, slabije jela. Nekako oko trećeg ili četvrtog dana od početka bolesti životinja je potpu-

no prestala uzimati hranu pa su vlasnici i nju liječili antibioticima, ali bez poboljšanja.

Obje su oboljele životinje tijekom bolesti bile višekratno termometrirane, a temperatura je varirala od 40,7°C do 41,0°C, bez obzira je li mjerena prije ili poslije primjene više vrsta antibiotika.

Stanje životinje je postupno bivalo sve lošije, a kako je s naporom defecirala suhe brabonjke koji su u sluzi bili slijepljeni u nisku, vlasnici su mislili da se radi o opstipaciji te su šilježicu zalijevali iz boce otopinom gorke soli. Budući da se radilo o velikoj i snažnoj životinji, pri zahvatu vlasnicima su pomagali jedan susjed i jedan rođak koji su ju obuzdavali i držali joj otvorena usta, jer je životinja teško gutala pa su posumnjali da joj je nešto zapelo u grlu. Međutim, terapija nije bila djelotvorna i šilježica je i nadalje ostala febrilna, a u isto vrijeme od početka bolesti, kao i prethodno uginula, počela je češće zalijegati i pojačano sliniti.

U vrijeme pogoršanja zdravstvenog stanja ove šilježice, u stadu obolijevaju još dvije životinje: jedna samo nevoljko jede, a druga se ponaša prestrašeno, bježi od gazdarice koja ju hrani i kojoj je inače odmah prilazila, ponašala se plaho, „kao da nešto vidi“, skriva glavu u kut i pokušavala pobjeći. Osim što su slabije jele, ove dvije životinje nisu pokazivale neke zabrinjavajuće znakove bolesti i obje su bile afebrilne.

Pored ove tri, još se jedna životinja u stadu neuobičajeno ponašala – više je dana češala lijevi obraz o jase i zid, tako da joj je vuna na toj strani lica prvo bila krvava, a za nekoliko se dana stvorila krasta veličine kokošjeg jajeta. Ovca se ponašala normalno, jela i pila,

a iz oka na istoj su joj strani curile suze pa su vlasnici njeno češanje pripisivali svrbežu oka, kamo joj je, najvjerojatnije, upao trun.

U četvrtak 4. veljače radi pogoršanja bolesti kod zalijevane šilježice po prvi je puta tijekom epizootije pozvan nadležni veterinar, koji je životinju klinički pregledao, osobito usnu šupljinu te isključio prisutnost stranog tijela, jer je i ova životinja počela „pregutavati“ na jednaki način kao i prethodno uginula. Određenim trijasom, zbog izostanka ruminacija, dijagnostificirana je indigestija, a životinja nije ničim liječena, jer su joj vlasnici već dali antibiotik.

Rana je na obrazu životinje koja se češe zahvatila cijeli obraz pa je veterinar nakon pregleda potvrdio mišljenje vlasnika da je to „od oka“ i na zamolbu gazdarice, koja „to ne može vidjeti“, ovcu u oko aplicirao neku mast koju mu je ona dala.

Po završenom pregledu veterinar nije smatrao potrebnim poduzimati dodatne dijagnostičke ili terapijske radnje, jer je bolest interpretirana kao indigestija, štoviše primirio je vlasnike glede sumnje na mogućnost zaraze.

Zalijevana životinja je sljedeći dan, zaleгла i počela padati u neki grč „koji joj je savijao glavu prema gore te bacati pjenu na usta“. Stanje se i druge dvije bolesne ovce pogoršalo, životinje potpuno prestaju jesti, sve češće liježu i ne ustaju niti kada se ostatak stada na jaslama hrani koncentratom. Ovca koja se češe i dalje je pokretna, prilazi jaslama, ali ju ostale ovce odguravaju od hrane.

Zbog gore navedenih problema u stadu i neriješenih nedoumica, vlasnik

u subotu dostavlja zalijevanu šilježicu na HVI u Zagreb radi dijagnostike.

Materijal i dijagnostička obrada

Nakon uzimanja osobnih podataka vlasnika i anamneze, šilježica je klinički pregledana u prosekturi, utamanjena, razučena, a uzorak mozga upućen u Laboratorij za bjesnoću i opću virologiju HVI-a na dijagnostiku bjesnoće po hitnom postupku.

Za nešto više od dva sata po primitku žive životinje, tehnikom fluorescirajućih protutijela utvrđena je bjesnoća, a o nalazu je telefonom obaviješten vlasnik, područna veterinarska služba, veterinarska inspekcija i epidemiološka služba.

Temeljem dojave o pozitivnom nalazu bjesnoće, istoga je dana klinički pregledano i cijepljeno svih sedmero ljudi koji su bili u neposrednom dodiru s oboljelim ovcama: četveročlana obitelj vlasnika, susjed i rođak koji su pomagali u zalijevanju šilježice te nadležni veterinar.

U utorak 9. veljače iz istog je stada, s uputnicom nadležne veterinarske stanice na dijagnostičku pretragu dostavljeno pet lešina ovaca, jedna lešina ovna i jedna lešina mačke. Od dostavljenih lešina, dvije ovce su tijekom ponedjeljka spontano uginule, a radi se o ovcu s ranom na licu i o ovcu koja se prethodno plašljivo ponašala, a preostale tri ovce, kao i ovan su istoga dana, dakle u ponedjeljak 8. veljače, utamanjene. Od te tri utamanjene ovce, jedna je životinja pokazivala znakove bolesti više dana, dok je druga tek u

nedjelju prestala jesti, ali bez ikakvih drugih znakova. Treća ovca, iako bez ikakvih simptoma bolesti, utamanjena je zato jer je bila smještena u dio štale sa životinjom s promjenama na licu.

Ovan je klinički izgledao potpuno zdrav. Jede, pije i hoda normalno, ne slini, štoviše spolno je jače zainteresiran za ovce od druga dva ovna u stadu, ali gazdarici se učinilo da pri hranjenju koncentratom ne odgurava ovce kako je to uobičavao te da ne jede onako halapljivo kao prije pa je s obzirom na ustvrđenu bjesnoću i on eutanaziran.

Konačno mačka je utamanjena na izričiti zahtjev vlasnika, jer ne žele više u takvoj situaciji imati mačku.

Klinički nalaz

Klinički nalaz ograničen je na kratkotrajni klinički opažaj žive dostavljene šilježice. Životinja leži postrance u opistotonusnom grču, gotovo kao kod tetanusa, ispruženih prednjih i stražnjih nogu, koje se umjerenom silom mogu savijati u zglobovima. Jasno je uočljiv tremor čitavog tijela, ne reagira na vanjske podražaje, škrguće zubima, vrlo rijetko se glasa i to samo pri manipulaciji, pri dizanju na stol.

Iz usta joj se cijedi gusta pjena (slika 1), sluznice nozdruva i očnih spojnice su izrazito zažarene. Prethodno eutanaziji iskrvarenjem iz lijeve karotidne arterije i jugularne vene šilježici je i/v aplicirana visoka, praktički subletalna količina (10 ml) „koktela“ (5 ml Xylapan 20% + 5 ml Ketaminol 10%), koja u ovoj dozi, po našem dugogodišnjem iskustvu još za vrijeme aplikacije uvede životinju u duboku anesteziju. Međutim, u konkret-



Slika 1. Još živa ovca dostavljena 6. veljače neposredno pred eutanaziju. Životinja leži na lijevoj strani, a iz usta joj se cijedi gusta pjena koja potpuno pokriva usne. Dlaka je u široj okolini usta slijepljena sasušenom slinom, nozdruve su zažarene. Uočite identifikacijsku ušnu markicu životinje „in situ“!

nom slučaju anesteziji je prethodio potpuno neočekivani jaki ekscitacijski period u trajanju od gotovo pola minute.

Patoanatomski nalaz

Sve su dostavljene životinje (šest ovaca, jedan ovan i jedna mačka) razuđene, a tijekom razudbe su fotografirane promjene od interesa.

Točna je identifikacija temeljem ušne markice bila moguća samo kod žive dostavljene ovce bez veterinarske dokumentacije 6. veljače (slika 1), dok kod lešina dostavljenih 9. veljače (slika 2) nije bila moguća, jer su identifikacijske



Slika 2. Svih šest lešina (dvije uginule ovce; tri ovce i jedan ovan eutanazirani u ponedjeljak 8. veljače) dostavljenih u utorak 9. veljače. Glava prve ovce s vrha zbog izraženog opistotonusa nije vidljiva na fotografiji.



Slika 3. Bliža fotografija desne strane glave jedne od ovaca s prethodne fotografije. Životinja je vjerojatno utamanjena, jer je markica očevidno, izrezana, prema vidljivom krvarenju, još za života. Pjena u komisuri usana je očevidna. Dlaka na gornjem kapku nedostaje, a koža je površno abradirala, najvjerojatnije od češanja.

markice skinute s uški (slika 3). Radi nemogućnosti identifikacije unutar grupe dostavljenih lešina s anamnestičkim podacima moguće je povezati samo ovna i ovcu s ranom na licu.

Vanjskim je pregledom u dva slučaja utvrđen položaj tijela u jakom opistotonusu: na živo dostavljenoj i na jednoj spontano uginuloj životinji (slika 4). Položaj tijela kod ostalih 5 lešina ni po čemu nije bio karakterističan.

Koža je na velikoj površini lijeve strane lica jedne ovce suho gangrenozna, a dlaka u potpunosti nedostaje po čitavoj navedenoj površini, ali i po rub-



Slika 4. Bliža fotografija ovce s vrha na slici 2. Snažan opistotonus i ekstenzija ekstremiteta su dobro vidljivi. Životinja je vjerojatno uginula više sati prije skidanja ušne markice.



Slika 5. Lijeva strana lica uginule ovce, prekrivena gangrenoznom kožom. Oko i kapci životinje u potpunosti su prekriveni velikom krastom.

nim dijelovima još vitalnog tkiva (slika 5), na kojemu se vidi jasna demarkacija granulacijskim tkivom. Nakon što se odigne poput pergamenta suha koža, u potkožju se nađe masa granulacijskog tkiva jarko crvene boje (slika 6). Oralno, na jednom vrhu lezije, nalazi se potpuni defekt kože i masa zgrušane krvi.

Na desnom kapku jedne, najvjerojatnije utamanjene životinje, dlaka je znatno prorijeđena i slijepljena serumom, a površina kože abradirana (slika 3).

U pet životinja mozak je makroskopski bio hiperemičan, od toga u tri slučaja vrlo izraženo uz jasan edem (slika 7), dok u jedne ovce i ovna nije bilo znatnijih makroskopskih promjena na mozgu.



Slika 6. Bliža fotografija životinje sa slike 5. U ekspaniranom potkožju dobro je vidljivo jarko crveno granulacijsko tkivo. Krv na usnama vjerojatno potječe od krvarenja nastalog češanjem granulacijskog tkiva.



Slika 7. Mozak ovce s opistotonusom prikazan na slici 4. Vrlo izražena hiperemija s edemom mozga je dobro vidljiva.

Sirište je u četiri životinje bilo gotovo prazno, dok je kod ostalih životinja sadržavalo ingest u više manje primjerenoj količini. Po sluznici praznog sirišta kod triju su životinja uočena diseminirana petehijalna krvarenja, koja prekrivaju čitavu površinu sluznice u dva slučaja (slika 8), dok su krvarenja kod treće životinje znatno rjeđa.

Potkožje je u te četiri životinje bilo suho, koža se teže odvajala, a očne jabučice su upale, dajući jasnu sliku dehidracije.

Svih sedam razuđenih životinja odličnog su gojnog stanja sa znatnom količinom masnog tkiva na predilekcionim mjestima, a pretragom ostalih organa i organskih sustava nisu utvrđene patoanatomske promjene bilo kakovog tipa.

Od šest razuđenih ženki četiri su bile u visokom, a jedna u početnom stadiju gravidnosti, svaka s po dva ploda, dok jedna nije bila gravidna.



Slika 8. Vodom isprana sluznica sirišta utamanjene šilježice dostavljene 6. veljače. Uočite mnogobrojna točkasta krvarenja po čitavoj površini sluznice!

Posebna pažnja posvećena je pretrazi potkožja, osobito glave, za možebitnim tragovima prethodnih ugriznih rana, ali niti u jednome slučaju nisu utvrđene promjene koje bi ukazivale na iste.

U potkožju lešine razuđene mačke nisu utvrđene nikakve lezije koje bi ukazivale na ugriznu ranu, a pregledom organa nisu utvrđene patološke promjene.

Rezultati imunofluorescentne pretrage na bjesnoću

Uzorci moždanog tkiva svih šest ovaca, ovna i mačke pretraženi su na bjesnoću laboratorijskom tehnikom fluorescirajućih protutijela (Goldwasser i Kissling, 1958.), metodom koja i danas predstavlja izborni postupak u rutinskoj dijagnostici bjesnoće (Čač i sur., 2009.)

Bjesnoća je tom metodom („zlatnim standardom“) objektivno dokazana u svih životinja osim jedne ovce. Bitno je pritom napomenuti da se mikroskopski nalaz kod ovaca odlikovao mnogobrojnim, neobično jako izraženim fluorescirajućim žarištima po cijelom moždanom tkivu.

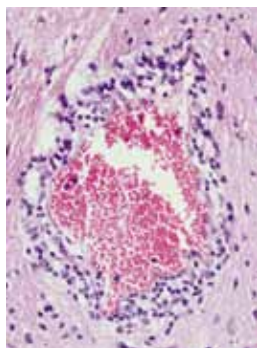
Rezultati pretrage na bolest Aujeszkoga

Iz uzorka moždanog je tkiva ovce s promjenama na koži lica najprije izdvojena DNK pomoću komercijalnog kompleta NucleoSpin Tissue (Machery-nagel, Njemačka), a potom je postupkom lančane reakcije polimerazom (PCR) uz uporabu specifičnih oligonukleotidnih

početnica za gG gen herpesvirusa bolesti Aujeszzkoga (Huang i sur. 2004.) dobiven negativan rezultat.

