

***In memoriam* - Dr. sc. Maks KARLOVIĆ, dr. med. vet.
– počasni urednik znanstveno-stručnog časopisa
„Veterinarska stanica“**



Naš dragi i poštovani kolega dr. sc. Maks Karlović, umirovljeni znanstveni savjetnik, napustio nas je, otišavši u vječnost 11. ožujka 2013. u 89. godini života. Bio je vedra, optimistična osoba, neumoran radnik, borac, ogromne snage i volje, cijenjen čovjek s velikim krugom kolega i znanaca. Otišao je doajen hrvatske veterinarske publicističke djelatnosti, izniman stručnjak iz područja veterinarske medicine i time ostavio veliku prazninu u našoj struci.

Nama je bila osobita čast da smo mogli s poštovanim doktorom

Karlovićem surađivati u stvaranju i izdavanju časopisa „Veterinarska stanica“, koja bez njega, kao urednika punih 18 godina (1989.- 2006.) te počasnog urednika od 2007.- do smrti, ne bi niti izbliza postigla nužnu, no i zavidnu kvalitetu i značenje. Usudili bi smo se reći da je časopis opstao zahvaljujući entuzijazmu dr. sc. Karlovića. Za nas koji smo tek započeli uredništvo časopisa kao što je „Veterinarska stanica“, on je uvijek bio tu i svaki njegov savjet, iznimno bogatog iskustva bio nam je neprocjenjiv. Volio je društvo bio je jednostavan i skroman, uvijek je bio dostupan svima u želji da pomogne pojedincu, instituciji ili zajednici u cjelini.

Veterinarska je literatura jedne zemlje važan odraz njezina veterinarstva. Ona predstavlja odgovornost prema budućnosti veterinarske struke u cjelini, jer bez publicističke aktivnosti sve ostaje na usmenoj predaji, riječima koje s vremenom blijede i nestaju. Mi smo, slobodno to možemo reći, imali nešto više sreće i imali čast učiti od dr. Karlovića, upijati svaki djelić njegovog znanja stečenog ogromnim iskustvom što smatramo vrlo značajnim u daljnjem uređivanju

časopisa u ovim teškim, tranzicijskim godinama za veterinarsku struku u cijelini pa samim time i za veterinarsku publicističku djelatnost. Vremena se mijenjaju, svako nosi posebne izazove, potrebe i ciljeve. Pred nama je vrijeme velikih izazova, teških, možda i presudnih godina za sve nas, ne misleći pritom samo na veterinarsku publicističku djelatnost nego općenito na veterinarsku struku i društvo općenito, jer samo potragom za najnovijim spoznajama možemo savladati nadolazeće prepreke.

Poštovani dr. sc. Karlović, danas kao urednici časopisa „Veterinarska stanica“ želimo naglasiti da ste nas sve jako zadužili i ostavili nam u nasljeđe, po mnogočemu izniman časopis, a na nama je da standarde koje ste upravo vi postavili, pokušamo održati i nadamo se u skladu s novim vremenima i izazovima koje ona nose, pokušamo i unaprijediti. Neizmjereno vam hvala za priliku koju ste nam pružili omogućivši da časopis „Veterinarska stanica“ kontinuirano napreduje i postaje svakim danom sve bolji i kvalitetniji, a vaša zasluga u tome je nemjerljiva. Hvala vam na idejama te usmjeravanjima nas sadašnjih urednika načinu razmišljanja i rješavanja naizgled teško rješivih, iznimno kompleksnih problema i izazova upravo zahvaljujući vašem znanju stečenom, bogatim stručnim, ali i životinim iskustvom.

Znali smo da je već duže vrijeme doktor Karlović ozbiljno

narušena zdravlja. No, on je cijelo vrijeme pa čak i pri našim zadnjim telefonskim razgovorima, bio vedar i optimističan, spreman na suradnju, pun entuzijazma i pozitivne energije. Dr. sc. Maks Karlović bio je vrstan stručnjak i znanstvenik o čemu svjedoči njegov bogat i sadržajan životopis iz kojeg bismo izdvojili samo najznačajnije dijelove.

Dr. sc. Maks Karlović, umirovljeni znanstveni savjetnik, rođen je 12. prosinca 1924. u Zagrebu. Diplomirao je na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (31. 07. 1952.). U Hrvatskom veterinarskom institutu je radio od 01. 10. 1953. do 31. 12. 1990. Doktorirao je na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (27. 11. 1964.). (Naslov disertacije: Senzibilizacija organizma virusom svinjske kuge). Od 1953. bio je asistent na Odjelu za patologiju Instituta za veterinarsko–medicinska istraživanja, a od 1977. i voditelj Odjela za patologiju Veterinarskog instituta Zagreb. Glavno je područje njegova interesa bilo patologija domaćih i divljih životinja. Istraživao je vibriozu goveda, streptokozu japanskih gusaka, šugu papigica, leptospirozu divljih svinja i zečeva, cisticerkozu srna, pisao je o kandidoznom ruminitisu teladi, aktinobacilozi i pleuropneumoniji svinja, profilaksi svinjske kuge i salmoneloze u prasadi, trovanju domaćih životinja, bjesnoći i drugim bolestima. Godine 1967. izabran je

u znanstveno zvanje znanstvenog suradnika, 1973. u višeg znanstvenog suradnika i 1980. u znanstvenog savjetnika. Objavio je više od 300 znanstvenih, stručnih i popularnih radova. Dugo godina bio je urednik znanstveno - stručnog veterinarskog časopisa „Veterinarska stanica.“ Bavio se poviješću veterinarstva. Sve važne dokumente i slike o osnutku i povijesti Instituta sabrao je i sačuvao. Zbog njegovih zasluga Znanstveno vijeće Hrvatskog veterinarskog instituta 2008. godine dodijelilo mu je zvanje Zaslužnog znanstvenika. Cijeli svoj radni vijek od 1953. do umirovljenja 1990. proveo je u Hrvatskom veterinarskom institutu Zagreb.

Ponosni smo i sretni što smo imali čast raditi s tako vrijednim čovjekom kao što je to bio dr. sc. Maks Karlović. Neizmjerljivo vam hvala za sve trenutke koje ste nam darovali svojim postojanjem i nemjerljivom količinom znanja i iskustva. Dr. sc. Karlović ostat ćete zauvijek upisani u povijest časopisa „Veterinarska stanica“ i Hrvatskog veterinarskog instituta.

Počivao u miru i neka vam bude laka hrvatska zemlja koju ste puno voljeli.

Željko CVETNIĆ i
Marko SAMARDŽIJA





Zaštita na
pravi način!

FYPRYST®

fipronil

Otopina za nakapavanje na kožu

Zaštita od



Prije primjene pažljivo pročitajte uputu o VMP.

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

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



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

Nužnost veterinarske inspekcije, jer jučer dioksin, danas aflatoksin i konjsko meso, a što nas čeka sutra?

Petar Džaja



Odgovor na gore navedeno pitanje ne zna nitko. Hoće li se neki problemi pojaviti ili neće, a svaki razuman i dobronamjeran čovjek na osnovu dosadašnjih iskustava mogao bi doći do zaključka, da bi ako se nešto ne promijeni moglo biti novih problema vezanih za hranu i hranu za životinje. Koji bi to mogli biti problemi teško je reći, ali bi isto tako svaki razuman i dobronamjeran čovjek trebao doći do zaključka pa reći „na greškama se uči“, valjda smo nešto naučili i problema više ne bi trebalo biti.

Namjera ovog rada je upozoriti da je u cijeloj priči zatajio sustav kontrole i nadzora hrane i hrane za životinje za koji veterinarska inspekcija nije ni najmanje odgovorna, nego upravo suprotno. Veterinarska je inspekcija obavljala svoj posao poštujući zakonodavstvo koje određuje ovoj inspekciji dužnosti i obveze.

Uspoređujući dužnosti i obveze veterinarske inspekcije nekada i danas treba svakako reći da je u prošlim vremenima obavljala više poslova nego što danas radi, ili je te poslove u nekim slučajevima obavljala na drugi način. Veterinarska je inspekcija odgovarala za zdravstvenu ispravnost nekog proizvoda. Danas kada je odgovornost za zdravstvenu ispravnost prešla na subjekta proizvodnje (proizvođača-vlasnika) to

nije slučaj. Veterinarska inspekcija je pregledavala, kontrolirala i u potpunosti nadzirala svaki objekt u kojemu je rađen određeni proces proizvodnje. Danas je u objektima, u prostorima za klanje životinja, a u male prerađivačke objekte veterinarski inspektori dolaze nekoliko sati tjedno, mjesečno pa i više. Nije im obveza dolaziti u vrijeme proizvodnje, oni ju nadgledaju *post festum*, dakle kad se već nešto moglo dogoditi. Novi EU i naši propisi (usklađeni s EU zakonodavstvom) dopuštaju subjektu proizvodnje provođenje samokontrole, a provođenjem analize rizika ne proizlazi obveza izvještavanja nadležnog tijela o nekom nedostatku te obvezatno povlačenje tih proizvoda iz prodaje osim ako se radi o higijenski neispravnom proizvodu koji je štetan za ljude, a otišao je „van“. Službene veterinarske kontrole ovim su svedene na monitoring (povremene) kontrole što se pokazuje da nije dobro, da svako malo izbije neki problem. Temeljno je obrazloženje provođenja „monitoring“ službenih kontrola smanjenje troškova proizvodnje. Mislim da ništa na ovom svijetu nije skuplje od ljudskog zdravlja i života. Postavlja se pitanje kako to da su rađene samokontrole, a da naš netko drugi obavještava da naš proizvod nije zdravstveno ispravan. To potvrđuje da se samokontrole moraju provoditi i da ih je

Dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb

dobro provoditi zbog sebe i da one ni u kom slučaju ne bi trebale svesti službene kontrole na povremene. Službeni uzorak uzima službena nezainteresirana osoba i šalje u ovlaštenu laboratorij koji ima akreditiranu metodu za pretragu koju treba obaviti. Njen je rezultat vjerodostojan. Sigurno je da bi ove stalne službene kontrole povisile cijenu proizvodnje i krajnju cijenu proizvoda, ali bi država, ako ima interes proizvoditi kvalitetnu i zdravstveno ispravnu hranu, trebala cijenu navedenih službenih kontrola svesti na minimalnu vrijednost pa makar to bilo i sufinanciranjem dijela cijene navedenih pretraga ili potpunim financiranjem. Zbog svega navedenoga smatram da bi službene kontrole trebale biti obvezatne i stalne u svim fazama proizvodnje i prometa. Stalno pojavljivanje problema u svezi maksimalno dopuštenih količina nekih tvari upozorava da nešto nije dobro i da nešto treba mijenjati, a to je nadzor nad proizvodnjom od službenih tijela.

Sve se spomenuto odnosi na dopuštenu maksimalnu količinu nekih tvari. No, što je s onim tvarima koje isto tako mogu biti štetne, a njihova maksimalna dopuštena količina nije propisana. Ako maksimalna dopuštena količina nije propisana znači da ih može biti u neograničenoj količini. Samo jedan primjer: mnogi su radovi napisani o nalazu i količini pojedinih biogenih amina u namirnicama animalnog podrijetla

(sir, mlijeko, mesne prerađevine i dr.), ali nije propisana njihova maksimalna dopuštena količina osim histamina u ribi. Poznavajući toksičnost histamina, tiramina i drugih autor je ovog članka prije 10 i više godina upozoravao na ovaj problem, a danas smatram da ga treba obnoviti, jer postajemo veliko tržište kada će nas preplaviti mnogi proizvodi veoma dvojbene zdravstvene ispravnosti.

Nekada je veterinarska inspekcija nadzirala utovar i istovar proizvoda životinjskog podrijetla, a danas ne nadzire. Dakle, postojala je službena osoba odgovorna za pošiljke, a danas kupac i prodavatelj sami ispunjavaju potrebne dokumente. Mislim da bez službene osobe sljedivost prestaje ili je upitna.

Iz svega navedenoga nije teško zaključiti da je veterinarska inspekcija posao obavljala prema pravilima struke i zakonskim propisima koji reguliraju našu struku provodeći monitoring kontrole.

Zlatno je pravilo da neki problem mogu riješiti samo strane koje su na bilo koji način uključene u njegovo rješavanje. Za rješenje ovog problema trebaju sjesti proizvođači, otkupljivači i resorno ministarstvo te naći najbrže, najjeftinije, najefikasnije i najbezbolnije rješenje za sve strane, pri čemu nitko ne može imati privilegirani položaj koji bi išao na štetu potrošača i veterinarske djelatnosti.

Provedba nacionalnog programa iskorjenjivanja enzootske leukoze goveda (ELG) u Republici Hrvatskoj u 2011. godini

Besi Roić, T. Kiš, Andreja Jungić, B. Bačanek, Marica Lolić, A. Tomac i D. Lukačević



Uvod

Unatoč primjeni strogih mjera kontrole, infekcija virusom enzootske leukoze goveda (ELG) i dalje se javlja i rasprostranjena je na većini kontinenata (Kurtinaitiene i sur., 2008.). Bolest je značajna po tome što prouzroči velike gospodarske gubitke u govedarstvu. Nastale se štete očituju u smanjenoj proizvodnji mlijeka (i do 50%), odbacivanju trupova s tumoroznim tvorbama na liniji klanja, čestog steriliteta ili otežanog koncipiranja te u troškovima nastalim izlučivanjem pozitivnih goveda u sklopu provedbe mjera suzbijanja i iskorjenjivanja bolesti (Woo i sur., 1989., Da i sur., 1993.). To su gubici koje je teško ili nemoguće primijetiti na dnevnoj bazi, ali znatno utječu na proizvodnost stada u cjelini. Za ilustraciju šteta zbog pojave ELG može poslužiti primjer SAD-a gdje su u 2003. godini zabilježeni gubici u gospodarskoj proizvodnji mliječnih goveda od 525 milijuna dolara (Rhodes i sur., 2003.), a prema istraživanjima

National Animal Health Monitoring (NAHMS) provedenim 2007. godine seroprevalencija u mliječnim goveda iznosila je 83,9% (NAHMS-USDA, 2007.). Available online: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_BLV.pdf (accessed on 27 April 2011).

Enzootska leukoza goveda (ELG) je kronična virusna bolest s vrlo dugom inkubacijom koja može trajati od najmanje 200 dana pa sve do 7 godina, a mogu se zaraziti goveda svih dobrih kategorija (Cvetnić, 1997.). Pri razmatranju enzootske leukoze goveda treba razlikovati životinje koje su nositelj virusa i ne pokazuju kliničke znakove bolesti (kliconoše) od životinja u kojih dolazi do pojave tumora (limfosarkoma) induciranih virusom ELG. Bolest je u klinički uočljivom obliku vrlo rijetka i to u svega 1-5% zaraženih životinja u dobi od 5 do 8 godina, a 30% zaraženih grla preko 3 godine starosti razvije

Dr. sc. Besi ROIĆ, dr. med. vet., viša znanstvena suradnica, Andreja JUNGIC, dr. med. vet., stručna suradnica, mr. sc. Branko BAČANEK, dr. med. vet., dr. sc. Marica LOLIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Antun TOMAC, dr. med. vet., Damir LUKAČEVIĆ, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut; Tomislav KIŠ, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Uprava veterinarstva

perzistentnu limfocitozu (Ferrer, 1979.). Uzročnik bolesti je virus koji pripada porodici *Retroviridae*, rod *Deltaretrovirus*, a strukturalno je srodan humanom T-staničnom limfotropnom virusu tip 1 i 2 (Rodriguez i sur., 2011.). Izvor zaraze predstavljaju zaražene životinje gotovo uvijek bez vidljivih znakova bolesti (latentno inficirane) te se goveda najčešće zaraze inficiranim limfocitima, a s obzirom na prisustvo limfocita u krvi i mlijeku zaraženih životinja oni predstavljaju glavni izvor zaraze (Ferrer i Piper, 1978.). Za prenošenje infekcije potrebno je najmanje 2 500 limfocita, a budući da broj limfocita u inficiranom organizmu naraste i do 100 000 u mm³ znači da je dovoljna i najmanja količina krvi za prijenos infekcije (0,005 µL) (Miller i Van der Maaten, 1980.). ELG nije javnozdravstveni problem, u smislu opasnosti po zdravlje ljudi, a mlijeko životinja oboljelih od ELG također ni na koji način nije opasno za ljude (Johnson i Kaneene, 1992.). ELG se ne liječi i u pravilu je svako pa i nespecifično liječenje zabranjeno. Jedini način suzbijanja ove bolesti jest rano otkrivanje zaraženih životinja i njihovo brzo uklanjanje iz uzgoja. Programi suzbijanja bolesti temelje se na sustavnom serološkom pretraživanju stada na prisutnost protutijela za virus ELG i uklanjanju svih pozitivnih grla iz uzgoja.

Sero-epidemiološka istraživanja pokazuju da je infekcija virusom ELG proširena na svim kontinentima. Obzirom na znatne ekonomske posljedice, ELG je već u šezdesetim godinama prošlog stoljeća prepoznata kao bolest koju je, uz brucelozu i tuberkulozu goveda, izuzetno važno kontrolirati u međunarodnom prometu živih goveda. Danska je bila prva zemlja koja je sustavnim neškodljivim uklanjanjem pozitivnih životinja iskorijenila enzoosku leukozu iz svojih uzgoja (Bendixen, 1967., Gillet i sur., 2007.), a programi iskorjenjivanja

ELG su dosad uspješno provedeni u većini zemalja EU (Knapen i sur., 1993., Nuotio i sur., 2003.). Međutim, situacija je potpuno drugačija u nekim zemljama istočne Europe (kao što su Bugarska, Hrvatska, Estonija, Rumunjska itd.) u kojima je bolest neprestano prisutna (OIE World Animal Health Information Database (WAHID Interface), Version 1.4. Available online: http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_detail (accessed on 27 April 2011)).

Enzooska leukoza je bolest koja sukladno nacionalnom zakonodavstvu Republike Hrvatske te obvezama proizašlim iz članstva u OIE podliježe obveznoj prijavi. Također, sva rasplodna goveda starija od 12 mjeseci obvezno se pretražuju na ELG unutar 30 dana prije stavljanja u promet. Ministarstvo poljoprivrede propisalo je početkom 2011. godine provedbu naređenih mjera s ciljem utvrđivanja statusa infekcije u uzgojima goveda, a u svrhu ostvarivanja statusa stada goveda službeno slobodnih od bruceloze i ELG na svim stadima rasplodnih goveda u Republici Hrvatskoj. Pravnu osnovu za provedbu Programa činili su: Zakon o veterinarstvu („Narodne novine“, broj 41/07., 55/11.), Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2011. godini („Narodne novine“, broj 1/11.), Pravilnik o veterinarskim uvjetima za stavljanje u promet goveda i svinja („Narodne novine“, broj 154/08.) te Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje enzooske leukoze goveda („Narodne novine“, broj 30/06.). Akcijom je sustavno obuhvaćena cjelokupna populacija goveda starijih od 24 mjeseca te je na taj način izdvojen maksimalni broj stada koja su od ranije zaražena, no bez vidljivih kliničkih znakova bolesti.

Cilj je našeg rada prikazati rezultate pretraživanja krvi goveda na prisutnost protutijela za virus enzooske leukoze

goveda provedenih u 2011. godini te rasprostranjenost enzootske leukoze u uzgojima goveda u Republici Hrvatskoj. Podatci prikupljeni u okviru ove akcije bit će korišteni u svrhu planiranja daljnjih aktivnosti u odnosu na pretraživanje populacije goveda te potvrđivanja statusa stada goveda službeno slobodnih od ELG, s krajnjim ciljem ostvarivanja statusa Republike Hrvatske kao zemlje službeno slobodne od ELG.

Materijal i metode

Uzorci krvnih seruma i mlijeka goveda

Temeljem Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2011. godini akcijom je sustavno obuhvaćena cjelokupna populacija goveda starijih od 24 mjeseca. U sklopu provedbe mjera, a prema stanju u registru goveda, predviđeno je testiranje na ukupno oko 246 000 goveda na području cijele Republike Hrvatske. Provedba programa po pitanju ELG započela je u rujnu 2011. godine uzimanjem skupnih uzoraka mlijeka kod stada s 10 i više mliječnih krava. Akcija uzimanja individualnih uzoraka krvi goveda u stadima rasplodnih goveda s manje od 10 mliječnih krava započela je 01.10.2011. godine i najvećim dijelom je dovršena do konca 2011. godine s time da su sva laboratorijska pretraživanja dostavljenih

uzoraka dovršena zaključno s 31.01.2012. godine.

Akciju su na terenu provele ovlaštene veterinarske organizacije, a u predmetnom razdoblju skupni uzorci mlijeka i krvi goveda dostavljani su u Hrvatski veterinarski institut Zagreb (HVI), Laboratorij za serološku dijagnostiku virusnih bolesti te u područne veterinarske zavode u Vinkovcima, Križevcima, Rijeci i Splitu. Svi su dobiveni pozitivni uzorci krvnih seruma u podružnicama bili dostavljani u HVI Zagreb na dodatno testiranje primjenom tzv. potvrdnog testa i nakon toga se donosila pravovaljana dijagnoza. Tijekom tog razdoblja pretraženo je ukupno 6 656 skupnih uzoraka mlijeka (kojima su obuhvaćena stada s ukupno nešto više od 122 000 rasplodnih goveda) i 116 586 krvi goveda (tabela 1.).

Akcijom je bilo obuhvaćeno ukupno 35 214 gospodarstava, odnosno gotovo sva gospodarstva na području RH koja drže goveda, osim onih koji se bave isključivo tovom. Goveda namijenjena tovu nisu uzorkovana.

Uzorci krvi dostavljani su u epruvetama bez antikoagulansa. Krvni serumi su potom centrifugirani u laboratorijskoj centrifugi 10 min. na 1900 rpm kako bi se odvojio serum potreban za pretragu. Dobiveni serumi pohranjeni su do završetka pretraga u hladnjak na +4 °C

Tabela 1. Broj pretraženih skupnih uzoraka mlijeka i uzoraka krvi goveda na ELG u razdoblju od 01.09.2011.-31.01.2012. godine

HVI Zagreb-Laboratoriji	Broj pretraženih skupnih uzoraka mlijeka	Broj pretraženih uzoraka krvi
Laboratorij za serološku dijagnostiku virusnih bolesti	5 144	36 072
Vet. zavod Vinkovci	0	28 505
Vet. zavod Križevci	1 512	30 648
Vet. zavod Rijeka	0	13 907
Vet. zavod Split	0	7 454
Ukupno	6 656	116 586

ili kroz dulje razdoblje u zamrzivač na -20 °C. Mlijeko je uzeto izmuzivanjem iz jedne četvrti i to prije redovite mužnje ili kao skupni uzorak od više krava. Uzorci mlijeka su centrifugirani pri 2000 rpm tijekom 15 minuta da bi se odvojio lipidni sloj ispod kojeg se pipetira uzorak za analizu.

Serološke metode

U serološkoj smo dijagnostici ove bolesti koristili metode propisane od strane Svjetske organizacije za zdravlje životinja OIE (OIE Manual, 2008.). U Laboratoriju za serološku dijagnostiku virusnih bolesti primijenjene metode su 2011. godine pozitivno ocijenjene od strane Hrvatske akreditacijske agencije (HAA) te akreditirane prema Normi HRN ISO/IEC 17025.

Svi su serumski pretraženi na prisustvo protutijela za virus enzootske leukoze goveda (VELG) najprije imunoenzimskim testom probira (ELISA Svanovir BLV gp51- Ab – screening format, Svanova, Biotech Ab, Uppsala, Švedska), a ukoliko je serum bio pozitivan, pretražen je i potvrdnim imunoenzimskim testom (ELISA Svanovir BLV gp51-Ab, confirmation format, Svanova biotech AB, Uppsala,

Švedska). To su komercijalno dostupni neizravni imunoenzimski kompleti koji omogućavaju brzu, osjetljivu i specifičnu metodu dokazivanja protutijela za glikoprotein gp51 virusa enzootske leukoze goveda u serumu i/ili mlijeku goveda. Optička gustoća uzoraka mjeri se spektrofotometrom primjenom filtra od 450 nm, a dobiveni se rezultati prosuđuju prema uputama proizvođača. Rezultati su očitavani na spektrofotometru „Tecan Sunrise Basic“, Austrija.

Rezultati

Od 01. rujna 2011. godine do 31. siječnja 2012. godine u sklopu provedbe mjera predviđenih u svrhu iskorjenjivanja bolesti ELG pretraženo je ukupno 6 656 skupnih uzoraka mlijeka i 116 586 uzoraka krvi goveda s područja čitave Hrvatske. Protutijela za VELG utvrđena su u 89 skupnih uzoraka mlijeka (1,33%) i u 1 200 uzoraka krvnih seruma goveda (1,02%) (tabela 2.).

Pozitivni rezultati dobiveni na skupnim uzorcima mlijeka potvrđeni su na ukupno 71 gospodarstvu. Na temelju tih rezultata postavljena je sumnja na ELG, na osnovu koje su uzeti uzorci krvi svih krava čije je mlijeko bilo sadržano u

Tabela 2. Rezultati pretraga skupnih uzoraka mlijeka u razdoblju od 01.09. do 30.09.2011. godine i krvi goveda u razdoblju od 01.10.2011. do 31.01.2012. godine na prisutnost protutijela za VELG po laboratorijima

HVI Zagreb-Laboratoriji	Broj pretraženih skupnih uzoraka mlijeka	Broj pretraženih uzoraka krvi	Broj pozitivnih uzoraka krvi	Broj pozitivnih uzoraka mlijeka
Laboratorij za serološku dijagnostiku virusnih bolesti	5 144	36 072	389	63
Vet. zavod Vinkovci	0	28 505	693	0
Vet. zavod Križevci	1 512	30 648	52	26
Vet. zavod Rijeka	0	13 907	9	0
Vet. zavod Split	0	7 454	57	0
Ukupno	6 656	116 586	1 200	89

Tabela 3. Rezultati pretraga uzoraka krvi goveda na VELG po županijama u razdoblju od 01.10.2011. do 31.01.2012. godine

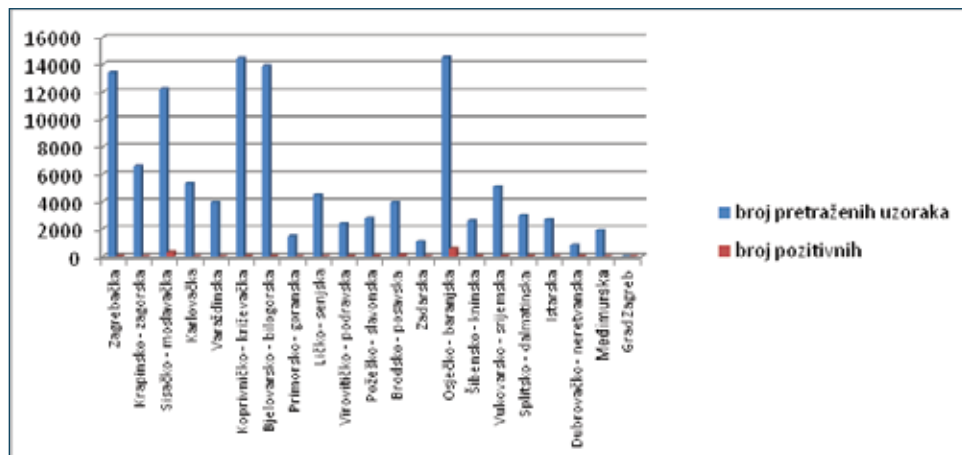
	Županija	Broj pretraženih uzoraka	Broj pozitivnih goveda	Broj pozitivnih gospodarstava
1.	Zagrebačka	13 432	14	8
2.	Krapinsko - zagorska	6 572	3	2
3.	Sisačko - moslavačka	12 231	322	43
4.	Karlovačka	5 328	1	-
5.	Varaždinska	3 974	4	2
6.	Koprivničko - križevačka	14 450	17	6
7.	Bjelovarsko - bilogorska	13 905	29	8
8.	Primorsko - goranska	1 465	1	1
9.	Ličko - senjska	4 494	1	1
10.	Virovitičko - podravska	2 370	29	19
11.	Požeško - slavonska	2 775	17	11
12.	Brodsko - posavska	3 963	80	24
13.	Zadarska	1 077	5	2
14.	Osječko - baranjska	14 524	584	166
15.	Šibensko - kninska	2 586	12	5
16.	Vukovarsko - srijemska	5 090	31	22
17.	Splitsko - dalmatinska	2 966	11	9
18.	Istarska	2 667	7	3
19.	Dubrovačko - neretvanska	825	32	4
20.	Međimurska	1 892	0	-
21.	Grad Zagreb	0	0	-
	UKUPNO	116 586	1 200	336

pozitivnom skupnom uzorku, radi daljnje serološke pretrage te točnog utvrđivanja svakog pozitivnog goveda u stadu. U slučaju stada s manje od 10 mliječnih krava, sva su goveda starija od 24 mjeseca odmah pretraživana individualno.

Najveći broj životinja pretražen je u Osječko-baranjskoj županiji 14 524, zatim u Koprivničko-križevačkoj 14 450, 13 905 pretraženih uzoraka seruma dostavljeno je iz Bjelovarsko-bilogorske županije, u Zagrebačkoj županiji je pretraženo 13 432 uzoraka, u Sisačko-moslavačkoj

pretraženo je 12 231 uzoraka, a u ostalim županijama pretražen je nešto manji broj krvnih seruma (tabela 3.).

U Osječko-baranjskoj županiji utvrđen je najveći broj pozitivnih uzoraka i to u u 584 seruma (4,02%). Slijedi Sisačko-moslavačka županija s 322 pozitivna uzorka seruma (2,06%), Brodsko-posavska županija s 80 pozitivnih uzoraka (2,01%), Dubrovačko-neretvanska županija s 32 pozitivna uzorka (3,8%), ali je pretražen i najmanji broj uzoraka seruma, svega 825. U



Grafikon 1. Prikaz rezultata pretraživanja krvi goveda na VELG po županijama u razdoblju od 01.10.2011. do 31.01.2012. godine

ostalim županijama utvrđen je manji broj pozitivnih životinja, dok u Međimurskoj županiji nije dokazan niti jedan pozitivan uzorak seruma na prisutnost protutijela za VELG (grafikon 1.).

Iz rezultata pretraživanja vidljivo je da je tijekom provedene akcije ukupan broj utvrđenih pozitivnih životinja pretraženih individualno na razini od 1,02%.

Rasprava

Infekcija virusom ELG bez vidljivih kliničkih znakova leukoze tj. proliferacije materijala koji proizvodi leukocite i danas predstavlja važan gospodarski problem u trgovini stokom, jer mnoge zemlje traže negativan serološki nalaz za uvoznu stoku. Dokaz specifičnih protutijela za glikoprotein gp51 i unutarnji protein p24 virusa ELG u serumu životinje pouzdan je znak da je životinja latentno inficirana (Van der Maaten i Miller, 1990.), a stvorena protutijela za VELG perzistiraju doživotno u organizmu inficirane životinje. Na toj činjenici temelje se programi suzbijanja bolesti koji obuhvaćaju sustavna serološka pretraživanja stada na prisutnost

protutijela za virus ELG i neškodljivo uklanjanje svih pozitivnih grla prije izbijanja kliničkih znakova bolesti (Lojkić i sur., 2000.).

Enzootska leukoza je danas gotovo potpuno iskorijenjena u državama članicama EU zahvaljujući višegodišnjoj provedbi programa suzbijanja i iskorjenjivanja ove bolesti (Forschner i sur., 1988., Knapen i sur., 1993.). Statusi pojedinih europskih država u odnosu na ELG prikazani su u tabeli 4.

Program suzbijanja ELG u RH provodi se od 1985. godine (Lojkić, 2001.), a putem propisanih mjera obvezne pretrage individualnih uzoraka krvi ili skupnih uzoraka mlijeka na određenim gospodarstvima kao i prije svakog stavljanja rasplodnih goveda u promet. Broj i sastav obuhvaćenih gospodarstava, kao i dob životinja koje su obvezno pretraživane prije stavljanja u promet u određenoj je mjeri varirala, ovisno o godišnjoj Naredbi za svaku pojedinu godinu. No, u pravilu su redovito bila obuhvaćena veća gospodarstva, a pretragom prije stavljanja u promet sva rasplodna goveda starija od 12 mjeseci. Bolest je poznata i kao „bolest velikih farmi“ koje provode stalnu

Tabela 4. Status EU zemalja u odnosu na ELG u 2012. godini

DRŽAVA	STATUS	DRŽAVA	STATUS
Austrija	službeno sl. država	Španjolska	službeno sl. država
Luksemburg	službeno sl. država	Cipar	službeno sl. država
Belgija	službeno sl. država	Latvija	službeno sl. država
Nizozemska	službeno sl. država	Litva	službeno sl. država
Češka	službeno sl. država	Portugal	službeno sl. regije
Ujedi. Kraljevstvo	službeno sl. država	Poljska	službeno sl. regije
Danska	službeno sl. država	Italija	službeno sl. regije
Slovačka	službeno sl. država	Rumunjska	službeno sl. stada
Finska	službeno sl. država	Bugarska	službeno sl. stada
Slovenija	službeno sl. država	Mađarska	službeno sl. stada
Francuska	službeno sl. država	Grčka	službeno sl. stada
Švedska	službeno sl. država	Malta	službeno sl. stada
Njemačka	službeno sl. država	Estonija	službeno sl. stada
Irska	službeno sl. država		

kontrolu bolesti od strane organiziranih veterinarskih službi. Na to ukazuje i podatak da je tijekom redovite kontrole bolesti i napravljenih seroloških pretraga u HVI-u Zagreb u razdoblju od lipnja 2006. do 2009. godine pretraženo 418 045 uzoraka krvi i mlijeka goveda, a protutijela za virus ELG utvrđena su u 2,5% grla koja su potjecala s mliječnih farmi te u 0,08% životinja podrijetlom iz obiteljskih gospodarstava dok nisu dokazana ni u jedne životinje u karantenskom smještaju (Ročić i sur., 2010.).

Obzirom na skori pristup Republike Hrvatske u EU i preuzetih obveza, ali i želje za ostvarivanjem višeg zdravstvenog statusa čitave zemlje, Uprava veterinarstva Ministarstva poljoprivrede započela je u 2011. godini s provođenjem nacionalnog programa u cilju ostvarivanja statusa stada službeno slobodnih od enzootske leukoze goveda. Provedba je programa započela uzimanjem skupnih uzoraka mlijeka kod stada s 10 i više mliječnih krava te je u razdoblju od 01.09. do 30.09. 2011. godine pretraženo 6 656 skupnih uzoraka mlijeka.

U Laboratoriju za serološku dijagnostiku virusnih bolesti HVI-a Zagreb pretraženo je 5 144 uzorka, a protutijela za virus ELG dokazana su u 63 skupna uzorka mlijeka, dok je u Veterinarskom zavodu Križevci pretraženo 1 512 uzoraka od kojih je pozitivne reakcije pokazalo 26 skupnih uzoraka mlijeka. Ostali područni zavodi nisu bili uključeni u pretraživanje mliječnih uzoraka. Akcija uzimanja krvi goveda započela je 01.10.2011. godine, a aplikacija je zatvorena 31.01.2012. Temeljem provedenih seroloških pretraga najveći broj pozitivnih životinja utvrđen je u Veterinarskom zavodu Vinkovci gdje je pozitivna reakcija na prisutnost protutijela za VELG dokazana u 693 uzorka seruma, a slijedi Laboratorij za serološku dijagnostiku virusnih bolesti (HVI, Zagreb) u kojem su u 389 uzorka seruma dokazana protutijela za virus ELG. U Veterinarskim zavodima Križevci, Split i Rijeka utvrđen je manji broj pozitivnih uzoraka. Najveći je broj pozitivnih uzoraka utvrđen u Osječko-baranjskoj županiji u 584 uzorka seruma (4,02%), potom u Sisačko-moslavačkoj s

322 pozitivna uzorka (2,06%) te u Brodsko-posavskoj županiji s 80 pozitivnih uzoraka (2,01%). U ostalim županijama utvrđen je manji broj pozitivnih životinja, a zanimljivo je da u Međimurskoj županiji nije dokazan niti jedan slučaj bolesti.

Iako navedeni podatci ukazuju da je udio pozitivnih životinja u akciji provedenoj 2011. godine iznosio svega 1,02% mjere u odnosu na enzootsku leukozu goveda (ELG) nisu nastavljene u 2012. godini. Razlozi su za obustavu programa dijelom bili financijske prirode, ali i dijelom u nerazumjevanju krajnjeg cilja provedbe naređenih mjera od dijela javnosti. Kako je u stadima s deset i više mliječnih krava provedeno samo uzimanje skupnih uzoraka mlijeka, ali ne i uzimanje individualnih uzoraka krvi (predviđenih za proljeće 2012.), mjere provedene u 2011. godini nisu mogle osigurati detekciju svih ELG pozitivnih gospodarstava. Na taj način, i u 2012. godini, uz daljnju provedbu mjera na pozitivnim stadima, javljaju se i novi ELG pozitivni slučajevi, najčešće potvrđeni prilikom obvezne pretrage krvi prije stavljanja goveda u promet. Tako je u razdoblju od 01.02. do 31.12. 2012. godine od ukupno 23 308 pretraženih uzoraka krvi zabilježeno ukupno 668 pozitivnih goveda u 104 stada. Od tog broja 437 pozitivnih životinja utvrđeno je prilikom provedbe daljnjih mjera u pozitivnim stadima iz prethodne godine. No, posebno zabrinjava podatak da je ELG potvrđena i kod 231 goveda u čak 50 novih stada, koja mahom nisu bila obuhvaćena uzimanjem uzoraka krvi u 2011. godini, odnosno da gotovo 50% pozitivnih stada nije detektirano tijekom akcije u 2011. godini. Obzirom da program nije proveden sukladno planu-sva stada testirana putem skupnih uzoraka mlijeka trebala su biti testirana i individualno početkom 2012. godine.

Obustavom programa nisu ostvareni uvjeti za dodjelu statusa te u Hrvatskoj

trenutno nema stada goveda službeno slobodnih od ELG. Imajući u vidu tešku ekonomsku situaciju, ali i dugoročne ciljeve po pitanju iskorjenjivanja bolesti i mogućnosti ostvarivanja prometa živih goveda u zemlje članice EU, a prije svega rezultate pretraga u 2012. godini, podatci ukazuju da je program eradikacije ove bolesti u RH potrebno nastaviti u 2013. godini u obliku sustavnog pretraživanja goveda putem individualnih uzoraka krvi.

Zaključno možemo ustvrditi da je provedba programa iskorjenjivanja ELG u 2011. godini rezultirala izrazito niskim, očekivanim postotkom pozitivnih životinja te da je obustava programa u 2012. godini u zdravstvenom smislu korak unatrag u iskorjenjivanju bolesti. Nastavak, odnosno ponovni početak sustavne provedbe programa u 2013. godini, obzirom na nizak postotak zaraženosti populacije, od presudne je važnosti za kontrolu pojavnosti zaraze i sprječavanja daljnjeg širenja bolesti, s konačnim ciljem iskorjenjivanja ELG u RH te ostvarivanjem uvjeta za status zemlje slobodne od ELG koji je dosad ostvarila velika većina zemalja članica EU.

Sažetak

Ministarstvo poljoprivrede propisalo je početkom 2011. godine provedbu naređenih mjera s ciljem utvrđivanja statusa infekcije u uzgojima goveda, a u svrhu ostvarivanja statusa stada goveda službeno slobodnih od bruceloze i ELG na svim stadima rasplodnih goveda u Republici Hrvatskoj. Akcijom je sustavno obuhvaćena cjelokupna populacija goveda starijih od 24 mjeseca te je na taj način izdvojen maksimalni broj stada koja su od ranije zaražena, no bez vidljivih kliničkih znakova bolesti. Provedba programa po pitanju ELG započela je u rujnu 2011. godine uzimanjem skupnih uzoraka mlijeka kod stada s 10 i više mliječnih krava, a akcija uzimanja individualnih uzoraka krvi goveda u stadima rasplodnih goveda s manje od 10 mliječnih krava započela je 01. 10. 2011. godine s time da su sva laboratorijska pretraživanja dostavljenih

uzoraka dovršena zaključno s 31. 01. 2012. godine. Tijekom tog razdoblja pretraženo je ukupno 6 656 skupnih uzoraka mlijeka i 116 586 uzoraka krvi goveda s područja čitave Hrvatske. Protutijela za VELG utvrđena su u 89 skupnih uzoraka mlijeka (1,33%) na ukupno 71 gospodarstvu i u 1 200 uzoraka krvnih seruma goveda (1,02%). Na 336 gospodarstava obustavom programa nisu ostvareni uvjeti za dodjelu statusa te u Hrvatskoj trenutno nema stada goveda službeno slobodnih od ELG. Nastavak sustavne provedbe programa u 2013. godini, obzirom na nizak postotak zaraženosti populacije, od presudne je važnosti za kontrolu pojavnosti zaraze i sprječavanja daljnjeg širenja bolesti, s konačnim ciljem iskorjenjivanja ELG u RH te ostvarivanjem uvjeta za status zemlje slobodne od ELG koji je dosad ostvarila velika većina zemalja članica EU.

