

Strukturni fondovi i Kohezijski fond EU- mogućnost za sektor veterinarstva



Ružica Gelo, Saša Bukovac i Zvonimir Savić

Ulazak Hrvatske u Europsku uniju donio je brojne mogućnosti, ali i brojne opasnosti za hrvatsko gospodarstvo. Najveća prednost za hrvatski prehrambeni sektor odnosi se na pristup velikom, jedinstvenom tržištu Europske unije na kojem se trgovina odvija bez bilo kakvih ograničenja i birokratskih barijera. Velika se prednost članstva ogleda i u pristupu EU fondovima koji, između ostalog, za cilj imaju otvaranje novih radnih mjesta, konkurentnost, gospodarski rast. Međutim, članstvo u EU može hrvatskom prehrambenom sektoru stvoriti i poteškoće koje će prije svega biti posljedica pojačanog konkurentnog pritiska na domaćem tržištu. Veterinarstvo u velikoj mjeri dijeli sudbinu poljoprivrede i prehrambene industrije i bez ikakve dvojbe negativni trendovi koji su prisutni u sektoru stočarstva negativno su se odrazili i na veterinarsku struku zbog čega je za nju iznimno važno nalaziti nova područja djelovanja, ali i nove izvore financiranja. Europski fondovi predstavljaju jedan od mogućih izvora financiranja. Pri tome treba voditi računa da su EU fondovi namijenjeni financiranju razvojnih projekata, a ne tekućeg poslovanja.

Članstvom u Europskoj uniji Hrvatska postaje korisnicom dviju najizdašnijih europskih politika na koje odlazi gotovo 78% europskog proračuna, a radi se

o Kohezijskoj (Regionalnoj) politici i Zajedničkoj poljoprivrednoj politici.

Kohezijska (Regionalna) politika je investicijska politika EU kojom se promiče i podržava ravnomjeran razvoj država članica i njihovih regija. Ona podupire otvaranje novih radnih mjesta, konkurentnost, gospodarski rast, unapređenje kvalitete života te održivi razvoj. Dodatno, Kohezijska politika za cilj ima smanjenje znatnih ekonomskih, socijalnih i teritorijalnih razlika koje postoje u europskim regijama. U idućem sedmogodišnjem proračunskom razdoblju EU 2014.-2020. g. planira investirati 325 mlrd. EUR-a u europske regije. Investicije će se usmjeravati, primjerice, za poboljšanje prometne povezanosti udaljenih i nerazvijenijih regija, za razvoj malih i srednjih poduzeća u nerazvijenim područjima, za čišći okoliš te poboljšanje edukacije i vještina ljudi. EU financiranje usmjeravat će se i za inovacije, razvoj novih proizvoda i proizvodnih metoda, energetske učinkovitost te problematiku klimatskih promjena.

Zajednička poljoprivredna politika jedna je od najstarijih politika EU, a glavni ciljevi su joj osiguranje primjerenog standarda za poljoprivrednike, osiguranje redovne opskrbe potrošača prehrambenim proizvodima po prihvatljivim cijenama te uravnotežen razvoj ruralnih područja.

Postavši 1. srpnja 2013. godine 28. zemlja članica EU, Hrvatska će po prvi

Ružica GELO, dipl. ing., Saša BUKOVAC, dr. med. vet, mr. sc. Zvonimir SAVIĆ, dipl. oec., Centar za EU, Hrvatska gospodarska komora

puta moći biti korisnicom Europskih strukturnih i investicijskih fondova koje čine sljedeći fondovi:

1. Europski fond za regionalni razvoj
2. Europski socijalni fond
3. Kohezijski fond
4. Europski poljoprivredni fond za ruralni razvoj
5. Europski fond za ribarstvo.

Europski fond za regionalni razvoj za cilj ima jačanje ekonomske i socijalne kohezije te smanjenje razlika u razvoju između regija unutar EU. Ovaj fond stoga podupire regionalni i lokalni razvoj postavljanjem prioriteta kojima se fokus usmjerava na sljedeće:

- istraživanje i razvoj te inovacije,
- poboljšani pristup informacijskim i komunikacijskim tehnologijama te veću kvalitetu tih tehnologija,
- klimatske promjene i prijelaz na gospodarstvo s niskim udjelom ugljika,
- poslovnu podršku malim i srednjim poduzećima,
- usluge od općeg gospodarskog interesa,
- telekomunikacijsku, energetske i prijevozne infrastrukture,
- povećanje kapaciteta institucija i učinkovitu javnu administraciju,
- zdravstvenu, obrazovnu i socijalnu infrastrukturu te
- održivi urbani razvoj.

Uloga Europskog socijalnog fonda je dati doprinos mogućnosti zapošljavanja, promicanju obrazovanja i cjeloživotnog obrazovanja, jačanju socijalne inkluzije, doprinositi borbi protiv siromaštva te ojačati administraciju koja služi građanima i onima koji traže zaposlenje.

Kohezijski fond usmjeren je na velike projekte s područja zaštite okoliša i Trans-europske prometne mreže.

Europski poljoprivredni fond za ruralni razvoj za cilj ima ojačati konkurentnost poljoprivredne proizvodnje, održivo upravljanje resursima te uravnotežen teritorijalni razvoj. Sredstva se uglavnom ulažu u rješavanje

strukturnih problema u poljoprivredi, korištenje resursa (tlo, voda, zrak, biološka raznolikost) te u fizičku i socijalnu infrastrukturu ruralnih područja.

Europski fond za ribarstvo u postojećem sedmogodišnjem proračunskom razdoblju raspolaže sa 4,3 mlrd. EUR-a na razini EU, a namijenjen je morskom i slatkovodnom ribarstvu, akvakulturi, preradi i trženju ribe te održivom razvoju ribarskih područja.

Primjeri projekata financirani u sektoru veterinarstva u državama članicama unutar postojeće perspektive 2007.-2013. godine

Primjer 1.

CEITEC (Central European Institute of Technology) je zajednički projekt sveučilišta u Brnu i istraživačkih instituta. Svi sudionici projekta nalaze se u Brnu, imaju dugogodišnju tradiciju, iskustvo i stručnjake koji daju snažan temelj novom centru znanstvene izvrsnosti.

Projektne partneri - Masaryk University, Brno University of Technology, Mendel University Brno, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Institute of Physics of Materials, Veterinary Research Institute (jedini profesionalni istraživački institut u Češkoj republici s istraživačkom djelatnosti na području veterinarske medicine sa znatnom zastupljenošću primijenjenog istraživanja).

Ovaj projekt financiran je kroz Operativni program „R&D for innovations“, prirotena os 1 – „European Centres of Excellence“ kroz koji se željelo formirati centre izvrsnosti koji će biti dobro opremljeni centri s modernom istraživačkom infrastrukturom.

Vrijednost projekta: 208 milijuna EUR-a

Primjer 2.

Naziv projekta: Izgradnja kapaciteta zaposlenih u Nacionalnom veterinarskom laboratoriju

Zemlja: Litva

Ukupan proračun: 393.523 EUR-a
 EU sufinanciranje: 279.821 EUR-a
 EU fond: Europski socijalni fond
 Korisnik: Nacionalne veterinarske laboratorije.

Priprema za korištenje fondova Kohezijske politike u Hrvatskoj

Kako bi Hrvatska u okviru financijskog razdoblja Europske Unije 2014.-2020.g. mogla koristiti sredstva iz fondova EU potrebno je uspostaviti funkcionalan institucionalni okvir te pripremiti strateške dokumente. Proces pripreme strateških dokumenata naziva se programiranje. Programiranjem se odgovara na pitanje koji će se dijelovi nacionalne strategije moći sufinancirati iz fondova EU, odnosno operativnim programima se određuju prioriteti za sufinanciranje iz fondova EU. Područja koja nisu navedena u operativnim programima neće se moći sufinancirati sredstvima EU.

Hrvatska će za nadolazeće proračunsko razdoblje EU (2014.-2020.) najvjerojatnije imati tri operativna programa: OP Konkurentnost i kohezija, OP Učinkoviti ljudski resursi te OP Tehnička pomoć. Ulaskom Hrvatske u EU došlo je i do znatnog povećanja raspoloživih financijskih sredstava. Naime, prije ulaska u EU Hrvatskoj je na raspolaganju bilo oko 150 mil. EUR-a godišnje iz pretpristupnog fonda IPA, a nakon što je Hrvatska postala članica EU, iz fondova Kohezijske politike na raspolaganju će biti preko 1 mlrd. EUR-a godišnje. Osim toga, Hrvatskoj je za sektor poljoprivrede odobreno 373 milijuna EUR-a za izravna plaćanja te 333 milijuna EUR-a za financiranje mjera ruralnog razvoja kroz Europski poljoprivredni fond za ruralni razvoj.

Što su prioriteti za razdoblje 2014.-2020. godina?

Prioriteti Kohezijske politike oko kojih će se odvijati proces programiranja su sljedeći:

1. Jačanje istraživanja, tehnološkog razvoja i inovacija

2. Poboljšani pristup, korištenje te kvaliteta informacijskih i komunikacijskih tehnologija
3. Jačanje konkurentnosti malih i srednjih poduzeća, poljoprivrednog sektora te sektora ribarstva i akvakulture
4. Podrška prijelazu prema ekonomiji temeljenoj na niskoj razini emisije CO₂ u svim sektorima
5. Promicanje prilagodbe na klimatske promjene, prevencija i upravljanje rizicima
6. Zaštita okoliša i promicanje učinkovitosti resursa
7. Promicanje održivog prometa te uklanjanje uskih grla u ključnoj infrastrukturi
8. Promicanje zapošljavanja i podrška mobilnosti radne snage
9. Promicanje socijalnog uključivanja te borba protiv siromaštva
10. Ulaganje u obrazovanje, vještine i cjeloživotno učenje
11. Jačanje institucionalnih kapaciteta te učinkovita javna uprava.

Prioriteti Zajedničke poljoprivredne politike još uvijek nisu do kraja utvrđeni. Zbog toga će se s njihovom primjenom započeti 2015. godine. Na temelju postignutog političkog dogovora u Bruxelles-u 26. lipnja 2013., može se reći da se okvirno radi o sljedećim prioritetima:

- Inovacije koje će se posebno realizirati kroz Europsko inovacijsko partnerstvo za poljoprivrednu produktivnost i održivost (EIP), a obuhvaćat će različite mjere kao što su: transfer znanja, suradnja i investicije u fizičku imovinu. Ovo se namjerava ostvariti kroz jačanje suradnje između poljoprivrede i istraživačkog sektora kako bi se ubrzao transfer tehnologija poljoprivrednim proizvođačima
- Poljoprivreda utemeljena na znanju vezana uz jačanje savjetodavnih usluga u poljoprivredi
- Restrukturiranje farmi/investicije/modernizacija

- Mladi farmeri te mali farmeri
- Upravljanje rizikom
- Proizvođačke grupe i organizacije
- Agro-okolišna klimatska plaćanja
- Ekološka poljoprivreda
- Šumarstvo
- Planinska područja/Ostala područja s otežanim uvjetima proizvodnje
- Suradnja (pilot projekti, zajedničke okolišne sheme, lokalna tržišta)
- Nepoljoprivredne aktivnosti
- Osnovne usluge i obnova sela
- LEADER.

Koje su mogućnosti za sektor veterinarstva?

Iz Europskog fonda za regionalni razvoj najveće mogućnosti za veterinarsku struku vezane su uz prva tri prioriteta:

1. Jačanje istraživanja, tehnološkog razvoja i inovacija
2. Poboljšani pristup, korištenje te kvaliteta informacijskih i komunikacijskih tehnologija
3. Jačanje konkurentnosti malih i srednjih poduzeća, poljoprivrednog sektora te sektora ribarstva i akvakulture.

Ovi prioriteti omogućavaju kupnju novih oprema i tehnologije, implementaciju ICT rješenja i slično.

Iz Europskog socijalnog fonda mogućnost financiranja postoji iz prioriteta „Ulaganje u obrazovanje, vještine i cjeloživotno učenje“.

Uvjet za korištenje ovih sredstava je da u procesu programiranja, veterinarska

djelatnost bude prepoznata kao prihvatljiva.

Iz Europskog poljoprivrednog fonda za ruralni razvoj za sada se mogu detektirati dva prioriteta koja mogu biti zanimljiva veterinarskoj djelatnosti:

1. Prijenos znanja i informacija
2. Jačanje suradnje u poljoprivredi, prehrambenom lancu i šumarstvu.

Međutim, za konačno sagledavanje mogućnosti sektora bit će nužno pričekati okončanje procesa programiranja.

Kako aplicirati za projekte?

Prije svega, potrebno je osmisлити projektну ideju koja će se uklopiti u kriterije zadane Operativnim programima. Investitor je dužan osigurati financiranje projekta, a tek po njegovom okončanju bit će mu refundiran dio prihvatljivih troškova. Projekti za poduzetnike u pravilu se sufinanciraju do 50% prihvatljivih troškova, što znači da je poduzetnik dužan osigurati polovicu sredstava iz vlastitih ili kreditnih izvora financiranja. Isto je tako potrebno pripremiti projektну dokumentaciju koje je u nekim slučajevima dosta opsežna i naravno, aplicirati na natječaj kojeg će raspisati provedbena tijela. Svakako ne treba zaboraviti ni pitanja vlasništva nad nekretninama koje su predmet ulaganja te ishodenje potrebne građevinske dokumentacije. Postupak se može učiniti jednostavnim, ali u sebi sadrži veliki broj aktivnosti te je s pripremom nužno krenuti na vrijeme.



Rasprostranjenost enzootske leukoze goveda u Hrvatskoj u razdoblju od 2006. do 2011. s osvrtom na probleme suzbijanja i iskorjenjivanja

D. Balić, T. Kiš, Ivana Lohman Janković, Besi Roić, Ivana Lojkić, J. Madić, M. Periškić, M. Škrivanko, Marica Lolić i Marija Agičić



Uvod

Enzootska leukoza goveda (ELG) je virusna, kronična bolest goveda koja se klinički i patoanatomski rijetko uočava. Prisutnost virusa i zaraženih jedinki u stadu nanosi znatne gospodarske štete.

Uzročnik ELG je RNK virus svrstan u rod *Deltaretrovirus*, porodicu *Retroviridae*, čija je osnovna značajka posjedovanje enzima reverzne transkriptaze (Stoye i sur., 2012.). Virus ELG sadrži dva proteina na lipoproteinskoj ovojnici: gp51 na samoj površini i gp30 transmembranski. Oba su najčešće glikozilirana i od ključne važnosti za serološku dijagnostiku ELG. Unutar virusne ovojnice nalazi se tri do šest neglikoziliranih, strukturnih proteina.

Uginuća kod ELG javljaju se zbog maligne proliferacije tkiva u različitim organima, odnosno razvoja

limfosarkoma koji svojom prisutnošću i rastom postupno iscrpljuju životinju, dovode do poremećaja rada organa ili do njihove rupture i posljedičnog iskrvarenja (Cvetnić, 1997.). Većina infekcija virusom ELG prolazi supklinički. Jedan od učinaka virusa ELG je izazivanje imunosupresije i otvaranje vrata drugim uzročnicima te ometanje optimalnog imunskog odgovora (Maes i sur., 2002.).

Obzirom na znatne ekonomske posljedice što ih prouzroči u govedarstvu (Emanuelson i sur., 1992.) razvijeni su brojni dijagnostički postupci kako bi se što ranije otkrile zaražene životinje (Johnson i Kaneene, 1992.) te ih se kao izvore zaraze izlučilo iz uzgoja. ELG se u stadu najčešće širi horizontalno i to prije svega „krvnim“ zahvatima, poput: vađenja krvi za dijagnostičke pretrage, injekcijske

Dr. sc. Davor BALIĆ, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Marin PERIŠKIĆ, dr. med. vet., znanstveni suradnik, dr. sc. Mario ŠKRIVANKO, dr. med. vet., znanstveni suradnik, dr. sc. Marica LOLIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, Marija AGIČIĆ, dr. med. vet., asistentica, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Vinkovci; dr. sc. Besi ROIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, dr. sc. Ivana LOJKIĆ, dipl. biol., viša znanstvena suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Tomislav KIŠ, dr. med. vet., Ivana LOHMAN JANKOVIĆ, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za veterinarstvo, dr. sc. Josip MADIĆ, dr. med. vet., akademik, Veterinarski fakultet, Zagreb

primjene lijekova, dekornuacije, tetoviranja, kastracije, rektalne palpacije, transfuzije krvi te cijepljenja. Iako rijetko, zabilježen je i vertikalni prijenos virusa (Maes i sur., 2002.). Za prijenos bolesti ključni su limfociti u krvi.

U brojnim su zemljama diljem svijeta provedena epizootiološka istraživanja ELG u intenzivnoj govedarskoj proizvodnji te su donijeti različiti programi kontrole i nadzora te zaraze. Tako su propisani različiti postupci sa zaraženim životinjama ovisno o prosudbi stručnih službi i nadležnih upravnih tijela pojedinih država, a u skladu s razinom mliječne proizvodnje i ekonomskim prioritetima svake zemlje.

U Hrvatskoj je objavljeno nekoliko radova u kojima se obrađuju problemi dijagnostike i suzbijanja ELG (Lugović i sur., 1989., Lojkić i sur., 1991., Lojkić i sur., 2000.), a nedavno su objavljeni i najnoviji podatci o proširenosti ELG u Hrvatskoj (Roić i sur., 2010.). Za razliku od tog istraživanja, u ovom radu prikazujemo proširenost ELG po županijama i obiteljskim gospodarstvima s ciljem da se pri donošenju mjera suzbijanja i iskorjenjivanja uzmu u obzir specifičnosti njezine pojavnosti u Hrvatskoj.

Materijal i metode

Uzorci krvnog seruma

Pretraženi uzorci krvnog seruma potjecali su od goveda s mliječnih farmi ili obiteljskih gospodarstava. Uzorci su dostavljani u laboratorije Hrvatskog veterinarskog instituta i njegovih podružnica temeljem godišnje Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti propisane od Ministarstva poljoprivrede. U razdoblju od 2006. do 2010. godine, pretraženo je 315786 uzoraka krvnog seruma krava, junica i rasplodnih bikova.

Krv je za serološke pretrage (imunodifuzija u gelu i ELISA test)

uzimana iz vene jugularis u epruvete bez antikoagulansa (Becton Dickinson vacutainer). Krv smo centrifugirali na 2500 okretaja u minuti tijekom 5 minuta. Izdvojeni serum pohranili smo pri -20 °C.

Uzorci krvnih seruma potjecali su uglavnom od krava (85% uzoraka), 14,5% uzoraka krvnih seruma potjecalo je od junica, starijih od 6 mjeseci i 0,5% od rasplodnih bikova. Uzorci mliječnih seruma potjecali su od krava u laktaciji.

Serološki postupci

Za pretragu uzoraka krvnih seruma rabljeni su komercijalni probirni kompleti za dokaz protutijela imunodifuzijom u gelu ili komercijalni probirni kompleti za dokaz protutijela neizravnim imunoenzimnim testom. Ako je na osnovi probirnog testa dobiven pozitivan rezultat, uzorak krvnog seruma istog goveda bio je naknadno pretražen neizravnim imunoenzimnim testom kako bi se potvrdila pozitivna reakcija.

Za dokaz protutijela imunodifuzijom u gelu rabljen je komercijalni komplet MEVAK a. s. Nitra, Nitra, Slovačka. Za pretragu krvnih seruma imunoenzimnim testom rabili smo komercijalne komplete „Svanovir BLV gp51-Ab-screening format“, Svanova, Bioteck Ab, Uppsala, Švedska ili „Chekit-Leucose-serum ELISA test kit“, proizvođača Dr. Bommeli AG, IDEXX laboratories, Bern, Švicarska. Za potvrdu rezultata pretrage probirnim testom rabili smo „Svanovir BLV gp51-Ab-potvrđni test2“, Svanova, Bioteck Ab, Uppsala, Švedska.

Obrada podataka

Podatke o broju mliječnih goveda u Hrvatskoj crpili smo iz Državnog zavoda za statistiku (DZS) i Hrvatske poljoprivredne agencije (HPA). Za statističku usporedbu podataka i računanje prevalencije ELG u RH, rabili smo podatke objavljene u Statističkim ljetopisima DZS (2006.-2010.) (tabela

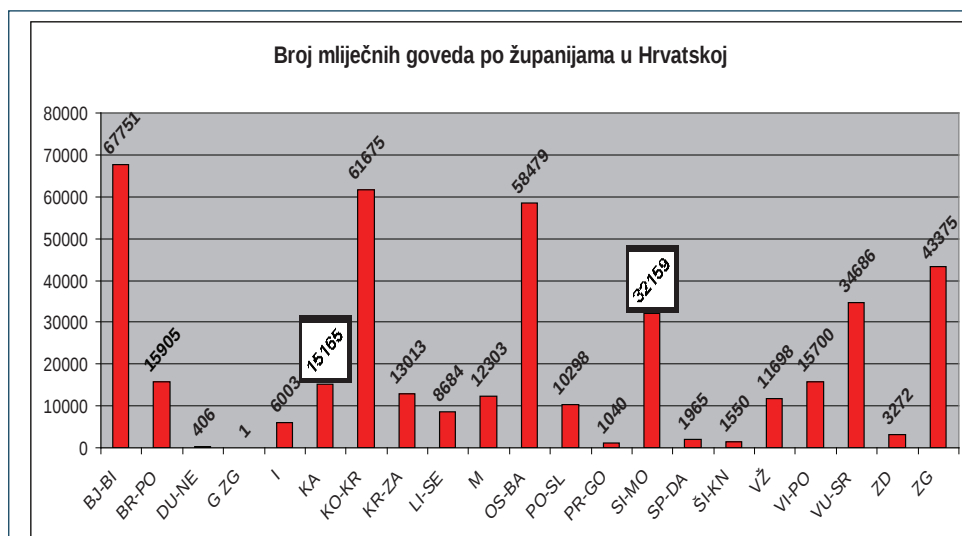
1). Podatci HPA prikupljeni su nakon detaljnog popisa broja životinja u obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima i postavljanja elektroničke baze podataka o govedima u RH 2010. godine. Pri tome smo mliječnim pasminama smatrali one pasmine koje se u Hrvatskoj najčešće drže za dobivanje mlijeka iako po selekcijskim mjerilima ne spadaju u čisto mliječne pasmine, nego u kombinirane pasmine npr. simentalско govedo. Po tom kriteriju u mliječna goveda ubrojili smo sljedeće pasmine goveda: simentalску, holštajnsku, križance simentalске i holštajnske pasmine, smeđe govedo, sivo govedo, pinčgausko govedo, crveno švedsko govedo i montbeliard govedo. Obradene podatke o broju pretraženih goveda na ELG te broju pozitivnih goveda obradili smo Hi-kvadrat testom. Za statističku obradu rabili smo program STATISTICA.

Rezultati

Županije s najvećim brojem mliječnih goveda u Hrvatskoj su Bjelovarsko-bilogorska i Kopriivničko-križevačka.

Osječko-baranjska, gdje se nalazi najveći broj velikih mliječnih farmi, na trećem je mjestu, a Vukovarsko-srijemska na petom. U Zagrebačkoj županiji zabilježeno je 43375 mliječnih goveda (četvrto mjesto), dok je na šestom mjestu Sisačko-moslavačka s 32159 mliječnih goveda. Preko 10000 mliječnih goveda zabilježeno je u još sedam županija u kontinentalnoj Hrvatskoj (Brodsko-posavskoj, Karlovačkoj, Virovitičko-podravskoj, Krapinsko-zagorskoj, Međimurskoj, Varaždinskoj i Požeško-slavonskoj), dok je u ostalih osam županija uz morsku obalu ili planinskom području (Ličko-senjska, Istarska, Zadarska, Splitsko-dalmatinska, Šibensko-kninska, Primorsko-goranska, Dubrovačko-neretvanska županija te Grad Zagreb) zabilježeno ispod 10000 mliječnih goveda (slika 1).

Tijekom 2006. godine ukupno je bilo ustanovljeno 165 zaraženih goveda virusom ELG na mliječnim farmama i dva zaražena na obiteljskim gospodarstvima. U 2007. bilo je pretraženo najviše uzoraka krvnog seruma, ukupno 98425, a pozitivna su bila 234 uzorka podrijetlom s mliječnih farmi i 31 uzorak podrijetlom



Slika 1. Broj mliječnih goveda po županijama u Republici Hrvatskoj

Tabela 1. Broj pretraženih i pozitivnih uzoraka krvnog seruma goveda na ELG u Hrvatskoj od 2006. do 2010. godine

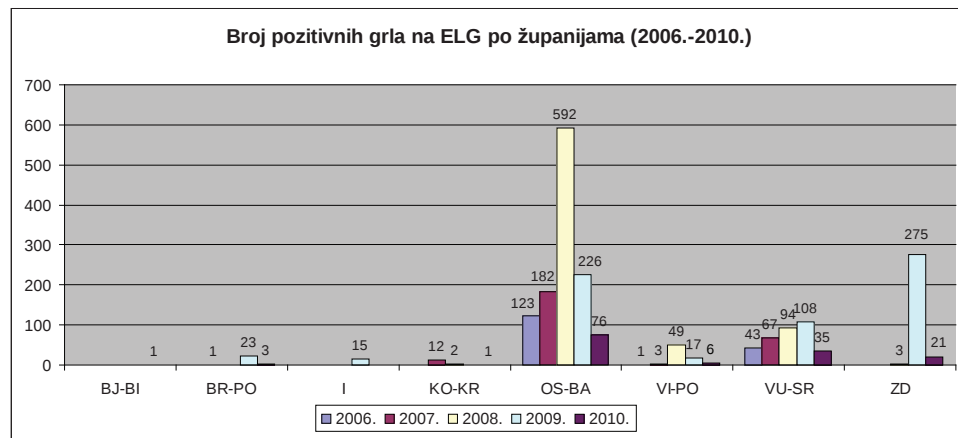
Godina	Broj pretraženih uzoraka krvnog seruma goveda (% od ukupnog broja mliječnih goveda u RH)	Ukupno pozitivnih grla (% od ukupnog broja mliječnih goveda u RH)	Broj pozitivnih grla na farmama (broj pozitivnih farmi)	Broj pozitivnih grla na obiteljskim gospodarstvima (broj pozitivnih obiteljskih gospodarstava)	Broj mliječnih goveda u RH (krave+junice)
2006.	45767 [17,1%]	167 [0,06%]	165 [6]	2 [2]	268000
2007.	98425 [38,4%]	265 [0,1%]	234 [6]	31 [12]	256000
2008.	63205 [28%]	740 [0,33%]	664 [15]	76 [16]	226000
2009.	81716 [36,6%]	664 [0,3%]	590 [15]	74 [21]	223000
2010.	26673 [13,5%]	143 [0,07%]	100 [10]	43 [11]	197000

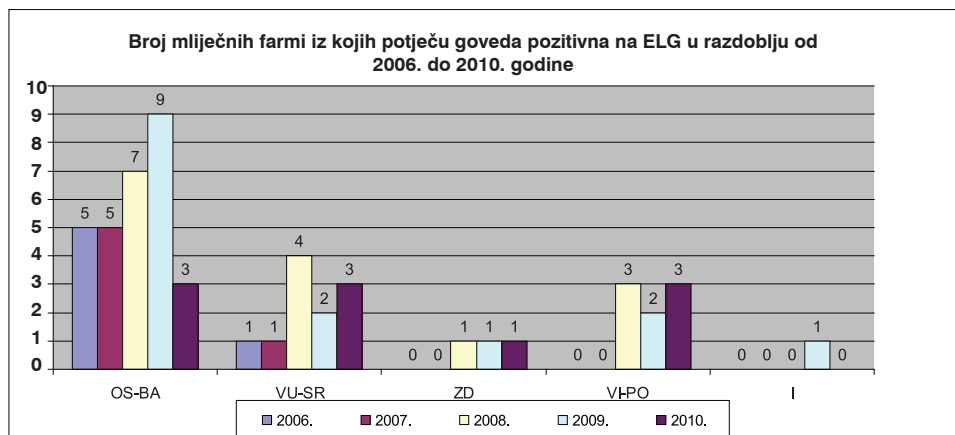
s obiteljskih gospodarstava. U 2008. godini dokazan je najveći broj zaraženih goveda i na mliječnim farmama (664 goveda) i na obiteljskim gospodarstvima (76 goveda). U 2009. godini broj goveda serološki pozitivnih virus ELG bio nešto manji (590) na mliječnim farmama, kao i u obiteljskim gospodarstvima (74). Tijekom 2010. godine prestala je važiti obveza pregleda mliječnih goveda pa je te godine pretražen najmanji broj uzoraka (26673) i ustanovljen je najmanji broj pozitivnih goveda na ELG (143) (tabela 1).

Najveći broj uzoraka krvnog seruma pretražen je u Laboratoriju za serološku dijagnostiku virusnih bolesti Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu (237641), potom u Laboratorijima za

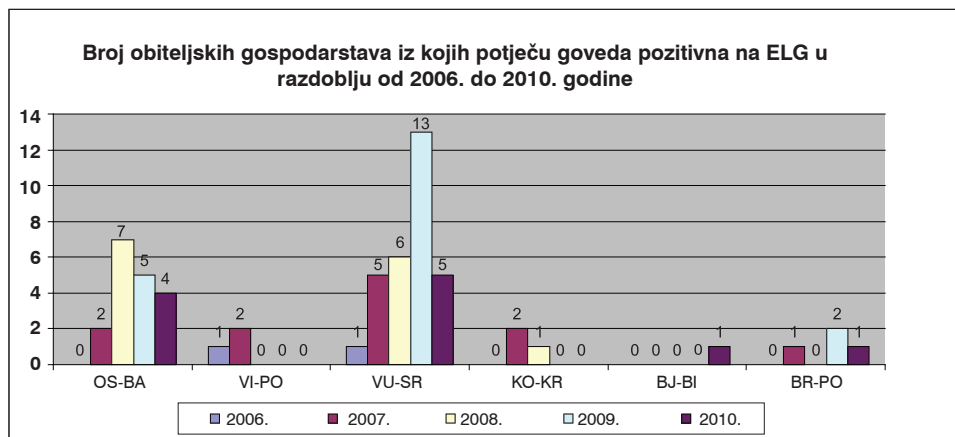
dijagnostiku u Veterinarskim zavodima u Vinkovcima (38852), Križevcima (34345), zatim u Rijeci (3037) i Splitu (1609). Najveći broj serološki pozitivnih goveda na ELG je ustanovljen u Laboratoriju za serološku dijagnostiku virusnih bolesti u Zagrebu (80,3%), zatim u Vinkovcima (19,3%), Križevcima (0,2%), Splitu (0,2%) dok u Rijeci nije nađen niti jedan pozitivan uzorak krvnog seruma tijekom promatranog razdoblja.

Brojčane su vrijednosti pojavnosti pozitivnih i negativnih rezultata pretraga po godinama uspoređene hi-kvadrat testom. Opažene se razlike u učestalosti nalaza serološki pozitivnih goveda na ELG statistički razlikuju od godine do godine ($P < 0,0001$).

**Slika 2.** Broj pozitivnih goveda na ELG po županijama (2006.-2010.)



Slika 3. Broj mliječnih farmi na kojima su dokazana goveda serološki pozitivna na ELG u razdoblju od 2006. do 2010. godine



Slika 4. Broj obiteljskih gospodarstava iz kojih potječu goveda pozitivna na ELG u razdoblju od 2006. do 2010. godine

Enzootska leukoza goveda ustanovljena je u osam od 21 hrvatske županije. U tri su županije zaražena goveda otkrivena svake godine u razdoblju od 2006. do 2010. (Osječko-baranjska, Virovitičko-podravska i Vukovarsko-srijemska županija), a od te tri županije naročito velikim brojem zaraženih goveda, svih pet godina, ističe se Osječko-baranjska. U ostalih pet županija (Bjelovarsko-bilogorska, Brodsko-posavska, Istarska, Kopriivničko-križevačka i Zadarska

županija) povremeno su dokazana serološki pozitivna goveda (slika 2).

U Zadarskoj županiji ELG je bila otkrivena u jednoj mliječnoj farmi 2008. godine. Tijekom 2009. provedene su temeljite dijagnostičke pretrage svih goveda na farmi pri čemu je ustanovljeno čak 275 goveda serološki pozitivnih na virus ELG, a poduzete mjere iskorjenjivanja pokazale su učinak u 2010. godini kada je dokazano 21 zaraženo govedo (slika 2).

Najveći broj pozitivnih mliječnih farmi u Hrvatskoj u razdoblju od 2006. do 2010. ustanovljen je u Osječko-baranjskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji. U Virovitičko-podravskoj županiji ustanovljene su tri pozitivne farme 2008. i 2010. i dvije 2009. godine. U Istarskoj i Zadarskoj županiji ustanovljena je po jedna leukozna farma (slika 3). Tijekom petogodišnjeg razdoblja ELG dokazana je u 1753 goveda na mliječnim farmama ili 88,6% od ukupnog broja goveda pozitivnih na ELG u RH.

Najveći broj obiteljskih gospodarstava iz kojih su potjecala goveda pozitivna na ELG, tijekom svih pet godina ustanovljen je u Vukovarsko-srijemskoj županiji. U Osječko-baranjskoj županiji ELG je potvrđena u obiteljskim gospodarstvima tijekom četverogodišnjeg perioda (2007.-2010.), dok je u ostalim županijama (Virovitičko-podavska, Koprivničko-križevačka, Bjelovarsko-bilogorska i Brodsko-posavska) ELG ustanovljena u dva ili u jednom domaćinstvu (slika 4).

Tijekom petogodišnjeg razdoblja ukupno je bilo dokazano 226 leukoznih goveda na obiteljskim gospodarstvima ili 11,4% od ukupnog broja goveda serološki pozitivnih na ELG u RH.

Rasprava

Prvi pisani podatci o enzootskoj leukozi goveda u Hrvatskoj potječu iz 50-tih i 60-tih godina prošlog stoljeća. Prvi stručnjaci koji su proučavali i dokazali leukozu u goveda bili su Katunarić (1956.), Audi i sur. (1968.) na osnovi trijaže goveda pomoću hematoloških pretraga koristeći tzv. Götzov ključ te Vulinec (1973.) i Vulinec i Herceg također iz 1973. (Lojkić, 2001.).

Počeci serološke dijagnostike ELG u Hrvatskoj vežu se za 1985. godinu od kada se na osnovi veterinarsko-sanitarnih propisa godišnje pretražuje oko 15 tisuća mliječnih goveda (Lojkić i sur., 1991.), a u širokoj je uporabi tada

bila imunodifuzija u gelu (Lugović i sur., 1989.). Međutim, ubrzo se počinju rabiti imunoenzimni kompleti za dokaz protutijela za virus ELG imunoenzimnim testom pa iz tog razdoblja potječu radovi o usporedbi osjetljivosti imunodifuzije u gelu i imunoenzimnog testa. Tako Lojkić i sur. (1991.) dokazuju veću osjetljivost ELISA-e od imunodifuzije u gelu za čak 10-15%. O samoj bolesti te o prednostima i nedostacima određenih dijagnostičkih metoda opširno su pisali Lojkić i sur. (2000.).

Međutim, obje serološke metode mogu dati lažno negativne i lažno pozitivne rezultate pa Cvetnić (1993.) objašnjava da jednom dokazana leukoza kod goveda starijeg od 6 mjeseci znači da je ono trajno inficirano i trajni izvor zaraze za druge životinje, čak i ako one u ponovljenim testiranjima daju negativnu serološku reakciju.

Dodatnu potvrdu o „skretanju“ protutijela iz krvi u mliječnu žlijezdu u periodu oko teljenja nalazimo u radu Pavljaka i sur. (1997.). Oni su istražili mogućnost dokazivanja protutijela za virus ELG u mliječnim krava tijekom steonosti i mjesec dana nakon teljenja.

Mogućnosti dijagnosticiranja ELG drugim metodama pokazao je Balić (2008.) uspoređujući rezultate dobivene pretragom uzoraka krvi i mlijeka protočnom citometrijom u skupini krava koje su bile zaražene virusom ELG i kontrolnoj skupini. Prema njegovu istraživanju zaražene životinje imaju značajno veći broj ukupnih limfocita, pomoćničkih, citotoksičnih te B-limfocita od krava kontrolne serološki negativne skupine.