Rezultati histopatološke pretrage

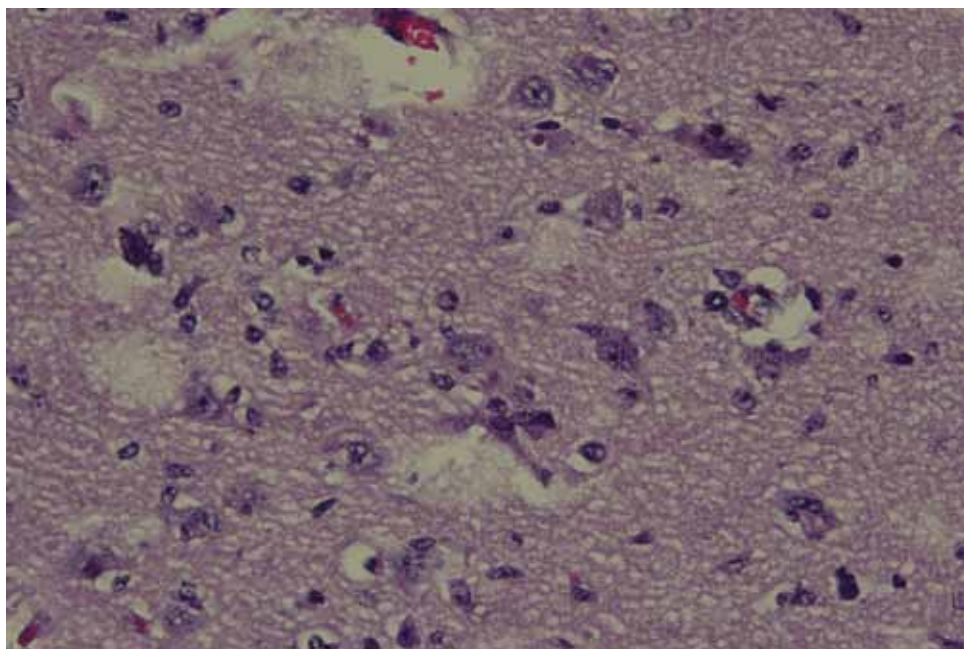
Histopatološki su obrađeni mozgo-vi triju životinja i to: žive dostavljene šilježice (slika 1), ovce s izraženim opistotonusom (slike 4 i 7) i ovce s povredom na licu (slike 5 i 6). Od sve tri spomenute životinje prikupljeni su višebrojni uzorci mozga predilekcijskih anatomskih lokacija te su rutinskim tehnikama priređeni histološki pre-



Slika 9. Mikroskopska fotografija mozga jedne oboljele ovce. Uočite mnoštvo nononuklearnih stanica koje okružuju krvnu žilu! Hematoksilin-eozin bojenje, povećanje na mikroskopu 10 x 40.

parati koji su mikroskopski procijenjeni. Ustvrđene su promjene za sve tri životinje podjednake po tipu i intenzitetu pa ih nastavno iznosimo u jedinstvenom obliku.

U svim segmentima mozga, osobito u dijelu od ponsa do hipotalamusa, oko



Slika 10. Mikroskopska fotografija vidnog polja Amonovog roga mozga ovce. Uočite mnogobrojne intracitoplazmatske uklopine (Negrijeva tjelešca) u više prikazanih stanica! U dvije stanice na sredini fotografije vidljivo je ukupno šest uklopina, a u prikazanom ih je vidnom polju mikroskopom vidljivo preko 20. Hematoksilin-eozin bojenje, povećanje na mikroskopu 10 x 40.

krvnih žila nađu se nakupine mononuklearnog, uglavnom limfoplazmatarnog infiltrata, pokadšto u sloju debljine 4-5 stanica (slika 9). U pojedinim se vidnim poljima na periferiji ovoga

infiltrata nađu umjerena do izražena krvarenja. Reakcija glije, u smislu difuzne promjene ili pak ograničenih Babesovih čvorića, je jasno vidljiva. U Purkinjeovim stanicama malog mozga i u mnogobrojnim piramidalnim stanicama Amonovog roga nađu se intracitoplazmatske, eozinofilne, okrugle do ovalne uklopine koje variraju u veličini od 1-6 mikrona. U znatnom broju zahvaćenih stanica nađe se i više uklopina (slika 10).

Sažeta dijagnoza utvrđenih histoloških lezija glasi: Encefalitis, negnojni, teški, karakteriziran nalazom eozinofilnih intracitoplazmatskih uklopina kompatibilnih s Negrijevim tjelešcima.

Rasprava

Bjesnoća je u ovaca dobro poznata u literaturi i obrađuje se u gotovo svim udžbenicima koji se bave područjem zaraznih bolesti domaćih životinja, ili posebno bolestima ovaca, kako u domaćoj (Cvetnić, 1989., Cvetnić, 1997.) jednako tako i u svjetskoj literaturi (Jensen i Swift, 1982., Bosted i Dedie, 1996., Maxie, 2007.). Članci koji

se odnose na bjesnoću ovaca u znanstvenim časopisima širom svijeta, isto su tako brojni.

U našoj literaturi, po nama dostupnim podacima, do sada nije prikazana bjesnoća ovaca niti jednog konkretnog slučaja iz Hrvatske, a vjerojatno niti jedne druge vrste domaćih životinja na ovako cjelovit način. Ova činjenica, uz prikazani porast broja dijagnosticiranih bijesnih ovaca u samome početku 2010. godine, podupire opravdanost ovog članka.

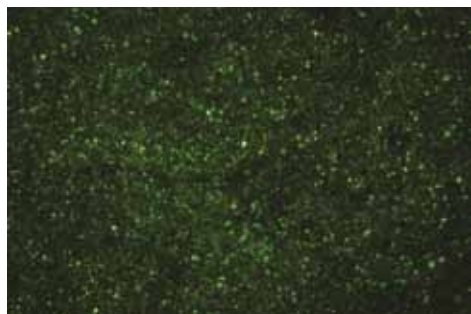
Specifične metode laboratorijske dijagnostike bjesnoće, korištene i u ovom slučaju, podrobno su opisane i potkrijepljene opsežnom literaturom u nedavnom objavljenom članku (Čač i sur., 2009.) ovoga časopisa pa zainteresirane čitatelje upućujemo na navedeni članak.

U konkretnom opisanom slučaju, u stadu su tijekom 2010. godine spontano uginule četiri životinje i to:

1. apoplektičkim uginućem bez ikakvih prethodnih znakova bolesti polovinom siječnja, a
2. 28. siječnja s anamnestičkim podacima o prethodnom bolovanju.
3. i 4. su uginule u ponedjeljak 8. veljače

Prve dvije lešine nisu podvrgnute dijagnostici i kod njih se o uzroku uginuća može samo nagađati.

Ipak, prema anamnezi, koju u ovom slučaju možemo prihvatiti kao vjerodostojnu, plotkinju koja je apoplektički uginula sredinom siječnja ne ubrajamo u grupu oboljelih od bjesnoće. Osim što je uginula asimptomatski, i druge činjenice podupiru takvo mišljenje. Naime, sve su ostale oboljele i uginule životinje bolovale oko osam dana. Da je



Slika 11. Imunofluorescentni test; mikroskopska fotografija pozitivnog nalaza na bjesnoću – moždano tkivo ovce. Uočljiva su intenzivna i neuobičajeno mnogobrojna fluorescirajuća žarišta, povećanje na mikroskopu 10 x 40.

dotična plotkinja bolovala od bjesnoće, već bi u početku bolesti izgubila mlijeko – neizostavni simptom kod životinja u laktaciji, često opisivan u literaturi (Pitzschke, 1964., Wachendorfer, 1968.), a janjad bi svojim ponašanjem najvjerojatnije privukla pažnju vlasnika te ne bi napredovala. Konačno, prema našem iskustvu vrlo stare plotkinje s istrošenim zubalom ugibaju često od iscrpljenosti upravo u vrhuncu laktacije tijekom razdoblja prehrane sijenom, što je i ovdje mogući slučaj, jer je plotkinja imala dva janjeta u dobi od tri tjedna. Iako je ovo najvjerojatniji scenarij za prvu uginulu životinju u stadu tijekom 2010. godine, on ne može biti objektivno dokazan, već je samo pretpostavka s velikom vjerojatnošću.

Raspravljajući i o samoj mogućnosti bjesnoće kod ovaca u laktaciji moramo spomenuti da se virus može izdvojiti i iz mliječne žlijezde bijesne ovce (Hernandez i Ituribe 1984.).

Za životinju koja je uginula 28. siječnja postoje dostatni anamnestički podatci (jednaka dužina bolovanja, vrlo slični simptomi, spontano uginuće) koji su gotovo identični s anamnestičkim podacima za utamanjenu životinju 6. veljače, odnosno dvije spontano uginule životinje 8. veljače. U sve tri potonje navedene životinje bjesnoća je utvrđena s čak dvije objektivne metode – tehnikom fluorescentnih protutijela i histopatološkom pretragom te je stručno opravdano smatrati životinju uginulu 28. siječnja prvom tijekom epizootije od bjesnoće uginulom u stadu.

Određivanje je prvog slučaja oboljenja od epizootiološke važnosti za grupiranje oboljelih, čime se lakše

može pretpostaviti vrijeme infekcije i možda odrediti njezin izvor.

Prvi, čvrsto pretpostavljeni slučaj uginuća od bjesnoće je 28. siječnja, zatim eutanazija moribundne šilježice 6. i dva uginuća 8. veljače. Od četiri utamanjene životinje 8. veljače, dvije ovce i ovan već su pokazivali kliničke znakove bolesti u različitim je fazama i kod sve tri jedinke kao i kod spontano uginulih laboratorijski utvrđena bjesnoća.

Prethodno spontanom uginuću, bolest je kod svih oboljelih trajala oko osam dana pa je za pretpostaviti da bi i kod oboljelih eutaniziranih ovaca i ovna, koji su u trenutku eutanazije pokazivali jednake znakove kao i ostale ovce na početku bolesti, bolest trajala približno jednako dugo. Vjerojatno bi ovce podlegle ranije, a ovan bi uginuo oko 16. veljače, čime bi se možda i spontano ugasila epizootija. Ovakvom analizom dolazimo do ukupne brojke od sedam životinja iz stada čija su uginuća grupirana u razdoblje kraćem od tri tjedna, naime od 28. siječnja do 16. veljače.

Inkubacija bjesnoće kod ovaca traje obično između 2 i 8 tjedana (Wachendorfer 1966.) pa tako temeljem procijenjene dužine trajanja epizootije i prirodne različitosti u dužini inkubacije, vjerujemo da se radi o jedinstvenoj epizootiji, u kojoj su sve oboljele ovce zaražene u kratkom vremenskom razdoblju, najvjerojatnije ugrizom iste bijesne životinje.

Sedam je oboljelih ovaca neuobičajeno veliki broj izgriženih u jednom stadu, tim više što se ne mora razboliti baš svaka ugrizena životinja. Postoji li stoga mogućnost da je neka bijesna životinja tijekom nekoliko uzastopnih

dana posjećivala stado i tako izgri-
zla toliki broj ovaca ili je pak u ovom
slučaju postojao prijenos bolesti s ovce
na ovcu?

Mačka iz istog dvorišta koja je u tre-
nutku eutanazije 8. veljače bila potpuno
asimptomatska, također je laboratorijs-
kom imunofluorescentnom tehnikom
potvrđena kao bijesna pa se nameće pi-
tanje radi li se o istom izvoru infekcije
kao i kod ovaca?

Promatrano stado u razdoblju du-
žem od osam tjedana prije prve kliničke
manifestacije bolesti nije izlazilo iz štale
te je za pretpostaviti da su oboljele ovce
zaražene u štali. U Hrvatskoj je lisica svo-
jim ugrizom najčešći prijenosnik bjesnoće
pa iako u ovome slučaju nije primijećen
kontakt stada s lisicom, on se ne može s
potpunom sigurnošću isključiti.

Ipak, vlasnici odbijaju mogućnost
ulaska lisice u objekt, ali su koncem
2009. primijetili predaciju na tek ojan-
jenom janjetu, a nekako istodobno i
simetrične krastice na njuški ovce, koje
su mogle nastati od ugriza nekog man-
jeg mesojeda od lisice – kune ili tvora,
koji lakše uđu u solidno izgrađeni ob-
jekt. Bez pokušaja nametanja rješenja
u dotičnom slučaju, navodimo da je
bjesnoća i tijekom 2010. godine dijag-
nosticirana u kune, maloj zvijeri dobro
znanoj po neuobičajeno agresivnom ob-
liku bjesnoće pa ne isključujemo niti tu
mogućnost. Uostalom, kuna je u Hrvats-
koj prema učestalosti slučajeva bjesnoće
(90), odmah iza lisice, na drugom mjestu
među životinjskim vrstama.

Patoanatomskom se pretragom ni-
ti na jednoj životinji nisu mogle naći
povrede koje bi upućivale na prethodnu
opsežnu ugriznu ranu pa je najvjero-
jatnije bolest prenesena ugrizom koji je

zarastao bez zaostalih trajnijih promjena.

Već se iz same anamneze u konkret-
nom slučaju može postaviti temeljita
sumnja na bjesnoću. Stado je tijekom
cijele 2009. godine bilo besprijealnog
zdravstvenog i proizvodnog statusa pa
istodobno bolovanje triju životinja sa
simptomima SŽS-a, kako je bio slučaj
početkom veljače, osobito uz činjenicu
da je samo nekoliko dana prije toga
uginula jedna šilježica s istim simpto-
mima, budi sumnju na neku zaraznu
bolest. Podatci da se u ishrani ne ko-
riste silaža i slična fermentirana hran-
jiva te da ne postoji niti neizravni dodir
ovaca sa svinjama, znatno smanjuju
vjerojatnost da se radi o listeriozi ili
bolesti Aujeszzkoga.

Obje su životinje koje su tijekom bo-
lovanja višekratno termometrirane ti-
jekom više dana bile visoko febrilne, us-
prkos antibiotskoj terapiji, što terapijsko
dijagnostički smanjuje vjerojatnost neke
bakterijske infekcije. Normalna tempera-
tura kod ovce je 39,0 °C, s tolerancijom
do 39,5 °C. Međutim, izmjerene tempera-
ture od 40,7 °C - 41,0 °C predstavljaju za
ovcu visoko febrilno stanje, osobito u
neprekidnom trajanju od 4-5 dana. Ence-
falitis je patofiziološka osnova visokog
febrilnog stanja koje je karakteristično
za početak bolesti kod bjesnoće (Cvetnić,
1977., Wachendorfer, 1966.).

Bjesnoća se u ovce klinički najčešće
javlja u tihom obliku, bez furioznih ispa-
da. Mišljenje da bijesna životinja mani-
jakalno napada na sve što se miče i da je
to osnovni kliničko dijagnostički kriterij
nije opravdano čak niti za bjesnoću kod
pasa kod kojih je agresivno ponašanje
znatno češće nego li kod ovaca.

Podatak iz anamneze da u klinički
manifestnom razdoblju bolesti ovce

imaju problema s gutanjem, štoviše jednu je životinju veterinar pregledavao na prisutnost stranog tijela u grlu, vrlo je karakterističan.

U konkretnom slučaju, samo je jedna ovca prema anamnezi imala uočljivu promjenu emotivnog statusa (ona koja se plašljivo ponašala), a niti jedna životinja niti u jednoj fazi bolesti nije pokazivala znakove agresije.