Literatura

- BENDIXEN, H. J. (1967): Epizootiology, diagnosis and control of bovine leukosis. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 68, 73-99.
- DA, Y., R. D. SHANKS, J. A. STEWART and H. A. LEWIN (1993): Milk and fat yields decline in bovine leukemia virus-infected Holstein cattle with persistent lymphocytosis. *Proc. Natl. Sci. USA, Agriculture Science* 90, 6538-6541.
- CVETNIĆ, S. (1997): Virusne bolesti životinja. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti i Školska knjiga Zagreb.
- FERER, J. F. and C. E. PIPER (1978): An evaluation of the role of milk in the natural transmission of BLV. *Ann. Rech. Vet.* 9, 803-807.
- FERRE, J. F. (1979): Bovine leucosis: natural transmission and principles of control. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 175, 1281-1286.
- FORSCHNER, E., I. BUNGER and H. P. KRAUSE (1988): Surveillance investigations of brucellosis-, leukosis- and BHV-free cattle herds. ELISA-based bulk milk studies compared to single animal sample studies with traditional test systems. Safety and cost. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 95, 214-218.
- GILLET, N., A. FLORINS, M. BOXUS, C. BURTEAU, A. NIGRO, F. VANDERMEERS, H. BALON, A.B. BOUZAR, J. DEFOICHE, A. BURNY, M. REICHERT, R. KETTMANN and L. WILLEMS (2007): Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology* 4, 18.
- JOHNSON, R. and B. KANEENE (1992): Bovine leukemia virus and enzootic bovine leukosis. *Vet. Bull.* 62, 287-312.
- KNAPEN, K., P. KERKHOFS and M. MAMMERICKX (1993): Eradication of enzootic bovine leukosis in Belgium: Results of the mass detection on the national cattle population in 1989, 1990 and 1991. *Ann. Med. Vet.* 137, 197-201.
- KURTINAITIENE, B., D. AMBROZAITI, V. LAURINAVICIUS, A. RAMANAVICIENE and A. RAMANAVICIUS (2008): Amperometric immunosensor for diagnostic of BLV infection. *Biosensors and Bioelectronics* 23, 1547-1554.
- LOJKIĆ, M. (2001): U: CVETNIĆ, Ž., M. LOJKIĆ i Ž. ČAČ: Bruceloza, tuberkuloza i enzooska leukoza goveda. Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva Republike Hrvatske i Hrvatski veterinarski institut- Projekt: Razvitak službi za potporu obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima, 121-135.
- LOJKIĆ, M., Ž. ČAČ, L. JEMERŠIĆ, B. ROIĆ i I. LOJKIĆ (2000): Epizotološko stanje i mjere suzbijanja enzooske leukoze goveda. *Praxis vet.* 48, 151-161.
- MILLER, J. M. and M. J. Van der MAATEN (1980): The biology of bovine leukemia virus infection in cattle. *Cold Spring Harbor Conf. Cell. Prolif.* 7, 901-909.
- NAHMS-USDA (2007): Bovine Leukosis Virus on U.S. Dairy Operations. Available online: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_BLV.pdf (accessed on 27 April 2011).
- NUOTIO, L., H. RUSANEN, L. SIHVONEN and E. NEUVONEN (2003): Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. *Prev. Vet. Med.* 59, 43-49.
- OIE (2008): Enzootic bovine leukosis. In: *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals, World Organisation for Animal Health, Vol. 2. Chapter 2.4.11.*, 729-738.
- OIE (2011): World Animal Health Information Database (WAHID Interface), Version 1.4. Available online: http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_detail (accessed on 27 April 2011).
- RHODES, J. K., K. D. PELZER, Y and J. JOHNSON (2003): Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 223, 346-352.
- RODRIGUEZ, S. M., A. FLORINS, N. GILLET, A. de BROGNIEZ, M. T. SANCHEZ-ALCARAZ, M. BOXUS, F. BOULANGER, G. GUTIERREZ, K. TRONO, I. ALVAREZ, L. VAGNONI and L. WILLEMS (2011): Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV. *Viruses* 3, 1210-1248.
- ROIĆ, B., M. BRSTILO, A. JUNGIC i I. LOJKIĆ (2010): Rasprostranjenost enzooske leukoze goveda (ELG) u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2006. do 2009. godine. *Vet. stn.* 41, 211- 219.
- VAN den MAATEN, M. and J. M. MILLER- (1990): Bovine leukosis virus. In: DINTER, Z., MOREIN, B. (Eds.), *Virus infections of Ruminants. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands*, 419-429.
- WOO, M. C., R. D. SHANKS and H. A. LEWIN (1989): Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. *Proc. Natl. Sci. USA, Genetics* 86, 993-996.

Implementation of the national enzootic bovine leukosis eradication programme in the Republic of Croatia in 2011

Besi ROIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Andreja JUNGIC, DVM, Expert Associate, Branko BAČANEK, DVM, MSc, Marica LOLIĆ, DVM, PhD, Antun TOMAC, DVM, MSc, Damir LUKAČEVIĆ, DVM, Croatian Veterinary Institute; Tomislav KIŠ, DVM, Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia, Veterinary Directorate

In early 2011, the Ministry of Agriculture prescribed the implementation of ordered measures aimed at establishing the status of infection in cattle herds in order to achieve official brucellosis-free and EBL-free status for all herds of breeding cattle in the Republic of Croatia. This campaign systematically included the entire population of cattle over the age of 24 months and therefore succeeded in isolating the maximum number of flocks that were previously recorded to be infected but without clinical signs of the disease. The implementation of the programme for EBL began in September 2011 with the taking of milk samples from herds with 10 or more dairy cows, while the taking of individual blood samples in herds of breeding cattle with fewer than 10 dairy cows began on 1 October 2011. The laboratory testing of the submitted samples was concluded by 31 January 2012. In the campaign, a total of 6 656 pooled milk samples

and 116 586 blood samples from cattle from throughout Croatia were tested. Antibodies for EBL virus were confirmed in 89 pooled milk samples (1.33%) on a total of 71 farms, and in 1 200 blood serum samples (1.02%). On 336 farms upon completion of the programme, the conditions for awarding the status were not achieved, and Croatia currently does not have any bovine herds that are officially EBL-free. The continuation of the systematic implementation of the programme in 2013, with regard to the low percentage of infection of the population, is of critical importance for the control of the appearance of infections and prevention of further spread of the disease, with the aim of ultimately eradicating EBL in Croatia and achieving the conditions for the status of a EBL-free country, a goal which has already been achieved by a great majority of the EU Member States.

Usporedna studija sadržaja makro i esencijalnih elemenata u mlijeku žena, različitih životinjskih vrsta i u sojinom mlijeku

Nina Bilandžić, Marija Sedak, Maja Đokić, Božica Solomun Kolanović, Ivana Varenina, Đurđica Božić i Ana Končurat



Uvod

Mlijeko je važna namirnica u prehrani ljudi i životinjskih vrsta kao izvor proteina, minerala i masti u fazi razvoja te za brzi rast i izgradnju mišića (Soares i sur., 2010.). Razlike u količinama esencijalnih elemenata u sastavu mlijeka žena nastaju zbog niza čimbenika kao što su razlike u prehrani, dob majke, dužina trudnoće, težina djeteta, mjesto življenja i ekonomski status (Silvestre i sur., 2000., Leotsinidis i sur., 2005.). Varijabilnost esencijalnih elemenata može dovesti do statusa neodgovarajuće prehrane što je nužno za dojenčad. Tako je na primjer Ca važan makroelement, jer je uključen u rast, metabolizam i razvoj kostiju te je važan za održavanje koštanog integriteta i prevenciju osteoporoze i hipertenzije u starijih osoba (Schaafsma i sur., 1987., Kanis, 1993.). Povišeni krvni tlak i kardiovaskularne bolesti se preveniraju prehranom s visokim sadržajem Ca, Mg i K te niskim sadržajem Na (Park, 2009.).

Čimbenici koji utječu na koncentracije esencijalnih elemenata i elemenata u

tragovima u mlijeku životinja su: vrsta i zdravstveno stanje životinja, stadij dojenja životinje, sezona, hranidbeni status, okolišni čimbenici vezani za tlo i smještaj farme (Coni i sur., 1996., Cashman, 2003., Sola-Larrañaga i Navarro-Blasco, 2009.). Tijekom ispaše preživači uzimaju elemente u tragovima iz površinskih slojeva tla gdje zaostaju iz gnojiva, usljed taloženja iz atmosfere ili kao posljedica sastava i ekološkog statusa tla (Sterckeman i sur., 2000., Maas i sur., 2011.).

U posljednjem desetljeću provedeno je niz studija određivanja sadržaja elemenata kravljeg mlijeka u različitim zemljama (Sikirić i sur., 2003., Licata i sur., 2004., Caggiano i sur., 2005., Dobrzanski i sur., 2005., Lante i sur., 2006., Maas i sur., 2011., Reykdal i sur., 2011., Chekri i sur., 2012., Millour i sur., 2012., Noël i sur., 2012.), osobito u Španjolskoj (Martino i sur., 2001., Martín-Diana i sur., 2003., Muniz-Naveiro i sur., 2005., Ceballos i sur., 2009., Sola-Larrañaga i Navarro-

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Ana KONČURAT, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut - Veterinarski zavod Križevci

Blasco, 2009., Navarro-Alarcón i sur., 2011.). Znatno manji broj studija vezan je za kozje mlijeko (Krelowska-Kulas i sur., 1999., Martín-Diana i sur., 2003., Kondyli i sur., 2007., Navarro-Alarcón i sur., 2011.) i još manji za ovčje mlijeko (Caggiano i sur., 2005., Recio i sur., 2009., Mayer i Fiechter, 2012.).

Kozje i osobito ovčje mlijeko danas se koriste u ograničenim količinama u zemljama Europske Unije kao i u Hrvatskoj. Razlike između mlijeka koza, ovaca i krava se odnose na: veličinu masnih globula, sadržaj ukupne linolinske kiseline, sadržaj masnih kiselina sa srednjom veličinom lanaca, sadržaj ne-proteinskog dušika, strukturi micelija, odnosu κ -kazeina i β -kazeina (Kondyli i sur., 2007.). Utvrđeno je da je kozje mlijeko bolje za dojenčad i djecu preosjetljivu na kravlje mlijeko, što se pripisuje razlikama u proteinima između dvije vrste mlijeka (Kondyli i sur., 2007., Park i sur., 2007.). Prijašnja istraživanja pokazuju da je sadržaj makroelemenata i vitamina veći u mlijeku koza nego u kravljem mlijeku (Cashman, 2003., Nestares i sur., 2008.). Kozje mlijeko ima bolju probavljivost, lužnatost, puferski kapacitet i određene terapijske vrijednosti u usporedbi s kravljim mlijekom (Navarro-Alarcón i sur., 2011.).

Sojino mlijeko se danas koristi kao alternativa kravljem mlijeku, posebice zbog kvalitetnih biljnih bjelanjčevina koje su puno jeftinije od životinjskih. Po sastavu mlijeko ima omjer soje u vodi od 1:8 te u odnosu na kravlje mlijeko sadrži sličnu količinu bjelanjčevina i samo oko petinu količine kalcija (Chaiwanon i sur., 2000.).

U svrhu usporedbe sadržaja makroelemenata te esencijalnih elementa između uzoraka mlijeka krava, koza, ovaca, žena te sojinog mlijeka određene su koncentracije elemenata Ca, K, Na, Mg, Fe, Cu, Zn i Se primjenom tehnike induktivno spregnute plazme s optičkom emisijom (ICP-OES).

Materijali i metode

Uzorkovanje mlijeka

Ukupno 12 uzoraka mlijeka krava, koza i ovaca (500 mL) prikupljeno je od malih regionalnih gospodarstava diljem Hrvatske tijekom 2012. g. Tri uzorka sojinog mlijeka nabavljena su iz slobodne prodaje. Uzorci majčinog mlijeka ($n = 3$) nabavljeni su od dojlja iz okolice Križevaca prikupljanjem iz obje dojke izdajalicom. Uzorci su spremni u polietilenske boce, označeni i pohranjeni na -18°C do analize.

Kemikalije

Korištene su kemikalije analitičke čistoće, HNO_3 i H_2O_2 (p.a. Kemika, Croatia). Ultračista voda za razrjeđivanje standarda dobivena je pomoću sustava za pročišćavanje vode NIRO VV UV UF 20 (Nirosta d.o.o. Water Technologies, Osijek, Hrvatska). Plastično i stakleno suđe prano je ispiranjem razrijeđenom HNO_3 (1/9, v/v) te isprano ultračistom vodom i prije uporabe osušeno.

Za kalibraciju instrumenta korišteni su certificirani standardi Ca, K, Na, Mg, Fe, Cu, Zn i Se od 1000 mg/L (Perkin Elmer, SAD). Radni standardi su pripremani razrjeđivanjem certificiranih standarda s 0,5% HNO_3 .

Priprema uzoraka

Uzorci mlijeka (2 g) razarani su sa 6 mL HNO_3 (65%) i 1 mL H_2O_2 (30%) mokrim spaljivanjem u mikrovalnoj pećnici Multiwave 3000 (Anton Paar, Njemačka). Mikrovalna digestija započinje na snazi razaranja od 800 W (15 minuta), zatim u drugom koraku na 0 W kroz 15 minuta. Razoreni uzorak kvantitativno se prenosi u odmjernu tikvicu od 50 mL te dopuni do oznake ultračistom vodom. Isti postupak koristi se za slijepu probu.

Uzorci su analizirani u serijama koje su uključivale slijepu probu, standarde za kalibracijsku krivulju i dva uzorka s dodanim elementima. Granice detekcije

određene su kao koncentracije koje odgovaraju tri puta standardnim devijacijama deset slijepih uzoraka (tabela 2). Točnost metode provjerena je analizom certificiranog referentnog materijala obranog mlijeka u prahu (BCR-063, IRMM, Belgija). Referentni materijal je obrađen i analiziran u istim uvjetima kao i uzorci.

Određivanje koncentracija metala primjenom ICP-OES-a

Određivanje elemenata Ca, K, Na, Mg, Fe, Cu, Zn i Se provedeno je na uređaju induktivno spregnute plazme s optičkim emisijskim spektrometrom (ICP-OES) s aksijalnim i radijalnim pregledom plazme modela Optima 8000 s autosamplerom 10 S (Perkin-Elmer, SAD). Sustav raspršivanja se sastoji od kemijski otpornog staklenog, koncentričnog raspršivača povezanog sa staklenom ciklonskom komorom za raspršivanje. Polikromator je opremljen Echelle rešetkom i ima raspon spektra od 160-900 nm i rezoluciju od 0,009 nm na 200 nm. Radni uvjeti instrumenta prikazani su u tabeli 1.

Statistička analiza

Koncentracije Ca, K, Na, Mg, Fe, Cu, Zn i Se izražavane su kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija

(SV $\pm$ SD) te minimalna i maksimalna koncentracija. Statistički značajne razlike između srednjih vrijednosti elemenata u različitim vrstama mlijeka određene su analizom varijance (one-way ANOVA). Razlike rezultata na nivou vjerojatnosti $p \leq 0,05$ smatrane su statistički značajnim. Za statističku obradu rezultata korišten je statistički program Statistica® 6.1 (StatSoft®, Tulsa, SAD).

Rezultati

Granice detekcije elemenata (mg/kg, mokre težine) te rezultati provjere iskorištenja, odnosno točnosti određivanja elemenata primjenom certificiranog referentnog materijala obranog mlijeka u prahu (BCR-063, IRMM, Belgija) prikazani su u tabeli 1. Rezultati provjere iskorištenja određivanih elemenata kretali su se od 84,7 do 113,8%.

Rezultati statističke analize koncentracija elemenata prikazani su u tabeli 3. Utvrđene su statistički značajne razlike između analiziranih vrsta mlijeka u koncentracijama Ca ($p < 0,001$), K ($p < 0,001$), Na ($p < 0,001$), Mg ($p < 0,001$), Fe ($p < 0,001$), Cu ($p < 0,001$) i Zn ($p < 0,001$).

Koncentracije Ca u pet različitih vrsta mlijeka kretale su se u rasponu od najniže 78,4 mg/kg određene u mlijeku soje do

Tabela 1. Radni uvjeti za ICP-OES model Optima 8000.

Parametar	Vrijednosti
Pregled plazme	aksijalni i radijalni
Vrijeme očitavanja	5 s
Broj ponavljanja uzorka	3
Protok plazme plina	40 MHz
RF incident snaga	1500 W
Protok plazme argona	8 L/min
Protok argona u raspršivaču	0,55 L/min
Protok pomoćnog plina	0,4 L/min
Brzina protora uzorka	1 mL/min
Unutarnji promjer injektora	2,0 mm
Raspršivač	koncentrični stakleni (Meinhard)
Komora za raspršivanje	staklena ciklonska

Tabela 2. Granice detekcije elemenata te rezultati kontrole točnosti određivanja primjenom certificiranog referentnog materijala.

Element	Granica detekcije (mg/kg)	Certificirana koncentracija ± mjerna nesigurnost (mg/kg)	Izmjerena koncentracija ± SD (mg/kg)	Iskorištenje (%)
Ca (mg/kg)	0,01	13,49 ± 0,1	11,42 ± 0,32	84,7
K (mg/kg)	0,01	17,68 ± 0,19	15,6 ± 0,007	88,2
Na (mg/kg)	0,025	4,37 ± 0,031	3,87 ± 0,042	88,6
Mg (mg/kg)	0,02	1,263 ± 0,024	1,125 ± 0,007	89,1
Zn (μg/kg)	0,005	49,0 ± 0,6	41,9 ± 0,03	85,5
Fe (μg/kg)	0,005	2,32 ± 0,6	2,64 ± 0,03	113,8
Cu (μg/kg)	0,01	0,602 ± 0,019	0,613 ± 0,03	101,8
Se (μg/kg)	0,0001	-	-	-

Tabela 3. Koncentracije makro i esencijalnih elemenata (SV±SD, raspon, mg/kg) u kravljem, ovčjem, kozjem mlijeku te mlijeku žena i sojinom mlijeku.

Element	Statistika	Kravlje mlijeko n = 5	Ovčje mlijeko n = 2	Kozje mlijeko n = 5	Mlijeko žena n = 3	Sojino mlijeko n = 3
Ca	SV ± SD Min-Max	1558 ± 186 1263 - 1757	1995 ± 141 1895 - 2095	1138 ± 156 899 - 1289	227 ± 23,1 208 - 252	199 ± 201 78,4 - 431
K	SV ± SD Min-Max	2503 ± 350 2017 - 2889	937 ± 77,8 882 - 992	2365 ± 401 1989 - 2807	256 ± 41,2 210 - 288	398 ± 222 172 - 616
Na	SV ± SD Min-Max	800 ± 457 406 - 1565	635 ± 46,7 602 - 668	513 ± 58,8 452 - 576	181 ± 45,1 139 - 228	541 ± 25,6 512 - 561
Mg	SV ± SD Min-Max	185 ± 38,9 151 - 242	308 ± 12,7 299 - 317	171 ± 12,4 155 - 189	32,6 ± 10,2 21,1 - 40,6	90,5 ± 7,89 81,4 - 95,3
Zn	SV ± SD Min-Max	4,71 ± 1,75 2,75 - 7,00	4,13 ± 0,49 3,79 - 4,48	2,58 ± 0,90 1,11 - 3,39	1,08 ± 0,34 0,71 - 1,38	1,55 ± 0,17 1,37 - 1,71
Fe	SV ± SD Min-Max	0,42 ± 0,36 0,13 - 1,05	1,88 ± 0,11 1,79 - 1,95	0,59 ± 0,26 0,26 - 0,90	0,70 ± 0,30 0,42 - 1,02	1,57 ± 0,10 1,46 - 1,66
Cu	SV ± SD Min-Max	0,021 ± 0,024 0,01 - 0,064	0,01	0,01	0,35 ± 0,46 0,01 - 0,87	1,20 ± 0,23 1,02 - 1,47
Se	SV ± SD Min-Max	0,021 ± 0,009 0,011 - 0,033	0,051 ± 0,002 0,049 - 0,052	0,037 ± 0,027 0,016 - 0,083	0,034 ± 0,035 0,009 - 0,074	0,068 ± 0,019 0,05 - 0,089

najviše od 2095 mg/kg u ovčjem mlijeku. Najviša srednja vrijednost od 1995 mg/kg isto je utvrđena u ovčjem mlijeku.

Raspon određenih koncentracija K kretao se od 172 do 2807 mg/kg u sojinom, odnosno kozjem mlijeku. Najviša srednja vrijednost od 2503 mg/kg određena je u kravljem mlijeku.

Koncentracije Na kretale su se u rasponu od najniže 139 mg/kg određene u mlijeku žena do 1565 mg/kg u kravljem mlijeku te je najviša srednja vrijednost od 800 mg/kg utvrđena i u kravljem mlijeku.

Najniža srednja vrijednost Zn od 1,08 mg/kg određena je u mlijeku žena, a najviša od 4,71 mg/kg u kravljem mlijeku.

Koncentracije Fe kretale su se u rasponu od 0,13 do 1,96 mg/kg, a najviša srednja razina određena je u ovčjem mlijeku. Najviša srednja koncentracija Cu od 1,2 mg/kg određena je u sojinom mlijeku, dok su koncentracije u ovaca i koza bile ispod 0,01 mg/kg.

Najviše koncentracije Se od 0,089 mg/kg određene su u sojinom mlijeku u kojem je i najviša srednja vrijednost od 0,068 mg/kg.

Rasprava

U ovome istraživanju koncentracije četiri najvažnija makroelementa u mlijeku različitih vrsta kretala su sljedećim redoslijedom od najviše do najniže vrijednosti: Ca: ovčje > kravlje > kozje > ženino > sojino; K: kravlje > kozje > ovčje > sojino > ženino; Na: kravlje > ovčje > kozje > sojino > ženino; Mg: ovčje > kravlje > kozje > sojino > ženino. Koncentracije esencijalnih elemenata u mlijeku različitih vrsta kretale su se redoslijedom: Zn: kravlje > ovčje > kozje > sojino > ženino; Fe: ovčje > sojino > ženino > kozje > kravlje; Cu: sojino > ženino > kravlje > ovčje, kozje; Se: sojino > ovčje > kozje > ženino. Prema tome, u kravljem mlijeku utvrđene su najviše koncentracije K, Na i Zn, odnosno u ovčjem najviše koncentracije Ca, Mg i Fe. U sojinom

mlijeku utvrđene su najniže koncentracije Ca, ali su neočekivano utvrđene najviše koncentracije Cu i Se.

Literaturni podatci koncentracija makro i esencijalnih elemenata u kravljem, kozjem, ovčjem i mlijeku žena u različitim zemljama prikazani su u tabeli 4. Dobivene koncentracije elemenata u kravljem mlijeku utvrđene u prijašnjim istraživanjima kretale su se u rasponima (mg/kg): Ca 1010-1963, K 1096-1679, Na 432-530, Mg 94-165,01, Zn 0,51-4,63, Fe 0,13-0,399, Cu 0,091-0,38, Se 0,015-0,4 (Martin-Diana i sur., 2003., Sikirić i sur., 2003., Lante i sur., 2006., Ceballos i sur., 2009., Navarro-Alarcón sur., 2011., Chekri i sur., 2012., Millour i sur., 2012., Noël i sur. 2012.). Koncentracije K, Na i Mg u ovome istraživanju veće su od raspona vrijednosti iz drugih istraživanja dok su koncentracije Cu niže od njih. Od esencijalnih elemenata u mlijeku je Zn zastupljen u najvišoj koncentraciji, odnosno u najvišoj koncentraciji u kravljem mlijeku. Nedostatak Zn može dovesti do lezija kože, narušene funkcije imunostnog sustava, smetnji u razvoju te nepotpunog zacjeljivanja rana (Park, 2009.).

U usporedbi s prethodnim istraživanjem u kravljem mlijeku iz Hrvatske u ovoj su studiji utvrđene slične koncentracije Ca i Mg, više koncentracije Zn i Fe te niže Cu (Sikirić i sur., 2003.). Ove razlike mogu biti posljedica razlika u uhranjenosti životinja, koncentracija prisutnih u okolišu kao i sezonskih varijacija u mlijeku (Conti i sur., 1996., Cashman, 2003., Lante i sur., 2004.).

Rasponi koncentracija elemenata u kozjem mlijeku utvrđeni u prethodnim istraživanjima bili su (mg/kg): Ca 1110-1940, K 1520-2015, Na 317-620, Mg 106-178,2, Zn 3,7-5,6, Fe 0,60-1,5, Cu 0,2-0,8, Se 0,013 (Martín-Diana i sur., 2003., Leotsinidis i sur., 2005., Garcia i sur., 2006., Kondyli i sur., 2007., Park i sur., 2007., Ceballos i sur., 2009., Navarro-Alarcón i sur., 2011., Mayer i Fiechter, 2012.). U ovome istraživanju koncentracije K i Se

Tabela 4. Koncentracije makro i esencijalnih elemenata u kravljem, kozjem, ovčjem i mlijeku žena u drugim istraživanjima.

Elementi	Austrija ¹ (g/L)	Hrvatska ² (mg/kg)	Francuska ^{3a,b,c} (mg/kg)	Grčka ^{4a,b} (mg/kg)	Italija ⁵ (mg/kg)	Španjolska ⁶ (g/kg)	Španjolska ^{7a,b} (mg/kg)	Izvor: ⁸ 2007 ⁹ (mg/kg)	Izvor: ¹⁰ 2012 ¹¹ (mg/L)	Izvor: ¹⁰ 2009 ¹⁰ (mg/L)
Ca	KO 1,288 OV 1,825-1,866	KR 1403,94	KR 1026 ^{3a}	KO 1320 ^{4b}	KR 1263	KR 1,01 KO 1,11	KR 1135,8 ^{7a} KO 1585,7 ^{7a} KR 1936 ^{7b} KO 1940 ^{7b}	Ž 330 KO 1340	Ž 278	OV 1980
K	KO 2,015 OV 1,208-1,275		KR 1679 ^{3a}	KO 1520 ^{4b}	KR 1096			Ž 550 KO 1810	Ž 530	OV 1200
Na	KO 0,317 OV 0,298-0,454		KR 432 ^{3a}	KO 594 ^{4b}	KR 441	KR 0,53 KO 0,62		Ž 150 KO 410	Ž 180	OV 500
Mg	KO 0,138 OV 0,184-0,197	KR 165,01	KR 120 ^{3a}	KO 158,7 ^{4b}	KR 118	KR 0,096 KO 0,106	KR 94 ^{7b} KO 129,2 ^{7a} KR 159,1 ^{7b} KO 178,2 ^{7b}	Ž 40 KO 160	Ž 35	OV 180
Zn		KR 0,51	KR 3,75 ^{3b} KR 5,06 ^{3c}	Ž 4,905 ^{4a} KO 3,7 ^{4b}	KR 3,6	KR 0,0046 KO 0,0045	KR 4,63 ^{7b} KO 5,28 ^{7a} KR 4,03 ^{7b} KO 4,46 ^{7b}	Ž 3,8 KO 5,6	Ž 1-3	OV 7,50
Fe		KR 0,13	KR 0,399 ^{3c}	Ž 0,544 ^{4a} KO 0,60 ^{4b}	KR 0,3	KR <0,002 KO <0,002	KO 1,5 ^{7a}	Ž 2,0 KO 0,70	Ž 0,720	OV 0,76
Cu		KR 0,38	KR 0,091 ^{3b} KR 0,12 ^{3c}	Ž 0,381 ^{4a} KO 0,80 ^{4b}		KR <0,002 KO <0,002	KO 0,42 ^{7a}	Ž 0,60 KO 0,50	Ž 0,2-0,4	OV 0,07
Se			KR 0,04 ^{3b} KR 0,015 ^{3c}		KR 0,4			Ž 0,0152 KO 0,013		OV 0,001

KR-kravlje mlijeko; KO-kozje mlijeko; OV-ovčje mlijeko; Ž-mlijeko žena; * rezultati: suhe mase

¹ Mayer i Flechter (2012), ² Sikirić i sur. (2003), ^{3a} Chekri i sur. (2012), ^{3b} Noël i sur. (2012), ^{3c} Millour i sur. (2012), ^{4a} Leotsinidis i sur. (2005), ^{4b} Kondyli i sur. (2007), ⁵ Lante i sur. (2006), ⁶ Martín-Diana i sur. (2003), ^{7a} Ceballos i sur. (2009), ^{7b} Navarro-Alarcón i sur. (2011), ⁸ Park i sur. (2007), ⁹ Salimei i Fantuz (2012), ¹⁰ Recio i sur. (2009.)

su više, dok su Zn i Cu niže s obzirom na vrijednosti u drugim zemljama. Najviše koncentracije Fe utvrđene su u kozjem mlijeku. Željezo u mlijeku dolazi u kombinaciji s nekoliko bjelančevina, lactoferinom, transferinom i ferilaktinom. Nedostatak Fe izaziva anemiju, nepotpuni razvoj u djece i narušavanje metabolizma lipida (Park, 2009.).

Koncentracije elemenata u ovčjem mlijeku u prethodnim istraživanjima kretale su se u rasponima (mg/kg): Ca 1825-1980, K 1200-1275, Na 298-454, Mg 185-197, Zn 7,5, Fe 0,76, Cu 0,07, Se 0,001 (Recio i sur., 2009., Mayer i Fiechter, 2012.). Koncentracije u ovome istraživanju pokazale su više vrijednosti Na, Mg, Fe i Se te niže K u odnosu na navedene raspone.

U prijašnjim istraživanjima koncentracije elemenata u mlijeku žena su se kretale (mg/kg): Ca 278-330, K 530-550, Na 150-180, Mg 35-50, Zn 1-3,8, Fe 0,72-2,0, Cu 0,2-0,60, Se 0,015 (Park i sur., 2007., Salimei i Fantuz, 2012.). U odnosu na te vrijednosti u mlijeku žena u ovome istraživanju određene su nešto niže vrijednosti Ca, gotovo 2 puta niže K te 3 puta više vrijednosti Se. Kao i u prethodnoj usporednoj studiji mlijeka žena i krava i u ovoj je utvrđeno da su koncentracije Fe i Cu više u mlijeku žena nego krava (Martino i sur., 2001.). Koncentracije Ca i K u mlijeku žena su za 5 do 8,8 puta manje nego u mlijeku koza, krava i ovaca što je je također navedeno u prethodnim usporednim studijama (Martino i sur., 2001., Park, 2009.). Korištenje kravljeg ili kozjeg mlijeka i mliječnih proizvoda u ljudskoj prehrani osigurava oko 70% od preporučenog dnevnog unosa Ca (Park, 2009.).

Danas nema mnogo literaturnih podataka vezanih za sastav elemenata sojinog mlijeka te se uglavnom mogu naći na deklaracijama proizvođača. Uglavnom se navode koncentracije Ca koje se mijenjaju ovisno o količinama dodanog Ca ovisno ovrsti mlijeka te se kreću od 270 do 1370 mg/kg (Chaiwanon

i sur., 2000.). Usporedbom sojinog mlijeka i mlijeka žena vidljivo je da su koncentracije Ca nešto niže u sojinom mlijeku. Međutim koncentracije Na, Mg i Cu u sojinom mlijeku su za 3 puta više u odnosu na mlijeko žena. U sojinom mlijeku su nađene i koncentracije Se i Cu za 2 do 6 puta više nego u kravljem i mlijeku žena. Poznato je da Se igra ulogu u nekoliko važnih metaboličkih puteva te u imunom i endokrinom sustavu (Williams i Harrison, 2010.). Nedostatak Se povezuje se s bolestima kao što su: kardiopatija, hepatopatija te neki tipovi tumora. Nedostatak Cu prouzroči smanjenje metabolizma energije, poremećaj metabolizma glukoze i kolesterola, povećanje oksidativnih oštećenja, narušenje strukture i funkcije cirkulacije krvi i imunostanih stanica, narušenja sinteze neuropeptida te povećanje rizika u razvoju bolesti srca (Uriu-Adams i Keen, 2005.).

Zaključno, u mlijeku koje je važna prehranbena namirnica te izvor bjelančevina, masti i elemenata određivanje koncentracija makro i najbitnih esencijalnih elemenata imaju znatnu ulogu u procjeni nutritivne vrijednosti, posebice kravljeg mlijeka koje se najviše proizvodi i koristi.

Sažetak

U ovome radu su određene koncentracije makroelemenata Ca, K, Na i Mg te esencijalnih elemenata Zn, Fe, Cu i Se u uzorcima mlijeka krava, koza, ovaca, žena te sojinog mlijeka primjenom tehnike induktivno spregnute plazme s optičkom emisijom (ICP-OES). U kravljem su mlijeku određene najviše koncentracije elemenata (mg/kg): K 2503, Na 800 i Zn 4,71. Ovčje je mlijeko pokazalo najviše koncentracije (mg/kg): Ca 1995, Mg 308 i Fe 1,88. U sojinom mlijeku utvrđene su najniže koncentracije Ca od 199 mg/kg te najviše koncentracije (mg/kg): Cu 1,2 i Se 0,068. U mlijeku žena utvrđene su najniže koncentracije (mg/kg): K 256, Na 181, Mg 30,2 i Zn 1,08. Utvrđene su statistički značajne razlike u koncentracijama između različitih

vrsta mlijeka Ca, K, Na, Mg, Fe, Cu i Zn ($p < 0,001$, svi). Dobivene koncentracije elemenata usporedbom s prijašnjim istraživanjima u kravljem, kozjem, ovčjem te mlijeku žena pokazale su: kravlje: slične K, Na i Mg, niža Cu; kozje: više K i Se, niže Zn i Cu; ovčje: više Na, Mg, Fe i Se, niža K; mlijeko žena: niže Ca i K, viša Se. Kako je mlijeko važna namirnica u prehrani, odnosno ishrani dojenčadi koncentracije makro i esencijalnih elemenata imaju znatnu ulogu u procjeni nutritivne vrijednosti mlijeka, posebice kravljeg koje se najviše proizvodi i koristi.

Literatura

- CAGGIANO, R., S. SABIA, M. D'EMILIO, M. MACCHIATO, A. ANASTASIO, M. S. RAGOSTA and S. PAINO (2005): Metal levels in fodder, milk, dairy products, and tissues sampled in ovine farms of Southern Italy. *Environ. Res.* 99, 48–57.
- CASHMAN, K. D. (2003): Minerals in dairy products. In: *Encyclopaedia of dairy sciences*, H. ROGINSKI, J. W. FUQUAY, P. F. FOX (Eds.), Academic Press, London. pp. 2051–2065.
- CEBALLOS, L. S., E. R. MORALES, G. T. ADARVE, J. D. CASTRO, L. P. MARTÍNEZ and R. M. S. SAMPELAYO (2009): Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Comp. Anal.* 22, 322–329.
- CHAIWANON, P., P. PUWASTIEN, A. NITITHAMYONG and P. P. SIRICHAKWAL (2000): Calcium Fortification in Soybean Milk and In Vitro Bioavailability. *J. Food Comp. Anal.* 13, 319–327.
- CHEKRI, R., L. NOËL, S. MILLOUR, C. VASTEL, A. KADAR, V. SIROT, J.-L. LEBLANC and T. GUÉRIN (2012): Calcium, magnesium, sodium and potassium levels in foodstuffs from the second French Total Diet Study. *J. Food Comp. Anal.* 25, 97–107.
- CONI, E., A. BOCCA, P. COPPOLELLI, S. CAROLI, C. CAVALLUCCI and T. M. MARINUCCI (1996): Minor and trace element content in sheep and goat milk and dairy products. *Food Chem.* 57, 253–260.
- DOBRZANSKI, Z., R. KOLACZ, H. GÓRECKA, K. CHOJNACKA and A. BARTKOWIAK (2005): The content of microelements and trace elements in raw milk from cows in the Silesian region. *Polish J. Environ. Studies* 14, 685–689.
- KANIS, J. A. (1993): Factors affecting bone metabolism and osteoporosis: calcium requirements for optimal skeletal health in women. In: *Dairy Products in Human Health and Nutrition*. SERRANO RIOS et al. (Eds.) Balkema, Rotterdam. Pp. 415–422.
- KONDYLI, E., M. C. KATSIARI and L. P. VOUSINAS (2007): Variations of vitamins and mineral content in raw goat milk of the indigenous Greek breed during lactation. *Food Chem.* 100, 226–230.
- KRELOWSKA-KULAS, M., W. KEDZIOR and C. POPEK (1999): Content of some metals in goat's milk from southern Poland. *Nahrung-Food* 43, 317–319.
- LANTE, A., G. LOMOLINO, M. CAGNIN and P. SPETTOLI (2006): Content and characterisation of minerals in milk and in Crescenza and Squacquerone Italian fresh cheeses by ICP-OES. *Food Contr.* 17, 229–233.
- LEOTSINIDIS, M., A. ALEXOPOULOS and E. KOSTOPOULOU-FARRI (2005): Toxic and essential trace elements in human milk from Greek lactating women: Association with dietary habits and other factors. *Chemosphere* 61, 238–247.
- LICATA, P., D. TROMBETTA, M. CRISTANI, F. GIOFRE, D. MARTINO and M. CALO (2004): Levels of "toxic" and "essential" metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria, Italy. *Environ. Inter.* 30, 1–6.
- MAAS, S., E. LUCOT, F. GIMBERT, N. CRINI and P.-M. BADOT (2011): Trace metals in raw cows' milk and assessment of transfer to Comté cheese. *Food Chem.* 129, 7–12.
- MARTÍN-DIANA, A. B., C. JANER, C. PELÁEZ and T. REQUENA (2003): Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *Inter. Dairy J.* 13, 827–833.
- MARTINO, F. A. R., M. L. F. SANCHEZ and A. SANZ-MEDEL (2001): The potential of double focusing-ICP-MS for studying elemental distribution patterns in whole milk, skimmed milk and milk whey of different milks. *Anal. Chim. Acta* 442, 191–200.
- MAYER, H. K. and G. FIECHTER (2012): Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. *Inter. Dairy J.* 24, 57–63.
- MILLOUR, S., L. NOËL, R. CHEKRI, A. KADAR, C. VASTEL, V. SIROT, J.-L. LEBLANC and T. GUÉRIN (2012): Strontium, silver, tin, iron, tellurium, gallium, barium and vanadium levels in foodstuffs from the second French Total Diet Study. *J. Food. Compos. Anal.* 25, 108–129.
- MUNIZ-NAVEIRO, O., R. DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, A. BERMEJO-BARRERA, J. A. COCHO DE JUAN, J. M. FRAGA BERMÚDEZ and A. GORIS PEREIRAS (2005): Selenium content and distribution in cows' milk supplemented with two dietary selenium sources. *J. Agric. Food Chem.* 53, 9817–9822.
- NAVARRO-ALARCÓN, M., C. CABRERA-VIQUE, M. D. RUIZ-LÓPEZ, M. OLALLA, R. ARTACHO, R. GIMÉNEZ, V. QUINTANA and T. BERGILLOS (2011): Levels of Se, Zn, Mg and Ca in commercial goat and cow milk fermented products: Relationship with their chemical composition and probiotic starter culture. *Food Chem.* 129, 1126–1131.
- NESTARES, T., J. DÍAZ-CASTRO, M. J. M. ALFÉREZ, I. LÓPEZ-ALIAGA, M. BARRIONUEVO and M. S. CAMPOS (2008): Calcium-enriched goat milk, in comparison with similarly enriched cow milk, favours magnesium bioavailability in rats with nutritional ferropenic anaemia. *J. Sci. Food Agric.* 88, 319–327.
- NOËL, L., R. CHEKRI, S. MILLOUR, C. VASTEL, A. KADAR, V. SIROT, J.-L. LEBLANC and T.

- GUÉRIN (2012): Li, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se and Mo levels in Foodstuffs from the 2nd French TDS. Food Chem. 132, 1502–1513.
23. PARK, Y. W., M. JUÁREZ, M. RAMOS and G. F. W. HAENLEIN (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Rum. Res. 68, 88–113.
 24. PARK, Y. W. (2009): Bioactive Components in Goat milk. In: Y. W. PARK (Ed.), Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, pp. 43–81.
 25. RECIO, I., M. A. FUENTE, M. JUAREZ and M. RAMOS (2009): Bioactive Components in Sheep milk. In: Y. W. PARK (Ed.), Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, pp. 83–104.
 26. REYKDAL, O., S. RABIEH, L. STEINGRIMSDOTTIR and H. GUNNLAUGSDOTTIR (2011): Minerals and trace elements in Icelandic dairy products and meat. J. Food Comp. Anal. 124, 980–986.
 27. SALIMEI, E. and F. FANTUZ (2012): Equid milk for human consumption. Inter. Dairy J. 24, 130–142.
 28. SCHAAFSMA, G., E. C. H., VAN BERESTEYN and J. A. RAYMAK-ERS (1987): Nutritional aspects of osteoporosis. World Rev. Nutr. Dietet. 49, 121–159.
 29. SILVESTRE, D. M., M. J. LAGARDA, R. FARRE, C. MARTINEZ-COSTA, J. BRINES, A. MOLINA and G. CLEMENTE (2000): A study of factors that may influence the determination of copper, iron and zinc in human milk during sampling and in sample individuals. Biol. Trace Elem. Res. 76, 217–227.
 30. SIKIRIĆ, M., N. BRAJENOVIĆ, I. PAVLOVIĆ, J. L. HAVRANEK and N. PLAVLJANIĆ (2003): Determination of metals in cow's milk by flame atomic absorption spectrophotometry. Czech J. Anim. Sci. 48, 481–486.
 31. SOARES, V. A., M. M. M. KUS, A. L. C. PEIXOTO, J. S. CARROCCI, R. F. S., SALAZAR and H. J. I. FILHO (2010): Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale do Paraiba region (Brazil). Food Contr. 21, 45–49.
 32. SOLA-LARRAÑAGA, C. and I. NAVARRO-BLASCO (2009): Chemometric analysis of minerals and trace elements in raw cow milk from the community of Navarra, Spain. Food Chem. 112, 189–196.
 33. STERCKEMAN, T., F. DOUAY, N. PROIX and H. FOURRIER (2000): Vertical distribution of Cd, Pb and Zn in soils near smelters in the North of France. Environ. Poll. 107, 377–389.
 34. URIU-ADAMS, J. Y., R. B. RUCKER, J. F. COMMISSO and C. L. KEEN (2005): Diabetes and dietary copper alter (67) Cu metabolism and oxidant defense in the rat. J. Nutr. Biochem. 16, 312–320.
 35. WILLIAMS, E. and M. HARRISON (2010): Selenium: From health to the biological food chain. J. Biotech. Res. 2, 112–120.

Comparative study of the macroelement and essential element content in breast milk, milk of different animal species and soy milk

Nina BILANDŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Scientific Advisor, Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Ivana VARENINA, Grad. Biotechnology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Đurđica BOŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Ana KONČURAT, DVM, Croatian Veterinary Institute - Križevci Veterinary Institute

In this study, the concentration of the macroelements Ca, K, Na, Mg and essential elements Zn, Fe, Cu and Se in milk samples of cows, goats and sheep, breast milk and soy milk were determined using the technique inductively coupled plasma with optical emission (ICP-OES). Cow's milk had the highest concentration of elements (mg/kg): K 2503, Na 800 and Zn 4.71. Sheep milk showed the highest concentration of (mg/kg): Ca 1995, Mg 303 and Fe 1.88. Soy milk had the lowest Ca concentration of 199 mg/kg and the highest concentration of (mg/kg): Cu 1.2 and Se 0.068. Breast milk had the lowest concentration of elements (mg/kg): K 256, Na 181, Mg 30.2 and

Zn 1.08. There were significant differences in the concentrations of elements between different types of milk for Ca, K, Na, Mg, Fe, Cu and Zn ($p < 0.001$, all). A comparison of the concentrations determined in this study with previous studies, the following was found: cow: similar K, Na and Mg, lower Cu; goat: higher K and Se, lower Zn and Cu; sheep: higher Na, Mg, Fe, and Se; lower K; breast milk: lower Ca and K, higher Se. Milk is important in the diet and nutrition of infants, and the determination of macroelements and essential elements play a significant role in assessing the nutritional value of milk, especially cow's milk, which is the most commonly produced and used milk.