Roić i sur. (2010.) navode podatke o broju pretraženih i pozitivnih uzoraka krvnog i mliječnog seruma goveda dostavljenih u HVI u Zagrebu od lipnja 2006. do kraja 2009. (bez podataka iz regionalnih zavoda). Iz njega je vidljivo da je ELG prisutna u Hrvatskoj na

mliječnim farmama kao i na obiteljskim gospodarstvima. Njihovi podatci o broju pretraženih goveda iz karantenskih objekata jamče da tijekom promatranog razdoblja nismo uvezli niti jedno leukozno govedo.

Značenje ELG za ljude, odnosno utjecaj virusa ELG na životne i proizvodne kapacitete životinja trajno je izvor znanstvenih pokusa i istraživanja. Zoonotski potencijal virusa ELG naročito je proučavan tijekom 80-tih i 90-tih godina prošlog stoljeća, a u brojnim istraživanjima je dokazano da virus ELG, unatoč određenoj srodnosti s virusom AIDS-a i drugim onkogenim retrovirusima, ipak ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje (Madić i Cvetnić, 2000.).

Gospodarske se štete zbog leukoze goveda na mliječnim farmama očituju u gubitcima prilikom odbacivanja trupova s tumoroznim promjenama na liniji klanja, problemima u reprodukciji goveda te u troškovima nastalim izlučivanjem pozitivnih goveda u sklopu provedbe mjera suzbijanja i iskorjenjivanja bolesti. I dok se procjene utjecaja enzootske leukoze goveda na produkciju mlijeka i mliječne masti kreću od vrlo visokih postotaka (Woo i sur., 1989., Da i sur., 1993.) do mišljenja da je utjecaj na mliječnost neznatna (Brenner i sur., 1989.) prevladalo je mišljenje da infekcija virusom ELG zasigurno skraćuje životni vijek goveda te da bolest treba iskorijeniti iz stada (Burny i sur., 1985.).

Način suzbijanja i iskorjenjivanja ELG razlikuje se među europskim zemljama, ali i drugdje u svijetu. U osnovi postoje tri mogućnosti suzbijanja ELG: dijagnosticiranje i sprječavanje horizontalnog širenja, dijagnosticiranje i uvođenje mjera poboljšanja te dijagnosticiranje i uklanjanje životinja pozitivnih na virus ELG (Digiaco, 1992.).

Svaka zemlja na osnovi utvrđene, odnosno procijenjene prevalencije broja zaraženih goveda i broja zaraženih

stada, ali i na osnovi procjene troškova iskorjenjivanja daje smjernice za suzbijanja ELG.

Neke se zemlje Europske Unije (Belgija, Danska, Njemačka, Španjolska, Francuska, Irska, Nizozemska, Austrija, Švedska i Ujedinjeno Kraljevstvo) smatraju slobodnima od ELG, dok druge provode programe kojima bi postigle status „slobodnih od ELG“ (Nuotio, 2003.). Acaite i sur. (2007.) izvještavaju kako je seroprevalencija ELG u Litvi u razdoblju od 1990. do 2006. smanjena sa 7,29% na 0,32%, a Otachel-Hawranek (2007.) objavljuje rezultate iskorjenjivanja ELG u Donjoj Šleskoj, u Poljskoj, gdje se nakon uvođenja obveznog serološkog testiranja stada i uvođenja programa iskorjenjivanja u razdoblju od 1991. do 2004., broj pozitivnih stada sa 14606 (99,5%) smanjio na samo 70, odnosno na 0,5%.

O iskorjenjivanju ELG u Finskoj pišu Nuotio i sur. (2003.) koji se osvrću na 30-godišnji proces dijagnosticiranja i uklanjanja pozitivnih goveda na ELG metodom „test and slaughter“. U Finskoj je 1990. uvedena pretraga skupnih uzoraka mlijeka s mliječnih farmi i pretraga uzoraka krvnog seruma tovnihi goveda te ekonomsko iskorištavanje svih pozitivnih goveda. Uspjeh ove akcije potpomognut je financijskom potporom vlasnicima koji pristanu na klanje goveda koja su proglašena ili pozitivnim ili sumnjivim na ELG. Iako je Finska primijenila stroge mjere iskorjenjivanja ELG sam proces smatraju sporim. No, on može biti još sporiji ako se odaberu druge mjere iskorjenjivanja.

Izvješća iz Turske govore da su prvi klinički i patoanatomski slučajevi bili ustanovljeni na uvezenim visoko proizvodnim i selekcioniranim kravama holštajnske i švedske pasmine. Od tada se ELG proširila po cijeloj Turskoj i unazad desetak godina provode se istraživanja o prevalenciji zaraženih grla, o izboru metoda

za dokazivanje bolesti kao i o načinima iskorjenjivanja bolesti, zasada samo na regionalnoj osnovi (Tolga i sur., 2006.).

U zemljama s vrlo brojnom populacijom goveda, poput SAD-a, Argentine ili Japana nisu na državnoj razini donijete mjere za sustavno određivanje seroprevalencije na virus ELG, kao ni mjere za njezino iskorjenjivanje (Nagy, 2006., Monti i sur., 2005., Kobayashi i sur., 2010.). Zbog visoke prevalencije zaraženih jedinki u tim bi zemljama rutinska kontrola i iskorjenjivanje ELG bio veliki gospodarski trošak.

Nacionalni plan kontrole ELG u Japanu ne postoji, iako je po nekim izvješćima (Kobayashi i sur., 2010.) virus ELG prisutan na čak 79,1% mliječnih farmi na kojima je provedeno istraživanje. Na osnovi analize utjecaja različitih čimbenika držanja goveda na seroprevalenciju ELG, kao što su veličina stada, uvođenje novih grla u stado tijekom godine, tipovi držanja životinja, mogućnost ispaše, prisutnost muha ljeti, dekontaminacija, uporaba plastičnih rukavica za rektalnu palpaciju, uporaba igala za cijepljenje te hranjenje kolostrumom, autori zaključuju da bi se kontrola ELG na japanskim mliječnim farmama trebala provoditi nadzorom nad uvjetima držanja goveda, suzbijanjem muha ljeti, kontrolom dekontaminacije i kontrolom hranidbe kolostrumom. Iz najnovijeg rada japanskih znanstvenika (Matsumura i sur., 2011.) saznajemo da se u Japanu svake godine povećava broj zaraženih goveda virusom ELG.

S druge strane u SAD-u postoje programi nadzora ELG samo u nekim savezima, dok je u većini kontrola ELG na razini dobrovoljnih mjera (Nagy, 2006.). Kao rezultat toga u SAD-u je registrirano 44% mliječnih i 10% tovni goveda zaraženih virusom ELG.

U Južnoj Americi, u Argentini, kao isto tako ima snažnu stočarsku

proizvodnju na snazi je Nacionalni dobrovoljni kontrolni program, a prema izvješćima iz te zemlje samo 16% stada nije zaraženo virusom ELG. U pozitivnim stadima postotak zaraženih kreće se od 15 do 30% (Monti i sur., 2005.).

Iako prvi spomen o ELG u Hrvatskoj seže do 60-tih godina prošlog stoljeća, tek se osamdesetih godina uvođenjem prvih seroloških metoda započelo nešto ozbiljnije kontrolirati mliječna goveda na ELG. Prva serološka metoda koja se upotrebljavala od 1985. godine bila je imunodifuzija u gelu, a od 1990. počinje se upotrebljavati i imunoenzimski test i to pretragom krvnog i mliječnog seruma (Lojkić i sur., 1991.).

Prvi Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje enzootske leukoze goveda potječe iz 1988. godine („Službeni list SFRJ“, br. 39/88.), ali već nakon tri godine Republika Hrvatska donosi novi Pravilnik (NN 67/91.). Međutim, iako je u nazivu oba Pravilnika bio naveden pojam „iskorjenjivanje“ ni u jednom se pod tim pojmom nije podrazumijevalo klanje grla pozitivnih na ELG. U to doba, s današnjeg stanovišta, relativne gospodarske sigurnosti, umjesto klanja naređivalo se „izdvajanje oboljelih i na bolest sumnjivih goveda“. Status određene farme, odnosno proizvodne jedinice „slobodnom od ELG“ postizao se na temelju iste naredbe, a to je uključivalo serološke pretrage svih goveda na proizvodnoj jedinici sve dok dvjema uzastopnim serološkim pretragama, u razmaku od 3 mjeseca, sve životinje ne bi bile negativne na ELG. U to doba u laboratorijima u Hrvatskoj, a u nekima još i danas, bila je u uporabi serološka metoda imunodifuzije u gelu pa je u jednoj točki Pravilnika iz 1991. izričito naglašeno da se pretraživanje na ELG ne provodi 15 dana prije i 15 dana poslije teljenja te nakon primjene alergena i cjepiva. Na ovaj način date su jasne upute veterinarima na terenu što učiniti radi

sprječavanja dobivanja lažno negativnih rezultata, a zbog čega bi se vrijeme „iskorjenjivanja“ moglo produžiti i na taj način znatno povećati troškove testiranja svih goveda na farmi.

Godišnji nadzor nad mliječnim govedima s obzirom na ELG u Hrvatskoj određen je Naredbom o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju. Po Naredbama iz 2006. do 2009. obvezi serološke pretrage mlijeka podlijevale su sve mliječne krave starije od 24 mjeseca, a u dobi od šest do 24 mjeseca obvezi serološke pretrage krvi. Međutim, u radu Roić i sur. (2010.) vidljivo je da mlijeko, u četverogodišnjem prikazu rezultata, nije nikad bilo pozitivno ako je potjecalo od krava s obiteljskih gospodarstava, iako je i u njih istovremeno ELG bila prisutna. Ako je mlijeko potjecalo iz farmi mliječnih krava onda je u usporedbi s pregledima krvi čak 15 puta bilo rjeđe pozitivno nego uzorci krvi. Ovakav nalaz potvrđen je i vlastitim podacima za 2010. godinu, kada je usprkos izostanku obveze pretraživanja mlijeka po Naredbi, ipak pretraženo 279 uzoraka mlijeka i svi su bili negativni, a istovremeno su ustanovljena 143 leukozna goveda pretragom krvnog seruma (neobjavljeni podatci). Takvi rezultati pretraga mlijeka nisu očekivani i treba ih temeljito proanalizirati, jer je uzorak mlijeka za serološku pretragu jednostavnije uzeti od uzorka krvi (Mammerickx i sur., 1985.), a za pretragu mlijeka razvijeni su vrlo osjetljivi i specifični testovi (Florent i sur., 1988.). Razlozi za česte negativne rezultate pretraga skupnih uzoraka mlijeka mliječnih krava u hrvatskim stadima možemo tražiti u tumačenju da je postotak zaraženosti u našim farmama ispod 4-5% što nije dovoljno za dobivanje pouzdanih rezultata (Klintevall i sur., 1991.) ili je riječ u greškama pri uzorkovanju mlijeka za serološke pretrage.

Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje ELG donesen je 2006.

godine (NN 30/06.) i mjere kojima se želi postići status „uzgoj službeno slobodan od ELG“ bitno su postrožene, a vlasnici farmi izloženi novim okolnostima u procesu proizvodnje mlijeka.

Naime, prema odredbama tog Pravilnika određuje se da se sve krave pozitivne na ELG, kao i njihova telad, zakolju u roku od 30 dana od prispijeća nalaza, zabranjuje se uporaba i isporuka njihovog mlijeka (osim ako se termički obrađuje), zabranjuje se njihovo osjemenjivanje i pripust, zabranjuje se iznošenje hrane koja je bila u dodiru sa zaraženim i sumnjivim životinjama, zabranjuje se iznošenje stajskog gnoja i gnojnice s gospodarstva te uporaba zajedničkih napajališta. Kao i u drugim europskim državama, RH je osigurala naknadu za zaklane životinje, ali su poduzete mjere imale ekonomske posljedice za proizvođače mlijeka. Osim direktnog utjecaja na stočni fond i proizvedenu količinu mlijeka, pojavili su se i problemi u samom klanju goveda jer su klaonice nerado uzimale leukozne krave budući da njihovo klanje otežava svakodnevni rutinski posao, slijedom čega se postupak uklanjanja serološki pozitivnih goveda s farme znatno produžuje i poskupljuje.

Usprkos tome što je ovaj strogi Pravilnik stupio na snagu 1. siječnja 2007. u Hrvatskoj je na kraju 2007. godine zabilježeno oko 100 leukoznih goveda više nego 2006., a 2008. godine čak 475 leukoznih goveda više nego 2007. Tek 2009. godine broj leukoznih grla se smanjio, iako neznatno (za nešto manje od 80 u odnosu na 2008. godinu). Najveći broj serološki pozitivnih grla kroz cijeli promatrani period nađen je u Osječko-baranjskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji i to uglavnom na velikim mliječnim farmama. Na te su farme tijekom 80-tih godina prošlog stoljeća uvezene visokoproduktivne mliječne krave iz zemalja Zapadne Europe, SAD-a

i Kanade te se s vremenom postupno broj zaraženih povećavao. Slično se dogodilo i u nekim drugim europskim državama poput Bugarske (Sandev i sur., 2006.) ili Turske (Tolga i sur., 2006.). Kako je tada godišnje u Hrvatskoj bilo pretraženo samo oko 15 tisuća goveda (Lojkić i sur., 1991.), a promet nije bio strogo nadziran, broj se zaraženih krava povećao.

Početkom devedesetih, kada se većina europskih zemalja ozbiljno hvata u koštac s iskorjenjivanjem ELG, u Hrvatskoj počinje rat, a velike mliječne farme ostaju na okupiranom području. U prvom testiranju mliječnih krava s farmi iz Osječko-baranjske županije nakon oslobođanja i reintegracije okupiranih područja 1998. godine ustanovljena je prevalencija od 0,4 do 12%, odnosno tri od šest pretraženih farmi su bile pozitivne, a na sljedećem testiranju 2002. prevalencija je iznosila od 1,4% do 37%, tj. 2 od 5 farmi su bile pozitivne. Razlog velikog povećanja stope zaraženih uglavnom na jednoj farmi bio je u činjenici nakupljanja pozitivnih goveda s drugih farmi i njihovo zadržavanje u proizvodnji mlijeka. Međutim, iako je postupno uklanjanje serološki pozitivnih goveda s te farme započelo još 2003. kada je prevalencija pala na 22%, a 2004. na 6%, tek je 2009. prevalencija pala na 0,8%, a tijekom 2010. još je uvijek u tijeku bio postupak potvrđivanja statusa „stado službeno slobodno od ELG“. Ovako relativno dugotrajan postupak iskorjenjivanja ELG s velike mliječne farme nije bio izdvojen slučaj, jer smo slične podatke nalazili i kod drugih farmi u istočnoj Slavoniji gdje je iskorjenjivanje trajalo još dulje. Pri tome smo se susretali sa sličnim problemom kao i neke druge zemlje u kojima su se kontinuirano „pojavljivali novi slučajevi pozitivnih grla“ (Acatite i sur., 2007.). Uzrok toj pojavi nalazimo u mogućim greškama prilikom uzorkovanja krvi za pretraživanje te prilikom obilježavanja uzoraka kao i u nekoordiniranim

tehnološkim postupcima na farmi ili pak u ljudskom čimbeniku.

U Finskoj je postupak iskorjenjivanja trajao 30 godina, računajući od otkrivanja prvog leukoznog grla do dobivanja svih negativnih nalaza iz skupnih uzoraka mlijeka 1996. godine. Autor procjenjuje da bi druge opcije iskorjenjivanja bile manje skupe, ali bi iskorjenjivanje trajalo duže (Nuotio i sur., 2003.).

U zemlji koja se smatra „domovinom“ ELG Litvi, postupak iskorjenjivanja dokumentiran je 2007. godine (Acaite i sur., 2007.), a posljednji objavljeni podatci iz 2006. godine govore o 0,32% serološki pozitivnih. Postupak iskorjenjivanja trajao je također oko 30 godina, ali autori procjenjuju da je prevalencija unutar stada iznosila više od 80%. U drugim zemljama u okruženju, kao što su Švedska i Finska, postotak prevalencije nije iznosio više od 20% u Švedskoj (Emanuelson i sur., 1992.), odnosno 5% u Finskoj (Nuotio i sur., 2003.). Zato su u Litvi zajedničkim radom nacionalnog veterinarskog instituta, nadležnog ministarstva i veterinarske službe na terenu dodatno uloženi naponi kako bi se vlasnicima i svima ostalim zainteresiranim objasnila važnost prevencije i iskorjenjivanja ELG putem konferencija, radio i televizijskih emisija te edukacijom o dijagnosticiranju ELG imunodifuzjom u gelu i ELISA-om.

Pouzdana laboratorijska pretraga kao i kontinuirano unaprjeđenje metoda za dokaz protutijela na virus ELG, odnosno dokaz provirusne DNK virusa ELG u Hrvatskoj (Roić i sur., 2010.) jamac su da su naši laboratoriji dobro opremljeni i educirani kako bi uspješno zadovoljili zahtjeve postizanja statusa zemlje službeno slobodne od ELG te svrstali Hrvatsku uz bok europskim zemljama koje su već iskorijenile ELG.

No, prema svemu sudeći u Hrvatskoj još ne znamo konačno stanje o ELG u mliječnim stadima, iako prema rezultatima iz promatranog razdoblja

možemo pretpostaviti da prevalencija, osim u velikim farmama u Slavoniji i Baranji, uglavnom nije prelazila 5%. Za očekivati je da će najnovija akcija Ministarstva poljoprivrede u 2011. godini testiranjem svih goveda u svrhu stjecanja statusa stada službeno slobodnih od ELG, konačno dati objektivne podatke.

Sažetak

Enzootska leukoza goveda (ELG) trajno je prisutna u stadima mliječnih krava u Hrvatskoj. Nadzor nad ELG provodio se do 2011. godine redovitim godišnjim pretragama uzoraka krvnog seruma imunodifuzijom u gelu i imunoenzimnim testom te uzoraka mliječnog seruma imunoenzimnim testom u ovlaštenim državnim laboratorijima. U razdoblju od 2006. do 2010. u pet laboratorija Hrvatskog veterinarskog instituta pretražili smo 315786 uzoraka krvnog seruma, a u 2010. godini 279 uzoraka mliječnog seruma. Specifična protutijela za virus ELG-a dokazana su u 1979 mliječnih goveda. Prevalencija zaraženih goveda po farmi iznosila je od 0,06 do 0,33%. Najveći broj zaraženih goveda te najveći broj zaraženih mliječnih farmi i obiteljskih gospodarstava ustanovljen je u Osječko-baranjskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji. U radu se posebice razmatraju problemi suzbijanja i iskorjenjivanja ELG u Hrvatskoj.

Literatura

1. ACAITE, J., K. TAMOSIUNAS, J. LIKAUSKAS, J. MILIUS and J. SYTINSKII (2007): The eradication of enzootic bovine leukosis from Lithuania. *Prev. Vet. Med.* 82, 83-89.
2. BALIĆ, D. (2008): Humoralna i stanična imunost goveda prirodno inficiranih virusom enzootske leukoze. Znanstveni magistarski rad. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
3. BRENNER, J., M. VAN-HAAM, D. SAVIR and Z. TRAININ (1989): The implication of BLV infection in the productivity, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 22, 299-305.
4. BURNÝ, A., C. BRUCK, Y. CLEUTER, J. DESCHAMPS, D. GREGOIRE, J. GHYSDEAL, R. KETTMANN, M. MAMMERICKX and G. MARBAIX (1985): Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. *J. Vet. Res.* 52, 133-144.
5. CVETNIĆ, S. (1993): Serološki nalaz kod enzootske leukoze goveda. *Vet. stn.* 24, 365-366.
6. CVETNIĆ, S. (1997): Virusne bolesti životinja. HAZU-Školska knjiga, Zagreb, str. 424-435.
7. 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 Sci.* 90, 6538-6541.
8. DIGIACOMO, R. F. (1992): The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. *Vet. Med.* 87, 248-257.
9. EMANUELSON, U., K. SCHERLING and H. PETTERSON (1992): Relationship between herd bovine leukaemia virus infection and reproduction, disease incidence and productivity in Swedish dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 16, 121-131.
10. FLORENT, G., J. C. DELGOFFE and N. ZYGRAICH (1988): Detection of antibodies to bovine leukemia virus in bovine milk samples with an ELISA involving two monoclonal antibodies. *Vet. Microbiol.* 18, 89-93.
11. JOHNSON, R. and J. B. KANEENE (1992): Bovine leukemia virus and enzootic bovine leukosis. *Vet. Bull.* 62, 287-312.
12. KLINTEVALL, K., K. NÄSLUND, G. SVEDLUND, L. HAJDU, N. LINDE and B. KLINGEBORN (1991): Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *J. Virol. Methods* 33, 319-333.
13. KOBAYASHI, S., T. TSUTSUI, T. YAMAMOTO, Y. HAYAMA, K. KAMEYAMA, M. KONISHI and K. MURAKAMI (2010): Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *Vet. Res.* 6, 1-6.
14. LOJKIĆ, M. (2001): Enzootska leukoza goveda. MPŠRH: Tečaj: Bruceloza, tuberkuloza i enzootska leukoza goveda. Str. 121-135.
15. LOJKIĆ, M., D. SLADIĆ, S. ČAJAVEC, N. ERGOTIĆ i A. BLAŽEVIĆ (1991): Dijagnosticiranje enzootske leukoze goveda pretragom krvnog seruma i mlijeka. *Praxis vet.* 39, 293-299.
16. LOJKIĆ, M., Ž. ČAČ, L. JEMERŠIĆ, B. ROIĆ i I. LOJKIĆ (2000): Epizootološko stanje i mjere suzbijanja enzootske leukoze goveda. *Praxis vet.* 48, 151-161.
17. LUGOVIĆ, B., J. MADIĆ, M. LOJKIĆ i S. CVETNIĆ (1989): Upotreba ELISA s monoklonskim protutijelima za dijagnosticiranje enzootske leukoze goveda pretragom seruma i mlijeka. *Praxis vet.* 37, 8-14.
18. MADIĆ, J. i S. CVETNIĆ (2000): Životinjski retrovirusi i ljudsko zdravlje. *Praxis vet.* 48, 191-196.
19. MAES, S., U. TATSUFUMI, K. OHASHI, C. SUGIMOTO and M. ONUMA (2002): Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microbiol.* 84, 275-282.
20. MAMMERICKX, M. D., D. PORTETELLE and A. BURNÝ (1985): Application of an Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) involving monoclonal antibody for detection of BLV

- antibodies in individual or pooled bovine milk samples. *Zbl. Vet. Med.* B 32, 526-533.
21. MATSUMURA, K., E. INOUE, Y. OSAWA and K. OKAZAKI (2011): Molecular epidemiology of bovine leukemia virus associated with enzootic bovine leukosis in Japan. *Virus Res.* 155, 343-348.
 22. MONTI, G., R. SCHRIJVER and D. BEIER (2005): Genetic diversity and spread of bovine leukaemia virus isolates in Argentine dairy cattle. *Arch. Virol.* 150, 443-458.
 23. NAGY, D. W. (2006): Decreasing perinatal bovine leukosis virus infection in calves. Dissertation. The Faculty of the Graduate School, University of Missouri-Columbia. Columbia, USA.
 24. NUOTIO, L., H. RUSANEN, L. SIHVONEN and E. NEUVONEN (2003): Eradication of bovine leukosis from Finland. *Prev. Vet. Med.* 59, 43-49.
 25. OTACHEL-HAWRANEK, J. (2007): Eradication of enzootic bovine leukosis in dairy cattle from the Lower Silesia region. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 51, 465-469.
 26. PAVLJAK, I., M. LOJKIĆ, J. MADIĆ, D. MAJNARIĆ i B. BAČANEK (1997): Dijagnostičiranje enzootske leukoze goveda gel-difuzijskim precipitacijskim testom u steonih krava. *Zbornik radova Veterinarski dani 1997*, Cavtat. 115-119.
 27. ROIĆ, B., M. BRSTILO, A. JUNGIĆ i I. LOJKIĆ (2010): Rasprostranjenost leukoze goveda (ELG) u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2006. do 2009. godine. *Vet. strn.* 3, 211-219.
 28. SANDEV, N., D. ILIEVA, I. SIZOV, N. RUSENOVA and E. ILEV (2006): Prevalence of enzootic bovine leukosis in the Republic of Bulgaria in 1997-2004. *Vet. arhiv* 74, 263-268.
 29. STOEY, J. P., J. BLOMBERG, J. M. COFFIN, H. FAN, B. HAHN, J. NEIL, S. QUACKENBUSH, A. RETHWILM and M. TRISTEM (2012): Family *Retroviridae*. In: *Virus Taxonomy* (KING, A. M. K., M. J. ADAMS, E. B. CARSTENS, E. J. LEFKOWITZ, eds.), pp. 477-495.
 30. TOLGA, T. M., Y. YAKUP, E. NURAL and G. A. BURAK (2006): The seroprevalence of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) and bovine leukemia virus (BLV) in selected dairy cattle herds in Aydin province, Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30, 353-357.
 31. 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.

The results of epidemiological distribution studies of enzootic bovine leukosis in Croatia (2006-2011) with emphasis on the problems of control and eradication

Davor BALIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Marin PERIŠKIĆ, DVM, PhD, Scientific Associate, Mario ŠKRIVANKO, DVM, PhD, Scientific Associate, Marica LOLIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Marija AGIČIĆ, DVM, Assistant, Croatian Veterinary Institute, Veterinary department Vinkovci; Besi ROIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Ivana LOJKIĆ, BSc, PhD, Senior Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Tomislav KIŠ, DVM, Ivana LOHMAN JANKOVIĆ, DVM, Ministry of agriculture, Veterinary directorate, Josip MADIĆ, DVM, PhD, Academician, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb

BLV (bovine leukemia virus) has long been present in Croatian dairy herds, both in large herds and small family farms. Its presence has been recognized through serological tests of blood samples using agar gel immunodiffusion test (AGID) and enzyme-linked-immuno-sorbent assay (ELISA) and milk samples using ELISA in five official laboratories across Croatia, in line with the national regulations. Over a five year period (2006-2010), we tested 315786 blood samples and 279 samples of milk (in 2010 only). The

number of serological positive cattle was 1979. Prevalence of enzootic bovine leukosis in that period ranged from 0.06 to 0.33%. The highest number of infected cattle, BLV-positive large dairy herds and small family farms was found in two counties in eastern Croatia. The number of infected animals and the number of infected dairy farms and private farms and their distribution in Croatia are presented in this paper. Also, certain issues concerning the eradication process during the years are discussed.

Pozitivni i negativni učinci primjene antibiotika u konzerviranju hrane

Božica Solomun Kolanović i Nina Bilandžić



Uvod

Antibiotici su kemoterapeutici koji imaju široku primjenu u humanoj i veterinarskoj praksi. Djelovanje se antibiotika temelji na prirodnoj osjetljivosti mikroorganizama prema njihovom djelovanju. Vrlo brzo nakon primjene antibiotika u tretmanu infekcija pokazalo se zanimanje za primjenu antibiotika u konzerviranju hrane. Neki su se antibiotici poput tetraciklina i tilozina pokazali vrlo uspješnima u sprječavanju mikrobnog kvarenja prehrambenih proizvoda i sprječavanju rasta patogenih mikroorganizama u takvim proizvodima. Ekonomska korist od korištenja antibakterijskih tvari u konzerviranju hrane opravdava njihovu primjenu, međutim postoji rizik od zaostajanja farmakološki aktivnih tvari u prehrambenim proizvodima. Ostaci antibiotika u namirnicama mogu imati nepovoljno djelovanje na ljudsko zdravlje, uvjetovati rezistentnost ljudskog organizma, preosjetljivost na određeni antibiotik i velike ekonomske gubitke u mljekarskoj industriji. Zbog tih razloga nužna je kontrola prisutnosti antibiotičkih ostataka u namirnicama s ciljem zaštite zdravlja potrošača.

Primjena antibiotika u konzerviranju hrane

Konzerviranje namirnica je zajednički naziv za različite postupke kojima je cilj

da se u što većoj mjeri i tijekom što duljeg razdoblja očuva izvorna kakvoća neke namirnice, odnosno da se spriječi njezino kvarenje i degradacija (Lelas, 2006.). Svi se postupci za sprječavanje kvarenja namirnica mogu svrstati u četiri grupe (Herceg, 2009.):

1. postupci koji se baziraju na produženju životnih procesa svježih namirnica bilnog podrijetla; svode se na primjenu nižih temperatura i usporavanje biokemijskih promjena (konzerviranje hlađenjem)
2. princip abioze; metode konzerviranja namirnica u kojima se postiže uništenje ili izdvajanje mikroorganizama iz namirnica uz istodobnu zaštitu od naknadne kontaminacije (termička sterilizacija, primjena ultrazvuka)
3. princip anabioze; metode konzerviranja namirnica u kojima se smanjuje ili ograničava aktivnost mikroorganizama stvaranjem nepovoljnih uvjeta za njihov rast i razvoj (konzerviranje sušenjem, koncentriranjem, dodatkom prirodnih (šećer, kuhinjska sol, alkohol, vinski ocat) ili kemijskih konzervansa)
4. postupci kojima se mijenja sastav prisutne mikroflore; razvijaju se mikroorganizmi koji svojom aktivnošću poboljšavaju senzorska i prehrambena svojstva namirnica (npr. fermentirano povrće).

Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. inž. preh. tehnol., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. inž. biotehnol., znanstvena savjetnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

Kemijsko konzerviranje podrazumijeva primjenu malih količina umjetnih kemikalija, u tolikim koncentracijama da proizvode konzervirajući efekt, a nemaju nepovoljan utjecaj na ljudsko zdravlje. Postupci kemijskog konzerviranja uključuju konzerviranje rafiniranim kemikalijama, dimljenje, konzerviranje etanolom ili uobičajenim organskim kiselinama, konzerviranje primjenom antibiotika i fitoncida (Kyzlink, 1990.). Tretman kemijskim konzerviranjem nije nužno smrtonosan za sve održive mikroorganizme te se ovakav način konzerviranja naziva i kemoanabioza. Mehanizam djelovanja bazira se na oštećivanju stanične stijenke mikroorganizama ili ometanju enzimskih procesa važnih za izmjenu tvari (Herceg, 2009.).

Do 1955. godine, u primjeni antibiotika u konzerviranju hrane pojavile su se dvije glavne kategorije antibiotika: tetraciklinski antibiotici za primjenu u svježoj hrani te subtilin, nizin i tilozin za primjenu u procesuiranoj hrani poput sireva i kao nadopuna konzerviranju zagrijavanjem. Antibiotici se danas najčešće koriste prilikom pripreme namirnica životinjskog podrijetla, i to: intravenoznim injektiranjem životinjama prije klanja, miješanjem antibiotika s usitnjenim mesom, uranjanjem trupova očišćene peradi uotopine antibiotika i sl. (Gould 1989., Duraković, 1991.).

Kao prehrambeni konzervansi mogu se koristiti samo oni antibiotici koji su potpuno neškodljivi za ljude i koji se u prehrambenom lancu raspadaju u normalne komponente prehrane. Antibiotici kao prehrambeni konzervansi ne smiju utjecati na mikrofloru prehrambenog sustava, ne smiju biti primjenjivi u medicini te ne smiju utjecati na terapijska i ostala medicinska svojstva ostalih antibiotika. Osim toga, antibiotik ne smije lako poticati pojavu rezistentnih sojeva i ne smije se koristiti u hrani ako se koristi kao dodatak hrani za životinje. Sve to postavlja brojna

ograničenja kod odabira potencijalnog antibiotika kao konzervansa. Samo su nizin i natamicin sukladni odredbi FAO/WHO Expert Committee on Food Additives JEFCA (Stručno povjerenstvo za dodatke prehrani) (1981.) kada govorimo o izravnom dodatku antibiotika u hranu radi konzerviranja (Gould, 1989.).

Tetraciklini

Mehanizam djelovanja svih tetraciklinskih antibiotika je identičan. Zbog inhibicije bakterijske sinteze proteina putem asocijacije s 30S podjedinicom kromosoma posjeduju širok spektar aktivnosti. Oko 1950. godine Američka uprava za kontrolu hrane i lijekova (Food and Drug Administration, FDA) odobrila je primjenu klortetraciklina i oksitetraciklina za namakanje peradi pod uvjetom da razine u sirovom tkivu ne prelaze 7 mg/kg. U Kanadi i Japanu je također odobrena primjena klortetraciklina u tretmanu riba (Kyzlink, 1990.).

Opasnosti povezane s primjenom tetraciklina kao medicinski vrlo značajnih antibiotika bile su veće od njihove koristi od primjene u hrani te su ova odobrenja kasnije povučena (Gould, 1989.).

Subtilin i tilozin

Subtilin i tilozin su antibiotici međusobno slični po sastavu i učinku koji trenutno prolaze fazu tehnološkog ispitivanja i još nisu odobreni od strane WHO/FAO organizacija.

Subtilin je alkalni polipeptid kojeg proizvode odgovarajući sojevi *Bacillus subtilis*. Topljiv je u vodi, otporan na kiseli medij i visoke temperature, a dodan u količini od 10-20 mg/kg uspješno inhibira spore koje preživljavaju nedovoljnu toplinsku sterilizaciju u slabo kiseloj hrani. Također inhibira *Bacillus coagulans* u soku od rajčice i *B. stearothermophilus* u konzerviranom grašku i grahu (Kyzlink, 1990.). Iako se zbog svojstva

da prouzroče inhibiciju rasta endospora pokazao učinkovitim u toplinski procesuiranoj hrani, ni jedna država nije službeno odobrila njegovu primjenu u konzerviranju hrane (Gould, 1989.).

Tilozin je primjer makrolidne skupine antibiotika koji inhibiraju sintezu bakterijskih proteina vezanjem za 50S podjedinicu ribosoma, a proizvodi ga *Streptomyces fradiae*. Istraživanja (Denny i sur., 1961.) su pokazala da je tilozin dobar konzervans zbog dobre toplinske i skladišne stabilnosti i sposobnosti da inhibira izdanke klijajućih endospora. Stabilan je pri pH 5 i 7,5, čak i pri temperaturama od 100 °C (Gould, 1989., Kyzlink, 1990.). Tilozin napada endospore bakterija u fazi klijanja, a nastavlja svoje djelovanje do zadnje faze germinacije. Čak i u koncentracijama od 1 mg/kg učinkovit je protiv Gram-pozitivnih mikroorganizama, većine članova rodova *Bacillus* i *Clostridium*, osobito *B. stearothermophilus*, *B. coagulans* i *Cl. thermosaccharolyticum*. Istraživanja na sojevima *Cl. botulinum* A i B pokazala su da se ovi oblici također inhibiraju djelovanjem tilozin laktata dodanog u koncentraciji od 20 do 25 mg po kg steriliziranog mesa. Da bi se inhibirali članovi roda *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas* i *Salmonella* te kvasci i plijesni potrebno je dodati 100 mg/kg tilozina u medij (Kyzlink, 1990.). Tilozin se koristi u liječenju mikoplazmoze peradi ili sprječavanje prijenosa mikoplazma putem fertilnih jaja te u liječenju kolitisa. Koristi se i kao promotor rasta kod životinja namijenjenih za ljudsku prehranu (Gould, 1989.).