Iako vrlo suptilan anamnestičko klinički opažaj povećanog seksualnog interesa utamanjenog ovna, osobito u veljači, u vrijeme anestrije ženki, čest je klinički znak bjesnoće prodromalnog stadija. Ovnovi, ali i ovce u početnom stadiju bolesti pokazuju neuobičajenu seksualnu razdražljivost (Wachendorfer, 1966.).

Anamnestički su podatci u ovome radu prikazani kronološkim tijekom, ponekada i terminološki onako kako su dobiveni od vlasnika i oni se, općenito uzevši, mogu prihvatiti kao klinička slika bjesnoće kod ovaca, jer su u potpunom suglasju s literaturnim podatcima koji su u većini udžbenika čak i znatno kraći.

Ovca prikazana na slikama 5 i 6, koja je dugotrajnim češanjem mutilirala lice, je osim na bjesnoću, koja je pozitivna imunofluorescentnom i histopatološkom tehnikom, pretražena više iz akademskih interesa nego iz dijagnostičke potrebe i na pseudorabijes, koji je klinički karakterističan po automutilirajućem češanju, ali s negativnim rezultatom pretrage.

Ovce oboljele od bjesnoće ponekada se češu do automutilacije, kao što je slučaj kod prikazane ovce. Ovaj simptom je dobro poznat i prikazan gotovo identičnim fotografijama u literaturi

(Bosted i Dedie, 1996.). Prikazana ovca se prema anamnezi, ali i prema patoanatomskom nalazu, češala barem osam dana prije spontane smrti.

Na slici 3 je prikazano lice utamanjene ovce koja na kapku ima jasne znakove češanja. Promjena vjerojatno nije toliko uznapredovala kao kod životinje prikazane na slikama 5 i 6, jer životinja nije do kraja razvila kliničku sliku. U literaturi se ovakvo češanje dovodi u vezu s mjestom inokulacije virusa (Cvetnić, 1997.) pa je moguće da je i u ova dva slučaja do infekcije došlo ugrizom u lice, možda i u usne.

Naša su osobna klinička opažanja tijekom dijagnostičkog procesa ograničena na kratkotrajnu pretragu jedne moribundne ovce i u cijelosti su u skladu s dobivenim anamnestičkim podacima, kao i literaturnim podatcima o kliničkoj slici moribundne bijesne ovce. Ekscitacija nakon i/v aplikacije višekратно hiperdoziranog sedativa (xylapana pojačanog ketaminom) bila je potpuno neočekivana i nije opisana u konzultiranoj literaturi. Sličan je fenomen poznat i kod nekih drugih teških neuroloških bolesti, tako je npr. dobro poznata neuobičajena tolerancija goveda bolesnih od spongiformne encefalopatije prema xylapanu. Uočeni fenomen bi mogao biti od određene kliničke važnosti veterinarima koji bi možebitno bijesne životinje pokušali sedirati dotičnim lijekovima. Osobito i/m injekcijom i nižim dozama možda bi i druge životinjske vrste reagirale još jačom privremenom ekscitacijom.

Patoanatomske promjene utvrđene na razudbi u konkretnom slučaju nisu specifične za bjesnoću, ali se mogu s njom povezati tako čvrsto da je dostavljanje uzorka mozga radi laboratorijske

pretrage na bjesnoću prvi diferencijalno dijagnostički odabir. Položaj tijela u opistotonusnom grču upućuje na teško neurološko stanje, a viđen je kod dvije životinje, od kojih je jedna eutanizirana moribundna, a druga je spontano uginula (slika 4). Vjerojatno da bi još koja od utamanjenih ovaca, u slučaju da je preživjela dovoljno dugo u agonalnom stanju, zauzela ovakav položaj. Izgredbeno lice životinje prikazano na slikama 5 i 6, ukazuje na teško poremećeni središnji živčani sustav.

Unutrašnji nalaz, izuzmemo li vrlo izraženu punokrvnost i edem mozga u spontano uginulih životinja, nije odavao značajnije patoanatomske promjene.

Upravo je ta napadna odsutnost promjena, koje bi upućivale na uzrok smrti druge etiologije, specifična u sve tri spontano uginule životinje u ovome slučaju. Kod tri su životinje uočena mnogobrojna točkasta krvarenja po sluznici sirišta (slika 8). Ovu promjenu ne možemo sa sigurnošću rastumačiti, a budući da u literaturi nismo našli niti jedan opis sličnog stanja koje bi se moglo povezati s bjesnoćom, uvjerenja smo da se radi o promjeni povezanoj s višednevnim gladovanjem i nemogućnošću životinje da se napije vode.

Histopatološki su nalazi kod sve tri pretražene ovce i djelomično prikazani na slikama 9 i 11 patognomonični za bjesnoću i u detalje su opisani u udžbenicima (Pallaske i Stunzi, 1968., McGavin i Zachary, 2007.) kao i u velikom broju članaka.

Bjesnoća je u dotičnom stadu dijagnosticirana metodom imunofluorescentne tehnike u pet ovaca i jednog ovna te u jedne mačke iz istog dvorišta,

a u sve tri uginule ovce potvrđena je i histopatološki. Anamnestički podatci, klinički i patoanatomski nalaz u potpunosti podupiru dobivene rezultate, tako da je dijagnoza bjesnoće neupitna u konkretnom slučaju epizootije.

Usprkos potpune izvjesnosti o etiologiji čitavom se epizootijom i dobivenim rezultatima proteže niz atipičnosti koje privlače pažnju i koje ovdje želimo nabrojiti i ukratko razmotriti.

U našoj 33 - godišnjoj arhivi ovo je prvi slučaj s tako velikim brojem ovaca oboljelih od bjesnoće tijekom jedne epizootije u stadu.

Bolovanje ovaca je neuobičajeno dugo (u svih slučajeva osam ili čak više dana), što je znatno duže nego li se opisuje u literaturi u pokusno zaraženih ovaca (Hudson i sur., 1996.) ili u spontanih kliničkih slučajeva (Wachendorfer, 1966.).

Postupkom rutinske imunofluorescencije bjesnoća u ovaca je nedvojbeno dokazana, ali su fluorescentna žarišta u moždanom tkivu bila neuobičajeno jako izražena.

Patognomonična je histopatološka slika na mozgu kod bjesnoće poznata zahvaljujući Negrijevom otkriću gotovo već 110 godina i od tada su akumulirani mnogobrojni opisi ovog stanja u različitim životinja. U konkretnom slučaju dijagnoza je neupitna, ali intenzitet promjena je neuobičajeno izražen za tu životinjsku vrstu. Naime, ovce od bjesnoće u pravilu ugibaju u znatno kraćem vremenu nego li je to bio slučaj u prikazanoj epizootiji, tako da se histopatološke promjene ne stignu razviti u ovakvom intenzitetu. Viđena histopatološka slika odgovara-

la bi slici nalaza teškog intenziteta na mozgu psa, ali ne i ovce.

Prethodno razmatrano pitanje o infekciji bjesnoćom tako velikog broja ovaca u praktički isto vrijeme postavlja mogućnost da je i predator, slično kao i ovce, bolovao duže vrijeme od uobičajenog pa je prije uginuća imao dovoljno vremena zaraziti toliki broj ovaca.

Sve navedeno tvori logično povezanu cjelinu i zato nameće potrebu daljnjeg istraživanja tipa virusa u konkretnom, a možda i nekim drugim slučajevima, jer se možda radi o virusu manje patogenosti. Na tragu toga valja spomenuti podatak da je u Danskoj zabilježena bjesnoća kod pet ovaca zaraženih genotipom 5 virusa bjesnoće (*European bat lyssavirus 1*; EBL-1), a kao posljedica ugriza šišmiša (Davis i sur., 2005.).

Konačno, ova rasprava ne može zaobići javnozdravstveni aspekt predmetne epizootije. Kako se ovaj rad objavljuje u časopisu namijenjenom veterinarima, to smatramo nepotrebnim citatima iz literature podupirati činjenicu da se bjesnoća može na čovjeka prenijeti slinom bolesne životinje bilo preko intaktne sluznice, pr. oka ili preko otvorenih povreda na koži. U ovome je slučaju pravovremenim cijepljenjem izloženih ljudi ovaj rizik smanjen na minimum.

Moguće je da utvrđeno povećanje broja slučajeva bjesnoće kod ovaca predstavlja samo vidljivi vrh ledene sante. Naime, slučajevi u kojima se u stadu razboli toliki broj ovaca, koji bi potom pokrenuli vlasnika i veterinarsku službu na dijagnostiku, su rijetki.

Najčešće obolijeva jedna ili dvije životinje koje vlasnik u početku bolesti

prikolje, kao što je slučaj s dostavljenom oguljenom glavom janjeta koje je zaklano 10 dana prije datuma primitka na HVI, tijekom veljače 2010. godine. Glava je poslana tek nakon što je u istome stadu utvrđena bjesnoća na jednoj ovci, i vjerojatno je odrubljena s janjeta spremljenog u zamrzivaču. Životinja je bila pozitivna na bjesnoću.

Scenarij da se uginule životinje zakopaju ili pak pošalju u kafileriju bez dijagnostičkih pretraga više je pravilo nego izuzetak pa i u konkretnom slučaju, čak dvije ovce, uginule tijekom 2010., nisu dijagnostički obrađene.

Skidanje, manipulacija i dostavljanje identifikacijskih ušnih markica u centralne ureda zbog razduživanja uginule stoke kako je viđeno i prikazano u ovome slučaju ne samo da onemogućava valjanu identifikaciju životinja i otežava dijagnostiku, već otvara jasno pitanje o mogućnosti širenja zaraze ovim putem.

I zaključno, cijepljenje protiv bjesnoće svih djelatnika veterinarske struke, koji u obavljanju dnevnih zadataka mogu biti izloženi bjesnoći, trebalo bi biti uvjetovano pri davanju licence za obavljanje prakse u dotičnoj godini.

Sažetak

Bjesnoća se kod domaćih i divljih životinja u Hrvatskom veterinarskom institutu sustavno dijagnosticira od 1977. godine, od kada postoje evidencije o svim pretraženim životinjama. Već u prva dva mjeseca 2010. godine dijagnosticirano je više slučajeva bjesnoće u ovaca nego li u svih pojedinih godina tijekom epizootiološkog razdoblja silvatične bjesnoće u Hrvatskoj. Razlog

ovako naglog povećanja broja slučajeva je djelomično i epizootija bjesnoće u jednome stadu, gdje je početkom veljače dijagnosticirano šest slučajeva bijesnih ovaca, a prema anamnezi sumnja se da je u stadu neposredno prije uginula još jedna životinja, što čini sedam zaraženih životinja u jednome stadu. Tijekom eutanazije oboljelih ovaca u istom je dvorištu utamanjena i mačka, koja je također bila bijesna. Bolest je u svim slučajevima potvrđena tehnikom fluorescirajućih protutijela, a u tri spontano uginule životinje studirana je i potvrđena histopatološkim nalazom negnojnog encefalitisa i patognomoničnih Negrijevih uklopinna. Opisana epizootija karakterizirana je velikim brojem oboljelih ovaca u stadu, neobično dugim kliničkim tijekom bolesti, dok su se laboratorijske pretrage odlikovale mnogobrojnim i veoma fluorescirajućim žarištima te jako naglašenim histopatološkim promjenama u moždanom tkivu. Nabrojene karakteristike bolesti mogle bi biti posljedica infekcije sojem virusa niže patogenosti od uobičajenog u Hrvatskoj, što bi moglo imati epizootiološkog značenja pa su potrebna nastavna istraživanja, posebice genotipizacija virusa.

Literatura

1. BOSTED, H. and K. DEDIE (1996): Schaf – und Ziegenkrankheiten. Verlag Eugen Ulmer. Stuttgart.
2. CVETNIĆ, S. (1989): Bjesnoća. JUMENA. Zagreb.
3. CVETNIĆ, S. (1997): Virusne bolesti životinja. HAZU/ Školska knjiga. Zagreb.
4. ČAČ, Ž., IVANA LOJKIĆ, T. BEDEKOVIĆ i M. LOJKIĆ (2009): Laboratorijska dijagnostika bjesnoće. Vet. stn. 40, 361-372.
5. DAVIS, P. L., E. C. HOLMES, F. LARROUS, W. H. M. VAN DER POEL, K. TJORNEHOJ, W. J. ALONSO and H. BOURHY (2005): Phylogeography, population dynamics, and molecular evolution of european bat lyssaviruses. J. Virol. 79, 10487-10497.
6. GOLDWASSER, R. A. and R. E. KISSLING (1958): Fluorescent Antibody Staining of Street and Fixed Rabies Virus Antigens. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 98, 219-223.
7. HERNANDEZ, Z. G. and R. R. ITURIBE (1984): Isolation of rabies virus from the mammary gland of naturally infected sheep. Ve. Mexico 15, 183-186.
8. HUANG, C., J. HUNG, C. WU and M. CHIEN (2004): Multiplex PCR for rapid detection of pseudorabies virus, porcine parvovirus and porcine circoviruses. Vet. Microbiology 101, 209-214.
9. HUDSON, L. C., D. WEINSTOCK, T. JORDAN and N. O. BOLD – FLETCHER (1996): Clinical features of experimentally induced rabies in cattle and sheep. Zbl. Vet. Med. B 43, 85-95.
10. JENSEN, R. and L. B. SWIFT (1982): Diseases of Sheep. Lea & Febiger. Philadelphia.
11. KARLOVIĆ, M. i M. LOJKIĆ (1981): O širenju silvatične bjesnoće u Europi (1945.-1981.). Praxis Vet. 29, 411-415.
12. MAXIE, M. G. (2007): Jubb, Kennedy and Palmers Pathology of Domestic Animals, Vol. 1. Saunders / Elsevier. Edinburg, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto.
13. McGAVIN, M. D. and J. F. ZACHARY (2007): Pathologic basis of veterinary disease. Mosby. Elsevier International.
14. PALLASKE, G. and H. STUNZI (1968): Handbuch der Speziellen Patologisch-anatomie der Haustieren. Band III. Verlag Paul Parey. Berlin, Hamburg.

15. PITZSCHKE, H. (1964): Zum Verlauf der Tollwut bei Rindern und Schafen. Mh. Vet.-Med. 19, 102-108.
16. WACHENDORFER, G. (1966): Zur Epidemiologie und Klinik der Tollwut des Schafes. Vet. Med. Nachr. 4, 275- 294.
17. WACHENDORFER, G. (1968): Zur Klinik Der Tollwut bei Haustieren. Schweitzer Arch. Tierhkd. 110, 218- 233.