A close-up photograph of a middle-aged man with light hair, wearing a blue work jacket over a checkered shirt. He is gently holding a small, white piglet in his hands. The piglet is looking towards the right. The background is softly blurred, suggesting an indoor setting like a farm or a veterinary clinic.

NOVO IME ZA ZDRAVLJE ŽIVOTINJA

Autorsko pravo © 2013 Zoetis Inc. Sva prava zadržana.

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

ZA ŽIVOTINJE. ZA ZDRAVLJE. ZA VAS.

zoetis[™]

Karakterizacija fizikalno-kemijskih svojstava najzastupljenijih domaćih tradicionalnih mesnih proizvoda



Nina Perši, Jelka Pleadin, Dragan Kovačević i Dinka Milić

Uvod

Od svih vrsta proizvoda životinjskog podrijetla u prehrani ljudi najviše se konzumiraju proizvodi od svinjskog mesa. Svinjsko meso karakterizira crvenkasto-ružičasta boja, kompaktna struktura, suha površina te karakterističan okus i miris (Kropf, 2007., Ruiz, 2007.), a kemijski sastav varira ovisno o pasmini, načinu hranidbe, spolu, dobi i fiziološkom stanju životinje (Živković, 1986.).

Ova vrsta mesa najprikladnija je za izradu različitih vrsta kobasica, jer se gotovo svi dijelovi trupa mogu iskoristiti za preradu i pripremu nadjeva (Pavičić, 2012.).

Maseni udjeli osnovnih gradivnih tvari svinjskog mesa za proizvodnju mesnih proizvoda, vode, masti i bjelancevina, pokazatelj su kakvoće te energetske i tržišne vrijednosti. Najveće razlike masenih udjela u sirovom mesu pokazuju voda ($w = 50 - 70\%$) i masti ($w = 2 - 33\%$), ovisno o vrsti životinje za klanje, anatomskoj lokaciji, spolu, dobi, načinu uzgoja, načinu prehrane i dr. Maseni udio bjelancevina u odnosu na udio vode i masti u svježem svinjskom

mesu je konstantniji i iznosi 15-22%, a veći maseni udio bjelancevina mesa u odnosu na druge osnovne gradivne tvari, mesne proizvode čini kvalitetnijim i tržišno vrijednijim (Kovačević, 2001.).

Ne postoji jedinstvena sistematizacija mesnih proizvoda, a sukladno Pravilniku o mesnim proizvodima (N.N. 131/2012.) definiraju se kao proizvodi od cijelih komada mesa, masnog i vezivnog tkiva, usitnjenog mesa, iznutrica te ostalih dijelova životinja za klanje i divljači, proizvedenih prema određenom tehnološkom postupku. Kakvoća mesnih proizvoda prije svega ovisi o kakvoći sirovine i izboru tehnološkog postupka prerade koji treba imati za cilj osiguranje optimalnog omjera između učinka konzerviranja te organoleptičkih i nutritivnih svojstava (Kovačević, 2001.). Osnovne sirovine za proizvodnju mesnih proizvoda čine: meso u užem smislu (mišićno tkivo), masno tkivo, iznutrice, kože, krvna plazma te različiti dodatci (škrob, sirutka, aditivi) (Kovačević, 2001., Heinz i Hautzinger, 2007.). U

Dr. sc. Nina PERŠI, dipl. ing. preh. tehnol., znanstvena novakinja, dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, docentica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; dr. sc. Dragan KOVAČEVIĆ, dipl. ing. preh. tehnol., redoviti profesor, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek; dr. sc. Dinka MILIĆ, dr. med. vet., Svinjogojaska farma Dubravica

malim količinama dodaju se: sol i začini (crni i bijeli papar, slatka i ljuta paprika, mažuran, timijan, ružmarin, peršin i češnjak) koji znatno utječu na specifičan okus, miris i boju mesnih proizvoda.

U zimskim se mjesecima na poljoprivrednim gospodarstvima u Hrvatskoj tijekom svinjokolje, tradicionalno proizvode različiti domaći mesni proizvodi. Njihova senzorska svojstva, posebice specifičan vanjski izgled te okus i miris ovise o recepturi i primijenjenim tehnološkim operacijama prerade i konzerviranja koji su najčešće rezultat tradicije određenog zemljopisnog područja. Proizvodnja tradicionalnih mesnih proizvoda najvećim dijelom nije standardizirana što rezultira odstupanjima u recepturi i tehnološkim pokazateljima proizvodnje, odnosno posljedično, između pojedinih poljoprivrednih gospodarstava pa i unutar istih, postoji znatna razlika u kakvoći proizvoda. Raspoloživi literaturni podatci uglavnom se odnose na tradicionalne trajne mesne proizvode, od kojih je njih nekoliko zaštićeno oznakom zemljopisnog podrijetla (Baranjski kulen, Drniški pršut, Krčki pršut, Dalmatinski pršut) ili izvornosti (Istarski pršut),

dok vrlo mali broj podataka o ostalim tradicionalnim mesnim proizvodima uglavnom upućuje na heterogenost u njihovom sastavu.

U ovom istraživanju proizvedene su i analizirane najzastupljenije vrste tradicionalnih mesnih proizvoda iz skupine fermentiranih, toplinski obrađenih i svježih kobasica te polutrajnih suhomesnatih proizvoda i trajne slanine, koje se proizvode na poljoprivrednim gospodarstvima. Cilj je rada bio odrediti karakteristična fizikalno-kemijska svojstva te ujednačenost u sastavu tradicionalnih mesnih proizvoda proizvedenih od mesa svinja uzgojenih u istim farmskim uvjetima te primjenom istih proizvodnih receptura, tehnoloških operacija i pokazatelja na istom poljoprivrednom gospodarstvu.

Materijali i metode

Životinje za proizvodnju osnovnih sirovina

Na svinjogojskoj farmi uzgajane su ženke svinja (n=6) u tipu hibrida zegersa. Grla su tijekom tova hranjena krmnom smjesom za svinje u tovu preko 60 kg „žive vage“ tj. ST-2 i obitavala su u propisanim

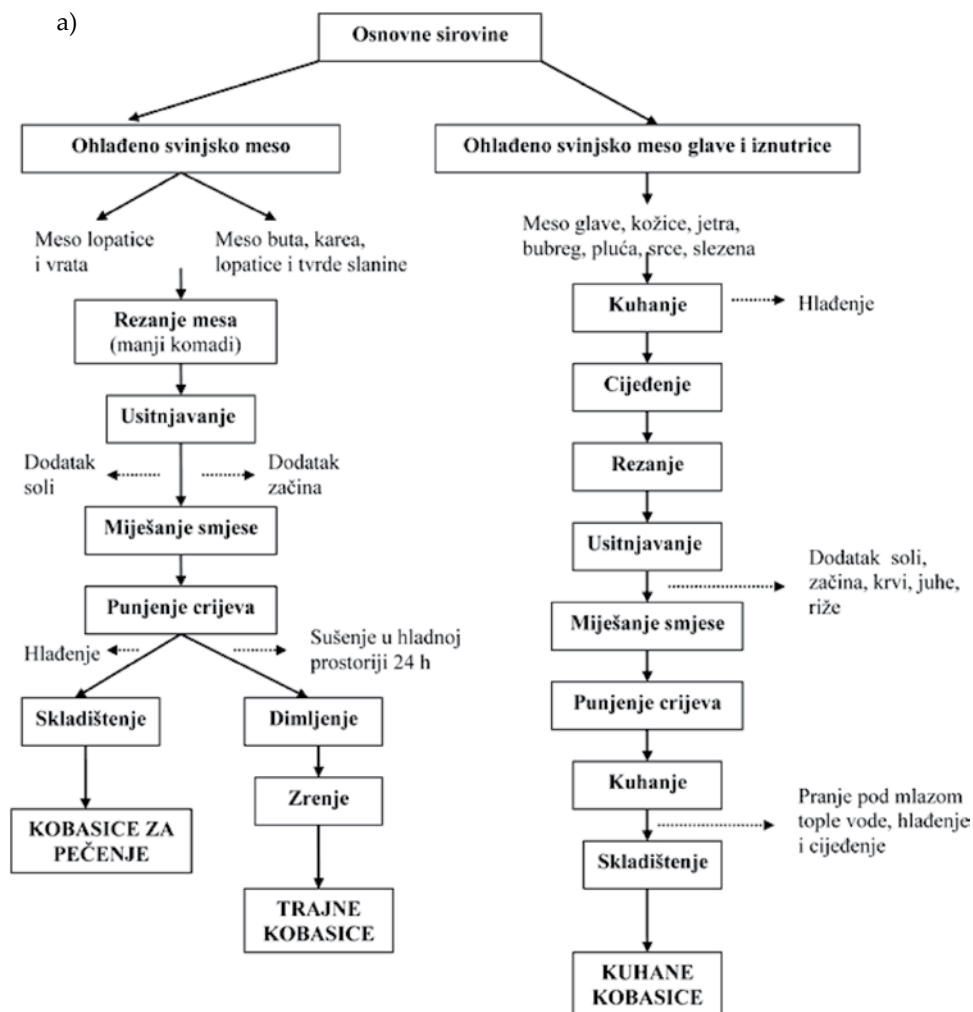
Tabela 1. Tradicionalni mesni proizvodi proizvedeni na poljoprivrednom gospodarstvu

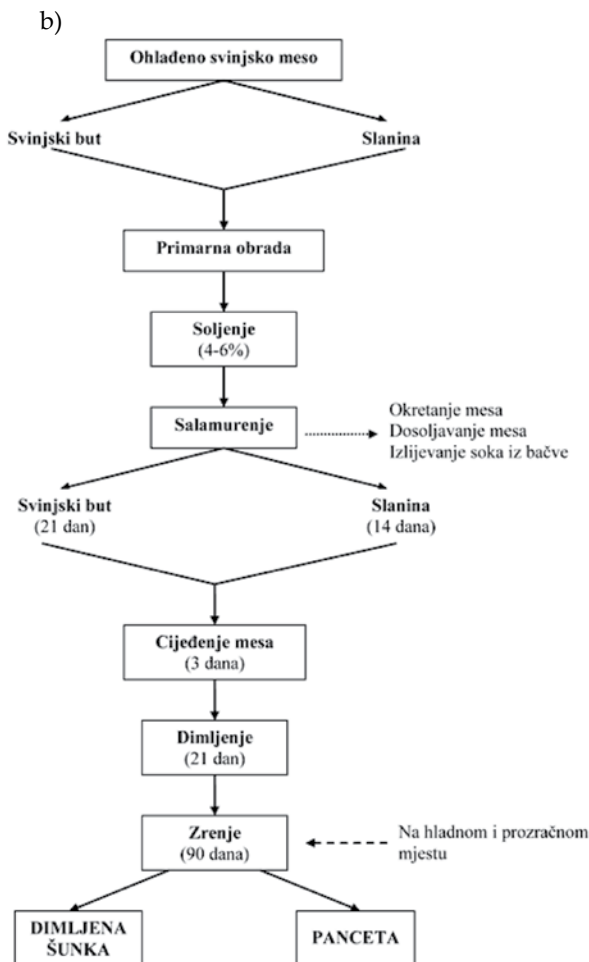
Kategorija	Skupina	Podskupina	Vrsta proizvoda	Broj uzoraka
Kobasice	Fermentirane kobasice	Trajne kobasice	Kulen	6
			Domaća salama	6
	Toplinski obrađene kobasice	Kuhane kobasice	Jetrenjača	6
			Krvavica	6
	Svježe kobasice	Kobasica za pečenje	Pečenica	6
			Primorska kobasica	6
Suhomesnati proizvodi	Polutrajni suhomesnati proizvodi		Dimljena šunka	6
Slanina	Trajna slanina		Panceta	6
Ukupno				48

farmskim uvjetima. Nakon što su dostigla težinu od oko 100 kg podvrgnuta su klanju u klaonici. Klanje je provedeno uz prethodno omamljivanje grla te potpunim iskrvarenjem pod nadzorom veterinara (u skladu s važećim propisima). Prilikom klanja od svake su životinje uzeti uzorci krvi te su izdvojene sirovine za proizvodnju mesnih proizvoda: meso, jetra, bubrež, masno tkivo, srce, pluća i slezena.

Proizvodnja mesnih proizvoda

Nakon izdvajanja osnovnih sirovina na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu klaonički obrađeno svinjsko meso, masno tkivo, krv te iznutrice korišteni su za proizvodnju mesnih proizvoda prikazanih u tabeli 1. Pri tom su proizvedene svježe kobasice (kobasice za pečenje), toplinski obrađene kobasice (kuhane kobasice), fermentirane





Slika 1. Shematski prikaz tehnološkog postupka proizvodnje: a) kobasica (kobasice za pečenje, trajne i kuhane kobasice); b) polutrajnih suhomesnatih proizvoda (dimljena šunka) i trajne slanine (panceta)

kobasice (trajne kobasice), polutrajni suhomesnati proizvodi i trajna slanina. Ukupno je proizvedeno osam vrsta mesnih proizvoda, a od svake vrste proizvedeno je 6 uzoraka (komada), što ukupno iznosi 48 uzoraka, odnosno mesnih proizvoda.

Pri proizvodnji mesnih proizvoda korištene su recepture prema literaturnim podatcima autora Pavičić (1997.), Kovačević (2001.), Pavičić (2004.) i Heinz i Hautzinger (2007.). Tehnološki postupci proizvodnje po skupinama/podskupinama proizvoda shematski su

prikazani na slici 1. Na slici 2. prikazana je, po fazama, proizvodnja domaćih pečenica na poljoprivrednom gospodarstvu.

Priprema uzoraka za analizu

Reprezentativni uzorci proizvedenih mesnih proizvoda za analizu pripremljeni su u skladu s uputama opisanim u niže navedenim normama koje se odnose na analize mesa i mesnih proizvoda. Uzorci su homogenizirani primjenom Grindomix GM 200, Retch, tijekom 15 sekundi pri 6000 rpm te pohranjeni u plastične posudice napunjene do



Slika 2. Prikaz proizvodnje domaćih pečenica na poljoprivrednom gospodarstvu

vrha, kako bi se zbog manjeg kontakta sa zrakom usporili procesi kvarenja. Nakon određivanja udjela vode, isti su pohranjeni na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do određivanja ostalih fizikalno-kemijskih svojstava.

Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava

Primjenom validiranih standardnih i internih analitičkih metoda analizirana su fizikalno-kemijska svojstva proizvedenih domaćih mesnih proizvoda. Gravimetrijski je određen udio vode (ISO 1442:1997.) uz uporabu termostata (Epsa 2000, Ba-Ri) i sušenje pri $103\text{ }^{\circ}\text{C}$ te pepela (ISO 936:1998.) spaljivanjem u mufolnoj peći pri $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ (LV9/11/P320, Nabertherm). Sirove masti određene

su metodom po Soxhlet-u (HRN ISO 1443:1999.) uz ekstrakciju masti eterom na uređaju za ekstrakciju (Soxtherm 2000, Gerhardt). Udio sirovih bjelančevina određen je metodom po Kjeldahlu (HRN ISO 937:1999.) uz uporabu bloka za razaranje (Unit 8 Basic, Foss) i uređaja za destilaciju i titraciju (Kjeltec 8400, Foss). Udio kolagena određen je spektrofotometrijski (HRN ISO 3496:1999.), određivanjem udjela hidroksiprolina, korištenjem spektrofotometra (DR/4000U, Hack). Na osnovu udjela sirovih bjelančevina i kolagena računskim putem određen je udio bjelančevina mesa. Titracijskom metodom određen je udio natrijevog klorida (Trajković i sur., 1989.). pH vrijednost izmjerena je pH

metrom (MP220, Mettler Toledo). Sve su kemikalije korištene u analizama bile analitičke čistoće.

U svrhu validacije korištenih analitičkih metoda određena je ponovljivost, unutarlaboratorijska obnovljivost i istinitost. Pri tom je upotrebljavan certificirani referentni materijal konzerviranog mesa T 0149 canned meat (Fapas), s certificiranim vrijednostima udjela vode, sirovih masti, sirovih bjelancevina te hidroksiprolina (kolagena).

Statistička obrada podataka

Statistička je analiza provedena korištenjem programa Statistica Ver. 10 software (StatSoft Inc. Tulsa, OK, 1984-2011, SAD). Za određivanje razlike u fizikalno-kemijskim svojstvima proizvoda primijenjen je One Sample t-Test i ANOVA test, a statistički značajne razlike izražene su na razini vjerojatnosti od 95% ($p \leq 0,05$).

Rezultati i rasprava

Zbog svojih zemljopisnih i klimatskih specifičnosti te bogate povijesti i kulture, Hrvatska ima veliki broj tradicionalnih mesnih proizvoda koji bi standardizacijom kakvoće, povećanjem proizvodnih kapaciteta te daljnjom zaštitom oznakama zemljopisnog podrijetla, tradicije ili izvornosti, trebali postati značajan hrvatski izvozni brand posebice kroz turističku ponudu. Konzumacija tradicionalnih prehrambenih proizvoda koji su vezani za određeno podneblje, za način života, običaje i kulturu nekog lokaliteta sve više privlače potrošače veće kupovne moći. Europska Unija pridaje veliko značenje proizvodnji tradicionalnih prehrambenih proizvoda, jer doprinose održivom razvoju sela, ruralnom turizmu i većem dohotku proizvođača. Tradicionalni

mesni proizvodi, u malim količinama (uglavnom za vlastite potrebe), već se desetljećima proizvode u seoskim domaćinstva posebice u istočnom dijelu Hrvatske (Karolyi, 2011.).

Ranija istraživanja, provedena uglavnom na trajnim tradicionalnim mesnim proizvodima iz domaće proizvodnje, ukazala su na varijabilnost u fizikalno-kemijskim svojstvima, odnosno na značajne razlike u njihovoj kakvoći. S obzirom da za ovu vrstu namirnica nisu definirani standardi kakvoće i uvjeti proizvodnje, domaće tradicionalne mesne proizvode karakterizira neujednačenost sastava, a što je rezultat korištenja različitih receptura, odnosno udjela osnovnih sirovina i dodataka te odstupanja u tehnološkim parametrima tijekom proizvodnje (Kovačević i sur., 2009.). Samo se dio mesnih proizvoda proizvedenih na poljoprivrednim gospodarstvima stavlja na tržište uz prethodni veterinarsko-zdravstveni nadzor i kontrolu kakvoće (Frece i sur., 2010.), često rezultirajući zdravstveno neispravnim mesnim proizvodima, ujedno i loše kakvoće (Kožačinski i sur., 2008.).

U ovom istraživanju, za određivanje fizikalno-kemijskih svojstava proizvedenih tradicionalnih mesnih proizvoda, korištene su validirane analitičke metode. Rezultati validacije analitičkih metoda, dobiveni određivanjem parametra ponovljivosti, unutarlaboratorijske obnovljivosti i istinitosti, prikazani su u tabeli 2. Pri tom su određene niske vrijednosti koeficijenta varijabilnosti ($<5\%$), u skladu sa zahtjevima za kvantitativne analitičke metode (N. N. 2/2005.) te se primijenjene metode mogu smatrati prihvatljivim za određivanje fizikalno-kemijskih svojstava mesnih proizvoda.

Nakon uzorkovanja sirovina od farmskih grla, po opisanim tehnološkim postupcima proizvodnje, na istom poljoprivrednom gospodarstvu,

Tabela 2. Rezultati validacije analitičkih metoda

Validacijski parametar	Srednja vrijednost $\pm$ SD (%)			
	Voda	Ukupna mast	Sirove bjelančevine	Kolagen
Referentna vrijednost	69,5 $\pm$ 0,98	2,50 $\pm$ 0,37	18,22 $\pm$ 0,66	0,60 $\pm$ 0,13
Ponovljivost	69,0 $\pm$ 0,06	2,52 $\pm$ 0,04	18,42 $\pm$ 0,14	0,55 $\pm$ 0,01
Unutarlab. obnovljivost	69,2 $\pm$ 0,14	2,54 $\pm$ 0,07	18,45 $\pm$ 0,11	0,56 $\pm$ 0,02
Istinitost	69,0 $\pm$ 0,03	2,52 $\pm$ 0,01	18,42 $\pm$ 0,05	0,57 $\pm$ 0,02

**Slika 3.** Proizvedeni tradicionalni mesni proizvodi

proizvedene su sirove kobasice (pečenice i primorske kobasice), kuhane kobasice (jetrenjače i krvavice) i trajne kobasice (kulen i domaća salama), dimljene šunke i pancete te su u svakom proizvodu određeni fizikalno-kemijski parametri. Dio proizvedenih mesnih proizvoda dostavljen u laboratorij na analizu prikazan je na slici 3.

Srednje vrijednosti ($\pm$ SD) rezultata udjela vode, sirovih bjelančevina, kolagena, bjelančevina mesa, ukupne masti, pepela, natrijevog klorida i pH vrijednosti prikazane su u tabeli 3. Statistička obrada podataka, uključujući najmanje (min) i najveće (max) vrijednosti analiziranih pokazatelja te pripadajuće koeficijente varijabilnosti (CV), prikazana je u tabeli 4.

Najveći udio vode određen je u rasponu od 64,9% do 69,3% u primorskoj kobasici, a najmanji u kulenu, u rasponu od 24,46% do 26,94%. Ranija su istraživanja provedena na trajnim kobasicama iz domaće proizvodnje odredila prosječnu vrijednost udjela vode od 21,70% u slavonskoj kobasici (Kovačević i sur., 2009.) te 24,79% u različitim vrstama trajnih kobasica (Frece i sur., 2010.). S obzirom na propisanu vrijednost od maksimalno 40% vode u trajnim kobasicama (N.N. 131/2012.), u svim uzorcima kulena određene su vrijednosti niže od propisane, dok je u jednom uzorku domaće salame utvrđen povećani udio vode (41,85%). U ostalim proizvodima, za koje nisu definirani maksimalni udjeli vode, utvrđene su

Tabela 3. Fizikalno-kemijska svojstva tradicionalnih domaćih mesnih proizvoda

Parametar	Pečenica	Primorska ko-basica	Jetrenjača	Krvavica	Kulen	Domaća salama	Dimljena šunka	Pančeta
Voda (%)	57,75±4,06	66,25±1,59	63,07±2,50	61,23±1,48	25,39±1,03 ^a	30,09±6,06a	62,65±3,52	41,28±2,11
Sirove bjelačevine (%)	16,69±0,91	18,23±0,6	18,39±0,89	14,42±0,76	46,96±3,48	31,25±2,95	22,02±1,16	22,68±3,61
Kolagen (%)	1,79±0,21	1,08±0,21	4,14±0,19	3,72±0,69	2,96±0,60	3,70±0,47	0,98±0,19	2,40±0,35
Bjelačevine mesa (%)	14,91±0,74 ^b	17,15±0,89 ^b	14,25±0,85	10,70±0,46	44,00±3,22 ^c	27,55±2,80 ^a	21,04±1,22	20,28±3,59
Ukupna mast (%)	23,25±4,26	12,99±1,84	15,16±2,81 ^a	18,39±2,12 ^a	18,25±5,02	34,43±5,14	9,63±3,88	26,91±3,29
Pepeo (%)	2,10±0,06	2,32±0,15	2,78±0,35	2,75±0,29	5,39±0,28	3,95±0,77	5,68±0,97	9,68±1,23
Natrijev klorid (%)	1,67±0,09	1,83±0,12	2,54±0,30	2,55±0,25	3,75±0,21	3,01±0,63	5,01±0,60	8,39±1,29
pH vrijednost	6,09±0,27	6,05±0,13	5,98±0,01	6,15±0,03	5,38±0,21	5,43±0,20	5,78±0,07	5,88±0,10

Prema Pravilniku (N. N. 131/2012.) ^amax 40% vode; ^bmin 12%, ^cmin 22% i ^dmin 16% bjelačevina mesa; ^emax 35% ukupne masti

Tabela 4. Statistička obrada rezultata fizikalno-kemijskih parametara određenih u tradicionalnim domaćim mesnim proizvodima

Mesni proizvod	Voda (%)			Sirove bjelačevine (%)			Kolagen (%)			Bjelačevine mesa (%)			Ukupna mast (%)			Pepeo (%)			Natrijev klorid (%)			pH		
	min	max	CV	min	max	CV	min	max	CV	min	max	CV	min	max	CV	min	max	CV	min	max	CV	min	max	CV
Pečenica	52,2	60,8	7,04	15,84	18,33	5,47	1,45	2,02	11,88	14,32	16,31	5,00	19,46	29,54	18,31	2,00	2,20	3,03	1,56	1,79	5,27	5,89	6,63	4,50
Primorska kobasica	64,9	69,3	2,41	17,28	18,84	3,78	0,85	1,35	19,88	15,93	17,96	5,20	9,86	15,21	14,18	2,19	2,60	6,59	1,60	1,95	6,80	5,82	6,18	2,13
Jetrenjača	59,3	66,9	3,96	17,19	19,34	4,85	3,86	4,40	4,53	13,11	15,26	5,98	10,93	19,21	18,51	2,17	3,26	12,93	2,09	2,86	11,91	5,96	5,99	0,21
Krvavica	59,9	63,6	2,41	13,16	15,36	5,27	2,37	4,21	18,65	10,00	11,29	4,26	15,86	20,88	11,55	2,41	3,29	10,58	2,21	2,98	9,85	6,12	6,21	0,52
Kulen	24,46	26,94	4,04	42,83	51,96	7,41	2,08	3,68	20,21	39,90	48,28	7,31	12,04	25,43	27,53	4,95	5,71	5,11	3,35	3,96	5,71	5,10	5,67	3,93
Domaća salama	24,51	41,85	20,15	26,34	35,06	9,43	2,99	4,38	12,75	22,88	30,68	10,15	24,83	39,89	14,94	2,93	5,08	19,62	2,17	3,71	20,83	5,03	5,58	3,77
Dimljena šunka	57,59	65,42	5,62	20,66	23,53	5,25	0,76	1,22	19,00	19,90	22,74	5,33	4,74	14,7	40,31	4,58	7,21	17,11	4,05	5,57	11,84	5,69	5,88	1,17
Pančeta	37,72	43,47	5,12	18,25	28,68	15,92	1,92	2,67	14,58	15,61	26,13	17,72	21,78	31,49	12,21	8,26	11,79	12,74	7,06	10,64	15,40	5,77	5,99	1,69

uglavnom vrijednosti karakteristične za pojedinu vrstu proizvoda.

Bjelančevine mesa predstavljaju visokovrijedne bjelančevine, jer sadrže esencijalne aminokiseline. Stoga udio ovog najznačajnijeg sastojka mesnog proizvoda definira kakvoću kao i tržišnu vrijednost samog proizvoda. U ovom je radu određen najveći prosječni sadržaj sirovih bjelančevina u trajnim kobasicama, karakterističan za ovu vrstu proizvoda, s prosječnim udjelom od $46,96 \pm 3,48\%$ u kulenu te $31,25 \pm 2,95\%$ u domaćoj salami. Uzimajući u obzir uporabu vezivnog tkiva tijekom proizvodnje kobasica, određivanjem aminokiseline hidroksiprolina određene su bjelančevine vezivnog tkiva (kolagena). Najveći udio kolagena određen je u skupini toplinski obrađenih kobasica, jetrenjačama ($4,14 \pm 0,19\%$) i krvavicama ($3,72 \pm 0,69\%$) te je u istima određen i najmanji udio bjelančevina mesa.

U istraživanju Kozačinski i sur. (2008.) provedenom na trajnim kobasicama iz domaće proizvodnje, sadržaj sirovih bjelančevina kretao se u rasponu od $15,57\%$ do $39,17\%$, ukazujući na značajnu varijabilnost u sastavu ovih proizvoda. U slavonskoj kobasici određen je udio sirovih bjelančevina $7,54\text{--}34,75\%$ i udio kolagena $0,77\text{--}2,16\%$ (Kovačević i sur., 2009.). Sadržaj sirovih bjelančevina određen u ovom istraživanju u dimljenoj šunki ($22,02 \pm 1,16\%$) bio je manji u odnosu na vrijednosti iz ranijih istraživanja od $29,95 \pm 2,20\%$ (Senčić i sur., 2010.).

Mast je sastojak koji ovoj skupini mesnih proizvoda daje karakteristična svojstva što rezultira specifičnim okusom te pomaže u vezanju različitih sastojaka tijekom procesa proizvodnje (Pavičić, 2012.). U ovom se istraživanju količina ukupne masti kretala od $12,99 \pm 1,84\%$ u primorskoj kobasici do $34,43 \pm 5,14\%$ u domaćoj salami. Prema Pravilniku (N.N. 131/2012.) kuhane kobasice (jetrenjače i krvavice) mogu sadržavati maksimalno 35% ukupne masti. Utvrđeni udio

masti bio je značajno niži od propisane najveće dopuštene količine za ovu vrstu proizvoda, a u skladu s rezultatima ranijih istraživanja i karakterističnim vrijednostima za ovu skupinu proizvoda trajne kobasice sadržavale su najveći udio masti.

U istraživanju provedenom na domaćim slavonskim kobasicama udio masti varirao je od $24,23\%$ do $60,34\%$, a stavljanjem u odnos prosječnih udjela sirovih bjelančevina i masti utvrđena je negativna korelacija (1:1,2) (Kovačević i sur., 2009.). Frece i sur. (2010.) odredili su u trajnim kobasicama sadržaj masti u rasponu od $17,96\%$ do $58,77\%$ te sirovih bjelančevina od $15,57\%$ do $39,17\%$, također ukazujući na negativnu korelaciju udjela bjelančevina i masti (1:1,4) i značajno variranje u kakvoći trajnih mesnih proizvoda iz domaće proizvodnje.

Količina natrijevoga klorida tj. kuhinjske soli za potrošače je jedan od važnijih pokazatelja kakvoće mesnog proizvoda. Prevelika količina soli prikriva druge okuse, a nedovoljna količina uzrokuje njihovu slabiju izraženost (Senčić i sur., 2010.). U dimljenim se šunkama, sadržaj kuhinjske soli kretao u rasponu od $4,05\%$ do $5,57\%$, a što je u okviru vrijednosti ($4\text{--}6\%$) koju navode Živković i Hadžiosmanović (1996.). Senčić i sur. (2010.) odredili su u slavonskoj šunki prosječnu količinu kuhinjske soli višu od preporučenih vrijednosti ($8,37\%$). U ovom je istraživanju najviša količina kuhinjske soli određena u panceti, s minimalnom vrijednošću $7,06\%$ i maksimalnom $10,64\%$, dok su u ostalim proizvodima utvrđene optimalne, odnosno značajno niže količine kuhinjske soli.

pH vrijednost se uobičajeno koristi pri procjeni održivosti mesnih proizvoda, koji se mogu smatrati trajnim s pH vrijednošću manjom od $5,0$, pokvarljivim s pH od $5,0$ do $5,2$ te brzo pokvarljivim s pH većom od $5,2$ (Kovačević, 2001.; Incze, 2007.). U ranijim istraživanjima, određena

je prosječna pH vrijednost od 5,35 u slavonskoj kobasici (Kovačević i sur., 2009.) te 5,63 u slavonskoj šunki (Senčić i sur., 2010.). Karolyi (2009.) je u drniškom pršutu odredio pH raspon od 5,85 do 5,97. Trajne kobasice i suhomesnate proizvode, u odnosu na ostale vrste mesnih proizvoda, karakterizira proces dugog sušenja pri čemu se snizuje pH vrijednost, što utječe na snažno konzervirajuće djelovanje i specifična svojstva ukusa ovih proizvoda (Kovačević, 2001.). U ovom radu, u skladu s navedenim literaturnim podacima i ovisno o vrsti proizvoda, najniža prosječna pH vrijednost određena je u trajnim kobasicama (5,38 u kulenu i 5,43 u domaćoj salami) te 5,78 u dimljenoj šunki i 5,88 u panceti.

Primjenom ANOVA testa u svim proizvedenim domaćim mesnim proizvodima, osim u kuhanim kobasicama, određena je statistički značajna razlika u sadržaju natrijevog klorida ($p \leq 0,05$) obzirom na promatrane skupine proizvedenih mesnih proizvoda. Utvrđeno je i da unutar istih podskupina proizvedenih domaćih kobasica u odnosu na pojedine parametre osnovnog fizikalno-kemijskog sastava postoji statistički značajna razlika ($p \leq 0,05$) što se pripisuje samim recepturama kobasica. Kobasice za pečenje tj. domaća pečenica i primorska kobasica statistički se značajno razlikuju po svim analiziranim parametrima (voda, sirove bjelančevine, mast, pepeo, kolagen, bjelančevine mesa i NaCl) te se jedino statistički značajno ne razlikuju ($p \geq 0,05$) obzirom na izmjerene pH vrijednosti. Unutar kategorije kuhanih kobasica statistički značajna razlika ($p \leq 0,05$) određena je u pogledu sadržaja sirovih bjelančevina i masti. Kulen i domaća salama tj. trajne kobasice statistički se značajno nisu razlikovale ($p \geq 0,05$) po analiziranim pokazateljima, osim po određenom udjelu vode.

Primjenom One Sample t-testa utvrđeno je da ne postoji statistički

značajna razlika ($p \geq 0,05$) unutar istih vrsta proizvoda, s obzirom na određene srednje vrijednosti promatranih pokazatelja fizikalno-kemijskog sastava, a što se u ovom radu može obrazložiti ujednačenom proizvodnjom tj. identičnom recepturom i tehnološkim procesom proizvodnje svake pojedine vrste domaćeg mesnog proizvoda. Pri tom je najveća varijabilnost ($CV > 20\%$) određena za sadržaj ukupne masti u dimljenoj šunki (40,31%), natrijevog klorida (20,83%) i vode (20,15%) u domaćoj salami te u pogledu udjela kolagena u kulenu (20,21%).

Na kakvoću tradicionalnih mesnih proizvoda mogu utjecati različiti čimbenici kao što su: genotip svinja, način držanja i hranidbe tovljenika, predklaonički postupci i uvjeti nakon klanja grla, što utječe na kakvoću svježeg mesa te nadalje odabir sirovog mesa i masnog tkiva, dodatak soli i začina, ali i uvjeti tijekom fermentacije, dimljenja, sušenja i zrenja (Karolyi, 2011.). Sve navedeno može pridonijeti raznolikosti karakteristika tj. kakvoće gotovih proizvoda, s obzirom na uobičajeno različite uvjete uzgoja i karakteristike životinja te uvjete proizvodnje svakog poljoprivrednog gospodarstva. Kako bi potrošači ipak dobili željena, odnosno karakteristična svojstva tradicionalnih mesnih proizvoda i osigurala se ujednačenost kakvoće ovih namirnica, potrebno je pridržavati se osnovnih normativa proizvodnje koji utječu na krajnju kakvoću i ispravnost proizvoda te odrediti standarde koji se odnose na fizikalno-kemijska svojstva ovih proizvoda.

Zaključak

U domaćim mesnim proizvodima proizvedenim po tradicionalnim recepturama na poljoprivrednom gospodarstvu u gotovo identičnim proizvodnim uvjetima, analizirana su fizikalno-kemijska svojstva.

Određivanjem udjela vode, sirovih masti i bjelančevina, kolagena, bjelančevina mesa, pepela, natrijevog klorida te pH vrijednosti karakterizirane su različite, ujedno najzastupljenije vrste mesnih proizvoda, a dobiveni rezultati dali su daljnji doprinos za definiranje svojstava tradicionalnih mesnih proizvoda iz domaće proizvodnje.

Iako rezultati ovog, kao i ranije objavljenih istraživanja, upućuju na različitost fizikalno-kemijskih svojstava domaćih mesnih proizvoda po pojedinoj vrsti proizvoda, nije uočena statistički značajna varijabilnost. Rezultati pokazuju da se u gotovo identičnim uvjetima proizvodnje na poljoprivrednom gospodarstvu može postići standardiziranost proizvodnje, odnosno ujednačenost u sastavu i kakvoći domaćih tradicionalnih mesnih proizvoda, ukoliko se u proizvodnji koriste grla uzgojena u istim farmskim uvjetima te iste proizvodne recepture, tehnoloških operacija i pokazatelja.

Sažetak

U Hrvatskoj se tijekom zimskih mjeseci na poljoprivrednim gospodarstvima tradicionalno proizvode različite vrste domaćih mesnih proizvoda. Ovu vrstu proizvoda karakterizira neujednačenost u fizikalno-kemijskim svojstvima, odnosno kakvoći, zbog nestandardizirane proizvodnje, odnosno različitosti tradicionalnih receptura domaćinstva i tehnoloških postupaka proizvodnje. U ovom istraživanju, nakon farmskog uzgoja grla na poljoprivrednom gospodarstvu, proizvedeno je osam vrsta najzastupljenijih tradicionalnih mesnih proizvoda: sirove (pečenica i primorska kobasica), kuhane (krvavica i jetrenjača) i trajne (kulen i domaća salama) kobasice te polutrajni suhomesnati proizvodi (dimljena šunka) i trajna slanina (panceta). Proizvedenim domaćim mesnim proizvodima (n=48) analizirana su fizikalno-kemijska svojstva, određivanjem udjela vode, sirovih masti i bjelančevina, kolagena, bjelančevina

mesa, pepela, natrijevog klorida te pH vrijednosti. Dobiveni rezultati dali su daljnji doprinos u karakterizaciji svojstava najzastupljenijih tradicionalnih mesnih proizvoda iz domaće proizvodnje. Iako je utvrđena varijabilnost svojstava, nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) po vrsti tradicionalnog domaćeg mesnog proizvoda. Istraživanjem je utvrđeno da uzgoj grla u istim farmskim uvjetima te primjena istih proizvodnih receptura, tehnoloških operacija i pokazatelja u proizvodnji na poljoprivrednom gospodarstvu, rezultira uglavnom ujednačenim sastavom, odnosno kakvoćom domaćih tradicionalnih mesnih proizvoda.

Literatura

1. FRECE, J., J. PLEADIN, K. MARKOV, N. PERŠI, V. DUKIĆ, D. ČVEK I F. DELAŠ (2010): Mikrobna populacija, kemijski sastav i mikotoksini u kobasicama s područja Varaždinske županije. *Vet. stn.* 41, 189-198.
2. HEINZ, G. and P. HAUZINGER (2007): Meat processing technology for small – to medium – scale producers. Bangkok: Food and agriculture organization of the United nations regional office for Asia and the Pacific.
3. HRN ISO 1443 (1999): Meso i mesni proizvodi – Određivanje ukupne količine masti.
4. HRN ISO 3496 (1994): Meso i mesni proizvodi – Određivanje količine hidroksiprolina.
5. HRN ISO 937 (1999): Meso i mesni proizvodi – Određivanje količine dušika.
6. INCZE, K. (2007): European products. In: TOLDRÁ, F. (Ed.) Handbook of fermented meat and poultry. Blackwell Publishing, Ames, Iowa (307-318).
7. ISO 1442 (1997): Meat and meat products – Determination of moisture content.
8. ISO 936 (1998): Meat and meat products – Determination of total ash.
9. KAROLYI, D. (2011): Fizikalno-kemijska, higijenska i organoleptička karakterizacija slavonskog kulena. *Meso XIV*, 423-429.
10. KOVAČEVIĆ, D. (2001): Kemija i tehnologija mesa i ribe. Prehrambeno tehnološki fakultet. Osijek: Grafika Osijek.
11. KOVAČEVIĆ, D., K. SUMAN, D. ŠUBARIĆ, K. MASTANJEVIĆ and S. VIDAČEK (2009): Investigation of homogeneity and physicochemical characterisation of homemade Slavonian sausage. *Meso XII*, 338-344.
12. KOZAČINSKI, L., M. HADŽIOSMANOVIĆ, Ž. CVRTILA FLECK, N. ZDOLEC, I. FILIPOVIĆ I Z.

- KOZAČINSKI (2008): Kakvoća trajni kobasica i češnjovki iz individualnih domaćinstava. *Meso* XI, 45-52.
13. KROPF, D. H. (2007): Fresh and frozen pork color. In: NOLLET, L. M. L.: *Handbook of meat, poultry and seafood quality*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa (377-393).
 14. PAVIČIĆ, Ž. (1997): Kolinje i mesni specijaliteti. Zagreb: Gospodarski list.
 15. PAVIČIĆ, Ž. (2004): Domaće kobasice od izrade do jela. Zagreb: Gospodarski list.
 16. PAVIČIĆ, Ž. (2012): Proizvodnja kobasica u kućanstvu za vlastite potrebe. *Meso* XV, 394-399.
 17. PAVIČIĆ, Ž. i M. OSTOVIĆ (2008): Proizvodnja kobasica u kućanstvu za vlastite potrebe. *Meso* XI, 369-373.
 18. Pravilnik o mesnim proizvodima. Ministarstvo poljoprivrede (NN 131/2012.).
 19. Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva (NN 2/2005.).
 20. RUIZ, J. (2007): Ingredients. In: *Handbook of fermented meat and poultry*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa (59-76).
 21. SENČIĆ, Đ., M. ŠKRIVANKO, D. KOVAČEVIĆ, D. SAMAC i J. NOVOSELEC (2010): Fizikalno-kemijska i senzorska svojstva slavonske šunke. *Meso* XIII, 88-91.
 22. TRAJKOVIĆ, J., J. BARAS, M. MIRIĆ i S. ŠILER (1983): *Analize životnih namirnica*. Beograd, Tehnološko-metalurški fakultet.
 23. ŽIVKOVIĆ, J. (1986): Higijena i tehnologija mesa, II. dio Kakvoća i prerada. Zagreb: Veterinarski fakultet Zagreb.
 24. ŽIVKOVIĆ, J. i M. HADŽIOSMANOVIĆ (1996): *Suhomesnati proizvodi*. Veterinarski priručnik. Zagreb: Medicinska naklada.