Natamicin (piramicin)

Natamicin pripada skupini polienskih antibiotika, a proizvodi ga *Streptomyces natalensis*. Izvrstan je inhibitor kvasaca i plijesni zahvaljujući vezanju za sterolne komponente stanične membrane, ali nije učinkovit protiv bakterija i virusa. Kada je prisutan u dovoljnoj koncentraciji

natamicin stvara pore u staničnoj membrani kvasaca i plijesni dovodeći do povećanog priljeva kalijevih iona i smrti stanice. Ponaša se fungistatički pri koncentracijama od 1-5 mg po kg hrane što je neovisno o pH vrijednosti i daje mu prednost u odnosu na većinu kemijskih konzervansa slabo kiselinskog tipa. Puno je učinkovitiji od primjerice sorbinske kiseline. Natamicin nije nepoželjan u hrani u kojoj se očekuje bakterijski inducirano zrenje. Primjenjuje se pretežito u obliku spreja ili kao komponenta kupke za namakanje za površinsku zaštitu mesnih proizvoda tijekom zrenja i skladištenja. Prikladan je i za površinsku zaštitu rajčica i voća poput jabuka, šljiva, grožđica i borovnica prije omekšavanja. Tako se primjerice jabuke tretiraju umakanjem u 0,4%-tnu disperznu otopinu. Za kontrolu rasta gljivica na jagodama i malinama potrebno je od 10-20 mg/kg natamicina, za razliku od nistatina kojeg je potrebno dodati i do 50 mg/kg da bi bio učinkovit. Budući da je natamicin vodi slabo topiv u kombinira se sa supstancama koje pospješuju njegovu disperzibilnost, poput laktoze kod mesnih proizvoda ili lecitina za hortikulturne proizvode. Ograničena mu je primjena u medicini i ne koristi se kao dodatak hrani za životinje. Pravilno primijenjen natamicin ne utječe na okus i miris hrane, higijenski je ispravan, a dopušten dnevni unos prema preporukama WHO/FAO iznosi oko 0,25 mg/kg tjelesne mase. Natamicin nestaje s proizvoda unutar nekoliko tjedana (Kyzlink, 1990.).

Ostali antibiotici

Osim navedena četiri antibiotika i drugi antibiotici su testirani u svrhu konzerviranja hrane, uključujući neomicin i viomicin koji se, doduše, nisu pokazali previše uspješnima. Teramicin (hidroksitetraciklin), aureomicin (klor-tetraciklin) i kloramfenikol (klormicetin) su uspješni u konzerviranju mesa, ribe

i peradi, a neki se koriste i kao dodatci hrani za životinje, međutim, većina tih antibiotika je našla primjenu u medicini pa se njihova prisutnost u hrani ne podudara s prethodno spomenutim zdravstvenim odredbama te bi njihovu upotrebu trebalo potpuno zabraniti.

Neki antibiotici gube svoju učinkovitost u hrani, jer podliježu enzimskoj razgradnji ili oksidaciji. Tijekom zagrijavanja hrane sredstvo se najčešće raspada. Nestabilnost je konzervansa osobito nepoželjna kada se očekuje dugotrajno djelovanje, ali je poželjna u slučaju kada je namijenjeno za period presterilizacije ili kada bi njegovo gutanje bilo nepoželjno.

Preporučljivo je kombinirati tretman antibiotika sa sterilizacijom zagrijavanjem, konzerviranjem zračenjem ili nekim drugim postupkom konzerviranja (Kyzlink, 1990.).

Negativni učinci antibiotika

Uporaba antibiotika u konzerviranju hrane ima vrlo oprečnih mišljenja, vezanih za zdravlje ljudi. 1976. godine Zajednički Stručni odbor FAO/WHO pokazao je neodobravanje primjene antibiotika kliničke važnosti prije svega iz razloga što primjena antibiotika (osobito tetraciklina i streptomcina) dovodi do pojave stečene otpornosti intestinalnih bakterija na antibiotike. Pritom razine mogu biti tako visoke da primjena antibiotika u terapijske svrhe više nije učinkovita. Osim toga, otpornost na jedan antibiotik, primjerice iz skupine tetraciklina, popraćena je otpornošću na druge antibiotike iz te skupine (Gould, 1989.).

Stalno unošenje antibiotika u ljudski organizam hranom osobito je opasno zbog njihove direktne toksičnosti, utjecaja na sastav crijevne mikroflore te mogućih alergijskih reakcija kod visoko osjetljivih pojedinaca. Otprilike pet do deset posto stanovništva je preosjetljivo na penicilin i pati od alergijskih reakcija (osip, astma, anafilaktički šok) pri koncentracijama

manjim od 1 µg/kg penicilina (Samaržija i Antunac, 2002., Pintiće i sur., 2006.). Neki antibiotici imaju toksične učinke, npr. streptomycin oštećuje sluh i bubrege dok primjerice kloramfenikol oštećuje jetru i koštano srž. Većina peroralnih antibiotika, a osobito beta-laktami, tetraciklini, fluorkinoloni i makrolidi prouzroče probavne poremećaje uključujući mučninu, bolove u želucu i proljev. U većini slučajeva nastanak dijareje nakon terapije antibioticima povezan je s kolonizacijom *Clostridium difficile* u gastrointestinalnom traktu, proizvodnjom toksina i razvojem tzv. pseudomembranskog kolitisa. Uporaba antibiotika destabilizira crijevu mikrofloru i može izmijeniti cjelovitost epitelne površine, narušiti apsorpciju i metabolizam hranjivih tvari i lijekova i doprinijeti razvoju rezistencije na različite infekcije. Narušavanje mikroflore uslijed terapije antibioticima povezano je s brojnim zdravstvenim rizicima. Najčešći negativan utjecaj je malapsorpcija karakterizirana simptomima celijakije, a javlja se kao posljedica terapije antibioticima širokog spektra koji postižu visoke intraluminalne koncentracije u relativno dugim periodima. Ovaj sindrom može primjerice izazvati neomicin kada se daje u dozi od 3-12 g dnevno. Antibiotici mogu utjecati i na metabolizam i apsorpciju vitamina (Levy, 2000.).

Osim u svrhu konzerviranja hrane, danas je vrlo raširena primjena antibiotika u uzgoju stoke u svrhu povećane iskoristivosti hranidbe, povećanja prirasta tjelesne mase i liječenja ili sprječavanja bolesti. I na taj način antibiotici mogu indirektno dospjeti u ljudsku prehranu u obliku rezidua, osobito u mesne i mliječne proizvode. Znanstvenici i zdravstvene službe već godinama upozoravaju na opasnost od razvoja rezistentnih patogena zbog primjene antibiotika u stočarstvu (Ross i sur., 2002.).

Primjena antibiotika u liječenju mastitisa krava isto tako stvara probleme prerađivačima mlijeka i potrošačima.

Nakon tretmana antibioticima, oni se mogu u mlijeku naći u dovoljnim koncentracijama da inhibiraju mljekarske starter kulture i prouzroče ekonomske gubitke industrijama fermentiranih mliječnih proizvoda i sireva (Pintić i sur., 2006.). Negativan učinak očituje se u smanjenom ili potpunom nedostatku mliječne kiseline u određenim fermentacijama. Jednako tako, prisutnost antibiotskih ostataka u mlijeku narušava sastav mikrobne mljekarske kulture koja je odgovorna za okus, miris i konzistenciju fermentiranih mlijeka. Posebno je važno naglasiti da prisutnost ostataka antibiotika u mlijeku probiotičkim fermentiranim proizvodima znatno umanjuje terapijsku vrijednost. Stoga je od bitne važnosti izbjeći prisutnost takvih rezidua u mlijeku kako bi se smanjili problemi u proizvodnji i spriječilo njihovo širenje do potrošača (Samaržija i Antunac, 2002., Pintić i sur., 2006.).

Primjena bakteriocina kao alternativnih sredstava kemijskom konzerviranju hrane

U suvremenim načinima procesiranja prehrambenih proizvoda postoji značajna nedoumica zbog istovremenog očekivanja potrošača da se namirnicama produži trajnost i sigurnost te da namirnice budu minimalno procesirane i bez kemijskih konzervansa. Kao posljedica toga, ponovno se javio interes za takozvane „zelene tehnologije“ uključujući nove pristupe minimalnog procesiranja i primjenu mikrobnih metabolita poput bakteriocina u svrhu biokonzerviranja (Ross i sur., 2002.).

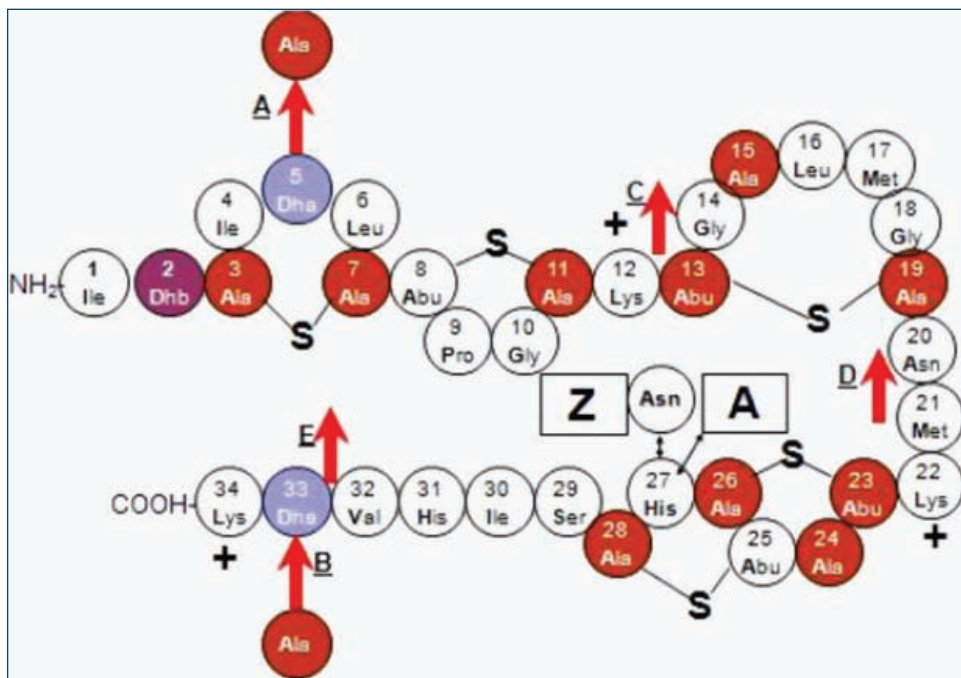
Bakterije mliječne kiseline imaju važnu ulogu u konzerviranju i mikrobiološkoj sigurnosti fermentirane hrane, unaprijedjući mikrobnustabilnost finalnih produkata fermentacije. Zaštitna uloga u hrani je rezultat proizvodnje

širokog raspona antimikrobnih tvari uključujući organske kiseline, ugljični dioksid, etanol, vodikov peroksid i diacetil, antifungalne komponente poput masnih kiselina i fenilaktata te bakteriocina i antibiotika kao što je reuterociklin (Ross i sur., 2002., Settanni i Corsetti, 2008.).

Bakteriocini se smatraju najprikladnijima alternativnim sredstvima kemijskom konzerviranju hrane jer su bezopasni za eukariotske stanice, obično su pH i toplinski tolerantni i brzo se probavljaju djelovanjem proteolitičkih enzima u probavnom sustavu. Iako pokazuju svojstva antibiotika, zahvaljujući tipičnim karakteristikama bakteriocine ne nazivamo antibioticima kako bi se izbjeglo miješanje s terapijskim antibioticima koji mogu prouzročiti pojavu alergijskih reakcija kod ljudi. Njihova sinteza i mehanizam djelovanja razlikuju ih od klasičnih kliničkih antibiotika. Osim toga, organizmi koji pokazuju otpornost na antibiotike uglavnom ne pokazuju unakrsnu otpornost prema bakteriocinima (Cleveland i sur., 2001., Settanni i Corsetti, 2008.).

Nizin

Zahvaljujući dugogodišnjoj primjeni nizina kao sigurnog bakteriocina i saznanjima o njegovoj netoksičnosti i nealergenskoj prirodi 1969. godine nizin je najpoznatiji i najviše istraživan bakteriocin. Akutne, subkronične i kronične toksikološke studije, kao i studije reproduktivnosti, *in vitro* i studije unakrsne rezistencije pokazale su da je nizin siguran za ljudsku uporabu u razinama prihvatljivog dnevnog unosa od 2,9 mg/osobi/danu (US FDA, 1988.). Stoga je prema odobrenju Svjetske zdravstvene organizacije (Food and Agriculture Organisation and World Health Organisation, FAO/WHO) nizin je ocijenjen sigurnim za primjenu u hrani te mu dodijelio GRAS status (Caplice i



Slika 1. Struktura nizina (Abdullah i sur., 2010.).

Fitzgerald, 1999.). Stručno povjerenstvo odobrilo je razinu od $3,3 \times 10^6$ jedinica/kg tjelesne težine, te je dopušten prihvatljiv dnevni unos (Acceptable Daily Intake, ADI) od $3,3 \times 10^4$ jedinica/kg tjelesne težine (Thomas i sur., 2000.). FAO/WHO odbor kodeksa o mlijeku i mliječnim proizvodima prihvatio je nizin kao prehrambeni aditiv u procesiranim sirevima u koncentraciji od 12,5 mg čistog nizina po kilogramu proizvoda. Nizin je jedini komercijalno korišten bakteriocin biokonzervans i dodan je u Europsku listu prehrambenih aditiva pod brojem E234 (Ross i sur., 2002.). Koristi se u više od 50 zemalja u posljednjih više od 60 godina u količinama od 10 mg do 250 mg/kg hrane ovisno o vrsti hrane (Abdullah i sur., 2010.). Ne koristi u medicini ili kao dodatak hrani za životinje (Gould, 1989., Kyzlink, 1990.).

Nizin je polipeptidna antimikrobna supstanca koju proizvode bakterije mliječne kiseline soja *L. lactis* subsp. *lactis* (Gould, 1989., Caplice i Fitzgerald, 1999.).

Strukturno je građen od petsulfidnih prstenovaine u običajenih aminokiselina kao što su lantionin (Lan) i β -metil lantionin (β -CH₃-Lan), dehidroalanin (Dha) i dehidrobutirin (Dhb) te je molekularne težine 3,5kD (Slika 1).

Nizin se prvi puta koristio za sprječavanje kvarenja švicarskog sira djelovanjem *Clostridium butyricum*. Inaktivira brojne Gram-pozitivne bakterije napadajući njihove živuće stanice te osobito spore oslabljene toplinskim tretmanom u fazi bubrenja. Nije učinkovit protiv dormantnih spora. Značajno inhibira brojne oblike vrsta *Bacillus* i *Clostridium*, kao i neke bakterije mliječne kiseline, ali neke ga i razgrađuju (npr. *Lactobacillus plantarum*) djelovanjem njihove nizinaze. Pokazao se najučinkovitijim inhibitorom termofilnih bacila i klostridija, poput *B. stearothermophilus* i *Cl. thermosaccharolyticum*, ali slabije inhibira mezofilne i halofilne spore. Ovo se odnosi i na *Cl. botulinum* i *B. coagulans*. Nije

učinkovit protiv gljiva i Gram-negativnih bakterija (Kyzlink, 1990.).

Do određenog stupnja nizin je dopušten za uporabu kao komponenta postupka konzerviranja svježeg i procesuiranog sira, dječje hrane, mesa, ribe, juha, tekućih jaja, mlijeka u prahu, mliječnih deserata i vrhnja (Gould, 1989.). Neke države dopuštaju njegovu uporabu u procesiranim proizvodima od rajčice i konzerviranom voću i povrću. Učinkovit je i za inhibiciju bakterijskog kvarenja tijekom fermentacije piva ili vina (Ross i sur., 2002.).

Najveća se učinkovitost postiže u hrani s visokim sadržajem kiselina jer se tijekom procesuiranja i skladištenja hrane zadržava topljivost i stabilnost (Gould, 1989., Caplice i Fitzgerald, 1999.). Nizin ne mijenja miris, okus i boju proizvoda, a zahvaljujući polipeptidnoj prirodi spontano i brzo se razgrađuje u probavnom sustavu.

Specifični mehanizam aktivnosti nizina nije sasvim razjašnjen. Prema studiji Reisinger i sur. (1980) nizin djeluje kao inhibitor sinteze stanične stijenke zbog oblikovanja kompleksa sa specifičnim pentapeptidnim međuproduktima biosinteze mureina. Budući da stanice sisavaca ne sadrže murein to se smatra uzrokom nedostatka toksičnosti nizina za ljude. Nedavne studije ipak pokazuju da je antimikrobni učinak nizina prije svega posljedica izravnih interakcija s fosfolipidnim komponentama citoplazmatske membrane koje dovode do smetnji u normalnim funkcijama membrane. Djeluje tako da reagira s vezujućom molekulom, lipidom II, koja je membranom omeđen prekursor u biosintezi stanične stijenke, stvarajući pore u staničnoj membrani osjetljivih bakterija (Ross i sur., 2002., Deegan i sur., 2006.).

Nizin djeluje tako da inhibira rast svih bakterijskih spora značajnih u kvarenju toplinski procesuirane hrane. Kada je nizin prisutan u hrani moguće je primijeniti slabiji toplinski tretman sterilizacijom

što također pospješuje kakvoću proizvoda. Hrana koja uopće ne podnosi zagrijavanje na visoke temperature teško se može proizvesti bez nizina, kao što je to primjer kod steriliziranih rajčica. Uvjetno sterilni konzervirani ili polukonzervirani proizvodi (šunka, riba, sirevi) imaju bolja skladišna svojstva kada sadrže nizin. Prema istraživanju Benkerroum i Sandine (1988.) nizin vrlo učinkovito inhibira patogenu bakteriju *Lysteria monocytogenes* u svježim sirevima. Dodatak soja *L. lactis* koji proizvodi nizin u starter kulturu za proizvodnju beznitrnog Gouda sira dovodi do sprječavanja rasta spora *C. tyrobutyricum* (Hugenholtz i de Veer, 1991.). Čisti nizin i mutanti *Leuconostoc mesenteroides* otporni na visoke koncentracije nizina korišteni su u istraživanju Harris i sur. (1992.) za produljenje heterolaktične fermentacije i odgodu homolaktične fermentacije kiselog kupusa. Uporaba nizina za konzerviranje hrane, naročito u konzerviranoj dječjoj hrani odobrena je od strane specijalista za higijenu zbog inhibicije nitrat reduktaze, jer se na taj način smanjuje opasnost od razvoja methemoglobinemije koja nastaje unosom povrća s prekomjernom količinom nitrata kao posljedice ishrane gnojivom na bazi dušika.

Za konzerviranje suhomesnatih proizvoda dugo su se vremena koristili nitriti za koje se međutim pokazalo da reagiraju s prirodno prisutnim sekundarnim aminima stvarajući N-nitrozaminske supstance. Brojni nitrozamini su kancerogeni i neki pokazuju mutagena, embriopatska i teratogena svojstva, a pronađeni su u šunki, slanini, hrenovkama, mortadeli i sličnim proizvodima. Stoga se danas mnogo istražuje mogućnost primjene nizina kao alternativnog sredstva nitritima u konzerviranju suhomesnatih proizvoda. Kada se u mesu primjenjuje samostalno nizin nije osobito učinkovit konzervans zbog međudjelovanja sa sastojcima mesa poput fosfolipida koji ometaju aktivnost nizina, osobito u slučaju

visokih razina masti (Caplice i Fitzgerald, 1999., Deegan i sur., 2006.). Istraživanja su pokazala da nizin potiče stabilnost pasterizirane šunke kontaminirane vrstom *Enterococcus faecium* (Houben i Krol, 1985.). Budući da su niske razine nitrita nužne za razvoj boje i arome mesnih proizvoda, studije pretežito istražuju primjenu konzerviranja kombinacijom nizina i nitrita. Primjerice, kombinacija nizina i nitrita u sprječavanju rasta spora *Clostridium sporogenes* u svinjskim emulzijama i odgađanju razvoja botulinum toksina u emulzijama pilećih hrenovki pokazala se učinkovitijom od odvojene primjene ovih sredstava. S druge strane, dodatak nizina u konzerviranju slanine pruža minimalnu zaštitu od razvoja botulinum toksina (Taylor i Somers, 1985.).

U posljednje vrijeme nizin se koristi i u fermentaciji voćnih kaša. U malim je destilerijama primjena nizina korisna kako bi se smanjila proizvodnja slabih rakija i povećao prinos alkohola (Gould, 1989.).

Nizin je najbolje primijeniti kao dodatnu zaštitu nekom drugom tretmanu konzerviranja kako bi se spriječio rast patogenih bakterija i bakterija kvarenja, naročito u situacijama gdje se kontaminacija pojavljuje nakon proizvodnje (Kyzlink, 1990., Deegan i sur., 2006.). Iako priroda stanične stijenke Gram-negativnih bakterija ograničava aktivnost nizina, u kombinaciji s drugim tretmanima poput visokog hidrostatskog tlaka, povećava se njegova učinkovitost. Permeabilnost Gram-negativnih bakterija može se povećati subletalnim oštećenjima poput onih koja nastaju kod primjene ultravisokog hidrostatskog tlaka i pulsirajućeg električnog polja kao netermičkih metoda konzerviranja hrane. Osim toga, učinkovitost nizina protiv Gram-negativnih bakterija može se povećati primjenom kelacijskih sredstava poput EDTA i citrata koji vežu ione magnezija u lipopolisaharidnom sloju membrane dovodeći do poremećaja

integriteta membrane dopuštajući pritom prodiranje nizina (Caplice i Fitzgerald, 1999., Deegan i sur., 2006.). Poznavanje mehanizma aktivnosti svakog individualnog postupka omogućuje primjenu one kombinacije tretmana s najvećim učinkom (Cleveland i sur., 2001.).

Reuterociklin

Reuterociklin je negativno nabijena, visoko hidrofobna tetramična kiselina koju proizvode sojevi *Lactobacillus reuteri*. Spektr njegovih inhibicija je ograničen na Gram-pozitivne bakterije uključujući vrste *Lactobacillus*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus* i *Listeria innocua*, a inhibira i *E. coli* i *Salmonella* pod uvjetima koji razaraju vanjsku membranu poput niskog pH i visokih koncentracija soli. Budući da je dobro poznato da nizin uništava Gram-negativne bakterije pod uvjetima koji razaraju vanjsku membranu, vjerojatno postoje sličnosti u mehanizmu aktivnosti nizina i reuterociklina (Caplice i Fitzgerald, 1999., Ross i sur., 2002.).

Lakticin 3147

Lakticin 3147 je bakteriocin širokog spektra djelovanja kojeg proizvode sojevi *Lactococcus lactis* prvotno izolirani iz irskih kefirnih zrna. Prouzroči nastajanje pora u ciljnim stanicama zbog čega dolazi do povećanog otpuštanja kalijevih iona i anorganskog fosfata. Ima širok spektar djelovanja na sve testirane Gram-pozitivne bakterije uključujući i prehrambene patogene poput *Listeria monocytogenes* i *S. aureus* te mikroorganizme kvarenja kao što je *Clostridium tyrobutyricum*. Za razliku od nizina, lakticin 3147 je učinkovit pri neutralnoj pH vrijednosti (Caplice i Fitzgerald, 1999., Ross i sur., 2002.).

Pediocin PA-1

Pediocinski bakteriocini su bakteriocini s antilisterijskim djelovanjem

koje proizvode vrste *Pediococcus*. Nisu učinkoviti protiv spora, ali u nekim namirnicama kao što je meso imaju veću aktivnost od nizina. Pediokoki su glavne starter kulture u nekim američkim vrstama fermentiranog mesa i vrlo su važni u fermentaciji brojnih vrsta povrća. Najbolji se rezultati postižu primjenom pediocina PA-1. Proizvodi ga *Pediococcus acidilactici* i trenutno smanjuje broj ciljnog organizma, međutim još nema odobrenje za primjenu kao prehranbenog aditiva. Pediocin PA-1 pruža zaštitu od kontaminacije svježeg i fermentiranog mesa vrstom *L. monocytogenes*. To je osobito učinkovito kada se primjenjuje u kombinaciji s pakiranjem u modificiranoj atmosferi (Deegan i sur., 2006). U studiji Goff i sur. (1996.) pediocin AcH (PA-1) uspješno je kontrolirao rast *L. monocytogenes* u svježoj piletni, pri čemu se maksimalna učinkovitost postigla primjenom bakteriocina prije kuhanja pileta.

Variacin

Variacin je bakteriocin kojeg proizvodi *Kocuria varians*, a primjenjuje se u proizvodnji fermentiranih sastojaka na bazi mlijeka, a osobito u zaštiti od *B. cereus* u ohlađenim mliječnim proizvodima, desertima od vanilije i čokolade (Deegan i sur., 2006.).

Kontrola ostataka antibiotika u namirnicama životinjskog podrijetla

Zbog štetnih utjecaja koje ostatci antibakterijskih tvari u namirnicama mogu imati na zdravlje ljudi u svakoj državi neophodna je kontrola njihove primjene. U Hrvatskoj odnosno Europskoj uniji kontrola se ostataka veterinarskih lijekova provodi u skladu sa zahtjevima Direktive Vijeća 96/23/EC (EC, 1996.) i Odluci Komisije 97/747/EC (EC, 1997.). Kontrola veterinarskih lijekova u proizvodima životinjskog

podrijetla namijenjenim prehrani ljudi prema najvećim dopuštenim količinama rezidua lijekova provodi se prema Uredbi 37/2010 o farmakološki aktivnim tvarima i njihovoj klasifikaciji o najvećim dopuštenim količinama rezidua u hrani životinjskog podrijetla (EC, 2010.).

Ostatci antibiotika određuju se brojnim testovima i metodama različite osjetljivosti koje mogu biti kvalitativne (mikrobiološki i imuno-enzimatski testovi) te kvantitativne (pojedini imuno-enzimatski testovi, plinska i tekućinska kromatografija). Osnovni cilj orijentacijskih metoda je brza analiza velikog broja uzoraka na prisutnost ostataka antibiotika. Penicilinski se i makrolidni antibiotici određuju mikrobiološkim inhibitornim testom. Orijentacijskim se enzimno-imuno analizama određuju lijekovi: kloramfenikol, sulfonamidi, tetraciklini, streptomycin, dihidroestreptomicin, enrofloxacin, flumequin, neomicin, tilozin, gentamicin i avermektini. Uzorci za koje postoji sumnja na pozitivan rezultat dalje se analiziraju kvantitativnom potvrdnom metodom koja omogućuje jasnu identifikaciju i kvantifikaciju analita. Suvremene potvrdne metode za analizu rezidua antibiotika su točne, selektivne, osjetljive, precizne, automatizirane i primjenjive na širok raspon analita i vrsta uzoraka te sposobne nedvosmisleno odrediti strukturu molekula (Stolker i sur., 2007.). U tu svrhu danas se najčešće koristi metoda tekućinske kromatografije s masenom detekcijom (LC-MS-MS) (Stolker i Brinkman, 2005., Solomun i sur., 2010., 2011.). U zadnjem desetljeću u laboratorijima koji provode analize rezidua antibiotika sve se više teži razvoju multirezidualnih metoda koje istovremeno uključuju analizu većeg broja tvari iz različitih skupina antibiotika, što predstavlja veliki izazov zbog nemogućnosti postizanja zahtijevanih razina osjetljivosti metode za svaki analit u jednoj analizi (Stolker i sur., 2008.).

Sažetak

Sve češće konzumiranje hrane koja sadrži kemijske konzervanse povećalo je zabrinutost potrošača koji sve više zahtijevaju da proizvedena hrana ima što prirodniji okus i boju te da rok trajanja omogućuje razuman period skladištenja prije konzumiranja. Na navedene je zahtjeve potrošača prehrambeno procesno inženjerstvo odgovorilo primjenom novih metoda procesiranja hrane koje su omogućile proizvodnju minimalno procesirane hrane, kao što su visoki hidrostatski tlak, pulsno električno polje, pulsirajuće svjetlo te bio-konzerviranje primjenom mikroorganizama i/ili njihovih metaboliata, osobito bakteriocina. Nizin je jedini komercijalno korišten bakteriocin i dodan je u Europsku listu prehrambenih aditiva pod brojem E234. Koristi se u više od 50 zemalja u posljednjih više od 60 godina. Drugi bakteriocini poput lakticina 3147, lakticina 481 i leukocina A pokazuju potencijal za primjenu u prirodnom konzerviranju namirnica i u svrhu poboljšanja okusa i arome proizvoda. U današnje je vrijeme uporaba antibiotika vrlo raširena zbog ekonomskih interesa proizvođača hrane. Posljedica je pojava ostataka antibakterijskih tvari u namirnicama koji naposljetku mogu imati nepovoljno djelovanje na ljudsko zdravlje, tehnološka svojstva i kakvoću mesa i mlijeka te mesnih i mliječnih proizvoda. Zbog tih razloga kontrola antibiotika ili njihovih tragova u namirnicama potrebna je kao jedna od temeljnih odrednica javnog zdravstva u službi očuvanja zdravlja ljudi. U laboratorijima Europske unije redovito se kontroliraju ostatci antibiotika u namirnicama životinjskog podrijetla s ciljem zaštite zdravlja potrošača.

Literatura

1. ABDULLAH, S. U., M. BADARUDDIN, R. ALI and M. N. RIAZ (2010): Effect of elementary and advanced glycation products of nisin on its preservative efficacy and digestibility. *Food Chem.* 122, 1043-1046.
2. BENKERROUM, N. and W. SANDINE (1988): Inhibitory action of nisin against *Listeria monocytogenes*. *J. Dairy Sci.* 71, 3237-3245.
3. CAPLICE, E. I. and G. F. FITZGERALD (1999): Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 50, 131-149.
4. CLEVELAND, J., MONTVILLE, T. J. NES, I. F. and M. L. CHIKINDAS (2001): Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 71, 1-20.
5. DEEGAN, L. H., P. D. COTTER, C. I. HILL and P. ROSS (2006): Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *Int. Dairy J.* 16, 1058-1071.
6. DENNY, C. B., L. E. SHARPE and C. W. BOHRER (1961): Effects of Tylosin and Nisin on Canned Food Spoilage Bacteria. *Appl. Microbiol.* 9, 108.
7. DURAKOVIĆ, S. (1991): Prehrambena mikrobiologija, Medicinska naklada, Zagreb, str. 183-198, 209-218.
8. EC (1996): Council Directive 96/23/EC of 29 of April 1996 on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing Directives 85/358/EEC and 86/469/EEC and Decisions 89/187/EEC and 91/664/EEC. *Off. J. Eur. Commun. L* 125, 10-32.
9. EC (1997): Commission Decision 97/747/EC of 27 October 1997 on fixing the levels and frequencies of sampling provided for by Council Directive 96/23/EC for the monitoring of certain substances and residues thereof in certain animal products. *Off. J. Eur. Commun. L* 303, 12-15.
10. EC (2010): Council Regulation 37/2010/EU of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off. J. Eur. Commun. L* 15, 1-72.
11. GOFF, J. H., A. K. BHUNIA and M. G. JOHNSON (1996): Complete inhibition of low levels of *Listeria monocytogenes* on refrigerated chicken meat with Pediocin AcH bound to heat-killed *Pedococcus acidilactici* cells. *J. Food Prot.* 59, 1187-1192.
12. GOULD, G. W. (1989): Mechanisms of action of food preservation procedures, Elsevier Appl. Sc., London and New York, 1-9, pp. 138-147, 316-323.
13. HARRIS, L. J., H. P. FLEMING and T. R. KLAENHAMMER (1992): Novel paired starter culture system for sauerkraut, consisting of a nisin-resistant *Leuconostoc mesenteroides* strain and a nisin-producing *Lactococcus lactis* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1484-1489.
14. HERCEG, Z. (2009): Procesi konzerviranja hrane - Novi postupci, Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb, str. 21-22.
15. HOUBEN, J. H. and B. KROL (1985): Controlling growth of *Streptococcus faecium* in a ham model with heat and ethylenediamine tetraacetic acid, tertiary butylhydroquinone or nisin. *Meat Sci.* 13, 205-215.
16. HUGENHOLTZ, J. and G. J. C. M. DE VEER (1991): Application of nisin A and nisin Z in dairy technology. JUNG, G., SAHL, H.-G. (eds.), Nisin and Novel Lantibiotics, ASCOM, Leiden, pp. 440-448.
17. KYZLINK, V. (1990): Developments in Food Science: Principles of food preservation, Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, pp. 242-245, 473-481, 508-512.
18. LELAS, V. (2006): Nove tehnike procesiranja hrane. *Mljekarstvo* 56, 311-330.

19. LEVY, J. (2000): The effects of antibiotic use on gastrointestinal function. *Am. J. Gastroenterol.* 95, 8-10.
20. PINTIĆ, N., A. DAKIĆ, D. STRUČIĆ, V. TOMŠE-ĐURANEC, T. JELEN i V. PINTIĆ (2006): Učestalost pojave antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku isporučenom na tržište. *Stočarstvo* 60, 83-95.
21. REISINGER, H., H. SEIDEL, P. TSCHESCHE and W. P. HAMMES (1980): The effect of nisin on murein synthesis. *Arch. Microbiol.* 127, 187-193.
22. ROSS, R. P., S. MORGAN and C. HILL (2002): Preservation and fermentation: past, present and future. *Int. J. Food Microbiol.* 79, 3-16.
23. SAMARŽIJA, D. i N. ANTUNAC (2002): Važnost dokazivanja prisutnosti antibiotskih ostataka u mlijeku. *Mljekarstvo* 52, 61-70.
24. SETTANNI, L. and A. CORSETTI (2008): Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.* 121, 123-138.
25. SOLOMUN, B., M. ĐOKIĆ, N. BILANDŽIĆ, I. VARENINA, M. SEDAK i Z. KNEŽEVIĆ (2010): Kromatografske metode za određivanje antibiotika u hrani životinjskog podrijetla. *Vet. stn.* 41, 509-519.
26. SOLOMUN, B., M. ĐOKIĆ, N. BILANDŽIĆ, I. VARENINA, M. SEDAK i Z. KNEŽEVIĆ (2011): Kromatografske metode za određivanje antibiotika u hrani životinjskog podrijetla - II dio. *Vet. stn.* 42, 25-37.
27. STOLKER, A. A. M. and U. A. Th. BRINKMAN (2005): Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals - a review. *J. Chromatogr. A* 1067, 15-53.
28. STOLKER, A. A. M., T. DEMA and M. W. F. NIELEN (2007): Residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents. *Trends Anal. Chem.* 26, 967-979.
29. STOLKER, A. A. M., P. RUTGERS, E. OOSTERINK, J. J. P. LASAROMS, R. J. B. PETERS, J. A. VAN RHIJN and M. W. F. NIELEN (2008): Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC-ToF-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 2309-2322.
30. THOMAS, L. V., M. R. CLARKSON and J. DELVES-BROUGHTON (2000): In A. S. NAIDU (ed.), *Natural food antimicrobial systems* (pp. 463-524). Florida, Boca Raton: CRC Press.
31. TAYLOR, S. and E. SOMERS (1985): Evaluation of the antibacterial effectiveness of nisin in bacon. *J. Food Protect.* 48, 949-952.
32. US FDA (1988): US Food and Drug Administration, Nisin Preparation: Affirmation of GRAS status as direct human food ingredient. *Federal Register*. 53, April 6.

Positive and negative effects of antibiotics in food preservation

Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Food Biotech. Eng., Nina BILANDŽIĆ, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute Zagreb

The consumption of foods containing chemical preservatives has increased the concern of consumers who demand that food products have a more natural flavor and colour, and that the shelf life includes a reasonable period of storage before consumption. Food process engineering has responded to these consumer demands by applying new methods of food processing that enable the production of foods that have been minimally processed, with techniques such as high hydrostatic pressure, pulsed electric field, pulsed light and biopreservation using microorganisms and/or their metabolites, especially bacteriocins. Nisin is the only commercially used bacteriocin and was added to the European list of food additives under number E234. It has been used in more than 50 countries for more than 60 years. Other bacteriocins such as

lactacin 3147, lactacin 481 and leucocin A show potential for use in natural food preservation, to improve the taste and aroma of the product. Nowadays, the use of antibiotics is widespread due to the economic interests of food producers. The consequence is the appearance of residues of antibacterial substances in foods that may ultimately have an adverse effect on human health, the technological characteristics and quality of meat and milk, and meat and dairy products. For these reasons, control of antibiotics or their traces in food is one of the main public health determinants in the service of protecting human health. Antibiotic residues in foods of animal origin are regularly tested in the laboratories of the European Union for the purpose of protecting consumer health.



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 *Trichoectes 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.