Epizootic rabies in sheep – a case study

Branko ŠOŠTARIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Advisor, Željko ČAČ, DVM, Ph.D., Scientific Associate, Ivana LOJKIĆ, Ph.D., Scientific Associate, Željko MIHALJEVIĆ, DVM, Ph.D., Scientific Associate, Danko DEŽDEK, DVM, M.Sc., Expert Associate, Dinko NOVOSEL, DVM, Junior Researcher, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Rabies of domestic animals and wildlife has been systematically diagnosed at the Croatian Veterinary Institute since 1977, and data for that period have been accumulated and systematized. A marked increase of positive ovine cases, outnumbering all previous years, was documented in first two months of 2010. One reason for such a sudden increase is the eruption of epizootis in a sheep herd, in which six positive cases of ovine rabies were diagnosed in early February. According to the herd history, one animal exhibiting typical symptoms succumbed just prior to diagnosis of the first case, thus bringing the total number of diseased animals to seven. During imposed measures, an asymptomatic cat from the same household was euthanized and proved to be positive for rabies. In all positive cases, the diagnosis was estab-

lished by a specific IF technique, while in three animals with spontaneous deaths, the diagnosis was confirmed histologically with a pathognomonic finding of nonsuppurative encephalitis and Negri-s inclusions. The described epizootis is characterized by an unusually high number of infected animals, prolonged clinical course, unusually strong signal on fluorescent antibody test (FAT), and very pronounced histopathologic finding not characteristic for sheep. The unusual characteristics of the disease in this particular case raise suspicions of the possibility of involvement of a lower pathogenicity virus strain, which might have possible implications on epizootiologic behavior. Further research, among others typifying the virus to elucidate that possibility, will be undertaken.

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, namijenjen 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, ustrajnost i iskustvo zajedno doprinose jednom cilju - razvoju djelotvornih i neškodljivih proizvoda vrhunske kvalitete.

Detaljnije informacije možete dobiti od firme:

KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/II, p.p. 205, Zagreb 10002, Telefon 01/63 12 100, 63 12 101, Faks 01/61 70 739, E-mail: krka-farma@zag.hr, www.krka-farma.hr

Hiperlipemija u ponija

D. Gračner, Sanela Mustafagić, Robert Zobel i Gordana Gregurić Gračner



Uvod

Hiperlipemija je metabolički sindrom koji se najčešće pojavljuje u ponija, američkih minijaturnih konja, magaraca, a tek se vrlo rijetko može pojaviti u konja standardne veličine (Moore i sur., 1994., Kahn, 2005.). Hiperlipemija nastaje kao posljedica poremećaja metabolizma masti te smanjenja osjetljivosti tkivnih receptora na djelovanje inzulina (Radostits i sur., 2000.). Razvija se kada je životinja hranjena oskudno ili hranom koja ne zadovoljava njezine potrebe kako kvalitetom, tako i kvantitetom, a naročito tijekom povećanih potreba za energijom (gravidnost, sistemska bolest, stres, laktacija, restrikcija dijeta pri liječenju laminitisa ili tijekom bolesti usne šupljine i jednjaka) (Kahn, 2005., Stratton-Phelps i sur., 2003.).

Epidemiologija i patogeneza

Iako se bolest uglavnom pojavljuje sporadično, može se razboljeti i veći broj životinja na farmi. U 90% slučajeva

obolijevaju ženke starije od 4 godine i to najčešće gravidne životinje ili životinje u laktaciji (Mogg i Palmer, 1995., Pearson i Maas, 2002.). Pretili poniji i magarci najčešće obolijevaju od hiperlipemije (Mogg i Palmer, 1995.). Bolest ima sezonski karakter te se najčešće pojavljuje u zimi i proljeće (Kahn, 2005.), točnije od veljače do svibnja (Pearson i Maas, 2002.). U 50% slučajeva, u ponija bolest nastaje sekundarno zbog postojanja neke sistemske bolesti koja će rezultirati anoreksijom i negativnom energetsom ravnotežom (Radostits i sur., 2000. Kahn, 2005.). Hiperlipemija u ponija može nastati i kao primaran proces uslijed pretilosti, gravnosti, laktacije ili stresa (Kahn, 2005.). Najčešće primarne bolesti nakon kojih se razvija hiperlipemija su enterokolitis te kolike nastale zbog proširenja želuca, začepa malog kolona, gastrointestinalnih ulceracija, duodenitisa i proksimalnog jejunitisa te septikemija, laminitis, parazitarne invazije, postpartalni peri-

Doc. dr. sc. Damjan GRAČNER, docent, Veterinarski fakultet u Zagrebu, Sanela MUSTAFAGIĆ dr. vet. med., Centar za stočarstvo d.o.o., Slavonski Brod, Robert ZOBEL, dr. vet. med., VETMED d.o.o., Veterinarska ambulanta Stručec, dr. sc. Gordana GREGURIĆ GRAČNER, znanstvena novakinja, Veterinarski fakultet u Zagrebu

tonitis i dr. (Moore i sur., 1994., Mogg i Palmer, 1995.). Urođena smanjena osjetljivost tkivnih receptora na djelovanje inzulina u kombinaciji s negativnom energetsom ravnotežom zbog bolesti, gravidnosti, laktacije ili kvantitativnog ili kvalitativnog manjka hrane u ponija, rezultira nekontroliranom mobilizacijom masnih kiselina iz potkožnog masnog tkiva. Pri tome, uz pomoć hormonski osjetljivih lipaza u masnom tkivu, dolazi do nekontrolirane hidrolize triglicerida u slobodne masne kiseline i glicerol. U hiperlipemičnih ponija mobilizacija slobodnih masnih kiselina iz masnih depoa je 40 puta aktivnija nego u zdravih ponija. Golem priljev slobodnih masnih kiselina i glicerola u jetru nadmašuje glukoneogenički i ketogenički kapacitet jetre (Radostits i sur., 2000.). Produkcija triglicerida je znatno intenzivnija nego njihovi katabolički procesi (Kahn, 2005.) što u konačnici dovodi do hipertrigliceridemije i masne infiltracije organa, naročito jetre i bubrega te posljedično tome do oštećenja njihove funkcije (Stratton-Phelps i sur., 2003.). Znatno viša razina triglicerida u serumu (viša od 500 mg/dL) (Naylor, 1982.) uzrokuje замуćenje seruma što je vidljivo prostim okom (Pearson i Maas, 2002.). Smatra se da povećanje razine kortizola u krvi zbog stresa ili bolesti dovodi do smanjenja osjetljivosti tkivnih receptora na inzulin što potiče nastanak hiperlipemije (Jeffcott i Field, 1985., Ott, 1989.). Naylor, 1982. godine navodi da je hiperlipidemija blaži oblik opisanog metaboličkog poremećaja tijekom kojeg je koncentracija triglicerida umjereno viša od 500 mg/dL, plazma je bistra

te izostaju klinički znakovi poremećaja funkcije jetre.

Klinička slika

Klinička slika je prije svega vezana za patogenezu primarne bolesti. Klinički znakovi bolesti nisu patognomonični, i često nisu povezani s poremećenom funkcijom jetre (Kahn, 2005.) stoga ikterus može i ne mora biti prisutan (Radostits i sur., 2000.). U težim slučajevima mogu dominirati upravo klinički znakovi nastali zbog oštećenja jetre (Stratton-Phelps i sur., 2003.). Jetra u tom slučaju može i rupturirati te uzrokovati uginuće životinje (Kahn, 2005.). U 90% slučajeva hiperlipemija se očituje depresijom, gubitkom tjelesne mase i inapetencijom koja napreduje do anoreksije dok depresija vodi u somnolenciju i hepatičku komu (Radostits i sur., 2000.). Dugotrajno povišena razina triglicerida u serumu dovodi do nakupljanja masti u jetri, bubrezima, srčanom mišiću i skeletnom mišiću (Kahn, 2005.). U gotovo polovini slučajeva razvija se edem na ventralnim dijelovima tijela koji nije vezan uz porođaj. Umjereno jake kolike, osvrtnje životinja prema sapima, rastezanje i valjanje prisutni su u 60% bolesnih životinja. Mnoge bolesne životinje imaju potrebu za vodom, ali ne mogu uzimati vodu niti gutati. Tjelesna temperatura im je normalna ili blago povišena dok su disanje i otkucaji srca ubrzani. U zadnjem stadiju bolesti prisutan je proljev. Inspekcijom se seruma bolesnih životinja prostim okom uočava замуćenje te umjereno opalesciranje (Radostits i sur., 2000.).

Patoanatomski nalaz

Većina unutrašnjih organa opsežno je zamašćena, a posebice jetra koja je povećana, masne teksture (Radostits i sur., 2000., Pearson i Maas, 2002.). U ponija se ponekad nađe rupturirana jetra i intraabdominalno krvarenje. Histološkom pretragom vidljive su lezije bubrega. Mogu se uočiti i određeni primarni patološki procesi koji su mogli uzrokovati anoreksiju sa sekundarnim razvojem hiperlipemije (Pearson i Maas, 2002.). Tijekom razudbe treba obratiti pažnju na moguće oštećenje gušterače ili laminitis koji mogu predstavljati predisponirajuće čimbenike za razvoj hiperlipemije. Histološki je moguće ustanoviti rasprostranjenu mikrovaskularnu trombozu, kao i brojna nakupljanja masnih stanica u različitim tkivima (Radostits i sur., 2000.).

Dijagnostika

Pogodniji su čimbenici za pojavu hiperlipemije u ponija postojanje primarne sistemske bolesti, anoreksija, gravidnost, laktacija i pretilost te je stoga u takvih ponija opravdano postaviti sumnju na hiperlipemiju (Stratton-Phelps i sur., 2003.). Klinička dijagnoza temelji se na postojećim kliničkim znakovima bolesti, anamnezi kao i promjenama u plazmi (bjelkasta do žuta boje, zamućenost). Uz navedeno, dijagnozu hiperlipemije potvrđuje nalaz povišene razine triglicerida u serumu, odnosno u plazmi koja znatno nadvisuje razinu od 500 mg/dL (Kahn, 2005.). Prema nekim autorima, razina triglicerida u serumu može biti

i 20 puta viša od referentne vrijednosti (Watson i sur., 1992.). Kliničkim istraživanjima hiperlipemičnih minijaturnih konja utvrđena je prosječna vrijednost triglicerida koja iznosi 1320 mg/dL (Mogg i Palmer, 1995.), dok su istraživanjem Moora i suradnika 1994. godine, dobivene prosječne vrijednosti triglicerida u iznosu od 2122,4 mg/dL u 9 oboljelih minijaturnih konja i magaraca. Vrijednosti kolesterola, kao i slobodnih masnih kiselina također mogu biti povišene, ali ne u tolikoj mjeri kao razina triglicerida (Watson i sur., 1992.). Hematološkom pretragom obično se ustanovi leukocitoza uz neutrofiliju (Watson i sur., 1992., Mogg i Palmer, 1995.). Anoreksija može dovesti do razvoja hipokalemije. Promijenjene vrijednosti jetrenih enzima i koagulacijskih testova ukazuju na oštećenje jetre i poodmakli stadij bolesti. Razine serumskog kreatinina i ureje rastu kako oslabljuje funkcija bubrega. Na kraju bolesti dolazi do razvoja metaboličke acidoze (Watson i sur., 1992., Mogg i Palmer, 1995.).

Liječenje i prognoza

Uspjeh liječenja hiperlipemije u minijaturnih konja, ponija i magaraca prije svega ovisi o težini primarne bolesti. Liječenje se hiperlipemije sastoji od pravovremenog i specifičnog liječenja primarne bolesti, primjene dijetetskih mjera, tekućinske terapije te uporabe raznih lijekova. Cilj liječenja je ublažavanje negativne energetske ravnoteže te odstranjenje triglicerida iz krvotoka. Dijetetskim se mjerama sma-

njuje negativna energetska ravnoteža, povisuje serumska koncentracija glukoze, potiče endogeno oslobađanje inzulina te sprječava mobilizacija masti iz masnih depoa. Dijetetske se mjere sastoje od intravenozne primjene dekstroze te primjene komercijalnih preparata koji sadrže lako probavljive ugljikohidrate. Hrana se daje u malim količinama, u češćim vremenskim razdobljima kako bi se spriječila pojava želučanog refluksa, nadma, kolika i proljeva (Moore i sur., 1994.). Dehidracija, elektrolitski i acidobazni poremećaj sprječavaju se i/v aplikacijom izotoničnih otopina (otopina Ringer laktata i po potrebi natrijevog bikarbonata) (Radostits i sur., 2000.). U liječenju hiperlipemije također je indicirana uporaba inzulina, jer inzulin blokira hormonski osjetljive lipaze u razgradnji triglicerida u potkožnom masnom tkivu te aktivira razgradnju i iskorištavanje triglicerida u perifernim tkivima (Moore i sur., 1994.). Doza protamin cink inzulina je 0,1 do 0,3 IJ./kg s/c svakih 12 do 24 sata. Pri tome treba pratiti koncentraciju glukoze u krvi te prema dobivenim vrijednostima prilagoditi dozu inzulina. U hiperlipemičnih konja kontraindicirana je aplikacija kortikosteroida i adrenokortikotropnih hormona (Radostits i sur., 2000.). Iako mortalitet u hiperlipemičnih ponija, minijaturnih konja i magaraca iznosi 60-80%, pozitivan ishod bolesti moguć je ukoliko je bolest rano dijagnosticirana i ako je terapija započeta na vrijeme i to liječenjem primarne bolesti, aplikacijom izotoničnih tekućina, korekcijom poremećene acidobazne ravnoteže kao i adekvatnim dijetetskim mjerama (Stratton-Phelps i sur., 2003.). Profilaksa

se sastoji od pravilne hranidbe kojom se konji održavaju u optimalnoj tjelesnoj kondiciji, redovitom zaštitom od parazita i zaraznih bolesti te izbjegavanju transporta i drugih oblika stresa u gravidnih životinja (Radostits i sur., 2000.).

Sažetak

Hiperlipemija je u ponija metabolički sindrom praćen negativnom energetskom ravnotežom i opsežnom mobilizacijom triglicerida iz potkožnog masnog tkiva. Slobodne masne kiseline nakupljaju se u jetri te se posljedično tome velike količine triglicerida otpuštaju u plazmu što dovodi do hipertrigliceridemije i oštećenja jetre. Hiperlipemija nastaje kao posljedica nedostatnog unosa hrane te kod anoreksije. Primarne sistemske bolesti koje uzrokuju negativnu energetsku ravnotežu moraju biti na vrijeme prepoznate kako bi se dijetetskim mjerama, tekućinskom i potpornom terapijom omogućilo preživljavanje oboljelih životinja.