Characterization of the physico-chemical properties of traditional homemade meat products

Nina PERŠI, BSc, PhD, Junior Researcher, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Dragan KOVAČEVIĆ, BSc, PhD, Full Professor, Faculty of Food Technology, Osijek; Dinka MILIĆ, DVM, PhD, Swine farm Dubravica

During the winter months in Croatia, family households traditionally produce different kinds of homemade meat products. This type of meat product is characterized by a lack of uniformity in quality and physico-chemical properties, as a result of non-standardized production, diversity of traditional recipes and technological operations in homemade meat production. In this study, after the farming and slaughter of animals, eight of most common types of meat products were made in the traditional way based on different recipes: raw (roast sausages and Mediterranean roast sausages), cooked (blood sausages and liverwursts), dry-cured fermented sausages (kulen pepper sausage and homemade sausage), semi dry-cured meat products (smoked ham) and dry-cured meat products (bacon). The

produced homemade meat products ($n = 48$) were analyzed for their physico-chemical properties, through the determination of moisture, crude fat and protein, collagen, meat protein, ash, sodium chloride, and pH. The obtained results provided a further contribution in the characterization of the most common characteristics of homemade traditional meat products. In this study, there were no statistically significant differences ($p > 0.05$) in the type of traditional homemade meat products, despite the variability of the determined properties. This study shows that farming animals under similar conditions, applying the same traditional recipes, technological operations and parameters in household production resulted mainly in a homogeneous composition and quality of traditional homemade products.

Značenje identifikacije kralježnjaka u sudskom veterinarstvu

K. Severin, P. Džaja, M. Novokmet, D. Konjević,
 Snježana Kužir, Andrea Gudan Kurilj, Ivana Furač, M. Kubat
 B. Mioč, N. Zdolec, E. Šatrović i Ž. Grabarević



Uvod

S vremena se na vrijeme u sudsko-veterinarskoj praksi pojavljuje potreba za prepoznavanjem pojedinih obilježja u životinja, njihovih proizvoda, produkata i tragova koji omogućuju nesumnjivo i neosporno identifikaciju na razini životinjske vrste ili čak jedinke. Brojna su obilježja koja se mogu promatrati, a njihov broj ovisi o promatranom objektu koji glede sudskog veterinarstva može biti: živa životinja ili lešina, dio tijela (npr. kost/i, koža, krzno, ljuske riba i gmazova), odbačeni dio tijela (npr.: koža zmije, rogovlje pripadnika porodice jelena), proizvod životinjskog podrijetla (npr.: mlijeko, jaja, meso) i biološki trag (npr.: dlaka, perje, krv, slina, mokraća). Razumije se da će identifikacija vrste biti jednostavnija ukoliko se radi o cijeloj lešini ili živoj životinji za koju ćemo moći, s obzirom na morfološka obilježja vrste, nepobitno reći o kojoj se vrsti radi, za razliku od proizvoda životinjskog podrijetla, odnosno biološkog traga gdje je potrebno primijeniti zahtjevnije metode identifikacije kao što su: histološke metode prepoznavanja tkiva i tjelesnih tekućina, molekularne

metode dokaza vrsnospecifičnih bjelančevina, molekularne metode analize deoksiribonukleinske kiseline (DNK) i dr. U određenim slučajevima, s obzirom na okolnosti i promatrani objekt, identifikacija neće biti moguća, osim vrsne identifikacije, koja ima za cilj utvrđivanje pripadnosti promatranog traga određenoj životinjskoj vrsti. Treba napomenuti da se često u sudskom veterinarstvu zahtijeva utvrđivanje podudarnosti traga s točno određenom jedinkom. Navedena, individualna identifikacija je zahtjevnija, jer su metode prije svega ograničene na analizu jezgrine (nDNK) i/ili mitohondrijske DNK (mtDNK), što je u međuovisnosti s vrstom uzorka, odnosno s dostatnom količinom DNK u uzorku. Neovisno o kojoj se identifikaciji radi, vrsnoj ili individualnoj, ne smiju se pri tome izuzeti postojeća stečena obilježja, odnosno oznake kao što su: ušne markice, ogrlice, prstenovi, mikročipovi ili bolusi s elektronskim transponderom koje se nalaze na ili u životinji, a koji znatno olakšavaju utvrđivanje identiteta životinje. Životinje se označava bilo zbog zakonskih obveza posjednika, uzgajivača, odnosno vlasnika

Dr. sc. Krešimir SEVERIN, dr. med. vet., docent, dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Dean KONJEVIĆ, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Snježana KUŽIR, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Andrea GUDAN KURILJ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Nevijo ZDOLEC, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; Mislav NOVOKMET, mag. mol. biol., Laboratorij za analizu DNA, Genos; dr. sc. Ivana FURAČ, dipl. ing. kem., dr. sc. Milovan KUBAT, dr. med., redoviti profesor, Medicinski fakultet, Zagreb; dr. sc. Edin ŠATROVIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, BiH; dr. sc. Boro MIOČ, dipl. ing. agr., redoviti profesor, Agronomski fakultet, Zagreb

životinje koji su dužni označiti određene vrste domaćih životinja, kućnih ljubimaca i zaštićenih divljih životinja držanih u zatočeništvu ili zbog potreba istraživanja na slobodno živućim jedinkama (prikupljanje podataka o kretanjima označenih jedinki). Zahtjevi za identifikacijom proizlaze iz potreba za rješavanjem kaznenih, parničnih i upravnih postupaka, kontrola i sljedivosti proizvoda životinjskog podrijetla te potvrda čistokrvnosti, odnosno pedigree uzgojnih životinja. U ovome radu, osim što će biti riječi o zahtjevima za identifikacijom, metodama identifikacije i vrstama bioloških uzoraka koji se identificiraju, osvrnut ćemo se i na postupanje s uzorcima, odnosno njihovo osiguravanje, kao i na vjerodostojnost rezultata s obzirom na primijenjenu metodu i laboratorij u kojem se postupak izvodi.

Najčešći zahtjevi za identifikacijom životinja

Svakom je veterinaru dobro znano da je točna identifikacija životinje ili lešine ključna za klinički pregled, odnosno razudbu. Nisu rijetki sudski predmeti u kojima se utvrđuje identitet sporne životinje, odnosno u kojima se potvrđuje radi li se o istoj liječenoj, prodanoj ili kupljenoj, odnosno nađenoj ili izgubljenoj životinji. Isto se tako ne bi trebalo izuzeti postupak identifikacije životinja tijekom veterinarskog pregleda u unutarnjem prometu ili u prometu preko granice Republike Hrvatske. Takvim se identifikacijskim pregledom utvrđuje usklađenost dokumenata sa službenim oznakama na i u životinji. Naime, prema odredbama Zakona o veterinarstvu (Anonymus, 2007.) propisano je obvezno označavanje: goveda, ovaca, koza, svinja, kopitara i pasa koje se detaljnije uređuje nizom podzakonskih akata u čijim se odredbama detaljnije opisuju način i postupak označavanja. Propisano se označavanje provodi na različite načine ovisno o vrsti životinja. Tako se primjerice pse označava mikročipom koji se postavlja

u potkožje, s lijeve strane, u središnjem području vrata životinje. Svinje i goveda se označava ušnom markicom koja se u svinja stavlja na desnu, a u goveda na obje uške, dočim se ovce i koze istovremeno označava ušnom markicom koja se stavlja na desnu ušku i bolusom elektronskog transpondera koji se aplicira peroralno. Pored gore navedenih oznaka, u pojedinim vrsta uzgojno vrijednih životinja nalazimo tetovirni broj s unutarnje strane lijeve uške i to u skladu s propisima koji su doneseni na temelju prethodno spomenutog zakona i Zakona o stočarstvu (Anonymus, 1997., Anonymus, 2003., Anonymus, 2006.). Isto tako, Zakon o zaštiti prirode (Anonymus, 2005., Anonymus, 2008., Anonymus, 2011.a) propisao je obvezno označavanje strogo zaštićenih i zaštićenih životinja koje vlasnici namjeravaju držati u zatočeništvu te divljih životinja koje se privremeno drže u zatočeništvu, a koje se po oporavku ili liječenju namjerava pustiti natrag u prirodu. Shodno tome, svi živi kralježnjaci se označavaju mikročipom, osim ptica koje se označavaju zatvorenim nožnim prstenom. Uvijek treba uzeti u obzir da životinja može biti označena bez obzira što ne postoji zakonska obveza označavanja. Dobro je znano da vlasnici kućnih ljubimaca (uključujući egzotične životinje), koji nemaju tu obvezu, često označavaju svoje životinje upravo radi lakšeg pronalaska izgubljene ili potvrde vlasništva, ukoliko životinju pronađe treća osoba. U tu se svrhu životinje najčešće označavaju mikročipom koji je, nedvojbeno, najbolji način da se osigura trajno označavanje i sigurna identifikacija pojedinih životinja (Cooper i Cooper, 2007.). Identifikacija na temelju oznaka najveće značenje ima kod individualne identifikacije žive životinje, dok će kod lešine ovisiti o stadiju postmortalnog raspadanja. Naime, kada nastupi faza potpunog raspadanja (lat. *decompositio*) lešine teško je s potpunom sigurnošću reći da je nađena oznaka (ušna markica, čip, ogrlica...) pripadala upravo toj lešini.

Za razliku od individualne identifikacije živih životinja ili lešina često puta nema potrebe za utvrđivanjem vrsne pripadnosti, ukoliko se radi o dobro poznatim vrstama životinja, a koje će se na temelju morfoloških obilježja lako prepoznati. Veći problem bit će utvrđivanje vrsne pripadnosti sa stajališta uzgoja manje uobičajenih vrsta, poput divljih životinja, od kojih se to posebice odnosi na nama egzotične vrste. Dodatno, te su vrste nerijetko zaštićene s različitom kategorijom ugroženosti. U tom slučaju preporuča se napraviti fotografiranje i osnovne morfometrijske izmjere na temelju kojih ćemo pouzdanije utvrditi o kojoj se točno vrsti radi. Preporuča se istodobno uzimanje uzoraka, kao što su: bris sluznice obraza, dlake ili perja s korijenom, na temelju kojih ćemo uz pomoć analize DNK ili drugih metoda (histološka analiza tkiva, osobitosti dlake ili perja, utvrđivanje vrsnospecifičnih bjelančevina...) nepobitno potvrditi vrsnu pripadnost.

Često se zahtijeva identifikacija na temelju djelića tkiva, dlake, kosti, lubanje, odbačenog rogovlja, zuba, jaja ptica i gmazova, i sl., pomoću kojih je potrebno utvrditi kojoj vrsti pripadaju, a u najboljem slučaju da bi se dokazala pripadnost točno određenoj jedinki. S jedne strane može se raditi o biološkim tragovima, ali i o proizvodima životinjskog podrijetla ili o dijelovima tijela koji mogu biti i odbačeni od živih životinja (koža zmije, rogovlje). U jednom i u drugom primjeru može se raditi o istim uzorcima. No, glavno pitanje koje se postavlja je od kuda uzorci potječu, odnosno tko zahtijeva postupak utvrđivanja te radi li se o postupanju od strane sudskih (kazneni i prekršajni postupak) i upravnih (upravni postupak-inspekcijski nadzor) tijela ili pak vlasnika životinje, odnosno uzgajivača (potvrda čistokrvnosti uzgojnih životinja).

Pod pojmom trag sa stanovišta kriminalistike smatra se svaka vidljiva ili golom oku nevidljiva materijalna promjena nastala na mjestu događaja, žrtvi ili na

počinitelju, u svezi s počinjenjem kaznenog djela ili u povodu njega (Vodinelić i Aleksić, 1990.). Sukladno tome, tragovi su materijalni dokaz koji može samostalno i objektivno povezati osumnjičenog, odnosno žrtvu s objektom ili mjestom kriminalnog događaja ili povezati osumnjičenog sa žrtvom (Anđelinović i sur., 2008.). Postoje brojne vrste tragova (biološki, kemijski, fizikalni i ostali) od kojih je s našeg gledišta najznačajniji biološki trag. Općenito, u svijetu pa tako i u Hrvatskoj, najčešće se od bioloških tragova identificiraju tragovi ljudskog podrijetla (kao npr. tragovi krvi, dlake, sjemenske tekućine, sline) s ciljem sprječavanja, otkrivanja i razjašnjenja kaznenih djela i njegovih počinitelja. Poglavitno kada su u pitanju kaznena djela pobrojana u Kaznenom zakonu (Anonymus, 2011.b), poput: kaznenog djela protiv života i tijela, protiv spolne slobode i spolnog ćudoreda te protiv imovine. U novije se vrijeme sve češće, u cilju razjašnjenja takvih kaznenih djela, pridaje važnost pronalasku tragova koji pripadaju životinjama (najčešće je riječ o dlakama psa, mačke ili nekih drugih kućnih ljubimaca), a koji se mogu dovesti u svezu s počiniteljem kaznenog djela. Razlog tome leži u činjenici da su ljudi često vrlo bliski sa svojim ljubimcima, tako da se njihova dlaka lako može naći na odjeći, po kući, u automobilu (Čurić i Lauc, 2008.). Dakako, i drugi uzorci kao što su: krv, izmet, mokraća i slina domaćih i divljih životinja mogu postati dokaz, ukoliko je žrtva ili osumnjičenik (izravno i neizravno) došla u kontakt s njima (Yost i Burke, 2007.). Najpoznatiji, a ujedno i prvi poznati slučaj u kojem je trag životinjskog podrijetla bio poveznica osumnjičenika za ubojstvo i mjesta zločina, je iz 1994. pod nazivom *Snowball* (Menotti-Raymond i sur., 1997.). Naime, na kožnoj jakni uprljanoj krvlju žrtve i pronađenoj na mjestu ubojstva izuzeto je nekoliko primjeraka bijele dlake. Analizom jezgrine DNK primjenom deset specifičnih mikrosatelitskih biljega mačke utvrđeno je da su dlake pripadale mački koja je živjela s počiniteljem kaznenog

dijela. Kako se mačka zvala *Snowball*, tako je cijeli slučaj dobio ime po kućnom ljubimcu. Još jedan zanimljiv slučaj je onaj serijskog ubojice Wayne Williamsa koji je osuđen za ubojstva dvadeset troje djece u Atlanti početkom osamdesetih godina prošlog stoljeća, gdje je nakon 26 godina državno odvjetništvo dopustilo obnovu procesa s obzirom da su postojale indicije da nađene pseće dlake uz pet žrtava ne odgovaraju njemačkom ovčaru, psu optuženog serijskog ubojice, a koje su bile jedan od dokaza. Nakon provedene analize dokazana je podudarnost u hipervarijabilnoj HVI 1 regiji mitohondrijske DNK u svim uzorcima. Unatoč tome što se radilo o metodi slabije pouzdanosti, naime istovjetni slijed nukleotida može se naći u jednog od ukupno sto pasa, došlo se do zaključka da se vjerojatno radi o dlaci psa koja je pripadala psu optuženoga te se dokaz nije mogao osporiti (Wictum i sur., 2008.). U navedenim slučajevima, kaže se da je životinja „svjedok“, jer se pomoću njenih tragova/dokaza povezuje osumnjičenik i žrtva, odnosno osumnjičeni i mjesto zločina. Osim spomenutog, životinjski tragovi mogu pomoći u rješavanju kaznenih dijela gdje se životinje promatra kao „počinitelji“ ili kao „žrtve“ (Yost i Burke, 2007.). Identifikacija životinje koja je napala, a time ozlijedila ili usmrtila drugu životinju ili čovjeka, jedan je od čestih slučajeva forenzičkog ispitivanja. Mnogi od tih napada, prije svega na životinjama, ostanu neriješeni ukoliko ne postoji svjedok koji je uočio životinju koja je napala. No, kako nakon napada gotovo uvijek, na žrtvi i/ili na mjestu napada, ostaju tragovi poput: sline, dlake, nerijetko i krvi životinje koja je počinila napad postoji velika vjerojatnost da će se „počinitelj“ pronaći (Clarke i Vandenberg, 2010.). Stoga, postupanje može ići u smjeru potvrde ili isključenja životinje za koju se sumnja da je napala (od koje se mogu uzeti uzorci za usporedbu) ili utvrđivanje kojoj životinjskoj vrsti pripadaju tragovi, ako nemamo sumnjivu životinju. Moguća je i

individualizacija traga te naknadna usporedba s tragovima nađenim kod drugih žrtava kada životinja koja je počinila napad nije poznata. Iako je dobro poznato da najveći broj napada u kojima počinitelj nije poznat počinje psi ne bi se smjela isključiti mogućnost napada od drugih vrsta zvijeri, poglavito ako za to postoje pretpostavke i odgovarajuće ozljede na žrtvi (Berger i sur., 2008.). U mnogim državama pa tako i u našoj, propisana je isplata naknade štete na domaćim životinjama za koje se smatra da su je prouzročile životinje strogo zaštićenih divljih svojti. Isplati naknade štete u Republici Hrvatskoj, prethodi vještačenje od strane ovlaštenih vještaka koji pri utvrđivanju i procjeni štete mogu, na primjer, zahtijevati identifikaciju nađenih bioloških tragova kako bi se dokazalo ili isključilo počinjenje štete od strane strogo zaštićene zvijeri poput sivog vuka ili euroazijskog risa. Dakako, postupak se identifikacije može zatražiti i ako se sumnja na vrstu koja nije strogo zaštićena. U tom slučaju štetu će isplatiti ili vlasnik/posjednik životinje ili onaj koji njome gospodari (npr. štetu koju počinu mrki medvjed ili primjerice čagalj dužni su nadoknaditi ovlaštenici prava lova koji gospodare navedenom vrstom u skladu s lovnogospodarskom osnovom i ako je šteta počinjena na području lovišta). Naposljetku, životinja koja se promatra kao „počinitelj“ je i ona u slučaju naleta vozila na životinju (prije svega se radi o divljači i životinjama zaštićenih svojti dok rjeđe o domaćim životinjama i kućnim ljubimcima). Kada se govori o postupanjima koja su usmjerena prema identifikaciji promatrane životinje kao „žrtve“ tada treba naglasiti da, u današnje vrijeme, ona ima veliko značenje, jer se ponajprije radi o postupcima vezanim za inspekcijski nadzor nad primjenom zakona koji se odnose na trgovinu, zaštitu, dobrobit i očuvanje različitih životinjskih vrsta. Prethodno treba razmotriti s aspekta zaštite ugroženih i rijetkih životinjskih vrsta te, s druge strane, s aspekta zaštite

životinja u širem smislu. U svijetu je nezakonita trgovina divljim životinjama postala sve veći problem. Unatoč tome što su brojne države, uključujući i Hrvatsku, potpisnice Konvencije o međunarodnoj trgovini ugroženim vrstama divljih životinja i biljaka (engl. *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* - CITES) te su propisale zakone i podzakonske akte kojima su utvrđene stroge kazne za prekršitelje, nezakonita trgovina divljim vrstama je u stalnom porastu. Prema nekim izvješćima, promet se od nezakonite trgovine životinjama na godišnjoj razini, u svijetu, procjenjuje na oko 15-20 milijardi američkih dolara što je svrstava na treće mjesto profitabilnosti u kategoriji kriminalnih radnji, odmah iza trgovine oružjem i drogom (Neme, 2009.). Pored toga, veći dio nezakonite trgovine čine dijelovi tijela ili proizvodi koji se koriste u tradicionalnoj medicini (rog nosoroga, kosti tigra, žuč medvjeda, peraje raža i sl.), u izradi odjevnih i ukrasnih predmeta (krzno raznih sisavaca, koža raznih guštera i zmija, runo tibetanske antilope, kljove afričkog i azijskog slona i sl.), i u spravljanju gastronomskih delicija u „elitnim restoranima“ (morske kornjače i njihova jaja, meso raznih ptica, riba i sisavaca i sl.). Iz prethodnog je jasno vidljivo kako dijelovi tijela, proizvodi, ali i biološki tragovi (npr. krv, dlaka/perje, komadići tkiva na mjestu počinjenog krivolova ili dlaka/perje i tjelesne izlučevine u prijevoznim sredstvima koja su se koristila u krijumčarenju) mogu vrlo lako postati materijalni tragovi koji zahtijevaju pouzdane i točne metode utvrđivanja životinjske vrste. Često identifikacija uzorka predstavlja veliki izazov s obzirom da se proizvodima životinja koja su promijenila svoja svojstva (ljekoviti pripravci u tradicionalnoj medicini, ukrasni predmeti od različitih dijelova tijela) pa neće biti dostatno upotrijebiti samo jednu metodu identifikacije već se uz primjerice, metode analize jezgrine i mitohondrijske DNK zahtijevaju i druge

metode kao što su: histološka karakterizacija, utvrđivanje vrsno specifičnih bjelančevina i sl. (McGraw i sur., 2012.). U tom slučaju traži se postizanje visoke pouzdanosti postupka identifikacije tj. da se s velikom sigurnošću može reći kako trag pripada određenoj vrsti, što se i postiže primjenom više metoda. Nije naodmet spomenuti kako osim identificiranja vrste, kada se radi o ugroženim i zaštićenim životinjama, postupanja mogu biti usmjerena i prema utvrđivanju zemljopisnog podrijetla vrste (populacijska genetika) ili prema utvrđivanju radi li se o životinji koja je uzgojena ili koja je uhvaćena u divljini, jer se katkada mjere određene zakonom i drugim propisima odnose samo na vrste životinja s određenog područja ili na jedinke iz divljine (Ogden, 2009.). U novije vrijeme postupci identifikacija imaju sve veću primjenu u otkrivanju, a potom i u postupanju prema osobi koja se okrutno odnosi prema životinjama, odnosno kada usmrti životinju bez opravdanog razloga ili je teško zlostavlja, nanosi joj nepotrebne boli ili je izlaže nepotrebnim patnjama. Najbolji primjer za to su brojna postupanja kojima se otkrivaju protuzakonite borbe životinja. Najčešće se radi o borbama psa s psom, psa s divljom svinjom ili psa s jazavcem koje su zabranjene u gotovo svim razvijenim zemljama svijeta, dok su borbe pijetlova i borbe bikova u nekim zemljama još uvijek dio tradicije te su zbog toga i dopuštene. U Sjedinjenim Američkim Državama se otišlo toliko daleko u iskorjenjivanju borba pasa da je potaknuto osnivanje sustava arhiviranja DNK-podatka koji se naziva CANINE CODIS (engl. *Combined DNA Index System*). Taj je sustav uspostavio Laboratorij za veterinarsku genetiku, Veterinarskog fakulteta UC Davis, Kalifornijskog Sveučilišta. Navedeni sustav sadrži DNK-profile svih pasa koji su zaplijenjeni tijekom postupka istrage borbe pasa, kao i profile iz nepoznatih tragova (krv, slina, rjeđe dlaka) prikupljenih na mjestima za koja se sumnja da su na njima održane

borbe pasa. Sustav djeluje prije svega preventivno, jer zahvaljujući njemu istražitelji lako ustanove povezanost s osobama koje se bave uzgojem i obučavanjem pasa za borbu (Imwinkelried, 2010., Scharnhorst i Kanthaswamy, 2011.). Slični sustavi individualne identifikacije koji se temelje na određenom broju visokospecifičnih mikrosatelitskih biljega imaju veliko značenje u uzgojnim programima kako visokoproduktivnih životinja tako i kućnih ljubimaca i športskih životinja. Mikrosateliti kao genetski biljezi u uzgojnim programima prihvaćeni su na međunarodnoj razini, a ISAG (engl. *International Society of Animal Genetics*) je odredio setove biljega za svaku vrstu kao i referentne laboratorije u kojima se provodi analiza. Naime, dobivanje DNK profila jedinke, „*genetske iskaznice*“, predstavlja trajnu istinitost genetskog identiteta čime je omogućena provjera srodstva s drugim jedinkama (Ivanković, 2005.). U posljednje vrijeme kada se radi o visokovrijednim životinjama nerijetko se traži provjera rodoslovlja putem DNK profila tj. utvrđivanje istinitosti pedigreea (specijalno jamstvo kao preduvjet kupoprodaje, ustanovljenje prijevarne radnje kao preduvjet razvrgnuća kupoprodaje). Naposljetku kada govorimo o identifikaciji kralježnjaka treba spomenuti njezino značenje u veterinarskom javnom zdravstvu kroz sustav nadzora i kontrole hrane životinjskog podrijetla i hrane za životinje. Radi se, prije svega o utvrđivanju točnog podrijetla, odnosno sastava gore navedene hrane dok je praćenje sljedivosti (od gotovog proizvoda do životinje od koje/kojih potječe) s našeg gledišta manjeg značenja. Potreba za poznavanjem podrijetla hrane proizlazi iz: religijskih razloga, alergija na hranu, straha od genetski modificiranih organizama ili bolesti kao što su razne transmisivne spongiformne encefalopatije životinja te zbog nesavjesnosti nekih proizvođača koji namjerno netočno deklariraju hranu (određene skuplje sirovine životinjskog podrijetla zamjenjuju jeftinijima) (Pascal i Mahe, 2001., Teletchea i sur., 2005.).

Tradicionalne se metode utvrđivanja podrijetla hrane oslanjaju na prepoznavanju morfoloških obilježja pojedinih tkiva životinja što je katkad iznimno teško zbog procesa prerade hrane u kojima se ta obilježja mijenjaju. Kao rezultat toga, u većoj primjeni su metode identifikacije sastava hrane životinjskog podrijetla na temelju analize DNK, dok je analiza izoliranih bjelančevina pomoću elektroforetskih i imunoloških metoda u nešto manjoj uporabi zbog niske specifičnosti kada zbog postupka obrade sirovina (termička obrada, soljenje, zračenje, visoki pH), dolazi do strukturnih promjena bjelančevina (Bottero i Dalmasso, 2011.). Navedeni postupci obrade, zbog mogućeg jakog razaranja DNK, utječu i na informativnost mikrosatelitnih biljega jezgrine DNK poradi čega se koriste drugi molekularni biljezi u analizi, ponajprije, mitohondrijska DNK (citokrom B, hipervariabilna regija) (Teletchea i sur., 2005.).

Biološki uzorci i metode identifikacije

U prethodnom smo se dijelu osvrnuli na moguće zahtjeve za identifikacijom i pritom spomenuli neke od metoda s obzirom na vrstu, individualnu i populacijsku identifikaciju te utvrđivanje podrijetla (roditeljstva) životinja. Iz prikazanoga je jasno vidljivo kako vrste bioloških uzoraka ovise o okolnostima slučaja što uvjetuje odabir metode identifikacije. Ako izuzmemo živu životinju ili svježu lešinu čiji se identitet najčešće utvrđuje izravno prepoznavanjem prirodnih i stečenih oznaka, identifikacija bioloških uzoraka je zahtjeva, ponekad otežana dugotrajnim i složenim postupcima. Dakako, okolnosti u kojima su uzorci uzeti mogu biti različite bilo da se radi o postupanju istražitelja na mjestu događaja na kojem se dogodilo kazneno djelo (napad psa na čovjeka pri čemu se utvrđuje podudarnost traga sline sa sumnjivom životinjom, sekundarni

prijenos dlake kućnog ljubimca čiji je vlasnik počinitelj nekog kaznenog djela) postupanju veterinarskog inspektora u inspekcijskom nadzoru (utvrđivanje podrijetla mesa za kojega se sumnja da je krivo deklarirano, utvrđivanje identiteta jedinke i uspoređivanje s tragovima krvi na mjestu na kojem je održana borba pasa radi zaštite životinja) ili postupanju od suda određene stručne osobe za potrebe rješavanja parničnog postupka (utvrđivanja podrijetla životinje za koju se jamči da potječe od visokovrijednih roditelja). S obzirom na navedeno, uzorke možemo podijeliti na nesporne (poznate) i sporne (nepoznate). Nesporni su primjerice, oni uzorci koje se uzima od životinje za koju se sumnja da je „počinitelj“ ili „žrtva“ te od životinje čije se podrijetlo utvrđuje. Radi se o najprikladnijim uzorcima, jer su izuzeti ciljano i u tolikoj količini da se očekuju pouzdani rezultati. Primjerice, ako se radi o individualnoj identifikaciji primjenom metode analize nDNK setom mikrosatelitskih biljega, utvrđivanje pripadnosti traga točno određenoj jedinki ili srodnost jedinke s drugom, najprikladniji uzorci od živih životinja bili bi: krv (svježa krv u EDTA dobivena venepunkcijom), bris sluznice usne šupljine, dlake (10-20 iščupanih dlaka s korijenom). S druge strane, sporni uzorci su oni koji su pronađeni na mjestu događaja, a nepoznatog su podrijetla. Često ne možemo utjecati na njihovu količinu, no možemo na očuvanost takvog uzorka, a time i na uspješnost identifikacije. Loša pohrana uzorka može dovesti do njegove degradacije i neupotrebljivosti. Stoga se svakom prikupljanju i pohrani uzorka (biološkog traga) mora pristupiti s naročitom pažnjom. Uzorak se mora pravilno opisati u zapisniku o očevidu s obzirom na količinu, stanje i mjesto nalaska te nakon što je pravilno uzet i spremljen dostaviti u laboratorij u kojem će se na odgovarajući način obraditi po standardiziranoj i prihvaćenoj metodi (Zečević, 2004.). Bez obzira što se radi



Slika 1. Kolektor za prikupljanje bukalnih stanica (bris sluznice usne šupljine) za izolaciju DNK.

o postupanjima koja nemaju jednaku važnost kao ona kod kaznenih djela protiv života i tijela, s uzorcima se treba postupati na način da se osigura njihova cjelovitost i sljedivost u prikupljanju, pohrani i analizi od strane službenih osoba (odgovornost policijskih djelatnika, službenih osoba suda, veterinarskih inspektora i veterinarskih djelatnika) (Linacre i sur., 2011.). Drugim riječima, svako postupanje s uzorcima od strane svih uključenih mora biti evidentirano i dokumentirano kronološkim slijedom, kako bi se osigurala vjerodostojnost nalaza po izvršenoj analizi, odnosno, mora se osigurati tzv. lanac nadzora (engl. *Chain of Custody*).

Metodama se identifikacije potrebno služiti planski primjenjujući različite postupke koji će, međusobnim upotpunjavanjem, povećati uspješnost identifikacije (Definis-Gojanović, 2008.).

Istodobnom primjenom više metoda jača se dokazna snaga izvedenog materijalnog dokaza što je katkada i potrebno, napose ako to zahtijeva slučaj (Cooper i Cooper, 2007.). Iako se daje prednost molekularnim metodama analize DNK, koje su potencijalno vrlo korisne i svakako najtočnije metode identifikacije, ne bi se smjelo zanemariti korištenje metoda kao što su identifikacija na temelju morfoloških obilježja dlake sisavaca, kože gmazova, ljuske riba, perja ptica, jaja ptica i gmazova te kostiju i zuba kralježnjaka koja su često dostatne, jer ispunjavaju svoju svrhu. Pored toga, izvođenje takve analize ne zahtijeva veća financijska sredstva (Linacre i Tobe, 2009.). U morfološkoj identifikaciji presudnu ulogu ima stručnjak (veterinar praktičar, specijalist područja veterinarske anatomije i histologije, arheozoolog, paleontolog) koji će na temelju osobite građe i oblika tkiva/bioloških uzoraka moći utvrditi kojoj životinjskoj vrsti pripadaju. Jasno je da se radi o poprilično subjektivnoj metodi čija vjerodostojnost nalaza ovisi o znanju i iskustvu stručnjaka. Danas su od velike pomoći standardizirani protokoli za pojedina tkiva koji uključuju: pripremu, makroskopsko i mikroskopsko određivanje te morfometrijska mjerenja. Ponekad se u identifikaciji izvodi poredbeni analiza u kojoj istraživani uzorak (kost, zub, perje) uspoređujemo s referentnim uzorcima iz zooloških zbirki kakve primjerice nalazimo u prirodoslovnim muzejima ili fakultetima. Analiza je dlaka zasigurno najzastupljenija metoda u morfološkoj identifikaciji, ponajprije stoga što je dlaka najčešći dokaz životinjskog podrijetla (Tridico, 2005.). Dlake je lako naći na mjestima na kojima je životinja boravila ili predmetima s kojima je došla u dodir zbog neprekidne izmjene stare dlake novom koja je u nekih životinjskih vrsta intenzivnija u određena godišnja doba (proljeće/jesen). U znatnoj je mjeri otporna na okolišne uvjete te uz kosti i zube ostaje najdulje sačuvano tkivo u procesu raspadanja lešine. Neka od obilježja dlake na temelju kojih se one razlikuju među vrstama su: boja, izgled

presjeka, duljina i debljina dlake, zatim specifičnosti u građi kutikule, kore i srži, oblik korijena te raspored pigmenta i zrnatost. Isto tako, analiza kostura ili pojedinačnih koštanih ostataka vrlo brzo i pouzdano može pružiti podatke, ne samo o vrsti, nego i o spolu i dobi u trenutku uginuća te samom trenutku uginuća. Vrlo se često utvrđuju zaživotne ili postmortalne ozljede, a ponekad upućuju i na sam uzrok uginuća, a naročito je korisna metoda kod nalaza većeg broja leševa na istom mjestu zbog razvrstavanja i pripreme za daljnje analize. U slučajevima kada je predmet identifikacije uzorak koji nema morfološka obilježja koja bi ga razlikovala (krv, slina, mokraća, izmet i druge tjelesne izlučevine) ili ih je gotovo nemoguće prepoznati zbog unapredovanih postmortalnih promjena, odnosno postupaka obrada (ljekoviti pripravci tradicionalne medicine, ukrasni predmeti, prerađeni proizvodi životinjskog podrijetla) neophodno je upotrijebiti molekularne metode identifikacije. Među njima, one koje su isprva korištene, bile su: makromolekularne analize (npr. kromatografija visokodjelotvornosti (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC) hemoglobina, zasićenih i nezasićenih masnih kiselina) i imunološke metode koje potencijalno mogu biti korisne u identifikaciji vrste (Andrasko i Rosen, 1994., Hsieh i sur., 1998., Czesny i sur., 2000.). Danas, neke od njih nalaze svoju svrhu kao jednostavne orijentacijske metode koje mogu određenim stupnjem vjerojatnosti potvrditi vrsnu pripadnost nekog tkiva/tekućine. Najbolji primjer je dokazivanje podrijetla krvi analizom vrsnospecifičnih bjelančevina pomoću imunološkog precipitacijskog testa. U tu se svrhu koristi antiserum (antihumani, antipseć, antikonjski) koji s određenim bjelančevinama krvi daje reakciju taloženja. I naposljetku, kada govorimo o molekularnim metodama treba naglasiti kako je najrašireniji i najprecizniji način identifikacije pomoću metoda analiza DNK.

Metode analize DNK

Napredak molekularne biologije i molekularne tehnike (razlučivost i specifičnost) danas olakšavaju određivanje vrste, a omogućuju i prelazak na razinu utvrđivanja jedinke o kojoj je riječ (Čurić i Lauc, 2008.). Teško je pobrojiti sve molekularne tehnike koje su danas u uporabi stoga ćemo se osvrnuti na najznačajnije s obzirom na zahtjeve istražitelja za rješavanjem pojedinačnog slučaja prema predlošku kojeg je dao Ogden (2012.) (tabela 1.). Iz tabele se jasno uočava kako su ciljane molekule koje analiziramo, s obzirom na zahtjev, nDNK i/ili mtDNK. Zašto je tako najbolje je objasniti u nekoliko rečenica uspoređujući njihove karakteristike koje su relevantne za molekularnu identifikaciju na temelju analize DNK. Nuklearna ili jezgrina DNK je smještena u više linearnih tvorbi, tzv. kromosomima, koji se nalaze u jezgri i nosi osnovnu genetsku informaciju. Radi se o vrlo dugačkoj dvolančanoj molekuli koja, ovisno o vrsti kralježnjaka broji od $0,39 \times 10^9$ do 130×10^9 parova baza (npr. čovjek $\sim 3,2 \times 10^9$, pas $\sim 2,38 \times 10^9$, miš $\sim 2,7 \times 10^9$, riba zebrića $\sim 1,8 \times 10^9$) te predstavlja 99,75% ukupne DNK po stanici. Svaka somatska stanica eukariota ima diploidan broj kromosoma (humani genom ima 22 para autosoma i jedan par spolnih kromosoma) od kojih je polovica naslijeđena od oca, a polovica od majke. Jedino spolne stanice (spermij i jajna stanica) sadržavaju upola manje kromosoma, odnosno haploidan broj. Sa stanovišta molekularne identifikacije od osobitog je značenja činjenica da u DNK postoje ponavljajući kraći ili dulji sljedovi čiji je broj ponavljanja različit među jedinkama iste vrste, osim kada se radi o jednojajčanim blizancima. Mitohondrijska DNK prisutna je u mitohondrijima stanice u vrlo velikom broju. Procjenjuje se da normalna jajna stanica sadržava oko 100 000 kopija dok ostale, somatske stanice sadržavaju od dvjestotinjak do više od 1700 kopija mtDNK. Radi se o kružnoj dvolančanoj

haploidnoj DNK molekuli koja se kod većine kralježnjaka sastoji od 16 - 18 000 parova baza. U njezinom slijedu razlikujemo dva osnovna dijela: jedan kodirajući dio koji u sisavaca sadrži 37 gena (22 gena kodiraju transportnu RNK, 2 kodiraju ribosomsku RNK, a 13 kodiraju glasničku RNK za enzime uključene u proces oksidativne fosforilacije i proizvodnje adenozintrifosfata) i drugi nekodirajući dio nazvan kontrolna regija ili hipervarijabilna regija (HV). U kontrolnoj se regiji nalazi i ishodišno mjesto za replikaciju. Molekule mtDNK repliciraju se neovisno jedna o drugoj za razliku od jezgrinih kromosoma kod kojih prvo dođe do replikacije DNK, a sparivanje i rekombinacija gena nastaje u mejozi I, ne postoji mehanizam rekombinacije mtDNK. Mutacije se koje mogu nastati tijekom replikacije ne ispravljaju posredstvom enzima kao što je to slučaj kod nDNK čime je evolucija mnogo brža pa se analizom mtDNK mogu diferencirati i identificirati bliske vrste (stopa mutacija je 5 do 10 puta veća nego kod nDNK). Jedna od značajki mtDNK jest nasljeđivanje po majčinoj liniji (slijed nukleotida potomstva istovjetan je onomu njihovih majki). Razlog tome je što jajna stanica ima nekoliko tisuća mitohondrija i stotine tisuća kopija mtDNK, a spermij samo nekoliko mitohondrija. Isto tako, dokazani su i neki specifični mehanizmi koji prepoznaju i uklanjaju tih nekoliko kopija očinske mtDNK ako dospiju u citoplazmu zigote. Iako su poznate i neke iznimke, ispravno je koristiti se pravilom da se mtDNK nasljeđuje po majčinskoj liniji. Osim što se u svakoj stanici nalazi veći broj molekula mtDNK ona je zbog dvoslojne mitohondrijske membrane daleko bolje zaštićena od npr. bakterijske razgradnje za razliku nDNK koja je podložnija degradaciji. Ukoliko su na uzorke djelovali čimbenici koji su doveli do degradacije nDNK kao što su: neodgovarajuće pohranjeni uzorci, stari i arhivski uzorci, uzorci tkiva lešine u koje su uznapredovali procesi raspadanja, uzorci koji su prerađeni

(proizvodi životinjskog podrijetla, proizvodi tradicionalne medicine) kada je teško ili gotovo nemoguće izolirati kvalitetan materijal za analizu nDNK i jedino preostaje analiza mtDNK. Isto tako, mtDNK ima još jednu prednost, a to je da je nalazimo u tkivima koje ne sadrže jezgre kao što je npr. dlaka bez korijena (Primorac i sur., 2009., Butler, 2010.).

Za najveći broj molekularnih protokola neophodno je osigurati umnažanje (amplifikaciju) određenog ulomka kako bi se on mogao analizirati. Lančana reakcija polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) je upravo takva tehnika, zbog čega je postala neprocjenjiva u molekularnoj biologiji (Ogden, 2011.). Ova je tehnika revolucionirala način rada s genetskim biljezima omogućujući umnažanje ciljnih sekvenci u tisuće do milijune kopija. Time je omogućena analiza ne samo uzoraka koji sadrže izrazito male količine DNK nego uzoraka u kojima je DNK djelomično degradirana što i nije rijedak slučaj u postupcima identifikacije. Sastavni je dio mnogih protokola u kojima se koriste i druge tehnike kao npr.: RFLP (engl. *Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP - polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata), RAPD (engl. *Random Amplified Polymorphic*, RAPD - nasumično umnožena polimorfna DNK). Druga je metoda, koja od velike važnosti za molekularnu identifikaciju je sekvenciranje (metoda određivanja slijeda nukleotida). Najčešće se koristi za utvrđivanje slijeda nukleotida pojedinih regija mtDNK nakon što su one umnožene (Severin i sur., 2011.).

Vrsna identifikacija

Molekularna se identifikacija vrste oslanja na izolaciju i analizu prikladnih biljega DNK koji pokazuju dovoljnu varijabilnost između vrsta (posebice prema onim najbližijim), uglavnom su konzervirani u vrsta te imaju slabe varijacije unutar vrste s obzirom na geografsku rasprostranjenost. Najčešće proučavani i korišteni biljezi su regije

pojedinih gena mtDNK, osobito citokrom B (cyt B), i citokrom oksidaza podjedinica I (COI), jer se upravo brzina njihovih mutacije podudara s brzinom evolucije vrsta. Sekvenciranje odabranih biljega te naknadno uspoređivanje s poznatim referentnim sekvencama jedna je od najčešće korištenih metoda. Pritom su od velike pomoći referentne baze podataka za komparativno pretraživanje, a time i identificiranje vrste, kao što su tri baze podataka (GenBank National Center for Biotechnology Information (NCBI) / European Nucleotide Archive (ENA) / DNA Database of Japan-DDBJ) pod okriljem međunarodne suradnje „*International Nucleotide Sequence Database Collaboration*“ (INSDC, www.insdc.org) te BOLD baza organizacije „*Consortium Barcoding for Life*“ (CBOL, www.barcodinglife.com). Jasno je da će duljina sekvenci koju analiziramo biti presudna za točnu identifikaciju. Za vrste čije su sekvence dobro zastupljene u bazama uobičajeno je da će se naći 100% podudarnost između ispitivane i referentne sekvence, u protivnom se može potvrditi podudarnost u nešto manjem postotku, npr. 98,5% te se tada traži znanje stručnjaka područja molekularne biologije/filogenije koji će na temelju iskustva dati mišljenje o podudarnosti. U srodnih vrsta podudarnost u slijedu može biti od 90 do 95% ili više (Ogden i sur., 2009.). Sekvencioniranjem imamo na raspolaganju cijeli slijed nukleotida koji se često puta, među vrstama, razlikuje u tek pokojem nukleotidu. Naime, radi se o polimorfizmu koji se zasniva na zamjeni samo jedne baze u slijedu promatrane sekvencije poznat kao polimorfizam jednog nukleotida (engl. *Single Nucleotide Polymorphism* - SNP). Navedena spoznaja je omogućila korištenje jednostavnijih, jeftinijih i od prije poznatih metoda kao što je analiza RFLP pri čemu nema potrebe za cjelokupno sekvencioniranje ciljanog gena te razvoj metode analize kraćih sekvenci određenog gena SNP tipizacijom (Ogden, 2012.).

Individualna identifikacija

Kao i kod identifikacije ljudi, opće prihvaćeni standard individualne identifikacije životinja temelji se na analizi kratkih tandemski ponavljajućih sekvenca (engl. *Short Tandem Repeats* – STR) unutar nDNK, odnosno analizi jezgrinih mikrosatelitskih ponavljanja. Radi se o vrlo informativnim biljezima (slijed nukleotida od 2-6 pb) koji se razlikuju po broju ponavljanja. Budući da je broj ponavljanja varijabilan, varijabilna je i ukupna duljina alela, tj. alel na nekom mikrosatelitskom lokusu definiran je brojem ponavljanja (Ristov Ambriović i sur., 2007.). U diploidnih vrsta, kao što su kralježnjaci, dvije kopije svakog mikrosatelitskog biljega prisutne su u svake jedinke. Ako su obje kopije iste duljine za jedinku se kaže da je homozigot (ima identične alele na određenom lokusu na paru homolognih kromosoma), a ako su kopije različite duljine jedinka je heterozigot (ima dva različita alela na određenom lokusu na paru homolognih kromosoma). Analizom većeg broja lokusa karakterističnih za određenu životinjsku vrstu postiže se visoka moć razlučivanja što je temelj za dobivanje jedinstvenog DNK-profila jedinke. U tu svrhu, odabiru se genetski lokusi koji su polimorfni, specifični za vrstu i koji nisu smješteni na istom kromosomu (Butler, 2012.). Razumljivo, što je veći broj promatranih lokusa to je manja vjerojatnost da ćemo imati isti DNK-profil različitih jedinki. Navedeno je postignuto razvojem multipleks STR-analize kojom je omogućeno istodobnim promatranjem više od 10 STR-lokusa. Danas su poznati različiti STR-lokusi za pojedine vrste životinja. Mnogi su od njih okarakterizirani s mogućim brojem mikrosatelitskih ponavljanja po provedenom utvrđivanju njihove valjanosti (Linacre i sur., 2011.). Za neke vrste, kao što su: psi, mačke, konji, goveda, ovce, koze i svinje predloženi su setovi mikrosatelitskih biljega te su na raspolaganju gotovi komercijalni kompleti za identifikaciju jedinki. S obzirom da

je za neke od njih izračunata učestalost alelnih varijanta za svaki pojedini STR-lokus, na temelju analize DNK-profila reprezentativne populacije, moguće je rezultate provedene STR-analize izraziti na dva načina: kao učestalost utvrđenog DNK-profila jedinke u stanovitoj populaciji ili kao vjerojatnost identiteta. (Butler, 2012.).

Utvrđivanje podrijetla (roditeljstva) životinja

Vodeći se spoznajom da se genetski biljezi nasljeđuju s jedne generacije na drugu lako je doći do zaključka da se DNK-profil, dobiven analizom stanovitog broja STR-mikrosatelitskih lokusa, može upotrijebiti za potvrđivanje ili isključivanje roditeljstva tj. podudarnosti između potomka i roditelja. Da bi se potvrdila podudarnost, aleli utvrđeni u DNK-profilu potomka moraju biti prisutni i u DNK-profilima navodnih roditelja, i to jedan alel po biljegu svakog roditelja osim ako se ne radi o mutaciji genetskog biljega kada može imati alel koji nije prisutan kod jednog od roditelja. Udio se mutacije koji je specifičan za određeni genetski biljeg (lokus) može izračunati na temelju provedenih analiza učestalosti mutacija velikog broja DNK-profila populacije. Navedeno je temeljito istraženo za genetske biljege koji se koriste za profiliranje ljudi (Vicard i sur., 2008., Li i sur., 2011.) dok za životinje relativno slabo, osim za pse (DeNise i sur., 2004.) i neke proizvodne životinje. Stoga za druge, napose divlje životinje (Dawnay i sur., 2009.), s obzirom na podatak da kod istraživanih vrsta udio mutacija iznosi oko 10^{-3} po generaciji za set korištenih STR-lokusa, preporučuju da bi se roditeljstvo trebalo isključiti ako se uporabom desetak u dva STR-lokusa uoče aleli koji nisu prisutni u roditelja.

Populacijska identifikacija

Riječ je o razlikovanju skupina jedinki iste vrste koja nastanjuje određeni

prostor (geografsko podrijetlo). Primjena genetskih biljega koji omogućuju vrsnu ili individualnu identifikaciju relativno je jednostavna, jer su njihove razlike dobro definirane. S druge strane, populacija je skupina jedinki koje, osim što se međusobno mogu razmnažati, mogu se razmnažati i s jedinkama druge populacije. Ova moguća razmjena genetskog materijala znači da genetski biljezi pokazuju puno manju, diskretniju razliku među populacijama (Ogden i sur., 2009.). Populacije mogu uključivati više različitih razina genetskih varijacija u rasponu od populacija koje su znatno (ograničene izmjena gena) do onih koje su slabo distancirane (izražena izmjena gena). U prvom se slučaju radi o populacijama koje su izolirane zahvaljujući geografskim preprekama koje sprječavaju migraciju (otoci, planinski lanci, veliki vodotoci, morski kanali). Kako nema razmjene gena, kroz određeno vremensko razdoblje, dolazi do evolucijske razdiobe koja se očituje diferenciranjem umjereno različitih genetskih biljega s obzirom na populaciju. U znatno distanciranih populacija utvrđene su varijacije HV regije mtDNK što je upotrijebljeno u populacijskoj identifikaciji (Jobin i sur., 2008., Fickel i sur., 2012.). U nedostatku tih varijacija, što je uočeno između populacija kod kojih postoji stalna izmjena gena, razlikovanje je moguće postići samo na temelju učestalosti

pojedinih alela. Utvrđivanje učestalosti alela u promatranim populacijama može se provesti analizom STR-lokusa (Zenke i sur., 2011.) ili SNP analizom (Rengmark i sur., 2006.). Preduvjeti su za njihovu primjenu u forenzičkim istraživanjima ustanovljenje genetskih baza podataka koje pružaju uvid u reprezentativne alele i učestalosti genotipa za sve potencijalne populacije te statistička obrada podataka koja osigurava kvantitativnu podršku pri svrstavanju jedinke određenoj populaciji (Ogden, 2009.).

Vjerodostojnost rezultata identifikacijskih postupaka

Svaki bi identifikacijski postupak, koji se izvodi u sudske tj. forenzične svrhe, trebao imati za posljedicu dobivanje vjerodostojnog rezultata čime bi se osiguralo stjecanje nepobitnog materijalnog dokaza. Da bi se navedeno i ostvarilo, neophodno je svaku fazu postupanja (prikupljanje, dostava i obrada uzorka; metoda analize; statistička obrada i interpretacija rezultata) pomno razmotriti i uzeti u obzir sve čimbenike koji mogu utjecati na njih, a time i na rezultate. Upravo zato analitičke metode koje se koriste u postupku identifikacije, prije uporabe i valjanog korištenja moraju biti prethodno ispitane postupkom validacijskog istraživanja u kojem se ustanovljuju izvedbene značajke

Tabela 1. Sažeti prikaz mogućih zahtjeva za identifikacijom i raspoložive metode analize DNK koje se mogu koristiti za njihovo rješavanje (adaptirano prema: Ogden, 2012.)

Zahtjev za identifikacijom	Kojoj vrsti pripada?	Odakle potječe?	Odgovara li poznatoj jedinki?	Istinitost/potvrda podrijetla za koji se predstavlja!
	Vrsna identifikacija	Populacijska identifikacija	Individualna identifikacija	Utvrđivanje podrijetla (roditeljstva)
Na čemu se temelji identifikacija	Utvrđivanje stalnih razlika	Utvrđivanje razlika u frekvenciji alela	Utvrđivanje podudaranja profila	Isključivanje temeljem uočenih razlika
Ciljana DNK molekula	mtDNK	mtDNK/nDNK	nDNK	nDNK
Analiza DNK	sekvenciranje SNP	sekvenciranje mikrosateliti SNP	mikrosateliti	mikrosateliti

(mogućnosti) metode i njena ograničenja, kao i prepoznavanje čimbenika koji mogu utjecati na izvedbene značajke metode, nakon čega slijedi provjera izvedbe metode u uvjetima određenog laboratorija te, u konačnici, utvrđivanje standardnog izvedbenog postupka (DesPortes, 2011.). Rijetko su kada metode prvotno razvijene za forenzične svrhe, a češće su proizašle iz znanstvenih istraživanja kojima to nije bio primarni cilj, a u kojima su prepoznate može bitne koristi te su iskorištene u razvoju metoda navedene primjene (npr. veliki broj molekularnih metoda analiza DNK proizašle su iz genetičkih, populacijskih i konzervacijskih istraživanja). Nerijetko se u znanstvenim radovima naglašava da se spoznaje dobivene istraživanjima mogu koristiti i u forenzične svrhe što ne znači da su one same po sebi garancija za ostvarivanje vjerodostojnih rezultata (Ogden i sur., 2009.). Treba imati na umu da će svaki rezultat identifikacijskog postupka, bilo da se radi o sudskom postupku ili inspeksijskom nadzoru, biti pomno razmotren od stranki u postupku (prije svega onih kojima ne idu u prilog) te će se tražiti stanovita garancija vjerodostojnosti. Da bi se ona ostvarila potrebno je ispuniti preduvjete kao što je validacija i standardizacija metode te osiguranje sustava kakvoće u laboratorijima u kojima će se izvoditi postupci identifikacije.

Sažetak

Potreba za prepoznavanjem obilježja kod životinja, njihovih produkata i tragova na temelju kojih bi se moglo nepobitno tvrditi radi li se o točno određenoj jedinki, pripadniku neke vrste ili populacije, danas sa stanovišta sudskog veterinarstva ima sve veće značenje. Uzimajući tu činjenicu u obzir, u ovom su članku razmotreni najznačajniji zahtjevi za identifikacijom kroz potrebe za rješavanjem kaznenih, parničnih i upravnih postupaka, kontrola i sljedivosti proizvoda životinjskog podrijetla te potvrda čistokrvnosti, odnosno pedigrea uzgojnih životinja. Ujedno je

prikazano što sve može biti predmet identifikacije (od živih životinja i njihovih stečenih obilježja, preko lešina i dijelova tkiva, do tjelesnih izlučevina, prerađenih proizvoda i predmeta životinjskog podrijetla) i koja su moguća ograničenja. Pritom se ukazuje na važnost takvog postupanja s uzorcima koje bi osiguralo cjelovitost i sljedivost u prikupljanju, pohrani i analizi. U radu su najvećim dijelom razmotrene različite molekularne metode analize DNK s obzirom na zahtjeve postupanja (vrсна, individualna i populacijska identifikacija te utvrđivanje roditeljstva). No, nisu zaobiđene metode kao što su morfološko prepoznavanje tkiva, makromolekularne i imunološke metode koje itekako mogu biti korisne, prije svega, kao orijentacijske metode, no, katkada su dostatne, jer ispunjavaju svoju svrhu. Naposljetku, naglašava se kako je za svaki identifikacijski postupak, koji se izvodi u sudske svrhe, potrebno ispuniti preduvjete kao što je: validacija i standardizacija korištene metode te osiguranje sustava kakvoće u laboratorijima, što će u konačnici, imati za posljedicu dobivanje vjerodostojnog rezultata čime se osigurava stjecanje nepobitnog materijalnog dokaza.

Literatura

1. ANDELINOVIĆ, Š., M. DEFINIS-GOJANOVIĆ i D. SUTLOVIĆ (2008): Mjesto događaja i analiza tragova nađenih u kriminalističkoj obradi. U: PRIMORAC, D. i D. MARJANOVIĆ: Primjena analize DNA u sudskoj medicini i pravosuđu. Medicinska naklada, Zagreb (73-96).
2. ANDRASKO, J. and B. ROSEN (1994): Sensitive identification of hemoglobin in bloodstains from different species by high performance liquid chromatography with combined UV and fluorescence detection. J. Forensic Sci. 39, 1018-1025.
3. Anon. (1997): Zakon o stočarstvu. Narodne novine, broj 70/1997.
4. Anon. (2003): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o stočarstvu. Narodne novine, broj 151/2003.
5. Anon. (2005): Zakon o zaštiti prirode. Narodne novine, broj 70/2005.
6. Anon. (2006): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o stočarstvu. Narodne novine, broj 132/2006.
7. Anon. (2007): Zakon o veterinarstvu. Narodne novine, broj 41/2007.
8. Anon. (2008): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o zaštiti prirode. Narodne novine, broj 139/2008.
9. Anon. (2011a): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o zaštiti prirode. Narodne novine, broj 57/2011.

10. Anon. (2011b): Kazneni zakon. Narodne novine, broj 125/2011.
11. BERGER, B., C. EICHMANN and W. PARSON (2008): Forensic Canine STR Analysis. In: COYLE, H. M.: Nonhuman Forensic DNA Typing: Theory and Casework Applications. CRC Press, Boca Raton (45-68).
12. BOTTERO, M. T. and A. DALMASSO (2011): Animal species identification in food products: evolution of biomolecular methods. *Vet. J.* 190, 34-38.
13. BUTLER, J. M. (2010): Fundamentals of Forensic DNA Typing. Burlington: Academic Press-Elsevier.
14. BUTLER, J. M. (2012): Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. Waltham, San Diego, London: Academic Press-Elsevier.
15. CLARKE, M. and N. VANDENBERG (2010): Dog attack: the application of canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic. Sci. Med.* 6, 151-157.
16. COOPER, J. E. and M. E. COOPER (2007): Introduction to Veterinary and Comparative Forensic Medicine. Oxford: Blackwell Publishing.
17. CZESNY, S., K. DABROWSKI, J. E. CHRISTENSEN, J. V. EENENNAAM and S. DOROSHOV (2000): Discrimination of wild and domestic origin of sturgeon ova based on lipids and fatty acid analysis. *Aquaculture* 189, 145-153.
18. ČURIĆ, G. i G. LAUC (2008): Forenzična analiza DNA životinjskog porijekla. U: PRIMORAC, D. i D. MARJANOVIĆ: Primjena analize DNA u sudskoj medicini i pravosuđu. Medicinska naklada, Zagreb (59-72).
19. DAWNAY, N., R. OGDEN, J. H. WETTON, R. S. THORPE and R. MCEWING (2009): Genetic data from 28 STR loci for forensic individual identification and parentage analyses in 6 bird of prey species. *Forensic Sci. Int. Genet.* 3, 63-69.
20. DEFINIS-GOJANOVIĆ, M. (2008): Postupci i metode pri identifikaciji ljudskih ostataka. U: PRIMORAC D. i D. MARJANOVIĆ: Primjena analize DNA u sudskoj medicini i pravosuđu. Medicinska naklada, Zagreb (59-72).
21. DeNISE, S., E. JOHNSTON, J. HALVERSON, K. MARSHAL, D. ROSENFELD, S. MCKENNA, T. SHARP and J. EDWARDS (2004): Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American kennel club breeds using 17 canine microsatellite markers. *Anim. Genet.* 35, 14-17.
22. DesPORTES, B. L. (2011): Validation of Forensic Science Techniques: Principles and Procedures. In: JAMIESON, A. and MOENSSSENS A.: *Wiley Encyclopedia of Forensic Science*. Wiley, (<http://onlinelibrary.wiley.com>).
23. FICKEL, J., O. A. BUBLIY, A. STACHE, T. NOVENTA, A. JIRSA and M. HEURICH (2012): Crossing the border? Structure of the red deer (*Cervus elaphus*) population from the Bavarian-Bohemian forest. *Mamm. Biol.* 77, 211-220.
24. HALVERSON, J. and C. BASTEN (2005): A PCR multiplex and database for forensic DNA identification of dogs. *J. Forensic. Sci.* 50, 352-363.
25. HSIEH, Y. H., S. C. SHEU and R. C. BRIDGMAN (1998): Development of a monoclonal antibody specific to cooked mammalian meats. *J. Food Prot.* 61, 476-481.
26. IMWINKELRIED, E. J. (2010): Canine DNA - University of California, Davis - School of Law. Criminal Law Bulletin, UC Davis Legal Studies Research. Paper No. 206.
27. IVANKOVIĆ, A. (2005): Uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji. *Stočarstvo* 59, 121-144.
28. JOBIN, R. M., D. PATTERSON and Y. ZHANG (2008): DNA typing in populations of mule deer for forensic use in the Province of Alberta. *Forensic. Sci. Int. Genet.* 2, 190-197.
29. LI, H. X., D. Y. TONG, H. L. LU, X. L. OU, W. J. CHEN, Y. M. ZHANG, S. J. LIU, Y. CHEN and H. Y. SUN (2011): Mutation analysis of 24 autosomal STR loci using in paternity testing. *Forensic Sci. Int. Genet.* 3, 159-160.
30. LINACRE, A., L. GUSMÃO, W. HECHT, A. P. HELLMANN, W. R. MAYR, W. PARSON, M. PRINZ, P. M. SCHNEIDER and N. MORLING (2011): ISFG: Recommendations regarding the use of non-human (animal) DNA in forensic genetic investigations *Forensic. Sci. Int. Genet.* 5, 501-505.
31. LINACRE, A. and S. S. TOBE (2009): Species Identification Using DNA Loci. In: LINACRE, A.: *Forensic Science in Wildlife Investigations*. Boca Raton, London, New York: CRC Press. (61-94).
32. McGRAW, S. N., S. P. KEELER and J. E. HUFFMAN (2012): Forensic DNA Analysis of Wildlife Evidence. In: HUFFMAN, J. E., J. R. WALLACE: *Wildlife Forensics: Methods and Applications*. Wiley-Blackwell, Oxford (253-270).
33. MENOTTI-RAYMOND, M. A., V. A. DAVID and S. J. O'BRIEN (1997): Pet cat hair implicates murder suspect. *Nature* 386, 774.
34. NEME, L. A. (2009): *Animal Investigators*. New York: Scribner Publishers.
35. OGDEN, R. (2009): DNA Profiling Markers in Wildlife Forensic Science. In: LINACRE, A.: *Forensic Science in Wildlife Investigations*. Boca Raton, London, New York: CRC Press. (96-125).
36. OGDEN, R. (2011): Unlocking the potential of genomic technologies for wildlife forensics. *Mol. Ecol. Resour.* 11, 109-116.
37. OGDEN, R. (2012): DNA Applications and Implementation. In: HUFFMAN, J. E., J. R. WALLACE: *Wildlife Forensics: Methods and Applications*. Wiley-Blackwell, Oxford (271-292).
38. OGDEN, R., N. DAWNAY and R. MCEWING (2009): Wildlife DNA forensics: bridging the gap between conservation genetics and law enforcement. *Endangered Species Res.* 9, 179-195.
39. PASCAL, G. and S. MAHE (2001): Identity, traceability, acceptability and substantial equivalence of food. *Cell. Mol. Biol.* 47, 1329-1342.
40. PRIMORAC, D., D. PRIMORAC, S. S. BUTORAC i M. ADAMOVIĆ (2009): Analiza DNA u sudskoj medicini. *Hrvatski ljetopis za kazneno pravo i praksu* 16, 3-26.
41. RENGMARK, A. H., A. SLETTAN, Ø. SKAALA, Ø. LIE and F. LINGAAS (2006): Genetic variability in wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) strains estimated by SNP and microsatellites. *Aquacult.* 253, 229-237.

42. RISTOV AMBROVIĆ, A., A. BROZOVIĆ, B. BRUVO MAĐARIĆ, H. ČETKOVIĆ, D. HRANILOVIĆ, M. HERAK BOSNAR, S. KATUŠIĆ HEĆIMOVIĆ, N. MEŠTROVIĆ RADAN, S. MIHALJEVIĆ, N. SLADE i D. VUJAKLIJA (2007): Metode u molekularnoj biologiji. Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
43. SCHARNHORST, G. and S. KANTHASWAMY (2011): An assessment of scientific and technical aspects of closed investigations of canine forensics DNA—case series from the University of California, Davis, USA. *Croat. Med. J.* 52, 280-292.
44. SEVERIN, K., M. NOVOKMET, G. LAUC, Ž. GRABAREVIĆ, D. KONJEVIĆ, T. MAŠEK and P. DŽAJA (2011): Application of DNA analysis in forensic veterinary medicine. The International Congress "Veterinary Science and Profession" (Zagreb, 3. i 4. listopada 2011). Book of Abstracts, (69).
45. TELETCHER, F., C. MAUDET and C. HÄNNI (2005): Food and forensic molecular identification: update and challenges. *Trends Biotechnol.* 23, 359-366.
46. TRIDICO, S. (2005): Examination, analysis, and application of hair in forensic science — Animal hair. *Forensic Sci. Rev.* 17, 17-28.
47. VICARD, P., A. P. DAWID, J. MORTERA and S. L. LAURITZEN (2008): Estimating mutation rates from paternity casework. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2, 9-18.
48. VODINELIĆ, V. i Ž. ALEKSIĆ (1990): *Kriminalistika*. Zagreb: Informator.
49. WICTUM, E., T. KUN and L. PETERSON (2008): Hair of the dog: DNA analysis of probative Canine hairs in the Wayne Williams investigation. 60th Anniversary Meeting of the American Academy of Forensic Sciences (Washington, 18- 23 February 2008). *Proceedings of the American Academy of Forensic Sciences*. Washington (99).
50. YOST, J. R. and T. BURKE (2007): Veterinary forensics: Animals curtailing crime. *FBI Law Enforcement Bulletin* 76, 12-14.
51. ZEČEVIĆ, D. (2004): *Sudska medicina i deontologija*. Zagreb: Medicinska naknada.
52. ZENKE, P., B. EGYED, L. ZÖLDÁG and Z. PÁDÁR (2011): Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci. *Forensic. Sci. Int. Genet.* 5, 31-36.

The importance of identification of vertebrates in forensic Veterinary Medicine

Krešimir SEVERIN, DVM, PhD, Assistant Professor, Petar DŽAJA, DVM, PhD, Full Professor, Dean KONJEVIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Snježana KUŽIR, DVM, PhD, Assistant Professor, Andrea GUDAN KURILJ, DVM, PhD, Assistant Professor, Nevijo ZDOLEC, DVM, PhD, Senior Assistant, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Mislav NOVOKMET, BSc, MSc, Laboratory for DNA Analysis, Genos; Ivana FURAČ, PhD, Milovan Kubat, MD, PhD, Full Professor, School of Medicine, Zagreb; Edin ŠATROVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Sarajevo, Bosnia and Hercegovina; Boro MIOČ, BSc, PhD, Full Professor, Faculty of Agriculture, Zagreb

The requirement for feature recognition of animals, their products and tracks, based on which they could be irrefutably claimed to originate from a particular animal belonging to a species or population, has become increasingly important from the perspective of forensic veterinary medicine. Considering this fact, this review discusses the most important requests for the identification for the resolution of criminal, civil and administrative procedures, control and traceability of products of animal origin, and certificates of pure breeding or pedigree breeding animals. The review also presents possible objects of identification (from live animals and their gained marks, carcasses and tissue samples, bodily fluids, processed products and items of animal origin) and their potential limitations. It emphasizes the importance of

procedures with samples to ensure integrity and traceability in the collection, storage and analysis of the samples. This review discusses different molecular DNA analysis methods aimed at different intents (species, individual, population identification and parentage determination) though other methods are also included, such as morphological identification of tissue, macromolecular and immunological methods which can be very useful, especially as orientation methods and can occasionally be sufficient as they achieve their purpose. Finally, it emphasizes that each identification procedure performed for judicial purposes requires certain prerequisites, such as the validation and standardization of the methods used and quality assurance in laboratories, which will ultimately provide a reliable result and irrefutable physical evidence.

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

Indikacije: Goveda: 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: Goveda: 14 dana. Svinja: 10 dana. Mlijeko krava: 48 sati.

Infekcija Schmallerberg virusom - opis slučaja u Republici Hrvatskoj

T. Bedeković, Ivana Lojkić, Nina Lemo, Lorena Jemeršić, T. Keros, Jelena Balatinec, D. Brnić, Besi Roić, Andreja Jungić, Ivana Lohman, T. Kiš, I. Sućec i Ž. Cvetnić



Uvod

Na većem broju farmi mliječnih goveda u Saveznoj Republici Njemačkoj tijekom ljeta 2011. zabilježena su oboljenja većeg broja životinja koja su se klinički očitovala kliničkim simptomima: povišenom tjelesnom temperaturom, padom mliječnosti, općim lošim stanjem, gubitkom apetita te, u pojedinim slučajevima proljevom (Hoffman i sur., 2012.). Pretragom uzoraka oboljelih životinja u Nacionalnom istraživačkom institutu Friedrich-Löffler utvrđen je, do tada, još nepoznati genomski materijal (Hoffman i sur., 2012.). Daljnjim istraživanjima utvrđeno je da je novi virus vrlo sličan pojedinim virusima iz roda *Orthobunyavirus*. Prema mjestu u kojem su pozitivni uzorci uzorkovani virus je dobio ime Schmallerberg virus (SBV). Nekoliko mjeseci nakon pojave prvih akutnih simptoma zabilježeni su slučajevi pobačaja, mrtvorodne teladi i malformacije ploda u goveda, ali i u koza

te naročito u ovaca (Steukers i sur., 2012.). Tijekom 2011. i 2012. godine prisutnost virusa je dokazana i u: Nizozemskoj, Belgiji, Luksemburgu, Francuskoj, Velikoj Britaniji, Italiji, Španjolskoj (Steukers i sur., 2012.), a nedavno i u Sloveniji. Istraživanje je tijekom 2012. godine u Nizozemskoj pokazalo da je seroprevalencija unutar stada goveda i ovaca između 70 i 100%, sa seroprevalencijom virusa u zemlji 72,5% (Elbers i sur., 2012.).

Etiološki, SBV je najbližiji (97% sličnosti u S dijelu virusa) Shamonda virusu (Hoffmann i sur., 2012.) koji pripada serogrupi Simbu virusa koji su svrstani u porodicu *Bunyavirus*, rod *Orthobunyavirus*. Virusi iz grupe Simbu virusa (Shamonda, Akabana, Aino) u Europi nikad prije nisu dokazani. U porodicu *Bunyaviridae* svrstano je više od 350 virusa koji prouzrokuju bolesti u ljudi i životinja (Weber i Elliot, 2002., Savji i sur., 2011.). Svi pripadnici porodice posjeduju ovojnicu te su građeni

Dr. sc. Tomislav BEDEKOVIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, dr. sc. Ivana LOJKIĆ, prof. biol., znanstvena savjetnica, Nina LEMO, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Lorena JEMERŠIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, docentica, dr. sc. Tomislav KEROS, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, dr. sc. Jelena BALATINEC, dipl. ing. biol., Dragan BRNIĆ, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Besi ROIĆ, dr. med. vet., viša znanstvena suradnica, Andreja JUNGIC, dr. med. vet., znanstveni novak, dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, izvanredni profesor, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Ivana LOHMAN, dr. med. vet., Tomislav KIŠ, dr. med. vet., Ivica SUĆEC, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Uprava veterinarstva

od segmentirane jednostruke negativne RNK. Svaki je od tri segmenta (L–Large, M–Medium, S–Small) smješten u zasebnoj kapsidi unutar jedne virusne čestice (Bilk i sur., 2012.). Schmallerberg virus osjetljiv je prema uobičajenim dezinficijensima te izvan domaćina ili vektora dugo ne preživljava.

Zbog sličnosti Schmallerberg virusa sa Simbu serogrupom virusa smatra se da su mu epidemiološke značajke isto tako slične te su sva saznanja o epidemiologiji zapravo saznanja o epidemiologiji te grupe virusa, odnosno Akabane virusa kao najistraženijeg virusa iz spomenute grupe. Do sada je SBV dokazan uz pomoć molekulskih tehnika ili izdvajanjem virusa u goveda, ovaca, koza te bizona (Anonymus, 2012.). Serološki je dokazana prisutnost protutijela za virus u jelena, alpake i muflona (Anonymus, 2012.). Smatra se da virus nema značajke zoonoza (Beer, 2011., Gibbens, 2012.). Glavni rezervoari i prenositelji bolesti su insekti, odnosno komarčići *Culicoides* spp. u kojih je dokazano da infekcija stanica ne prouzroči smrt stanica nego dolazi do uspostave perzistentne infekcije (Hart i sur., 2009.). Smatra se da su najveće značenje na širenje bolesti imale klimatske promjene i povećanje međunarodnoga prometa, jer su vektori te bolesti zabilježeni izvan područja uobičajenog obitavanja. Naročito je važan vertikalni prijenos u insektima koji zapravo virusu omogućava preživljavanje tijekom nepovoljnih godišnjih razdoblja (Steukers i sur., 2012.). Kod životinja horizontalni prijenos najvjerojatnije nema značenja te se prijenos odvija vektorom. Da bi virus bio prenesen sa životinje (preživača) na vektora važan je stupanj viremije, odnosno potrebna je velika količina virusa u krvi (Clements, 2012.). Mogućnost prijenosa mesom i mlijekom je zanemariva, kao i sjemenom kod seronegativnih bikova (Anonymus, 2012.) Kod seropozitivnih bikova potrebno je molekulski utvrditi

da životinje nisu u viremiji te je tada mogućnost prijenosa kao i mogućnost prijenosa embriotransferom zanemariva (Anonymus, 2012.). Mogućnost je vertikalnog prijenosa kod preživača koji su seropozitivni prije osjemenjivanja zanemariva, kao i kod seronegativnih preživača testiranih dvokratno u razmaku od 28 dana u sredini slobodnoj od vektora (Anonymus, 2012.).

Nakon infekcije virusi se iz porodice *Bunyaviridae* umnažaju na ulaznome mjestu te prouzroče prolaznu viremiju. Kod sisavaca virus prouzroči propadanje stanica dok kod vektora prouzroči perzistentnu infekciju te je redovito prisutan u žlijezdama slinovnicama (Hart i sur., 2009., Clements, 2012.). Kod Akabane virusa, koji je najistraženiji virus te skupine, ne dolazi do pojave kliničkih simptoma (Charles, 1994.). Kod Schmallerberg virusa je drugačije, jer su prije spomenuti simptomi bolesti dovedeni izravno u vezu s virusom isključivanjem svih drugih poznatih uzročnika koji bi mogli prouzročiti iste ili slične simptome (Hoffman i sur., 2012.). Inkubacija je kod Akabane virusa 1–4 dana s viremijom koja traje do 6 dana (Charles, 1994.). Nakon infekcije i ulaska virusa u stanice one bivaju uništene virusom (Pavlovic i sur., 2000.) te se zbog toga čini da stanična imunost nema većeg značenja u obrani organizma od infekcije. Kod nekih istraživanja dokazano je da je nakon infekcije virusima iz porodice *Bunyaviridae* veći stupanj viremije u mlađih životinja u odnosu na odrasle (Weber i Elliot, 2002.), dok je u drugom istraživanju dokazano da starost nema veze sa stupnjem viremije (Kono i sur., 2008.). Glavni uzrok smrti je encefalomijelitis, odnosno prodiranje virusa u mozak do kojega dolazi zbog izrazito velike količine virusa u krvi što mu omogućava prolazak kroz moždano krvnu barijeru (Weber i Elliot, 2002.). Kod bređih životinja, iako kratka, viremija omogućava prolazak virusa do ploda,

inficirajući posteljicu. Nakon infekcije ploda virusom Akabane, virus se umnaža u stanicama, posebice stanicama mozga i moždanoga stabla (Parsonson i McPhee, 1998.). Posljedice infekcije sa SBV su najvjerojatnije slične infekciji Akabana virusom te ovise o stupnju gravidnosti prilikom infekcije. Za razliku od infekcije Akabana virusom kod koje nije inficiran mali mozak, kod infekcije SBV moguće je izdvojiti i dokazati virus i u malom mozgu (Steukers i sur., 2012.). Iako su zbog akutne infekcije bređih životinja mogući i pobačaji, posebice u zadnjoj trećini gravidnosti, najčešće su promjene vezane uz malformacije plodova (Steukers i sur., 2012.).

Klinički se na infekciju sa SBV kod odraslih životinja može posumnjati kada su prisutni blaži simptomi bolesti (povišena tjelesna temperatura, pad mliječnosti, poremećaj općega stanja i proljev), (u sezoni kada su vektori aktivni!) (Hoffman i sur., 2012.). Kod plodova pažnju treba obratiti na pojavu sljedećih malformacija: *arthrogryposis*, *brachygnathia inferior*, *ankylosis*, *torticollis*, *scoliosis* te *hydrencephalia*. Diferencijalno dijagnostički infekciju SBV treba razlučiti od infekcije ostalim Orthobunyavirusima, bolesti plavog jezika, infekcije Pestivirusima, genetske maloformacije i toksičke malformacije. Za laboratorijske je pretrage, u slučaju na sumnju potrebno od živih životinja uzorkovati punu krv s antikoagulansom ili krv za izdvajanje seruma (Anonymus, 2012). Od plodova je za virološku pretragu, potrebno poslati tkivo mozga, amnionsku tekućinu, posteljicu ili mekonij (Anonymus, 2012.). Prema posljednjim su istraživanjima (Bilk, 2012.) jednako pouzdani za pretragu i vanjska tekućina iz posteljice te pupčani tračak. Dijelove virusa je moguće dokazati metodom QRT-PCR (kvantitativna lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu) te izdvajanjem uzročnika na staničnoj kulturi. Za serološku pretragu rabe se gotovi imunoenzimski testovi

te virus neutralizacijski test (Mansfield, 2013.).

U smislu kontrole bolesti moguće je provesti mjere za kontrolu broja vektora, odnosno komarčića i komaraca. Isto je tako moguće životinje pretražiti i serološki te na taj način razlučiti koliki je rizik od infekcije virusom. Trenutno još uvijek nema komercijalnog cjepiva za infekciju SBV-om.

Iako su spoznaje o infekciji sa SBV oskudne, na temelju dosadašnjih istraživanja, posebice istraživanja provedenoga u Nizozemskoj (Elbers i sur., 2012.) te spoznaje da su pojedine vrste vektora prisutne u Europi, od 2006. možemo pretpostaviti da je i SBV prisutan u Europi najkasnije od 2006. Da bi se točno ustanovilo vrijeme i način unosa virusa u Europu potrebna su daljnja istraživanja.

Infekcija Schmallenberg virusom u Republici Hrvatskoj

U Republici Hrvatskoj pretraživanje je na infekciju SBV započelo tijekom 2011. na relativno malom broju uzoraka (30). Budući da je tada pretraživana samo krv tako je i bila vrlo mala vjerojatnost da će se potvrditi virus, odnosno da će se životinje prilikom uzorkovanja nalaziti u akutnome stadiju bolesti. Bolest je ove godine uvrštena u Naredbu o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2013. godini. Sukladno Naredbi obvezno je isključivanje infekcije SBV u svim slučajevima mrtvorodne mladunčadi, preuranjenog porođaja, mumifikacije fetusa, disfunkcije ili deformacije fetusa ili novorođene mladunčadi, odnosno potrebno je kod gore spomenutih slučajeva plod dostaviti na pretragu. Zaključno na Odjelu za virologiju Hrvatskoga veterinarskoga instituta do kraja veljače 2013. pretraženo je 36 uzoraka. Od tog broja u dva je uzorka mozga pobačenih plodova goveda s

područja Istarske te Brodsko-Posavske županije dokazana prisutnost dijelova virusnoga genoma SBV metodom QRT-PCR. Ovaj se nalaz može smatrati prvim dokazom SBV infekcije u Republici Hrvatskoj.

U Republici Hrvatskoj potrebna su daljnja istraživanja kako bi se istražila proširenost infekcije spomenutim virusom. U tu je svrhu potrebno osim virološkog pretraživanja, provesti i serološko pretraživanje na prisutnost specifičnih protutijela za SBV kako bi se ustanovilo kolika je populacija preživača bila u dodiru s virusom, odnosno virusnim antigenom. Potvrda novoga virusa može u znatnoj mjeri pomoći kod utvrđivanja uzroka onih pobačaja gdje se do sada nije nalazio uzročnik niti virusne, niti bakterijske etiologije.

Zaključci

SBV je prvi virus iz porodice *Bunyaviridae*, serogrupe Simbuvirusa koji je dokazan u Europi. Najvažniju ulogu u prijenosu virusa imaju insekti, odnosno komarčići *Culicoides* spp. Iako sama infekcija kod odraslih preživača u pravilu ne završava uginućima, ekonomske štete, zbog pada mlječnosti te pobačaja, mogu nanijeti znatne ekonomske gubitke u govedarskoj proizvodnji. Serološki dokaz visokog postotka izloženosti virusom u Nizozemskoj te dokaz virusa u Republici Hrvatskoj upućuju na potrebu daljnjih istraživanja proširenosti infekcije spomenutim virusom. Time bi se istražilo i značenje infekcije Schmallerberg virusom u pobačajima dosad nerazjašnjene etiologije.

Sažetak

U jesen 2011. godine u Saveznoj Republici Njemačkoj dokazana je prisutnost potpuno novoga virusnoga genoma. Prema mjestu u kojem su prvi pozitivni uzorci uzorkovani virus je dobio ime Schmallerberg virus (SBV).

Virus je svrstan u porodicu *Bunyaviridae*, rod *Orthobunyavirus*. SBV je najbliži (97% sličnosti u S dijelu virusa) Shamonda virusu koji pripada serogrupi Simbu virusa unutar prije spomenute porodice. Klinički se kod infekcije SBV kod odraslih životinja javljaju blaži simptomi bolesti (povišena temperatura, pad mlječnosti, poremećaj općega stanja i proljev) te pobačaji uz prisutnost sljedećih malformacija: *arthrogryposis*, *brachygnathia inferior*, *ankylosis*, *torticollis*, *scoliosis* te *hydrencephalia*. Za laboratorijske pretrage u slučaju na sumnju potrebno je od živih životinja uzorkovati punu krv s antikoagulansom ili krv za izdvajanje seruma. Od plodova, za virološku pretragu potrebno je poslati: tkivo mozga, amnionsku tekućinu, posteljicu, mekonij, vanjsku tekućinu iz posteljice ili pupčani tračak. Diferencijalno dijagnostički infekciju sa SBV treba razlučiti od infekcije ostalim *Orthobunyavirusima*, bolesti plavog jezika, infekcije *Pestivirusima* te genetske maloformacije i toksičke malformacije. Početkom 2013. godine prisutnost virusnog genoma SBV dokazana je i u Republici Hrvatskoj u organima pobačenih plodova goveda.

Literatura

1. Anon. (2012): OIE fact sheet, http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our_scientific_expertise/docs/pdf/A_Schmallenberg_virus.pdf.
2. BEER, M. (2011): Undiagnosed illness, bovine-Germany, Netherlands (02): new virus susp. ProMED-mail 2011, Archive nr. 20111119.3404.
3. BILK, S., C. SCHULZE, M. FISCHER, M. BEER, A. HLINAK and B. HOFFMAN (2012): Organ distribution of Schmallerberg virus RNA in malformed newborns. *Vet. Microbiol.* 159, 236-238.
4. CLEMENTS, A. N. (2012): Arboviruses – characteristics and concepts. In: CLEMENTS, A. N.: *The Biology of Mosquitoes*, Vol. 3, Transmission of viruses and interactions with bacteria. Cambridge University Press, Cambridge (90-173).
5. CHARLES, J. A. (1994): Akabane virus. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.* 10, 525-546.
6. ELBERS, A. R. W., W. L. A. LOEFFEN, S. QUAK, E. DEBOER-LUIKTZE, A. N. VAN DER SPEK, R. BOUWSTRA, R. MAAS, M. A. H. SPIERENBURG, E. O. DE KLUIJVER, G. VAN SCHAİK and W. H. M. VAN DER POEL (2012): Seroprevalence of Schmallerberg virus antibodies among dairy cattle the Netherlands, Winter 2011-2012. *Emerg. Infect. Dis.* 18, 1065-1071.

7. GIBBENS, N. (2012): Schmallenberg virus: a novel viral disease in northern Europe. *Vet. Rec.* 170, 58.
8. HART, T. J., A. KOHL and R. M. ELLIOT (2009): Role of the NSs protein in the zoonotic capacity of orthobunyaviruses. *Zoonoses Public Health* 56, 285-296.
9. HOFFMANN, B., M. SCHEUCH, D. HÖPER, R. JUNGBLUT, M. HOLSTEG, H. SCHIRMEIER, M. ESCHBAUMER, K. V. GOLLER, K. WERNIKE, M. FISCHER, A. BREITHAUP, T. C. METTENLEITER, and M. BEER (2012): Novel Orthobunyavirus in Cattle, Europe. *Emerg. Infect. Diseases* 18, 469-472.
10. KONO, R., M. HIRATA, M. KAJI, Y. GOTO, S. IKEDA, T. YANASE, T. KATO, S. TANAKA, T. TSUTSUI, T. IMADA and M. YAMAKAWA (2008): Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus in southern Japan. *BMC Vet. Res.* 4, 20.
11. MANSFIELD, K. L., S. A. LA ROCCA, M. KHATRI, N. JOHNSON, F. STEINBACH and A. R. FOOKS (2013): Detection of Schmallenberg virus neutralisation antibodies. *J. Vir. Meth.* 188, 139-144.
12. PARSONSON, I. M. and D. A. MCPHEE (1985): Bunyavirus pathogenesis. *Adv. Vir. Res.* 40, 279-316.
13. PAVLOVIC, A., C. GRIOT, K. STILLMOCK, N. NATHANSON and F. GONZALEZ-SCARANO (1995): Protection from La Crosse virus encephalitis with recombinant glycoproteins: Role of neutralizing anti-G1 antibodies. *J. Vir.* 69, 3475-3481.
14. SAVJI, N., G. PALACIOS, A. TRAVASSOSDAROSA, S. HUTCHINSON, C. CELONE, J. HUI, T. BRIESE, C. H. CALISHER, R. B. TESH and W. I. LIPKIN (2011): Genomic and phylogenetic characterization of Leanyer virus, a novel orthobunyavirus isolated in northern Australia. *J. Gen. Virol.* 92, 1676-1687.
15. STEUKERS, L., G. BERTELS, A. B. CAY and H. J. NAUWYNCK (2012): Schmallenberg virus: emergence of an Orthobunyavirus among ruminants in Western Europe. *Vlaams Diergen. Tijds.* 81, 119-126.
16. WEBER, F. and R. M. ELLIOT (2002): Antigenic drift, antigenic shift and interferon antagonists: how bunyaviruses counteract the immune system. *Virus Res.* 88, 129-136.

Schmallenberg virus infection – case report in the Republic of Croatia

Tomislav BEDEKOVIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Ivana LOJKIĆ, BSc, PhD, Scientific Advisor, Nina LEMO, DVM, Assistant, Lorena JEMERŠIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Tomislav KEROS, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Jelena BALATINEC, BSc, PhD, Assistant, Dragan BRNIĆ, DVM, Assistant, Besi ROIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Andreja JUNGJIĆ, DVM, Assistant, Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Ivana LOHMAN, DVM, Tomislav KIŠ, DVM, Ivica SUČEC, DVM, Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia, Veterinary Directorate

In autumn 2011, evidence of a new viral genome was detected in Germany. Based on the geographic origin of the first detected sample, the virus was named 'Schmallenberg virus' (SBV). SBV belongs to the family *Bunyaviridae*, genus *Orthobunyavirus*. It is most closely related to the Shamonda virus from the Simbu serogroup of Orthobunyaviruses. Clinical symptoms of infection in older animals are mild (fever, drop in milk yield, diarrhoea) though in pregnant animals, abortions with foetal malformations occur, such as: *arthrogryposis*, *brachygnathia inferior*, *ankylosis*, *torticollis*, *scoliosis* and *hydrocephalus*.

If SBV is suspected, serum and EDTA blood samples should be collected from adult animals during the clinical stage of the disease. Pathogen detection in foetuses is mainly possible from brain samples but also from amniotic fluid, placenta, meconium, external placental fluid or umbilical cord. Differential diagnosis should include testing for infection with other Orthobunyaviruses, Bluetongue disease, Pestiviruses infections and genetic and toxic malformations. In early 2013, the SBV genome was also detected in samples of aborted foetuses in Croatia.

KALIPROFEN LA

50 mg/ml, otopina karprofena za injekciju u goveda



u borbi protiv simptoma upale



Učinkoviti
nesteroidni
protuupalni lijek
produljenog
djelovanja



**Karencija za
mlijeko nula dana**



GENERA

Jedna kompanija za Jedno zdravlje

Genera d.d.

Svetonedeljska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok Tel.: +385 1 33 88 888; Fax.: + 385 1 33 70 220
info@genera.hr; www.genera.hr

Stres i metabolička miopatija u svinja

Ante Svetina



Uvod

Riječ „stres“ je engleskog podrijetla, a znači prvobitno naglasak ili akcent. U fizici označava rezultantu sile i otpora. U medicini stres je pojam koji označava stanje organizma pod utjecajem nekog podražaja ili stresora. Dakle, stres je stanje, a stresor je podražaj.

Spoznaje o stresu i adaptacijskom sindromu od većeg su značenja za domaće životinje nego što su za čovjeka. To i ne iznenađuje kada znamo da su domaće životinje u suvremenim uvjetima uzgoja izložene različitim stresorima. Činjenica je da su svinje od svih ostalih domaćih životinja osjetljivije na stres (Christian i Lundstrom, 1993.), što štetno utječe na dobrobit životinja, a nakon klanja i na kakvoću mesa koja se očituje kao blijedo, mekano i vodnjikavo meso (BMV meso). Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, promjene na mesu (mišićju) svinja nastaju još za života pa i u posve ranom razdoblju (Brambilla i sur., 2002.).

Zbog ekstremne osjetljivosti prema stresu, svinje razviju niz znakova koji se opisuju kao stres sindrom, odnosno Porcine Stress Sindrom (PSS). Rani znaci osjetljivosti prema stresu jesu: tremor mišića i repa. Stres se dalje očituje dispnejom i nepravilnim disanjem, brzim porastom temperature, cijanozom i ekstremnom acidozom. Slijedi stadij u sindromu stresa koji rezultira potpunim kolapsom, rigidnošću mišića i hiperemijom, tako da smrt nastupa

u stanju koje nalikuje šoku. Danas postoji mnogo stresora kojima su svinje izvrgnute na farmi te okolišu i tijekom transporta. Kad istovremeno djeluje više stresora govorimo o polivalentnom ili superponiranom stresu (Christian i Lundstrom, 1993.).

Čimbenici koji dovode do stresa u svinja

- Fizikalni: buka, vibracije, kontakt s kamionom, drugim životinjama, ozljede koje rezultiraju još većim stresom i krvarenjima u mišićima
- Čimbenici okoliša: temperatura, vlažnost zraka, plinovi
- Metabolički čimbenici: posljedica nedostatne potrošnje vode i hrane. Ovi čimbenici mogu biti prisutni i kada su voda i hrana raspoloživi, ali ih životinje zbog uznemirenosti ne konzumiraju
- Ograničeno kretanje u skučenom prostoru ili dugotrajnije hodaње
- Čimbenici kao što su uvođenje novih tretmana ili interakcija s novim životinjama.

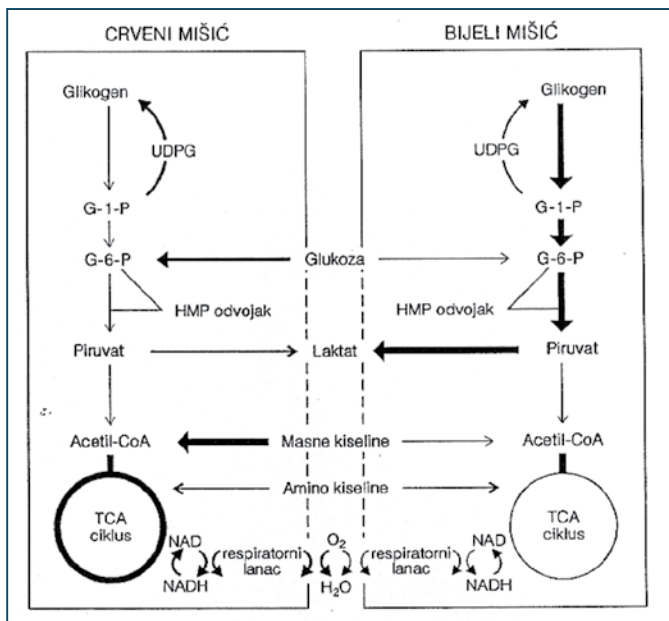
Postoji konstitucijska osjetljivost svinja prema stresu, a zasnovana je na genetskoj osnovi (Nonneman i sur., 2012.). To su moderne pasmine svinja koje su predisponirane na izdašan razvoj

Ante SVETINA, profesor u mirovini, Zagreb

skeletnih mišića, kao što su: švedski landras, Pietrain, Velika bijela svinja. Konstitucijska sklonost stresu na razini mišićja zasniva se na prevladavanju velikih, bijelih mišićnih vlakana, tzv. „anaerobnog“ tipa nad crvenim vlaknima aerobnog tipa. Kako bismo bolje razumjeli patomehanizam mišićnih distrofija kao manifestacije djelovanja stresa, opisat ćemo metaboličke razlike između crvenih i bijelih skeletnih mišića. Naime, nakon što se spoznalo da je crvena boja mišića povezana s količinom mioglobina, uvedeni su pojmovi crveno i bijelo mišićje. Kasnije su brojna istraživanja, biokemijska i histokemijska, poka-

zala da se nazivi crveno i bijelo mišićje mogu vezati za fiziološka svojstva njihovih miofibrila. Bijelo je mišićje biokemijski usmjereno na dobivanje energije za svoju (funkciju) kontrakciju pomoću anaerobne glikolize. Takvo je mišićje sklono gomilanju glukoze i kreatinfosfata i ima aktivnost glikolitičkih i glikogenolitičkih enzima. S druge strane crveno mišićje općenito sadrži više triglicerida i mioglobina, a prilagođeno je za dobivanje energije oksidacijom masnih kiselina i glukoze u CLK. Crveni mišići imaju veću količinu lipida od bijelih mišića i spontano proizvode veću količinu energije (Hulland, 1993.).

Mišići se u svinja, kao i u drugih vrsta životinja mogu podijeliti na: crvena, bijela i mješovita vlakna. Odnos između pojedinih tipova fibrila varira u različitim



Slika 1. Shematski prikaz različitog nastanka energije u metaboličkim putovima crvenog i bijelog mišićja. Energija za kontrakciju crvenih mišića nastaje u procesu oksidativne fosforilacije masnih kiselina, ugljikohidrata i, vjerojatno, razgradnjom aminokiselina u trikarbonskom ciklusu (TCA). Bijelo mišićje dobiva energiju primarno anaerobnom razgradnjom glikogena i glukoze, gdje se ovi razgrade do mliječne kiseline (Cardinet, 1989.).

mišićima. Bijela mišićna vlakna postižu puno veći volumen od crvenih, vjerojatno stoga što imaju manju potrebu za kisikom. Bijelih mišićnih vlakana ima puno više u mišićima svinja koje su osjetljive na stres. Zastupljenost pojedinih vlakana određena je genetski. Genetski je određen i ukupan broj mišićnih stanica, koje određuju veličinu mišića. Konačnu veličinu svake miofibrile još određuju i fizička kondicija i način hranidbe (Wood i sur., 2004.).

Stanje hormonalnog sustava u stres osjetljivih svinja

Već smo rekli da je hormonalni sustav u stres osjetljivih svinja plemenitih pasmina genetski usmjeren na stimulaciju izdašne sinteze mišićnih bjelančevina, a to je usko povezano s gubitkom obrambenih sposobnosti organizma

prema stresu. S druge strane, mnogi nepovoljni utjecaji što ih okolina vrši na svinje u intenzivnom uzgoju, djeluju na kumulativan način: vaganje, rezanje zubi i repova, kastracija, obilježavanje, tretmani lijekovima, odvajanje od sise, prilagodba na umjetnu hranu, prenapučenost, nedovoljno kretanje, psihički podražaji i dr. Takvi inzulti izazivaju degenerativne promjene u mišićima još za života, što se nakon klanja očituje degenerativnim promjenama na mesu. Zbog ekonomskih razloga stvoreni su mesnati tipovi svinja, osjetljivi na stres, u kojih preteže izlučivanje STH adenohipofize nad izlučivanjem ACTH-sustava koji upravlja prilagodbenim funkcijama organizma. U tih je svinja česta atrofija kore nadbubrežne žlijezde i hipofunkcija štitnjače (Judge i sur., 1968.). Međutim, naša su istraživanja pokazala da ne postoji značajna povezanost između tireohorormalne aktivnosti u serumu (T_3 , T_4) i sadržaja vode u mišićima (Svetina i sur., 1995.). Isto tako, nije ustanovljena ni korelacija između koncentracije tireoidnih hormona u serumu i stupnja mikroskopskih promjena u mišićima tovnih svinja. Ostaje dakle još puno nejasnoća o patogenezi degenerativnih promjena u nastanku BMV mesa.

Oštećenje mišićnih stanica hipoksijom

Mišići anaerobnog tipa bitno su osjetljivi prema naporu i promjenama temperature. Osim toga mesnate svinje s pretegom bijelih mišićnih vlakana sklonije su zatajivanju krvotoka, napose mikrocirkulacije u mišićima. Posljedica parcijalne ili totalne okluzije krvne žile u mišiću jest hipoksija i anoksija. Slijed biokemijskih i strukturnih promjena u mišićnim stanicama oštećenim hipoksijom i anoksijom opisat ćemo u nastavku (Krvavica, 1985.).

U nedostatku kisika, umjesto oksidativne fosforilacije, u mišićnim

se stanicama aktivira alternativni metabolički put, tj. anaerobna razgradnja glukoze. U anaerobnoj glikolizi piruvat ne dolazi u mitohondrije već ostaje u citoplazmi gdje ga LD konvertira u laktat, koji je u anaerobnim uvjetima konačni put razgradnje glukoze. Skretanje oksidativne fosforilacije na anaerobnu glikolizu prouzroči smanjenje proizvodnje ATP, jer raspadanjem jedne molekule glukoze u anaerobnoj glikolizi nastaju samo dvije molekule ATP, dok u aerobnim uvjetima nastaje 36 molekula te energijom bogate tvari. Osim toga u anaerobnim uvjetima prestaje oksidativna razgradnja masnih kiselina pa je anaerobna glikoliza ne samo vrlo slaba, nego je i jedini izvor ATP.

Već nakon 15 minuta od nastupa anoksije razina ATP će se u stanici spustiti na 35%, da bi nakon 90 minuta iznosila svega 6%. Velika redukcija količine ATP prouzroči smanjeni intenzitet onih staničnih procesa koji iziskuju jako puno energije, a to je u prvom redu ustroj za optimalno održavanje ionskog sustava. Dolazi do pomaka koncentracije Na, K, Mg i Ca u smjeru nižeg koncentracijskog gradijenta. Takav je pomak zapažen već nakon deset minuta od nastanka anoksije.

Istovremeno s promjenom u razgradnji glukoze, zbivaju se i promjene u strukturi stanice. Zbog jakog sniženja intracelularnog pH dolazi do poremećaja volumena sarkoplazmatskog retikuluma, što je u vezi s ulaskom veće količine Na i vode u stanici i izlaskom K iz nje. Ukoliko anoksija traje duže doći će do još većeg oštećenja ultrastrukture i funkcija stanice. Tada se promjene događaju na mitohondrijima koji bubre i povećavaju volumen. U njihovu se matriksu pojave guste pahuljice koje nastaju denaturacijom mitohondrijskih proteina. U jezgri počinje karioliza, a to je točka s koje nema povratka, tj. tada ni osposobljavanje normalne cirkulacije ne bi dovelo do repolarizacije stanice. Daljnji stupanj oštećenja stanice anoksijom jest

bubrenje lizosoma, dok karioliza doseže vrhunac i život stanice prestaje. U stanici koja umire jezgra se skvrči u naboranu masu gusto skvrčenog kromatina, tj. dolazi do piknoze. Jezgra se može raspasti na male fragmente što nazivamo karioreksom, ali može biti i otopljen što nazivamo kariolizom (Krvavica, 1985.).

Selekcija svinja rezistentnih na stres

U novije se vrijeme sve više pridaje važnost metodama kojima se na živim svinjama može odrediti osjetljivost na stres, kako bi se selekcijskim mjerama stvorile svinje rezistentne na stres. Breinekova i sur. (2007.) određivali su vrijednosti neopterina i kortizola u krvi, kao važne markere akutnog stresa. Od testova koji se danas upotrebljavaju najvažniji su Halotan test i CK-test. Međutim, teži se pronalaženju markera za detekciju BMV mesa koji su 100% pouzdani. Za sada najviše izgleda ima kompjutorizirani fototest koji omogućuje stupnjevanu detekciju vodnjikavosti u narecima (Chmiel i sur., 2011.).

Halotan test. Nakon petminutne narkoze halotanom mogu se po pojavi mišićne ukočenosti otkriti svinje osjetljive na stres. Ovaj test je vrlo pouzdan, ali je letalan za 0–25% svinja reaktora. Međutim, to se može izbjeći ako se anestezija prekine čim se opaze prvi znaci progresivne rigidnosti mišića. Test je pouzdan na 98% reaktora. Zbog stroge pozitivnosti, odnosno negativnosti ponekad bi iz rasploda trebalo isključiti preko 70% životinja, a to je iz ekonomskih razloga nemoguće (Webb, 1980.).

CK-test. Kod ovog se testa radi o tome da se nakon 24-satnog standardnog napora može u krvi svinja osjetljivih na stres dokazati ovaj za mišiće specifičan enzim (CK-kreatin kinaza). Posljednjih se godina upotrebljava injekcijski preparat Myostres koji nakon nekoliko sati izazove

trzaj mišića. Sljedeći se dan uzme krv (kap krvi) i analizira se CK.

Vrijednosti CK su kod pojedinih životinja vrlo varijabilne i ovise o mnogim čimbenicima. U usporedbi s halotan testom manje je selekcijski strog, jer izlučuje 10% rasplodnih svinja (Presuhn i sur., 1997.).

Sažetak

Suvremene pasmine svinja genetski su predisponirane na izdašan razvoj skeletnog mišića. Takve su svinje vrlo osjetljive prema djelovanju različitih stresora kojima su stalno izložene u industrijskom načinu uzgoja. Dolazi do poremećaja mijene tvari što se za života svinja očituje kao stres sindrom (Porcine Stress Syndrome), a nakon smrti pojavom blijedog, mekanog i vodnjikavog mesa. Kad više stresora djeluje istovremeno ili superponirano govorimo o polivalentnom stresu. Mišići svinja, kao i drugih životinja dijele se prema boji na: crvene i bijele mišiće. Crveno se mišićje sastoji od vlakana aerobnoga tipa, a bijela od anaerobnog tipa tj. za svoju aktivnost ne trebaju kisik. Bijelih mišićnih vlakana ima puno više u svinja podložnih stresu. Mikroskopska su oštećenja mišićnih vlakana varirala neovisno o količini vode u mesu. Naša su prethodna istraživanja pokazala da tireohormonalna aktivnost (T3, T4) ne korelira sa stupnjem mikroskopskih promjena na mišićima. Zaključak je da tireohormonalna aktivnost u intenzivno hranjenih svinja na završetku tova nije značajnije povezana s distrofičnim promjenama u mišićju. Prema tome, ostaje još dosta nepoznanica u nastanku degenerativnih promjena koje se očituju kao blijedo, mekano i vodnjikavo meso.

Literatura

1. BRAMBILLA, G., C. CIVITAREALE, A. BALLERINI, M. FIORI, M. AMADORI, L. I. ARCHETTI, M. REGINI and M. BETTI (2002): Response to oxidative stress as a welfare parameter in swine. *Redox Rep.* 7, 159-163.
2. BREINEKOVA, K., M. SVOBODA, M. SMUTNA and L. VOLOVA (2007): Markers of acute stress in pigs. *Physiol. Res.* 56, 323-329.
3. CARDINET, S. H. (1989): Skeletal Muscle Function. In: *Clinical Chemistry of Domestic Animals*. (KANEKO, J. J. ed.), Academic Press, pp. 426-495.

4. CHMIEL, M., M. SLOWINSKI and K. DASIEWICZ (2011): Lightness of the color measured by computer image analysis as a factor for assessing the quality of pork meat. *Meat Sci.* 88, 566-570.
5. CHRISTIAN, L. L. and K. LUNDSTROM (1993): Porcine stress syndrome. In: LEMAN, A. D., B. E. STRAW, W. L. MENGELING, S. D. ALLAIRE, D. J. TAYLOR eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 763-771.
6. HULLAND, T. J. (1993): Muscle and Tendon. In: JUBB, K. V. F., P. C. KENNEDY, P. NIGEL: *Pathology of Domestic Animals*, Academic Press, Inc. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, pp. 183-245.
7. JUDGE, M. D., E. J. BRISKEY, R. G. CASSENS, J. C. FORREST and R. K. MEYER (1968): Adrenal and thyroid function in stress susceptible pigs (*Sus domesticus*). *Am. J. Physiol.* 214, 146-151.
8. KRVAVICA, S. (1985): O oštećenju mišićnih stanica hipoksijom i anoksijom. U: *Postmortalne promjene mesa, elektrostimulacija i DFD- meso*, NIM 84, Subotica, 30-34.
9. NONNEMAN, D. J., T. BROWN-BRANDL, S. A. JONES, R. T. WIEDMANN and G. A. ROHRER (2012): A defect in dystrophin causes a novel porcine stress syndrome. *BMC Genomics*, 233.
10. PRESUHN, U., L. RICHTER and J. KRIETER (1997): Involvement of the creatine kinase test in the selection scheme of pig breeding programs. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 104, 379-380.
11. SVETINA, A., I. JERKOVIĆ and T. ANDRANSZKY (1995): Muscle characteristics and thyroid hormone levels in the serum of intensively fed pigs. *Vet. arhiv* 65, 77-92.
12. WEBB, A. J. (1980): The halotane test: a practical method of eliminating porcine stress syndrome. *Vet. Rec.* 106, 410-412.
13. WOOD, J. D., G. R. NUTE, R. I. RICHARDSON, F. M. WHITTINGTON, O. SOUTHWOOD, G. PLASTOW, R. MANSBRIDGE, N. da COSTA and K. C. CHANG (2004): Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Sci.* 67, 651-667.

Stress and metabolic myopathy in pigs

Ante SVETINA, Professor in retirement, Zagreb

Modern pig breeds are genetically predisposed to a pronounced development of skeletal muscle. Such pigs are very susceptible to various stressors to which they are constantly exposed in industrial production. This leads to disturbances which in the animal are manifested as stress syndrome (Porcine Stress Syndrome), and following death, results in pale, soft and exudative meat. When multiple stressors act simultaneously, this is referred to as polyvalent stress. The muscles of pork, as in other animals, are divided by colour into red and white muscle. Red muscles consist of aerobic fibres, white of anaerobic fibres, i.e. which do not require oxygen for their activity.

White muscle fibres in pigs are much more susceptible to stress. The microscopic damage of muscle fibres varied independent of the quantity of water in the meat. The our previous study indicated that the activity of the thyroid hormones (T3, T4) was not correlated to the degree of microscopic changes in the muscle fibres. The conclusion is that the activity of thyroid hormones in intensive pig feeding in the final phases of fattening is not significantly associated with dystrophic changes in muscle tissue. Therefore, remain unknowns as to what sets off the degenerative changes seen in pale, soft and exudative meat.



XYLAZINE 2%

otopina injekcijska

živčani sustav

sedativ, analgetik i miorelaksans

stimulator α_2 -adrenergičnih receptora, ksilazin

za goveda, konje, pse i mačke



SASTAV

Jedan mL bistre bezbojne injekcijske otopine Xylazine 2% sadrži:

Ksilazin u obliku ksilazin klorida.....20 mg

Pomoćne tvari: benzetonijev klorid, natrijev hidroksid, kloridna kiselina i voda za injekcije.

20 mg ksilazina = 23.32 mg ksilazin klorida.

INDIKACIJE

Xylazine 2% primjenjuje se za sedaciju, analgeziju i miorelaksaciju goveda, konja, pasa i mačaka, sam ili u kombinaciji s drugim sredstvima, ovisno o vrsti i intenzitetu željenog učinka pr.:

- pregled i prijevoz uzbuđenih i nemirnih životinja;
- klinička, rendgenološka, ginekološka i rektalna pretraga; uklanjanje zavoja, pregled usne šupljine, penisa i dr.
- premedikacija pri manjim kirurškim zahvatima, te za anesteziju u kombinaciji s drugim analgeticima i/ili anestheticima.

OSNOVNA SVOJSTVA I DJELOVANJE

Ksilazin je nenarkotički sedativ koji ulazi u SZS, potiče presinaptičke α_2 -adrenergične receptore (agonist), a time umanjuje otpuštanje dopamina i noradrenalina. U životinja uzrokuje sedativno, miorelaksantno i analgetsko djelovanje, čiji stupanj ovisi o apliciranoj dozi i životinjskoj vrsti. Analgetsko i sedativno djelovanje ksilazina posljedica je depresivnog učinka na SZS, dok se miorelaksantno djelovanje temelji na kočenju intraneuralnog prijenosa podražaja u SZS-u.

Xylazine 2% može se primijeniti i.v., i.m. ili s.c. Nakon i.v. injekcije djelovanje nastupi u roku od 5 min., jače je izraženo no kraće traje. Nakon i.m. injekcije djelovanje se očituje unutar 5-15 min., a nakon s.c. aplikacije nastupi nešto kasnije. Ovisno o dozi i putu aplikacije učinak ksilazina traje od 0.5 do 5 sati. Intenzitet sedacije biti će slabiji u uzbuđenih životinja. Pacijente se ne smije uznemiravati do nastupa pune sedacije.

KARENCIJA

Govedo i konj -

Meso i jestive iznutrice.....3 dana.

Mlijeko.....2 dana.

OPREMA

Kartonska kutija u kojoj je 1 smeđa staklena bočica (tip II) s 30 mL injekcijske otopine, zatvorena gumenim čepom i aluminijskom kapicom.

NAČIN ČUVANJA

Na tamnome mjestu (kartonska kutija), pri temperaturi 15-25°C te izvan pogleda i dosega djece. Pripravak se ne smije smrznuti.

NAČIN PRIMJENE I DOZE

Govedo

Xylazine 2% primjenjuje se i.m. (djelovanje nastupa sporije i traje duže). Doza ksilazina je 0.05-0.3 mg/kg t.m. (Xylazine 2% 0.25-1.5 mL/100 kg t.m.), ovisno o stupnju sedacije koja se želi postići. Vrlo nemirnim i razdraženim životinjama ponekad je nužno aplicirati veću dozu, no ona ne smije prelaziti 0.3 mg ksilazina/kg t.m. (doza IV.)

Doza	Djelovanje	Ksilazin mg/kg	Xylazine 2% mL/50 kg
I.	blago	0.05	0.125
II.	srednje jako	0.10	0.25
III.	jako	0.20	0.5
IV.	vrlo jako	0.30	0.75

Konj

Kad god je moguće Xylazine 2% treba konjima primijeniti sporo i.v. (aplikacija mora trajati 1-2 min.). Ovisno o stupnju sedacije koja se želi postići i odgovoru životinje, doza Xylazine 2% iznosi 3-5 mL/100 kg t.m. (0.6-1 mg ksilazina/kg t.m., i.v.). U slučaju i.m. primjene aplicira se 4 mL/100 kg t.m.

Pas

Doza Xylazine 2% je 0.15 mL/kg t.m. (ksilazin 3 mg/kg.) i.m. ili i.v. S tom se dozom postiže slaba do srednje jaka sedacija, tijekom 30-120 min., te različiti stupanj analgezije i dobra miorelaksacija. Ta doza prikladna je za premedikaciju opće anestezije i za postupke kod kojih nije prisutna bol u većoj mjeri. Za bolne postupke Xylazine 2% treba primijeniti u kombinaciji s lokalnim i/ili općim anestheticima te analgeticima.

Mačka

Doza Xylazine 2% je 0.15 mL/kg t.m. i.m. (3 mg/kg). S tom se dozom postiže blaga do izrazita sedacija (traje 30-120 min.), a prikladna je za premedikaciju opće anestezije i za postupke kod kojih nije prisutna bol. Ponekad je povoljno obaviti premedikaciju atropinom.

Zastupnik



CENTRALNA VETERINARSKA

AGENCIJA d.o.o.

Zagreb, Utijska 40

tel. 01/2304-334; -335

fax. 01/6604-031

99,00 kn/30 mL

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Limfom u mačaka II.

Klinička slika, dijagnoza i diferencijalna dijagnoza



Doroteja Andreić, Dalibor Potočnjak i Nada Kučer

Klinička slika

Kod limfoma ne postoje pasminska niti dobna predispozicija (Vail i Thamm, 2004.), iako pojedini radovi govore o većem pojavljivanju limfoma u mužjaka (Malik i sur., 2003.) te u sijamskih mačaka i križanaca navedene pasmine (Malik i sur., 2003.). Povezanost dobi i FeLV statusa su prethodno opisani. Više od 75% mačaka pokazuje kliničke znake tj. spada u podskupinu *b* prema TNM klasifikaciji. Klinička slika ovisi o zahvaćenosti pojedinih organa ili organskih sustava, odnosno o kojem limfomu se radi s obzirom na anatomsku klasifikaciju. Mačke s multicentričnim ili generaliziranim oblikom pokazuju nespecifične kliničke znake (gubitak tjelesne mase, anoreksija, letargija). Gubitak tjelesne mase, povraćanje i inapetencija često ukazuju na poodmakli stadij s lošom prognozom (Raskin, 2010.). Vlasnik često primjećuje potkožne mase te je to razlog dovođenja mačke veterinaru (Couto, 2000., Couto, 2001.). Prilikom pregleda utvrđuje se limfadenopatija. Limfni čvorovi su povećani 5 do 15 puta (Couto, 2000., Couto, 2001.), bezbolni i pomični (Couto, 2000., Couto, 2001., Raskin, 2010.). Ako povećani limfni čvorovi pritišću limfne žile, nastaje

mehanička opstrukcija limfne žile te posljedično edem. Ako limfni čvor pritišće dišni put, dolazi do kašlja (Couto, 2000., Couto, 2001.). Osim limfadenopatije, mogu se javiti hepato- i splenomegalija (Raskin, 2010.), a mogu se pojaviti i ektranodalne lezije (npr. u oku, na koži, bubregu ili živčanom tkivu). Kod ektranodalnog limfoma klinički znaci ovise o lokaciji limfoma. Simptomi su prije svega posljedica kompresije ili dislokacije normalnog parenhima (npr. azotemija kod renalnog limfoma, neurološki znaci kod limfoma živčanog sustava, i sl.). Kod okularnog limfoma javljaju se: fotofobija, blefarospazam, epifora, hipemija, hipopijon, okularne ili retroorbitalne mase, infiltracije trećeg očnog kapka, anteriorni uveitis i odvajanje retine. Iako je limfom PŽS-a najčešći oblik živčanog limfoma, može se javiti i limfom perifernih živaca (Couto, 2000., Couto, 2001.). Možemo reći da se limfom perifernih živaca javlja sporadično (Fox i Gutnick, 1972., Allen i Amis, 1975., Hankenson i sur., 1998., Mellanby i sur., 2003., Higgins i sur., 2008., Cavana i sur., 2009.). Dijagnoza tog limfoma je teška, jer takvi limfomi nemaju tipičan izgled limfoma na histološkom preparatu (Fox i

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

Gutnik, 1972., Allen i Amis, 1975., Hankenson i sur., 1998., Mellanby i sur., 2003., Higgins i sur., 2008.). Dijagnozu otežavaju i činjenice da se neurološki problemi mogu javiti prije nego li je tumor klinički vidljiv, zatim da tumor može brzo napredovati i prouzročiti rana i ireverzibilna oštećenja (Honnorat i Antoine, 2007.) te životinju u vrlo kratkom vremenu ostaviti onesposobljenu (Cavana i sur., 2009.). Limfomi se živčanog sustava općenito mogu podijeliti u: intravaskularne limfome te limfome koji infiltriraju živčano tkivo (Lapointe i sur., 1997., Fondevila i sur., 1998.). Nadalje, oštećenje može biti na senzornom, motornom ili senzomotornom dijelu živca (Cavana i sur., 2009.). Klinički znaci ovise o zahvaćenom živčanom tkivu (Linzmann i sur., 2009.) te mogu varirati od pareze, paralize, mišićne atrofije do epileptiformnih napada i gubitka svijesti (Linzmann i sur., 2009.). Mačke s alimentarnim limfomom ili limfomom limfocita s velikim granulomima pokazuju gubitak tjelesne težine, promjene na dlaci, inapetencu, kroničnu dijareju ili začep te povraćanje (Couto, 2000., Couto, 2001., Vail i Thamm, 2004.). Povremeno se mogu javiti i znaci intestinalne opstrukcije (ako je masa dovoljno velika da začepi lumen crijeva) ili peritonitis (posljedica rupture limfomatozne mase). Ako je zahvaćen jezik mogu se javiti otečenje i ulceracije (Bound i sur., 2011.). Kliničkim pregledom se utvrđuju intraabdominalne mase (povećani mezenterijalni limfni čvorovi ili intestinalne mase) te zadebljani zavoji crijeva (kod difuznog alimentarnog oblika) (Lingard i sur., 2009.). Alimentarni se limfom najčešće javlja u difuznom obliku (Couto, 1992., Fondacaro i sur., 1999., Gabor i sur., 1999., Moore, 2003., Waly i sur., 2005., Lingard i sur., 2009.), no može se javiti i solitarni alimentarni limfom. Uz alimentarni limfom mogu biti prisutni hipoalbuminemija i anemija

(Fondacaro i sur., 1999., Gabor i sur., 2000., Lingard i sur., 2009.). Hipoalbuminemija je osobito prisutna ako se radi o malignijem obliku alimentarnog limfoma (Fondacaro i sur., 1999., Gabor i sur., 2000.), dok često nije prisutna pri benignijem obliku (Lingard i sur., 2009.). Često su uz gastrointestinalni trakt zahvaćeni i mezenterijalni limfni čvorovi i jetra (Carreras i sur., 2003., Evans i sur., 2006., Lingard i sur., 2009.). Budući da kod alimentarnog limfoma dolazi do infiltracije stijenke s neoplastičnim i/ili upalnim stanicama (Mehoney i sur., 1995., Zwahlen i sur., 1998., Rassnick i sur., 1999.), na UZV se gubi slojevita slika presjeka probavnog sustava (Grooters i sur., 1994., Penninck i sur., 1994.). Gubitak slike presjeka na UZV-u je, osim navedenog, posljedica i sekundarne nekroze, edema i/ili krvarenja, ako su prisutni (Grooters i sur., 1994., Penninck i sur., 1994.). Medijastinalni limfom najčešće zahvaća kranijalne i kaudalne medijastinalne limfne čvorove, a ponekad i timus (Grabarević, 2002.). Mačke s medijastinalnim limfomom često imaju dišnih problema koji nastaju kao posljedica prisutnosti intratorakalne tvorbe (povećani prednji medijastinalni limfni čvorovi) ili pleuralne efuzije (Couto, 2000., Couto, 2001., Raskin, 2010.). Mačka kašlje, pokazuje različit stupanj dispneje te može pokazivati i znake regurgitacije. Pregledom se utvrđuje stišani dišni šum, dislokacija dišnih šumova u dorzokaudalni dio torakalne šupljine, tupi perkusioni zvuk ventralnog dijela torakalne šupljine te nemogućnost kompresije prednjeg medijastinuma (Couto, 2000., Couto, 2001.). U slučaju da tumorska masa pritišće *ductus thoracicus* dolazi do hilotoraksa. Kod renalnog limfoma prisutni su sekundarna poliurija i polidipsija tj. oni su posljedica insuficijencije bubrega. Pregledom

utvrđujemo da je mačka kahektična, anemična te ima povećane, nepravilne i tvrde bubrega (Bound i sur., 2011.). Često su zahvaćena oba bubrega (Mooney i sur., 1987., Couto, 2000., Couto, 2001., Vail, 2007., Cavana i sur., 2009., Vail, 2010.). Mačke s renalnim limfomom imaju kraće vrijeme preživljavanja nego mačke s drugim oblikom ektranodalnog limfoma, od 3 do 6 mjeseci (Jeglum i sur., 1987., Mooney i sur., 1987., Vail, 2010.). Uzrok kraćem preživljavanju je akutni tijek bolesti te brza insuficijencija bubrega (Cavana i sur., 2009.). Mačke s nazalnim limfomom kišu, imaju unilateralni ili bilateralni serosangvinozni iscjedak iz nosa, egzoftalmus i deformacije lica. Ako je mačka FeLV pozitivna, kao posljedica anemije sluznice mogu biti blijede. Anemija se može javiti i kao posljedica mijelofitaze (proces kod kojeg zbog velikog broja neoplastičnih i normalnih stanica dolazi do promjene u hematopoetskom induktivnom mikrookolišu, kompeticije za nutrijente te autoimunosti, a tumorske stanice izlučuju i supresorske supstance). U oko 50% mačaka s limfomom zahvaćena je koštana srž pa s progresijom bolesti nastaje multipla citopenija i potencijalni leukemični oblik limfoma. Iako česta u pasa, hiperkalcemija se izrazito rijetko javlja u mačaka te je posljedica izlučivanja parathormonu sličnih proteina (engl. *PrP, Parathormone related Protein*) (Vail i Thamm, 2004.). Obdukcijski nalaz u slučaju multicentričnog limfoma uključuje povećane limfne čvorove, koji se na prerezu izboče, a prerezna površina je sivo-bijele ili ružičaste boje. Kod uznapredovalog limfoma dolazi do promjene arhitekture tkiva pa se kora i srž limfnog čvora više ne mogu razlikovati. Infiltracija malignih stanica u jetru i slezenu rezultira ili difuznim povećanjem organa ili stvaranjem čvorova. Kod alimentarnog oblika nalazi se difuzno ili čvornovito zadebljanje

zahvaćenog dijela probavnog sustava. Povećani limfni čvorovi ponekad konfluiraju i stvaraju velike mase. Kod timusnog se oblika u kranijalnom medijastinumu nalazi velika, siva, mekana tvorba (Vail i Thamm, 2004.). Histološki limfome karakterizira uniformna populacija morfološki atipičnih stanica te narušavanje normalne arhitekture zahvaćenog tkiva. Limfomi sastavljeni od malih, dobro diferenciranih stanica s malim brojem mitotički obično su niskog stupnja malignosti. Oni su osim navedenog i indolentni i sporo progresivni. Limfomi s velikim, slabo diferenciranim stanicama i velikim brojem mitotički su limfomi visokog stupnja malignosti. Oni su agresivni i brzo progresivni. Kod limfoma srednjeg stupnja malignosti često se nalazi miješana populacija malih i velikih tipova stanica pa se takvi tumori nazivaju i T stanicama bogati B stanični limfomi. To su često sporo progresivni tumori koji slabo reagiraju na kemoterapiju. Valja napomenuti da su kod mačaka limfomi niskog stupnja malignosti rijetki. Većina ih je srednjeg do visokog stupnja malignosti i sastavljeni su od velikih stanica.

Dijagnoza

Sumnja na limfom obično se postavlja na temelju organomegalije ili promijenjenog ultrazvučnog nalaza. Dijagnoza se postavlja na temelju pregleda životinje te pomoćnih dijagnostičkih metoda. Od pomoćnih dijagnostičkih metoda bitne su: hematološka i biokemijska pretraga krvi, pretraga seruma na retrovirusne zarazne bolesti (FeLV i FIV), rengenška, ultrazvučna i CT pretraga te citološka i histopatološka pretraga.

Prilikom pregleda životinje bitno je obaviti palpaciju svih limfnih čvorova koji se mogu palpirati. Treba pregledati sluznice da se utvrdi prisutnost blijedila

i/ili petehijalnih krvarenja koji mogu ukazivati na anemiju ili trombocitopeniju koje nastaju kao posljedica mijeloftize. Životinju treba pregledati na znake zakazivanja vitalnih organa kao i na tragove ikterusa. Palpacijom adbomena možemo utvrditi moguću organomegaliju, zadebljanje intestinalne stijenke ili limfadenopatiju mezenteričnih limfnih čvorova. Na prisutnost medijastinalne tvorbe i/ili pleuralnog izljeva može se posumnjati kompresijom toraksa i auskultacijom.

Hematološke se promjene javljaju najčešće kod multicentričnog limfoma te su posljedica infiltracije koštane srži, hiper- ili hipofunkcije slezene, kroničnosti procesa ili paraneoplastičnog imunog procesa (pr. imunoposredovana hemolitička anemija ili trombocitopenija). Kod kroničnih slučajeva može biti prisutna normocitna normokromna neregenerativna anemija. Makrocitna anemija može biti prisutna u FeLV pozitivnih mačaka. Ako je prisutna mijeloftiza, uz anemiju se javljaju i trombocitopenija i leukopenija. Atipični limfociti u krvi ukazuju na zahvaćenost koštane srži i leukemiju. Monocitoza i eozinofilija javljaju se zbog lokalnog ili sistemskog izlučivanja bioaktivnih tvari od strane tumora. U bioaktivne tvari koje izlučuje tumor spadaju hematopoetski faktori rasta i interleukini (Couto, 2000., Couto, 2001.). Bitno je razlučiti multicentrični limfom sa zahvaćenom koštanom srži od limfoblastične leukemije, jer te dvije bolesti imaju različitu prognozu.

Serološke promjene kod limfoma su posljedica izlučivanja bioaktivnih tvari od strane tumora ili insuficijencije organa zbog tumorske infiltracije. Zbog potonjeg, ukazuju na zahvaćeno anatomsko mjesto. Tako se hipoproteinemija (ponajprije hipoalbuminemija) najčešće javlja u alimentarnog limfoma (Malik i sur., 2003.). Kod benignijeg oblika alimentarnog

limfoma, hipoalbuminemija se ne javlja (Lingard i sur., 2009.). Ako se radi o renalnom limfomu, povećane su koncentracije ureje i kreatinina. Kada je zahvaćena jetra enzimi specifični za jetru i bilirubin su povišeni. Ako su zahvaćeni B limfociti, povišena je koncentracija serumskih globulina. Općenito, hematološke i biokemijske promjene nisu značajne za dijagnostiku limfoma, ali su bitne za evaluaciju stanja pacijenta (Couto, 2000., Couto, 2001.). Naime, te pretrage ukazuju na eventualnu regenerativnu ili neregenerativnu anemiju (Dust i sur., 1982., Gabor i sur., 2000.), neutrofilnu leukocitozu, limfocitozu, trombocitopeniju (Dust i sur., 1982.), hipoalbuminemiju, hiperglobulinemiju (Dust i sur., 1982.), hiperkalcemiju (Dust i sur., 1982., Gabor i sur., 2000.) i/ili prerenalnu ili renalnu azotemiju, ovisno o zahvaćenom anatomskom području. Valja još jednom naglasiti da je hiperkalcemija kao posljedica paraneoplastičnog sindroma rijetka u mačaka nego u pasa te treba uzeti u obzir i druge tipove limfoma, ako se hiperkalcemija javi (Smith, 2006.).

Pretrage na navedene bolesti nisu bitne samo radi dijagnostike, već i radi prognoze i preporuke o daljnjem držanju životinje.

Navedene pretrage su bitne u dijagnozi kada nije prisutna periferna limfadenopatija (Vail i Thamm, 2004.). Bitne su i kod stupnjevanja bolesti po TNM i anatomskoj klasifikaciji te kod prognoze bolesti. Rengenskom pretragom možemo utvrditi organomegaliju, povremeno i solitarne limfome, ako su dovoljno veliki. Kod mačaka sa sumnjom na intestinalni limfom najbitniji je ultrazvuk abdomena (Couto, 2000., Couto, 2001., Vail i Thamm, 2004.). UZV se mogu i vidjeti medijastinalne mase te promjena ehogenosti parenhimskih organa (npr. jetre, slezene i bubrega) koja nastaje sekundarno tumorskoj infiltraciji.

Uz navedeno, možemo utvrditi i limfadenopatiju ili organomegaliju te izvršiti biopsiju ili aspiraciju promijenjenog tkiva. Valja napomenuti da mačka može imati limfom iako navedenim pretragama nije utvrđeno povećanje organa (Lamb i sur., 1991.).

Citološka pretraga je zlatni standard u dijagnostici limfoma (Couto, 2000., Couto, 2001., Vail i Thamm, 2004.). Ipak, samo u 70% do 75% mačaka dijagnoza se može postaviti navedenom metodom (Couto, 2000., Couto, 2001.). Za razliku od pasa, u mačaka FNA (engl. *fine needle aspiration*) limfnog čvora te posljedična citološka pretraga aspirata nije dovoljna za dijagnozu zbog teškog razlikovanja limfoma i sindroma benigne hiperplazije limfnih čvorova. Taj sindrom uključuje idiopatsku perifernu limfadenopatiju, pleksiformnu vaskularizaciju limfnog čvora i perifernu hiperplaziju limfnih čvorova te se javlja u mladim mačaka. Zbog toga je potrebno obaviti i patohistološku pretragu (Couto, 2000., Couto, 2001.). Osim limfnog čvora može se pretražiti i biopsat zahvaćenog organa, aspirat koštane srži te cerebrospinalna tekućina i tekućina dobivena torakocentezom, ako je prisutan izljev u navedenoj tjelesnoj šupljini. Cerebrospinalni se likvor pretražuje kod sumnje na limfom SŽS-a, no njegova pouzdanost je mala, jer se taj limfom u mačaka najčešće javlja ekstraduralno. Bitno je koristiti i histološke i imunohistokemijske metode dijagnostike kojima se određuje zahvaćenost T ili B limfocita (Vail i Thamm, 2004.). Posebni oblik histološke pretrage je imunohistokemijska pretraga. Kod te se pretrage koriste protutijela za transmembranske proteine CD79 ili CD3. CD79 je transmembranski protein u B-limfocita, a CD3 u T-limfocita. Ako protutijela reagiraju s CD79 proteinima, radi se o limfomu ovisnom o B-limfocitima, a ako reagiraju s CD3 proteinima, radi se o limfomu ovisnom o

T-limfocitima (Vail i Thamm, 2004.). Osim navedenih najčešćih metoda dijagnostike, kod sumnje na alimentarni oblik uspješno se koristi i endoskopska pretraga. Tom prilikom uzimaju se i biopsije sluznice probavnog trakta. Preporuča se i punkcija koštane srži, jer prognostičko značenje ovisi o promjenama u stanicama koštane srži (Vail i Thamm, 2004.).

Diferencijalna dijagnoza

Diferencijalna dijagnoza ovisi o anatomskej lokaciji koja je zahvaćena. Ako se radi o generaliziranoj limfadenopatiji, u obzir dolaze diseminirane infekcije (bakterijske, virusne, rikecijske, parazitarne ili gljivične), imunoposredovane bolesti (lupus, poliartritis, vaskulitis, dermatopatije), drugi hematopoetski tumori (leukemija, multipli mijelom, maligna ili sistemska histiocitoza), metastaze tumora u limfne čvorove te benigni reaktivni hiperplastični sindrom. Kod alimentarnog limfoma u obzir dolaze infiltrativni enteritis, nelimfoidne intestinalne neoplazije, granulomatozni enteritis, limfom limfocita s velikim granulama, upalna bolest crijeva te gastrointestinalni mastocitomi. Ako je zahvaćen jezik, u obzir treba uzeti opekline te ozljede koje nastaju kao posljedica traume ili stranog tijela. Kod kutanog limfoma moramo isključiti infekciozni dermatitis, piodermu, imunoposredovan dermatitis (npr. *pemphigus*), parazitarne infestacije i druge kutane neoplazme. Mediastinalni limfom moramo razlikovati od timoma, kemodektoma (tumora baze srca), ektopičnog tiroidnog tumora te granulomatoznih bolesti. Navedene bolesti se od limfoma razlikuju ponajprije citološkom i histopatološkom pretragom. Kod limfoma živčanog sustava treba isključiti nasljedne poremećaje, endokrine bolesti (*diabetes mellitus*, hipertireoidizam), zarazne bolesti (FIV,

FeLV), neodgovarajuću prehranu (deficit fenilalanina ili tirozina), intoksikacije (organofosfatima, karbamatima ili teškim metalima), nuspojave aplikaciji lijekova (aminoglikozidi, vinkristin) te akutnu ili kroničnu idiopatsku polineuropatiju (Mariani i sur., 1999., Dickinson i LeCouteur, 2004., Cavana i sur., 2009.). Treba isključiti i novotvorevine drugog podrijetla (npr. timom koji prouzroči bolest neuromuskularnog spoja) (Scott-Moncrieff i sur., 1990., Shelton, 2002.) i metastaze (Cavana i sur., 2009.). Neuropatija može biti i posljedica paraneoplastičkog sindroma (Braund i sur., 1987., Inzana, 2004.) pa i o tome treba voditi računa. Paraneoplastični sindrom može zahvatiti bilo koji dio centralnog ili perifernog živčanog sustava ili neuromuskulotorni spoj (Mariani i sur., 1999., Honnorat i Antoine, 2007.). Isključiti treba i imunosno posredovane bolesti (Inzana, 2004., Honnorat i Antoine, 2007.).

Sažetak

Klinička slika limfoma ovisi o zahvaćenosti pojedinih organa ili organskih sustava, odnosno o kojem se limfomu radi s obzirom na anatomsku klasifikaciju. Dijagnoza se postavlja na temelju citološke i histopatološke pretrage. Za prognozu su bitni: pregled životinje, biokemijske i hematološke pretrage kao i serološka pretraga na retrovirusne zarazne bolesti. Diferencijalna dijagnoza ovisi o anatomske lokaciji koja je zahvaćena.

Literatura

1. ALLEN, J. G. and T. AMIS (1975): Lymphosarcoma involving cranial nerves in a cat. *Aust. Vet. J.* 51, 155-158.
2. BOUND, N. J., S. L. PRIESTNALL and M. P. CARIOU (2011): Lingual and renal lymphoma in a cat. *J. Feline. Med. Surg.* 13, 272-275.
3. BRAUND, K. G., J. A. MCGUIRE, K. A. AMLING and R. A. HENDERSON (1987): Peripheral neuropathy associated with malignant neoplasia in dogs. *Vet. Path.* 24, 16-21.
4. CARRERAS, J. K., M. GOLDSCHMIDT, M. LAMB, R. C. McLEAR, K. J. DROBATZ and K. U. SORENMO (2003): Feline epitheliotropic intestinal malignant lymphoma: 10 cases (1997 - 2000). *J. Vet. Intern. Med.* 17, 326-331.
5. CAVANA, P., F. SAMMARTANO, M. T. CAPUCCHIO, D. CATALANO, A. VALAZZA and A. M. FARCA (2009): Peripheral neuropathy in a cat with renal lymphoma. *J. Feline. Med. Surg.* 11, 869-872.
6. COUTO, C. G. (1992): Gastrointestinal neoplasia in dogs and cats. In: KIRK, R. W. and J. D. BONAGURA: *Current veterinary therapy XI*, WB Saunders, USA (595-601).
7. COUTO, C. G. (2000): Advances in treatment of the cat with lymphoma in practice. *J. Feline. Med. Surg.* 2, 95-100.
8. COUTO, C. G. (2001): What is new on feline lymphoma? *J. Feline. Med. Surg.* 3, 171-176.
9. DICKINSON, P. J. and R. LECOUEUR (2004): Feline neuromuscular disorders. *Vet. Clin. N. Am. Small.* 34, 1307-1359.
10. DUST, A., A. NORRIS and V. E. VALLI (1982): Cutaneous lymphosarcoma with IgG monoclonal gammopathy, serum hyperviscosity and hypercalcemia in a cat. *Can. Vet. J.* 23, 235-239.
11. EVANS, S. E., J. J. BONCZYNSKI, J. D. BROUSSARD, E. HAN and K. E. BAER (2006): Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 229, 1447-1450.
12. FONDACARO, J. V., K. P. RICHTER, J. L. CARPENTER, J. R. HART, S. L. HILL and M. J. FETTMAN (1999): Feline gastrointestinal lymphoma: 67 cases (1988 - 1996). *Eur. J. Comp. Gastroenterol.* 4, 5-11.
13. FONDEVILA, D., M. VILAFRANCA and M. PUMAROLA (1998): Primary central nervous system T-cell lymphoma in a cat. *Vet. Path.* 35, 550-553.
14. FOX, J. G. and M. J. GUTNICK (1972): Horner's syndrome and brachial paralysis due to lymphosarcoma in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 160, 977-980.
15. GABOR, L., J., P. J. CANFIELD and R. MALIK (1999): Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. *Aust. Vet. J.* 77, 436-441.
16. GABOR, L., J., P. J. CANFIELD and R. MALIK (2000): Hematological and biochemical findings in cats in Australia with lymphosarcoma. *Aust. Vet. J.* 78, 456-451.
17. GRABAREVIĆ, Ž. (2002): *Biologija i morfologija tumora*. U: GRABAREVIĆ, Ž.: *Veterinarska onkologija*, DSK-FALCO, Zagreb (15-47).
18. GROOTERS, A. M., D. S. BILLER, H. WARD, T. MIYABAYASHI and C. GUILLERMO COUTO (1994): Ultrasonographic appearance of feline alimentary lymphoma. *Vet. Radiol. Ultrasoun.* 35, 468-472.
19. HANKENSON, F. C., T. A. BIRKEBAK and L. MAGGIO-PRICE (1998): Pelvic limb paresis in a safari cat. *Lab. Anim. Sci.* 48, 325-329.
20. HIGGINS, M. A., J. H. ROSSMEISL, G. K. SAUNDERS, S. HAYES and M. KIUPEL (2008):

- B-cell lymphomains the peripheral nerves of a cat. *Vet. Path.* 45, 54-57.
21. HONNORAT, J. and J. C. ANTOINE (2007): Paraneoplastic neurological syndromes. *Orphanet. J. Rare. Dis.* 2, 22-29.
 22. INZANA, K. D. (2004): Paraneoplastic neuromuscular disorders. *Vet. Clin. N. Am. Small.* 34, 1453-1467.
 23. JEGLUM, K. A., A. WHEREAT and K. YOUNG (1987): Chemotherapy of lymphoma in 75 cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190, 174-178.
 24. LAMB, C. R., L. E. HARTZBAND, A. S. TIDWELL and S. H. PEARSON (1991): Ultrasonographic findings in hepatic and splenic lymphosarcoma in dogs and cats. *Vet. Radiol.* 32, 117-120.
 25. LAPOINTE, J., M., R. J. HIGGINS, G. D. KORTZ, C. S. BAILEY and P. F. MOORE (1997): Intravascular malignant T-cell lymphoma (malignant angioendotheliomatosis) in a cat. *Vet. Path.* 34, 247-250.
 26. LINGARD, A. E., K. BRISCOE, J. A. BEATTY, A. S. MOORE, A. M. CROWLEY, M. KROCKENBERGER, R. K. CHURCHER, P. J. CANFIELD and V. R. BARRS (2009): Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. *J. Feline. Med. Surg.* 11, 692-700.
 27. LINZMANN, H., L. BRUNNBERG, A. D. GRUBER and R. KLOPFLEISCH (2009): A neurotropic lymphoma in the brachial plexus of a cat. *J. Feline. Med. Surg.* 11, 522-524.
 28. MALIK, R., L. J. GABOR and P. J. CANFIELD (2003): Lymphoma in Australian cats - lessons for Europe? *J. Feline. Med. Surg.* 5, 147-150.
 29. MARIANI, C. L., S. B. SHELTON and J. C. ALSUP (1999): Paraneoplastic polyneuropathy and subsequent recovery following tumor removal in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 302-304.
 30. MEHONEY, O., A. S. MOORE, S. M. COTTER, S. J. ENGLER, D. BROWN and D. G. PENNINCK (1995): Alimentary lymphoma in cats: 28 cases (1988 - 1993). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207, 1593-1598.
 31. MELLANBY, R. J., N. D. JEFFERY, E. A. BAINES, N. WOODGER and M. E. HERRTAGE (2003): Magnetic resonance imaging in the diagnosis of lymphoma involving the brachial plexus in a cat. *Vet. Radiol. Ultrasoun.* 44, 522-525.
 32. MOONEY, S. C., A. A. HAYES, R. E. MATUS and E. G. MACEWEN (1987): Renal lymphoma in cats: 28 cases (1977 - 1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191, 1473-1477.
 33. MOORE, L. E. (2003): The advantages and disadvantages of endoscopy. *Clin. Tech. Small. Anim. P.* 18, 250-253.
 34. PENNINCK, D. G., A. S. MOORE, A. S. TIDWELL, M. E. MATZ and G. O. FREDEN (1994): Ultrasonography of alimentary lymphosarcoma in the cat. *Vet. Radiol. Ultrasoun.* 35, 299-304.
 35. RASKIN, R. E. (2010): Lymphoma. In: SCHAEER, M.: *Clinical Medicine of the Dog and the Cat*, Manson Publishing, Great Britain (281).
 36. RASSNICK, K., M., G. N. MAULDIN, S. D. MOROFF, G. E. MAULDIN, M. C. MCENTEE and S. C. MOONEY (1999): Prognostic value of argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) staining in feline intestinal lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.* 13, 187-190.
 37. SCOTT-MONCRIEFF, J. C., J. R. COOK and G. C. LANTZ (1990): Acquired myasthenia gravis in a cat with thymoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196, 1291-1293.
 38. SHELTON, G. D. (2002): Myasthenia gravis and disorders of neuromuscular transmission. *Vet. Clin. N. Am. Small.* 32, 189-206.
 39. SMITH, A., N. (2006): Extranodal Lymphosarcoma. In: AUGUST, J. R.: *Consultations in Feline Internal Medicine*, Elsevier Inc., USA (633-641).
 40. VAIL, D. (2010): Haematopoietic tumors. In: WITHROW, S. J. and D. M. VAIL: *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*, Elsevier, Oxford (733-749).
 41. VAIL, D. M. and D. H. THAMM (2004): Lymphoma. In: ETTINGER, S. J. and E. C. FELDMAN: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 6th Edition, Elsevier Saunders, USA (732-741).
 42. VAIL, D. M. (2007): Feline Lymphoma and Leukemia. In: WITHROW, S. J. and D. M. VAIL: *Small Animal Clinical Oncology* 4th Edition, Elsevier Saunders, Missouri (733-749).
 43. WALY, N. E., T. J. GRUFFYDD-JONES, C. R. STOKES and M. J. DAY (2005): Immunohistochemical diagnosis of alimentary lymphoma and severe intestinal inflammation in cats. *J. Comp. Path.* 133, 253-260.
 44. ZWAHLEN, C. H., M. D. LUCROY, S. A. KRAEGEL and B. R. MADEWELL (1998): Results of chemotherapy for cats with alimentary malignant lymphoma: 21 cases (1993 - 1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213, 1144-1149.

Lymphoma in cats II – clinical symptoms, diagnosis and differential diagnosis

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

Symptoms vary depending on the involved anatomical location. To confirm lymphoma, a cytological or pathohistological diagnosis is needed. Physical examination, biochemical

and haematological tests and serological tests on retrovirus diseases are needed for the prognosis. A differential diagnosis depends on the affected anatomical location.

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

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



**NOVO
REVOLUCIONARNO**

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

KARENCIJE NEMA !!!

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

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

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

+ NOVAGEN

GVA

Anaplastični planocelularni karcinom jezika u domaće mačke



Marija Lipar, Hrvoje Labura i Rajka Turner

Uvod

Anaplastični planocelularni karcinom je nezreli ili maligni tumor epitelnog tkiva koji se relativno često može naći u usnoj šupljini mačaka starije životne dobi. Zbog izrazito destruktivnog infiltrativnog rasta ovaj tumor se poput pseudopodija širi u okolno tkivo i često metastazira u susjedno koštano tkivo i regionalne limfne čvorove, dok se u manjem broju slučajeva sekundarni tumori mogu pojaviti u plućima (Gendler i sur., 2010., Martin i sur., 2011.). Bolest se u najvećem broju slučajeva otkrije kada vlasnici primjete da životinja teško uzima hranu, obilno slini i krvari iz usne šupljine. Uz to se ponekad može uočiti oteklina i asimetrija lica, halitoza, klimanje i gubitak zuba, epifora i edem vjeđa te se mogu pojaviti i opći simptomi poput letargije, otežanog disanja i gubitka tjelesne mase (Wiggs i Lobprise, 1997.a). Dijagnoza se postavlja patohistološkom ili citološkom pretragom biopata i aspirata te pri tome diferencijalno dijagnostički treba isključiti otekline kao što su ulceracije i nekroze koje se u usnoj šupljini mačaka mogu javiti kao posljedica raznih sistemskih bolesti, zatim induracije vezivnim tkivom koje mogu nastati nakon ispadanja zuba, te druge tipove neoplazija. Prognoza je izrazito nepovoljna zbog malignosti i infiltrativnog rasta tumora zbog čega često nije moguća kompletna ekscizija neoplazije pa se uz kiruršku terapiju

preporuča terapija citostaticima i ionizirajućim zračenjem.

Prikaz slučaja

Domaća mačka križane pasmine, stara 9 godina dovedena je na stomatološki pregled na Kliniku za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Vlasnica je prije dva mjeseca primijetila da mačka otežano žvače i guta hranu te pojačano slini i ima neugodan zadah iz usta. Kod lokalnog veterinara zatražila je pregled te je tom prilikom u općoj anesteziji uklonjen zubni kamenac i receptirana kombinacija spiramicina i metronidazola za oralnu primjenu (Stomorgyl®, Merial, Velika Britanija). Nakon zahvata i terapije nastupilo je kratkotrajno poboljšanje, no ubrzo nakon prestanka primjene antibiotika simptomi otežanog gutanja i pojačanog slinjenja su se ponovno pojavili.

Prilikom kliničkog pregleda uočeni su povećani submandibularni limfni čvorovi, životinja je bila afebrilna, vidljive sluznice bile su ružičaste, a vrijeme kapilarnog punjenja (CRT) i vrijednosti trijasa bili su unutar fizioloških granica. Svi hematološki parametri, uključujući i diferencijalnu krvnu sliku bili su unutar referentnih vrijednosti (LaserCyte, Idexx, SAD), dok su među biokemijskim

Dr. sc. Marija LIPAR, dr. med. vet., viša stručna suradnica, znanstvena savjetnica, Hrvoje LABURA, dr. med. vet., student poslijediplomskog studija, Veterinarski fakultet Zagreb; Rajka TURNER, dr. med. vet.

parametrima nađene neznatno povišene serumske koncentracije ureje (16,7 mmol/L, referentna vrijednost je 5,7-12,9 mmol/L) i globulina (52 g/L, referentna vrijednost je 28-51 g/L) (VetTest 8008, Idexx, SAD). I dok za virus mačije leukemije (FeLV) nisu nađena protutijela, testiranje na prisutnost protutijela za virus mačije imunodeficiencije (FIV) dalo je pozitivan rezultat (Feline triple test; Idexx Laboratories, SAD). RTG pretragom grudnog koša nisu uočene patološke promjene.

S obzirom na to da je za detaljan pregled usne šupljine domaćih mesojeda uvijek potrebna duboka sedacija ili opća anestezija (Wiggs i Lobprise, 1997.a, Salisbury, 2003., Gorrel, 2004., Carpenter i Marretta, 2007.), životinja je uvedena u anesteziju kombinacijom sedativa anksiolitičkog djelovanja diazepama (0,25 mg/kg iv.; Apaurin®, Pliva, Hrvatska) i disocijacijskog anestetika ketamina (10 mg/kg, iv.; Ketaminol 10, Vetoquinol, Švicarska). Inspekcijom usne šupljine utvrđena je resorptivna lezija u području vrata zuba na premolarima gornje čeljusti i okruglasta tvorba veličine koštice šljive na bazi jezika s ventralne strane. Tvorba približnih dimenzija 2x1 cm je na površini bila glatka, bez uočljivih krvarenja i tjestaste konzistencije. Uzorak približnih dimenzija 0,5 x 0,5 cm uzet je za patohistološku pretragu i stavljen u 7%-tni puferirani formalin. Nakon obrade i bojenja hemalaun-eozinom (HE) u uzorku tkiva uočeno je nakupljanje nezrelih i maligno promijenjenih epitelnih stanica koje su manjim dijelom bile keratinizirane. Stanice su bile izrazito pleomorfne i velike te je u njima primjećena pojačana mitotička aktivnost, dok je mjestimično uočena nekroza stanica. Obrazac rasta tumorskih stanica bio je lobularni i izrazito infiltrativan. Rezultati patohistološke pretrage ukazivali su na dijagnozu anaplastični planocelularni karcinom. Kako je tumor bio neoperabilan, mačka je otpuštena na kućnu njegu uz primjenu analgetika i druge potporne terapije po potrebi te

je vlasnicima savjetovano da se obrate onkologu za dogovor za eventualnu kemoterapiju i zračenje.

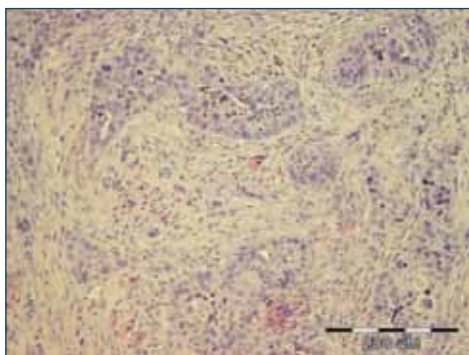
Rasprava

Anaplastični planocelularni karcinom je najčešće dijagnosticirani zloćudni tumor u usnoj šupljini mačaka i zbog visokog stupnja malignosti i infiltrativnog rasta nosi jako lošu prognozu (Wiggs i Lobprise, 1997.b, Gendler i sur., 2010., Field i sur., 2011., Martin i sur., 2011.). Češće se javlja na gingivi nego na jeziku i u podjezičnom području (Gendler i sur., 2010., Martin i sur., 2011.), dok se iznimno rijetko može pojaviti na mekom nepcu i usnama (Gendler i sur., 2010.). Ovaj se tip tumora može pojaviti i u pasa, no tada je češće lociran na tonzilama (Gelberg, 2007.). Anaplastični planocelularni karcinom je drugi maligni tumor po zastupljenosti u usnoj šupljini pasa dok je kod čovjeka najzastupljeniji kao i kod mačke (Nemec i sur., 2012.). Spolna i pasminska predispozicija za ovu bolest nije dokazana, ali je utvrđeno da češće obolijevaju nekastrirane mačke (Martin i sur., 2011.). Općenito, većina tumora koji se javljaju u usnoj šupljini mačaka su zloćudni (Wiggs i Lobprise, 1997.c). Od svih tumora koji se javljaju kod mačaka, 10% ih nastaje u usnoj šupljini, dok je od svih tumora usne šupljine u čak 60% slučajeva dijagnosticiran planocelularni karcinom (Gelberg, 2007., Marretta i sur., 2007., Pang i sur., 2012.).

U ranoj fazi rasta tumora u pravilu nema jasnih kliničkih znakova bolesti. Nakon što se tumorska masa poveća, mogu se očekivati problemi pri uzimanju hrane te se javljaju klinički simptomi poput halitoze, disfagije, bolova u usnoj šupljini, obilna salivacija, krvarenje iz usne šupljine, pojave otekline i vidljive asimetrije lica, klimanja i ispadanja zuba te simptomi poremećaja općeg stanja (Wiggs i Lobprise, 1997.b). Osim planocelularnog karcinoma, u usnoj se šupljini mogu javiti fibrosarkomi koji najčešće zahvaćaju gingivu (Salisbury,



Slika 1. Tumor na bazi jezika mačke



Slika 2. Histopatološki prikaz tumora s baze jezika mačke (planocelularni karcinom) (Ljubaznošću doc. dr. sc. Marka Hohštetera)

2003.), dok se melanom kao i limfom rijetko mogu vidjeti (Wiggs i Lobprise, 1997.b, Bound i sur., 2011.).

Zbog prirode ove bolesti pravilnu dijagnozu je moguće postaviti jedino patohistološkom ili citološkom pretragom uzorka tumoroznog tkiva. Kompjuterska tomografija (CT) se pokazala kao posebno vrijedna dijagnostička metoda kojom je moguće ocijeniti neoplastične promjene na kostima, ali i detektirati moguće metastaze u povećanim limfnim čvorovima i ostalim mekim tkivima (Gendler i sur., 2010.). Slično kao i kod standardne rengenografije, slika se dobiva na temelju različitog koeficijenta apsorpcije x –zraka u različitim vrstama tkiva, no za razliku rengenografije, CT uređaji mogu razlikovati tkiva koja se po svom fizikalnom denzitetu razlikuju manje od 1%. Ustanovljeno je da su

životinje s metastatičkim procesom na gornjoj čeljusti uvijek imale zahvaćenu i orbitalnu kost (Gendler i sur., 2010.).

Smatra se da kirurška terapija nije dovoljna te je uz nju potrebna terapija citostaticima (Carboplatin) i ionizirajućim zračenjem (Pang i sur., 2012.). Ustanovljeno je da su nakon takve terapije mačke s planocelularnim karcinomom na jeziku i gingivi u prosjeku preživljavale 320 dana, dok su mačke s istim tipom tumora na tonzilama uz istu terapiju prosječno preživljavale 724 dana (Field i sur., 2011.). Naprotiv, mačke koje nisu primale nikakvu terapiju nakon što je dijagnosticiran anaplastični planocelularni karcinom preživljavale su u prosjeku samo 2 mjeseca (Martin i sur., 2011.). Prosječna dob u kojoj se ova bolest pojavljuje iznosi 12,5 godina (raspon od 3 do 21 godinu (Marretta i sur., 2007.). Martin i sur. (2011.) su u svom istraživanju opisali da se planocelularni karcinom pojavljuje na jeziku mačaka u dobi od 11,9, a na gingivi u dobi od 13,6 godina. Smatra se da je jedan od bitnih pogodovnih čimbenika za nastanak ove bolesti imunosupresija izazvana infekcijom virusom mačke imunodeficijencije (FIV) pa se i u ovom slučaju može pretpostaviti da je infekcija ovim virusom odigrala znatnu ulogu u nastanku bolesti. U literaturi se još navode i drugi mogući etiološki čimbenici kao što su: udisanje duhanskog dima i nošenje ogrlica protiv ektoparazita. Isto se tako smatra da su mačke koje konzumiraju meku hranu iz konzervi u većoj mjeri predisponirane za nastanak tumora u usnoj šupljini, jer se u ovih životinja u većoj mjeri stvara zubni plak i kamenac koji mogu izazvati lokalnu upalnu reakciju (Marretta i sur., 2007.).

Sažetak

Anaplastični planocelularni karcinom je jedna od najčešće nađenih novotvorina u usnoj šupljini mačaka i cilj ovog rada bio je prikazati jedan takav slučaj gdje je planocelularni karcinom bio lociran na bazi jezika. Domaća mačka križane pasmine i stara 9 godina, dovedena je na stomatološki pregled na Kliniku za kirurgiju, ortopediju

i oftalmologiju zbog teškoća pri uzimanju hrane. Tvorba na bazi jezika s ventralne strane približnih dimenzija 2 x 1 cm je na površini bila glatka, tjestaste konzistencije i nije krvarila. Nakon što je životinja uvedena u anesteziju, uzorak novotvorevine uzet je za patohistološku pretragu kojom je dijagnosticiran anaplastični planocelularni karcinom. Tumor je bio neoperabilan pa je životinja otpuštena na kućnu njegu uz primjenu analgetika i druge potporne terapije po potrebi. Nakon dobivene patohistološke dijagnoze vlasnicima je savjetovano da se obrate onkologu za eventualnu daljnju terapiju citostaticima i ionizirajućim zračenjem.

Literatura

- BOUND, N. J., S. L. PRIESTNALL and M. P. CORIOU (2011): Lingual and renal lymphoma in a cat. *J. Feline Med. Surg.* 13, 272-275.
- CARPENTER, R. E. and S. M. MARRETTA (2007): Dental Patients. In: Lumb&Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. (TRANQUILLI, THURMON, GRIMM, eds.) 4th edition. Blackwell. Pp. 993-995.
- FIELD, J., J. LYONS, C. TRIP, R. HAUSTON, B. WHEELER and A. RUIZ (2011): Treatment of the oral squamous cell carcinoma with accelerated Radiation Therapy and concomitant Carboplatin in cats. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 504-510.
- GELBERG, H. B. (2007): Alimentary system. In: Pathologic basis of veterinary disease. (McGAVIN, ZACHARY, eds.), 4th ed., Mosby Elsevier. Pp 301-391.
- GENDLER, A., J. R. LEWIS, J. A. REETZ and T. SCHWARZ (2010): Computed tomographic features of oral squamous cell carcinoma in cats: 18 cases (2002-2008). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 236, 319-325.
- GORREL, C. (2004): Anesthesia and analgesia. In: Veterinary Dentistry for the General Practitioner (GORREL, C., ed.). Saunders Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto. Pp.11-22.
- MARRETTA, J. J., L. D. GARRETT and S. M. MARRETTA (2007): Feline Oral Squamous Cell Carcinoma: An Overview, Veterinary Medicine.
- MARTIN, C. K., S. H. TANNEHILL-GREGG, T. D. WOLFE and T. J. ROSOL (2011): Bone-invasive oral squamous cell carcinoma in cats: pathology and expression of parathyroid-hormone related protein. *Vet. Pathol.* 48, 302-312.
- NEMEC, A., B. MURPHY, P. H. KASS and F. J. VERSTRAETE (2012): Histological Subtypes of Oral Non-tonsillar Squamous Cell Carcinoma in Dogs. *J. Comp. Path.* 147, 111-120.
- PANG, L. Y., G. T. BERGKVIST, A. CERVANTES-ARIAS, D. A. YOOL, R. MUIRHEAD and D. J. ARGYLE (2012): Identification of tumor initiating cells in feline head and neck squamous cell carcinoma and evidence for gefitinib induced epithelial to mesenchymal transition. *Vet. J.* 193, 46-52.
- SALISBURY, S. K. (2003): Maxillectomy and Mandibulectomy. In Textbook of small animal surgery (SLATTER, T., ed.), 3th ed., W. B. Saunders. Pp. 561-572.
- WIGGS, R. B. and H. B. LOBPRIZE (1997a): Oral Examination and Diagnosis. In: Veterinary Dentistry- Principles and Practice. (WIGGS, R. B., LOBPRIZE, H. B., eds.). Lippincott-Raven Philadelphia, New York. Pp. 87-103.
- WIGGS, R. B. and H. B. LOBPRIZE (1997b): Clinical Oral Pathology. In: Veterinary Dentistry- Principles and Practice. (WIGGS, R. B., LOBPRIZE, H. B., eds.). Lippincott-Raven Philadelphia, New York. Pp. 104-138.
- WIGGS, R. B. and H. B. LOBPRIZE (1997c): Domestic Feline Oral and Dental Disease. In: Veterinary Dentistry- Principles and Practice. (WIGGS, R. B., LOBPRIZE, H. B., eds.). Lippincott-Raven Philadelphia, New York. Pp. 482-513.

Squamous cell carcinoma in domestic cat

Marija LIPAR, DVM, PhD, Senior Expert Associate, Scientific Advisor, Hrvoje LABURA, DVM, postgraduate student, Faculty of Veterinary Medicine Zagreb; Rajka TURNER, DVM

Squamous cell carcinoma (SCC) is the one of the most common diagnosed tumours in the feline oral cavity. The goal of this expert paper was to describe SCC located ventrally at the base of the tongue. A domestic, 9 year old mixed breed female cat was presented for dental examination at the Department of Surgery, Orthopaedics and Ophthalmology owing to difficulties with food intake. The dimension of the tumour at the tongue base were 2 x 1 cm, the surface of the tumour

was smooth and consistent, with no signs of bleeding. The animal underwent general anaesthesia and a sample of the tumour was taken for the histopathology examination which confirmed SCC. The tumour was assessed as inoperable and the animal was released to home care and analgetic application and other supportive therapy, if needed. The owners were advised to see an oncologist for further possible therapy with cytostatics and radiotherapy.

Pastiri i pašnjaci u zakonskim propisima od 1858. g.



P. Džaja, K. Severin, D. Agičić, A. Lokin, J. Stojanović i Ž. Grabarević

Uvod

U našem je jeziku dobro poznato da je pastir osoba koja čuva stado i koji ga tjera na pašu. Riječ čoban znači isto, a u prenesenome značenju znači i čovjek neuglađena ponašanja, prostak pa smo se zbog toga u ovom tekstu odlučili za riječ pastir. Prema nacionalnoj kvalifikaciji zanimanja iz 1998. g. (Anonymus, 1998.) se navodi da kad osoba radi na vlastitom posjedu, obavlja sve moguće poljoprivredne poslove i bavi se raznolikom biljnom i stočarskom proizvodnjom, po zanimanju je 6130.11.3 seljak. Kad je osoba zaposlena kod poslodavca, treba znati je li brala grožđe ili druge plodove, čuvala stoku ili obrađivala zemljište, tada je zanimanje 9211.15.1 berač poljoprivrednih proizvoda, 9211.32.1 pastir ili 9211.11.1 ratarski radnik. Kada radi sve poljoprivredne poslove, onda je po zanimanju seljak. U ovom radu prikazat ćemo značenje pastira kroz zakonske propise kako bismo se uvjerali u značenje pašnjaka i pastira u stočarskoj proizvodnji, a čije značenje potvrđuju mnogi zakonski propisi koji su regulirali ovu tematiku. Prof. Winterhalter (1980.) je napisao da se ne isplati držati konja navodeći da ga skupa nafta rehabilitira kao i radnu životinju, da su opustjele gmajne, nestali pastiri, krave i krmače čuvaju pojedinci najčešće starci na sat dva, a konja i nema. Ovu konstataciju možemo potvrditi uz mišljenje da ne samo da nema konja, nema

ni drugih životinjskih vrsta, odnosno one koje i postoje, promijenjeni način držanja doveo je do umanjenja značenja pašnjaka i pastira. Nažalost, nekadašnji pašnjaci ne pretvaraju se u oranice već u šikaru, nestale su životinje, a i ono što je ostalo drži se na drugi način (farmski) što je neminovno dovelo do nestanka pastira. Da se stoka nekada držala pašnim načinom govore mnogi povijesni podatci koji pojam stoke povezuju s pojmom pastira zbog čega je nekada bilo nezamislivo držati, odnosno uzgajati stoku bez pastira. Kako je stoka bila blago, odnosno nekada jedini izvor prihoda i jedina garancija sigurnog preživljavanja uz poljoprivredne usjeve, svakako da je pastir koji je doprinosa uzgoju stoke bio važna osoba u stočarstvu, odnosno preživljavanju. Poznato je postojanje pastira kroz stoljeća, a i Biblija u svojoj Knjizi postanka 13.7. navodi da „nasta svađa među pastirima stada Abramova i pastirima stada Lotova“ kao i postojanje bogova, odnosno zaštitnika pastira i stoke prije i poslije pisanja Biblije. U Hamurabijevom zakonu je bila određena godišnja plaća za govedare i pastire, a pastir je bio obavezan nadoknaditi štetu za izgubljenu stoku i prinovu, a u slučaju lažnog prikazivanja izgubljene stoke morao je štetu nadoknaditi dvostruko (Vučevac Bajt, 2012.). Ovisno o vremenskom razdoblju, i mjestu, postojali su različiti zaštitnici pastira i stoke od

Dr. sc. Petar DŽAJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Krešimir SEVERIN, dr. med. vet., docent, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb; Damir AGIČIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Slavonski Brod; Antonio LOKIN, dr. med. vet., Veterinarska stanica Pakoštane; Joško STOJANOVIĆ, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta d.o.o., Drniš

kojih navodimo samo neke: Zarathustra je zaštitnik pastira i stoke, Pan (grč. Πάν, Pan) u grčkoj mitologiji bog je pastira, stada, njiva, šuma, polja, odnosno „paše i stoke“, njihov zaštitnik i zaštitnik lovaca, stoga ga se naziva i zaštitnikom prirode. Panov je pandan u rimskoj mitologiji Faun. Mars, rimski bog rata, bio je isto tako štovan i kao zaštitnik stoke. Rimljani su ga kasnije poistovijetili s grčkim bogom Aresom. Hermes je poglavito prikazivan u liku zaštitnika pastira, kao starac sa šiljatom bradom i dugom kosom. U Slavenskoj je mitologiji Veles bog stoke, zaštitnik pastira. Sveti Blaž iz Sebaste pomoćnik je kod bolesti grla, ulkusa, kuge, ali i zaštitnik stoke i zanatlija. Sveti Juraj zaštitnik je domaćih životinja, sv. Antun Padovanski je zaštitnik stoke, sv. Paškal zaštitnik stoke, sv. Klement zaštitnik stoke, sv. Krasnar zaštitnik stoke. Na jednom je stupu pronađen isklesan lik koze, a iz te se simboličke može iščitati starodrevni kult poganskog boga Silvana, zaštitnika stoke. Zaštitnik je uzgoja svinja i ostale stoke. Svinja, koja predstavlja demone požude i proždrljivosti često prati sv. Antuna. Sv. Georgije najčešće je zaštitnik stoke. U Cetinskoj krajini sv. Luka pisac trećeg Evanđelja i Djela apostolskih zaštitnik je, i umjetnika, kipara, pisaca, kako mu je simbol vol, zovu ga i Volarom pa je i zaštitnik stoke. Sv. Silvestra umjetnici često prikazuju kao zaštitnika stoke i stočne hrane, uvijek sa štapom u ruci dok pored njega stoji bik ili vol. Rusi su poštovali boga Volosa, zaštitnika stoke. Aristej je postao bog zaštitnik stoke, voća, lova, supružništva i pčelarstva. Kao zaštitnici pastira pominju se sv. Ilija, sv. Ante, sv. Sveti Pascual Baylón i dr. Neki dani u godini vezali su se za pojedine svece tako su na Jurjevo pastiri prvi put izvodili stoku na pašu. Glavu stoke bi ukasili vijencem od proljetnog bilja i cvijeća. Potom bi se stoka otjerala kući, skidao joj se vijenac i bacao na strehu. Vjerovalo se da se tako tjeraju vještice i demoni zbog čega je stoka očuvana za cijelu iduću godinu. Koliko je pastira bilo kazuju mnoga izvješća koja opisuju njihova pravila i njihove igre od kojih su najpoznatije nožičanje, kozanje i

sl. U klasičnom smislu pastiri su nestali. Nekada se dobiva dojam da je to sramotan posao iako iz jedne susjedne države postoje izvješća da pastir danas zarađuje i više od 4000 kn mjesečno. Da se nekada ovom poslu pridavalo posebno značenje bilo da se vodila briga o naobrazbi ljudi, briga o smanjenju nastanka štete u polju ili zbog kontrolirane reprodukcije, govore mnogi zakonski propisi koji su vrijedili na ovim prostorima. Svakako njih treba gledati imajući u vidu vrijeme nastanka kao i razvijenost i način stočarske proizvodnje. Tako Naredba bivšeg ces. Kr. Hrvatsko-Slavonskoga namjesništva (Anonymus, 1858.) glede zajedničkog pašarenja domaće marve te glede službe i dužnosti općinskih pastira zbog pogriješaka u hranjenju i njegovanju domaćih životinja ovom Naredbom se naređivalo poboljšanje uvjeta i razmnožavanja domaćih konja. Uvidjelo se da je zbog nemarnosti u izboru pastuha i kobila za razmnožavanje te bezobzirno štrojenje ždrebeca dovelo do nedostatka pastuha. Ovom Naredbom se naređivalo konačno odstranjivanje „zločestoga“ običaja da svaka kuća za posebnu vrstu stoke drži posebnoga pastira te da su obvezne općine na jednaku korist ćudorednosti pohađanja škole i poljskog gospodarstva, postaviti stalne pastire općinske. U siromašnim općinama i gorskim predjelima s rasutim nastambama dopuštalo se da pojedine kuće na sedmicu daju pastira. Nadalje, općinski pastir nije smio biti mlađi od 16 godina. Ugovor se sastavljao pred općinskim uredom i odobran je u kotarskom uredu. Ti ugovori su obvezivali:

- a) obvezu općinskog pastira za naknadu poljskih „kvarova“ i prekršaja poljskog redarstva
- b) obvezu pastira da prijavi pojavu „neodvlačne“ bolesti u čredi starješini selskom
- c) odgovornost pastira za održavanje zabrane bika s čredom na pašu goniti.

Po ovoj Naredbi općine su bile dužne općinske bikove postaviti i uzdržavati po mjeri i potrebi. Bikovi su morali biti stari

ne manje od 2 i ne više od 5 godina, valjane pasmine i bez mana. Mjesni starješina je bio odgovoran za štrojenje svih suvišnih i nesposobnih junaca za tov. Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 1. svibnja. 1877. godine (Anonymus, 1877.) je naređivala da oba konjska spola nikada ne dolaze na zajedničku ispašu. Uvidjevši da se Naredba iz 1857. g. ne poštuje navodi se da veliki broj sposobne djece ne polazi ni crkvu ni učionicu, zbog čega odrasta u neukosti, a koja je glavna zapreka pučkoga materijalnoga i moralnoga boljitka. Čuvajući stoku seoska se mladež od malih nogu uči lijenosti i neradu, a pored toga i raznim nečudorednostima. Nadalje, velike su poljske štete i šumski požari koji obično potječu od djece koji čuvaju marvu te da se mnoga radna sila oduzima poljskom gospodarstvu na štetu samoga narodnoga gospodarstva, što će se tim više osjećati, čim se bude više razdijelilo kućnih zadruga zbog čega Zemaljska vlada donosi Naredbu Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1880.a) kojom naređuje svim upravnim oblastima poštivanja Naredbe iz 1857. g. Naredba Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1880.b) zabranjivala je zajedničku pašu bikova sa seoskom stokom. Iste godine Naredbom Kr. Zemaljske vlade (Anonymus, 1880.c) Vlada je svom ozbiljnošću pozivala Kr. podžupanije da ovom predmetu posvete posebnu pažnju i uz uporno nastojanje da se zajednički čuvari stoke i ine marve ili barem tjedni čuvari, što bi ih po redu davala svaka kuća, budu namješteni svagdje, gdje tomu ima prilike. Ovo vrijedi za svu vrstu stoke. Da bi se Naredba što ozbiljnije shvatila nalaže se Kr. podžupaniji da dotičnoj mjesnoj najbližoj oružničkoj postaji, dade uputu kojom traži da se nad izvršenjem gornje naredbe strogo bdije te svaki propust i zanemarivanje Naredbe bez odlaganja prijavi. Okružnica Kralj.-Hrvat.-Slav.-Dalmat. Zemaljske vlade (Anonymus, 1881.) je naređivala čišćenje livada, pašnjaka i oranica od travurine (drača) budući da povećava trošak kod obrađivanja te sprječava razvitak biljaka.

Dobar gospodar drač je trebao bacati na gnojište, a ne nikako u vodu. Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1883.) glede čuvanja stoke po zajedničkim pastirima, a pošto su neke podžupanije podnijele zahtjev da je u selima s malo kuća teško organizirati stalnog pastira, naređuje da se tamo gdje se držanje skupnih pastira ne može provesti izda nalog da više na okupu postojećih kuća za stanovito vrijeme organizira samo po jednog pastira za čuvanje zajedničke stoke. Na primjer: svaka kuća po jedan tjeđan. Gdje je bilo moguće Kr. podžupanija nalogala je mjesnim općinama da u roku od jednog mjeseca gdje je to izvedivo namjeste općinske pastire. Kr. županije su se očitovale na okolnost, treba li i može li dotična općina postaviti općinskog pastira ili ne. Samo se u iznimnim slučajevima stoka jedne općine mogla čuvati po više pastira. Naredba Kralj.-Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1884.) zabranjivala je pastirima nositi sjekirice zbog nanošenja neprocjenjive štete šumskom mlađu te se istim dopušta nošenje pastirskih palica ili biča. Naredba Kralj.-Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1885.a) navodila je da na mokrim pašnjacima raste kisela štetna trava za stoku, da su mokri pašnjaci pravi zatvor posebno za rogatu stoku. Navodi se u njoj da junad većinom oboli od plućnog crva te čak i uginge. Nadalje se naređuje da močvarišta ne smiju biti na pašnjacima jer oko njih raste korov, a i pravo su leglo različite gamadi koja napada i muči životinje. Na pašnjacima ili u njihovoj blizini moralo je biti dosta pitke vode, jer se navodi da bez pitke vode badava je i dobra paša. Naređivalo se držanje pašnjaka u „snazi“, to jest da na njima raste samo dobra trava zbog čega ih je trebalo gnojiti s jeseni gnojnicom, s proljeća pepelom, vapnom i mješancem gnoja i masnom zemljom. Ovo je trebalo napraviti trostruko. Valjane ograde oko pašnjaka puno su značile i najbolje su od lijepo gojene živice koja omogućuje zaštitu od vjetra i unaprjeđivanje rasta trave.

Pašnjake na kojima je rastao korov ili šikara trebalo je iskrčiti, uzorati i zasijati pitomom travom. Naredba Kralj.-Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1885.b) naređivala je da treba poduzeti sve kako bi se smanjile štete od noćnog pašarenja. Nakon spoznaje da se nanose velike štete usjevima u mjestima gdje je uobičajeno noćno pašarenje, krađa i neprikladno držanje tegleće stoke, naredilo se da se zabranjuje ispaša od 22 sata do 3 sata (zore). Tko bi prekršio ovu Naredbu kažnjavao se kod kotarskog ureda, odnosno gradskog poglavarstva, zatvorom od 1 do 5 dana ili odgovarajućom novčanom globom. Ova zabrana je važila prijelazno od dana kada se pučanstvo opskrbi dovoljnom količinom suhe krme, do kada je bila dopuštena paša kroz cijelu noć uz sve mjere opreza koji su naglašeni u izvješću. Okružnica Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus 1886.) je naređivala da se pastusi stariji od 1 godine smiju na pašu tjerati samo odvojeno od ostalog blaga, a Naredba Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1886.) je zabranjivala da konji oba spola dolaze na zajedničku ispašu iz straha da se ždrjebice prerano osjemenjuju kao i što se oplodnja događa s neuglednim pastusima. Nad ovim naređenjem je općinsko povjerenstvo strogo bdjelo. Po Zakonu ob uređenju veterinarstva u kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji (Anonymus, 1888.a) pastiri su smjeli u čordu, koja im je od općine prebrojena i predana, samo dozvolom općine primiti drugu marvu. Nadalje se navodilo da goveda, konje, ovce i svinje treba prije puštanja na zajedničku proletnu pašu točno prebrojati i popisati te im zdravlje točno „ispitati“. Naredbom Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1888.b) se naređivalo da se tamo gdje je zajednička paša, pastiru (konjušaru, govedaru, svinjaru itd.) da na čuvanje stado (čorda) koje je prebrojeno te ga se upućivalo da je zabranjeno bez znanja i dopuštenja poglavarstva primiti u stado drugu marvu. Isti je trebao u slučaju primjećivanja znakova bolesti

na povjerenim mu životinjama prijaviti odmah gospodarstvu te je takve životinje trebao odvojiti od zdravih. Pastir koji je odgovoran i za pastirčad koja su u njegovoj službi, trebao se „zavjeriti“ općinskom poglavarstvu, kad nastupi u službu, a u tu svrhu može se upotrijebiti sljedeći obrazac:

„Ja x y pastir općine zavjerujem se ovim svečano da ću povjereno mi stado vjerno čuvati, da bez znanja i dozvole općinskog poglavarstva neću podnipošto primiti u čordu nikakvu glavu marve, da ću odmah prijaviti bolest koju na povjerenoj mi marvi opazim.“ Tu je zavjeru pastir potpisao, a poglavarstvo je taj spis pohranjivalo. Općinsko (gradsko) poglavarstvo goveda, konje te ovce i koze prije izlaska na zajedničku pašu trebalo je točno prebrojati te glede zdravlja ako je moguće uz sudjelovanje urednog veterinara i pregledati. Bolesne i sumnjive životinje nisu se smjele nipošto pustiti na zajedničku pašu, nego je trebalo s njima postupati kako je to propisano za dotičnu bolest. Naredbom Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1888.c) se tražilo da se naredba iz 1886. g. postroži jer se na terenu primijetilo da se ista ne primjenjuje. Zabranjivalo se da se jednogodišnji i općenito za skok još dovoljno nerazvijeni i nelicencirani pastusi privatnih vlasnika puštaju na zajedničku pašu u društvo s kobilama. Naredbom Kr. Hrvat. - Slav. - Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus 1888.d) propisana je uporaba općinskih pašnjaka tj. na općinskim pašnjacima koji su obrasli drvljem i šikarom bilo je zabranjeno sve, dok isti ne bude pošumljen, a drveće ispod griza marve poraslo, zatim je bilo zabranjeno držanje koza onima koji nisu posjedovali vlastita zemljišta osim: držanje koza u najnužnijem broju i to gdje općinsko poglavarstvo dopusti zbog siromaštva. Koze je bilo zabranjeno držati na šumskim područjima. Na dozvoli o držanju u certifikatu moralo je biti napisano koliko se koza može držati te pašnjak na kojemu će koze na pašu tjerati. Zabranjeno je bilo tjeranje koza na javnim cestama, putovima i stazama

osim tjeranja na sajam ili na pašu. Bezuvjetno je bila zabranjena sječa stabala i grana te vađenje panjeva na pašnjacima. Svatko tko je neovlašteno koristio pašu na općinskom drvljem i šikarom obraslom pašnjaku plaćao je naknadu: za odrasle kopitare 32 novč., za mlade kopitare 24 novč., za rogatu marvu 16 novč., za mladu marvu 12 novč., za koze po 8 novč., jedno svinjče 4 novč. i jednu ovcu 4 novč. Naredba Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1892.) glede zabrane zajedničke paše pastuha iznad 1 godine starosti s kobilama uputila je Kr. podžupanijskoj oblasti da strogo nastoji da se jednogodišnji pastusi ne tjeraju u zajednicu s kobilama na pašu, jer će svatko morati dokazati pastuha od kojega potječe njegovo ždrijebe. Provedbeni naputak o promicanju stočarstva po Zakonu o promicanju stočarstva od 23. travnja 1905. g. izdan Naredbom Kr. Hrvat. - Slav. - Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1908.) propisivao je da gospodari koji svoju stoku napasaju u ograđenim prostorima iz kojih stoka nije mogla sama izlaziti kao i gospodari koji su na otvorenom polju napasivali svojih 25 konja ili goveda i svinja ili po 25 koza i ovaca mogli su pozornost nad stokom posvetiti svojem pastiru. Taj pastir nije smio biti školski obveznik te je morao nositi iskaznicu koju je izdavala Kr. kotarska oblast na molbu gospodara. Iskaznicu je morao pokazati službenim osobama upravnih organa, oružnika, poljara i stražara. U slučaju sumnje u broj stoke na pašnjaku i one napisane, iskaznica se mogla oduzeti. Svi drugi gospodari s većim brojem stoke ako su željeli svoju stoku napasivati na zajedničkim pašnjacima morali su to raditi pod paskom zajedničkog najamljenog pastira. Na mjestima s malim brojem stoke dopuštalo se vlasnicima stoke naizmjenice davati pastira bez naknade, ali koji su morali imati kvalifikaciju i nisu smjeli biti školski obveznici. Na malim površinama stoka se morala na paši držati na užetu ili privezana za kolac. Pastir zajedničkog stada nije smio biti mlađi od 16 godina i

morao je biti besprijeckorna vladanja. Sa svakim se pastirom sklapao ugovor u Općinskom poglavarstvu u kojemu je trebalo utvrditi: vrijeme službovanja, plaću, način i vrijeme isplate, dužnost pastira za naknadu poljske štete, dužnost pastira je da svaku bolest odmah čim je primjeti prijavi starješini (knezu) ili općinskom poglavarstvu, ne dozvoljavanje zajedničke paše kobilama i pastuha te krava i bikova, zabranu primanja u stado životinja iz drugog stada bez znanja općinskog poglavarstva te zabranu nošenja oružja. Pastir se zavjerio na sljedeći način: „Ja A. A. pastir općine XY zavjerujem se ovim, da ću povjereno mi stadu vjerno čuvati, da bez znanja i dozvole općinskog poglavarstva neću nipošto primiti drugo blago u stado, da ću odmah prijaviti bolest koju na povjerenoj marvi opazim.“ Ako se plaća nije namirivala iz općinske blagajne nju su namirivali vlasnici marve koja mu je povjerena. Stoka je na pašnjacima trebala biti odvojena prema vrstama. U pravilu su muški rasplodnjaci bili isključeni sa zajedničke paše. Noćna je paša bila zabranjena od 10 sati na večer do 3 sata u jutro, a samo u iznimnim slučajevima se odstupalo od toga. U proljeće je uredovni veterinar pregledavao stoku koja izlazi na zajedničku pašu kada se konstatira zdravstveno i gojidbeno stanje stoke. Okružnica Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1915.a) naređivala je pregled stoke prije izгона na zajedničku ispašu na način da je seoski starješina trebao popisati sve pašne životinje po vrstama. Taj popis uz izvršeće o zdravstvenom stanju dostavljao se nadležnom općinskom poglavarstvu. Zbog pomanjkanja veterinara obustavio se pregled rasplodnjaka za tu godinu. Pošto se odustalo od ovih redovitih pregleda vlasnike rasplodnjaka se upozoravalo da točno pripaze na zdravstveno stanje svojih rasplodnjaka, osobito na spolne zarazne bolesti, a svaku su sumnju morali prijaviti nadležnom općinskom poglavarstvu. Isti su morali pregledati spolne organe svake rasplodne krave te su se mogle osjemeniti samo one

koje nisu pokazivale nikakve promjene na sluznici stidnice te koje su bez ikakva iscjетка (patološkog). Nađene bilo kakve promjene kod rasplodnih krava i junica prijavljivale su se nadležnom općinskom poglavarstvu, a koje se dalje prijavljivalo Kr. kotarskoj oblasti. Okružnica Kralj. Hrvat.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1915.b) je naređivala da je prije izгона na zajedničku ispašu životinje trebalo pregledati, popisati te dostaviti izvješće do lipnja tekuće godine nadležnom općinskom poglavarstvu. Zakonom o suzbijanju i ugušivanju stočnih zaraza (Anonymus, 1928.) je navedeno da je jedna od mjera zaštite od zaraza i njihovo ugušivanje, zabrana izгона stoke na pašu i žirovinu uopće ili izгон stoke iz zaraženog dvorišta na zajedničku pašu, kao i gonjenje istim putovima, kojima se goni stoka iz nezaraženih dvorišta te zabraniti zajedničko napajanje, zajedničko kupanje i tome slično. Pravilnik o izvršenju Uredbe o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza (Anonymus, 1949.) propisuje da se pod zajedničkom ispašom smatra ispaša na koju se pušta stoka raznih vlasnika, bez obzira jesu li iz jednog ili više mjesta i boravi li stoka stalno na pašnjaku, ili uvečer dogoni kući. Prije puštanja stoke na zajednički pašnjak istu je morao pregledati veterinarski stručnjak. Pregled se vršio skupno po vrstama stoke, a individualno samo ako je postojala sumnja na zaraznu bolest. Zaražene i na zarazu sumnjive životinje nisu se smjele puštati na zajednički pašnjak. Stoka, koja se držala duže vremena na pašnjaku morala je povremeno biti pregledana od veterinarskih stručnjaka. Pregled je bio obavezan u slučaju kada stoka s jednog pašnjaka dolazi na drugi, kao i prije povratka s pašnjaka. Za napajanje stoke morala su biti posebno uređena pojilišta. Pod javnim pojilištem podrazumijevalo se pojilište na kojem se napajala stoka različitih vlasnika bez obzira nalazi li se u nastanjenom mjestu ili pored javnog puta ili na zajedničkom pašnjaku. Kad bi se utvrdilo da je u javnom pojilištu napajana

zaražena ili na zarazu sumnjiva stoka, mjesni narodni odbor zabranjivao je uporabu tog pojilišta dok se ne očisti, to jest dok se ne poduzmu mjere potrebne za čišćenje, a u slučaju potrebe i za ispražnjenje bunara i dezinfekciju. Čišćenje i dezinfekcija morala se izvršiti i na prostoru oko pojilišta na kome je bila zaražena stoka. Zabranjeno je bilo na javnim pojilištima prati posuđe, odjeću, obuću i druge predmete za koju se sumnjalo da bi mogla biti nositelj uzročnika zaraznih bolesti.

Šetajući kroz zakonske propise koji reguliraju ovu tematiku nije teško zaključiti kako se poslije gore navedenih godina ovoj problematici posvećivala manja pažnja ili su se pojedini segmenti ove tematike obrađivali u drugim normativnim aktima. U Hrvatskoj je zabranjen uzgoj koza 1954. g., a Zakon o zabrani nomadske ispaše ovaca (Anonymus, 1967.) naređivao je da će se ovce na nomadskoj ispaši prisilno odstraniti na trošak vlasnika, odnosno korisnika ovaca. Zakonom o zabrani nomadske ispaše ovaca (Anonymus, 1984.) zabranjena je nomadska ispaša ovaca sve do donošenja Zakona o zabrani nomadske ispaše ovaca (Anonymus, 1993.). Pravilnik o uvjetima za podnošenje zahtjeva i kriterijima za dodjelu zajedničkih pašnjaka (Anonymus, 2011.) propisuje uvjete za podnošenje zahtjeva i kriterije za dodjelu zajedničkih pašnjaka. Zainteresirana pašnjačka zajednica podnosi Agenciji za poljoprivredno zemljište Zahtjev za dodjelu u zakup zajedničkog pašnjaka. Zahtjev mora sadržavati sljedeće:

1. Podatke o podnositelju zahtjeva
2. Podatke o pašnjaku koji se traži u zakup: županija, općina/grad, katastarska općina popis katastarskih čestica koje čine zajednički pašnjak
3. Zemljišnoknjižnu dokumentaciju za zajednički pašnjak
4. Program gospodarenja zajedničkim pašnjakom
5. Stručno – tehničko mišljenje središnjeg tijela nadležnog za vode, šume i

lovstvo na Program gospodarenja zajedničkim pašnjakom.

Zakupnina za korištenje zajedničkog pašnjaka utvrđuje se u visini početne cijene zakupa pašnjaka. Zajednički pašnjak može se dati u zakup ako su ispunjeni sljedeći uvjeti:

1. da su površine Programom raspolaganja poljoprivrednim zemljištem u vlasništvu Republike Hrvatske određene za zakup zajedničkih pašnjaka, odnosno za zakup zajedničkih pašnjaka u zaštićenim područjima,
2. da zajednički pašnjak čini proizvodno-tehnološku cjelinu,
3. da je pašnjak namijenjen zajedničkoj ispaši stoke i peradi.

Zajednički pašnjak daje se u zakup na temelju sljedećih kriterija:

1. da je pašnjačka zajednica organizirana kao zadruga,
2. da su članovi zadruge vlasnici stoke i peradi koja se dovodi na ispašu.

Pašnjačka zajednica dužna je registrirati zajednički pašnjak u Jedinostvenom registru domaćih životinja (JRDŽ). Program gospodarenja zajedničkim pašnjakom čini sastavni dio ugovora o zakupu zajedničkog pašnjaka.

Kasnije će se u zakonodavstvu sve manje koristiti pojam „Zajedničke paše“ i „Zajedničkog napajanja“, jer se naređuju mjere u sumnjivom, odnosno zaraženom području, a oni klasični pašnjaci, napajališta su zbog promjene načina držanja životinja gotovo zaboravljeni. Pašnjaci i mjere koje treba provesti u slučaju sumnje i pojave zaraznih bolesti spominju se danas kod pojedinih pravilnika koji reguliraju način sprječavanja širenja bolesti (Anonymus, 2005., Anonymus, 2009.a). Tako, ako je infekcija *Brucellom ovis* potvrđena u ovnova koji borave ili su se vratili sa sezone ispaše, a epidemiološkim istraživanjem se utvrdi da su na pašnjacima boravili zajedno s ovcama iz drugih stada, tada sve ovnove iz stada koja su se miješala na pašnjacima treba smatrati zaraženima i svi moraju biti pretraženi službenim testom iz Dodatka ovoga Pravilnika. Ako je bruceloza (*B.*

melitensis) dijagnosticirana u ovaca ili koza koje su se vratile sa sezonskih pašnjaka i koje su na pašnjacima boravile zajedno s ovcama i kozama s drugih gospodarstava, sve ovce i/ili koze koje su se miješale s ovcama i/ili kozama sa zaraženoga gospodarstva treba smatrati zaraženima i sve moraju biti pretražene na brucelozi službenim testovima iz Dodatka A ovoga Pravilnika kako bi se potvrdilo da bruceloza (*B. melitensis*) nije prisutna u stadu. U invadiranom području na trihinelozu nadležni veterinarski inspektor naredit će, među ostalim, zabranu ispaše ili žirenja svinja, a goveda, ovce, koze i konji u zaraženim područjima (bedreničnim distriktima) moraju biti cijepljeni protiv bedrenice, sukladno uputi proizvođača cjepiva (Anonymus, 1999., Anonymus, 2012.). Navedene se životinje smiju izgoniti na ispašu i stavljati u promet tek nakon što je od cijepljenja proteklo vrijeme potrebno za stvaranje imuniteta. Zajedničko napasivanje, kad je u pitanju klasična svinjska kuga, dopušteno je samo pod određenim uvjetima; goveda moraju prije biti tuberkulizirana, a kopitari serološki pretraženi na I.A.K. Danas je sve manje pašnjaka, a pastire kao što vidimo dopušteno je dovoditi iz drugih država, jer to zanimanje spada u deficitarno. Odlukom o utvrđivanju godišnje kvote radnih dozvola za zapošljavanje stranaca za kalendarsku godinu vidljivo je da je trebalo 20 pomoćnih stočara i pastira, a prije godinu dana čak 70. Pašnjaci i pašarenja neizostavni su dijelovi Pravilnika o nacionalnim parkovima pa navodimo nekoliko njih koji reguliraju način pašarenja. U Parku prirode Biokovo ispaša i kretanje stoke dopuštena je uz nadzor pastira (Anonymus, 2001.). Na području Parka prirode dopuštena je ispaša i kretanje stoke. U Parku prirode Velebit ispaša i kretanje stoke dopušteno je uz nadzor pastira. Zabranjena je ispaša stoke u posebno zaštićenim dijelovima prirode, kao i na područjima gdje to ne dopuštaju šumskogospodarske i lovnogospodarske osnove (Anonymus, 2002.a). Na području Parka prirode Lastovsko otočje slobodna ispaša nije dopuštena (Anonymus, 2009.b).

Ispaša stoke na otoku Lastovu i Prežbi se može obavljati uz stalno prisustvo pastira, ili vlasnici i šumoposjednici mogu na svojim šumskim i pašnjačkim površinama obavljati ispašu uz uvjet da je predmetno zemljište odgovarajuće ograđeno. Za obavljanje djelatnosti potrebno je prethodno pribavljena suglasnost Ministarstva i koncesijsko odobrenje ustanove. Slobodna ispaša stoke dopuštena je na sljedećim otocima: Petrovac do 15 grla, Stomorina do 20 grla, Kručica do 20 grla, Češvinica do 20 grla, Mrčara do 50 grla, Kopište do 20 grla, Sušac do 200 grla, Bratin otok do 10 grla, Vlašnik do 10 grla. Ispaša stoke zabranjena je na opožarenim površinama parka prirode. Koncesijsko odobrenje može se dati za ispašu stoke fizičkim i pravnim osobama koje imaju upisanu stoku u Upisniku poljoprivrednih gospodarstava. U slučaju da postoji više interesata, prednost pri dobivanju odobrenja imaju one osobe kojima je stočarstvo jedino ili osnovno zanimanje te osobe koje imaju prebivalište ili sjedište na području parka prirode. Ugovorom o koncesijskom odobrenju određuje se visina naknade kao i vremenski rok trajanja odobrenja. Na području parka prirode, dopušteno je držanje pčela uz prethodno pribavljeno koncesijsko odobrenje. Iznimno, stanovnici Parka prirode mogu na svojim zemljišnim posjedima ako ne ugrožavaju kretanje posjetitelja, držati pčele bez ishoda odobrenja ustanove. U slučaju da se na području parka prirode pronađe stoka koja se duže vrijeme kreće bez nadzora pastira ili izvan ograđenog područja, a za koju se ne može utvrditi vlasnik, ustanova može ovu stoku sakupiti te je odvesti na za to posebno određeno ograđeno područje ili pak poduzeti druge mjere, kojima će spriječiti nastanak štete na šumskom i poljoprivrednom zemljištu. Ovlaštenicima koncesijskih odobrenja za obavljanje stočarstva na području parka prirode, koji prekrše odredbe Zakona i ovog Pravilnika, može se uskratiti pravo izdavanja novog koncesijskog odobrenja. Na području parka prirode Medvednica dopuštena je ispaša i kretanje stoke (Anonymus, 2002.b).

Ispaša i kretanje stoke dopuštena je samo uz nadzor. Nije dopuštena ispaša stoke u posebno zaštićenim dijelovima prirode unutar parka prirode, kao i na područjima gdje to ne dopuštaju šumskogospodarske osnove ili program zaštite i očuvanja parka prirode. Nije dopušteno bez nadzora kretanje domaćih životinja koje mogu nanijeti štetu ili ozljede posjetiteljima parka prirode. Štetu koju nanese domaće životinje u parku prirode dužan je otkloniti ili nadoknaditi vlasnik tih životinja. U parku prirode Lonjsko polje Podzonu 2.a. – tradicionalni pašnjački sustav, čini poljoprivredno zemljište pod katastarskim kulturama pašnjaka i livada, na kojem je predviđen sustav pašarenja (Anonymus, 2010.). Na „pašnjacima“ je isključivo dopuštena djelatnost tradicionalne poljoprivrede, koju čini stočarska poljoprivredna proizvodnja, s pretežno autohtonim ili udomaćenim pasminama konja, krava, svinja i peradi prilagođena uvjetima nizinskog poplavnog područja, koja se temelji na sustavu „pašarenja“. Nije dopuštena prenamjena „pašnjaka“, što se posebno odnosi na zaraštanje „pašnjaka“ i pretvaranje istih u šumsko zemljište, čime bi se mijenjao mikorelief pašnjačkih površina. Po potrebi je dopušteno ograđivanje „pašnjaka“, ogradom od prirodnog materijala (pletenog granja ili drveta) ili prema posebnom propisu privremenom ogradom u vidu električnog pastira sa solarnim napajanjem, radi privremene zaštite poljoprivrednih usjeva. Privremenu ogradu u vidu električnog pastira obvezno treba postavljati uz stručni nadzor.

Sažetak

Pastiri i pašnjaci u nekadašnjem obliku danas su povijest iz razloga što se drastično smanjio broj životinja te promijenio njihov način držanja. Ujedno, to su razlozi zbog čega se pašnjaci pretvaraju u šikare, a pastiri gotovo nestaju. U radu je opisan povijesni zakonodavni prikaz koji je od nekada pa do današnjih dana vrijedio na ovim prostorima, a koji je uređivao na bilo koji način pašnjake, odnosno način pašarenja te dužnosti i obveze pastira.

Literatura

1. Anon. (1858): Naredba bivšeg ces. Kr. Hrvatsko-Slavonskoga namjesništva od 28. ožujka 1858. g., broj 21326.
2. Anon. (1877): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 1. svibnja 1877. g., broj 4120.
3. Anon. (1880a): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 17. travnja 1880. g., broj 8058.
4. Anon. (1880b): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 30. lipnja 1880. g., broj 3257.
5. Anon. (1880c): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 15. listopada 1880. g., broj 18221.
6. Anon. (1881): Okružnica Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 21. srpnja 1881. g., broj 16777.
7. Anon. (1883): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade glede čuvanja stoke po zajedničkih pastirih od 28. siječnja 1883. g., broj 3209.
8. Anon. (1884): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 19. ožujka 1884. g., broj 9019.
9. Anon. (1885a): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 4. srpnja 1885. g., broj 24710.
10. Anon. (1885b): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 21. prosinca 1885. g., broj 47440.
11. Anon. (1886): Okružnica Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 25. rujna 1886. g., broj 42993.
12. Anon. (1888a): Zakonu ob uređenju veterinarstva u kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji, Sbornik iz 1888. g.
13. Anon. (1888b): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 1888. g., broj 46063.
14. Anon. (1888c): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 31. prosinca 1888. g., broj 44049.
15. Anon. (1888d): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 18. travnja 1888. g., broj 26662.
16. Anon. (1892): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 15. veljače 1892. g., broj 24341.
17. Anon. (1908): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 23. prosinca 1908. g., broj III.a 4223/16.
18. Anon. (1915a): Okružnica Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 9. ožujka 1915. g., broj 822.
19. Anon. (1915b): Okružnica Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 14.12.1915. g., broj 6920/5-1915.
20. Anon. (1928): Zakonom o suzbijanju i ugušivanju stočnih zaraza. Sl. novine, broj 144-LXVII.
21. Anon. (1949): Pravilnik o izvršenju uredbe o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza. Službeni list FNRJ 51/1949.
22. Anon. (1967): Zakon o zabrani nomadske ispaše ovaca. Narodne novine 17/1967.
23. Anon. (1984): Zakonom o zabrani nomadske ispaše ovaca. Narodne novine 40/1984.
24. Anon. (1993): Zakona o zabrani nomadske ispaše ovaca. Narodne novine 44/1993.
25. Anon. (1998): Nacionalna klasifikacija zanimanja. Narodne novine 111/1998.
26. Anon. (1999): Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje trihineloze svinja. Narodne novine 81/1999.
27. Anon. (2001): Pravilnik o unutarnjem redu u Parku prirode „Biokovo“. Narodne novine 66/2001.
28. Anon. (2002a): Pravilnik o unutarnjem redu u Parku prirode „Velebit“. Narodne novine 12/2002.
29. Anon. (2002b): Pravilnik o unutarnjem redu u Parku prirode „Medvednica“. Narodne novine 3/2002.
30. Anon. (2005): Pravilnik o mjerama za suzbijanje infekcije s *Brucella ovis*. Narodne novine 30/2005.
31. Anon. (2009a): Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje bruceloze (*B. melitensis*). Narodne novine 56/2009.
32. Anon. (2009b): Pravilnik o unutarnjem redu u Parku prirode „Lastovsko otočje“. Narodne novine 154/2009.
33. Anon. (2010): Odluka o donošenju Prostornog plana Parka prirode Lonjsko Polje. Narodne novine 037/2010.
34. Anon. (2011): Pravilnik o uvjetima za podnošenje zahtjeva i kriterijima za dodjelu zajedničkih pašnjaka. Narodne novine 135/2011.
35. Anon. (2012): Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovu financiranju u 2012. godini. Narodne novine 17/2012.
36. VUČEVAC-BAJT, V. (2012): Povijest veterinarstva. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
37. WINTERHALTER, M. (1980): Ne isplati se konje držati. Vet. glasnik 34, 871-873.

Shepherds and pastures in legislation since 1858

Petar DŽAJA, DVM, PhD, Full Professor, Krešimir SEVERIN, DVM, PhD, Assistant Professor, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Damir AGIČIĆ, DVM, Veterinary Office Slavonski Brod; Antonio LOKIN, DVM, Veterinary Station Pakoštane; Joško STOJANOVIĆ, DVM, Veterinary Ambulante d.o.o., Drniš

Shepherds and pastures no longer exist in their traditional form because the number of animals has drastically been reduced and the way of keeping animals has changed. For these reasons, pastures are turning to scrublands

and the shepherds have almost disappeared. This article gives an overview of the legal history concerning the regulation of pastures, grazing and the duties and obligations of the shepherds.



Harmonija druženja

Dehinel® Plus &

*1 tableta
sadržava:*

febantel 150 mg
pirantel embonat 144 mg
prazikvantel 50 mg

flavour
tablete

Dehinel® Plus XL

tablete

1 tableta sadržava:

febantel 525 mg
pirantel embonat 504 mg
prazikvantel 175 mg

Antiparazitik za pse (nematocid, cestocid)

- Za pse male i srednje veličine
- Preporučena doza – 1 tableta na 10 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.

- Za velike i vrlo velike pse
- Preporučena doza – 1 tableta na 35 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.

Prije korištenja pripravka pročitajte cijelu verificiranu uputu za uporabu o glavnim karakteristikama proizvoda.



 **KRKA**

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

Na poljskom bujatričkom kongresu s međunarodnim sudjelovanjem ove godine po prvi put su pozvani i predavači iz Hrvatske

Nikica Prvanović Babić



U poljskom gradu Lomzi u listopadu 2012. godine po treći je puta održan Kongres Poljske bujatričke asocijacije. Ove je godine Kongres imao međunarodni karakter, jer su pozvani predavači Kongresa dolazili iz: Italije, Austrije, Slovačke, Mađarske i Hrvatske. Glavna je tema Kongresa bila biosigurnost i dobrobit preživača. Tijekom Kongresa su, uz to, razmatrani i različiti aspekti zdravlja i proizvodnje preživača, a u sklopu Kongresa održane su i dvije teoretske te dvije praktične radionice koje su obrađivale reprodukciju i mastitise u preživača. Predavači su se osvrnuli i na globalne probleme koji prate razvoj suvremenog govedarstva, a to su sve slabija plodnost goveda te pojačani rizici za širenje novih potencijalnih zoonoza. Bilo je riječi i o europskoj legislativi koja regulira dobrobit domaćih životinja te praktične probleme s kojima se veterinarska struka prilikom provedbe istih, u različitim zemljama EU susreće. Pozvani predavači iz Hrvatske bili su: prof. dr. sc. Marko Samardžija i doc. dr. sc. Nikica Prvanović Babić s Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Prof. dr. sc. Marko Samardžija održao je predavanje o funkcionalnim uzrocima neplodnosti goveda, dok je doc. dr. sc. Nikica Prvanović Babić analizirala provedbu suvremenog pristupa biosigurnosti i dobrobiti na našim uzgojima mliječnih krava. Kongresu je prisustvovalo više stotina praktičara, znanstvenika i sveučilišnih nastavnika iz Poljske i drugih zemalja, uglavnom iz EU. Prilikom održavanja Kongresa dodijeljena su i priznanja najeminentnijim stručnjacima bujatričarima iz Poljske. S obzirom da je želja organizatora bila da se u rad Kongresa uključi što veći broj uglednih praktičara iz svih europskih zemalja, na Kongres je kao pozvani predavač bio pozvan i dr. sc. Dražen Đuričić, znanstveni savjetnik iz Veterinarske stanice Đurđevac, koji je pripremio izlaganje o iskustvima naših veterinara na području zdravlja stada s aspekta biosigurnosti i dobrobiti, ali nažalost zbog opravdanih razloga nije mogao prisustvovati Kongresu. Prilikom neformalnog dijela Kongresa održani su okrugli stolovi predstavnika Slovačke, Hrvatske, Italije i Poljske

Dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet, Zagreb



Slika 1. Doc. dr. sc. Nikica Prvanović Babić tijekom predavanja

o mogućnostima daljnje suradnje navedenih zemalja na području bujatrike i veterinarske medicine. Na tim je sastancima Hrvatsku predstavljao prof. dr. sc. Marko Samardžija. Temeljem zaključaka s navedenih sastanaka logično je očekivati da će se navedena suradnja u budućnosti produbiti na nastavnoj, znanstvenoj i stručnoj razini, jer za to očigledno postoji vrlo izražen i postojan interes svih učesnica zemalja.



Slika 2. Sudionici Kongresa s pozvanim predavačima i organizatorima

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

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

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

VJEŽBE IZ FIZIOLOGIJE DOMAĆIH ŽIVOTINJA I.

Priručnik

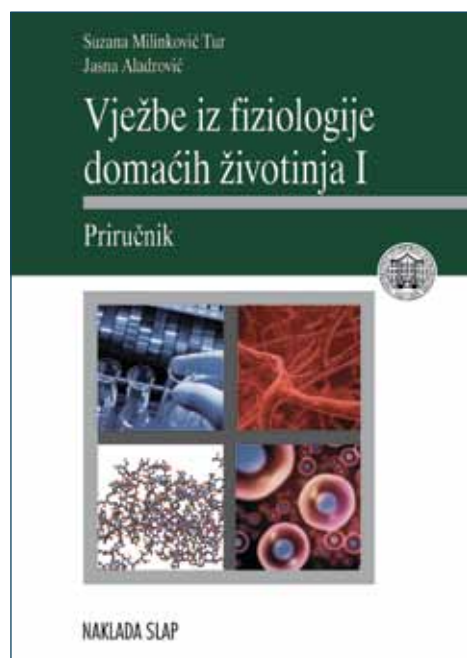
Prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur i

doc. dr. sc. Jasna Aladrović

ISBN: 978-953-191-755-1

Nakladnik: Naklada Slap, 2012.

Cijena priručnika: 180,00 kn (za studente
160,00 kn+5% PDV=168,00 kn)



Sveučilišni priručnik „Vježbe iz fiziologije domaćih životinja I.“ predstavlja vrlo pregledno, opsežno i sveobuhvatno djelo, vrijedan, originalni materijal primjerene jasnoće i sadržaja koji je i u jezičnom i konceptualnom smislu vrlo iscrpno obrađen. Čitavo je djelo napisano iznimno lijepim hrvatskim jezikom, a sva poglavlja su obrađena i prikazana jednostavno te su pregledna, lako čitljiva i razumljiva.

Sadržaj priručnika čini šest poglavlja koja obuhvaćaju: opću fiziologiju,

fiziologiju krvi, fiziologiju živčanog i mišićnog sustava te fiziologiju endokrinog sustava. Struktura se svakog poglavlja osniva na definiranju ciljeva praktičnog rada, teorijskoj osnovi vježbi, detaljnom opisu izvođenja s pitanjima za lakše savladavanje i razumijevanje gradiva fiziologije domaćih životinja. Osim tekstualnog dijela priručnik sadrži i slike, fotografije i sheme koje omogućuju lakše praćenje i izvršavanje praktičnih zadataka.

Svaki primjerak priručnika ima osobni broj kojim se pristupa online materijalima koji su dodatak priručniku, a čini niz slikovnih i video zapisa praktičnog rada iz Fiziologije domaćih životinja I. Namjera je autorica navedene materijale nadopunjavati, dodati bazu pitanja iz praktičnog dijela predmeta, kao i teorijskih osnova fiziologije.

Ovaj je priručnik prije svega namijenjen studentima veterinarske medicine i srodnih fakulteta kao pomoć pri praktičnom radu na vježbama u laboratoriju. No, uporabljivost se priručnika ogleda i u primjeni metoda hematoloških pretraga u radu kolega praktičara u veterinarskim ambulantama. Sadržaj djela je aktualan i prilagođen opremi, priboru i uređajima koji se koriste na vježbama iz fiziologije u nastavi na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na kraju se priručnika nalazi popis korištene literature i pitanja za ponavljanje i provjeru znanja po poglavljima.

Ukratko, vrijednost ovog priručnika je u strukturiranosti poglavlja, mogućnosti posezanja za dodatnim online materijalima te ponuđenim pitanjima. Priručnik „Vježbe iz fiziologije domaćih životinja I.“ zasigurno ispunjava sve standarde suvremene medicinske publicistike. Glede vidljivo iznimnog truda autorica obradi navedene tematike smatram da će čitanje i, u prvom redu studiranje, uz pomoć ovog priručnika

predstavljati svima kojima je namijenjen zadovoljstvo u stjecanju novih spoznaja. Stoga, mogu iskreno čestitati autoricama na iznimnom trudu uloženom u stvaranje ovog, po mnogočemu, posebnog djela koje smo dugo čekali. No, vrijedilo je!

Priručnik se može kupiti u knjižari Školske knjige u Masarykovoj 28, Knjižari

Ljevak na Trgu bana Josipa Jelačića 17 te kod izdavača Naklada Slap, Miramarska 105 i na internetskoj stranici (uz 10% popusta).

Marko Samardžija

SMRT JEDNOG DOBROTVORA. OSTAVIO SVOJ IMETAK ZA GRADNJU VETERINARSKIH AMBULANATA PO SELIMA

Zagreb, 16. prosinca.

Dana 7. prosinca t.g. umro je u Zagrebu Milan VANIČEK, bankovni ravnatelj u m. Što je Hrvatska izgubila njegovom smrću, a napose hrvatski seljak, koliko je on ljubio svoju hrvatsku domovinu i hrvatskog seljaka, želim prikazati s ovo nekoliko redaka.

O gradnji te Kesterove ambulante pisale su naše novine i donijele su i nacрте izradjene od Higijenskog zavoda u Zagrebu.

Pokojni VANIČEK naglašavao je svakom zgodom, da želi ostaviti svoj imetak tako, da će od njega imati direktne koristi hrvatski seljak. Čitajući u novinama o toj Kesterovoj ambulanti, rodila se je i dozrela u njemu spoznaja, da je baš to prava svrha kojom on može najbolje poslužiti hrvatskom seljaku i pod jedno time dokazati bezgraničnu ljubav prema svojoj hrvatskoj domovini i svome narodu. Dva dana prije svoje smrti potpisao je oporuku, u kojoj je ostvario i misao.

Pokojni VANIČEK rodio se je u Vinkovcima 13. kolovoza 1865., od oca Franje, ravnatelja gimnazije. Škole je polazio u Osijeku. Službovao je kao gruntovničar u Vukovaru, Koprivnici, Djurdjevcu i Požegi. Godine 1893. dolazi u Prvu Hrvatsku štedionicu u Zagrebu. Kasnije prelazi kao ravnatelj poljodjelskoj banci, a svršava svoju karijeru kao ravnatelj Jugoslavenske banke 1929.

„Hrvatski dnevnik” (Zagreb), 207, 8, 1936 (god. I) (17. prosinca 1936.).

Članovi Hrvatsko-slavonskog veterinarskog društva u posjeti Višem gospodarskom učilištu i Veterinarskom zavodu u Križevcima



Maks Karlović

Na priloženoj fotografiji prisutan je dio sudionika Hrvatsko-slavonskog veterinarskog društva koji je 27. lipnja

1907. posjetio Više gospodarsko učilište i Veterinarski zavod u Križevcima.



1. red (stoji): 1. Ljudevit PROHASKA, Više gosp. učilište, (sjede): 2. Dragutin LAZIĆ, veterinar, 3. Mijo GRAHO, Više gosp. učilište, 4. Bogoslav LJEVAČIĆ, veterinar, 5. Fran LISAK, veterinar i 6. Frane SCHULZ, veterinar
2. red (stoji): 1. Julije OBERHOFER, Više gosp. učilište, 2. Fran GABREK, veterinar, 3. neprepoznat, 4. Milan NJEMČIĆ, veterinar, 5. Ferdo KERN, veterinar, 6. Nikola RITZOFFY, veterinar, 7. Eugen PODAUBSKY, veterinar, 8. Alfred TONKRES, veterinar, 9. Hinko DEGEN, veterinar, 10. neprepoznat, 11. neprepoznat, 12. Ernest PODAUBSKY, veterinar i 13. Petar FRANJETIĆ, veterinar
3. red (stoji): 1. Josip KOCH, veterinar, 2. Žiga BRÜLL, veterinar, 3. Koloman BIJELIĆ, veterinar, 4. neprepoznat i 5. Dragutin KELEMEN, veterinar.



Hrvatski veterinarski institut

Hrvatski veterinarski institut

10000 Zagreb, Savska cesta 143

tel.: (01) 6123 -600

www.veinst.hr



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

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

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

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

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

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

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

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

U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.
- 14) U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u raspravi i to prema uputama koje se prilažu:
 1. **knjiga:** HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.
 2. **rasprava u knjizi:** MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959):

- African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).
3. **disertacija:** KRSNIK, B. (1972): Utjecaj buke na ponašanje svinja u industrijskoj proizvodnji, napose s obzirom na lako oksidirajuće tvari kao biokemijskom parametru. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 4. **zbornik referata:** SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
 5. **zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti 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. stn., 14 (4) 1-7.
 8. **neka druga rasprava:** BOLLWAHN, W. und B. KRUEDEWIG (1972): Die symptomatische Behandlung der Gratschstellung neugeborener Ferkel. Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 229-231.
- (Cit. HÄNI, H., A. BRÄNDI, H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H. KÖNIG und J. NICOLET: Vorkommen und Bedeutung von Schweinekrankheiten: Analyse eines Sektionsguts (1971 - 1973) Schweiz. Arch. Tierheilk. 118, 105 - 125, 1976).
9. **sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe Vet. J. 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

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

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

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

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljivani u časopisu.

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