Slobodni radikali, oksidacijski stres i parazitarne bolesti

Iva Ljubičić, Lada Radin, Ivona Žura Žaja, Jadranka Pejaković Hlede i Suzana Milinković-Tur



Uvod

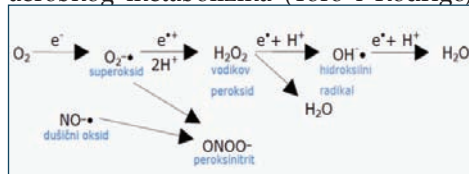
Kisik je neophodan za život aerobnih organizama, a održavanje ravnoteže oksidativno antioksidativnog sustava preduvjet je za normalo funkcioniranje stanica, tkiva i organa. U fiziološkim se uvjetima u procesima staničnog disanja (oksidativna fosforilacija) odvija oksidacija hranjivih sastojaka uz stvaranje vode i velike količine energije potrebne za održavanje životnih funkcija (Karlson, 1993.). Tijekom staničnog disanja, na unutarnjoj membrani mitohondrija, molekulski se kisik procesom oksidativne fosforilacije reducira do vode, a kao međuproizvod oslobađa se mala, ali znatna količina reaktivnih spojeva - slobodnih radikala. Slobodni radikali su čestice s jednim ili više nesparenih elektrona u vanjskoj ljusci što ih čini iznimno reaktivnim i nisko specifičnim za reaktante (Bender, 2009.). Zbog toga se slobodni radikali brzo i nepredvidivo spajaju s bilo kojom prostorno bliskom molekulom, a ukoliko reagiraju s biološki značajnim molekulama kao što su: bjelancevine, masti, ugljikohidrati ili nukleinske kiseline mogu dovesti do njihovog oštećenja. Međutim, osim izravnog djelovanja na biološke molekule, slobodni radikali se mogu oksidoredukcijskim reakcijama prevesti u još agresivnije oblike (Slika 1.). Tada mogu nastati novi radikali s mogućnošću pokretanja novog niza neenzimskih lančanih reakcija (Evans i Halliwell, 2001.).

Najjednostavniji slobodni radikal je atom vodika ($\cdot\text{H}$) koji ima samo jedan

elektron te je prema tome nesparen. Osim atoma vodika, biokemijski su najznačajniji tzv. reaktivni oblici kisika (engl. reactive oxygen species, ROS), što je zajednički naziv za radikale kisika i njegove reaktivne neradikalne derivate: superoksidni anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidroksilni radikal ($\text{HO}^{\cdot}$), perhidroksilni radikal ($\text{HO}_2^{\cdot}$), peroksilni i aloksilni radikal ($\text{RO}_2^{\cdot}$, $\text{RO}^{\cdot}$), triklormetil ($\text{CCl}_3^{\cdot}$), vodikov peroksid (H_2O_2), ozon (O_3), singletni kisik ($^1\text{O}_2$) i hipokloritna kiselina (HOCl).

Osim ROS, važni su i tzv. reaktivni dušikovi spojevi (engl. reactive nitrogen species, RNS) u koje se ubrajaju: dušikov oksid ($\text{NO}^{\cdot}$), dušikov dioksid ($\text{NO}_2^{\cdot}$), nitratna kiselina (HNO_3) i peroksinitrit (ONOO^-) (McCord, 2000.). Dušikov oksid nastaje *in vivo* iz aminokiseline L-arginin, a dušikov dioksid nastaje kada $\text{NO}^{\cdot}$ reagira s O_2 . Peroksilni i aloksilni radikali nastaju tijekom razgradnje organskih peroksida i reakcijom ugljikova radikala s O_2 .

Neprekidno stvaranje slobodnih radikala normalna je posljedica aerobnog metabolizma (Toro i Rodrigo,



Slika 1. Put redukcije kisika i nastanka slobodnih radikala (Šverko, 2011.)

Iva LJUBIČIĆ, univ. mag. med. vet., predavačica, Veleučilište „Marko Marulić“, Knin; dr. sc. Lada RADIN, dr. med. vet., asistentica, Ivona ŽURA ŽAJA, dr. med. vet., znanstvena novakinja-asistentica, Jadranka PEJAKOVIĆ HLEDE, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Suzana MILINKOVIĆ-TUR, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb

2009.), a razina slobodnih radikala pod neprekidnim je nadzorom antioksidacijskih zaštitnih mehanizama, kojima se nastoji održati homeostaza oksidacijsko/antioksidacijskih procesa. Ukoliko se ravnoteža poremeti u korist oksidacijskog stanja, odnosno oksidacijski procesi prevladaju antioksidativne sposobnosti kao posljedica smanjene antioksidacijske zaštite organizma i/ili pojačanog stvaranja slobodnih radikala nastaje tzv. oksidacijski stres (Sies i Jones, 2007.). Oksidacijski se stres može definirati i kao oštećenje tkiva uvjetovano poremećajem ravnoteže oksidacijsko/antioksidacijskog sustava (Sies, 1997.), odnosno redoks potencijala i redoks signalizacije (Sies i Jones, 2007.).

Uloga slobodnih radikala u fiziološkim procesima

Slobodni radikali imaju „dva lica“, jer osim što imaju neprijepornu važnost u mnogobrojnim fiziološkim procesima u organizmu, u patološkim su (višim) koncentracijama vrlo štetni jer se tada očituju njihovi toksični učinci (Fang i sur., 2002.). Niske razine slobodnih radikala nastaju u fiziološkim uvjetima tijekom staničnog disanja u mitohondrijima, fagocitoze, metabolizma arahidonske kiseline, ovulacije i oplodnje (Singh i sur., 2004.). U niskim su koncentracijama korisni jer sudjeluju u unutarstaničnoj i međustaničnoj signalizaciji, diferencijaciji i genskoj proliferaciji, apoptozi, uklanjanju oštećenih stanica te regulaciji tonusa krvnih žila, odnosno krvnoga tlaka (Ignarro i sur., 1999.). Sudjeluju i u nespecifičnom citotoksičnom mehanizmu fagocitoze pri kojem monocitni makrofagi i neutrofilni proizvodnjom superoksidnih radikala tzv. „oksidacijskim praskom“ dovode do citolize ciljane stanice (Dean, 1987., Matés i Sánchez-Jiménez, 1999., Dröge, 2002., Halliwell, 2006., Sorci i Faivre, 2009.) te sudjeluju u eritropoezi, sazrijevanju oocita i metabolizmu prostaglandina (Celi, 2011.).

Štetno djelovanje slobodnih radikala na biološke molekule

Upravo svojstvom prekomjernog stvaranja slobodnih radikala, kisik očituje svoju toksičnost u patofiziološkim stanjima (Sies, 1997., Matés i Sánchez-Jiménez, 1999.). Posljedica suviška, produženog i/ili snažnog djelovanja slobodnih radikala te nedovoljne učinkovitosti staničnih antioksidacijskih mehanizama za njihovu neutralizaciju, je oksidacijska neravnoteža i nastajanje oksidacijskog stresa. Poznato je da ROS/RNS pokreću proces oksidacije masti i bjelancevina, oksidaciju DNK i modulaciju gena, a u konačnici, svojim djelovanjem izazivaju ili inhibiraju proliferaciju stanica te staničnu smrt (Evans i Halliwell, 2001.). Posljedice oksidacijskih oštećenja biomolekula su promjene propusnosti staničnih membrana, poremetnje stanične signalizacije, ekspresije gena i replikacije proteina.

Lipidna je peroksidacija (engl. lipid peroxidation, LPO) složena lančana reakcija oksidacije masti potaknuta ROS-om i RNS-om (Esterbauer i sur., 1991.). Zahvaća stanične membrane, lipoproteine i druge molekule te dovodi do stvaranja primarnih visokoreaktivnih intermedijera (alkil radikala, konjugiranih diena, peroksi i alkoksi radikala te lipidnih hidroperoksida). Daljnjom razgradnjom nastaju sekundarni proizvodi lipidne peroksidacije: kratkolančani hlapljivi ugljikovodici, aldehidi te krajnji proizvodi lipidne peroksidacije; izoprostani, malondialdehid (MDA), 4-hidroksi-2,3-transnonenali i 4,5-dihidroksidecenali. Jednom pokrenuta, reakcija lipidne peroksidacije se autokatalitički nastavlja i ima progresivan tijek, a odvija se u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija. Oksidacijskom djelovanju slobodnih radikala najčešće su izloženi lipidi u staničnim membranama (fosfolipidi, glikolipidi i kolesterol). Višestruko nezasićene masne kiseline

(engl. polyunsaturated fatty acid, PUFA), koje su sastavni dio fosfolipida i glikolipida, izrazito su osjetljive na oksidaciju i predstavljaju osnovni supstrat oksidacijskog oštećenja lipida, a osjetljivost im raste s brojem dvostrukih veza po molekuli masnih kiselina (Catalá, 2006., Catalá, 2010.). PUFA imaju ulogu u brojnim staničnim funkcijama, sudjeluju u opskrbi stanica energijom, grade biološke membrane i utječu na njihovu selektivnu propusnost (Catalá, 2009.) te sudjeluju u staničnoj signalizaciji i regulaciji ekspresije gena (Catalá, 2006.). Intenzivna lipidna peroksidacija narušava funkcije i cjelovitost bioloških membrana, te dovodi do gubitka fluidnosti i povećanja propusnosti membrane za vodikove i druge ione, inaktivacije membranskih enzima, smanjenja vrijednosti membranskog potencijala te nastanka konačnih reaktivnih proizvoda lipidne peroksidacije: 4-hidroksi-2-heksanal, heksanal, MDA i 4-hidroksi-2-nonenal (Catalá, 2006., Bender, 2009., Catalá, 2010.). Premda su ovi aldehidi jako reaktivni, za razliku od ROS-a, oni tvore relativno stabilne konjugate s bjelančevinama i DNK, zbog čega su postojaniji u tkivu, a oštećenja stanica su veća (Uchida, 2003.). Poznati su još i kao „drugi glasnici slobodnih radikala“ jer mogu nastaviti ili pojačati početna oksidacijska oštećenja (Esterbauer i sur., 1991.), nakupljati se ili čak napustiti mjesto nastanka te djelovati na biološke molekule i njihov metabolizam na udaljenim mjestima (Catalá, 2006.).

Oksidacija se bjelančevina očituje promjenama njihove primarne, sekundarne i tercijarne strukture. Slobodni radikali dovode do oksidacije aminoterminalnog ostatka, formiranja unakrsnih veza između bjelančevina, oksidacije okosnice polipeptidnog lanca što rezultira fragmentacijom bjelančevina te promjenama enzimske aktivnosti i ionskog transporta (Davies, 2003.). Slobodni radikali inaktiviraju enzime time što reagiraju s njihovim aktivnim

sulfhidrilnim skupinama, oksidiraju neke aminokiseline ili kidaju peptidne veze. Na oksidaciju su osobito osjetljive aminokiseline metionin i cistein, čiji ogranci sadrže atom sumpora (Berlett i Stadtman, 1997.).

Slobodni radikali mogu prouzročiti oksidacijska oštećenja nukleinskih kiselina, disocirajući šećerne komponente, modificirajući purinske i pirimidinske baze i kidajući prstenove. Na djelovanje •OH posebno je osjetljiva C4-C5 dvostruka veza u pirimidinu te nastaju proizvodi oksidacijskih oštećenja pirimidina, kao što su: tijamin glikol, uracil glikol, rezidue ureje, 5-hidroksideoksiuridin, 5-hidroksideoksicidin, hidantoin i drugi. Isto tako, interakcijom •OH s purinima stvaraju se 8-hidroksideoksigvanozin, 8-hidroksideoksiadenozin i formamidopirimidin (Devasagayam i sur., 2004.). Dok promjene nastale djelovanjem slobodnih radikala na bjelančevine i masti mogu biti uklonjene i zamijenjene, oštećenja DNK moraju biti popravljena. Oštećenja DNK mogu, ali ne moraju dovesti do mutacije da bi imala potencijalno štetne posljedice za stanicu (Evans i sur., 2004.). Poglavito je na oksidacijska oštećenja osjetljiva mitohondrijska DNK (mtDNK), zbog nedostatka histona, u usporedbi s jezgri DNK (Richter i sur., 1988., Yakes i Houten, 1997.). Posljedice štetnog učinka slobodnih radikala na DNK su pogreške pri translaciji, inhibicija sinteze bjelančevina, mutacije i kancerogeneza. Poznato je da mutacije mtDNK narušavaju tok respiracijskog lanca i/ili mitohondrijsku sintezu ATP-a, odnosno narušavaju membranski potencijal i redoks status reaktanata u respiracijskom lancu (Krajčovičová-Kudláčková i sur., 2006., Racheck i sur., 2006., Szczepanowska i sur., 2012.).

Mehanizmi obrane od štetnog djelovanja slobodnih radikala

U aerobnih je organizama izloženost oksidansima rezultirala razvojem čita-

vog niza obrambenih mehanizama za uklanjanje slobodnih radikala i/ili sprječavanje njihove proizvodnje. Antioksidacijski obrambeni mehanizmi štite stanice tako što sprječavaju nastanak slobodnih radikala, poništavaju njihovo djelovanje, odnosno saniraju oštećenja nastala djelovanjem slobodnih radikala (Ratnam i sur., 2006.). Antioksidacijski obrambeni mehanizmi mogu biti endogenog i egzogenog podrijetla, odnosno enzimске i neenzimске prirode (Slika 2.). Najdjelotvorniji antioksidacijski enzimi obuhvaćaju primarne enzime kao što su: superoksid dismutaza (engl. superoxide dismutase, SOD), glutation peroksidaza (engl. glutathione peroxidase, GSH-Px) i katalaza (engl. catalase, CAT). Primarni su enzimi uključeni u direktno uklanjanje reaktivnih kisikovih oblika (Tabela 1.), za što su im potrebni mikronutrijenti (selen, željezo, bakar, cink i magnezij) kao kofaktori.

U „prvu liniju obrane“ zaštitnog antioksidacijskog sustava ubraja se metaloenzim superoksid dismutaza. Superoksid dismutaza (SOD, EC 1.15.1.1) štiti stanice od slobodnih radikala obrambenim mehanizmom koji uključuje katalizu reakcije dismutacije visokoreaktivnog superoksidnog radikala ($O_2^{\cdot-}$), prvog proizvoda jednovalentne redukcije molekule kisika i izvora spojeva reaktivnijih od njega samog, u manje reaktivni vodikov peroksid (H_2O_2) i molekulu kisika (McCord i Fridovich, 1969.). U organizmu su prisutna tri

oblika SOD-a, koji se razlikuju prema lokalizaciji i metalnom ionu koji sadrže. Tako se bakar-cink superoksid dismutaza (Cu/Zn-SOD) najvećim dijelom nalazi u citoplazmi, a manjim dijelom u lizosomima, peroksisomima, jezgri i prostoru između vanjske i unutarnje membrane mitohondrija (Halliwell i Gutteridge, 1999.), manganska superoksid dismutaza (Mn-SOD), čija aktivnost ovisi o vrsti životinje i o broju mitohondrija u pojedinom tkivu, nalazi se samo u mitohondrijima (Weisiger i Fridovich, 1973.), dok se izvan stanice nalazi ekstracelularna SOD (ECSOD) (Young i Woodside, 2001.). Ovakvom raspodjelom SOD-a unutar i izvan stanice omogućeno je brzo i djelotvorno uklanjanje superoksidnog radikala i sprječavanje nastanka oksidacijskih oštećenja. Na djelovanje SOD-a nadovezuje se aktivnost enzima glutation peroksidaza i katalaze (Fang i sur., 2002.).

Glutation peroksidaza (GSH-Px, EC 1.11.1.9) se ubraja u selenoenzime, budući da u svom aktivnom centru sadrži atom Se, čija je količina istodobno faktor regulacije aktivnosti spomenutog enzima. Glutation peroksidaza je enzim koji katalizira redukciju H_2O_2 i organskih hidroperoksida u prisutnosti reduciranog oblika glutathiona (GSH) koji služi kao donor vodika prema reakciji: $2GSH + H_2O_2 (ROOH) \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$ (Matés i Sánchez-Jiménez, 1999.). Tijekom ove reakcije nastaju dva proizvoda, voda i glutation-disulfid (GSSG). Pomoću

Tabela 1. Funkcionalne karakteristike antioksidacijskih enzima (Toro i Rodrigo, 2009.)

Antioksidacijski enzim	Kemijski naziv	Supstrat	Opće osobine
GSH-Px	Glutation peroksidaza	H_2O_2	• glavni endogeni antioksidans • katalizira pretvorbu H_2O_2 i organskih peroksida u vodu i alkohol
SOD	Superoksid dismutaza	$O_2^{\cdot-}$	• katalizira pretvorbu $O_2^{\cdot-}$ u O_2 i manje reaktivan spoj H_2O_2 • oslobađa biološki aktivan NO • štiti NO od inaktivacije
CAT	Katalaza	H_2O_2	• katalizira razgradnju H_2O_2 na H_2O i O_2

NADPH i glutation reduktaze GSSG se ponovno reducira u glutation (GSH) i time se krug zatvara (Weisburger, 1997.). Iako su GSH-Px sveprisutne, razina pojedinih izoenzima ovisi o vrsti tkiva (Matés i sur., 1999.) te je tako najprisutnija u jetri i bubrezima, u umjerenoj količini prisutna je u srcu, plućima i mozgu, a u malim količinama prisutna je u mišićima. Glutation peroksidaza pripada skupini enzima, a do danas je identificirano sedam izoenzima GSH-Px i to: citosolna (cGSH-Px ili GSH-Px1), gastrointestinalna (GI-GSH-Px ili GSH-Px2), plazmatska (pGSH-Px ili GSH-Px3), fosfolipid-hidroperoksidna (PH-GSH-Px ili GSH-Px4) te glutation peroksidaze GSH-Px5 i GSH-Px6 (Imai i Nakagawa, 2003., Jurković i sur., 2008.). Različiti oblici glutation peroksidaza pružaju antioksidacijsku zaštitu stanicama u različitim dijelovima organizma, nadopunjujući se s drugim selenoproteinima kao i brojnim drugim sastavnicama antioksidacijskog sustava. Sigurno uklanjanje vodikovog peroksida omogućuje zajedničko djelovanje glutation peroksidaza i katalaze. No, dok je glutation peroksidazi potreban donor vodika, katalaza neposredno uklanja vodikov peroksid (Aebi, 1984.).

Katalaza (CAT, EC 1.11.1.6) je enzim molekulske mase 240 kDa, sastavljena je od četiri istovjetne podjedinice od kojih svaka sadrži atom željeza koji predstavlja aktivno mjesto enzima. Poznata su tri izoenzimski oblika (A, B, C) koji nastaju posttranslacijskom modifikacijom ishodišnog proteina. Osnovna uloga katalaze je razgradnja vodikovog peroksida putem katalaznog ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) i/ili peroksidaznog oblika reakcije ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{RH}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{R}$), gdje je R bilo koji od brojnih H-donirajućih supstrata kao što su: etanol, metanol i nitrit (Young i Woodside, 2001., Fang i sur., 2002.). Katalaza je jedan od najrasprostranjenijih enzima u prirodi koji je prisutan gotovo u svim tkivima sisavaca. Visokom katalaznom aktivnošću osobito se ističu jetra i eritrociti, a niskom mozak, srčani i

skeletni mišići, slezena i spermiji. Unutar stanice se katalaza nalazi najviše u peroksisomima, dok se u mitohondrijima nalazi u vrlo malim količinama ili je uopće nema (Ravindranath i Reed, 1990.). Katalaza uklanja vodikov peroksid nastao u peroksisomima, a onaj nastao u mitohondrijima, endoplazmatskoj mrežici i citoplazmi uklanja GSH-Px (Halliwell i Gutteridge, 1999.). Nadalje, značajno je napomenuti da GSH-Px ima glavnu ulogu u odstranjivanju malih (fizioloških) količina H_2O_2 , dok CAT očituje svoju aktivnost isključivo pri većim koncentracijama H_2O_2 , što govori da je katalaza odgovorna za razgradnju peroksida za vrijeme oksidacijskog stresa.

Sekundarni enzimi (glutation reduktaza, glukoza-6-fosfat dehidrogenaza i citosolna glutation-s-transferaza) pomažu u detoksikaciji ROS-a smanjivanjem razine peroksida ili održavanjem stalnog dotoka metaboličkih međuprodukata poput glutationa i NADPH potrebnih za optimalno funkcioniranje primarnih antioksidacijskih enzima (Singh i sur., 2004.). Glutation-s-transferaza (engl. glutathione-s-transferase, GST) katalizira konjugaciju slobodnih radikala s glutationom.

Neenzimski antioksidacijski obrambeni mehanizmi (ligandni „čistači“, engl. scavenger) mogu biti endogenog i egzogenog podrijetla, sintetski i prirodni, a ovisno o topljivosti liposolubilni i hidrosolubilni (Tabela 2.).

Liposolubilni su „čistači“ smješteni u staničnim membranama i lipoproteinima, a to su vitamin E (α -tokoferol), provitamin vitamina A (β -karoten) i koenzim Q. Hidrosolubilni „čistači“ se nalaze u vodenoj sredini izvan ili unutar staničnog prostora, a to su: vitamin C (askorbinska kiselina), reducirani glutation (GSH), mokraćna kiselina, ureja te albumin, transferin, ceruloplazmin, feritin, bilirubin, biliverdin, cistein, histidin i laktoferin (Surai, 2006.).

Neenzimski antioksidansi uključuju tiolne antioksidanse (GSH, tioredoksin

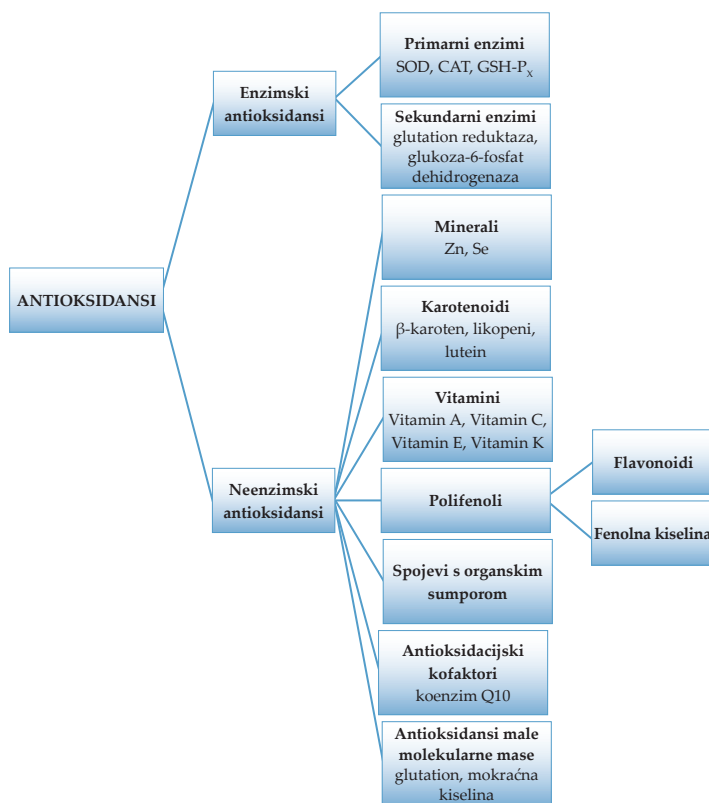
i lipoičnu kiselinu). Među neenzimskim (metaboličkim) antioksidansima zasigurno je najznačajniji reducirani glutation (GSH). Glutation je tripeptid (glutaminska kiselina, glicin i cistein) s aktivnom sulfhidrilnom (-SH) skupinom (Sies, 1999.), čija je struktura prvi puta otkrivena još davne 1935. godine (Meister, 1988.). Molekula GSH ima snažan kapacitet doniranja elektrona te je stoga jaki antioksidans per se, ali i pogodan čimbenik u enzimskim reakcijama koje zahtijevaju lako dostupan elektronski par (Meister i Anderson, 1983., Fujii i sur., 2003.). Glutation sudjeluje i u prijenosu aminokiselina kroz staničnu membranu, detoksicira vodikov peroksid i lipidne perokside katalitičkim djelovanjem glutation peroksidaze te vitamin C i E obnavlja u njihove aktivne oblike (Valko i sur., 2006.). Budući da je topljiv u vodi, GSH se većinom nalazi u citoplazmi stanica, ali i u izvanstaničnim tekućinama. Glutation štiti SH skupine lipoproteina prisutnih u staničnoj membrani i hemoglobinu od oksidacijskih oštećenja prouzročenih djelovanjem H_2O_2 , hidroksil radikala i

kloriranih oksidansa. Pored enzima CAT i GSH-Px koji sudjeluju u uklanjanju H_2O_2 neophodan je i GSH kao koenzim koji pri tom prelazi u oksidirani oblik glutationa (GSSG) (Valko i sur., 2007.). Za obnavljanje utrošenog glutationa i održavanje stanične razine reduciranog glutationa uz utrošak koenzima NADPH potreban je enzim glutation reduktaza (engl. glutathione reductase, GR). Egzogeni neenzimski antioksidansi (nutrijenti) koji pomažu endogenim antioksidansima jesu: vitamin C, vitamin E, karotenoidi, prirodni flavonoidi te elementi u tragovima (selen, magnezij i cink) (Matés i sur., 1999.).

Treba napomenuti da je antioksidacijski obrambeni sustav iznimno kompleksan te ga sačinjava više obrambenih mehanizama koji svoje djelovanje međusobno nadopunjavaju. Sinergističkim djelovanjem i međusobnom interakcijom zaštitnih mehanizama učinkovito se sprječavaju štetni učinci reaktivnih slobodnih radikala (Bahorun i sur., 2006.).

Tabela 2. Antioksidacijski elementi u tragovima (Machlin i Bendich, 1987.)

Nutrijent	Djelovanje
Vitamin C (askorbinska kiselina)	hidrosolubilni antioksidans u citosolu; reagira direktno sa superoksidom, singletnim kisikom; obnavlja tokoferol iz radikala tokoferola
Vitamin E (α -tokoferol)	liposolubilni antioksidans; reagira direktno sa superoksidom, singletnim kisikom; štiti stanične membrane od oksidacijskog oštećenja
β -karoten	najučinkovitiji „čistač“ singletnog kisika; liposolubilni antioksidans
Zn	gradi citosolnu SOD
Se	gradi GSH-Px
Cu	gradi citosolnu SOD i ceruloplazmin
Fe	gradi CAT
Mg	gradi mitohondrijsku SOD



Slika 2. Podjela antioksidansa (Ratnam i sur., 2006.)

Procjena statusa antioksidacijske obrane organizma i stupnja oksidacijskog oštećenja

Razina antioksidansa i aktivnost antioksidacijskih enzima mogu biti od velike koristi u dijagnostici, praćenju tijekom i terapiji bolesti. Glavni pristup procjeni statusa antioksidacijske obrane organizma i stupnja oksidacijskog oštećenja zasniva se na: 1) utvrđivanju razine endogenih antioksidansa, 2) mjerenju proizvoda oksidacije bioloških makromolekula i 3) izravnom otkrivanju slobodnih radikala. Metode za procjenu oksidacijskog stresa mogu biti izravne i neizravne (Celi, 2011.).

Kao indikator oksidacijskog stresa može se koristiti antioksidacijski status. Naime,

nizak antioksidacijski kapacitet posljedica je povećanja oksidacijskih procesa. Budući da oksidacijski stres nastaje kao posljedica pojačanog stvaranja slobodnih radikala ili nedostatne sinteze antioksidanata (ili njihove kombinacije), mjerenje aktivnosti antioksidacijskih enzima (SOD, CAT, GSH-Px) prikladan je način neizravne procjene statusa antioksidacijske obrane. Povećavanje njihove aktivnosti ukazuje na obrambeni učinak ovih enzima. Potaknuti oksidacijskim stresom antioksidacijski enzimi imaju važnu ulogu u uklanjanju slobodnih radikala i održavanju integriteta organizma (Slika 3.). Smanjenje razine antioksidacijskih enzima ukazuje na njihovo iskorištavanje u većoj mjeri za suprotstavljanje poremećajima što ih stanica trpi posredstvom slobodnih radikala.

Osim antioksidacijskih enzima mogu se određivati i koncentracije neenzimskih

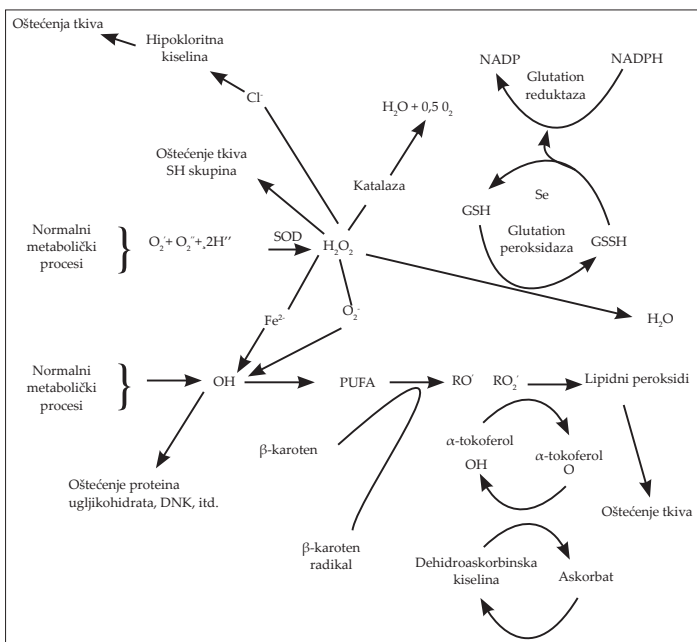
hvatača (npr. GSH). Reducirani glutathion osigurava stanicama otpornost na oksidacijsku reakciju s dovoljno visokom unutarstaničnom koncentracijom GSH. Tijekom oksidacijske reakcije GSH oksidira u GSSG, što za posljedicu ima povećanje koncentracije GSSG. Odnos GSH/GSSG može poslužiti kao rani i osjetljiv pokazatelj oksidacijske neravnoteže.

Oštećenja bioloških molekula „ukazuju“ se i kroz markere lipidne peroksidacije: malondialdehid (MDA), konjugirane diene, 4-hidroksinonenal i izoprostane. Procjenom se MDA pouzdano može procijeniti stupanj oksidacijskog oštećenja staničnih membrana. Naime, slobodni radikali narušavaju oksido-reduktivni status unutar stanice, odnosno posreduju pri povećanju lipidne peroksidacije. Posljedica povećane aktivnosti slobodnih radikala promjene su aktivnosti antioksidacijskih enzima, kao i smanjen sadržaj neenzimskih antioksidansa. Proteinski hidroperoksidi i proteinski karbonili ukazuju na oksidacijsko oštećenje bjelancevina, a

modificirani nukleozidi na oksidacijsko oštećenje DNK.

Oksidacijski stres i parazitarna oboljenja

Primarna uloga antioksidacijskih obrambenih mehanizama je zaštita stanica od prekomjernog oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala. Prekomjerno stvaranje slobodnih radikala ima važnu ulogu u etiopatogenezi brojnih bolesti, kako kod ljudi tako i kod životinja. Neke bolesti mogu biti izravno prouzročene oksidacijskim stresom, međutim, u većini bolesti oksidacijski stres je posljedica ili često samo sekundarna pojava. Dok se kod ljudi oksidacijski stres povezuje s etiopatogeneзом kardiovaskularnih i infektivnih bolesti, karcinoma, dijabetesa, neurodegenerativnih bolesti, fibroze, hemolize te procesa starenja, kod životinja se povezuje s čitavim nizom bolesti, uključujući sepsu, mastitis, acidozu, ketozu, enteritis, bolesti dišnog



Slika 3. Odnos antioksidansa i ROS-a (Bahorun i sur., 2006.)

sustava i zglobova te metaboličke i parazitarne bolesti (Celi, 2011.).

Grinja *Psoroptes ovis* uzročnik je psoroptes šuge u ovaca tzv. psoroptoze. Bolest se očituje intenzivnim pruritusom, učestalim češanjem, pojavom žućkastih krasti, žuto obojenim runom te opadanjem vune najprije na leđima, a kasnije na području slabina, udova i glave. Dimri i sur. (2010.) su kod ovaca oboljelih od psoroptoze utvrdili pad koncentracije cinka i bakra te niže koncentracije ceruloplazmina. Kako je ceruloplazmin glikoprotein s najvećim udjelom bakra u plazmi, a cink i bakar su bitni sastojci Cu/Zn-SOD, za pretpostaviti je da je pad njihove koncentracije posljedica njihovog utroška za neutralizaciju hiperprodukcije slobodnih radikala u invadiranih ovaca. Porast lipidnih peroksida (MDA) te pad koncentracije askorbinske kiseline i tokoferola potkrepljuje navedenu pretpostavku. Smanjena aktivnost SOD-a, CAT-a i GST-a, isto tako ukazuje na pad antioksidacijske obrane i porast oksidacijskog oštećenja. Iz svega navedenog može se pretpostaviti da psoroptes šuga uzrokuje oksidacijski stres i narušava antioksidacijski sustav invadiranih ovaca (Dimri i sur., 2010.). Slične promjene hematoloških i biokemijskih pokazatelja nastaju i kod sarkoptoze, parazitoze prouzročene grinjom *Sarcoptes scabiei*. Sarkoptoza se isto manifestira i intenzivnim svrbežom koji prati nekontrolirano češanje oboljele životinje, ali za razliku od psoroptoze, promjene obično počinju na glavi, nakon čega slijedi generalizacija na ostale dijelove tijela. Sarkoptozu koza karakterizira izrazita hiperkeratoza kože (*hyperkeratosis*). Kod koza (Ujjwal i Dey, 2010.) i pasa (Camkerten i sur., 2009.) oboljelih od sarkoptoze (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*) povećana je lipidna peroksidacija eritrocita i značajno smanjena razina reduciranog glutationa. U pasa je povećana apoptoza leukocita u perifernoj krvi, čime uzročnik nastoji izbjeći imunološku obranu nositelja (Singh i sur., 2011.).

Estroza je nametnička bolest ovaca i koza koju prouzroči parazitiranje ličnaka ovčjeg štrka (*Oestrus ovis*) u nosnim prohodima i šupljinama glave (Urquhart i sur., 1996.). Invazija nosne šupljine ličinkama iritira sluznicu prouzročiti rinitis, kihanje, mukopurulentni iscjedak iz nosa, stridor te otežano disanje (Ljubičić i sur., 2012.). Ličinke *O. ovis* induciraju u invadiranih koza upalni odgovor i oštećenje tkiva koje prati oksidacijski stres, odnosno prekomjerno stvaranje slobodnih radikala (ROS/RNS). Tako je kod koza oboljelih od estroze, uz porast aktivnosti SOD-a, utvrđen i porast aktivnosti mijeloperoksidaze koja se nalazi u polimorfonuklearnim leukocitima, a izlučuje se prilikom njihove aktivacije (Angulo-Valadez i sur., 2011.). Stoga, promjena aktivnosti mijeloperoksidaze može poslužiti kao pokazatelj aktivacije neutrofila tj. upale te kao marker za procjenu oksidacijskog stresa.

Demodikoza je kronična, nekontagiozna nametnička bolest kože, koja se klinički manifestira kad su dlačni folikuli prenaseljeni trajnim ektoparazitima, komezalnim šugarcima *Demodex canis*, a ovisno o raširenosti promjena pojavljuje se u lokaliziranom i generaliziranom obliku. Kod pasa oboljelih od te bolesti Dimri i sur. (2008.) su utvrdili povećane koncentracije lipidnih peroksida koje ukazuju na povećana oksidacijska oštećenja eritrocita te niže koncentracije GSH. S obzirom na pretpostavku da manjak GSH doprinosi nastanku oksidacijskog stresa (Pastore i sur., 2003., Wu i sur., 2004.), niže koncentracije GSH vjerojatno su posljedica njegove povećane uporabe u neutralizaciji suviška slobodnih radikala stvorenih tijekom demodikoze. Naime, upravo povećanje koncentracije oksidiranog glutationa (GSSG) i smanjenje omjera GSH/GSSG smatra se korisnim pokazateljem oksidacijskog stresa (Owen i Butterfield, 2010.).