Literatura

1. JEFFCOTT, L. B. and J. R. FIELD (1985): Current concepts of hyperlipemia in horses and ponies. *Vet. Rec.* 116, 461-466.
2. KAHN, M. C. (2005): Hyperlipemia and hepatic lipidosis in horses, donkeys, and camelids. In: Kahn, M. C.: *Merck Veterinary Manual Ninth edition*. Merck & Co., INC. Whitehouse Station. N. J., U. S. A. (294-296).
3. MOGG, T. D. and J. E. PALMER (1995): Hyperlipidemia, hyperlipemia, and hepatic lipidosis in American Miniature Horses: 23 cases (1990-1994). *J.*

- Am. Vet. Med. Assoc. 207, 604-607.
4. MOORE, B. R., S. K. ABOOD and K. W. HINCHCLIFF (1994): Hyperlipemia in 9 Miniature Horses and Miniature Donkeys. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 8, 376-381.
5. NAYLOR, J. M. (1982): Hyperlipemia and hyperlipidemia in horses, ponies and donkeys. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 4, 321-326.
6. OTT, E. A. (1989): Nutrient requirements of horses. Washington D. C: National research Council, 5.
7. PEARSON, E. G. and J. MAAS (2002): Hepatic lipidosis. In: Smith, B. P.: *Large Animal Internal Medicine*. St Louis, London, Philadelphia, Sydney, Toronto (810-817).
8. RADOSTITS, O. M., C. C. GAY, D. C. BLOOD, and K. W. HINCHCLIFF (2000): *A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. W. B. Saunders Company Ltd, Ninth edition, London, New York, Philadelphia, San Francisco, St Louis, Sydney. 1466-1468.
9. STRATTON-PHELPS, M., A. J. FASCETTI, and R. J. GEOR (2003): Nutritional Support in Selected Metabolic, Hepatic, Urinary, and Musculoskeletal Conditions. In: Robinson, E. J.: *Current Therapy in Equine Medicine*. Saunders, Philadelphia, London, New York, St Louis, Sydney, Toronto. (715-722).

Hyperlipemia in ponies

Damjan GRAČNER, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Gordana GREGURIĆ GRAČNER, DVM, Ph.D., Junior Researcher, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Sanela MUSTAFAGIĆ, DVM, Center for Cattle breeding, Slavonski Brod; Robert ZOBEL, DVM, Veterinary Practice Struzec

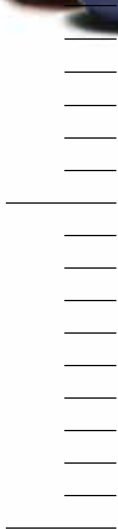
Hyperlipemia in ponies is a metabolic syndrome characterized by negative energy balance and rapid mobilization of peripheral adipose tissue. Fatty acids infiltrate the liver and triglycerides accumulate in the plasma, resulting in elevated serum triglyceride levels and impaired hepatic function.

Reduced feed intake or anorexia is usually the cause of hyperlipemia. Primary systemic diseases causing a negative energy balance must be recognized, and nutritional, fluid and supportive therapy provided for the patient to survive.

Napomena

Rad je potpomognut sredstvima projekta MZOŠ RH broj 053-0531863-1861

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

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

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

Detaljnije informacije možete dobiti od proizvođača:

KRKA - FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/II, p.p. 205, Zagreb 10002
www.krka-farma.hr



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

Koštani graftovi

*O. Smolec, Nika Brkljača-Bottegaro, D. Vnuk, M. Kreszinger,
Martina Mičić i J. Kos*



Uvod

Liječenje usporenog cijeljenja kosti, pseudoartroza i drugih stanja uzrokovanih gubitkom koštane mase predstavlja izazov u rekonstruktivnoj ortopedskoj kirurgiji. U većini slučajeva pravilna repozicija i stabilna fiksacija koštanih ulomaka dovoljne su za uspješno liječenje prijeloma. Međutim, u nekim slučajevima složenost ozljede iziskuje aplikaciju koštanog grafta ili koštanog transporta kojima se potiče koštano cijeljenje i popuna koštanih defekata (Finkemeier, 2002.). Pod koštanim graftom podrazumijeva se svaki implantirani materijal koji sam ili u kombinaciji s drugim materijalom pospješuje cijeljenje kosti te djeluje osteogeno, osteokonduktivno i osteoinduktivno na mjestu njegove aplikacije

(Muschler i Lane, 1992.). Koštani graft s osteogenim svojstvima sadržava osteoblastične stanice na različitom stupnju diferencijacije koje su sposobne stvoriti novu kost putem enhondralne osifikacije. Osteoinduktivni koštani graftovi sadrže citokine koji su sposobni transformirati lokalne stanice u osteoblastične stanice. Osteokonduktivni materijali služe kao izvor biokompatibilne strukturalne osnove koja pospješuje stvaranje nove kosti (Berven i sur., 2001.).

U širem smislu materijale koje koristimo za koštane graftove podijelili smo na: autograftove, alograftove, ksenograftove, sintetičke materijale, a moguće su i kombinacije prije navedenih materijala. Autograft (autogeni

Dr. sc. Ozren SMOLEC, dr. vet. med., znanstveni novak, Nika BRKLJAČA BOTTEGARO, dr. vet. med., znanstvena novakinja, dr. sc. Dražen VNUK, dr. vet. med., docent, dr. sc. Mario KRESZINGER, dr. vet. med., docent, Martina MIČIĆ, studentica četvrte godine, dr. sc. Josip KOS, dr. vet. med., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

graft) označava dio tkiva koji je uzet s nekog dijela tijela jedinke te kasnije apliciran istoj jedinki. Alograft označava dio tkiva koje je presađeno s jedne jedinke na drugu jedinku iste vrste.

Ksenograft označava dio tkiva presađen s jedinke jedne vrste na jedinku druge vrste pri čemu najčešće dolazi do jake imunološke reakcije na tkivo donora.

Autologni koštani graftovi

Autologni koštani graftovi posjeduju značajan osteogeni, osteoinduktivni i osteokonduktivni potencijal. U njih svrstavamo spongiozni graft, vaskularizirani kortikalni i nevaskularizirani kortikalni graft te koštanu srž (Axhausen, 1956.). **Autologni spongiozni graft** pokazuje snažnu osteogenu aktivnost, brzo se revaskularizira i integrira na mjestu ugradnje. Spongiozni graft dobro ispunjava nastali koštani defekt, ali ne pridonosi mehaničkoj stabilnosti na mjestu ozljede. Odgovor domaćina na ugradnju spongioznog autografta opisan je u pet međusobno povezanih faza. Neposredno nakon kirurškog zahvata pojavljuju se krvarenje i upala. Kasnije dolazi do odumiranja mnogih stanica u graftu, osobito trabekularnih osteocita, površni osteoblasti prežive i počinju stvarati novu kost (Burwell, 1969.).

Zbog poroznosti spongioznog grafta krvne žile osteoblasti i preosteoblastične stanice počinju urastati u graft s periferije prema centru grafta već drugog dana poslije operacije (Ray, 1972.).

Kako proces napreduje rubni osteoblasti počinju odlagati osteoid koji sada okružuje nekrotičnu kost te dolazi do preoblikovanja grafta. Taj proces započinje resorpcijom nekrotične kosti od strane osteoklasta te posljedičnom zamjenom iste s novom kosti koju stvaraju osteoblasti. U završnoj fazi dolazi do potpune integracije grafta u organiziranu koštanu strukturu (Stevenson, 1998.).

Kortikalni autograftovi mogu biti vaskularizirani i nevaskularizirani. Najznačajniji izvori kortikalnih graftova su lisna kost, crijevna kost i rebra.

Vaskularizirani autograft ima prednost pred nevaskulariziranim jer održava vitalnost koštanih stanica. Osim toga u vaskularizirani autograft je uključeno nešto okolnog tkiva uključujući periost (Shaffer i sur., 1985.). Ako je stabilan brzo sraštava s dodirnim točkama ozljeđene kosti, a mehanička čvrstoća mu je ograničena. Njegova pregradnja i oblikovanje podsjećaju na istovjetne procese kao u normalnoj kosti (Doi i sur., 1977.). Koristi se uglavnom kod velikih koštanih defekata, a nedostaci su mu složena kirurška tehnika te brojne kirurške komplikacije.

Nevaskularizirani kortikalni autograft pokazuje umjerenu osteogenu aktivnost, doprinosi mehaničkoj čvrstoći kosti te se sporo revaskularizira (Stevenson, 1998.). Za kompletnu revaskularizaciju kortikalnog grafta treba jedan do dva mjeseca dok u prvih šest dana uopće nema znakova revaskularizacije. Revaskularizacija spongioznog grafta počinje nekoliko sati poslije operacije, a u potpunosti završi za dva tjedna.

Koštana srž

Koštana se srž koristi za pomoć pri stimulaciji stvaranja nove kosti na mjestu koštanih lomova i kod pseudoartroza (Connolly i Shindell, 1986., Seitz i sur., 1992.). Glavna prednost ove tehnike je ta što se može izvesti perkutanom punkcijom gotovo bez ikakve opasnosti za pacijenta. Koštana srž se aspirira pomoću velike punkcijske igle, najčešće iz krila crijevne kosti. Uspješnost ove tehnike ovisi o broju i aktivnosti koštanih zametnih stanica u aspiratu koštane srži. Koštana je srž izvor osteogenih stanica koje mogu bez dodatnog stimulansa izravno stvarati novu kost (Hayensworth i sur., 1992.). Stoga se, da bi povećao broj osteogenih stanica provodi centrifugiranje aspirata s ciljem razdvajanja stromalnih stanica koštane srži od osteogenih stanica (Connolly i sur., 1989.). Koštana srž ubrzava cijeljenje prijeloma i koštanih defekata u eksperimentalnih životinja (Sharma i sur., 1992., Hamanishi i sur., 1994.). Kombinacijom se koštane srži i demineraliziranog košanog matriksa postižu bolji rezultati pri cijeljenju pseudoartroza, a povećano je i stvaranje košanog tkiva u odnosu prema samoj koštanoj srži (Green i sur., 1986., Tiedeman i sur., 1991.).

Alograftovi

Demineralizirani koštani matriks

Demineralizirani koštani matriks pokazuje umjerena osteoinduktivna svojstva, brzo se revaskularizira, ali ne pridonosi mehaničkoj stabilnosti na mjestu loma kosti. Na mjestu ugradnje

demineraliziranog košanog matriksa dolazi do upalne reakcije koja rezultira migracijom polimorfonuklearnih leukocita u transplantat. Kasnije, dolazi do proliferacije mezenhimalnih stanica i njihove interakcije s matriksom. Ta reakcija dovodi do diferenciranja mezenhimalnih stanica u hondrocite koji izlučuju hrskavični matriks. Oko desetog dana zamjećuju se osteoplastične stanice, a hondrociti počinju degenerirati. Sada se na mjestu hrskavičnog matriksa počinje stvarati nova kost te započinju procesi remodeliranja novostvorene kosti (Yazdi i sur., 1991.).

Biološka aktivnost demineraliziranog košanog matriksa nedvojbeno ovisi o prisutnosti bjelancevina i raznih čimbenika rasta prisutnih u vanstaničnom matriksu. Osteoinduktivni kapacitet demineraliziranog košanog matriksa može se oslabiti u postupcima skladištenja, pripreme i sterilizacije. Tako, sterilizacija etilenoksidom ili gama zračenjem od 2,5 Mrad značajno umanjuje osteoinduktivni kapacitet demineraliziranog košanog matriksa (Munting i sur., 1988., Asperberg i sur., 1990.).

Kortikospongiozni i kortikalni alograftovi

Ovi koštani graftovi pridonose mehaničkoj stabilnosti na mjestu loma kosti, a osteoinduktivni kapacitet im je ograničen. Najčešći izvori ovih graftova su crijevna kost, distalna bedrena i proksimalna goljenična kost (Pelker i sur., 1983.). Zbog razlika u glavnom sustavu tkivne podudarnosti dolazi do senzibilizacije primatelja grafta te posljedične imunološke reakcije. Svježi

alograf izaziva humoralnu i staničnu imunološku reakciju u domaćina, a intenzitet imunološke reakcije proporcionalan je koncentraciji antigena (Burwell, 1963.). Klinička istraživanja na životinjama potvrdila su utjecaj specifične imunološke reakcije na smanjenu vaskularizaciju i remodeliranje kortikalnog grafta. Kortikalni alograftovi pokazuju znatno slabija svojstva od kortikalnih autograftova u istom vremenskom periodu nakon transplantacije (Burchardt i sur., 1978.).

Sintetički graftovi

Umjetna kost (*porous ceramics*)

Sintetička, porozna kost najčešće se sastoji od hidroksiapatita ili od mješavine hidroksiapatita i trikalcium-fosfata. Ima slabu osteokonduktivnu sposobnost. Nije toksična i ne uzrokuje imunološku reakciju.

Sintetička kost osigurava površinu koja stimulira urastanje mezenhimalnog tkiva služi kao izvor minerala ili služi kao matriks koji pomaže orijentaciju stanica u prostoru. U kombinaciji s koštanom srži ubrzava cijeljenje koštanog defekta u pokusnih životinja. Također, u kombinaciji s alogenim demineraliziranim koštanim matriksom ubrzava srašćavanje kralježaka (Šebečić, 1995.).

Sažetak

Koštani graft definiramo kao bilo koji ugrađeni materijal koji sam ili u kombinaciji s drugim materijalom pojačava cijeljenje kosti djelujući osteogeno, os-

teoinduktivno ili osteokonduktivno na mjestu ugradnje. Ta svojstva su poželjna kod teških lomova kosti kod kojih se javlja usporeno cijeljenje ili uopće ne dolazi do cijeljenja. Koštane graftove dijelimo na autograftove, alograftove, ksenograftove, sintetske materijale, a vrlo često koriste se i kombinacije navedenih tipova koštanih graftova.