Porast MDA, biokemijskog pokazatelja lipidne proksidacije te smanjena razina

antioksidacijskih bjelančevina plazme (albumina), askorbata i GSH opisana je i kod ovaca oboljelih od fascioleze (Saleh, 2008.). Fascioleza je parazitoza ovaca prouzročena velikim (ovčjim) metiljem *Fasciola hepatica*. Posljedica migracije mladih metilja kroz jetreni parenhim i spolno zrelih metilja u žučovodima je hemoragični hepatitis, serofibrinozni peritonitis, hipoalbuminemija, progresivna opća slabost, mršavost, anemija, submandibularni edem i ascites (Urquhart i sur., 1996.). Značajan porast razine GSH, MDA i NO zabilježen je i kod pasa invadiranih protozom *Hepatozoon canis* (Kiral i sur., 2005.). *Hepatozoon canis* obligatni je parazit leukocita i stanica retikuloendotelnog sustava. Hepatozoonozu prenose krpelji, a bolest se manifestira rekurirajućom groznicom, letargijom, anoreksijom, anemijom i bolovima, odnosno slabošću stražnjih ekstremiteta (Urquhart i sur., 1996.). Povećana se aktivnost SOD-a u oboljelih životinja može smatrati adaptivnim odgovorom na povećane koncentracije slobodnih radikala (Szczepanowska i sur., 2012.). Značajan pad koncentracije cinka i bakra, inače metalnih kofaktora SOD-a, pripisuje se njihovoj povećanoj ulozi u sintezi SOD-a zbog bolesti.

Pad koncentracije cinka, bakra i željeza kao posljedica povećane potrošnje ili gubitka istih, uočena je kod pasa oboljelih od dirofilarioze, parazitoze prouzročene kardiopulmonalnim nematodom *Dirofilaria immitis*, koju prenose komarci (najčešće rodovi *Aedes*, *Anopheles* i *Culex*). Odrasli nematodi parazitiraju u desnoj polovici srca i plućnim arterijama. Simptomi bolesti su kašalj uz iskašljavanje krvi (*hemoptysis*), dispneja, gubitak težine, brže umaranje, slabost, glomerulonefritis i proteinurija (Urquhart i sur., 1996.). Teže oblike bolesti prate znaci zatajenja desnog srca (tahikardija, nesvjestica, ascites, edemi na donjim dijelovima tijela, povećanje jetre) i plućna tromboembolija te može završiti letalno. Kod oboljelih pasa uočen

je porast koncentracije lipidnih peroksida i aktivnosti SOD-a, dok je koncentracija GSH i aktivnost enzima GSH-Px, GST i CAT značajno smanjena (Dimri i sur., 2012.). Odnosno, može se zaključiti da je u pasa oboljelih od dirofilarioze narušena oksidacijsko/antioksidacijska ravnoteža u korist oksidacijskih procesa te da je narušen i mineralni status životinje.

Esmailnejad i sur. (2012.) navode da *Babesia ovis* ima važnu ulogu u nastanku oksidacijskog oštećenja eritrocita i anemiji kod oboljelih ovaca. Naime, uzročnik babezioze (piroplazmoze) ovaca je intraeritrocitna protozoa *Babesia ovis* koju prenose tvrdi krpelji, a očituje se vrućicom, anemijom, hemoglobinurijom i ikterusom (Urquhart i sur., 1996.). Anemija se pripisuje mehaničkom oštećenju, autoimunosti i eritrofagocitozi, ali u patogenezi anemije znatna se uloga pripisuje i lipidnoj peroksidaciji membrane eritrocita, uslijed čega membrana postaje krhka i dolazi do hemolize. Bolest prati značajan pad aktivnosti enzima GSH-Px, SOD i CAT te ukupnog antioksidacijskog statusa (engl. total antioxidant capacity, TAC) uz porast koncentracije MDA u hemolizatu eritrocita, a navedeni pokazatelji su značajni markeri oksidacijskog oštećenja eritrocita i pokazatelji antioksidacijskog statusa (Esmailnejad i sur., 2012.). Oksidacijska oštećenja membrane eritrocita te smanjena aktivnost antioksidacijskih enzima ovise o stupnju invazije ovaca *B. ovis*.

Kod konja invadiranih protozom *Trypanosoma evansi* (sinonim *T. equinum*), uzročnikom „sure“ opisan je značajan porast lipidne peroksidacije i NO uz značajan pad koncentracije GSH te aktivnosti SOD-a i CAT-a (da Silva i sur., 2011., Ranjithkumar i sur., 2011.). Sura ili tripanosomijaza je endemska bolest, uglavnom ekvida u tropskim i suptropskim područjima, koju prenose vektori, hematofagni insekti. Manifestira se groznicom, progresivnom iznurenošću, anemijom, potkožnim

edemima, živčanim simptomima i smrću (Radostits i sur., 2007.).

Unutarstanična protozoa *Theileria annulata* uzročnik je tajlerioze – theileriosis, progresivne limfo-proliferativne bolesti koja se očituje hemolitičnom anemijom za koju se smatra da je povezana s oksidacijskim oštećenjem membrane eritrocita. U prilog navedenom govori značajan porast MDA i željeza uz istovremeni pad aktivnosti antioksidacijskih enzima (SOD, GSH-Px, CAT) i koncentracije mikroelemenata (Cu, Zn, Mn i Se) u goveda oboljelih od tajlerioze (Rezaei i Dalir-Naghadeh, 2006., Razavi i sur., 2011.).

Zaključak

Djelovanje slobodnih radikala ima važnu ulogu u nastanku, razvoju i složenoj simptomatologiji različitih bolesti, među kojima su i parazitarne oboljenja. Svim opisanim parazitozama zajedničko je da invaziju prati pad koncentracije antioksidacijskih enzima (SOD, CAT, GSH-Px) pretpostavlja se, kao posljedica njihovog utroška za neutralizaciju hiperprodukcije slobodnih radikala. Pad koncentracije antioksidacijskih enzima prati i pad koncentracije iona metala (Cu, Fe, Zn, Mn), bitnih sastojaka antioksidacijskih enzima. Pad koncentracije GSH, odnosno smanjen omjer GSH/GSSH u korist oksidiranog glutationa (GSSH), upućuje na povećanu uporabu glutationa u neutralizaciji suviška slobodnih radikala. Parazitarne invazije prati i porast MDA, biokemijskog pokazatelja lipidne peroksidacije.

Iako rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na povezanost parazitarne bolesti s narušavanjem ravnoteže oksidacijsko/antioksidacijskih procesa, dosadašnje spoznaje nisu dostatne za potpuno razumijevanje navedenog problema. Daljnja istraživanja i nove znanstvene spoznaje vezane uz oksidacijski stres i parazitarne oboljenja

pružile bi veterinarima stručnjacima bolja saznanja o navedenoj problematici.

Sažetak

Neravnoteža između oksidansa i antioksidansa u korist oksidansa, potencijalno dovodi do nastanka stanja koje se naziva „oksidacijski stres“. U stanju oksidacijskog stresa koncentracije visokoreaktivnih slobodnih radikala su povećane te prouzroče metaboličke poremećaje i oštećenja biološki važnih molekula (bjelančevina, masti, ugljikohidrata i DNK). U svrhu sprječavanja štetnih učinaka visokoreaktivnih slobodnih radikala u organizmu je razvijen čitav niz antioksidacijskih obrambenih mehanizama kojima je svrha sprječavanje nastanka slobodnih radikala, poništavanje njihova djelovanja, odnosno saniranje nastalih oštećenja. Superoksid dismutaza, katalaza i glutation peroksidaza najdjelotvorniji su enzimi obrambeni mehanizmi. Oksidacijski stres kod životinja i ljudi povezuje s etiopatogenezom niza bolesti, među kojima svoje mjesto zauzimaju i parazitarne oboljenja.

Literatura

1. AEBI, H. (1984): Catalase in vitro. *Methods enzymol.* 105, 121-126.
2. ANGULO-VALADEZ, C. E., M. C. REYES-BECERRIL, G. M. J. ROMERO, R. CEPEDA-PALACIOS, D. R. LÓPEZ-AGUILAR, T. ZENTENO and F. ASCENCIO (2011): Antioxidant enzymes in erythrocytes from goats seropositive to the sheep nose bot fly (*Oestrus ovis* L., Diptera: Oestridae) infection. *Vet. Parasitol.* 183, 140-145.
3. BAHORUN, T., M. A. SOOBRATTEE, V. LUXIMONRAMMA and O. I. ARUOMA (2006): Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease. *Internet Journal of Medical Update (IJMU)* 1, 25-41.
4. BENDER, D. A. (2009): Free Radicals and Antioxidant Nutrients. In: MURRAY, R.: *Harper's Illustrated Biochemistry*. McGraw-Hill Lange, New York (482-486).
5. BERLETT, B. S. and E. R. STADTMAN (1997): Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *J. Biol. Chem.* 272, 20313-20316.
6. CAMKERTEN, I., T. SAHIN, G. BORAZAN, A. GOKCEN, O. EREL and A. DAS (2009): Evaluation of blood oxidant/antioxidant balance in dogs with sarcoptic mange. *Vet. Parasitol.* 161, 106-109.
7. CATALÁ, A. (2006): An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int. J. Biochem. Cell B.* 38, 1482-1495.
8. CATALÁ, A. (2009): Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem. Phys. Lipids* 157, 1-11.
9. CATALÁ, A. (2010): A synopsis of the process of lipid

- peroxidation since the discovery of the essential fatty acids. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 399, 318–323.
10. CELI, P. (2011): Oxidative stress in Ruminants. In: MANDELKER, L. and P. VAJDOVICH: *Studies on Veterinary Medicine. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*. Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, London (191–231).
11. da SILVA, A. S., S. G. MONTEIRO, J. F. GONC, J. F. GONÇALVES, R. SPANÉVELLO, C. B. OLIVEIRA, M. M. COSTA, J. A. S. JAQUES, V. M. MORSCH, M. R. C. SCHETINGER, C. M. MAZZANTI and S. T. A. LOPES (2011): Acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain and spinal cord of rats infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet. Parasitol.* 175, 237–244.
12. DAVIES, M. J. (2003): Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 305, 761–770.
13. DEAN, R. T. (1987): Free radicals, membrane damage and cell-mediated cytotoxicity. *Br. J. Cancer* 55, 39–45.
14. DEVASAGAYAM, T. P. A., J. C. TILAK, K. K. BOLOOR, K. S. SANE, S. S. GHASKADBI and R. D. LELE (2004): Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *J. Assoc. Physician.* 1, 52, 794–804.
15. DIMRI, U., R. RANJAN, N. KUMAR, M. C. SHARMA, D. SWARUP, B. SHARMA and M. KATARIA (2008): Changes in oxidative stress indices, zinc and copper concentrations in blood in canine demodicosis. *Vet. Parasitol.* 154, 98–102.
16. DIMRI, U., M. C. SHARMA, A. YAMDAGNI, R. RANJAN and M. M. S. ZAMA (2010): Psoroptic mange infestation increases oxidative stress and decreases antioxidant status in sheep. *Vet. Parasitol.* 168, 318–322.
17. DIMRI, U., S. K. SINGH, M. C. SHARMA, S. K. BEHERA, D. KUMAR and P. TIWARI (2012): Oxidant/antioxidant balance, minerals status and apoptosis in peripheral blood of dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. *Res. Vet. Sci.* 93, 296–299.
18. DRÖGE, W. (2002): Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.* 82, 47–95.
19. ESMAEILNEJAD, B., M. TAVASSOLI, S. ASRI-REZAEI and B. DALIR-NAGHADEH (2012): Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in sheep naturally infected with *Babesia ovis*. *Vet. Parasitol.* 185, 124–130.
20. ESTERBAUER, H., R. J. SCHAUR and H. ZOLLNER (1991): Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Bio. Med.* 11, 81–128.
21. EVANS, P. and B. HALLIWELL (2001): Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br. J. Nutr.* 85, S67–S74.
22. EVANS, M. D., M. DIZDAROGLU and M. S. COOKE (2004): Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat. Res.* 567, 1–61.
23. FANG, Y. Z., S. YANG and G. WU (2002): Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition* 18, 872–879.
24. FUJII, J., Y. IUCHI, S. MATSUKI and T. ISHII (2003): Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues. *Asian J. Androl.* 5, 231–242.
25. HALLIWELL, B. (2006): Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.* 97, 1634–1658.
26. HALLIWELL, B. and J. M. C. GUTTERIDGE (1999): *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: University Press.
27. IGNARRO, L. J., G. CIRINO, A. CASINI and C. NAPOLI (1999): Nitric Oxide as a Signaling Molecule in the Vascular System: An Overview. *J. Cardiovasc. Pharm.* 34, 879–886.
28. IMAI, H. and Y. NAKAGAWA (2003): Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radical Bio. Med.* 2, 145–169.
29. JURKOVIĆ, S., J. OSREDKAR i J. MARC (2008): Molekularni utjecaj glutation-peroksidaza u antioksidacijskim procesima. *Biochem. Medica* 18, 162–174.
30. KARLSON, P. (1993): *Biokemija*. Zagreb: Školska knjiga.
31. KIRAL, F., T. KARAGENC, S. PASA, C. YENISEY and K. SEYREK (2005): Dogs with Hepatozoon canis respond to the oxidative stress by increased production of glutathione and nitric oxide. *Vet. Parasitol.* 131, 15–21.
32. KRAJČOVIČOVÁ-KUDLAČKOVÁ, M., M. DUŠINSKÁ, M. VALACHOVIČOVÁ, P. BLAŽIČEK and V. PAUKOVÁ (2006): Products of DNA, Protein and Lipid Oxidative Damage in Relation to Vitamin C Plasma Concentration. *Physiol. Res.* 55, 227–231.
33. LJUBIČIĆ, I., A. KEGALJ, M. VRDOLJAK i M. LJUBIČIĆ (2012): *Oestrus ovis* (ovčji štrk) u ovaca i koza – Estroza ovaca i koza. *Vet. stn.* 43, 327–339.
34. MACHLIN, L. J. and A. BENDICH (1987): Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1, 441–445.
35. MATÉS, J. M. and F. SÁNCHEZ-JIMÉNEZ (1999): Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes. *Front. Biosci.* 4, 339–345.
36. MATÉS, J. M., C. PÉREZ-GÓMEZ and I. NÚÑEZ DE CASTRO (1999): Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clin. Biochem.* 32, 595–603.
37. McCORD, J. M. (2000): The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. *Am. J. Med.* 108, 652–659.
38. McCORD, J. M. and I. FRIDOVICH (1969): Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049–6055.
39. MEISTER, A. (1988): Glutathione Metabolism and Its Selective Modification. *J. Biol. Chem.* 33, 17205–17208.
40. MEISTER, A. and M. A. ANDERSON (1983): Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 711–760.
41. OWEN, J. B. and D. A. BUTTERFIELD (2010): Measurement of Oxidized/Reduced Glutathione Ratio. In: BROSS, P., N. GREGERSEN: *Protein Misfolding and Cellular Stress in Disease and Aging: Concepts and Protocols. Methods in Molecular Biology* 648. Humana Press, New York, Dordrecht, Heidelberg, London (269–277).
42. PASTORE, A., G. FEDERICI, E. BERTINI and F. PIEMONTE (2003): Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin. Chim. Acta* 333, 19–39.
43. RACHEK, L. I., V. I. GRISHKO, S. P. LEDOUX and G. L. WILSON (2006): Role of nitric oxide-induced mtDNA damage in mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Free Radical Bio. Med.* 40, 754–762.
44. RADOSTITS, O. M., C. C. GAY, K. W. HINCHCLIFF and P. D. CONSTABLE (2007): *Veterinary medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Saunders Elsevier.
45. RANJITHKUMAR, M., N. M. KAMILI, A. SAXENA, A. DAN, S. DEY and S. S. RAUT (2011): Disturbance of oxidant/antioxidant equilibrium in horses naturally infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet. Parasitol.* 180, 349–353.
46. RATNAM, D. V., D. D. ANKOLA, V. BHARDWAJ, D. K. SAHANA and M. N. V. R. KUMAR (2006): Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J. Control. Release* 113, 189–207.

47. RAVINDRANATH, V. and D. J. REED (1990): Glutathione depletion and formation of glutathione-protein mixed-disulfide following exposure of brain mitochondria to oxidative stress. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 169, 1075-1079.
48. RAZAVI, S. M., S. NAZIFI, M. BATENI and E. RAKHSHANDEHROO (2011): Alterations of erythrocyte antioxidant mechanisms: Antioxidant enzymes, lipid peroxidation and serum trace elements associated with anemia in bovine tropical theileriosis. *Vet. Parasitol.* 180, 209-214.
49. REZAEI, S. A. and B. DALIR-NAGHADEH (2006): Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet. Parasitol.* 142, 179-186.
50. RICHTER, C., J. W. PARK and B. N. AMES (1988): Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 6465-6467.
51. SALEH, M. A. (2008): Circulating oxidative stress status in desert sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.* 154, 262-269.
52. SIES, H. (1997): Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Physiological society symposium: Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. *Exp. Physiol.* 82, 291-295.
53. SIES, H. (1999): Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Bio. Med.* 27, 916-921.
54. SIES, H. and D. JONES (2007): Oxidative Stress In: FINK, G.: *Encyclopedia of Stress*. Academic Press, San Diego (45-54).
55. SINGH, R. P., S. SHARAD and S. KAPUR (2004): Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Relevance of Dietary Antioxidants. *J. Indian Acad. Clin. Med.* 5, 218-225.
56. SINGH, S. K., U. DIMRI, M. C. SHARMA, D. SWARUP and B. SHARMA (2011): Determination of oxidative status and apoptosis in peripheral blood of dogs with sarcoptic mange. *Vet. Parasitol.* 178, 330-338.
57. SORCI, G. and B. FAIVRE (2009): Inflammation and oxidative stress in vertebrate host-parasite systems. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364, 71-83.
58. SURAI, P. F. (2006): *Selenium in nutrition and health*. Nottingham: Nottingham University Press.
59. SZCZEPANOWSKA, J., D., MALINSKA, M. R. WIECKOWSKI and J. DUSZYNSKI (2012): Effect of mtDNA point mutations on cellular bioenergetics. *Biochim. Biophys. Acta* doi:10.1016/j.bbabo.2012.02.028.
60. ŠVERKO, A. (2011): Povezanost pojavnosti i proširenosti bubrežnog karcinoma i tkivne ekspresije citokroma P450. Disertacija. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Dostupno na < <http://medlib.mef.hr/1384> > [Pristup: 15.02.2012.].
61. TORO, J. and R. RODRIGO (2009): Oxidative Stress: Basic Overview. In: RODRIGO, R.: *Oxidative Stress and Antioxidants: Their role in Human Disease*. Nova Biomedical Books, New York (1-24).
62. UCHIDA, K. (2003): 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog. Lipid Res.* 42, 318-343.
63. UJJWAL, K. D. and S. DEY (2010): Evaluation of organ function and oxidant/antioxidant status in goats with sarcoptic mange. *Trop. Anim. Health Prod.* 42, 1663-1668.
64. URQUHART, G. M., J. ARMOUR, J. L. DUNCAN, A. M. DUNN and F. W. JENNINGS (1996): *Veterinary parasitology*. UK: Blackwell Science.
65. VALKO, M., C. J. RHODES and J. MONCOL (2006): Free radicals, methods and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1-40.
66. VALKO, M., D. LEIBFRITZ, J. MONCOL, M. T. D. CRONIN, M. MAZUR and J. TELSER (2007): Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell B.* 39, 44-84.
67. WEISBURGER, J. H. (1997): Vitamin Antioxidants and Disease Prevention. In: SHAIDI, F.: *Natural Antioxidants: chemistry, health effects, and applications*. Champaign. AOCS Press, Illinois (245-257).
68. WEISIGER, R. A. and I. FRIDOVICH (1973): Superoxide dismutase organelle specificity. *J. Biol. Chem.* 10, 3582-3592.
69. WU, G., Y. Z. FANG, S. YANG, J. R. LUPTON and N. D. TURNER (2004): Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *J. Nutr.* 134, 489-492.
70. YAKES, F. M. and B. V. HOUTEN (1997): Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Cell Biol.* 94, 514-519.
71. YOUNG, I. S. and J. V. WOODSIDE (2001): Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 54, 176-186.

Free radicals, oxidative stress and parasitic diseases

Iva LJUBIČIĆ, DVM, Master, Lecturer, Polytechnic „Marko Marulić“, Knin; Lada RADIN, DVM, PhD, Assistant, Ivona ŽURA ŽAJA, DVM, Junior Researcher, Jadranka PEJAKOVIĆ HLEDE, DVM, Assistant, Suzana MILINKOVIĆ-TUR, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb.

Oxidative stress is the result of an imbalance between prooxidants and antioxidants. This status implies a high free radical concentration that can cause both metabolic disturbances and damage of cell functionality, which can damage cellular lipids, proteins and DNA. Aerobic organisms have adapted mechanisms to combat oxidative stress in order to minimize the deleterious effects of oxidative stress. Antioxidative mechanisms include at least

three levels according to their function: oxidant scavengers, repairing/removing oxidative damage or encapsulating non-repairable damage. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase are considered to be among the most effective enzymatic protective mechanisms. Oxidative stress plays a substantial role in the development of various pathological conditions, including parasitic damage.



NOVO
IME



ZA
ZDRAVLJE



ŽIVOTINJA

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™

Primjena zeolita clinoptilolita u veterinarskoj medicini

Iva Gruden, D. Žubčić, B. Radišić, I. Harapin, D. Capak, Marija Lipar, Ljerka Fučkala i Ljiljana Bedrica



Uvod

Prirodni zeoliti su minerali vulkanskog podrijetla. Produkt su više milenijskog kemijskog procesa i prirodne reakcije između kondenzata vulkanskih para i oceanske vode u specifičnim geološkim uvjetima (slika 1.).



Slika 1. Zeolit (web stranice U.S. House Subcommittee on Energy and Natural Resources)

Zbog njihove dobre dostupnosti (nalazimo ih i u RH), vade se većinom iz površinskih kopova te njihove relativno niske cijene i raznolikih mogućnosti uporabe koje su dobro znanstveno

ispitane, zeoliti predstavljaju vrijedan dodatak nekim medicinskim postupcima. Zeolit je, također, dokazan i kao važan dodatak u prehrani i higijeni različitih životinja.

Zeolit je 100% prirodni mineral kojega ljudski organizam prepoznaje kao vlastitu tvar. Za uporabu je siguran i dobro se podnosi, nema letalnu ni toksičnu dozu. Zeolit ne stvara ovisnost, ne taloži se u organima i u cijelosti se eliminira iz tijela. Svejedno, potreban je oprez pri istovremenom uzimanju zeolita i medikamenata i biljnih preparata, jer postoji mogućnost da ih zeolit djelomično adsorbira, jer zeolit povećava pH probavnog trakta što može utjecati na razaranje omotača lijekova i njihovu bioraspoloživost.

Danas, u suvremenoj medicini zeolit ima posebno mjesto, jer svojim odličnim rezultatima spaja alternativnu, prirodnu i klasičnu, modernu medicinu. Suvremena je tehnologija samo omogućila dodatno multipliciranje njegovih dokazanih ljekovitih svojstava.

U vrijeme 21. stoljeća, kada su nam svi resursi dostupni i kada se

Iva GRUDEN, dr. med. vet., dr. sc. Damir ŽUBČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Berislav RADIŠIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Ivica HARAPIN, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Darko CAPAK, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Marija LIPAR, dr. med. vet., viša stručna suradnica, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet, Zagreb; mr. sc. Ljerka FUČKALA, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede, Uprava veterinarstva, Zagreb

tehnologija razvija velikom brzinom, zeolit ne gubi na važnosti niti je zamjenjiv zbog svoje multifunkcionalnosti. U isto vrijeme iskazuje raznorodna medicinska svojstva - detoksifikacijska i antikancerogena, antioksidativna i imunomodulatorna, antiviralna i antibakterijska te ima posebne učinke na osteoporozu, rane, opekline, krvarenja kao i na neurodegenerativne bolesti te na probavni i mokraćni sustav općenito.

Na opravdanost primjene zeolita kao suportivne terapije upućuju brojna tradicionalna i suvremena anegdotalna iskustva kao i znanstveno utemeljena svojstva evaluirana u mnogo dostupnih znanstvenih i kliničkih studija.

Zeoliti svoju specifičnost duguju jedinstvenoj kristalnoj strukturi negativnog naboja, koja ima široke kanale međusobno povezane šupljinama. S obzirom da veliki kationi, poput kalcija, magnezija, natrija, kalija nisu fiksirani, već pokretljivi, lako ih zamjenjuju drugi kationi iz medija u kojem se nalaze. To vrijedno svojstvo objašnjava zašto oni na sebe mogu vezati različite toksične teške metale kao što su olovo, arsen, kadmij ili pak živu.

Usljed sve većeg onečišćenja te načina prehrane, ranije navedeni teški metali dolaze u organizam bilo putem vode za piće bilo putem hrane te njihovo vezivanje za zeolite i izlazak iz organizma predstavljaju znatan doprinos kvaliteti života i poboljšanju općeg stanja organizma.

Aktivacija zeolita clinoptilolita o kojemu je većinom riječ u ovom radu, postiže se specifičnim tehnološkim postupkom tribomehaničke mikronizacije - finim mljevenjem u čestice nano dimenzija, koje su u pravilu manje od stanica ljudskog organizma.

Što su zeoliti?

Prvi prirodni zeolitni mineral stilbit otkrio je švedski mineralog Freiherr Axel Fredrick Cronstedt 1756. godine. Budući

da je mineral kada se grijao u plamenu puhaljke bubrio, nazvao ga je zeolit, što dolazi od grčkih riječi *zeo* i *lithos* (*grč.*, *zeo*=kipjeti i *lithos*=kamen) (Breck, 1964.).

Zeoliti su praškasti kristali, alumosilikati elemenata I. i II. grupe periodnog sustava - natrij, kalij, kalcij, magnezij i barij, koji tvore čvrste prostorne oblike i imaju svojstva poluvodiča - nalik kamenoj spužvi. Kako se u kristalima zeolita nalaze kanali promjera 0,5 do 0,13 nm, ioni natrija i drugih kationa mogu se lako smjestiti u takve kanaliće, a da se pri tome aktivno ne vežu za njihove rigidne aluminosilikatne strukture. Ako koristimo strukturu zeolita s prikladnim promjerom unutarnjih kanalića, oni se ponašaju kao „molekularna sita“, tj. kao selektivni adsorbenti za male molekule.

Prirodni zeoliti obuhvaćaju grupu minerala koji su po sastavu hidroalumosilikati alkalnih i zemno-alkalnih metala. Kristalnu rešetku zeolita izgrađuju silicijski tetraedri, koji su povezani u lance i prstenove, gdje je pri tome dio atoma silicija zamijenjen atomima aluminija. Zbog takve građe, unutar kristalnog prostora zeolita formira se sustav međusobno povezanih mikrošupljina u kojima su smještene molekule vode i izmjenjujući kationi (Momčilović, 1999.).

Nastanak

Sastavni su dio stijena koje čine Zemljinu kamenu koru - litosferu. Nastaju taloženjem vulkanskog pepela, vulkanskih bombi ili blokova prilikom erupcije vulkana i cijepanja magme. Vulkanski se pepeo povezuje u čvrstu stijenu (koju nazivamo tuf), a čine ga čestice stakla, stijena i minerala. U sedimentu vulkanskog pepela različite čestice mogu kristalizirati i pri tome nastaje vulkansko staklo, a kod određenih okolišnih uvjeta, temperature i tlaka u vremenu od nekoliko sati do nekoliko milijuna godina mogu nastati različiti

prirodni zeoliti. Prirodnih zeolita ima više od 270 vrsta.

Takve se promjene događaju na relativno niskim temperaturama pri kontaktu tufova sa slatkom ili morskom vodom na obalama jezera ili mora. Isto tako, plinoviti džepovi u bazaltu i drugim vulkanskim stijenama mogu sadržavati kristalne nakupine zeolita.

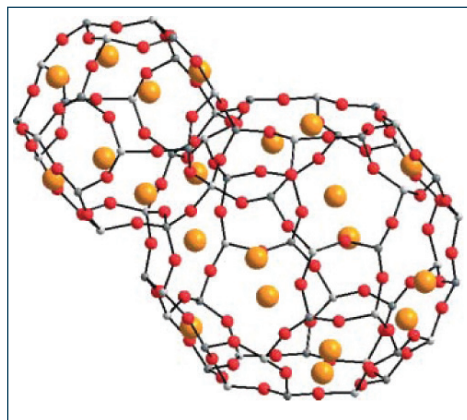
Zeoliti nastaju i u alkalnim sedimentima jezera, u alkalnim tlima pustinja te u morskim sedimentima. Pojavljuju se i u metamorfnim stijenama nastalim pri niskim temperaturama u geološki mladim područjima formiranja planina (Leaven, 2011.).

Struktura

Zeoliti pripadaju mineralnoj obitelji heulandita (Breck, 1964.). Oni kristaliziraju na više načina, a najčešće grade mimetske blizance, lisnate, supaste, igličaste i fibrozne agregate. Zeoliti imaju tri različite bazične strukturne varijacije:

VLAKNASTI, čiji minerali tvore acirkularne ili iglolike prizmatične kristale (natrolit)

LISTASTI, gdje su kristali spljošteni s bazalnim pukotinama (heulandit)



Slika 2. Uređena struktura atoma Si i Al (tamnosive i svijetlosive kugle) povezanih atomima O₂ (crvene kugle). Kationi Na⁺ izvan strukture (lopte narančaste boje) zauzimaju mjesta u prstenovima.

KRISTALNI, gdje su kristali podjednake dimenzije (šabazit).

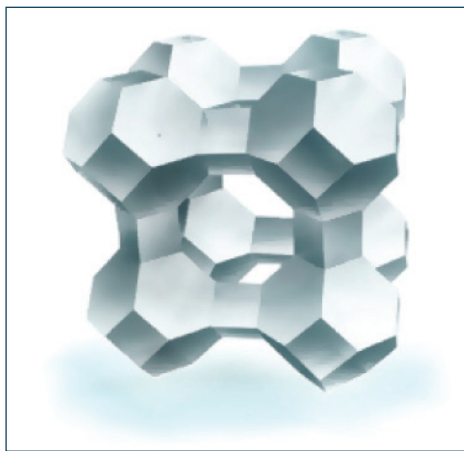
Zeoliti imaju otvoreniju i manje gustu strukturu nego ostali silikati; između dvadeset i pedeset posto njihove strukture su šupljine (slika 2). Silikati koji poput zeolita imaju strukturu sačinjenu od tetraedara nazivaju se tektosilikati. Osim zeolita, ostali silikati uključuju kvarc i feldšpar.

Struktura zeolita clinoptilolita je listasta, kao i struktura svakog heulandita. Iako su pravi predstavnici tektosilikata, gdje je svaki atom spojen s ionom silicija ili s ionom aluminija, svedeno je prisutna listasta struktura. Pojedini su listovi međusobno spojeni širokim vezama koje u čitavoj strukturi formiraju kanaliće. Veličina tih kanalića određuje veličinu molekula ili iona koji mogu ulaziti u strukturu ili pak biti blokirani pri ulasku (slika 3).

U šupljinama zeolita nalazimo velike katione (najčešće kalcij - Ca²⁺, magnezij- Mg²⁺, natrij-Na⁺, kalij-K⁺) te molekule vode (H₂O). Kemijska formula:

$(\text{Na}, \text{K}, \text{Ca})_{2-3} \text{Al}_3 (\text{Al}, \text{Si})_2 \text{Si}_{13} \text{O}_{36} \times 12 (\text{H}_2\text{O})$

Molekularna težina = **2,703.72**.



Slika 3. Struktura zeolita (<http://www.rt17.hr/2011/05/zeolite-minerals-and-their-uses/>)

Način djelovanja

Zeolite određuje njihova sposobnost da reverzibilno otpuštaju i primaju vodu i da pri tome razmjenjuju vlastite katione bez bitnog gubitka svoje strukture. Toplina izvlači vodu iz osnovne strukture bez da se ona oštećuje, tako da se neoštećena struktura zeolita može koristiti kao sustav predaje drugih tekućina. Takvi procesi imaju primjene u medicini i prehrani stoke kao i u drugim tipovima istraživanja.

Oblik molekule je temeljno kvantno-mehaničko svojstvo određeno prostornim rasporedom elektrona u molekuli. Enzimi, biološki katalizatori, i zeoliti, katalizatori u anorganskoj kemiji, pokazuju izuzetna svojstva selektivnosti bazirane na oblicima molekula. Općenito, katalizacijski aktivna područja nalaze se unutar trodimenzionalnih struktura katalizatora, tako da sudbina reagensa, odnosno prijelaznog produkta katalizacije prije svega ovisi o njihovom molekularnom obliku i veličini.

Ukupan negativni naboj zeolita izjednačuje se razmjenom kationa – natrija, barija, kalija ili kalcija. Zeoliti mogu sadržavati i relativno velike molekule i kationske grupe poput vode, amonijaka, ugljikovih i dušičnih iona (Bell, 2001.).

Tribomehaničkom obradom zeolita clinoptilolita dolazi do promjene fizikalno-kemijskih svojstava tj. povećava se aktivna površina smanjenjem čestica do nano dimenzija. Istodobno se mijenja elektrostatski naboj i povećava kapacitet ionske izmjene, ali kemijski sastav ostaje isti. Ta svojstva omogućuju clinoptilolitu vezanje slobodnih radikala i toksina, što omogućuje izlučivanje otrova iz organizma, povećanje pH vrijednosti intracelularno i ekstracelularno što djeluje antikancerogeno te potiče transport šećera iz krvi u stanice bez pomoći inzulina. Pretklinička istraživanja su dokazala netoksičnost clinoptilolita te se

on može upotrijebiti i u ljudi. Istraživanja su ušla u kliničku fazu (Pavelić, 2001.).

Sintetički zeoliti

Iako se neki prirodni zeoliti u prirodi nalaze u velikim količinama, oni su ograničenih svojstava i atomskih struktura. Umjetno stvoreni zeoliti imaju veće šupljine te time i širi spektar svojstava od svojih prirodnih parnjaka. Prvi puta su stvoreni pedesetih godina prošlog stoljeća. Danas se proizvodi više od stotinu različitih vrsta, tako da godišnja proizvodnja sintetičkih zeolita iznosi više od dvanaest tisuća tona (Mumpton, 1999.).

Sintetički su zeoliti stvarani i na palubi Space Shuttle-a te ih se naširoko proučava, posebice načini njihova nastajanja kao i njihove jedinstvene osobine.

Pored prirodnih A i X tipova zeolita, sintetiziran je i Y tip te veliki broj varijanti ovih tipova. Ova tri tipa zeolita, osim različite strukture, imaju i različit odnos $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$. Navedeni tipovi zeolita služe kao sušaći, za separaciju i koncentriranje plinova, kao katalizatori i nositelji katalizatora u kemijskim reakcijama, ionski izmjenjivači, hidrofbni materijali u poljoprivredi, kao nositelji mikro elemenata, koriste se kod zamjena polifosfata u deterdžentima i dr (Mumpton, 1999.).

Ono što zeolite čini posebno zanimljivim jesu i velike mogućnosti njihove modifikacije. Na taj način moguće je proizvesti zeolite točno ciljanih karakteristika.

U zadnje se vrijeme pažnja znanstvenika usmjerila na fino ugađanje katalizacijskih svojstava zeolita u svrhu sintetiziranja vrlo vrijednih kemikalija u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

Primjena zeolita - općenito

Zeoliti imaju mogućnosti mnogostruke industrijske uporabe, od molekularnih sita

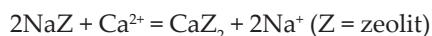
- filtera i adsorpcije plinova, preko kontrole neugodnih mirisa do filtriranja pitke i tehničke vode u bazenima i akvarijima. Zeolit clinoptilolit s lakoćom adsorbira amonijak i ostale otrovne plinove iz zraka i vode, tako da se koristi pri filtriranju zraka - kako za zdravstvene, tako i za potrebe uklanjanja mirisa. Clinoptilolit je posebno pogodan za navedene aplikacije zahvaljujući velikoj količini poroznih prostora, visokoj otpornosti na ekstremne temperature te zbog kemijski neutralne strukture. Osim dobre toplinske stabilnosti (sve do 700 °C), zeolit je u svakom pogledu ekološki prihvatljiv, nije zapaljiv i slabo je korozivan.