Literatura

1. ASPENBERG, P., E. JOHANSSON and K. G. THORNGREN (1990): Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. *J. Bone Joint Surg.* 72, 1036-1037.
2. AXHAUSEN, W. (1956): The osteogenic phases of regeneration of bone. A historical and experimental study. *J. Bone Joint Surg. Am.* 38, 593-600.
3. BERVEN, S., K. B. TAY, F. S. KLEINSTUECK and D. S. BRADFORD (2001): Clinical applications of bone graft substitutes in spine surgery: consideration of mineralized and demineralized preparations and growth factor supplementation. *Eur. Spine J.* 10, S169-S177.
4. BURCHARDT, H., H. JONES, F. GLOWCZEWSKIE et al. (1978): Freeze-dried allogenic segmental cortical-bone grafts in dogs. *J. Bone Joint Surg.* 60A, 1082-1090.
5. BURWELL, R. G. (1963): Studies in transplantation of bone. The capacity of fresh and treated homografts of bone evoke transplantation immunity. *J. Bone Joint Surg. (B)* 45, 386-401.
6. BURWELL, R. G. (1969): The fate of bone grafts. In: Apley A. G. (ed). *Recent advances in orthopaedics*. London, Churchill Livingstone 115-207.
7. CONNOLLY, J. F. and R. SHINDELL (1986): Percutaneous marrow injection for an ununited tibia. *Neb. Med. J.* 71, 105-107.
8. CONNOLLY, J., R. GUSE, L. LIPPELLO and R. DEHNE (1989): Development of an osteogenic bone-marrow

- preparation. *J. Bone Joint Surg.* 71A, 684-691.
9. DOI, K., S. TOMINAGA and T. SHIBATA (1977): Bone grafts with microvascular anastomoses of vascular pedicles. *J. Bone Joint Surg.* 79A, 809-815.
10. FINKEMEIER, C. G. (2002): Bone-Grafting and Bone-Graft Substitutes. *J. Bone Joint Surg. Am.* 84, 454-464.
11. GREEN, E., C. HINTON and J. T. TRIFFITT (1986): The effect of decalcified bone matrix on the osteogenic potential of bone marrow. *Clin. Orthop.* 205, 292-298.
12. HAMANISHI, C., T. YOSHII, Y. TOTANI and S. TANAKA (1994): Bone mineral density of lengthened rabbit tibia is enhanced by transplantation of fresh autologous bone marrow cells. *Clin. Orthop.* 303, 250-255.
13. HAYNESWORTH, S. E., J. GOSHIMA, V. M. GOLDBERG and A. I. CAPLAN (1992): Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone* 13, 81-88.
14. MUNTING, E., J. F. WILMART, A. WIJNE, P. HENNEBERT and C. DELLOYE (1988): Effect of sterilization on osteoinduction. Comparison of five methods in demineralized rat bone. *Acta Orthop. Scand.* 59, 34-38.
15. MUSCHLER, G. F. and J. M. LANE (1992): Orthopaedic surgery. (Habal, M. B., A. H. 16. Reddi eds.). Bone grafts and bone substitutes. Saunders. Philadelphia. pp. 375-407.
16. PELKER, R. R., G. E. FRIEDLAENDER and T. C. MARKHAM (1983): Biomechanical properties of bone allografts. *Clin. Orthop.* 174, 54-57.
17. RAY, R. D. (1972): Vascularization of bone graft and implants. *Clin. Orthop.* 87, 43-48.
18. SHARMA, S., N. K. GARG, A. J. VELIATH, S. SUBRAMANIAN and K. K. SRIVASTAVA (1992): Percutaneous bone marrow grafting of osteotomies and bony defects in rabbits. *Acta Orthop. Scand.* 63, 166-169.
19. SEITZ, W. H., A. I. FROMSON and R. B. LEB (1992): Autogenous bone marrow and allograft replacement of bone defects in the hand and upper extremities. *J. Orthop. Trauma* 6, 36-42.
20. SHAFFER, J. W., G. A. FIELD, V. M. GOLDBERG and D. T. DAVY (1985): Fate of vascularized and non-vascularized autografts. *Clin. Orthop.* 197, 32-43.
21. STEVENSON, S. (1998): Enhancement of fracture healing with autogenous and allogenic bone grafts. *Clinical Orthop. and Related Research.* 355S, S239-S246.
22. ŠEBEČIĆ, B. (1995): Lokalna i humoralna stimulacija cijeljenja koštanog defekta kao model u liječenju pseudoartroza. Disertacija. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
23. TIEDEMAN, J. J., J. F. CONNOLLY, S. B. STRATES and L. LIPPIELLO (1991): Treatment of nonunion by percutaneous injection of bone marrow and demineralized bone matrix. *Clin. Orthop.* 268, 294-302.
24. YAZDI, M., S. BERNICK, W. J. PAULE et al. (1991): Postmortem degradation of demineralized bone matrix osteoinductive potential: Effect of time and storage temperature. *Clin. Orthop.* 262, 281-287.

Bone Grafts

Ozren SMOLEC, DVM, Ph.D., Junior Researcher, Nika BRKLJAČA BOTTEGARO, DVM, Junior Researcher, Dražen VNUK, DVM, Ph.D., Assistant Professor, Mario KRESZINGER, DVM, Ph.D., Assistant Professor; Martina MIČIĆ, 4th year student, Josip KOS, DVM, Ph.D., Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

The treatment of posttraumatic skeletal conditions such as delayed unions, non-unions, malunions and other problems of bone loss is challenging. Bone grafts are used to enhance healing in various fractures. The principal indications for bone graft use are the need to replace the missing bone and to enhance bone formation.

Bone graft material is any implanted material that alone or in combination with other materials promotes bone healing response by osteogenic, osteoconductive, or osteoinductive activity at the local site. Bone graft materials can be divided broadly into autograft, allograft, xenograft, synthetic materials and combinations of these materials.

SVAŠTICE

U Engleskoj je od skoro umro glasoviti lovac K. SUTTON, koji je točno zapisivao u svoj dnevnik, što je kada ulovio. Iz toga dnevnika se vidi, da je za 17 godina ubio: 3.967 tetrebacah (Birhhuhn), 12.774 gnjetala (fazana), 27.795 jarebicah, 7.829 zečevah, 4.480 kunacah, 182 tetriebe (Auerhahn), 165 šljukahm svega skupa 51.765 životinjah. Da među ovimi životinjama ima biesnih risah, vukovah, lavovah i tigarah, čovjek bi mu oprostio: nu ovakvo ubijanje sitne i plašljive divljači u velike, za koji posao netreba junačtva nego samo malo spretnosti i bezposlice, jeste zaista gadna stvar i znak je malo ne uvijek sirove ćudi. Čovjek nemore biti budista (Indianac vjerujući u Boga zvanoga buda, koji zabranjuje ubiti ikoju životinju), i opet mora priznati, da nevalja bez potrebe ubijati nijedne životinje, i da imamo štediti život bezumne životinje, da i svake biljke, jer su to sve Božji stvorovi.

“Gospodarski list” (Zagreb), 39, 208, 1858. (god. 6) (30. rujna 1858.).

Nove spoznaje o pojavi goveđe kuge u Gorskom kotaru početkom 17. stoljeća

Karmen Delač-Petković i Maks Karlović



Goveđa kuga spada među najproširenije i najistaknutije zarazne bolesti goveda. Stoljećima nije bio poznat uzrok njezina nastajanja ni širenja pa ni mogućnosti njezina suzbijanja. Tek su počeci sustavnijeg praćenja i bilježenja njezinih pojava u 18. stoljeću bili prvi poticaji znanstvenom pristupu koji je potkraj 19. stoljeća završio konačnim suzbijanjem goveđe kuge u našim krajevima.

Prvi podatci o uginućima goveda u Hrvatskoj i Slavoniji, koja bi se mogla pripisati goveđoj kugi (goveđoj pošasti), ostali su sačuvani u izvješćima tadašnjih liječnika (veterinara tada još nije bilo), podžupana, narodnih zastupnika i drugih izvora. U izvješćima koje je prikupio Lukačević tijekom svojih istraživanja čitamo da se kuga pojavila:

- 1731. u mnogim predjelima Hrvatske (1994.)
- 1743. u Križevačkoj županiji (1994.)
- 1750. u Srijemskoj županiji (1994.)
- 1755. u mnogim krajevima kraljevine Hrvatske (1994.)
- 1756. u Zagrebačkoj županiji (1986.a)
- 1758. u Turopolju (1986.a, 1986.b, 1994.) i u Varaždinu (1986.a)
- 1760. u Brodu (1986.a)
- 1761.-1764. u Zagrebačkoj županiji (1986.a, 1994.)
- 1762.-1763. u Varaždinskoj županiji (1986.b, 1987.)
- 1763.-1764. u Karlovcu (1986.a)
- 1767. u Hrašćini i Budinščini (1986.a)
- 1767.-1769. u Varaždinskoj županiji (1986.a, 1987.)
- 1768. u Konjšćini (1986.a)
- 1770.-1771. u Požeškoj, Virovitičkoj, Srijemskoj, Križevačkoj, Varaždinskoj, Koprivničkoj i Zagrebačkoj županiji te u hrv. slav. Vojnoj krajini (1987.)
- 1772. u Brodskoj i Gradišanskoj pukovniji (1994.)
- 1774. u Dalmaciji (1994.)
- 1776. u Banskoj krajini (1989.)
- 1776.-1779. u Varaždinskoj pukovniji (1989.)
- 1778. u Varaždinskoj, Zagrebačkoj i Virovitičkoj županiji te u Međimurju i Slavonskoj krajini (1989.)
- 1783. u Samoboru i Križevačkoj županiji (1989.)
- 1785. u Dalmaciji (1994.)

Mr. sc. Karmen DELAČ-PETKOVIĆ, dipl. knjižničarka i stručna suradnica – savjetnica, Strojarsko brodograđevna škola za industrijska i obrtnička zanimanja, Rijeka; dr. sc. Maks KARLOVIĆ, dr. vet. med., umirovljeni znanstveni savjetnik, Zagreb

- 1786. u Zagrebačkoj i Đurđevačkoj županiji (1989.)
- 1790. u Zagrebačkoj i Požeškoj županiji (1989.)
- 1791. u Križevačkoj i Varaždinskoj županiji (1989.)
- 1793. u Samoboru (1989.)
- 1795. u Zagrebačkoj županiji (1989.).

Posebno se ističu dva njegova izvješća (Lukačević, 1990.). Prema prvom je 1770. godine u sedam naselja Srijemske županije uginulo 430 goveda, a prema drugom 1771. godine u Pakracu 227 goveda. U tom je stoljeću, prema Eichbaumu (1885.), uginulo u Europi oko 200.000.000 goveda, a procjenjuje se da ih je samo u Hrvatskoj i Slavoniji uginulo oko 250.000 (Lukačević, 1987.).

Prvi, pak, spomen o goveđoj kugi u Hrvatskoj i Slavoniji nalazimo u knjizi "Betegajuče sivine vrachitel...", koju je objavila grofica Josipa Oršić 1772. godine: „Pervo taki Leto, kaksze je kuga marsecha vu zagorju pred nekulikemi Letmi vjavila...”

Dodajmo ovome službeni zapis o goveđoj kugi objavljen u 19. stoljeću (Lukačević, 1987.):

„Goveđa kuga (Rinderpest) je najpogubnija pošast, uništavajuća blaga i blagostanja obćinah i okolicalah, da se od nje oporaviti mogu tek poslije puno godinah.” U zapisu nalazimo i podatak da je goveđa kuga harala ovim krajevima još i tijekom gotovo cijelog 19. stoljeća pa ne treba posebno isticati paniku vlasnika stoke pri pojavi te bolesti i tijekom njezina širenja u 17. stoljeću. Tomu su pridonosile i njihove spoznaje o potpunoj vlastitoj nemoći, zbog čega su vlasnici rijetko prijavljivali bolest ili je uopće nisu prijavljivali, ukoliko je to itko od njih i tražio.

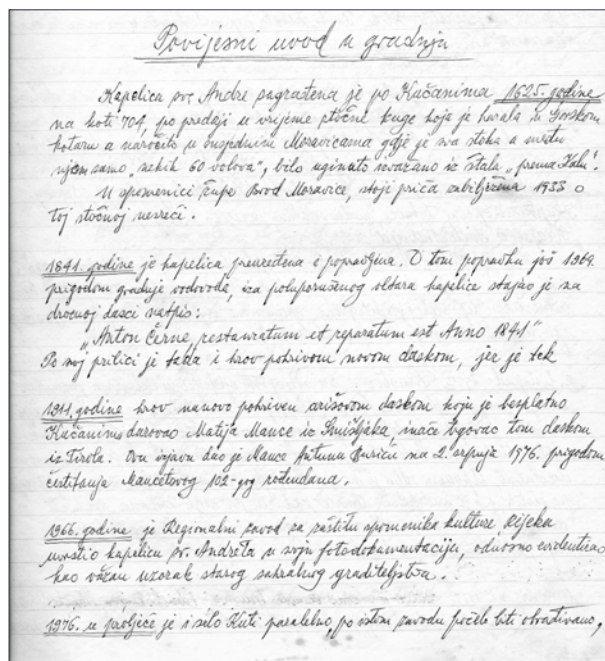
Osim toga, bilo je prošireno mišljenje da su takve pošasti Božja kazna, što je rezultiralo organiziranjem procesija, poput one kojom su krapinski žitelji pohodili čudotvorni kip na Trškom Vrhu (Brozović, 1959.).

Za poznavanje prilika u Gorskom kotaru važno je reći da je kao prvi gorskotarski veterinar postavljen Tomislav Markuš tek 21. srpnja 1863. u Delnicama i to baš povodom tadašnjeg, tko bi znao kojeg po redu, širenja goveđe kuge (Kucel i Rapić, 1976., Karlović, 1999.).

Nasuprot spomenutim sačuvanim i ranije spomenutim podatcima o pojavi goveđe kuge u 18. i 19. stoljeću, iz prethodnog 17. stoljeća nisu sačuvani ili nisu ni postojali nikakvi slični podatci. Ostale su samo pojedinačne usmene predaje.

Prema jednoj takvoj, do danas sačuvanoj predaji, proširila se početkom 17. stoljeća neka pošast goveda koja je uzrokovala velik broj uginuća na području Brod Moravica i okolice. Nemajući niotkuda pomoći, zavjetovali su se mještani tamošnjeg sela Gornji Kuti da će, ne bi li bolest prestala, sagraditi na obližnjem brdu kapelicu za koju će sav potreban materijal na brijeg iznijeti sami, bez pomoći domaćih životinja. To su i učinili, noseći u naprtnjačama kamen čak iz doline Kupe, što je oko tri sata hoda uzbrdo. Kapelicu su posvetili sv. Andriji, a predaja dalje kaže da je onoga dana kad je kapelica završena, stočna bolest prestala (Delač-Petković, 2008.).

Selo Gornji Kuti, kraj kojega je izgrađena kapelica sv. Andrije, danas je omanje naselje s tridesetak kuća u kojima obitava pedesetak stanovnika starije dobi. Mjesto je poznato po „Hrvatskoj



Tekst Antuna Burića iz 1977. o stočnoj kugi u brodmoravičkom kraju

čitaonici sela Kuti" – čitaonici s posudbenom knjižnicom koju su mještani sami osnovali i volonterski je vode već više od 70 godina (Delač-Petković, 2007.).

Uzmemo li kao pretpostavku da se stočna bolest zaista pojavila u brodmoravičkom kraju i da je pojava pošasti bila povod izgradnji kapelice sv. Andrije, tada bi to bila prva i jedina obavijest iz 17. stoljeća o pojavi goveđe kuge u Gorskom kotaru.

Da bi se dokazala ta tvrdnja trebalo je prikupiti eventualno sačuvane podatke o povijesti kapelice. Nažalost, ni na samoj građevini ni u njezinoj okolini nije bilo nikakvog zapisa o pošasti, godini izgradnje, a ni o imenima i motivima graditelja. Ni nedavna restauracija objekta nije otkrila nikakve podatke.

Istraživanja su, zahvaljujući susretljivosti i pomoći njezinog knjižničara

dipl. ing. M. Crnkovića, otkrila u pismohrani Hrvatske čitaonice sela Kuti zanimljiv zapis. U Čitaonici se čuva rukopisni dokument pod nazivom „Građevinski dnevnik restauracije” historijskog spomenika Kapelice sv. Andre – Kuti (Burić, 1978.) koji je vođen 1977./78. godine po danima. Opisana je priprema za rad, prikupljanje materijalnih sredstava za tu namjenu i poteškoće koje su mještani pri tom svladavali, dok o samim radovima i njihovom dovršenju nema bilježaka. Rukopis počinje Povijesnim uvodom u gradnju u kojem se navodi:

„Kapelica sv. Andre sa-
građena je po Kočanima

(Kočan = stanovnik Gornjih Kuti, op. K. D.-P.) 1625. godine na koti 704., po predaji u vrijeme stočne kuge koja je harala u Gorskom kotaru, a posebno u susjednim Moravicama, gdje je sva stoka, a među njima samo 'nekih 60 volova' bilo uginuto izvažano iz štala 'prema Kalu'.

U spomenici župe Brod Moravice stoji priča zabilježena 1933. 'o toj stočnoj nesreći.'" (Burić, 1978.).

Budući da je Burić samo djelomično citirao Spomenicu, a nije prepisao cijeli tekst, bilo je nužno pronaći izvorni dokument iz 1933. godine. Međutim, u Spomenici župe Brod Moravice, koja se vodi od 1897. godine, a koju nam je brodmoravički župnik velečasni Franjo Matoić ljubazno ustupio, nisu nađeni nikakvi traženi podatci (xxx, 1897.-2005.). A nisu nađeni ni bilo kakvi do-



Pročelje devastirane kapelice sv. Andrije, snimljeno sedamdesetih godina 20. st.

kazi da bi neki listovi bili istrgnuti iz Spomenice, jer se tekst nastavlja bez prekida, iako stranice nisu numerirane. Ostaje pitanje kako onda dokazati Burićevu tvrdnju?

Buriću se ne može prigovoriti nestručnost u radu jer je, prema općem saznanju i mišljenju, bio vrlo predan i pedantan u znanstvenom istraživanju. Objavio je, naime, često hvaljenu antroponimiju Gorskog kotara koja je doživjela dva izdanja (Burić, 1979., 1983.), a i danas se smatra mjerodavnim izvorom pri istraživanju goranskih prezimena te popis ptica gnjezdarica Gorskog kotara (Burić, 1998.a, 1998.b) kao prilog za Atlas ptica. U oba je ta velika projekta Burić pokazao detaljan, sustavan i točan pristup pa se ne može pretpostaviti da bi citirao nepostojeći tekst kao izvorni dokument. Iz toga proizlazi da je 1977.

godine tekst iz 1933. još postojao. Uz to se i mr. sc. Emil Crnković (cit. Delač-Petković, 2008.), koji se također bavi istraživanjem povijesti brodmoravičkog kraja, sjeća da je u Spomenici prije mnogo godina vidio uložene zasebne stranice ispisanog teksta, ali se više ne sjeća što je na njima pisalo. Ni sin pokojnog Burića, dipl. ing. Višeslav Burić, nije znao ništa o tom zapisu, a nije ništa pronašao ni u očevoj dokumentaciji koja je vrlo bogata, ali nesređena pa zato i djelomično nedostupna.

Usprkos svim neuspjesima u razjašnjenju odnosa pojave „goveđe pošasti” u Gorskom kotaru i izgradnje kapelice sv. Andrije u Gornjim Kutima, ostaje činjenica da se takva pošast zaista mogla pojaviti u to vrijeme i u tom kraju, kao što se u iduća dva stoljeća pojavljivala vrlo često u gotovo svim dijelovima Hrvatske i Slavonije. Kapelica je, prema usmenoj predaji, sagrađena 1625. godine, a mogla je isto tako biti izgrađena i nekoliko godina ranije ili kasnije. Ostaje, međutim, činjenica da je kapelica izgrađena i da ona POSTOJI još i danas. Stoga smatramo vjerojatnim da se može pridati određeno značenje predaji da je širenje goveđe kuge potaknulo očajni narod na gradnju kapelice.

Budući da izgradnja ove kapelice indirektno ukazuje na prvu i jedinu obavijest o goveđoj pošasti (kugi?) u Gorskom kotaru, a time i na području cijele današnje Hrvatske u 17. stoljeću, smatramo da se ovom prikazu mogu dodati mnogi podatci o višekratnim razaranjima i obnavljanjima kapelice pa i nekim nejasnoćama vezanim uz nju.

Prva je, pak, nejasnoća posvećenje kapelice sv. Andriji. Mnogo je, naime,



Kapelica sv. Andrije danas

svetaca zaštitnika od kuge, ali sv. Andrija nije među njima. Poznati su sv. Sebastijan i, osobito čašćen, sv. Rok. Možda mještani Kuti nisu odabrali sv. Roka zato što je u blizini već postojala grobljanska kapela čiji je titular sv. Rok (iz čega se, opet, može pretpostaviti da je brodmoravičko područje bilo izloženo i humanoj kugi). Izbor sv. Andrije možda može objasniti činjenica da je sv. Andrija, ribar iz Betsaide, bio, prema kršćanskoj tradiciji, prvi Isusov apostol i njegov kasniji sljedbenik kojega je zbog širenja kršćanstva dao uhititi rimski upravitelj te ga je, nakon mučenja, pogubio razapinjanjem na križu oblika slova X, što je i danas svetačka oznaka sv. Andrije, a križ takvog oblika zove se Andrijin križ (Anon. 1990.). Među svecima, pak, kojima se utječemo za zdravlje životinja (sv. Kristofor, sv. Osvald, sv. Vendelin...) zasigurno je prvopozvani apostol sv. Andrija na značajnom mjestu (Dugac, 2003.).

Prema Jurkoviću (1981.), kapelica nije služila samo za vjerske već i u praktične svrhe: „Budući da se nalazi na uzvisini, služila je i kao dojavnica s koje se zvučnim i svjetlosnim signalima (zvonom, rogom i luči) stanovnicima brodmoravičkog kraja i Broda na Kupu pa i susjedne Slovenije doja-

vljivao iznenadni prodor Turaka.” Tu bi tvrdnju mogla potkrijepiti i blizina brodmoravičkog crkvenog tornja – nekadašnje branič-kule Zrinskih – i Piljdaka – jedinstvenog stupa za koji se još dvoji je li bio sakralni ili fortifikacijski objekt, a vjerojatno je bio oboje.

Tijekom tri i pol stoljeća kapelica je bila mjesto hodočašća, ali je proživjela i teških dana. Prvu je preinaku doživjela navodno tek 1811. godine (ranijih podataka nemamo) dogradnjom apside čime je povećan prostor za vjernike. Slijedila je preinaka 1841. godine, kad je kapelica popravljena i preuređena (iz toga je vremena još 1969. bio vidljiv natpis: „Anton Černe restauratum et reparatum est Anno 1841.”). U Matici krštenih župe Brod Moravice upisao je župnik A. Švrljuga 1881. godine: „Na kapelu sv. Andre celi novi krov od Puka 136 forinti i – novčica”. Godine 1911. krov je prekriven ariševom šindrom. Tijekom Drugoga svjetskog rata, Talijani su 1943. godine gađali kapelicu s brda Šehovac i razrušili joj krov (Jurković, 1981.), poslije čega je dugo ostala nepokrivena i izložena propadanju. Krovšte i vrata kapelice obnovljeni su ponovno za vrijeme gradnje vodovoda od 1967. do 1969. godine. Slabo održavanje kapelice pridonosilo je njezinom propadanju. Tadašnja omladina je, ložeći prvomajske krijesove njezinom drvenom građom i namještajem, potpuno devastirala kapelicu, a uništen je i originalan crkveni inventar.

Ipak se našlo ljudi, i u Kutima, a i drugih, koji su i u takvim vremenima skrbili o kapelici pa ju je Regionalni zavod za zaštitu spomenika kulture u Rijeci 13. veljače 1978. proglasio etnološkom

baštinom, odnosno središnjim dijelom etnološke zone sv. Andrija koja uključuje i okolno područje, oranice, pašnjake, sjenokoše i šumu, a „sve bez građevinske ili druge intervencije, organizaciono i toponomastički prema predaji – moguće iz 17. stoljeća” (xxx, 1978.).

Proteklo je daljnjih pet godina do obnavljanja krova i još daljnjih 16 godina do početka obnove kapelice. Pri toj konačnoj obnovi pomogle su sve obitelji u Kutima i pojedine tvrtke novčanim prilogom, a žitelji naselja Gornji Kuti i Brod Moravice, njih više od šezdeset, uložili su u obnovu stotine sati dragovoljnog rada. Obnovljeni su zidovi, ugrađeni drveni prozori i vrata, krov prekriven šindrom, popravljena i okrečena fasada. Unutrašnji su zidovi ožbukani i okrečeni u bijelo. Kamene podne ploče prekrivene su keramičkim pločicama, što nije dobro rješenje. Od staroga je oltara ostala očuvana samo kamena menza, a sav je namještaj nov, drven, vrlo jednostavne izrade. Uz dva metra visok drveni križ u središtu apside, postavljeni su drveni kipovi – lijevo sv. Andrije i desno sv. Obitelji.

Crkveno brončano zvono, izliveno 1927. godine u zagrebačkoj zvonoljevionici Antuna Blazine, kao dar obitelji Kavran za kapelicu, godinama je visjelo na zvoniku u središtu Gornjih Kuti. Zajedničkim trudom mještana ono je 21. travnja 2002. godine vraćeno na kapelicu, dok je na mjesni zvonik montirano čelično zvono (Delač-Petković, 2005.)

Radovi su dovršeni 2003. godine – uređen je okoliš, u blizini je postavljena natkrivena ploča s osnovnim podacima o objektu i popravljen je prilazni put.

U siječnju 2005. godine Hrvatska elektroprivreda Pogon Skrad dovela je

električnu struju do kapelice. Tada su s vanjske strane postavljena dva rasvjetna stupa i četiri reflektora (Anon. 2005.) koji noću rasvjetljuju građevinu dajući joj bajkovit izgled.

Kapelica je posvećena već 2000. godine, kada je u njoj župnik Porkulabić održao misu – prvu nakon mnogo godina, a 16. srpnja 2004. vjenčali su se u njoj Sanja Arbanas, po ocu podrijetlom iz sela Gornji Kuti, i Darijo Špoljar.

I tako su žitelji Gornjih Kuti i Brod Moravica ponovo produžili vijek zavjetne kapelice sv. Andrije, koja već gotovo četiri stoljeća bdije nad njihovim selima.

Sažetak

Prve zapise o širenju „goveđe pošasti” (vjerojatno „goveđe kuge”) u Hrvatskoj i Slavoniji u 18. stoljeću nalazimo u tadašnjim izvješćima liječnika (veterinara tada još nije bilo), podžupana, narodnih zastupnika i drugih službenika. Tog je stoljeća – prema podacima – uginulo u Hrvatskoj i Slavoniji oko 250.000 goveda. Iz prethodnog 17. stoljeća nisu, naprotiv, sačuvani ili nisu ni postojali nikakvi slični zapisi, ali su se poneki događaji do danas očuvali usmenom predajom. Prema jednoj takvoj usmenoj predaji, harala je početkom toga stoljeća u Gorskom kotaru neka „goveđa pošast” (goveđa kuga?) izazavši vrlo visok postotak uginuća. Ne mogavši nikako suzbiti taj pomor, zavjetovali su se mještani Gornjih Kuti, u današnjoj općini Brod Moravice, da će, ne bi li uginuća stoke prestala, izgraditi na obližnjem brijegu kapelicu za koju će sav građevni materijal donijeti na svojim leđima. Kapelicu

su zaista izgradili i posvetili sv. Andriji. Građevina je, prema naknadnim zapisima, najvjerojatnije iz 1625. godine, a sačuvana je, uz mnoge obnove, do danas. Zapis o toj gradnji iz 1933. godine je izgubljen, ali je sačuvan njegov prijedlog iz 1977. godine. Prihvatimo li spomenute podatke iz sačuvane usmene predaje i naknadnih zapisa, tada bi ta pojava „goveđe pošasti“ (goveđe kuge) bila prva i jedina obavijest o toj bolesti u Gorskom Kotaru pa onda i u Hrvatskoj i Slavoniji, tijekom 17. stoljeća.

Literatura

1. Anon. (1990): Leksikon ikonografije, liturgije i simbolike zapadnog kršćanstva. Zagreb: Kršćanska sadašnjost (114).
2. Anon. (2005): Hram Božji obasjan reflektorima. Goranski Novi list 105, 11 (2. siječnja 2005.).
3. BENČEVIĆ, Z. (1929): Prilozi povjesti veterinarstva Hrvatske i Slavonije od god. 1800.-1850. te povjesti veterinarstva i stočarstva bivše Vojne krajine do njezina ukinuća. Slavonski Brod: Knjigotiskara Vilim Buck.
4. BROZOVIĆ, L. (1959): Prilog povijesti veterinarstva u Hrvata. U: Spomenica Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 1919.-1959. Zagreb: Veterinarski fakultet (97-127).
5. BURIĆ, A. (1978): Građevinski dnevnik restauracije historijskog spomenika "Kapelice sv. Andre – Kuti" 23. X. 1977.
6. BURIĆ, A. (1979): Povijesna antroponimija Gorskog kotara u Hrvatskoj. Goranska prezimena kroz povijest. Rijeka: Društvo za zaštitu prirodne, kulturne i povijesne baštine Gorskog kotara.
7. BURIĆ, A. (1983): Povijesna antroponimija Gorskog kotara u Hrvatskoj 1438-1975. Goranska prezimena kroz povijest. Rijeka: Društvo za zaštitu prirodne, kulturne i povijesne baštine Gorskog kotara.
8. BURIĆ, A. (1988a): Ptice gnjezdarice Gorskog kotara. Goranski list 20, (189-190) 16-17.
9. BURIĆ, A. (1988b): Ptice gnjezdarice Gorskog kotara. Goranski list 20, (191) 21-23.
10. DELAČ-PETKOVIĆ, Karmen (2004): Obnovljena crkva sv. Andrije. Runolist 4 (5), 18.
11. DELAČ-PETKOVIĆ, Karmen (2005): Zvonik kao spomenik trajanja: Zvona i zvonici u Gornjim Kutima. Dometi 1-4, 11-36.
12. DELAČ-PETKOVIĆ, Karmen (2007): 70 godina "Hrvatske čitaonice sela Kuti". Brod Moravice: Općina Brod Moravice i "Hrvatska čitaonica sela Kuti".
13. DELAČ-PETKOVIĆ, Karmen (2008): Zavjetna crkva sv. Andrije Apostola: Dokaz o epidemiji stočne kuge u Gorskom kotaru. Neobjavljeni rukopis.
14. DUGAC, Ž. (2003): Sveti zaštitnici od bolesti. Hrvatska revija 3, 131-133.
15. EICHBAUM, F. (1885): Geschichte der Thierheilkunde. Verlag von Paul Parey.
16. GRČIĆ PETROVIĆ, Gordana. Sakralni spomenici Gorskog kotara: Župa Brod Moravice. Neobjavljeni rukopis.
17. JURKOVIĆ, V. (1981): Po dragom goranskom zavičaju: Brodmoravički kraj. Zagreb: Kajkavsko spravišće, 1981.
18. KARLOVIĆ, M. (1999): Veterinari i veterinarska služba u Delnicama od 1863. do kraja Drugoga svjetskog rata. Vet. stn. 30, 229-238.
19. KUCEL, J. i S. RAPIĆ (1976): Tomislav Markuš (1836-1907). U: Zaslužni veterinari Hrvatske. Zagreb: Sekcija za povijest veterinarstva SR Hrvatske.
20. LUKAČEVIĆ, J. (1986a): Stočne zarazne bolesti u Hrvatskoj u 18. stoljeću. IV. O učestalosti stočnih zaraza u tijeku 1700. do 1775. godine. Vet. arhiv 56, 99-108.
21. LUKAČEVIĆ, J. (1986b): O izvješćima liječnika koji su u 18. stoljeću suzbijali stočne zarazne bolesti u Hrvatskoj. Vet. stn. 17, 35-39.
22. LUKAČEVIĆ, J. (1987): Stočne zaraze u Hrvatskoj i Slavoniji u XVIII. i XIX. stoljeću. Acta historico-oeconomica Iugoslaviae 14, 141-148.
23. LUKAČEVIĆ, J. (1989): Stočne zarazne