Zeoliti su osobito važni i u kemijskoj industriji, jer se zamjenom natrijeva iona u njih može ubaciti neki drugi prijelazni metal koji ima katalizatorska svojstva. Takvi se zeolitski katalizatori upotrebljavaju u rafiniranju nafte, pripravi benzina iz smjese vodika s ugljikovim monoksidom i za mnoge druge tehnološke svrhe. Zbog mogućnosti interakcije s organskim molekulama, zeoliti su važni i pri rafiniranju i pročišćavanju prirodnog plina i naftnih derivata, a upotrebljavaju se i pri hidrogenizaciji biljnih ulja te u mnogim drugim procesima u industriji koje uključuju organske molekule.

Zbog katalitičkog djelovanja, funkcije ionskih izmjenjivača te adsorbensa, kao i zbog toga što su sastavni dio detergenata, zeoliti u industrijskim procesima nalaze široku primjenu (Flanigen, 1980., Sersale, 1985., Naber i sur., 1994., Colella, 1999., Garcés, 1999.).

Kada se tvrda voda (voda bogata mineralima) propusti kroz zeolitni filter, ioni kalcija, magnezija i željeza zamijenit će se ionima natrija iz zeolita i tako omekšati vodu. Na isti način to čine i u detergentima za pranje i za što se danas najviše i proizvode. Iskorišteni se filter zeolita može potpuno obnoviti ako se kroza nj propusti koncentrirana otopina kuhinjske soli.

Danas se proizvode sintetički zeoliti svojstava prikladnih za pojedine industrijske procese. Ioni se u zeolitu mogu lako zamijeniti drugim ionima ekvivalentnoga naboja kao npr. (Momčilović, 1999.):



U nuklearnom postrojenju Hanford u Richlandu, Washington, radioaktivni stroncij-⁹⁰ i cezij-¹³⁷ uklonjeni su iz radioaktivnog otpada tako da su bili propušteni kroz tankove napunjene prirodnim zeolitom clinoptilolitom. Prirodni su zeoliti najefikasniji filteri sumpornog dioksida (SO₂) do sada otkriveni. SO₂ nastaje sagorijevanjem ugljena i glavni je uzrok kiselih kiša.

Primjena zeolita u humanoj i veterinarskoj medicini

Primjena zeolita proizlazi iz njihovih specifičnih svojstava: oni djeluju kao ionski izmjenjivači, adsorbirajući ili otpuštajući ione u vodu; mogu selektivno adsorbirati ione koji pristaju u šupljine njihovih struktura, poput molekularnih sita; mogu zaprimati veće molekule te ih rastvarati na manje molekule katalitičkim procesima.

Takvo djelovanje u ljudskoj prehrani imaju neprobavljiva biljna vlakna, alginati, fitati, psilium, guar i pektin, izoflavoni i razne smole, a u medicinskoj praksi aktivni ugljen (*carbo animalis*).

Zeoliti na sebe mogu vezati i različite toksične teške metale kao što su: olovo, arsen, kadmij ili pak živu. U organizmu adsorbiraju teške metale, različite toksine, ali i lijekove pa treba biti obazriv prilikom njihove uporabe.

Zeolit ima i sposobnost adsorpcije različitih toksina koje stvaraju plijesni i mikroskopski paraziti, a koje nalazimo u hrani za životinje i ujedno povećava apsorpciju hrane kod različitih životinja.

U intenzivnoj stočarskoj proizvodnji mikotoksikoze su sve veći problem u

očuvanju zdravlja životinja. Plijesni stvaraju mikotoksine koji smanjuju imunitet pa uslijed bolesti dolazi do proljeva, oštećenja jetre i bubrega, slabih kostiju, smanjenja prirasta. Prirodni zeolit clinoptilolit poput spužve adsorbira sve mikotoksine i trajno ih veže na sebe, ne zadržava se u organizmu, već se kompletno probavnim sustavom izbacuje van. Prirodni zeolit zbog svoje specifične molekularne rešetke na sebe veže samo otrovne materije, a vitamine i hranjive tvari ostavlja nedirnutu u organizmu. U peradarstvu je uporaba prirodnog zeolita usmjerena u pravcu poboljšanja prirasta, smanjenja mortaliteta i konverzije hrane.

Učinci primjene prirodnog zeolita u stočarstvu i peradarstvu ogledaju se u povećanju tjelesne mase od 3-5% uz smanjenje utroška hrane od 10-20% i boljoj kakvoći mesa. Prirodni se zeolit dodaje stočnoj hrani u obliku praha u količini od 2-5 kg/t hrane, ovisno o stupnju kontaminacije.

Zeoliti dodani stočnoj hrani pokazali su se korisnima za smanjenje intenziteta parazitarne bolesti domaćih životinja, a povoljno su djelovali i na njihov rast i razvoj. Japanci ih osobito upotrebljavaju u stajama za stoku i perad gdje uspješno uklanjaju neugodne mirise (Momčilović, 1999.).

Poznato je da su silikati i alumino-silikati biološki aktivni spojevi. Već se desetljećima milovka i silicijeva kiselina koriste za njegu kože, dok se aluminij-silikati smatraju idealnim modelom za proteinske i enzimске mimetike (Bedioui, 1995.).

Nedavna su istraživanja pokazala da čisti netoksični clinoptilolit iz nalazišta na Kubi djeluje kao odličan adsorbens glukoze i smatra se da bi mogao koristiti u terapiji diabetes mellitus-a (Concepcion-Rosabal i sur., 1997.).

Do sada je primjena prirodnog zeolita clinoptilolita pokazala najbolji učinak kod dugotrajnih proljeva. Dodatkom

clinoptilolita u liječenju proljeva smanjio se broj uginuća kod intestinalnih bolesti svinja, teladi i štakora (Fuentes i sur., 1997.).

Brojna istraživanja i njihovi rezultati upućuju na zaključak da zeoliti djeluju kao regulatori imunološkog sustava. Ueki (1994.) i Aikoh (1998.) navode da silicijska kiselina, silikati i aluminij-silikat djeluju kao nespecifični imunostimulatori, slično superantigenima.

Ueki i sur. (1994.) eksperimentalno su dokazali da uklanjanje MHC II razreda DP/DR pozitivnih stanica dovodi do smanjenja stimulacije makrofaga kod azbestoze ljudi. Osim s limfocitima, opisano je i izravno međudjelovanje silikatnih čestica s drugim stanicama. Čini se da mineralne čestice mogu potaknuti promjene na genima pojačavajući signale vezane za gensku transaktivaciju (Tsuda i sur., 1997.).

Izlaganje stanica silikatnim česticama dovodi do aktivacije mitogen- aktivirane protein kinaze (MAPK), protein kinaze C i stresom aktivirane protein kinaze (Lim i sur., 1997.).

Isto se tako aktiviraju i važni faktori transkripcije kao što su: aktivator proteina 1 i nuklearni faktor kB, čime se postiže stvaranje interleukina 1a, interleukina 6 i faktor a tumorskih nekroza (Simeonova i sur., 1997.).

Pavelić i sur. (2001.) testirali su biološku aktivnost clinoptilolita. Dokazano je da peroralno uzet prirodni clinoptilolit nije toksičan te da povoljno djeluje pri terapiji karcinoma kod životinja. *In vitro*, na tkivnim kulturama različitih tipova karcinoma, utvrđeno je da zeolit clinoptilolit mijenja intracelularne signalne putove što dovodi do indukcije tumor-supresivnih gena.

Bedrica i sur. (2003.) su ustanovili da je zeolit clinoptilolit davan peroralno kuji s opeklinama, koje su zahvatile više od 50% kože, ubrzao oporavak te je spriječio oštećenje jetre i bubrega.

Rezultati dosadašnjih istraživanja

Primjena zeolita clinoptilolita u svinja

Milić i sur. (2005.) proveli su istraživanje na svinjogojskoj farmi "Dubravica" u Hrvatskom Zagorju na 985 prasadi (kontrolna skupina brojala je 431 prasadi, a u pokusnoj skupini bilo ih je 554). Istraživanje je trajalo 50 dana. Pokusna skupina dobivala je s hranom pripravak „Pigozen“ koji sadrži 55% zeolita clinoptilolita. Ispitivan je utjecaj prirodnog zeolita na koncentraciju amonijaka u zraku kao važnog faktora koji utječe na zdravlje i dobrobit prasadi. Mjerenja su provođena u uzgajalištu prasadi tijekom zimskog perioda. Prasad je bila smještena u dva jednaka uzgajališta, u boksovima s po 30 životinja, na djelomično rešetkastom podu te im je hrana i voda bila stalno dostupna - *ad libitum*.

U mjerenjima mikroklimatskih parametara (temperaturi zraka, relativnoj vlažnosti i brzini strujanja zraka) nije bilo značajnih razlika između kontrolne i pokusne skupine.

Učinak zeolita bio je znatan kod plinovitih onečišćenja u zraku - posebno amonijaka, uspoređujući kontrolnu i pokusnu skupinu. Prema uputama proizvođača, ovaj dodatak stočnoj hrani uvelike inhibira emisije amonijaka u izmetu životinja, čime se poboljšava mikroklima prostora, što pak opet rezultira smanjenom smrtnošću i boljem zdravlju prasadi.

Za vrijeme istraživanja, koncentracija amonijaka u eksperimentalnoj skupini smanjena je za prosječno 33%, što se može interpretirati kao učinak zeolita clinoptilolita. Koncentracija ugljičnog dioksida (indikator ventilacije) pod utjecajem clinoptilolita nije pokazala značajan pad u eksperimentalnoj skupini.

Utjecaj se zeolita na fizičke parametre u gnoju razlikovao prema pojedinim

parametrima. U pokusnoj skupini pH gnoja pokazao je vrlo male razlike tako da je sadržaj suhe tvari (ST) i anorganske tvari (AT) bio oko 1% veći, što se može pripisati utjecaju zeolita. S druge je strane, srednja vrijednost BOD₅ (*eng. biochemical oxygen demand*) bila niža u pokusnoj skupini.

Dodatak zeolita clinoptilolita u mješovitoj hrani smanjio je koncentraciju dušikovih spojeva - iona amonijaka i nitrata, za oko 26% i iona nitrita za 12%.

Autori su zaključili da je pozitivan učinak clinoptilolita bio zabilježen u odnosu na kvalitetu zraka, u smislu koncentracije amonijaka, koja je bila smanjena za 33% u eksperimentalnoj skupini. Koncentracija amonijevih iona i drugih ispitivanih dušikovih spojeva u gnoju također je bila smanjena za postotni iznos od 12 do 26%.

Rezultati istraživanja su pokazali da je dodavanjem zeolita u hranu smanjena emisija amonijaka u eksperimentalnoj jedinici. Dodavanje 2% zeolita u mješovitu hranu rezultiralo je smanjenjem emisije amonijaka za oko 33% i smanjenjem koncentracije amonijaka u gnoju za 25%.

Han i sur. (1976.) utvrdili su tendenciju poboljšanja probavljivosti sirovih bjelančevina i bezdušičnih ekstrakata, kada su pšenične posije bile zamijenjene zeolitom u razinama od 1-6% tijekom 12 tjedana tova svinja.

Kvashali i sur. (1981.) navode da clinoptilolit, dodan hrani za svinje, pospješuje otpuštanje suvišne vode iz probavnog sustava i da različite vrste adsorpcija pojačavaju aktivnost mikroflagelata epitelnih stanica probavnog sustava, mijenjaju pH sadržaj probavnog trakta i pospješuju apsorpciju.

Nestorov (1993.), također, navodi ranija istraživanja Han i sur. (1976.) te Kondo i Wagai (1968.), koji su utvrdili da dodatak zeolita clinoptilolita hrani u tovu svinja povećava učinkovitost hranidbe. Vrzgula i sur. (1984.) utvrdili su pozitivan

učinak zeolitnog tufa na prirast svinja u tovu, dok je Chelishavheva (1980.) dokazala prosječno povećanje dnevnih prirasta za 8%.

Tsitsishvili i sur. (1999.) ispitivali su primjenu zeolitnog tufa s dominantnim sadržajem clinoptilolita u hranidbi svinja, kojom se prilikom dnevni prirast povećao od 5-12%, uz smanjenje potrošnje hrane za 3-9%.

Svinje hranjene zeolitom imale su veće završne težine (Shepard, 1984., Dubinin, 1989.). Bartko i sur. (1993.) utvrdili su manji utrošak hrane kod svinja koje su dobivale clinoptilolit u smjesama za tov.

Yannakopoulos i sur. (2000.) utvrdili su kod svinja kojima je u hranu dodano 6% clinoptilolita, povećanje žive težine za 3,34%, smanjenje konzumacije hrane za 5,69%, kao i povećanje prinosa mesa u leđima i butovima za 12,08%, odnosno za 4,79%.

Opravljanost navedenih istraživanja i provjera utjecaja dodavanja prirodnog zeolita - Anivitala-SPS u krmne smjese za tov svinja provedene su na 134 svinje s ciljem utvrđivanja proizvodnih svojstava svinja (prirast, konzumacija i konverzija hrane), kao i klaoničkih svojstava svinjskih polovica.

Gutzmirtl i sur. (2006.) su istraživali utjecaj dodatka prirodnog zeolita u hrani, Anivitala-SPS, na potencijal rasta i razvoja, konverziju hrane, klaonička svojstva i na zdravlje svinja.

Istraživanje je provedeno na tovljenicima tropasminskim križancima između velikog jorkšira i njemačkog landrasa s majčine strane i pietrena kao terminalne nerastovske pasmine. Svinje su bile razvrstane u tri skupine koje su se međusobno razlikovale prema sastavu smjesa koje su tijekom pokusa dobivale.

Pokus je bio podijeljen u dva razdoblja - razdoblje predtova (25-56 kg) i razdoblje tova (57-92 kg). Tovljenici su tijekom predtova i tova držani u istovjetnim zootehničkim i zoohigijenskim uvjetima,

a skupine su se međusobno razlikovale prema sastavu smjesa koje su dobivale tijekom pokusa.

U izradi smjesa ST1 i ST2 za sve su tri skupine tovljenika korištene identične sirovine, uz izuzetak dodavanja Anivitala-SPS i masti u smjese za tovljenike skupine P1, odnosno P2. U smjesi ST1 za svinje iz skupine P1 dodano je 3% Anivitala-SPS, dok je za svinje iz skupine P2 dodano 3% Anivitala-SPS, uz dodatak 1,4% masti. U smjesi ST2 za svinje iz skupine P1 dodano je 6% Anivitala-SPS, a za svinje iz skupine P2 smjesi je dodano 6% Anivitala-SPS i 3% masti. Tijekom provedbe istraživanja svinje su dobivale hranu i vodu *ad libitum*.

Tijekom pokusa provedena su vaganja, i to na početku pokusa, u sredini (kod prelaska na hranidbu smjesom ST2) te na završetku pokusa, prije klanja. U istom razdoblju praćen je utrošak hrane. Podatci dobiveni vaganjem svinja korišteni su za izračun ukupnih prirasta i prosječnih dnevnih prirasta tijekom tova.

Autori su dobili zanimljive rezultate. Na kraju prvog kontrolnog razdoblja (45. dan) skupine svinja P1 i P2 bile su statistički vrlo visoko značajno teže od kontrolne skupine. Na kraju tova nisu utvrđene statistički značajne razlike između skupina. Prosječni su se dnevni prirasti statistički razlikovali vrlo značajno na kraju prvog razdoblja tova, a statistički značajno uzimajući u obzir cijelo trajanje tova. Pretvorba hranjivih tvari u kg prirasta bila je bolja za 8,02% kod skupine P1 i za 4,94% kod skupine P2, u odnosu na kontrolnu skupinu svinja. Dodavanje Anivitala-SPS u smjese nije utjecalo na bitna kvalitativna svojstva svinjskih polovica.

Primjena zeolita clinoptilolita u pasa

Bedrica i sur. (2007.) istraživali su utjecaj prirodnog zeolita clinoptilolita na tumore mliječnih žlijezda kod kuja. Naime, odgovarajući na zahtjeve vlasnika pasa starije dobi i

pasa sa srčanim bolestima, koji zbog zdravstvenog stanja svojih ljubimaca nisu pristajali na radikalne zahvate poput operativnog uklanjanja tumora, pokušalo se konzervativnim pristupom zaustaviti, odnosno, usporiti rast tumora. Dosadašnja saznanja o zeolitima i drugim silikatima navela su Pavelića i sur. (2001.) na testiranje biološke aktivnosti clinoptilolita. Dokazano je da peroralno uzet prirodni clinoptilolit nije toksičan te da povoljno djeluje pri terapiji karcinoma kod životinja. *In vitro* na tkivnim kulturama različitih tipova karcinoma utvrđeno je da zeolit clinoptilolit mijenja intracelularne signalne puteve što dovodi do indukcije tumor-supresivnih gena.

Bedrica i sur. (2007.) su koristili peroralno posebno aktiviran prirodni zeolit clinoptilolit u terapiji tumora mliječne žlijezde u kuja.

Istraženo je ukupno 20 kuja, kliničkih pacijenata, različitih pasmina i dobnog raspona od osam do petnaest godina s vidljivim tumorima mliječnih žlijezda. U dogovoru s vlasnicima kujama je oralno davan prašak prirodnog zeolita clinoptilolita. Ukupna početna dnevna doza od 100 mg/kg bila je podijeljena na dvije ili tri doze.

Kujama je uzeta krv prije liječenja, a zatim je redovito, svaki mjesec, uzimana za hematološke i biokemijske pokazatelje. Prema potrebi, rađene su rengenke pretrage, dok su kujama, kojima su ekstimpirani tumori, učinjene histološke pretrage.

Redovito je mjerena i bilježena veličina tumora. Svim kujama učinjena je i rengenka pretraga toraksa i abdomena. Svi tumori su bili vidljivi, a njihov je broj varirao od jednog do četiri. Životinje su bile u dobi od 8 do 15 godina. Niti jedna kuja u istraživanju nije bila kastrirana. Od ukupno 44 tumora, najviše ih je bilo u području predzadnje sise, njih 22. U području zadnje sise bilo je 15 tumora, a u području prve, druge i treće sise ukupno

sedam tumora. Veličina tumora varirala je od 3 do 100 mm. Na jednoj jesi bilo od jednog do tri tumora, što se poklapa s navodima Gereš (2002.) da se na jednoj sisi ili pokraj nje mogu naći pojedinačni ili multipli tumori čija veličina može varirati od teško vidljivog do tvorbe neograničeno velikog obujma i preko 200 mm u promjeru.

U istraživanju Bedrica i sur. (2007.), prvi se put u svijetu peroralno koristi posebno aktiviran prirodni zeolit clinoptilolit, u terapiji tumora mliječne žlijezde. Zeolit clinoptilolit u obliku praha s početnom dozom od 100 mg/kg kujama je oralno apliciran u dvije do tri porcije dnevno.

Primijećen je značajan učinak clinoptilolita na razvoj istraživanih tumora. Već nakon tri mjeseca oralne aplikacije praha clinoptilolita došlo je do smanjivanja velikih tumora za prosječno jednu trećinu dok su oni manji, promjera do 20 mm, sasvim nestali. Taj rezultat omogućuje novi pristup terapiji tumora mliječnih žlijezda kod pasa te je pozitivan za prognozu i kvalitetu života oboljelih životinja.

Značajno je istraživanje Bedrica i sur. (2003.) gdje je dokazano učinkovito djelovanje clinoptilolita u liječenju opekline.

U siječnju 2000. godine primljena je na Kliniku za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu kuja engleskog koker španijela stara 5 godina i njena dva ženska šteneta stara 3 mjeseca. Kuje su stradale u požaru nastalom zbog eksplozije pline u stanu. Kuje su bile potišteno, mirne, preplašenog pogleda. Disanje je bilo izrazito ubrzano, puls frekventan, nizak, bez fiziološke aritmije. Temperatura je bila na donjoj fiziološkoj granici. Na dlačnom pokrivaču bile su vidljive opekline različitih dijelova tijela s izgorjelom dlakom. Najteže promjene bile su na odrasloj kuji (na njuški, okolini očiju, na leđima i na jastučićima šapa), a

dosta su slabije bile izražene promjene na štencima. Pregledom glave ustanovljene su opekline prvog do drugog stupnja nosnica i okoline kao i potpuna odsutnost obrva, trepavica i dlačnog pokrivača na gornjoj i donjoj vjeđi oba oka. Odmah je započeto uobičajeno liječenje.

Tretiranje prahom prirodnog zeolita clinoptilolita započeto je nakon tjedan dana na najopsežnijim ozljedama kod odrasle kuje (na leđima, njuški i šapama). Kuja je u hrani, koja joj je bila pristupačna 24 sata dnevno, dobivala prah zeolita u većoj dozi nego što je uobičajeno. Štenci su dobivali clinoptilolit samo lokalno. Kuji i štencima je drugi dan izvađena krv za standardni hemogram i neke biokemijske parametre. Cijelo vrijeme liječenja redovito je vađena krv za hematološke i biokemijske parametre.

Liječenje opekline započeto je parenteralnom aplikacijom nadomjestka tekućina, antibiotika, lokalno su rane isprane i tretirane Dermazin masću. Uz uobičajeno konzervativno liječenje, nakon tjedan dana započeta je lokalna aplikacija praha zeolita, dok je odrasla kuja dobivala zeolit i u hrani.

Promjene na leđima najteže su u odrasle kuje. Mjesta bez dlake i bez površnog sloja kože nalaze se u sakralnom području, veličine su muškog dlana, crvenkaste boje i vlažne. Pretragom okoline primarne ozljede može se pretpostaviti da će doći do nekroze u kompletnom lumbalnom i torakalnom području kože leđa. Svakodnevnom je pregledom ustanovljena sve veća površina bez kože te su nakon tri i pol tjedna kompletna leđa zahvaćena opsežnom nekrotičnom promjenom. Čitavo promijenjeno područje leđa posipavano je prahom prirodnog zeolita clinoptilolita dva puta dnevno, a u hranu smo dodavali prah. Kuja je dobivala 5 do 6 obroka, a uz svaki obrok dobivala je jušnu žlicu praha. Pet i pol tjedana od dolaska vidjeli smo početak sanacije ozljede na rubovima defekta. Dva i pol

mjeseca od ozljede došlo je do vidljivog saniranja ozljede na srednjem dijelu i na rubovima defekta. Devet mjeseci nakon ozljeđivanja opekline je u potpunosti sanirana, osim što u središnjem dijelu nedostaje dlaka i pigment.

U oba šteneta najteže opekotine nalazimo na glavi. U žutog šteneta nalaze se opekline obiju uški koje su locirane u srednjem dijelu uške, a veličine su većeg novčića, gdje će također površni dio kože i dlaka najvjerojatnije otpasti. Opečene su i vjeđe, nos i okolina nosa. Opisane promjene nakon tjedan dana prekrivene su krastama. Tri tjedna nakon ozljede i nakon tretmana prahom prirodnog zeolita clinoptilolita ozljede su djelomično sanirane. Nakon provedene terapije 9 mjeseci nakon ozljede opekotine su u potpunosti sanirane.

U crnog šteneta nastale su ozljede na glavi i na desnoj slabini. Mjesec dana nakon ozljede defekt se na desnoj slabini počeo smanjivati i sušiti. Devet mjeseci nakon ozljeđivanja ozljede na glavi ne mogu se zamjetiti, a na slabini nedostaje dlaka i pigment.

U području mekuši i interdigitalnih prostora sva četiri ekstremiteta u odrasle kuje i prednje desne noge u crnog šteneta prisutne su opekline drugog stupnja. Liječenje je započeto Dermazin masću i povojem, a nakon tjedan dana i lokalnom aplikacijom zeolita.

Biokemijske pretrage krvi upućivale su na svakodnevno povećavanje koncentracije ureje i kreatinina. Prije davanja zeolita vrijednosti su bile iznad fiziološke granice, nekoliko dana nakon primjene zeolita vrijednosti su se počele smanjivati.

Autori su zaključili da peroralnom i parenteralnom uporabom prirodnog zeolita clinoptilolita kao dodatka klasičnoj terapiji opekline značajno se smanjuje vrijeme potrebno za potpunu sanaciju rana. Osim toga clinoptilolit sprječava moguća oštećenja jetre i bubrega.

Rasprava

Budući da se radi o preparatu koji nema dugotrajnu uporabu u liječenju životinja, i s obzirom da se do sada koristio uglavnom samo u istraživanjima, nema puno podataka koji bi se mogli uspoređivati.

Prema dosadašnjim istraživanjima možemo reći da se pokazao uspješan u korištenju kod svinja i pasa.

Nasuprot tome, Radišić (2005.) u svojoj disertaciji opisuje učinak mineralnih pripravaka, kalcijeva montmorilonita i klinoptilolita te oligonukleotidskog probiotika Ascogena® na tijek cijeljenja loma laktne kosti u kokoši. Kokoši su hranom primale spomenute pripravke.

U njegovom istraživanju pripravak clinoptilolita djelovao je najnepovoljnije na tijek cijeljenja loma u odnosu na pokusne skupine. No, autor ipak navodi da je u kokoši koje su dobivale clinoptilolit bolja ugradnja kalcija u kalusu u odnosu na kontrolnu skupinu koja nije dobivala nikakve pripravke.

Zaključci

Na temelju uvida u literaturu razvidno je da zeolit clinoptilolit ima vrlo široku primjenu, ne samo kao dodatak prehrani već u različitim industrijama.

U veterinarskoj se medicini pokazao vrlo učinkovit u svinjogojstvu. Provedeno je vrlo malo istraživanja na psima, i tu se zeolit clinoptilolit pokazao vrlo učinkovit.

Dokazano je da se dugotrajnim uzimanjem praha clinoptilolita smanjuju tumori mliječne žlijezde u kuja. Clinoptilolit je vrlo učinkovit i u liječenju opekline, s time da se prah uzima peroralno i posipava po ranama.

Sažetak

Danas, u suvremenoj medicini zeolit ima posebno mjesto, jer svojim odličnim rezultatima spaja alternativnu, prirodnu i klasičnu, modernu medicinu. Suvremena

je tehnologija samo omogućila dodatno multipliciranje njegovih dokazanih ljekovitih svojstava. Zeolit iskazuje raznorodna medicinska svojstva – detoksifikacijsko i antikancerogeno, antioksidativno i imunomodulatorno, antivirusno i antibakterijsko te ima posebne učinke na osteoporozu, rane, opekline, krvarenja kao i na neurodegenerativna oboljenja te na probavni i mokraćni sustav općenito. Aktivacija se zeolita clinoptilolita postiže specifičnim tehnološkim postupkom tribomehaničke mikronizacije – finim mljevenjem u čestice nano dimenzija, koje su u pravilu manje od stanica ljudskog organizma. Tribomehaničkom obradom zeolita clinoptilolita dolazi do promjene fizikalno-kemijskih svojstava tj. povećava se aktivna površina smanjenjem čestica do nano dimenzija. Istodobno se mijenja elektrostatski naboj i povećava kapacitet ionske izmijene, ali kemijski sastav ostaje isti. Ta svojstva omogućuju clinoptilolitu vezanje slobodnih radikala i toksina te izlučivanje otrova iz organizma, povećanje pH vrijednosti intracelularno i ekstracelularno što djeluje antikancerogeno te poticanje transporta šećera iz krvi u stanice bez pomoći inzulina. Zeoliti na sebe mogu vezati i različite toksične teške metale kao što su: olovo, arsen, kadmij ili živu. U organizmu adsorbiraju teške metale, različite toksine, ali i lijekove pa treba prilikom njegove upotrebe biti obazriv. Zeolit također ima i sposobnost adsorpcije različitih toksina koje stvaraju plijesni i mikroskopski paraziti, a koje nalazimo u hrani za životinje i ujedno povećava apsorpciju hrane kod različitih životinja.

Literatura

1. AIKOH, T., A. TOMOKUNI, T. MATSUKI, F. HYODOH, H. UEKI, T. OTSUKI and A. UEKI (1998): Activation induced cell death in human peripheral blood lymphocytes after stimulation with silicate in vitro. *Int. J. Oncol.* 12, 1355-1359.
2. BARTKO, P., H. SEIDEL and G. KOVAC (1993): Use of clinoptilolite – rich tuffs from Slovakia in animal production. A review: In: *Natural Zeolites 93: Occurrence, Properties, Use.* D. W. MING and F. A. MUMPTON, eds. *Int. Comm. Nat. Zeolites*, Brockport, New York, 467-475.
3. BEDIOU, F. (1995): Zeolite-encapsulated and clay-intercalated neta porphyrin, phthalocyanine and schiff-base complexes as models for biomimetic

- oxidation catalysts: an overview. *Coordination Chem. Rev.* 144, 39-68.
4. BEDRICA, Lj., D. CAPAK, I. HARAPIN, T. BABIĆ, B. RADIŠIĆ, V. HAHN, D. POTOČNJAK, D. GRAČNER, M. CERGOJ, A. TOMAŠKOVIĆ, T. DOBRANIĆ, S.ČURIĆ, V. VUČEVAC, R. STOJKOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ and I. MAYER (2003): Anwendung des natürlicher zeoliths clinoptilolith bei der behandlung von verbrennungen einer hundin und zwei welpen. *Tierarzt. Umsch.* 58, 78-87.
5. BEDRICA, Lj., M. CERGOJ, J. JEREMIĆ, I. HARAPIN, D. GRAČNER, N. MAČEŠIĆ, N. MAS, and B. NJARI (2007): Die wirkung des natürlichen zeolith clinoptilolith auf milchdrüsentumoren von hündinnen. *Tierarztl. Umsch.* 62, 84-90.
6. BELL, R. G. (2001): What are Zeolites? <http://www.bza.org/zeolites.html>.
7. BRECK, D. W. (1964): Crystalline molecular sieves. *J. Chem. Educ.* 41, 678-689.
8. CHELISHAVHEVA, R. V. (1980): Experience in using natural zeolites as food additives in pig-breeding. In: *Natural zeolites in agriculture, Prog. Symp. Utilization of Natural zeolites in Agriculture*, Sukhumi, 189-194.
9. COLELLA, C. (1999): Natural zeolites in environmentally friendly processes and applications. *Stud. Surface Sci. Catalysis* 125, 641-655.
10. CONCEPCION-ROSABAL, B., G. RODRIGUEZ FUENTES and R. SIMON-CARBALLO (1997): Development and featuring of the zeolit active principle fz: a glucose adsorbent. *Zeolites* 19, 47-50.
11. DUBININ, M. M. (1980): Progress in Surface Science and Membrane Science. *J. Colloid Interface Sci.* 75, 34.
12. FLANIGEN, E. M. (1980): Molecular sieve zeolite technology the first twenty-five years. In: REES L. V. C. (ed.) *Proceedings of the 5th International Conference on Zeolites*. Heyden, London, 760-780.
13. FUENTES, G. R., M. A. BARIOS, A. IRAIZOZ, I. PERDOMO and B. CEDRE (1997): Enterex: Antidiarrheic drug based on purified natural clinoptilolite. *Zeolites* 19, 441-448.
14. GARCES, J. M. (1999): Observations on zeolite applications. In: TREACZ, M. M. J., B. K. MARCUS, M. E. MISHNER, J. B. HIGGINS (eds.). *Proceedings of the 12th international conference on zeolites*. Materials Research Society, Warrendale, 551-566.
15. GEREŠ, D. (2002): Tumori mliječne žlijezde u domaćih životinja. In: *Veterinarska onkologija*, Grabarević, Ž. ur., 451-488.
16. GUTZMIRTL, D., G. KRALIK, V. MARGETA, Z. ŠKRITIĆ, D. HANŽEK (2006): Utjecaj zeolita na tovnost i klonička svojstva svinja. *Krmiva* 48, 121-129.
17. HAN, I., H. K. PARK and C. S. KIM (1976): Studies on the nutritive value of zeolites. 2. Effects of zeolite rich hull mixture on the performance of growing-finishing swine. *Korean. J. Anim. Sci.* 18, 225-230.
18. KONDO, N. and B. WAGAI (1968): Experimental use of clinoptilolite tuff as dietary supplement for pigs. *Yotonhai*, 1-4.
19. LEAVEN, B. (2011): Zeolites. <http://www.encyclopedia.com/doc/1G2-3400900551.html>.
20. KVASHALI, N. P. H., G. MIKAUTADZE, A. Y. URUSHADZE and G. V. TISTSISHVILI (1981): *Natural Zeolites in Agriculture*. Prog. Symp. Tbilisi, 189-196.
21. LIM, Y., S. H. KIM, K. A. KIM, M. W. OH and K. H. LEE (1997): Involvement of protein kinase C, phospholipase C, and protein tyrosine kinase pathways in oxygen radical generation by abestos-stimulated alveolar macrophages. *Environ. Health. Perspect.* 105, 1325-1327.
22. MILIĆ, D., A. TOFANT, M. VUČEMILO, J. VENGLOVSKÝ and O. ONDRAŠOVIČOVÁ (2005): The performance of natural zeolite as a feed additive in reducing aerial ammonia and slurry ammonium ion concentration in the pig farm nursery. *Folia veterinaria* 49, 23-25.
23. MOMČILOVIĆ, B. (1999): Megamin. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 50, 67-78.
24. MUMPTON, F. A. (1977): *Mineralogy and Geology of the Natural Zeolites*. Mineralogical Society of America Reviews in Mineralogy, Vol. 4. Washington, DC: Mineralogical Society of America.
25. NABER, J., E., K. P. DE JONG, W. J. I. STORK and H. P. C. E. KUIPERS (1994): Industrial application of zeolite catalysis. *Stud. Surface Sci. Catalysis* 84C, 2197-2220.
26. NESTOROV, N. (1993): Possible applications of natural zeolites in Animal Husbandry. *Zeolite*, 93, 4th International Conference on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites, Boise, Idaho, June 20-28, 167-174.
27. PAVELIĆ, K., M. HADŽIJA, Lj. BEDRICA, I. PAVELIĆ, I. ĐIKIĆ, M. KATIĆ, M. KRALJ, M. HERAK, M. BOSNAR, S. KAPITANOVIĆ, M. POLJAK-BLAŽI, Š. KRIZANAC, R. STOJKOVIĆ, M. JURIN, B. SUBOTIĆ and M. ČOLIĆ (2001): Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy. *J. Mol. Med.* 78, 708-720.
28. RADIŠIĆ, B. (2005): Učinak aluminosilikatnih minerala clinoptilolita i kalcijeva montmorillonita te ascogen-a primijenjenih u hrani na cijeljenje loma lakatne kosti u kokoši. *Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb*.
29. SERSALE, R. (1985): Natural zeolites: processing, present and possible applications. *Stud. Surface Sci. Catalysis* 24, 503-512.
30. SHEPARD, R. A. (1984): Characterization of zeolitic materials in agricultural research. In: *Zeo-Agriculture: Use of Natural Zeolites in Agriculture and Aquaculture*, POND, W. G. and F. A. MUMPTON (eds.), Westview Press, Boulder, Colorado, 79-87.
31. SIMEONOVA, P., W. TORIUMI, C. KOMMINENI, M. ERKAN, A. E. MUNSON, W. N. ROM and M. I. LUSTER (1997): Molecular regulation of IL-6 activation by asbestos in lung epithelial cells: role of reactive oxygen species. *J. Immunol.* 159, 3921-3928.
32. TSUDA, T., Y. MORIMOTO and H. YAMATO (1997): Effects of mineral fibers on the expression of genes whose product may play a role in fiber pathogenesis. *Environ. Health. Perspect.* 105, 1173-1178.
33. TSITSISHVILI, G. V., T. G. ANDRONIKASHVILI,

- N. P. KVASHALI, R. M. BAGISHVALI and Z. A. ZURABASHVILI (1999): Agricultural applications of natural zeolites in the Soviet Union. In: *Zeo-Agriculture: Use of Natural Zeolites in Agriculture and Aquaculture*, POND, W. G. and F. A. MUMPTON (eds.), Westvies Press, Boulder, Colorado, 211-221.
34. UEKI, A., M. YAMAGUCHI, H. UEKI, Y. WATANABE, G. OHSAVVA, K. KINUGAWA, Y. KAWAKAMI and F. HYODORH (1994): Polyclonal human t-cell acitaviron by silicate in vitro. *Immunology* 82, 332-335.
35. VRZGULA, L. and P. BARTKO (1984): Effects of clinoptilolite on weight gain and some physiological parameters of swine. In: *Zeo-Agriculture: Use of Natural Zeolites in Agriculture and Aquaculture*, POND, W. G. and F. A. MUMPTON (eds.), Westvies Press, Boulder, Colorado, 161-166.
36. YANNAKOPOULOS, A., A. TSERVENI-GOUI, A. KASSOLI-FOURNARAKI, A. TSIRAMBIDES, K. MICHAILIDIS, A. FILIPPIDIS and U. LUTAT (2000.): Effects of dietary clinoptilolite – rich tuff on the performance of growing-finishing pigs. In: *Natural Zeolites for the Third Millennium*, C. COLELLA and F. A. MUMPTON (eds.), De Frede Editore, Napoli, 471-481.

Use of zeolite clinoptilolites in Veterinary Medicine

Iva GRUDEN, DVM; Damir ŽUBČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Berislav RADIŠIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Ivica HARAPIN, DVM, PhD, Full Professor, Darko CAPAK, DVM, PhD, Full Professor, Marija LIPAR, DVM, PhD, Senior Expert Associate, Ljiljana BEDRICA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Ljerka FUČKALA, DVM, MSc, Ministry of Agriculture, Veterinary directorate, Zagreb

Zeolites have a special place in modern medicine due to their attributes that combine alternative and modern medicine. Advanced technology has facilitated additional enhancement of their curative properties. Zeolites express many curative properties such as: disinfectant, antioxidant, anticarcinogenic, immunomodulation, antiviral and antibacterial, while also aiding in the treatment osteoporosis, wounds, burns, bleeding disorders and neurodegenerative disturbances and affecting the digestion and urologic systems. Activation of zeolite clinoptilolites is obtained by specific technological procedures of tribomechanic micronisation, i.e. breaking into nanoparticles. These particles are smaller than human and animal cells. In the tribomechanic processing of zeolite clinoptilolites, the physical and chemical properties are changed to increase the active surface area. Simultaneously, the

electrostatic charge is changed and the ion exchange capacity is increased, though the chemical components remain unchanged. These attributes enable clinoptilolites to bind to free radicals and toxins, and subsequently are excreted with the toxins from the body. Additionally, they increase the intracellular and extracellular pH, which is an anticancer characteristic, and they incite carbohydrate transport from blood into cells without insulin assistance. Zeolites can bind toxic heavy metals such as: lead, arsenic, cadmium and mercury. In the body, they absorb heavy metals, all kind of toxins and also medications, which thus requires caution if medications are combined with zeolites. Furthermore, zeolites are capable of absorption of toxins produced by moulds and microparasites that can be present in animal food and also increase food absorption.

DEMANT

Poštovani uredniče,
ovom Vas prilikom, kao koresponding autor, obavještavam da se Davor Popović, dipl. ing. agr. greškom spominje kao koautor rada „Primjena eteričnih ulja lavandi i lavandina u biomedicini i veterinarskoj medicini“. Naime, Davor Popović prilikom pripreme ovog rada ustupio nam je slike i informacije koje su potekle iz njegovih izvora, na čemu mu zahvaljujemo, ali navedeno ne smatra dostatnim za njegovim spominjanjem kao koautora navedenog rada.

S poštovanjem prof. dr. sc. Maja Popović

**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



Zbrinjavanje i neškodljivo uklanjanje lešina životinja, nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu namijenjeni prehrani ljudi i hranidbi životinja u zakonskim propisima kroz povijest



P. Džaja, K. Severin, Ana Džaja, D. Agičić, I. Vranješ i Ž. Grabarević

Uvod

Stare su civilizacije uočile problem u vezi s lešinama, zbog čega su ih sklanjali i uništavali kako se neka zarazna bolest životinja ne bi proširila. U Svetom pismu Starog zavjeta propisuje se spaljivanje lešina bolesnih životinja. U starom Rimu se meso, koje nije bilo za ljudsku uporabu, bacalo u Tiber. I prije i poslije ovih propisa problem lešina životinja i nusproizvoda koji nisu za prehranu ljudi ostali su isti, a kako stare tako i današnje države, problemu od posebne važnosti donose zakonske propise kojima reguliraju tu problematiku. Nekada su se lešine zbrinjavale i neškodljivo uklanjale na način da su se bacale u jame-grobnice, stočna groblja, uništavale spaljivanjem u pećima, odnosno termičkom obradom i po potrebi spaljivanjem dobivenih produkata ovisno o kojoj se kategoriji materijala radi. Naša almerije (objekt za utilizaciju) u Sesvetskom Kraljevcu može preraditi oko 130.000 t godišnje (2011. - oko 90.000 t). Imajući u vidu da se tjedno odbacuje 1.538 t animalnog otpada

nakon klanja, a ova je količina dovoljna da prekrije 4 nogometna igrališta. Pomnožimo to s 52 tjedna, proizlazi da bi se godišnje u Hrvatskoj s ovim otpadom koji nastaje samo iz njenih klaonica prekrilo 208 nogometnih igrališta. Ako znamo da Europa - Europska Unija proizvede godišnje 15.000.000 t životinjskog otpada, proizlazi da bi se prekrilo 9.749 nogometnih igrališta. Ako uzmemo željeznički vagon koji je nosivosti 50 t (noviji) i da je dužine oko 14 m, a imajući u vidu proizvedenu masu, onda bi se godišnje proizvedeni otpad u RH mogao poredati u 1.600 takvih vagona, a u Europi 300.000 vagona. To bi u Hrvatskoj iznosilo 22 kilometra, a Europi 4.200 km ovako poredanih vagona. Ako ovim brojkama u Hrvatskoj dodamo težinu uginulih životinja (lešine) proizlazi da su navedene brojke puno veće, odnosno u slučaju pojave neke zarazne bolesti mogu biti i još veće, što govori da se radi o vrlo ozbiljnom problemu.

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; Ana DŽAJA, mag. ing. oecoling., M SAN Eko; Damir AGIČIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Slavonski Brod; mr. Ivo VRANJEŠ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Križevci

Tabela 1. Količine zbrinutih životinjskih nusproizvoda u RH od 1996.-2008. g.

Godina	1996.	1997.	1998.	1999.	2000.	2001.	2002.	2003.	2004.	2005.	2006.	2007.	2008.
Količina otpada u tonama	19275	21145	23774	25037	24235	31457	40843	50054	52826	52032	64972	81152	81869

Tabela 2. Proizvodnja životinjskih nusproizvoda u 18 država EU od 2000.-2008. g.

Godina	Kategorija 1-2 x1000 t	Kategorija 3 x 1000 t	Ukupno x 1000 t
2000.	3010	13230	16240
2001.	4784	11035	15819
2002.	6297	10467	16765
2003.	5431	10296	15727
2004.	5625	9144	14769
2005.	5460	9200	14660
2006.	5840	9294	15134
2007.	5571	9667	15238
2008.	5613	9896	15509

Nije nam namjera u ovom radu prikazati najnovije načine iskorištavanja životinjskih lešina i nusproizvoda koji nisu za prehranu ljudi, već nam je namjera kroz zakonske propise prikazati ozbiljnost ovog problema prikazujući ne mali broj podzakonskih akata kojima je ovaj problem bio uređen. Ovdje smo se osvrnuli na dijelove zakona i podzakonskih akata koji direktno uređuju zbrinjavanje i uništavanje životinjskih leševa i drugog životinjskog materijala ne navodeći mjere koje su se poduzimale kod pojave neke zarazne bolesti i način zbrinjavanja lešina i drugog materijala. Ova mjera od davnina spada u mjere koje se naređuju da bi se spriječilo širenje zaraznih ili parazitarnih bolesti. Malo je područja u kojima se tako naglo promijenio način zbrinjavanja i iskorištavanja lešina i drugog materijala životinja kao što je ovo područje. U pregledu zakona ili podzakonskih akata ostavit ćemo pojmove koji su se nekada rabili. I danas se mogu čuti različiti pojmovi za uginulu životinju: strvina,

mrcina, lešina, crkotina, kreptina i dr. Kako je čovjek od davnine spoznao da se u dodiru s lešinama mogu mnoge bolesti prenijeti na zdrave životinje, kao i klaonički otpad i drugi proizvodi životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi, čovjek se trudio da ih zbrine i učini neškodljivim. Zakon ob uređenju veterinarstva u Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji (Anonymus, 1888.a) nalaže da je svaka općina dužna označiti mrcilište te isto ogradom ili živicom ograditi. Ovaj prostor morao je biti na odvojenom mjestu, udaljenom od sela, gospodarstva, cesta, putova, pašnjaka i zdenaca. Mrcine su se uništavale obično zakapanjem u toliko duboke jame da se na mrcini može nasuti sloj od 2 m zemlje. Mrcine koje su uginule od zarazne bolesti trebalo je na mrcilištu zakopati na posebnom mjestu. Samo uz dopuštenje obrtni ovlasti moglo se otkapati jame za kupljenje kostiju i to ako je prošlo 10 godina, a prije od 10 godina samo uz dopuštenje Zemaljske vlade. U pravilu kosti su se mogle pobrati samo onda kad

su životinje same istrunule i ako je zamijećeno da će se kosti rabiti u tvornici. Mrcine su se mogle spaljivati samo tamo gdje se lešine nisu mogle duboko zakopati. Mrcine su se mogle kemijskim putem izrabljivati samo u tvornicama koje su za taj posao uređene i koje su pod nadzorom stručnjaka i za koje postoji odobrenje oblasti. Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1888.b) je nalogala da Kraljevska zemaljska vlada Odjel za unutarnje poslove ustanovi broj marve u pojedinim mjestima gdje je trebalo postaviti živodernice. Uredovnim veterinarima pripadalo je pravo i dužnost da putem nadležne oblasti podnesu prijedlog o gradnji živodernica u pojedinim općinama i mjestima. Posao je živodera bio sljedeći: hvatanje pasa koji klatare, otprema mrcine na mrcinište te po propisu zakopavanje, tamanjenje životinja. Živoder se prije namještanja zavjerio da će točno i savjesno obavljati nadležne poslove. Mrcine se uništavaju zakapanjem u jame tolike dubine da se na mrcine naspe 2 m zemlje, a mrcine koje su uginule ili utamanjene od zarazne bolesti valjalo je zakopati na posebnom mjestu mrciništa. Otkapanje jama s ciljem kupljena kostiju moglo se samo uz dopuštenje obrtno oblasti i to nakon 10 godina, a prije 10 godina uz dopuštenje zemaljske vlade Odjela za unutarnje poslove. Ako se mrcine nisu mogle duboko zakopati mogle su se spaliti, a trebalo ih je politi petrolejom ili katranom te zapaliti i potpuno sažgati. Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade (Anonymus, 1914.) naređivala je da je dužnost svih koji doznaju prijaviti uginuće bilo koje životinje. Općine su bile dužne prijaviti kotarskoj oblasti, a veterinar bi na temelju prijave izišao na lice mjesta radi ustanovljena zarazne bolesti. Zakon o suzbijanju i ugušivanju stočnih zaraza (Anonymus, 1928.), nalogao je da leševi uginulih životinja, bez obzira od kakve su bolesti životinje uginule trebalo odmah na bezopasan i najpogodniji način ukloniti i propisno ukopati ili uništiti. Taj je posao spadao u

dužnosti općine. Pod kojim su se uvjetima i kako lešine i dijelovi lešine mogli iskoristiti propisivao je ministar. Općine su dužne da u svom području odrede mjesto za ukapanje životinjskih leševa (strvišta). Strvodernice (mjesto i lokali za sekciju leševa i za njihovu industrijsku uporabu) su se morale podići gdje je upravna vlast smatrala da je potrebno. Osobe koje su dolazile u dodir s tuđom stokom, sa stočnim lešinama ili sa životinjskim otpacima, morale su poštivati propise o čistoći tijela, odjela, obuće i predmeta koje su sobom nosili, kako bi se spriječilo širenje zaraze. Naredba Kr. banske uprave Savske banovine (Anonymus, 1931.) nalogala je da svako selo treba imati svoje vlastito strvište gdje je god to moguće, a ako nije moguće onda 4 do 5 sela, a trebalo je biti postavljeno na prigodno mjesto koje će kolima biti lako pristupačno. Zemljište je moralo biti tako da su se jame mogle duboke kopati, a nije smjelo biti podvodno. Svako je strvište trebalo biti ograđeno da psi i druga divljač nisu mogli na njega dolaziti. Gdje nije bilo ograde strvište je trebalo opasati jamom širine 1,5 metara te dubine 1 m, a na nasip od jame trebalo je zasaditi živicu do postavljanja bodljikave žice. Svako je strvište trebalo imati jedan ulaz koji se zaključavao. Ključ je čuvao seoski starješina. On je trebao paziti da strvište uvijek bude u redu. Općinski je starješina trebao uvijek biti kod zakapanja konja, goveda, ovaca, koza i svinja, a kod pasa i mačaka kad su iste uginule ili utamanjene zbog bjesnoće ili sumnje na nju. Nadležno općinsko poglavarstvo imenovalo je zamjenika seoskog starješinu. Iz općinske se zaklade seoskom starješini za veliku životinju isplaćivalo 10, a za malu 5 dinara. Pristup je strvištu bio dopušten samo zaposlenicima, a strogo se zabranjivalo otkapati zakopane lešine. Svaka je strvina uginule životinje-konja, goveda, ovce, koze, svinje, psa, mačke i peradi morala biti dobro zakopana na seoskom strvištu u dosta duboku jamu, za veliku životinju 2, a za malu 1 m. Strvinu je valjalo posuti raskužnim

sredstvom. Ako strvinu nije zakopao općinski strvoder, lešinu je na strvište dopremao i zakopavao sam vlasnik, odnosno, onaj koga on pošalje. Sa strvinom je trebalo zakopati sve s čim je lešina došla u kontakt. Strogo je bilo zabranjeno zakapanje i bacanje lešina po dvorištima, šljivicima, pašnjacima, u vode, potoke, rijeke te otuđivanje strvina. Dopušteno je bilo jedino spaljivanje strvina ako se to radi u prisustvu općinskog strvodera, odnosno seoskog starješine i to da u jednom mahu izgore zajedno s otpatcima. Svaki je vlasnik strvine od uginule domaće životinje, uz navod dotičnih znakova bolesti i po mogućnosti uzroka uginuća, bio dužan odmah, dok životinja ugi ne, to prijaviti nadležnom seoskom starješini. Guljenje kože, rezanje grive, repa, papaka sa strvina u pravilu je dopušteno samo tada kada je posve jasno da se ne radi ni o kakvoj zaraznoj bolesti. Odredbu u tom pravcu izdavalo je „sresko načelstvo“ (državni veterinar). Koža se uništavala gustim rezanjem tako da postane potpuno bezvrijedna i neuporabljiva. Ako se skidala dlaka, papci, rogovi leševa koji su uginuli od zaraznih bolesti koje nisu u zakonu navedeni, onda je prije toga trebalo iste raskužiti s 55 otopinom vapna ili 3% otopinom kreolina. Ako je bilo moguće svaka je upravna općina morala imati svojega strvodera, a ako ne onda njih 2 do 3. Pravilnik o uklanjanju i uništavanju životinjskih leševa i otpadaka (Anonymus, 1939.) pod lešinama je podrazumijevao sve domaće i divlje životinje, uključivo i pernatu živinu i ptice, koje su uginule; mrtvorodne i pobačene, zatim cijele zaklane ili usmrćene životinje nepodesne za ljudsku hranu, a pod životinjskim otpacima sve odvojene dijelove navedenih životinja kao sve životne namirnice živ. podrijetla nađene nepodesnim za ljudsku hranu. Vlasnik stoke, čuvar ili pratitelj dužni su prijaviti svaki slučaj uginuća navedenih životinja općinskom ili seoskom starješini u kome se slučaj desio. Prijavu je bio dužan učiniti i veterinar koji je stoku liječio ili pregledavao, zatim pregledač

stoke za klanje i mesa i svaki javni službenik koji primjeti uginuće. Lugari, žandari, čuvari lova i lovci bili su dužni prijaviti svako uginuće divljači starješini najbliže općine ili sela. Životinjski leševi i otpatci nisu se smjeli upotrijebiti, ni iskoristiti, ni staviti u promet za ljudsku hranu jer su se morali neškodljivo ukloniti i uništiti, osim u slučajevima u kojima je to bilo dopušteno za preradu i za hranidbu životinja. Sve općine i gradovi bile su dužne ukloniti sve životinjske lešine i otpatke i u tu svrhu podignuti potreban uređaj za neškodljivo uklanjanje i uništavanje i to: strvište ili jamu grobnicu, ili peći za spaljivanje ili postrojenje za iskorištavanje leševa i otpadaka i starati se o njihovom održavanju. Samo se iznimno mogla podignuti strvodernica bez neposredne veze s uređajem za uklanjanje lešina. U tom slučaju pri izboru mjesta za strvodernice trebalo se držati istih propisa koji su vrijedili za podizanje javnih higijenskih ustanova uopće. Prije uništavanja lešine potrebna je bila razudba i to u svakom slučaju kada je postojala sumnja na zaraznu bolest te ako ju je vlasnik životinje zatražio, a nadležni se veterinar s time složio. Pri izboru mjesta za strvišta, jame grobnice ili peći za spaljivanje trebalo je pribaviti mišljenje veterinarskog i sanitarnog referenta. Ban je konzultirajući nadležni higijenski zavod propisivao uputstvom detalje kojih se trebalo pridržavati kod izbora mjesta za strvišta i jame grobnice, veličine strvišta ili jame, načina gradnje, vrstu zatvaranja ograde, kopanje i dr. Jama grobnica smjela se otvarati i u nju se moglo ubacivati samo u prisustvu izaslanika općinske uprave, a ključ jame čuvala je osoba određena od općinske vlasti. Kada se jama grobnica napunila 1 m do vrha (ploče) zatrpavala se zemljom i najmanje se 15 godina nije smjela upotrebljavati od dana zadnjeg ubacivanja. U svim gradovima, varošima i većim općinama trebalo je sagraditi pri uređajima za uklanjanje lešina strvodernice, odnosno komore za čuvanje leševa i za razudbu. Nekada je

strvodernicu podizala Banska uprava za više srezova. U iznimnim slučajevima mogla se strvodernica podignuti bez da je imala vezu s uređajem za uklanjanje lešina. Dopuštenje za gradnju strvodernice za neku općinu davala je općinska uprava prvog stupnja, a za grad je davao ban. Tamo gdje je podvodno tlo, jeftino gorivo, moglo se pojedinačno ili udruženo podignuti peć za spaljivanje i to prije svega na strvodernicama ili klaonicama. Dopuštenje za industrijsko iskorištavanje leševa davao je ministar. Ukoliko su to dopuštali veterinarsko-policijski propisi dijelovi lešina mogli su se staviti u promet ako se podvrgnu sljedećim postupcima i to: koža koja se ne otpremi u tvornicu odmah poslije skidanja tek nakon soljenja ili sušenja, kosti, rogovi, papci, kopita, dlake i čekinje tek nakon dezinfekcije i sušenja, vuna i perje tek nakon pranja i sušenja, tetive nakon dezinfekcije i sušenja, slanina i salo tek nakon topljenja i denaturiranja. Sve se ovo radi pod nadzorom nadležnog veterinara. Životinjski leševi ili njihovi dijelovi i namirnice koje nisu za prehranu ljudi morale su se neškodljivo ukloniti osim ako su životinje uginule ili zaklane u transportu, lešine potrebne za ispitivanje uzoraka uginuća i sl. Bilo je strogo zabranjeno zakapati lešine u dvorištima, okućnicama, šljivicama, pašnjacima i livadama ili na bilo kojem drugom mjestu koje za to nije određeno. Uz potvrdu veterinara ili općinskog poglavarstva, životinja se mogla zakapati na drugom prikladnom mjestu kada je ista daleko od strvišta. U slučaju da je tlo kameno, veterinar je mogao odrediti drugi način uklanjanja lešine. Strvoder za obavljanje poslova veterinarsko-policijske naravi nije smio od privatnih osoba uzimati naknadu jer je za taj posao dobivao plaću. Dužnosti strvodera bile su: hvatanje, čuvanje i smještaj pasa, čuvanje i hranjenje, a nekada i njihovo tamanjenje, otpremanje leševa uginulih ili utamanjenih životinja, da ih ukopava, spaljuje, guli kože (ako je veterinarski opravdano), otvara trupove uginulih životinja (za razudbu), stalno vrši

dezinfekciju prostora i pribora, odnosi prijave o uginućima, da hrani, njeguje životinje predane za promatranje i dr. Uredba o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza (Anonymus, 1948.) nalagala je da svako mjesto ili više manjih mjesta mora imati određeni prostor, odnosno postrojenje za neškodljivo uklanjanje životinjskih leševa i otpadaka. U nekim slučajevima kada su epizootiološke prilike dopuštale mogli su se dijelovi lešina iskoristiti: koža, vuna, perje, kosti, rogovi, papci, kopita, dlake, čekinje, a također meso i mast, iako su se leševi morali uništiti. Pravilnik za izvršenje Uredbe o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza (Anonymus, 1949.) je propisivao da se leševi uginulih životinja (domaćih i divljih), bez obzira od kakve su bolesti uginule, leševi zakopanih ili ubijenih životinja čije je meso neuporabljivo za ljudsku hranu kao i klaonički konfiskati moraju odmah učiniti neškodljivim. Oni su se mogli prerađivati u tehničke svrhe, ako je udovoljeno ovom pravilniku. Postrojenja za preradu životinjskih lešina i dijelova životinja koji nisu za prehranu ljudi nisu se smjeli podizati blizu stambenih i poljoprivrednih objekata. Postrojenje za prerađivanje životinjskih leševa moralo je imati posebno osoblje i specijalna prijevozna sredstva. Dopremljene lešine, dijelovi lešina i klaonički otpad dopremljeni na preradu nisu se smjeli neprerađeni dalje otpremati. U mjestima gdje nije bilo kafilerija morale su se lešine i drugi otpad neškodljivo ukloniti, bilo da se zakopaju, spale, ili na drugi način učine neškodljivim. Svako je mjesto trebalo imati prostor za jamu grobnicu, stočno groblje te prostor s komorom za čuvanje i sekciju leševa. Stočno se groblje moralo graditi na suhom terenu gdje nisu mogle dolaziti druge životinje te se nije smjelo podizati blizu bunara, ljudskih nastambi, odvodnih kanala, prometnica, pašnjaka i sl. Samo je veterinar mogao odobriti odnošenje papaka, vune, rogova, kože sa stočnog groblja. Na udaljenim pašnjacima moralo je biti mjesto za neškodljivo uklanjanje životinjskih leševa

i otpadaka, a koje je moralo biti udaljeno od pojilišta i putova. Ovo se određivanje obavljalo u sporazumu s nadležnom sanitarnom inspekcijom. Zakon o veterinarskoj službi (Anonymus, 1965.) propisivao je da veterinarski higijeničari obavljaju skupljanje i neškodljivo uklanjanje životinjskih leševa, kao i hvatanje pasa luralica. Veterinarski higijeničari su bili uključeni u stručni kadar osoblja veterinarskih stanica. Zakon o mjerama za zaštitu stoke od stočnih zaraza (Anonymus, 1967.) je propisivao da Općinska skupština propisuje uvjete za strviništa, jame grobnice i kafilerije, kao i uvjete pod kojima je bilo dopušteno dijelove životinjskih leševa odnositi sa strviništa, jama grobnica i kafilerije. Ona je donosila propise o neškodljivom uklanjanju životinjskih leševa i dijelova zaklanih životinja koje je bilo zabranjeno koristiti za ljudsku prehranu te način obavljanja higijeničarske službe. Ista je mogla zabraniti zakapanje životinjskih leševa, ako postoji mogućnost njihove prerade putem kafilerije. Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti (Anonymus, 1979.) je nalogao da životinjski leševi, životinjski otpatci i životinjski konfiskati (životinjske sirovine i životinjski proizvodi koji su obveznim pregledom proglašeni neuporabljivim za ljudsku hranu) su se morali učiniti neškodljivim u objektima za neškodljivo uklanjanje životinjskih leševa. Objekti za neškodljivo uklanjanje životinjskih leševa, životinjskih otpadaka i konfiskata (kafilerije, jame grobnice i stočna groblja) morale su ispunjavati propisane uvjete i biti pod veterinarsko sanitarnim nadzorom. Uvjete koje su morali ispunjavati ovi objekti propisivao je nadležni rukovoditelj Republičkog organa uprave. Na području gdje je postojala kafilerija, leševi kopitara i papkara te otpatci životinja zaklanih u klaonicama morali su se uklanjati u kafilerijama. Posjednici životinja bili su dužni kafilerijama prijaviti i predati životinjski leš, životinjske otpatke i konfiskate. Kafilerija je bila dužna

osigurati preuzimanje i prijevoz životinjskih leševa, životinjskih otpadaka i konfiskata. Mjesta i način neškodljivog uklanjanja životinjskih lešina, životinjskih otpadaka i konfiskata određivala je općinska skupština koja je odlučivala o naknadi i visini naknade za neškodljivo uklanjanje. Zakon o veterinarstvu (Anonymus, 1997.) je definirao pojam utilizacije kao dopušteni postupak neškodljivog iskorištavanja lešina, konfiskata, određenih nejestivih nusproizvoda klanja, rasijecanja, obrade i prerade mesa, ribe, divljači, mlijeka, jaja, meda, preradom u proizvode namijenjene hranidbi životinja ili industrijskoj uporabi koja se obavlja u odobrenim objektima za utilizaciju. Neškodljivo je uklanjanje propisani postupak neškodljivog uklanjanja lešina, konfiskata (određeni nejestivi nus- proizvod klanja i valionički otpad), određenih nejestivih nusproizvoda klanja, rasijecanja, obrade i prerade ribe, mesa, divljači, mlijeka, jaja, meda i životinjskih proizvoda namijenjenih hranidbi životinja ili industrijskoj uporabi kada iz veterinarskih razloga i zaštite zdravlja ljudi, ne smiju ili se ne mogu iskoristiti daljom preradom, a koja se obavljala u odobrenim objektima za neškodljivo uklanjanje, zakapanjem u stočnim grobljima, jamama grobnicama ili spaljivanjem. Lešine, konfiskati i životinjski proizvodi namijenjeni utilizaciji moraju se učiniti neškodljivim u objektima za utilizaciju. Lešine i životinjski proizvodi podrijetlom od životinja oboljelih od zaraznih bolesti i valionički otpaci, moraju se učiniti neškodljivim u objektima za utilizaciju. Objekti za utilizaciju su objekti za preradu lešina, konfiskata, nejestivih nusproizvoda klanja i zdravstveno neispravnih životinjskih proizvoda u životinjske proizvode namijenjene hranidbi životinja ili industrijskoj uporabi. O udovoljavanju uvjeta za obavljanje gore navedenih poslova ravnatelj je na temelju mišljenja povjerenstva kojega je osnovao, donio rješenje u udovoljavanju veterinarsko-

zdravstvenim uvjetima. Za obavljeno sakupljanje, utilizaciju plaćala se naknada. Farme kopitara i papkara veće od 20 uvjetnih grla te klaonice morale su osigurati sabirališta te pravnim i fizičkim osobama koje obavljaju djelatnost utilizacije i neškodljivo uklanjanje prijaviti i predati lešine, konfiskate te životinjske proizvode namijenjene utilizaciji. Pravne osobe koje su obavljale poslove utilizacije morale su osigurati redovito preuzimanje i prijevoz lešina, konfiskata i dr. Jedinice lokalne samouprave bile su dužne osigurati higijeničarsku službu te snositi troškove za uklanjanje lešina, konfiskata, životinjskih proizvoda namijenjenih utilizaciji i neškodljivom uklanjanju, osim s gore navedenih farmi. Poslovi utilizacije i neškodljivog uklanjanja iz navedenih farmi obavljali su se na temelju stečene koncesije koju je mogla dobiti domaća pravna ili fizička osoba. Odluku za raspisivanje javnog natječaja donosila je Vlada na prijedlog ministarstva, a postupak natječaja provodilo je povjerenstvo od tri člana. Odluku o koncesiji donosila je Vlada, a Ugovor o sklapanju koncesije sklapao je ministar poljoprivrede na 10 godina. Pravilnik o načinu postupanja sa životinjskim lešinama i otpadom životinjskog podrijetla te o njihovom uništavanju (Anonymus, 2003.) propisuje način postupanja sa životinjskim lešinama i otpadom životinjskog podrijetla; veterinarsko-sanitarne uvjete kojima su morale udovoljavati prostorije i oprema za prihvata, sabirališta za privremeno odlaganje, objekte za toplinsku preradu životinjskih lešina i otpada životinjskog podrijetla i objekte za spaljivanje životinjskih proteina i životinjske masti; veterinarsko-sanitarne uvjete kojima moraju udovoljavati prijevozna sredstva za skupljanje i prijevoz životinjskih lešina i otpada životinjskog podrijetla. Pravilnik je definirao nekoliko pojmova: lešine su uginule, mrtvorodne ili pobačene životinje i životinje ubijene u postupku sprječavanja, suzbijanja i iskorjenjivanja bolesti na određenom području ili u nekoj

populaciji; a otpad životinjskog podrijetla se dijelio na konfiskat (organi i dijelovi trupla zaklanih životinja ocijenjeni higijenski neispravnim na osnovi rezultata veterinarsko-sanitarnih pregleda); sporedne nejestive nusproizvode klanja, rasijecanja i obrade – organi i tkiva zaklanih životinja koje se ne ubrajaju u meso u širem smislu riječi; tkiva visokog rizika goveda, ovaca i koza; krv zaklanih životinja koja se nisu upotrebljavala za ljudsku prehranu ni za preradu u kemijskoj, farmaceutskoj i drugoj industriji; životinjski proizvodi koji nisu valjani za ljudsku prehranu; otpatci iz valionica, ostali otpad životinjskog podrijetla. Postupanje sa životinjskim otpadom smatrano je profilaktičkom mjerom koja je usmjerena na otkrivanje, sprječavanje pojave, suzbijanje i iskorjenjivanje zaraznih i nametličkih bolesti ljudi i životinja i mjera veterinarske zaštite okoliša. Sa životinjskim se otpadom moralo postupati na način, da se: zaštititi zdravlje ljudi i zdravlje životinja, da se osiguraju uvjeti za proizvodnju higijenski valjanih životinjskih proizvoda za ljudsku prehranu, da se izbjegne onečišćavanje okoliša (vode, mora, tla, zraka, namirnica i krme), da se spriječi nekontrolirano odlaganje i razmnožavanje štetnih životinja i patogenih mikroorganizama, da se onemogući stvaranje neugodnih mirisa i narušavanje javnog reda i mira, da se podvrgne toplinskoj preradi i iskoriste vrijedna svojstva te da se vodi propisana evidencija i dostavljaju izvješća nadležnim upravnim tijelima. Držatelj papkara i kopitara prijavljivao je uginuće životinje nadležnom veterinarskom uredu radi njihova uklanjanja, a držatelj drugih vrsta životinja i druge osobe, trebali su prijaviti uginuće životinje nadležnom veterinarskom uredu, kada su na osnovu znakova posumnjali da je životinja bolovala i uginula od zarazne bolesti. Za uginulu se životinju prije otpreme na toplinsku preradu morao utvrditi uzrok uginuća. Uklanjanje životinjskog otpada nepoznatog proizvođača bila je obveza skupljača na

čijem se području nalazio životinjski otpad. Osoba koja bi našla životinjske lešine i životinjski otpad nepoznatog proizvođača, bila je dužna to odmah prijaviti nadležnom veterinarskom uredu. Držatelji i uzgojitelji životinja, odnosno podnositelj prijave nisu smjeli oderati kožu, otvoriti ili rasjeci životinjski leš. Nakon otpreme lešine obvezno je trebalo očistiti, oprati i dezinficirati mjesto na kojemu se lešina nalazila. U klaonici papkara prostorija za prihvrat morala je imati odgovarajući broj spremnika obilježenih prstenom crvene boje za prihvrat konfiskata i nejestivih nusproizvoda klanja. Prsten je morao biti širok 10 cm i opasivati sve strane spremnika, obilježenih tekstem crvene boje: „TKIVO VISOKOG RIZIKA”, za prihvrat tkiva visokog rizika, preostalog otpada goveda, ovaca i koza, lešina i zaraznog materijala životinjskog podrijetla. Visina slova je morala biti 15 cm. Životinjski otpad podvrgavao se toplinskoj preradi u kafileriji (objektu za utilizaciju). Toplinska je prerada podrazumijevala tlačnu sterilizaciju usitnjenog otpada na temperaturi od najmanje 133 °C kroz najmanje 20 minuta i tlaku vodene pare od 3 i više bara te veličinu dobivene čestice životinjskog proteina do 5 mm. Dobivene polupreradevine nakon toplinske prerade jesu: životinjski proteini (koštano, mesno i mesno-koštano brašno, krvno brašno, brašno od perja i tkiva peradi, riblje brašno, sve ostale polupreradevine koje sadrže životinjske proteine) i životinjska mast. Spaljivanje dijagnostičkog materijala obavlja se u odobrenim spalionicama opasnog otpada na temperaturi od najmanje 850 °C. Spaljivanje životinjskih proteina i životinjske masti obavljalo se u prilagođenim pećima industrijskih objekata, u kojima su se pri temperaturi 1200-1400 °C potpuno uništavale životinjske polupreradevine i deaktivirao mogući uzročnik GSE-a. Jama - grobnica se iznimno koristila za ubacivanje životinjskog otpada i morala je biti izgrađena izvan naseljenog mjesta, na

području koje urbanističkim planom nije predviđeno za izgradnju stambenih objekata, industrijskih objekata i objekata za proizvodnju, držanje i promet životinja, na zemljištu koje nije vodoplovno ni podvodno, udaljeno od vodotokova i izvora, morala je biti ograđena tako da se onemogući prilaz životinjama i morala je imati prilazni put. Jama – grobnica morala je biti duboka najmanje pet metara, a dno je moralo biti najmanje jedan metar iznad najviše razine podzemnih voda. Bočne stjenke jame – grobnice morale su biti zidane, tako da propuštaju tekućinu. Prostor oko jame – grobnice, u širini od najmanje 50 cm, morao je biti od krutog materijala, s padom prema okolnom terenu. Jama – grobnica morala je imati gornju ploču s poklopcem. Ploča je morala biti uzdignuta od okolnog tla, a poklopac je bio tako konstruiran da je onemogućavao izlaženje neprijatnih mirisa te se trebao zaključavati. Stočno groblje se iznimno koristilo za zakopavanje životinjskog otpada i moralo je biti izvan naseljenog mjesta i na području koje urbanističkim planom nije predviđeno za izgradnju stambenih objekata, industrijskih objekata i objekata za uzgoj, držanje i promet životinja, na zemljištu koje nije vodoplovno, podvodno, pokraj vodotokova i izvora, moralo je biti ograđeno tako da se onemogući ulazak životinja i imati prilazni put. Pravilnik o načinu postupanja s nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi (Anonymus, 2006.) propisivao je način postupanja s nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi te veterinarsko-zdravstvene uvjete za: skupljanje, prijevoz, uskladištenje, postupanje, preradu i uporabu ili uništavanje nusproizvoda životinjskog podrijetla, da bi se spriječilo da ti proizvodi postanu opasni za zdravlje ljudi i životinja te okoliš; puštanje u promet, uvoz, izvoz i provoz nusproizvoda životinjskog podrijetla i njihovih prerađevina. Ovaj se Pravilnik nije odnosio na: sirovu hranu za kućne ljubimce koja dolazi iz

maloprodaje ili objekata za uskladištenje; tekuće mlijeko i kolostrum koji se uništavaju ili koriste na gospodarstvu na kojem su proizvedeni; cijele trupove ili dijelove trupova divljih životinja za koje se ne sumnja da su zaražene bolestima koje se mogu prenijeti na ljude ili životinje, osim riba ulovljenih u trgovinske svrhe te trupova ili dijelove trupova divljih životinja koji se koriste za izradu lovačkih trofeja; sirovu hranu za kućne ljubimce dobivenu od životinja zaklanih na poljoprivrednom gospodarstvu isključivo radi prehrane uzgajivača i njegove obitelji, u skladu s posebnim propisima; ugostiteljski otpad osim, ako dolazi iz prijevoznih sredstava iz međunarodnog prometa; ako je namijenjen hranidbi životinja; ako je namijenjen za proizvodnju bioplina ili komposta; jajašca, zametke i sjeme za potrebe uzgoja; i prekomorski ili zračni provoz. Nusproizvodi životinjskog podrijetla i od njih dobiveni proizvodi morali su se skupljati, prevoziti, privremeno uskladištiti, toplinski prerađivati, uništavati, stavljati u promet, uvoziti, izvoziti, provoziti i koristiti u skladu s ovim Pravilnikom. Postupanje s nusproizvodima životinjskog podrijetla bila je profilaktička mjera usmjerena na otkrivanje, sprječavanje pojave, suzbijanje i iskorjenjivanje zaraznih i nametničkih bolesti ljudi i životinja i mjera veterinarske zaštite okoliša. S nusproizvodima životinjskog podrijetla se moralo postupati na način, da se: zaštititi zdravlje ljudi i zdravlje životinja, osiguraju uvjeti za proizvodnju higijenski ispravnih proizvoda životinjskog podrijetla za prehranu ljudi, izbjegne onečišćavanje okoliša (vode, mora, tla, zraka, namirnica i krme), spriječi nekontrolirano odlaganje i razmnožavanje štetnih životinja i patogenih mikroorganizama, onemogućiti stvaranje neugodnih mirisa i narušavanje javnog reda i mira, podvrgne preradi i iskoriste vrijedna svojstva, vodi propisana evidencija i dostavljaju izvješća nadležnim upravnim tijelima. Morale su se poduzeti sve potrebne mjere kako bi se osiguralo da su: materijali Kategorije 1, 2

i 3 tijekom skupljanja i prijevoza propisno označeni te da se u objektima čuvaju i privremeno uskladište odvojeno; i da su prerađevine nusproizvoda životinjskog podrijetla propisno označene, da se čuvaju i uskladišćuju odvojeno u propisanim uvjetima. Za vrijeme prijevoza na etiketi-oznaci koja je istaknuta na vozilu, spremniku, kartonu ili drugom ambalažnom materijalu moralo je jasno biti navedeno sljedeće: kategorija kojoj pripadaju nusproizvodi životinjskog podrijetla ili, ako se radi o prerađevinama, kategorija nusproizvoda od koje su dobivene prerađevine; i ako se radilo o materijalu Kategorije 3, natpis je bio plave boje: „Nije za prehranu ljudi“, ako se radilo o materijalu Kategorije 2 (osim stajskog gnoja i sadržaja probavnog trakta) i o njegovim prerađevinama, natpis je bio žute boje: „Nije za prehranu ljudi“, ili ako se radilo o materijalu Kategorije 1. i o njegovim prerađevinama, natpis je bio crvene boje: „Samo za uništavanje“. Zabranjeni su sljedeći načini uporabe nusproizvoda životinjskog podrijetla i prerađenih nusproizvoda: hranjenje životinjske vrste prerađenim životinjskim bjelancevinama dobivenim preradom nusproizvoda od iste životinjske vrste; hranjenje uzgajanih životinja, osim krznaša, ugostiteljskim otpadom, hranom za životinje koja sadrži ugostiteljski otpad ili hranom koja je proizvedena od ugostiteljskog otpada; i rasipanje po pašnjacima bilo kakvih organskih gnojiva i poboljšivača tla, osim stajskog gnoja. Odstupanja od navedenih odredbi moglo je odobriti nadležno tijelo u slučaju potreba hranidbe riba i krznaša. Zakon o veterinarstvu (Anonymus, 2007.) navodi da je prerada nusproizvoda životinjskog podrijetla – dopušteni postupak neškodljivog iskorištenja nusproizvoda životinjskog podrijetla preradom u proizvode namijenjene hranidbi životinja ili industrijskoj uporabi, koja se obavlja u odobrenim objektima za preradu nusproizvoda. Životinjske lešine i nusproizvodi životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi morali su se uništiti na

propisani način, kako se ne bi ugrozilo zdravlje ljudi i životinja te okoliš. Za obavljeno sakupljanje i uništavanje plaćala se naknada koju propisuje ministar. Korisnici objekata farmi, klaonica, rasjekaonica i dr., kao i tržnice i druga mjesta na kojima nastaju nusproizvodi životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi moraju osigurati njihovo privremeno čuvanje u propisanim uvjetima i otpremu na toplinsku preradu na način koji propisuje ministar. Pravne i fizičke osobe koje obavljaju poslove sakupljanja i prijevoza moraju osigurati redovito i cjelovito preuzimanje i prijevoz životinjskih lešina i nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi iz sabirališta i gore navedenih objekata. Jedinice lokalne samouprave i Grad Zagreb moraju osigurati higijeničarsku službu za sakupljanje s javnih površina životinjskih lešina radi njihovog uništavanja, osim iz gore navedenih objekata. Jedinice lokalne samouprave koje nisu osigurale higijeničarsku službu na njihovom području snose troškove za prijevoz i uništavanje životinjskih lešina i nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi, osim: iz gore navedenih objekata /farme više od 20 uvjetnih grla, klaonice i sl. te u slučajevima kada se troškovi prijevoza i toplinske prerade lešina goveda, kopitara, svinja, koza i ovaca podmiruju iz državnog proračuna, osim pravnim osobama koje se bave organiziranom stočarskom proizvodnjom, centrima za reprodukciju i umjetno osjemenjivanje, za uvezene životinje u karanteni, pravnim i fizičkim osobama koje se bave trgovinom životinja, a nemaju vlastitu proizvodnju te vlasnicima životinja koji nisu u propisanim rokovima obavili naređene mjere. Jedinice lokalne samouprave i Grad Zagreb, utvrđuju visinu naknade za sakupljanje i odvoz lešina i nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi na uništavanje toplinskom preradom, osim iz navedenih objekata. Sredstva ostvarena od ovih naknada prihod su higijeničarskih službi, odnosno

pravnih i fizičkih osoba koje obavljaju navedene poslove. Pravilnik o nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi (Anonymus, 2009.) propisuje veterinarsko-zdravstvene uvjete za: skupljanje, prijevoz, skladištenje, postupanje, preradu i uporabu ili uklanjanje nusproizvoda životinjskog podrijetla, radi sprječavanja da navedeni proizvodi dovedu u opasnost zdravlje životinja ili ljudi; stavljanje na tržište i, u određenim posebnim slučajevima, izvoz i provoz nusproizvoda životinjskog podrijetla i od njih dobivenih proizvoda. Ovaj Pravilnik ne dovodi u pitanje odredbe propisa iz područja veterinarstva koji se odnose na iskorjenjivanje i kontrolu određenih bolesti. Nusproizvodi životinjskog podrijetla su cijeli trupovi i lešine životinja ili dijelovi životinja, ili proizvodi životinjskog podrijetla, koji nisu namijenjeni prehrani ljudi, uključujući jajne stanice, zametke i sjeme. Nusproizvode se životinjskog podrijetla i od njih dobivene proizvode mora skupljati, prevoziti, skladištiti, s njima postupati, prerađivati, uklanjati, stavljeti na tržište, izvoziti, provoziti i koristiti u skladu s odredbama ovoga Pravilnika. Nadležno tijelo može odobriti uvoz i stavljanje na tržište proizvoda koji nisu navedeni u Dodatcima ovoga Pravilnika u skladu s nacionalnim propisima: osim ukoliko drugačije ne odredi Europska komisija, i nadležno tijelo o odobravanju navedenog uvoza obavještava Europsku komisiju. Materijal Kategorije 1 označava se crnom bojom, materijal Kategorije 2 (isključujući stajski gnoj i sadržaj probavnog trakta) žutom bojom, a materijal Kategorije 3 zelenom bojom s visokim sadržajem plave boje kako bi se osiguralo da se jasno razlikuje od drugih boja. Za vrijeme prijevoza oznaka na pakiranju, spremniku ili vozilu mora jasno isticati kategoriju nusproizvoda životinjskog podrijetla ili u slučaju prerađenih proizvoda, kategoriju nusproizvoda životinjskog podrijetla od koje su ti proizvodi dobiveni i sadržavati sljedeći tekst: za materijal Kategorije 3 –

„Nije za prehranu ljudi“, za materijal Kategorije 2 (isključujući stajski gnoj i sadržaj probavnog trakta) i prerađene proizvode dobivene od njih „Nije za hranidbu životinja“; ukoliko je materijal Kategorije 2 namijenjen hranidbi životinja (prema Pravilniku), oznaka mora sadržavati sljedeći tekst „Za hranidbu...“ navodeći određenu vrstu životinja za hranidbu, za koje je taj materijal namijenjen, za materijal Kategorije 1 i prerađene proizvode dobivene od njih – „Samo za uklanjanje“, za stajski gnoj i sadržaj probavnog trakta – stajski gnoj. Nadležno tijelo može, ukoliko je potrebno, odobriti: da se lešine kućnih ljubimaca mogu izravno ukloniti zakapanjem; da se sljedeći nusproizvodi životinjskog podrijetla, nastali na teže dostupnim područjima mogu uklanjati spaljivanjem ili zakapanjem na mjestu nastanka: materijal Kategorije 1, materijal Kategorije 2; materijal Kategorije 3. Nusproizvodi se životinjskog podrijetla mogu uklanjati spaljivanjem ili zakapanjem na mjestu nastanka u slučaju izbijanja bolesti s bivše liste A Svjetske organizacije za zdravlje životinja (OIE), ako nadležni veterinarski inspektor ne dopusti prijevoz do najbližeg objekta za spaljivanje ili preradu zbog opasnosti širenja rizika za zdravlje, ili zbog toga što je pojava epizootije poprimila takve razmjere da nema slobodnih kapaciteta u objektima za spaljivanje ili preradu.

Sažetak

Od davnina lešine životinja, nusproizvodi klanja koji su veterinarskim pregledom proglašeni neuporabivim za prehranu ljudi i dr. predstavljali su problem ljudima, i društvu zbog čega su se donosili mnogi zakonski i podzakonski akti koji su regulirali način zbrinjavanja i neškodljivog uklanjanja. Kasnije će zbrinjavanje i neškodljivo uklanjanje dobiti više na važnosti bilo da će se spominjati kao jedna od naređenih mjera suzbijanja pojave, odnosno sprječavanja širenja zaraznih bolesti ili zbog zaštite okoliša, zbog čega će propusti u zbrinjavanju i neškodljivom uklanjanju lešina i drugog životinjskog otpada biti sankcionirani, osim sankcijama Prekršajnog i sankcijama

Kaznenog zakona. Iz gore navedenoga proizlazi da se lešine i drugi životinjski otpad moraju pravilno u sabirnim mjestima čuvati i transportirati do utilitacijskog objekta. Isto tako, ovisno tko taj životinjski otpad proizvodi, plaća njegov proizvođač, odnosno u nekim slučajevima plaća se zbrinjavanje i neškodljivo uklanjanje iz državnog proračuna. Naš jedini utilitacijski objekt Agroproteinka koji se nalazi u Sesvetskom Kraljevcu može godišnje preraditi 130.000 tona, a sada trenutno preraduje oko 90.000 t što otvara mogućnost uvoza iz drugih država koje ovaj problem nemaju riješen. Nadležno tijelo može, ukoliko je potrebno, odobriti: da se lešine kućnih ljubimaca mogu izravno zakapanjem ukloniti; da se sljedeći nusproizvodi životinjskog podrijetla, nastali na teže dostupnim područjima, mogu uklanjati spaljivanjem ili zakapanjem na mjestu nastanka: materijal Kategorije 1, materijal Kategorije 2, materijal Kategorije 3. Nusproizvodi se životinjskog podrijetla mogu uklanjati spaljivanjem ili zakapanjem na mjestu nastanka u slučaju izbijanja bolesti s bivše liste A Svjetske organizacije za zdravlje životinja (OIE), ako nadležni veterinarski inspektor ne dopusti prijevoz do najbližeg objekta za spaljivanje ili preradu, zbog opasnosti širenja rizika za zdravlje ili zbog toga što je pojava epizootije poprimila takve razmjere da nema slobodnih kapaciteta u objektima za spaljivanje ili preradu.

Literatura

1. Anon. (1888a): Zakon ob uređenju veterinarstva u Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji od 1888. g.
2. Anon. (1888b): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 20. prosinca 1888.g., broj 46063.
3. Anon. (1914): Naredba Kr. Hrv.-Slav.-Dalm. Zemaljske vlade od 1914.g., broj 653.
4. Anon. (1928): Zakonom o suzbijanju i ugušivanju stočnih zaraza. Sl. novine, broj 144-LXVII.
5. Anon. (1931): Naredba Kr. banske uprave Savske banovine, otsjek za veterinarstvo u Zagrebu od 2. veljače 1931. g., broj 84722.
6. Anon. (1939): Pravilnik o uklanjanju i uništavanju životinjskih leševa i otpadaka. Sl. novine, broj 28.285-C.
7. Anon. (1948): Uredba o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza. *Službeni list* FNJR 48/1948.
8. Anon. (1949): Pravilnik za izvršenje Uredbe o suzbijanju i sprječavanju stočnih zaraza. *Službeni list* FNJR 51/1949.
9. Anon. (1965): Zakon o veterinarskoj službi. *Službene novine* SRH 10/1965.
10. Anon. (1967): Zakon o mjerama za zaštitu stoke od stočnih zaraza. *Narodne novine* 15/1967.

11. Anon. (1979): Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja i veterinarskoj djelatnosti. Narodne novine 11/1979.
12. Anon. (1997): Zakon o veterinarstvu. Narodne novine 70/1997.
13. Anon. (2003): Pravilnik o načinu postupanja sa životinjskim lešinama i otpadom životinjskog podrijetla te o njihovom uništavanju. Narodne novine 24/2003.
14. Anon. (2006): Pravilnik o načinu postupanja s nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi. Narodne novine 56/2006.
15. Anon. (2007): Zakon o veterinarstvu. Narodne novine 41/2007.
16. Anon. (2009): Pravilnik o nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi. Narodne novine 87/2009.

Disposal and harmless destruction of animal carcasses and animal by-products not intended for human and animal consumption in legislation through history

Petar DŽAJA, PhD, DVM, Full Professor, Krešimir SEVERIN, PhD, DVM, Assistant Professor, Željko GRABAREVIĆ, PhD, DVM, Full Professor; Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb; Ana DŽAJA, Master of Engineering Ecoengineering, M SAN Eko; Damir AGIČIĆ, DVM, Veterinary Office Slavonski Brod; Ivo VRANJEŠ, Master, DVM, Veterinary Station Križevci

Animal carcasses and animal by-products which have been declared unfit for human consumption after veterinary examination have long presented problems for humans and society and many laws and by-laws have been passed to regulate the procedures of harmless disposal of animal carcasses and animal by-products. Later, more importance would be given to disposal and harmless destruction as one of the imposed measures for eradication or prevention of the occurrence of animal diseases, or for the purposes of environmental protection. Failure to do so is sanctioned both pursuant to the Misdemeanour Act and the Criminal Code. It follows that carcasses and other animal waste must be properly stored at the collection points and transported to establishments for their disposal. The producer of the animal waste pays for the disposal and harmless destruction, though in some cases this is financed with funds from the state budget. Croatia's only rendering plant is Agroproteinka located in Sessvetski Kraljevec which can render an annual total of

130.000 tons, though the currently capacity is about 90.000 tons per year, which opens the possibility of imports from other countries experiencing problems with carcasses and other animal waste disposal. The competent authority may, where necessary, decide that: dead pet animals may be directly disposed of as waste by burial; the following animal by-products originating in remote areas may be disposed of as waste by burning or burial on site: Category 1 material, Category 2 material, and Category 3 material. Animal by-products may be disposed of as waste by burning or burial on site in the event of an outbreak of a disease listed on List A of the World Organisation for Animal Health (International Office of Epizootic Diseases - OIE), if the competent veterinary inspector rejects transport to the nearest incineration or rendering plant because of the danger of propagation of health risks, or when the capacity at such plants is exceeded due to a widespread outbreak of an epizootic disease.

Clinica veterinaria 2013.

Petnaesto regionalno savjetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja

(The 15th regional symposium in animal clinical pathology and therapy)



Dražen Đuričić

U glavnom gradu Republike Srbije Beogradu, na Fakultetu Veterinarske medicine održano je od 24.-26. svibnja 2013. godine XV. regionalno savjetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja (Clinica veterinaria 2013.). Skup je imao međunarodni karakter, jer su Skupu osim iz Srbije nazočili ugledni predavači iz Austrije, Grčke, Italije, Sjedinjenih Američkih Država, Slovenije i Hrvatske. Održana su predavanja podjeljena u tri sekcije: Reprodukcijska i klinička patologija krava te Klinička patologija malih životinja I i II. U popodnevnom satima se

moglo nazočiti radionicama s temama: „Ultrazvučna dijagnostika fizioloških i patoloških stanja u reprodukciji goveda“, „Dijagnostika i terapija količnih bolesti konja“, „Ultrazvučni pregled kod bolesti abdomena pasa i mačaka“, „Hormonske dermatoze kod pasa-gdje se griješi“, „Pregled kardiološkog pacijenta“, „Dijagnostički značaj pregleda retikulocita i pregleda urina kod pasa i mačaka“ te „Uporaba Domitora kod malih životinja“. Povrh toga prezentirani su studentski radovi kao i prilozima iz prakse. Pozvani predavači



Dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Veterinarska stanica, Đurđevac

iz Hrvatske bili su izvanredni profesori na Veterinarskom Fakultetu Sveučilišta u Zagrebu: prof. dr. sc. Marko Samardžija i prof. dr. sc. Vesna Matijatko te dr. sc. Dražen Đuričić, znanstveni savjetnik iz Veterinarske stanice Đurđevac. Prof. dr. sc. Marko Samardžija održao je predavanje o važnosti kontrole tijekom puerperalnog razdoblja u reprodukciji mliječnih pasmina krava, a dr. sc. Dražen Đuričić o primjeni ozona u svrhu poboljšanja reproduktivne sposobnosti kod krava. Prof. dr. sc. Vesna Matijatko

je održala predavanje pod nazivom: „Dijagnostika bolesti nadbubrežne žlijezde kod pasa i mačaka“. S obzirom da je želja organizatora bila da se u rad Skupa uključi što veći broj eminentnih predavača iz što više zemalja, smatram da je skup u potpunosti opravdao očekivanja te se nadam da će se suradnja za koju očigledno postoji znatan interes u budućnosti nastaviti na zadovoljstvo svih sudionika ovog značajnog i slobodno mogu reći uglednog Skupa.



Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i veterinarska izdavačka djelatnost u Republici Hrvatskoj 1991. – 2011.

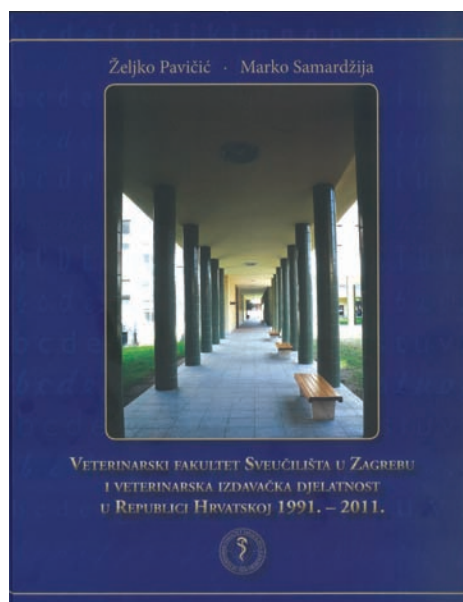
Prof. dr. sc. Željko Pavičić

Prof. dr. sc. Marko Samardžija

monografija

ISBN: 978-953-6062-92-8

Izdavač: Veterinarski fakultet Zagreb



U gotovo stogodišnjoj povijesti Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu razdoblje od 1991. do 2011. godine izuzetno je važno, ne samo zbog toga što Fakultet od početka devedesetih djeluje kao jedina veterinarska visokoškolska ustanova u samostalnoj i neovisnoj državi, nego i zato što je upravo u tom razdoblju doživio snažan razvoj, bez obzira na otežavajuće ratne i poslijeratne okolnosti, a kasnije i znanosti nenaklonjenu gospodarsku situaciju. Nastojeći držati korak s cijenenim veterinarskim fakultetima u Europi, Veterinarski je fakultet u Zagrebu nastojao zadržati tradicionalnu srednjoeuropsku veterinarsku doktrinu u obrazovanju brojnih generacija studenata veterinarske medicine. Uvijek se težilo

tomu da se sve spoznaje iz područja veterinarske medicine primjereno i na vrijeme uključe u nastavni proces, da se naši nastavnici educiraju na prestižnim europskim i svjetskim veterinarskim učilištima, a usporedno s tim radilo se na osuvremenjivanju opreme i prostora Fakulteta radi kvalitetnijeg izvođenja nastave i stručno-kliničkog rada. Uzevši u obzir ekonomsku situaciju koja nastavi, istraživanju i znanosti nikad nije osobito išla u prilog, Fakultet može biti samo još ponosniji, jer je unatoč svemu stekao prepoznatljivost na europskoj razini. Zasluga je to svih zaposlenika Fakulteta, rezultat njihova rada i zalaganja, osobito onih koji su osjetili da je vrijeme za promjene, koji su učinili pozitivne promjene i dalje rade na unapređenju nastave, znanosti i struke. Autori monografije prof. dr. sc. Željko Pavičić i prof. dr. sc. Marko Samardžija objedinili su nastavnu, znanstvenu, stručnu i, ne manje važnu, izdavačku djelatnost Fakulteta u ovoj monografiji, no osim toga na njezinim stranicama naći ćete i bitne podatke o ustroju Fakulteta kroz dva desetljeća, razvoju pojedinih organizacijskih jedinica i službi, poslovanju i informatizaciji, studentskim aktivnostima, suradnji i mnogim drugim aspektima rada Fakulteta. Posebno bih izdvojila dio govora prof. dr. sc. Željka Pavičića, održanog tijekom predstavljanja knjige, koji je naglasio:

“Knjiga koju danas predstavljamo konceptijski se razlikuje od drugih djela o Veterinarskom fakultetu, a nastala je na osnovi ideje prof. dr. sc. Marka Tadića o izdavanju monografije koju je trebala

pripremiti skupina autora pod radnim naslovom Dva desetljeća veterinarstva u Republici Hrvatskoj 1991. - 2011. Nažalost, zbog objektivnih razloga odustalo se od prvotne koncepcije izdavanja monografije, a budući da smo mi kao autori pripremili svoje priloge, odlučili smo se za izdavanje knjige u ovom obliku. Ponudu prof. dr. sc. Marka Tadića za pisanje priloga o Veterinarskom fakultetu prihvatio sam kao čast, ali i ujedno kao izazov da se okušam u sažimanju glavnih odlika 20-godišnjeg rada Veterinarskog fakulteta u razdoblju u kojemu Fakultet, uz smišljeno vođenje uprava i zalaganje svih zaposlenika doživljava snažan razvoj te izrasta u suvremenu visokoobrazovnu instituciju, svrstavajući se uz bok s priznatim veterinarskim učilištima u Europi. U prilog tomu govori činjenica da je već 2002. godine evaluiran od neovisnih međunarodnih eksperata koji su zaključili da ispunjava europske norme u veterinarskom visokoškolskom obrazovanju. Dakle, nastavni plan i program za stjecanje akademskog zvanja doktor veterinarske medicine već je tada bio usuglašen s europskim kriterijima, a kasnije osuvremenjivan, zbog čega je 2009. godine, tijekom provedbe pretprijetnih pregovora s EU, Europska komisija procijenila da nema potrebe za obrazlaganjem kurikuluma našeg fakulteta pred odgovarajućim tijelima

u Bruxelles-u, uzevši pritom u obzir podatak da se nalazimo na listi pozitivno ocijenjenih veterinarskih učilišta od strane Europske udruge ustanova za veterinarsku izobrazbu...

... Danas s osobitim ponosom možemo reći da smo studenti, zaposlenici, suradnici, ali i umirovljenici Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, a zašto je tomu tako i zbog čega je pisanom riječju trebalo obilježiti naslovno razdoblje kao trajni zapis jednog vremena u postojanju Fakulteta, ostavljam Vama da pronađete među koricama ove knjige..."

Zaključno, ističem da je monografija Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i veterinarska izdavačka djelatnost u Republici Hrvatskoj 1991. - 2011. prof. dr. sc. Željka Pavičića i prof. dr. sc. Marka Samardžije prvo djelo koje se na sveobuhvatan način bavi djelatnošću Fakulteta, obuhvativši pritom jedno izuzetno važno razdoblje u njegovoj povijesti. Preostaje nam samo da se zahvalimo autorima, prije svega na ideji, odnosno potpori ideje te na trudu da na jednome mjestu objave sve što je Fakultet prošao i učinio otkada djeluje u samostalnoj Republici Hrvatskoj, naravno, i da im čestitamo na uspješnosti toga pothvata.

Željana KLJEČANIN FRANIĆ

50 godina postojanja Veterinarske stanice Varaždin



Godine 2000. Veterinarska stanica Varaždin obilježila je hvalevrijednu pedesetgodišnjicu svojeg postojanja. Svečana akademija održana je u koncertnoj dvorani HNK-a u Varaždinu. Svečanosti su nazočili mnogi uglednici iz Uprave za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede i šumarstva

RH, Veterinarskog fakulteta Zagreb, Hrvatskog veterinarskog instituta, Hrvatske veterinarske komore, veterinarskih stanica i društveno političkih organizacija. Svojom nazočnošću, skup su uljepšale djelatnice Službe zajedničkih poslova Veterinarske stanice Varaždin.



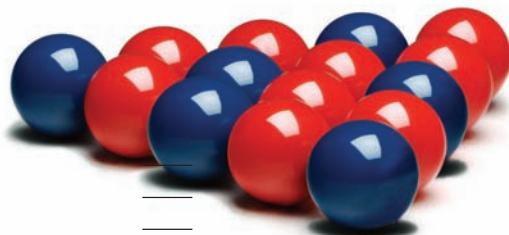
1. red s lijeva: dr. sc. Božidar ŠIMUNIĆ, dr. med. vet., mr. sc. Mirko RAMUŠČAK, Aldo KURSAR, dr. med. vet., prof. dr. sc. Zdenko MAKEK, dr. med. vet., Krešimir SAMOBOR, dr. med. vet., dr. sc. Matko BRSTILO, dr. med. vet., 2. red s lijeva: mr. sc. Stanko POPOVIĆ, dr. med. vet., Miljenka MATIĆ, dr. med. vet., Antun STIVIĆ, dr. med. vet. te u nastavku reda prof. dr. sc. Josip KOS i akademik Slavko CVETNIĆ



S lijeva: Irena KUKEC, Vesna SMETIŠKO, Marina SLUNJSKI i Nada TROGRLIĆ. Tom su prilikom svim nazočnima podijelile prigodno tiskanu Monografiju Veterinarske stanice Varaždin.

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

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

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

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

In memoriam - dr. sc. Marijan Kranjc, dr. med. vet.



Umro je dr. sc. Marijan Kranjc, dr. med. vet.

Otišavši u vječnost, zauvijek nas je napustio plemenit čovjek, čovjek čvrste i postojane osobnosti, beskompromisnih, ali pravednih životnih načela, istaknuti i štovani kolega, učitelj, iskreni prijatelj - odličnik. Shrvan teškom bolešću umro je u Varaždinu dne. 2. svibnja 2013. godine.

Dr. sc. Marijan Kranjc rodio se 7. rujna 1934. godine u Zagrebu. Osnovnu je školu počeo pohađati u Zagrebu da bi nastavio u Gornjem Mihaljercu, mjestu u Međimurju uz koje je bio vezan roditeljskim korijenima. Nakon završena četiri razreda osnovnog obrazovanja, upisuje Gimnaziju u Varaždinu te nakon završenih osam

razreda niže i više Gimnazije upisuje Veterinarski fakultet u Zagrebu. Diplomirao je na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu 25. svibnja 1961. godine. Iste godine, 1. srpnja, počeo je raditi u Veterinarskoj stanici Varaždin, podružna ambulanta Petrijanec, u kojoj je ostao do 1976. nakon čega dolazi u stožernu ambulantu Veterinarske stanice u Varaždinu, ambulantu Biškupec. Svojim znanjem i iskustvom daje veliki doprinos afirmaciji struke, angažiran naročito na širenju i unapređenju veterinarske djelatnosti.

Vođen idejom o nužnosti iznalaženja novih djelatnosti, dolaskom u varaždinsku ambulantu 1976., zauzima se i započinje pionirski poduhvat formiranja Odjela za deratizaciju, dezinfekciju i dezinsekciju. Iste godine uz poslove sanitacije stočarskih proizvodnih objekata u vlasništvu Veterinarske stanice Varaždin, kao i onih u kooperanata, provodi uz osposobljeni tim, deratizaciju svih domaćinstava u prigradskim ruralnim naseljima. Program širenja djelatnosti Odjela krenuo je krupnim koracima naprijed što je neotuđiva zasluga dr. Marijana Kranjca. Njegova čvrsta volja i odlučnost, znanje i upornost tomu su svakako prisnažili. Čvrst i nepokolebljiv nije odustajao niti onda kada nije imao podršku onih od kojih ju je morao i zaslužio imati.

Marijan je prije svega bio veterinar praktičar, ali je našao vremena i za bavljenje znanošću. Dakako, u svoje slobodno vrijeme, a počesto i na uštrb svoje obitelji. Već bogatog radnog

iskustva upisuje poslijediplomski studij na Zavodu za zoohigijenu. Godine 1979., 25. svibnja obranio je magistarski rad pod naslovom „Higijensko sanitarne mjere u tovilištu junadi“. Na istom Zavodu godine 17. listopada 1984., stiče znanstveni stupanj doktora znanosti obranom doktorske disertacije pod naslovom „Mikroklimatski uvjeti, zdravstveno stanje i prirast svinja u tovu pod različitim uvjetima držanja“. Publicirao je 22 stručna i znanstvena rada te niz popularnih članaka i zapisa.

Godine 1999., 7. rujna, dr. sc. Marijan Krajnc otišao je u zasluženu mirovinu. Posvetio se svojoj obitelji, svojemu imanju u Međimurju.

Vrijeme provedeno s Marijanom je vrijeme kojeg ćemo se s radošću sjećati, vrijeme koje će ostati duboko urezano u naše pamćenje. Omiljen, naročito među mlađim kolegama, bio je nepresušno vrelo priča iz veterinarskog života nadahnutih radošću, duhovitošću,

njegovim osebnim načinom njihova kazivanja. Svoje veliko životno i strukovno iskustvo kao i znanje uvijek je bio spreman nesebično podijeliti sa svakim kome je to bilo potrebno.

Sahranjen je na gradskom groblju u Varaždinu 4. svibnja 2013. godine. Njegova obitelj, brojni kolege, prijatelji i poznanici oprostili su se od Marijana uz milozvučje varaždinskog okteta „Arka“ pjesmom „Vehni vehni fiolice.....“ što je još jednom podsjetilo na njegove međimurske korijene.

Dragi Marijane, sjećanje na tebe uvijek će u nama buditi ponos što smo živjeli, radili i družili se s Tobom. Tvoje ime i tvoj život okrunjen dobrim i plemenitim djelima zauvijek će ostati u našim srcima i sjećanjima.

Nek' Ti je pokoj vječni i lahka hrvatska gruda.

Marijan SABOLIĆ

Ainil

Ainil je generički ketoprofen koji ima sljedeće indikacije:
Govedo

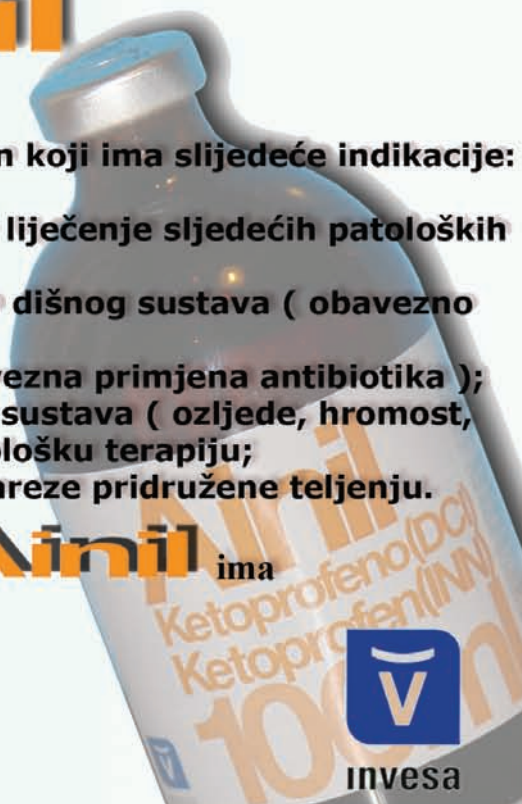
Protuupalno, analgetsko i antipiretsko liječenje sljedećih patoloških stanja:

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

Osim što mu je cijena **99,99 kn/50 ml**, **Ainil** ima

karencu za mlijeko 0 dana.

Da, 0 dana.



Vitamina AD3E

Vitamina AD3E su visokokoncentrirani liposolubilni vitamini AD3E

Doza za npr. kravu je 5 ml

Da, 5 ml.



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



AminoVitaSel

NOVO
NA
TRŽIŠTU

AMINOVITASEL OTOPINA ZA PERORALNU PRIMJENU

Dopunska krmna smjesa za perad, svinje, goveda, konje, ovce i koze



UPUTA O KORIŠTENJU:

Upotreba Aminovitasela kao nutritivna potpora svim fiziološkim stanjima kada su povećane potrebe za vitaminima, esencijalnim aminokiselinama i mikroelementima u uvjetima stresa u peradi, svinja, goveda, konja, ovaca i koza kao što su cijepjenja, oporavak nakon bolesti, promjena hrane, transport ili pri naglim temperaturnim promjenama. Primjena Aminovitasela poduprijeti će prirodni imunitet životinja i osigurati brži oporavak te će povoljno djelovati na priraste i iskoristivost hranidbenog obroka, a u nesilica na nesivost, oplodjenost i valivost jaja. U tovni pilića poboljšava prirast i iskoristivost hranidbenog obroka. U rasplodnih životinja povećava plodnost, preživljavanje i opću otpornost mladunčadi.

Aminovitasel otopina daje se u vodi za piće odnosno u mlijeku ili mliječnoj zamjenici.

Preporučujemo primjenu Aminovitasel otopine u prvih 5-6 dana života, odnosno 2-3 dana prije i 2-3 dana poslije očekivanog stresa. Rasplodnim životinjama daje se 2-3 tjedna prije očekivanog pripusta, tijekom 5-7 dana. Obavezno je pripremiti dnevno svježu otopinu.

DOZIRANJE:

Vrsta i kategorija životinje	PREPORUČENE KOLIČINE U vodi za piće / mlijeku / mliječnoj zamjenici ml / životinja / dan	DULJINA PRIMJENE
Perad 2000-2500 pilića u toku 2000 pilenki 1250 nesilica 500 purana	100 ml / 200 l vode 1 l / 2000 l vode	5 - 7 dana
Svinje, goveda, konji Telad, ždrebad Odojci Prasad, tovljenici (za 50-150 životinja)	5 ml 2 ml 0,5 ml 100 ml / 300 l vode	
Janjad, jarad Ovce, koze	0,8 ml 1 ml	



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

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

- African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).
3. **disertacija:** KRSNIK, B. (1972): Utjecaj buke na ponašanje svinja u industrijskoj proizvodnji, napose s obzirom na lako oksidirajuće tvari kao biokemijskom parametru. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 4. **zbornik referata:** SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).
 5. **zbornik sažetaka:** ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti 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 objavljeni u časopisu.