- bolesti u Hrvatskoj u 18. stoljeću. VI. O učestalosti stočnih zaraza u tijeku 1776. do 1799. godine. *Vet. arhiv* 59, 41-48.
24. LUKAČEVIĆ, J. (1990): Zadatak sudaca u suzbijanju stočnih zaraznih bolesti u 18. i 19. stoljeću u Hrvatskoj. *Vet. glasnik* 44, 201-205.
 25. LUKAČEVIĆ, J. (1994): O zarazama ljudi i životinja na užem i širem području Dubrovnika u 18. i 19. stoljeću, s osvrtom na te bolesti u kraljevinama Hrvatskoj i Slavoniji. *Vet. stn.* 25, 277-283.
 26. ORŠIĆ, Josipa (1772): *Betegujuche siv-ine vrachitel...* Zagreb: Stampano po Antonu Jandera.
 27. PERČIĆ-ČOLOGOVIĆ, Iva (1981): Fortifikacijski i sakralni spomenici. U: *Gorski kotar*. Delnice: Fond knjige "Gorski kotar" – Delnice (781-803).
 28. xxx (1897-2005): *Spomenica župe Brod Moravice*. Neobjavljeni rukopis.
 29. xxx (1978): Rješenje br. BG-157/1-58 o proglašenju etnozone sv. Andrija od 13. veljače 1978. Regionalni zavod za zaštitu spomenika kulture u Rijeci.

New knowledge on cattle plague outbreak in Gorski Kotar region in early 17th century

Karmen DELAČ-PETKOVIĆ, M.Sc., Graduate Librarian and Expert Associate – Advisor, Industrial and Trade Secondary School, Rijeka; Maks KARLOVIĆ, DVM, Ph.D., Retired Research Advisor, Zagreb

First records about the spreading of bovine plague (rinderpest) in Croatia and Slavonia in the 18th century were found in doctors' reports of the time (there were no veterinarians yet), as well as in reports of vice-prefects, people's representatives and other officials. In that century – according to available information – there were 250,000 bovine deaths in Croatia and Slavonia. However, data from the 17th century have not been preserved or there were no such records, but some events have been recorded until now by through oral tradition. According to one of such oral traditions, early in the 17th century some sort of bovine plague (rinderpest?) was rampant in Gorski Kotar region and led to a high mortality rate. Unable to contain the epidemics, inhabitants of a village of Gornji Kuti,

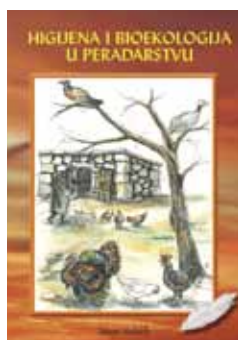
currently in the Municipality of Brod Moravice, took a vow that, should the cattle perishing cease, they would build a chapel on a nearby hill and bring all the construction supplies on their own backs. The chapel was indeed built and consecrated to St. Andrew. The building (dating most probably from 1625, according to later records) has been preserved until today, though with many reconstructions. A record of the construction from 1933 has been lost, but its copy from 1977 has been preserved. If we accept these information from the oral tradition and subsequent records, this outbreak of bovine plague (rinderpest) was the first and only record of that disease in Gorski Kotar, and even in Croatia and Slavonia in the course of the 17th century.

Higijena i bioekologija u peradarstvu

Autor: Marija Vučemilo

Nakladnik: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Tisak: Intergrafika TTŽ d.o.o., Zagreb



U d ž b e n i k „Higijena i bioekologija u peradarstvu“ autorice prof. dr. sc. Marije Vučemilo objavljen je 2008. godine u izdanju Intergrafike d.o.o., nakladnik Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Au-

torica je udžbenik pisala na činjenici da je peradarska proizvodnja, kao jedna od grana stočarstva, gledano s ekonomskog i znanstvenog aspekta, posljednjih pedesetak godina znatno napredovala. Svoju ekspanziju svakako treba zahvaliti velikom znanstvenom i stručnom potencijalu, novim tehnologijama te novim postupcima iskorištavanja peradi, čime je postala respektabilan dio stočarske proizvodnje. S obzirom na nove spoznaje i znatnu senzibiliziranost javnosti glede dobrobiti i zaštite životinja, bilo je potrebno nova saznanja prenijeti u pisani tekst.

Udžbenik je podijeljen u dva dijela. U općem se dijelu opisuju biološko ekološke osobitosti, ponašanje i dobrobit peradi, opisane su morfološke i fiziološke osobine peradi, njihovo razmnožavanje, od izbora jaja za nasad do inkubacije i leženja. Nadalje, navedeni su načini smještaja peradi u peradnjake, mikroklimatski uvjeti u objektima te utjecaj okoliša na zdravlje i dobrobit peradi.

U specijalnom se dijelu navodi smještaj i držanje pojedinih kategorija peradi. Opisana je i tehnologija držanja peradi, objekti za smještaj matičnog jata, objekti za smještaj nesilica za proizvodnju konzumnih jaja, alternativni načini smještaja nesilica. U sljedećim poglavljima redom su opisani: smještaj tovnih pilića, purana, gusaka, pataka, biserki, fazana, japanskih prepelica i nojeva. Potom su opisane hrvatske autohtone pasmine peradi. U posebnom je poglavlju obrađena biosigurnost na peradarskim farmama.

Poticaaj za pisanje ovog udžbenika profesorici Vučemilo dali su ne samo studenti, već i polaznici poslijediplomskih sveučilišnih studija kojima će ovaj udžbenik nadopuniti postojeće znanstvene spoznaje s ovog područja. Stoga je iskustva stečena izučavanjem higijensko-sanitarne i zootehničke problematike peradarske proizvodnje prenijela u korisno štivo za studente i za kolege praktičare koji žele više naučiti o peradarstvu.

Udžbenik je pisan u skladu s novim znanstvenim spoznajama te na temelju brojnih osobnih istraživanja i praktičnih iskustava stečenih tijekom dugogodišnjeg bavljenja zoohigijenskom problematikom. U udžbeniku su objašnjeni zakoni i smjernice Europske Unije, odredbe koje se odnose za zaštitu životinja na farmama u prijevozu, pri klanju, pri usmrćivanju te njihova implementacija u naše pravilnike.

Kristina MATKOVIĆ

Prva prodaja kanarinaca u Hrvatskoj



OGLASNIK.

Br. 1251. 3—1

Kanarinci,

iz hanoveranskoga rudogorja i Holandezke,
upravo su u Zagreb doveženi i nalaze se na razprodaju
u gostioni k caru austrijanskomu.

Ovi kanarinci pievaju u svako doba danom i noćju,
uz svjetlo biela dana i svietlilo svieće; a pievaju krasno
kao slavulji itd.

Mnogobrojne kupce pozivlje ovim uljudno
Josip Zuckerhadt,
prodavalac pticah.

Bèrvotiskom dra. Ljudevita Gaja u Zagrebu.

Danas su kanarinci poznati kućni ljubimci. Pradomovina su im Kanarski otoci, odakle su ih Španjolci, nakon njihove okupacije, prenijeli 1478. godine u svoju zemlju. Uvidjevši mogućnost dobre zarade Španjolci su počeli prodavati samo mužjake u okolne europske zemlje. U drugoj polovici 16. stoljeća olujni je vjetar razbio jednu njihovu lađu s velikim brojem uhvaćenih kanarinaca o obalno stijenje južno od Livorna i ti su se kanarinci razletjeli po obalama tamošnje Italije. Odatle su na početku 18. stoljeća dospjeli do Tirola i Njemačke. O prvoj pojavi kanarinaca u Hrvatskoj nismo našli nikakvih podataka. Ipak, prema priloženom oglasu objavljenom u zagrebačkim Narodnim

novinama od 9. studenoga 1863. godine stanovnici Zagreba mogli su ih kupiti „u gostioni k caru austrijanskomu”.

Iz tog oglasa, osim navoda da potječu „iz hanoveranskoga rudogorja i Holandezke” ne saznajemo je li prodavatelj ili njegov prethodnik već dopremao kanarinca u Hrvatsku. Kao prvi naši uzgajatelji kanarinaca navode se 1938. godine Charles Grmek i Antun Hoppe. Da su se kanarinci u Hrvatskoj razmnožili ukazuje podatak da su samo u Veterinarskom institutu u Zagrebu od 1952. do 1988. godine pretražene lešine 242 kanarinca.

Maks KARLOVIĆ

IN MEMORIAM

Miroslav GRUDENIĆ je rođen 11. 6. 1950. u Novskoj. Diplomirao je 26. 5. 1975. na Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio je kao veterinar u Veterinarskoj stanici Zagreb (1976. – 1981.) u Agrokokki Zagreb (1981. – 1985.) i Veterinarskoj stanici Donji Lapac (1985.) te u poduzeću „Gortan – niskogradnja“ Zagreb (1993. – 1995.). Umro je 20. 6. 2007. u Zagrebu.

Matija BANAK je rođen 30. 12. 1911. u Vukosavljevici (Virovitica). Diplomirao je 26. 4. 1941. na Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio je kao veterinarski vježbenik u Suhopolju – Virovitica (1941. – 1944.) i kao kotarski veterinar u Virovitici sa sjedištem u Suhopolju (1944. – 1945.), da bi po završetku Drugoga svjetskog rata – prema neprovjerenim telefonskim podacima – bio premještan u više navrata i to – navodno – u Vranje, Prokuplje i Prelog, nakon čega je dospio u Ivanec, gdje je ostao do 1954. godine, od kada je radio u Veterinarskoj stanici Đurđevac

(1954. – 1958.) i u Veterinarskoj stanici Čakovec do odlaska u mirovinu (1958. – 1977. ili 1978.). Tijekom boravka u Đurđevcu objavio je nekoliko stručnih zapisa u „Glasu Podravine“. Umro je 28. 7. 2007. u Čakovcu.

Ivan POPOVIĆ je rođen 6. 1. 1910. u Bjelovaru. Diplomirao je 27. 6. 1938. na Veterinarskom fakultetu Zagreb. Radio je kao veterinarski pripravnik u Srbici (1939. – 1940.), a kao veterinarski vježbenik u Đurđevcu (1940.). Bio je pomoćnik pograničnog veterinara u Kotoribi (1940. – 1941.), a kao veterinarski vježbenik i kao veterinar u Sv. Križu Začretju (1941. – 1947.), u Zlataru (1947. – 1957.) i kao kotarski veterinarski inspektor do odlaska u mirovinu u Zaboku (1957. – ?). 1976. godine je objavio kraću brošuru „Pas prijatelj i neprijatelj“. Umro je 8. 12. 2007. u Zaboku u 97. godini života kao jedan od najstarijih veterinara u Hrvatskoj.

Maks KARLOVIĆ

Ivan POPOVIĆ, dr. vet. med. (1910. – 2007.)



Iznenadila nas je vijest da nas je zauvijek napustio poštovani Ivan POPOVIĆ, veterinar, naš prijatelj i građanin Zaboka punih 50 godina. Ivan Popović je podrijetlom iz Poljane sutlanske, a rođen je u Bjelovaru prije 97 godina. Klasičnu gimnaziju i veterinu završio je u Zagrebu. Živio je na Kaptolu u srcu našeg Zagreba. Dio svog životnog vijeka kao veterinar je proveo u Međimurju. Početkom Drugoga svjetskog rata dolazi kao prvi školovani veterinar u Sv. Križ Začretje u moje susjedstvo, kada sam ga i osobno

poznavao. Od njega sam naučio i prvi puta čuo za mnoge stvari koje su meni tada kao malom djetetu bile nepoznate. Njega s pravom smatram svojim prvim učiteljem.

Njegovo je djelovanje bilo i prosvjetiteljsko. Stekao je veliko povjerenje naših siromašnih ljudi, koji su ga u svojom primamali kao dobrog, poštenog, vrijednog i stručnog veterinara, prijatelja. U Sv. Križu boravio je s porodicom do 1947. godine, kad odlazi u Zlatar, da bi 1957. godine postao kotarski veterinarski inspektor i udomljuje se u Zaboku.

Ostavio nam je svoje neiscrpno znanje i iskustvo napisano u maloj brošuri o psu, čovjekovu prijatelju.

Ljubio je iskreno cijeli život svoju obitelj. I domovinu je ljubio, zato što je njegova.

Gospodine doktore, svojim ste životom zavrijedili da vam nebo bude sklonije negu što su vam bile zvijezde. Neka vam ova zagorska gruda, kao dio domovine, bude laka. Vječna vam hvala i slava. Obitelji koja će se uvijek vama ponositi i za vama tugovati iskrena sućut.

Antun KUČKO

- 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 ambulanta-ma.
- 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 Microsoft 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) Oglašavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu "Veterinarska stanica" mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.).

U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.

- 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): *Adaption of domestic animals*. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959): *African swine fever*. 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. Izvešća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
 5. **zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti 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 Ferkel. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 79, 229 - 231 (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI, H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H. KÖNIG und J. NICOLET: Vorkommen und Bedeutung von Schweinekrankheiten: Analyse eines Sektionsguts (1971 - 1973) *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 118, 105 - 125, 1976).
 9. **sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe *Vet. J.* 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

Jednu kopiju rukopisa zajedno 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, Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10000 Zagreb.

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

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu..