

Ostatci trimetoprima u žumanjku jaja nakon primjene u kokoši nesilica

Nina Bilandžić, Đurđica Božić, Antonija Vrbić, Ivana Varenina,
Božica Solomun Kolanović, Marija Sedak i Maja Đokić



Uvod

Pri intenzivnoj proizvodnji životinja primjena antibakterijskih lijekova je postala važan čimbenik javnog zdravstva. Povećana primjena lijekova pokazala je mnoge neželjene utjecaje na zdravlje ljudi, kao što su pojačavanje mikrobne rezistencije i time povećanje rizika od infekcija kada patogena bakterija rezistentna na određeni antibiotik uđe u prehrambeni lanac te hiperosjetljivost i promjene u crijevnoj mikroflori (Cerniglia i Kotarski, 2005.). Jedan od antibiotika je i trimetoprim (TMP, 2,4-diamino-5-(3,4,5-trimetoksibenzil) pirimidin), sintetički antibakterijski lijek koji sprječava sintezu folne kiseline u bakterija (White i sur., 1981.). Danas se TMP koristi u kombinaciji sa sulfonamidima čime se povećava njihovo međusobno djelovanje, odnosno povećava spektar djelovanja protiv brojnih patogenih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, kao što su *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Clostridium* spp., *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp. i druge te protozoa i rikecija. Stoga se prah i suspenzije sulfonamida s TMP koriste u domaćih životinja te tako i u prevenciji i liječenju peradi, odnosno kokoši za uzgoj, tovnih pilića

i pura (Einestein i sur., 1994.). Najčešće korištene kombinacije u veterinarskoj medicini su TMP i sulfadiazin te TMP i sulfametoksazol (Pereira i Cass, 2005.).

Najviše dopuštene količine TMP u tkivima peradi, odnosno mišiću, jetri i bubregu su 50 µg/kg (EC, 2010.). Korištenje TMP i sulfonamida je zabranjeno u nesilica te se jaja tretiranih kokoši ne smiju koristiti u prehrani ljudi. Na velikim peradarskim farmama mogu postojati situacije u kojima može doći do nenamjerne primjene TMP pri rukovanju kao što su hranjenje neiskorištenom količinom obroka hrane ili davanje vode koja je namijenjena za tovne piliće ili kokoši za tov (Atta i El-zeini, 2001.). Stoga je najčešći uzrok ostataka tih lijekova u jajima posljedica lošeg upravljanja hranom i nepoštovanje vremena karence lijeka (JECFA, 2004.).

Nakon primjene u kokoši nesilica te apsorpcije u crijevima lijek se krvlju transportira te se ostaci lijeka izlučuju u žumanjku ili bjelanjku ili u oba, što je određeno fizikalnim svojstvima lijeka te fiziologijom kokoši i postupku formiranja jaja (Donoghue i Myers, 2000.). Svega je nekoliko istraživanja dostupno s rezultatima izlučivanja TMP u jajima

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Antonija VRBIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. prehr. tehnol., Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

(Nagata i sur., 1991., Atta i El-zeini, 2001.). Prisutnost ostataka u hrani je potencijalni faktor rizika zbog toksikoloških i kancerogenih utjecaja na ljudе (EMEA, 1995.). Utvrđeno je da TMP može utjecati na promjene u koštanoj srži te na težinu pojedinih organa u ljudi i životinja (Li i sur., 2013.).

Cilj ovog istraživanja je utvrđivanje eliminacije TMP iz jaja, odnosno žumanjaka nakon primjene lijeka vodom za piće u kokoši nesilica. Koncentracije TMP određivane su tekućinskom kromatografijom s masenom detekcijom.

Materijal i metode

Tretman nesilica i uzorkovanje

Ukupno 15 kokoši nesilica (ISA Brown) starosti oko 21 tjedana nasumično je podijeljeno u dvije skupine u odvojene kaveze, eksperimentalnu ($n=10$) i kontrolnu ($n=10$). Kokoši su hranjene uravnoteženom prehranom hrane za nesilice te imale slobodan pristup svježoj vodi. Nesilice su dnevno uzimale *ad libitum* prosječno 225 mL vode. Prije primjene lijeka, životinje su izvagane te im je utvrđena prosječna težina od 1,65 kg. Eksperimentalna skupina nesilica zaprimala je kemoterapeutik Trisulfon prašak, kombinirani lijek sulfamonometoksin/TMP (Krka, Slovenija) u terapeutskoj koncentraciji od 8 g/L tijekom 7 dana (aktivna koncentracija: 40 mg/g sulfamonometoksin i 20 mg/g TMP). Stoga je dnevna doza TMP u vodi 160 mg/L što odgovara izloženosti od 21,8 mg TMP/kg tjelesne težine/dan.

Jaja su prikupljana prvih pet dana te zatim svakog petog dana (10., 15., 20., 25., 30. i 35.) nakon završetka tretmana. Isto su tako uzorci kontrolne skupine prikupljeni paralelno te korišteni za kontrolu kakvoće određivanja TMP u jajima. Jaja su označena te dopremana u laboratorij gdje su pohranjena na +4 °C. Za određivanje TMP u žumanjku jaja uzimano je po 5 jaja (za dva određivanja) kojima je odijeljen

bjelanjak od žumanjaka te su uzorci žumanjaka homogenizirani. Uzorci su pohranjeni i zamrznuti na -20 °C do analize.

Otapala, reagensi i standardi

Diklormetan bez etanola kao stabilizator (HPLC čistoće), metanol (LC - MS razred) i kolonice za kruto-faznu ekstrakciju (SPE) s aromatskom sulfonskom kiselinom (SO_3H) od 500 mg po 3 mL su nabavljeni od J. T. Baker (Deventer, Nizozemska). Svi korišteni reagensi su HPLC ili LC-MS analitičke čistoće. Aceton (HPLC čistoće) je nabavljen od tvrtke Merck (Darmstadt, Njemačka), a natrijev sulfat (bezvodni) od Carlo Erba (Milano, Italija). Amonijev formijat (97%), octena kiselina min 99,8% te mravlja kiselina (ACS reagens $\geq 96\%$) su nabavljeni od Sigma Aldrich (Chemie GmbH, Njemačka). Natrijev klorid i otopina amonijaka 25% kupljeni su od Kemike (Zagreb, Hrvatska). Dušik 5,0 i 5,5 je nabavljen od SOL spa (Monza, Italija). Ultra čista voda (18 MΩcm) dobivena je pomoću sustava NIRO VV UV UF 20 (Nirosa doo tehnologija vode, Osijek, Hrvatska).

Standard trimetoprima (TMP) nabavljen je iz Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, SAD). Bazna otopina trimetoprima pripravljena je u koncentraciji od 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ u metanolu te je razrijedena sto i deset puta u metanolu za pripravljanje radnih otopina. Radne koncentracije su korištene za točke standardne krivulje te obogaćivanje uzoraka jaja.

Instrumenti

U pripremi uzorka korištena je sljedeća oprema: blender model 7011HS (Waring Komercijalni, Connecticut, SAD), homogenizator Politron model T -2000 (Kinematica, Inc., Švicarska), mješalica Minishaker MS2 (IKA® - Werke GmbH & Co KG, Staufen, Njemačka), ultrazvučna kupelj Iskra (ISKRA PIO, Slovenija), mnogostruki vakum sustav Supelco (Supelco Inc, Bellefonte,

PA), centrifuga Rotanta 60R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Njemačka) i sustav za uparavanje dušikom N-EVAPTM Model 112 (Orgamonation Associates Inc, SAD).

Analiza TMP je provedena tekućinskom kromatografijom vezanom sa spektrometrijom masa LC-MS/MS primjenom sustava HPLC 1200 i masenog spektrometra TripleQuad LC/MS 6410 (Agilent, SAD).

Priprema uzorka

Odvagne se 10 g homogeniziranog žumanjka te se doda interni standard. Za ekstrakciju doda se 50 mL acetona/diklormetan (1:1, v/v) te promiješa 1 minutu. U svrhu uklanjanja vode iz smjese doda se 10 g natrijevog klorida i 10 g natrijevog sulfata. Nakon svakog dodavanja uzorak miješati 30 sekundi. Nakon centrifugiranja (3000 x g, 5 minuta) uzme se 5 mL bistrog nadtaloga te doda 250 µL octene kiseline uz miješanje. SPE kolonice se kondicioniraju dva puta s 5 mL mješavine aceton/diklormetan/octena kiselina (47,5:47,5;5, v/v). Uzorak se kvantitativno prenese na filtracijsku kolonu te se ispire dodatkom 5 mL vode i 5 mL metanola. Eluat se sakuplja u novu konusnu epruvetu te eluira s 5 mL mješavine metanola i 2,5% amonijaka. Zatim se uzorak upari do suhogra u struji dušika pri $50 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Ostatak se otopi u 100 µL metanola i 100 µL mobilne faze A te promiješa. Prije injektiranja u LC-MS/MS sustav uzorak se filtrira kroz celulozni membranski filter veličine pora 0,45 µm.

Kromatografski i MS parametri

Kromatografsko razdvajanje postignuto je s primjenom gradijenta na koloni X Terra RP18 Waters 4,6 x 150 mm, 3,5 um (Waters, SAD) pri temperaturi od

40 °C. Mobilna faza se sastoji od otopine (A) 5 mM amonijevog formijata koja se zakiseli na pH 3,5 s mravljom kiselinom te otopine (B) 5 mM amonijevog formijata u metanolu. Gradijentno eluiranje počinje s 0% B faze te linearno raste na 100% od 10 do 12,10 min, nakon čega do 16 min je ponovno na 0% te se kolona stabilizira dodatne 3 minute protokom mobilne faze u početnom stanju. Protok mobilne faze je 0,6 mL/min i volumen injektiranja uzorka 15 µL.

Trostruki se kvadrupol maseni spektrofotometar sastoji od ESI izvora iona, a ionizacija elektroraspršenjem TMP se odvija u pozitivnom modulu. Temperatura plina iznosi 350 °C, a protok plina je 11 L/min i napon kapilare 4000 V. Napon fragmentora (F) i energija sudara (CE, collision energy) su optimizirani injiciranjem 2 µL standardne otopine od 10 µg/mL. Podatci su dobiveni primjenom MRM (Multiple Reaction Monitor) odabirom intenzivnijeg prijelaza iona od prekursora iona do produkta. U tabeli 1 prikazani su optimizirani MS/MS uvjeti za MRM analizu.

Validacija metode

Validacija metode provedena u skladu s kriterijima propisanim odlukom komisije 2002/657/EC (Europska komisija, 2002.). Specifičnost je testirana analizom 20 uzorka jaja. Određeni su najvažniji parametri koji opisuju izvedbene sposobnosti metode: CC β , sposobnost dokazivanja; CC α , granična koncentracija analita; LOD, granice određivanja metode; LOQ, granica kvantifikacije; iskorištenje metode. Granica određivanja metode LOD i granica kvantifikacije LOQ izračunaju se tako da se srednjoj vrijednosti određenoj za 20 slijepih uzorka jaja pribroje 3,

Tabela 1. MS/MS parametri za MRM analizu

Spoj	RT (min)	Prekursor ion	Produkt ion	Fragmentor (V)	Energija sudara (V)
TMP	11,3	291	123 230	85	29 25

odnosno 10 puta standardna devijacija određena za te uzorke. Granična koncentracija određivanja $CC\alpha$ određena je obogaćivanjem uzorka u 3 serije po 6 uzorka na 2,5 µg/kg te je izračunata kao zbroj vrijednosti najniže koncentracije validacijskog postupka (C_0) i standardne devijacije pri C_0 (SR/C_0) pomnožene s 2,33. Sposobnost dokazivanja $CC\beta$ izračuna se kao zbroj vrijednosti $CC\alpha$ i standardne devijacije pri $CC\alpha$ pomnožene s 1,64. Iskorištenje metode određeno je obogaćivanjem uzorka jaja s TMP u tri serije na 3 koncentracijske razine (2,5, 5 and 10 µg/kg) po 6 ponavljanja.

Statistička analiza

Statistička je analiza provedena programom Statistica® 6.1 (StatSoft® Inc., Tulsa, SAD). Koncentracije TMP određene u žumanjku jaja izražavane su kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD).

Rezultati i rasprava

U peradarskoj industriji primjena veterinarskih lijekova, odnosno TMP može dovesti do prisutnosti ostataka u jajima. Utvrđeno je da TMP u ljudi izaziva gastrointestinalne poremećaje (mučnina, povraćanje), osip i pad hematopoeze te da je kontraindiciran u trudnoći, kod novorođenčadi te pri oštećenju bubrega (EMEA, 1997.).

Ova se studija temelji na pretpostavci da se TMP može povremeno i slučajno ili namjerno koristiti u nesilica primjenom vode za piće koje je namijenjena pilićima te da se ostaci TMP mogu zadržati kroz više tjedana u jajima nakon primjene. Trimetoprim je određivan u žumanjku jaja pomoću osjetljive LC-MS/MS metode

koja je validirana u skladu s Direktivom Vijeća 2002/657/EC. Parametri validacije metode pokazani u tabeli 2 pokazali su da metoda zadovoljava kriterije za određivanje ostataka TMP niskih koncentracija.

Eliminacija TMP iz žumanjaka jaja tijekom 35 dana nakon primjene kroz 7 dana u vodi za piće koncentracije 8 g/L prikazana je u tabeli 3. TMP koncentracije dosegle su najvišu koncentraciju od 6165,1 µg/kg treći dan nakon završetka primjene lijeka. Nakon tog dana koncentracije brzo padaju te je peti dan nakon tretmana koncentracija TMP 1442,8 µg/kg, a 15. dana svega 227,2 µg/kg. Tridesetog dana nakon tretmana koncentracije TMP su pale ispod granične koncentracije određivanja metode $CC\alpha$ od 2,8 µg/kg. Zadnjeg dana određivanja TMP, 35. dana koncentracije TMP su još iznad granice kvantifikacije metode od 1,2 µg/kg. Dobiveni rezultati pokazuju da su koncentracije TMP detektibilne i 35 dana nakon primjene lijeka.

U prijašnjim istraživanjima ostaci sulfonamida su određivani u jajima (Romvary i Simon, 1992., Furusawa i sur., 1998., Roudaut i Garnier, 2002., Vandenberghe i sur., 2012.). Međutim, svega dva istraživanja odnose se na određivanjem ostataka TMP u jajima (Nagata i sur., 1991., Atta i El-zeni, 2001.). Za razliku od ove studije koncentracije u kojoj su TMP koncentracije pale ispod 100 µg/kg tek između 15. i 20. dana nakon tretmana, većina prijašnjih studija sugerira da je vrijeme zadržavanja TMP u jajima od 9 do 11 dana.

Primjenom TMP u kokoši nesilica u koncentraciji od 4, 16 and 56 mg/kg (ppm) u hrani za nesilice kroz 19 dana utvrđeno je da su ostaci TMP uglavnom

Tabela 2. Validacijski parametar određivanja TMP u jajima.

Analyte	$CC\alpha$ (µg/kg)	$CC\beta$ (µg/kg)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Iskorištenje (%)
TMP	2,8	3,1	0,3	1,2	99,6

Tabela 3. Koncentracije TMP (srednja vrijednost \pm SD, $\mu\text{g}/\text{kg}$) u žumanjku jaja tijekom 35 dana nakon administracije lijeka vodom 7 dana u koncentraciji od 8 g/L.

Dan nakon tretmana	Srednja vrijednost ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	SD
1	4842,9	62,2
2	4947,7	94,8
3	6165,1	74,1
4	2055,0	52,3
5	1442,8	34,9
10	993,3	15,8
15	227,2	2,67
20	14,0	0,23
25	7,01	0,046
30	3,96	0,16
35	1,62	0,006

utvrđeni u žumanjku jaja pri primjeni sve tri koncentracije. Ostatci TMP u žumanjku i bjelanjku jaja ispod granice detekcije od 0,02 ppm određeni su 4., 9. i 11. dana nakon prestanka uzimanja lijeka (Nagata i sur., 1991.). U istraživanju eliminacije TMP iz jaja nakon primjene TMP u dozi od 0,2 i 0,4 g/L u vodi tijekom pet dana maksimalne koncentracije TMP u žumanjku postignute su dan nakon prestanka tretmana: 0,43 i 0,81 $\mu\text{g}/\text{g}$ (Atta i El-zeni, 2001.). Koncentracije TMP u žumanjku su pale ispod granice određivanja metode od 0,02 $\mu\text{g}/\text{g}$ 5., odnosno 7. dana nakon tretmana.

Zaključno, primjena TMP u vodi za piće u kokoši nesilica uzrokuje ostatke lijeka u jajima, odnosno žumanjku jaja koji su mjerljivi i 35 dana nakon završetka tretmana. Ovo istraživanje je pilotstudija istraživanja eliminacije kombiniranog pripravka TMP/sulfonamid u jajima nakon primjene više koncentracija.

Daljnja će se istraživanja provesti sa svrhom određivanja omjera ostanaka TMP u žumanjaku i bjelanjku jaja.

Sažetak

Trimetoprim, sintetički antibakterijski lijek danas se najčešće koristi u kombinaciji sa sulfonamidima u svrhu sprječavanja infekcija brojnih patogenih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. Njegova primjena je zabranjena u kokoši nesilica. Ovo istraživanje simulira slučajnu ili namjernu primjenu trimetoprima u nesilica u vodi za piće. Trimetoprim je davan kokošima u koncentraciji od 8 g/L u vodi za piće tijekom 7 dana, odnosno dnevna doza u vodi bila je 160 mg/L. Koncentracije trimetoprima određene su u žumanjcima jaja prvih pet dana te zatim svakog petog dana do 35. dana nakon završetka tretmana. Trimetoprim je određivan primjenom LC-MS/MS metode koja je validirana u skladu s Direktivom Vijeća 2002/657/EC. Određeni su parametri validacije: CC β 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$; CC α 3,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOD 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ 1,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ te iskorištenje 99,7%. Najviša koncentracija trimetoprima 6165,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određena je treći dan nakon završetka primjene lijeka. Dolazi do brzog pada koncentracija nakon tretmana te je 5. dana koncentracija trimetoprima bila 1442,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a 15. dana svega 227,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a 30. dana ispod granične koncentracije određivanja metode od 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Zadnjeg 35. dana određivanja koncentracija je još iznad granice kvantifikacije metode od 1,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Daljnja istraživanja potrebno je provesti sa svrhom određivanja omjera ostanaka trimetoprima u žumanjaku i bjelanjku jaja.

Literatura

1. ATTA, A. H. and S. A. EL-ZEINI (2001): Depletion of trimethoprim and sulphadiazine from eggs of laying hens receiving trimethoprim/sulphadiazine combination. Food Contr. 12, 269-274.
2. CERNIGLIA, C. E. and S. KOTARSKI (2005): Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in the food to determine the effects on human intestinal micro flora. J. Vet. Pharmacol. Therap. 28, 3-20.
3. DONOGHUE, D. J. and K. MYERS (2000): Imaging residue transfer in to egg yolk. Journal of Agricult. Food Chem. 48, 6428-6430.
4. 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. L15, 1-72.
5. EINESTEIN, R., R. S. JONES, A. KNIFTON and G. A. STARMER (1994): Principles of veterinary therapeutics (1st ed.) (p. 405). UK: Longman Scientific and Technical.
 6. EMEA (1995): Sulfonamides, summary report (2). Committee for veterinary medicinal products, EMEA. EMEA/MRL/026/95.
 7. EMEA (1997): Trimethoprim, summary report (2). Committee for veterinary medicinal products, EMEA. EMEA/MRL/055/97-Final.
 8. FURUSAWA, N., Y. TSUZUKIDA and H. YAMAGUCHI (1998). Decreasing profile of residual sulphaquinoxaline in eggs. Brit. Poultry Sci. 39, 241-244.
 9. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (2004): Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, 62nd meeting of the JECFA. Monograph prepared by the JECFA. WHO Technical paper series No. 925 WHO, Geneva.
 10. LI, H., H. SUN, J. ZHANG and K. PANG (2013): Highly sensitive and simultaneous determination of sixteen sulphonamide antibiotics, four acetylated metabolites and trimethoprim in meat by rapid resolution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Contr. 31, 359-365.
 11. NAGATA, T., M. SAEKI, T. IIDA, M. KATAOKA and S. SHIKANO (1991): High performance liquid chromatographic determination of trimethoprim residues in egg yolk and albumen in a feeding experiment. Brit. Vet. J. 147, 346-351.
 12. PEREIRA, A. V. and Q. B. CASS (2005): High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk using an on-line clean-up column. J. Chromatogr. A 826, 139-146.
 13. ROMVARY, A. and F. SIMON (1992): Sulphonamide residues in eggs. Acta Vet. Hungarica 40, 99-106.
 14. ROUDAUT, B. and M. GARNIER (2002): Sulphonamide residues in eggs following drug administration via the drinking water. Food Add. Contam. A 19, 373-378.
 15. VANDENBERGE, V., E. DELEZIE, G. HUYGHEBAERT, P. DELAHAUT, P. DE BACKER, E. DAESSELEIRE and S. CROUBELS (2012): Residues of sulfadiazine and doxycycline in egg matrices due to cross-contamination in the feed of laying hens and the possible correlation with physicochemical, pharmacokinetic and physiological parameters. Food Add. Contam. A 29, 908-917.
 16. WHITE, G., D. W. T. PIERCY and H. A. GIBBS (1981): Use of calf salmonellosis model to evaluate the therapeutic properties of trimethoprim and sulphadiazine and their Mutual potentiation in vivo. Res. Vet. Sci. 31, 27-31.

Trimethoprim residues in egg yolk after administration in laying hens

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

Trimethoprim, a synthetic antibacterial drug, is most commonly used in combination with sulfonamides in order to prevent infection by many pathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria. Its use is prohibited in laying hens. This study simulated the accidental or deliberate administration of trimethoprim in laying hens via drinking water. Trimethoprim was administered to chickens at a concentration of 8 g/L in water for 7 days, and the daily dose in water was 160 mg/L. Concentrations of trimethoprim were determined in egg yolks for the first five post-treatment days and then every fifth day until the 35th days after completion of the treatment. Trimethoprim was determined using the LC-MS/MS method validated in accordance with Council Direc-

tive 2002/657/EC. The parameters of validation were: CC β 2.8 µg/kg, CC α 3.1 µg/kg, LOD 0.3 µg/kg, LOQ 1.2 µg/kg, recovery 99.7%. The highest concentration of trimethoprim (6165.1 µg/kg) was determined on the third day after administration of the drug. There was a rapid drop in concentration after treatment, with the concentration of trimethoprim at 1442.8 µg/kg on the 5th post-treatment day, 227.2 µg/kg on the 15th post-treatment day, and below 2.8 µg/kg, the level of limit of decision of the method, on the 30th post-treatment day. On the final 35th day of measurement, the concentration was still above the limit of quantification of 1.2 µg/kg. Further research should be carried out with the purpose of determining the ratio of trimethoprim residues in egg yolk and white.

Metabolički profil krava iz sjeveroistočnog dijela Poljske

Miroslaw Kleczkowski, Włodzimierz Kluciński,
Emilian Kudyba i Elwira Pietrzykowska



Uvod

Nacionalni park Biebrza (BNP) je smješten na sjeveroistoku Poljske i predstavlja jedno od najdragocjenijih močvarnih područja u Europi. Park je osnovan 1993. godine i ukupne je površine 59 233 hektara. To je ujedno i najveći nacionalni park u Poljskoj. Park čini 15 547 ha šume, 18 182 ha poljoprivredne površine i 25 494 ha močvare. U neposrednoj su blizini parka farme mlijekočnih krava. U pojedinim područjima BNP-a utjecaj je geokemijskih činitelja takav da su u hranidbenom lancu niske koncentracije Zn, Mo, Se i S, a posebice bakra koji je sastojak hrane i esencijalni element za mnoge stanične enzime kao što je CuZnSOD (Kleczkowski 1987., Kleczkowski 1990., Kleczkowski i sur., 1995.).

Zaključak je da okolišni čimbenici mogu znatno utjecati na povećanu osjetljivost stanice na oksidacijska oštećenja koja uključuju degeneraciju jetre i neurodegenerativne procese u krava. Zbog ovih smo razloga u ovom radu opisali učinke na hranidbu krava u BNP-u i mjerili sljedeće pokazatelje

u krvi: superoksid dismutazu (SOD), ceruloplasmin (CP), ukupni antioksidacijski status (TAS), glutation peroksidazu (GSH Px), oksaloacetatnu transaminazu (AspAT), bakar (Cu), albumine (A), bilirubin (B), askorbinsku kiselinu (Aa), kreatinin (K), ureju (U), glukozu (G), kolesterol (Ch), hemoglobin (Hb), i malonil dialdehid (MDA). Posebno je za zdravlje važno prijelazno razdoblje kao i ekstremne fiziološke promjene te metabolički/oksidacijski stres (Goff i Horst 1997., Bernabucci i sur., 2002.). Bitan je utjecaj oksidacijskih procesa u prijelaznom razdoblju u samoj etiologiji i patogenezi bolesti krava te je zbog toga tema ovog istraživanja procjena oksidacijskog i metaboličkog statusa krava.

Materijal i metode

Istraživanje je trajalo četiri mjeseca. U istraživanje je bilo uključeno 16 krava Holštajn pasmine u dobi od 5-8 godina s prosječnom godišnjom proizvodnjom mlijeka od 5780 litara. Životinje uključene

Dr. sc. Miroslaw KLECKOWSKI, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Włodzimierz KLUCIŃSKI, dr. med. vet., redoviti profesor, Elwira PIETRZYKOWSKA, dr. med. vet., studentica poslijediplomskog studija, Veterinarski fakultet Varšava, Poljska; Emilian KUDYBA, dr. med. vet., Odjel za veterinarsku higijenu, Białystok, Lomza, Poljska

u istraživanje bile su iz 2 regije. U skupini A (pokusna skupina) je bilo 8 krava koje su bile smještene u BNP; u skupini B (kontrolna skupina) je bilo isto tako 8 krava koje su bile smještene u tipičnom području sjevero-istočne Poljske, tj. izvan BNP-a.

U svrhu istraživanja krv je uzeta 3 puta: 1-4 dana prije teljenja, 2-3 dana i 3-14 dana poslije teljenja. Uzorci su krv i uzeti iz *v. jugularis* u svrhu utvrđivanja superoksid dismutaze, ceruloplazmina, ukupnog antioksidacijskog statusa, glutation peroksidaze, oksaloacetatne transaminaze, bakra, albumina, bilirubina, askorbinske kiseline, kreatinina, ureje, glukoze, kolesterola, hemoglobina i malonil dialdehida.

Randox Laboratories komercijalni reagensi korišteni su za određivanje: SOD-a u eritrocitima (RAN SOD kit), ukupni antioksidacijski status u serumu (TAS kit) i GSH-Px kit u punoj krvi.

Princip je rada Randox kitova baziran na metodi indirektne reakcije u kojoj se inhibiraju produkcije slobodnih radikala u uzorku.

Optička se gustoća određivala spektrofotometrom Specol 1100. Bakar se određivao atomskom spektrofotometrijskom apsorpcijom. Serum je prije mjerena koncentracije bakra, bio uništen visokom temperaturom od 450 °C. Ceruloplazmin u serumu je određivan metodom procjene njegove enzimske aktivnosti u p-fenilenodiaminu, koji se oksidira u obojeni trimer p-fenilenodiamin (Sunderman i Nomoto 1970., Smith i sur., 1983.). Askorbinska se kiselina u serumu određivala hidrazom metodom (Pelletier 1968., Carr i sur., 1983.). Reflotron (Mannheim Boehringer-Austrija) se koristio za određivanje oksaloacetatne transaminaze, albumina, bilirubina, kreatinina, ureje, glukoze, kolesterola, i hemoglobina. Malonil dialdehid je određivan u serumu vrućom hidrolizom lipidnih peroksidaza u

kiselom mediju (Michara i Uchiyama 1978., Satoh i sur., 1978., Okhawa i sur., 1979.). Sve su izmjerene varijable analizirane t-Student testom.

Rezultati

Promjene u oksidacijskoj i metaboličkoj aktivnosti su prikazane u tabeli 1. Rezultati istraživanja pokazuju da su pojedini biokemijski parametri u skupini A niži nego u skupini B. Najviše su vrijednosti zabilježene prilikom prve i druge pretrage.

Raspovrat

Analiza rezultata pokazuje da su minerali nužni za normalno fukcioniranje organizma mlijecnih krava i imaju važnu ulogu u zaštitnim i obrambenim mehanizmima protiv tvorbe slobodnih kisikovih radikala (Bernabucci i sur., 2005.). U krava hranjenih na području BNP-a došlo je do utjecaja na razinu sljedećih pokazatelja u krvi: SOD, ceruloplazmin, GSH-Px, TAS, aktivnost AspAT i Cu, albumina, hemoglobina, glukoze, kolesterola i malonil dialdehida. Neke od spomenutih parametara ubrajamo u antioksidanse. Antioksidansi imaju visoku reaktivnost i mogu smanjiti toksičnost slobodnih kisikovih radikala (ROS) tako da deioniziraju i neutraliziraju slobodne radikale kisika na manje toksične ili netoksične sastojke (Gaal i sur., 2006.).

Nedostatak bilo kojeg od gore navedenih elemenata može prouzročiti smanjenje antioksidacijskih elemenata koji su važni u kontroli nekoliko bolesti u goveda (Kankofer, 2002., Kleczkowski i sur., 2006., Kleczkowski i Kluciński, 2008.). Povećana koncentracija Cu u serumu na kraju gravidnosti i nakon porođaja ima veliku važnost zato, jer je ovaj fenomen bitan u zaštititi organizma od infekcija. Bakar je uključen u očitovanje i kontrolu upalne reakcije i degenerativne procese

Tabela 1. Biokemijski profil krvi krava

Redni broj pretrage	Biokemijski pokazatelji	Skupina				Raspon fizioloških vrijednosti	
		A		B			
		X	SD	X	SD		
1	SOD (U/g Hb)	721,1**	81,8	1098,0	88,2	800,0-1100,0	
	Ceruloplazmin (mmol/dm ³)	1,61**	0,10	2,11	0,21	1,7-2,4	
	Bakar (mmol/dm ³)	9,33**	0,74	15,7	0,99	10,2-17,3	
	Albumini (g/dm ³)	28,3**	0,32	35,2	0,41	23,0-37,0	
	TAS (mmol/dm ³)	0,29**	0,02	0,41	0,02	0,3-0,5	
	GSH Px (U/g Hb)	25,6**	2,33	33,9	2,61	20,0-40,0	
	AspAT (U/ dm ³)	82,1**	8,42	41,1	7,27	55,0- 95,0	
	Bilirubin (mmol/dm ³)	5,63	0,41	6,11	0,65	1,9-7,0	
	Askorbinska kiselina (mmol/dm ³)	59,6	5,58	64,8	6,7	40,0-70,0	
	Kreatinin (mmol/dm ³)	148,1	15,5	154,5	11,8	88,4-185	
	Ureja (mmol/ dm ³)	5,22	0,47	6,11	0,51	1,7-7,5	
	Glukoza (mmol/ dm ³)	1,73**	0,11	3,15	0,33	2,00-3,16	
	Kolesterol (mmol/ dm ³)	3,21**	0,22	4,29	0,37	3,90-9,83	
	Hemoglobin (mmol/ dm ³)	4,78**	0,63	8,53	1,42	4,5-8,9	
2	Malonil dialdehid (mmol/dm ³)	0,69**	0,07	0,19	0,02	0,2-2,1	
	SOD (U/g Hb)	791,3	102,6	1066,0	71,5		
	Ceruloplazmin (mmol/dm ³)	1,48**	0,11	2,04	0,38		
	Bakar (mmol/dm ³)	10,4**	1,13	14,1	1,13		
	Albumini (g/dm ³)	29,5**	0,42	35,8	0,32		
	TAS (mmol/dm ³)	0,31**	0,03	0,37	0,01		
	GSH Px (U/g Hb)	22,7**	2,14	31,5	3,01		
	AspAT (U/ dm ³)	86,2 **	8,41	55,8	8,34		
	Bilirubin (mmol/dm ³)	5,71	0,31	6,59	6,13		
	Askorbinska kiselina (mmol/dm ³)	50,9**	6,11	65,9	6,77		
	Kreatinin (mmol/dm ³)	154,7	18,5	172,9	21,7		
	Ureja (mmol/ dm ³)	5,78	0,71	6,38	0,84		
	Glukoza (mmol/ dm ³)	1,67**	0,15	3,14	0,20		
	Kolesterol (mmol/ dm ³)	3,38**	0,31	5,65	0,44		
3	Hemoglobin (mmol/ dm ³)	4,99**	0,53	8,77	0,93		
	Malonil dialdehid (mmol/dm ³)	0,71**	0,11	0,24	0,02		
	SOD (U/g Hb)	*1,2 543,7**	51,8 821,0	*1,2 821,0	59,8		
	Ceruloplazmin (mmol/dm ³)	*11,31**	0,10	*11,75	0,14		
	Bakar (mmol/dm ³)	*1,2 7,02**	0,56	*1,2 11,7	0,72		
	Albumini (g/dm ³)	*1,2 24,8**	0,49	*133,4	0,21		
	TAS (mmol/dm ³)	*2 0,27 **	0,01	*1,2 0,34	0,02		
	GSH Px (U/g Hb)	*119,1**	2,04	*1,2 25,3	1,42		
	AspAT (U/ dm ³)	92,7**	8,44	61,9	8,22		
	Bilirubin (mmol/dm ³)	5,82	0,41	6,89	7,16		
	Askorbinska kiselina (mmol/dm ³)	44,2**	5,3	61,4	5,53		
	Kreatinin (mmol/dm ³)	133,6**	17,1	165,4	13,6		
	Ureja (mmol/dm ³)	5,54	0,64	5,04	0,64		
	Glukoza (mmol/ dm ³)	1,78**	0,21	*1,2 2,79	0,14		
	Kolesterol (mmol/ dm ³)	4,12**	0,57	*1,2 6,77	0,62		
	Hemoglobin (mmol/ dm ³)	4,73**	0,62	7,31	0,81		
	Malonil dialdehid (mmol/dm ³)	0,64**	0,05	0,17	0,01		

(Malinowska 1999.,
 Smith, 2002.,
 Kleczkowski i
 Kluciński, 2008.)

Legenda: x-srednja vrijednost, SD - standardna devijacija; * statistički značajne razlike ($P \leq 0,05$) između termina pretrage, ** statistički značajne razlike ($P \leq 0,05$) između pokusne skupine (A) kontrolne skupine (B).

u jetri te središnjem živčanom sustavu (Aitken i sur., 2009.).

Koncentracija se Cu povećava tijekom akutne upalne faze, a smanjuje prilikom kronične upale. Jedan se od opisanih mehanizama zaštitne uloge Cu, poput deionizacije od slobodnih kisikovih radikala, ostvaruje uz pomoć superoksid dismutaze i ceruloplazmina. S druge strane tijekom neprikladnog, odnosno sporog izlučivanja Cu kroz žučovod, Cu može prouzročiti oštećenje jetre. Iz tabele 1 je razvidno da su u krvi krava iz skupina A i B koncentracije Cu više od fizioloških prije teljenja (4 dana prije teljenja) i nakon teljenja (3 dana poslije teljenja) te u razdoblju od 3. do 14. dana nakon teljenja, međutim koncentracija Cu je bila niža u pokušnoj skupini (skupina A) u usporedbi s kontrolnom skupinom (skupina B).

Sličan je učinak zabilježen u obje skupine za sljedeće parametre: ceruloplazmin, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, albumin i askorbinsku kiselinu. Povećanje antioksidacijskih pokazatelja u razdoblju oko teljenja može biti rezultat homeostatske kontrole (Bernabucci i sur., 2005.). Jasno je da aktivnost SOD-a može ukazati na nedostatak Cu u hranidbi. Prepostavka je da je u stanica krava iz BNP-a generirano manje reaktivnih kisikovih spojeva nego u krava iz kontrolne skupine. Potvrđeno je da je niža aktivnost SOD-a odgovor na oksidacijski metabolizam. S druge strane niska aktivnost SOD-a u eritrocitima krava iz pokušne skupine može biti rezultat adaptacijskih procesa te može ukazivati na povećanu osjetljivost na različita oksidacijska oštećenja koja uključuju jetru i neurodegenerativne bolesti.

Nedostatak se Se u krava očituje nespecifičnim i specifičnim kliničkim znacima, što ovisi o stupnju nedostatka. U vezi s tim dobro je poznata miodistrofija prouzročena nedostatnom hranidbom, puerperalna degeneracija jetre i reproduktivni poremećaji u

goveda. Niske se koncentracije Se mogu dijagnosticirati preko povišene aktivnosti aminotransferaza, laktata, asparata i kreatinin kinaze.

Posebno treba naglasiti da je GSH-Px uključen u antioksidacijske procese u goveda. Njegova uloga u stanici je razgradnja vodikovog peroksida i hidrogen peroksida do organskih hidroperoksiда (Pavlata i sur., 2000.).

Prilikom mjerjenja aktivnosti glutation peroksidaze u krvi indirektno se mjeri i koncentracija Se. U našem je istraživanju zabilježena viša aktivnost AspAT u punoj krvi krava iz pokušne skupine (82,1-92,7 U/dm³) u usporedbi s kontrolnom skupinom (41,1-61,9 U/dm³). Suprotno tome jetrena je aktivnost GSH-Px niža u pokušnoj skupini (19,1-25,6 U/g Hb) u usporedbi s kontrolnom skupinom (25,3-33,9 U/g Hb).

Međutim, najviša je aktivnost GSH-Px zabilježena prije teljenja, a najniža 14 dana nakon teljenja. Neki od ostalih metaboličkih indikatora pripadaju trećoj skupini neenzimskih antioksidansa niske molekularne mase.

Spomenuti su indikatori nađeni u izvanstaničnoj tekućini, unutarstaničnoj tekućini, lipoproteinima i staničnim membranama. Njihova je koncentracija u serumu isto tako bila viša u krava u kontrolnoj u usporedbi s pokušnom skupinom. Međutim, zabilježena je oprečna aktivnost, odnosno koncentracija u oksaloacetatoj transaminazi i malonil dialdehidu.

Sličan je status ustvrđen primjerice i u pretilih muškaraca i žena (Higdon i Frei, 2003., Keaney i sur., 2003.). Za prepostaviti je da se sličan fenomen događa i u pretilih krava tijekom prijelaznog razdoblja. Povišena koncentracija MDA u serumu prije i poslije teljenja potvrđuje oksidacijski stres tijekom prijelaznog razdoblja. Naše je istraživanje pokazalo negativan učinak geokemijskih činitelja na biokemijske i oksidacijske pokazatelje krvi krava u BNP-u.

Sažetak

U prijelaznom je razdoblju promatrano šesnaest mlijecnih krava. Promatrali smo promjene u interakciji oksidacijskog statusa između metaboličkog i oksidacijskog profila. Skupina A (pokusna skupina) sastojala se od 8 krava i nalazila se na sjeveroistoku Poljske, a skupina B (kontrolna skupina) sastojala se od 8 krava u tipičnoj regiji u lokalnim okolišnim uvjetima. Analizirani su uzorci krvi radi utvrđivanja sljedećih pokazatelja oksidacijskog i metaboličkog statusa: superoksid dismutaza, ceruloplazmin, ukupni antioksidacijski status, glutation peroksidaza, aktivnost oksalacetatne transaminaze i bakar, albumini, bilirubin, askorbinska kiselina, kreatinin, ureja, glukoza, kolesterol, hemoglobin i koncentracija malonil dialdehida. Cilj je ovog rada bio procijeniti oksidacijski i metabolički profil u prijelaznom razdoblju kod mlijecnih krava iz zaštićenog pojasa Nacionalnog parka Biebrza. Uvjeti u Nacionalnom parku Biebrza mogu prouzročiti veću osjetljivost mlijecnih krava na oksidacijski stres, posebno u prijelaznom razdoblju.

Literatura

- AITKEN, S. L., E. KARCHER, P. REZAMAND, J. C. GANDY, M. J. VANDERHAAR, A. A. V. CAPUCCO and L. M. SORDILLO (2009): Evaluation of antioxidant and proinflammatory gene expression in bovine mammar tissue during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 92, 589-598.
- BERNABUCCI, U., N. RONCHI, N. LACETERA and A. NARDONE (2002): Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J. Dairy Sci.* 85, 2173-2179.
- BERNABUCCI, U., B. RONCHI, N. LACETERA and A. NARDONE (2005): Influence of body condition score on relationship between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 2017-2026.
- CARR, R. S., M. B. BALLY, P. THOMAS and J. M. NEFF (1983): Comparison of methods for determination of ascorbic acid in animal tissues. *Anal. Chem.* 55, 1229-1232.
- GAAL, T., P. RIBICZEYNE-SZABO, K. STADLER, J. JAKUS, J. REICZIGEL, P. KOVER, M. MEZES and L. SUMEGHY (2006): Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 143, 391-396.
- GOFF, J. and R. R. HORST (1997): Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80, 1260-1268.
- HIGDON, J. V. and B. FREI (2003): Obesity and oxidative stress. *Thromb. Vasc. Biol.* 23, 365-367.
- KANKOFER, M. (2002): Placenta release/Retention in cows and its relation to prooxidative damage of macromolecules. *Reprod. Dom. Anim.* 37, 27-30.
- KEANEY, J. F. Jr., R. S. LARSON, P. W. F. VASAN, I. L. WILSON, D. LIPINSKA, J. M. COREY, M. P. SUTHERLAND, J. A. VITA and E. J. BENJAMIN (2003): Obesity and systemic oxidative stress. Clinical correlates of oxidative stress in the Farmingham study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23, 434-439.
- KLECKOWSKI, M. (1987): Evaluation of selected metabolic indices for cattle in cooper deficient regions. *Pol. Arch. Wet.* 27, 35-47.
- KLECKOWSKI, M. (1990): Zawartość miedzi oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i ceruloplazminy w wybranych organach i płynach ustrojowych krów pochodzących z doliny Bebrzy. *Roczn. Nauk Roln. Seria B* 106, 7-19.
- KLECKOWSKI, M., W. KLUCIŃSKI, M. STRZALIŃSKI, P. DZIEKANA and J. SIKORA (1995): Ekologia biogeochemiczna a choroby zwierząt. *Medycyna Wet.* 51, 443-445.
- KLECKOWSKI, M., W. KLUCIŃSKI and G. BARTOSZ (2006): Free radical basics of cattle diseases. *WP, B WL S S, Lomza*, 7-90.
- KLECKOWSKI, M. and W. KLUCIŃSKI (2008): Deficiency copper, zinc, and cobalt. *SGGW, Warszawa*, 9-46.
- MALINOWSKA, A. (1999): Biochemistry of animals. *SGGW, Warszawa*, pp. 561-562.
- MICHARA, M. and M. UCHIJAMA (1978): Determination of malonyldialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Annal. Biochem.* 86, 271-278.
- OKHAWA, H., N. OHISHI and K. YAGI (1979): Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal. Biochem.* 72, 371-378.
- PAVLATA, L., A. PECHOWA and J. ILLEK (2000): Direct and indirect assessment of selenium status in cattle – a comparison. *Acta Vet. Brno* 69, 281-287.
- PELLETIER, O. (1968): Determination of vitamin C in serum, urine, and other biological materials. *J. Lab. Clin. Med.* 72, 674-679.
- SATOH, K. (1978): Serum liquid peroxide in cerebrovascular disorders determined by new colorimetric method. *Clin. Chim. Acta* 90, 37-43.
- SMITH, P., D. STUBLEY and D. J. BLACKMORE (1983): Measurment of superoxide dismutase, diamine oxidase, and ceruloplasmin oxidase in the blood of throughbreds. *Res. Vet. Sci.* 35, 160-164.
- SMITH, P. B. (2002): Large animal internal medicine. Mosby Inc., St. Louis, pp. 1736-1737.
- SUNDERMAN, F. W. Jr. and S. NOMOTO (1970): Measurment of human serum ceruloplasmin by its p-fenylenediamine oxidase activity. *Clin. Chem.* 16, 903-910.

Metabolic Profile of Cows from North-East Poland

Miroslaw KLECZKOWSKI, DVM, PhD, Full Professor, Włodzimierz KLUCIŃSKI, DVM, PhD, Full Professor, Elwira PIETRZYKOWSKA, DVM, PhD, Student, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw, Poland; Emilian KUDYBA, DVM, Department for veterinary hygiene, Białystok, Lomza, Poland

Sixteen dairy cows were observed during the transition period. We monitored changes in oxidative status interaction between metabolic and oxidative profiles. Group A (the experimental group) comprised 8 cows and was situated in the north-east of Poland. Group B (the control group) also comprised 8 cows, and was situated in a typical region in the local environment. Blood samples were analysed to determine the following indices of oxidative and metabolic status: superoxide dismutase, ceruloplasmin, total

antioxidant status, glutathione peroxidase, oxaloacetic transaminase activity and copper, albumin, bilirubin, ascorbic acid, creatinine, urea, glucose, cholesterol, haemoglobin and malonyldialdehyde concentration. The aim of the work was to estimate the oxidative and metabolic profiles in the transition period of dairy cows from the protected belt of Biebrza National Park. The conditions of Biebrza National Park can make dairy cows more sensitive to oxidative stress, especially in the transition period.

RAZPRAVA GRADSKOGA PRORAČUNA ZA GODINU 1899. IZVANREDNI PRORAČUN ZA GOD. 1900.

19. Uredjenje i nabava sprava za životarnicu 800 kruna. Gradska veterinar predložio je u proračunskom odboru, da se ova svota uvrsti u proračun, pa da se šnjome uredi životarnica koja neodgovara. Veterinar predložio je i gradskom poglavarstvu osnovu za uredjenje živodarskih agenda, koja će se staviti na dnevni red, u kojoj od budućih skupština. Odbor jednoglasno predlaže, da se ova stavka odobri.

„Karlovački glasnik“ (Karlovac), 8, 5-8, 1899 (god. 1) (19. studenoga 1899.).

Kuga - bolest koja je promijenila svijet (I. dio)

Željko Cvetnić



Kuga (lat. *pestis*) je jedna od najopasnijih zaraznih, akutnih i epidemijskih bakterijskih bolesti. Iako je bolest poznata više tisuća godina, njezin je uzročnik otkriven tek krajem 19. stoljeća. Kuga je odavno nestala iz Europe, ali i dalje tinja u žarištima diljem svijeta. Mnoge nepoznanice vezane za tu bolest su riješene i uzročnik je poznat. To je *Yersinia pestis*. Primarni vektor za širenje kuge je štakorska buha, koja uzročnika širi primarno među glodavcima, ali i na ljude. Interhuman prijenos kapljičnom infekcijom je rijedak i danas se lijeći antibioticima, a proizvedena su i cjepiva protiv kuge (Buklijaš, 2002., Butler, 2013.).

U nekim područjima kuga je i danas endemska stalno prisutna među populacijom malih glodavaca, ali se iznimno rijetko širi na druge vrste. Najpoznatija endemska područja su: srednja i istočna Afrika, Arapski poluotok, Kurdistanska, sjeverna Indija, pustinja Gobi. Svaka od velikih svjetskih epidemija i pandemija kuge imala je ishodište u nekoj od ovih regija (Meyer, 1961., Titball i sur., 2003., Ravančić, 2006., Butler, 2009., Butler, 2013.).

Bolest se još uvijek javlja u Aziji (Vijetnam, Kina, Indija, Kazahstan, Burma), Africi (Uganda, Tanzanija, Zambia, Kongo, Libija, Madagaskar),

Sjevernoj Americi – (zapadni i jugozapadni dijelovi Amerike – New Mexico, Arizona, Kalifornija, Kolorado, Nevada, Wyoming) i Južnoj Americi (Brazil, Bolivija, Peru i Ekvador). Europa i Australija su slobodne od kuge (Krauss i sur., 2003.).

Pregled pojavnosti kuge i njezino značenje kroz povijest

Smatra se da kuga jako dugo prati ljudski rod. Još od antičkih vremena prostor Sredozemlja poznaje epidemije kuge, iako je domovina te bolesti azijski kontinent.

Poznato je da je tijekom Trojanskog rata opisanog u Homerovoj Ilijadi, grčku vojsku poharala kuga. Iako se često smatra da su stari Rimljani postanak epidemija dovodili u vezu s božanskom intervencijom, već je Tit Lukrecije Kar (Titus Lucretius Carus 98.-55. pr. Kr.) smatrao da bolesti imaju svoj korijen u prirodi. Tijekom starog vijeka poznato je više velikih epidemija. Zanimljivo je primjetiti da izvori bilježe sve epidemije kao epidemije kuge, iako su antički liječnici poznavali različite bolesti poput: difterije, malarije ili dizenterije. Štoviše, kada se onodobni opisi tih epidemija usporede s

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

današnjim medicinskim znanjima lako se može utvrditi da velik dio tih epidemija nije imao veze sa zaraznim bolestima. Od starovjekovnih epidemija vjerojatno je najpoznatija ona iz 5. st. pr. Kr., poznata pod nazivom „Atenska kuga“. Epidemija je nastala tijekom Peloponeskih ratova, a proširila se iz Etiopije u Grčku pa odatle preko Dalmacije u Rim. U sklopu opisa Peloponeskih ratova ovu je epidemiju opisao povjesničar Tukidid pa je tako neki nazivaju i Tukididova kuga. Nadalje, Tukidid primjećuje da protiv ove epidemije liječnici nisu imali lijeka. Zanimljiv je njegov navod da su zaražene mogli bez opasnosti liječiti samo oni koji su kugu već preboljeli. Opis same bolest vrlo je detaljan i nadasve dojmljiv. Budući je i sam prebolio zarazu, Tukidid je mogao precizno opisati sve simptome. Ipak, na temelju opisa simptoma bolesti danas je teško reći je li se tu uistinu radilo o epidemiji kuge ili pak možda boginja ili tifusa? S današnjim medicinskim znanjem i opisima tih epidemija, lako se može zaključiti da veliki dio tih epidemija nije imao veze s kugom (Ravančić, 2006.). Kasnija istraživanja DNK zubne pulpe dokazala su da je tzv. „Atensku kugu“ ipak prouzročila *Salmonella enterica typhi* (Papagrigorakis i sur., 2006., Drancourt, 2011.).

Epidemija kuge je značajno obilježila čitavo razdoblje kasnog srednjeg vijeka te dobar dio ranog srednjeg vijeka, a samo pitanje epidemija i njihov učinak na društvene zajednice postaje značajno za povijest čovječanstva. Smatra se da su postojale tri velike pandemije. Prva je započela u 6. stoljeću, oko 540. godine u Bizantskom Carstvu za vladavine cara Justinijana, druga pandemija poznata kao „Crna smrt“ javila se polovicom 14. stoljeća od koje je umrla trećina europske populacije i treća pandemija koja se proširila iz Kine u Hong Kong krajem 19. stoljeća, a od nje su u Kini i Indiji umrli milijuni ljudi (Guioule i sur., 1994., Ziegler, 1998., Prentice i Rahalison, 2007.,

Aboott i Rocke, 2012.). Navodi se da je do 1500. godine poslije Krista bilo 109 epidemija kuge, a 45 epidemija od 1500. do 1720. godine (Meyer, 1961.).

Prva pandemija - „Justinianova kuga“ (6. stoljeće)

Jedna od najžešćih epidemija kuge u ranom srednjem vijeku bila je ona u 6. stoljeću (oko 540 godine) koja je izbila u Bizantskom Carstvu za vrijeme cara Justinijana pa je po njemu nazvana „Justinianova kuga“. Prva dokazana epidemija kuge počela je 541. godine u Egiptu u luci Pelusium te se proširila u Aleksandriju i diljem Egipta, zatim u Palestinu te u Konstantinopolis (Carigrad - današnji Istanbul). Epidemija se širila Sredozemljem i u druge dijelove Europe i svijeta brodovima natovarenim žitom te štakorima i njihovim buhamama. Vjeruje se da je kuga počela oko područja današnje Etiopije koje se smatra da je rezervoar kuge i područje s puno glodavaca u blizini rijeka i u izravnom dodiru s ljudima. U to su vrijeme glavni trgovачki pravci između Istoka i Europe prolazili Sredozemnim morem i kopnom, preko Turske, Njemačke i Francuske. Infekcija se širila polako, a zaraženi su ljudi duž tog puta, od srednje i južne Azije i Arabije do Irske (Keys, 1999., Aboott i Rocke, 2012.). (Karta 1).

Kroničar navodi da „kuga nije poštedjela niti jedno mjesto, gdje boravi čovjek, ni otoka, ni šipanje, niti gorskog vrha....“. Kada je epidemija bila na vrhuncu, umiralo je 5.000, a katkada i 10.000 ljudi na dan. Mnoge su kuće ostajale prazne. Događalo se da su mrtvi ostajali više dana nepokopani. Ljudi koji bi ostali živi nosili su leševe i pokapali ih. Epidemija je trajala 200 godina (Meyer, 1961., Schat, 2012.). Dominirao je bubonski oblik kuge, a procijenjeno je da je 50 do 60% stanovništva umrlo između



Karta 1. Širenje prve pandemije kuge tzv. „Justinijanove kuge“ [Modificirano prema Keys, 1999.].

541.-700. godine (Perry i Fetherston, 1997., Aboott i Rocke, 2012.).

Kuga je imala veliki demografski utjecaj na stanovništvo tog vremena, čime je smanjena vojna moć, porezni prihodi, poljoprivreda, koji su bili neophodni za održavanje razvoja carstava i vojske. U razdoblju više od dva stoljeća, kuga je paralizirala većinu trgovina i trgovinske razmjene. Nadalje „Justinijanova kuga“ je u Istočnom carstvu imala znatnu ulogu u smanjenju napetosti između Perzijanaca i Bizantinaca, zaustavila je konsolidaciju i utjecaj rimskog carstva nad drugim regijama. Smatra se da se „Justinijanova kuga“ dogodila u kritičnom povijesnom trenutku, što predstavlja prekretnicu između antičkog svijeta i nadolazećeg srednjeg vijeka (Sabbatani i sur., 2012.).

Godine 690. izbila je kuga u Rimu i vraćala se gotovo redovito svakog stoljeća, a zahvaćala je i prostor istočne

obale. U Dubrovniku se pojavila 901. godine. A 1145. godine opisuje se velika epidemija nakon koje je u Dubrovniku ostala tek jedna četvrtina stanovništva. Smatra se da je kuga s europskog kontinenta nestala već krajem 8. stoljeća da bi se ponovo javila polovicom 14. stoljeća (Ravančić, 2006.).

Druga pandemija – „Crna smrt“ (14. do 17. stoljeće)

Sredinom 11. stoljeća javila se pandemija kuge u Mezopotaniji. Pandemija je bila na vrhuncu u 14. stoljeću i završila je tek potkraj 17. stoljeća. Smatra se da se kuga pojавila u Kini i Indiji i proširila na središnju Aziju. Novija su istraživanja grobova i kostiju dokazala da se radilo o epidemiji kuge. Smatra se da su za ponovnu pojavu kuge na europskom kontinentu bili odgovorni Mongoli (Tatari). Njihova osvajanja na azijskom kontinentu tijekom 13. i 14. stoljeća i nomadski načina života omogućili su njezino širenje (Ravančić, 2006.). Isto tako, jedno od mišljenja je da su križari, vraćajući se iz Svetе zemlje u 12. i 13. stoljeću, ubrzali njezino širenje. Najprije su i opet bile napadnute zemlje duž trgovackih putova, a iz njih se kuga širila na istok, zapad i sjever (Meyer, 1961.).

Pojava „Crne smrti“ 1348. godine obilježila je srednji vijek, jer se Zapad nikad prije nije suočio s takvom epidemijom koja je prema nekim procjenama pučanstvo smanjila za dvije trećine. Broj stradalih je varirao od regije do regije pa se procjene gubitaka kreću od jedne do tri četvrtine ukupnog broja stanovništva. Pojavi kuge prethodile su godine gladi početkom 14. stoljeća te stalni ratni sukobi. Među najznačajnijim ratnim sukobima ovog razdoblja svakako treba navesti tzv. „Stogodišnji rat“ između Engleske i Francuske. U drugim europskim regijama ratna zbivanja

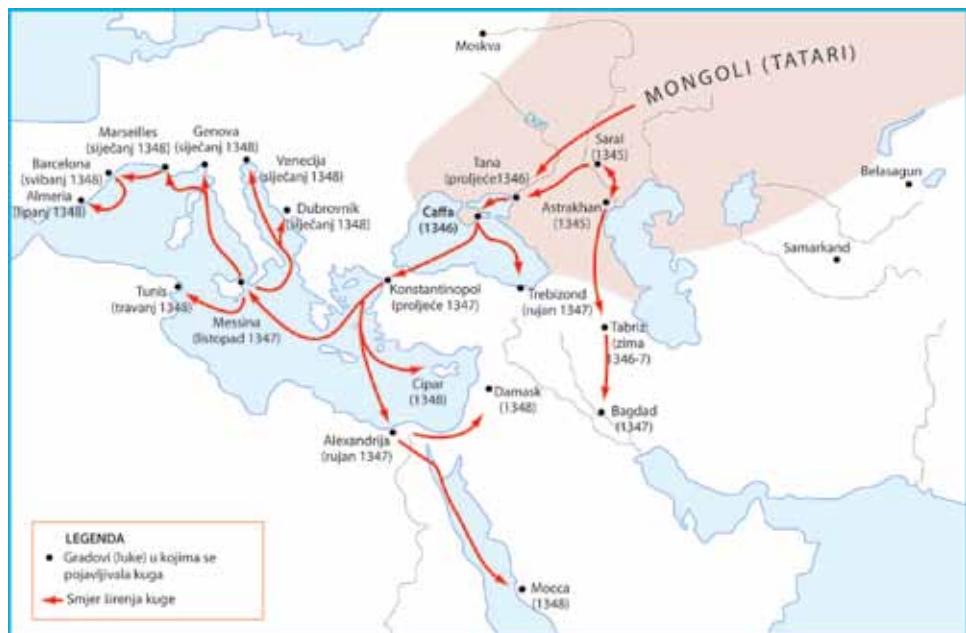
obilježavala su drugu polovicu 13. i prvu polovicu 14. stoljeća. Tako je sredozemni prostor bio uvelike obilježen sukobom između Venecije i Genove, dvaju gradova koji su se borili za trgovacku dominaciju na Sredozemlju. Na istoku sredozemnog bazena Bizant je vodio borbu s Osmanlijama, čija ratna moć upravo početkom 14. stoljeća doživljava jedan od svojih uspona. Jedan od čimbenika koji je svakako pogodovao strahotnom učinku kuge na populaciju svakako je bila gustoća naseljenosti, koja je bila ponajveća u gradskim zajednicama. Toskana je svakako bila jedna od najgušće naseljenih regija u tom razdoblju, kao i prostor južne Francuske. Upravo je na tim prostorima kuga, donesena iz Azije, započela svoj strahotni pohod europskim kontinentom. Historiografija je relativno lako zaključila da su jedni od prvih gradova (nakon Konstantinopola) koji su iskusili svu žestinu epidemije bili sicilijanska Messina, potom Genova u Ligurskom zaljevu te Marseilles na jugu Francuske. Kuga se dalje nezaustavljivo širila, zahvativši tijekom dviju godina (do prosinca 1350. godine) gotovo čitav kontinent, uključujući Njemačku, Skandinaviju, a godine 1348. stigla je u Englesku, 1352. i do Rusije. „Crna smrt“ je u polovici 14. stoljeća na raznim razinama uzdrmala europsko društvo (Ziegler, 1998., Wheelis, 2002., Ravančić, 2006., Tsiamis i sur., 2011.).

Druga pandemija poznata kao „Crna smrt“ ili „Velika kuga“ prouzročila je smrt trećine do četvrtine europskog stanovništva, a smrtnost u Sjevernoj Africi i na Bliskom Istoku je bila slična. Za Kinu, Indiju i ostatak Dalekog Istoka za koje se vjeruje da su bili jako pogodjenih kugom, ali ne postoje dokumenti koji to sa sigurnošću potvrđuju (Poland i sur., 1994., Perry i Fetherston, 1997., Wheelis, 2002., Barry i Gualde, 2008., Aboott i Rocke, 2012.). Smatra se da je tijekom te pandemije umrlo 25 000 000 ljudi, što je

u ono vrijeme bila četvrtina europske i zapadno azijske populacije (Meyer, 1961., Ziegler, 1998.). Barle (1912.) navodi da je od „crne smrti“ u Trieru umrlo 12.000, u Strassburgu 13.000, u Baselu 15.000, u Mainzu 17.000 i u Kölnu 30.000 ljudi. U Beču je u prvoj polovici 1349. svaki dan umiralo 700-800 ljudi, a za vrijeme najžešće pošasti i do 1.400 ljudi u jednom danu. U južnim je europskim zemljama umrla jedna četvrtina, a u Španjolskoj jedna trećina stanovništva.

Još uvijek se ne zna točno zašto, ali čini se da je 20-ih godina 14. stoljeća došlo do nekakve prirodne katastrofe, moguće potresa na prostorima pustinje Gobi, a malo potom u obližnjim provincijama Kineskog Carstva izbila je epidemija kuge. Kuga je bila još aktivna u Kini i sjevernoj Indiji tijekom 30-ih godina istoga stoljeća, kada Kina ulazi u razdoblje velikih društvenih i političkih nemira. Prirodne pošasti samo su pogoršale situaciju u čitavoj regiji. Potkraj 30-ih godina epidemija je zahvatila i središnju Aziju. Ruski arheolog Kvolson otkrio je kraj jezera Issyk-Kul groblja, a pokazali su da je tijekom 1338.-1339. na tom području pokopano izuzetno mnogo ljudi. Analiza grobova i suvremenih izvora ukazala je da se radilo o epidemiji kuge (Meyer, 1961., Norris, 1977., Wheelis, 2002., Barry i Gualde, 2008.).

Tijekom 1346. već je i u Europi bilo poznato da je kuga zahvatila mongolske zemlje u prednjoj Aziji. U toj su se regiji već od ranije nalazile i različite trgovacke ekspoziture europskih sredozemnih gradova. Jedna je od takvih bila i Caffa na poluotoku Krimu (sada Feodosija današnja Ukrajina) na Crnom moru. To je bio talijanska luka osnovana 1266. od strane Genove, a u sporazumu s Mongolskim Kanom. To je bila glavna luka za velike trgovacke brodove Genove, a bila je povezana s Tanom (danasa Azov, Rusija) na rijeci Donu. Trgovina duž rijeke Don povezivala je Tanu u centralnoj Rusiji, a kopnene su ceste vodile sve do Dalekog



Karta 2. Kronološki prikaz širenja kuge tijekom polovice 14. stoljeća [Modificirano prema Wheelis, 2002.]

Istoka. Godine, 1346. mongolski su ratnici opsjedali Caffu. No, među mongolskom vojskom ubrzo se proširila kuga te su se Mongoli bili prisiljeni povući. Prije povlačenja katapultima u zatvorenim grad su ubacivali mrtva tijela zaraženih. Mrtva tijela Mongola stanovnici Caffe bacali su u more. Genovežani su vrlo brzo postali svjesni da treba bježati pred mongolskom opsadom, jer je postojala mogućnost da se Mongoli ubrzo vrate. Međutim, ono čega nisu bili svjesni bila je činjenica da su Mongoli tijekom opsade uspjeli zaraziti i Caffu. Kasnije su brodovima preživjeli stanovnici Caffe proširili kugu u Europu, a u kratkom razdoblju od 1346. do 1351. godine bolest se proširila čitavom Europom. Zbog svog strahovitog učinka ostala je zapamćena pod sablasnim imenom „Crna smrt“, a sporadički se pojavljivala još sljedećih 300 godina (Ziegler, 1998., Wheelis, 2002., Ravančić, 2006., Abbott i Rocke, 2012.). (Karta 2.).

Epidemija kuge koja je pogodila čitavu Europu u 14. stoljeću, kao niti jedna bolest do tada, izuzetno se dojmila suvremenika

i usjekla u kolektivno sjećanje Europljana tako snažno da je tijekom kasnijih stoljeća stvoren njezin slikovit sinonim – „Crna smrt“. Sačuvani zapisi o ovoj epidemiji svaki odreda svjedoče o strahoti kuge i njenoj pogubnosti. Jedna od većih epidemija kuge javila se 1664. i 1665. godine u Londonu i naglo je nestala iz cijele Zapadne Europe. Posljednje epidemije bile su u Irskoj 1650., Danskoj 1654., Italiji 1657., Španjolskoj 1677. do 1681., u Njemačkoj 1679. i 1681. Razlozi potpunog nestanka kuge u tako kratko vrijeme ne znaju se. U 18. stoljeću i prvoj polovici 19. stoljeća kuga je prevladavala u Turskoj, Bliskom Istoku, Siriji, Egiptu i Grčkoj (Meyer, 1961., Gage i sur., 2000., 2005., Abbott i Rocke, 2012.).

Tek su modernizacijske promjene krajem 18. stoljeća uspjele zaustaviti epidemije kuge u Europi. Te su promjene nastale kao rezultat stvaranja apsolutističkih država koje su tijekom 18. stoljeća napravile važne korake u stvaranju organizirane zdravstvene zaštite stanovništva. Jedna od posljedica

tih promjena je i učinkovito sprječavanje širenja epidemija i epizootija. Mada tadašnji stupanj medicinskog znanja nije omogućio adekvatnu zaštitu od kuge. Habsburška Monarhija je zbog čestih izbijanja epidemija stvorila sustav sanitarnih kordona, koji je velikim dijelom zaštitio stanovništvo Monarhije od te opake bolesti. Na tu je odluku utjecala zadnja velika epidemija kuge u Beču 1713. godine (Skenderović, 2003.).

Treća pandemija – Moderna kuga (Hong Kong - 19. stoljeće)

Pretpostavlja se da je treća velika epidemija kuge nastala u južnom i središnjem dijelu pokrajine Yunnan u Kini. Bolest se javila za vrijeme pobune muslimana, koja je započela 1855. Kretanja bjegunaca pogodovala su širenju bolesti. Bolest se proširila u Hong Kong (Meyer, 1961., Perry i Fetherston, 1997.). U lipnju 1894. u razmaku od nekoliko dana dva su čovjeka opremljena mikroskopima stigli u Hong Kong, u kojem je već više od mjesec dana vladala epidemija kuge. Jedan od njih je bio Alexander Yersin učenik Louisa Pasteura, a drugi je bio suradnik Roberta Kocha, Japanac Shibusaburo Kitasato. Gotovo istodobno, Yersin u priručnom laboratoriju u slamanatoj kolibi u krugu Alice Memorial Hospital, a Kitasato u sobi u Kennedy Town Hospital, došli su do iste spoznaje i našli su male štapičaste bakterije u krvi i limfnim čvorovima bolesnika. I ostali su Kochovi postulati bili ispunjeni: na hranjivoj podlozi bacili kuge su obilno rasli u kolonijama, u pokusnih životinja razvijala se bolest vrlo slična kugi te se iz njihove krvi i tkiva ponovo mogao izdvojiti sitni organizam. Uzročnik kuge je pronađen. Mikroorganizam je isprva dobio ime *Bacterium pestis*, zatim 1900., *Bacterium pestis*, 1923., je nazvan *Pasteurella pestis* i na koncu 1954., nazvan je *Yersinia pestis*. Od

1894. godine kuga je postala bolest jasno definiranog uzročnika, a dijagnoza kuge nemoguća je bez laboratorijskih testova (Buklijaš, 2002.). Yersin je još 1897. pretpostavljao da postoji veza između štakora i kuge, Ogata 1897. opisuje epidemiju kao „štakorsku groznicu“. Opaženo je da se kuga često pojavljuje među onima koji su nedavno bili u dodiru sa štakorima i istaknuo odlučujući ulogu štakora u širenju bolesti (Zietz i Dunkelberg, 2004., Gage i Kosoy, 2005.). Kasnije, 1900. godine Clemow je objavio opise ruskih istraživača i počelo se sumnjati da su glodavci primarni rezervoari i nosioci bacila kuge (Meyer, 1961.). Između 1894. do 1922. kuga se proširila po cijelom svijetu, zahvativši šira područja nego što je to bilo u bilo kojoj prijašnjoj velikoj pandemiji. Budući da je kuga u to doba bila bolest koja se širila pomorskim prometom, ona je zahvatila gotovo sve europske luke, prouzročujući lokalne epidemije. Velika epidemija javila se u Indiji 1896. (Bombay), 1898. (Kalkuta), 1897. (Japan i Filipini), 1898. (Australija), 1899. (Havaji, Centralna i Južna Amerika), 1900. (Cape Town i San Francisco), 1904. (Bangkok), 1922. (Teksas, Florida, Pensikola). Ljudi su u mnogim, uglavnom, lučkim gradovima u Africi, Australiji, Europi, Aziji, Sjevernoj i Južnoj Americi bili zaraženi. *Y. pestis* je iz nekih područja nestala (Australija) nakon što se nije uspjela zadržati u ciklusu divljih životinja i buha (Meyer, 1961., Poland i sur., 1994.). (Karta 3.). Broj umrlih od 1896. i 1917., iznosio je u Indiji 9.841.396, a maksimum je zabilježen 1907., kad se broj umrlih popeo na 1.315.892 - 5.16/1000. Broj oboljelih je od polovice 19. stoljeća u velikom padu a 1948. broj oboljelih iznosio je 9.757 (Kaul, 1949., cit. Meyer, 1961.).

Pojava kuge u hrvatskim krajevima

Prva epidemija koja se s razmjernom sigurnošću može identificirati kao kuga



Karta 3. Kretanje treće pandemije kuge u 19. stoljeću [Modificirano prema Abbott i Rocke, 2012.]

je čuvena „Crna smrt“ u siječnju 1348. godine u Dubrovniku. U Dubrovniku se godine, 901., a kasnije 1145. i 1293. godine opisuje velike epidemije nakon koje je u Dubrovniku ostala jedna četvrtina stanovništva, a nazvana je imenom „mortalita“, za razliku od 1348. kada se rabi naziv „peste“. Dubrovnik je živio od pomorske trgovine pa su vlasti 1377. godine uvele karantenu. Karantena je značila da posade svih brodova koji dolaze iz zaraženih krajeva najprije borave mjesec dana na otocima, Supetar, Mrkan i Bobara (Buklijaš, 2002., Ravančić, 2006.).

Dubrovnik, kao priobalni grad s izrazito trgovачki orijentiranim privredom, bio je „predodređen“ da ta bolest pohara i njegovo područje. Iako se možda čini da je jednostavno utvrditi početak neke epidemije, to uistinu nije lako. Podatci koje donosi izvorna građa ne moraju se uvijek poklapati. Razlozi tih nepoklapanja leže u jednostavnoj činjenici da autori sačuvanih kronika nisu imali namjeru zbuniti svoje buduće čitatelje nego su prenosili i zapisivali vijesti onako kako su ih sami čuli, čitali i razumijevali. Njihovim autorima nije bila namjera ostaviti trag za buduća pokoljenja,

nego su jednostavno upisivali tadašnje događaje. Jednako se tako, vezano uz dolazak bolesti u grad mora imati na umu kako je vrlo moguće da je od trenutka stvarnog dolaska epidemije i trenutka od kad je njena prisutnost zabilježena u izvorima moglo proći duže vrijeme. Naime, radi se o vremenu potrebnom da zaražena buha dođe u dodir s novim nositeljem, potom trajanju inkubacije, ali isto tako i o određenom razdoblju da zajednica, tj. oni koji zapisuju to primijete, a onda i zabilježe da se radi o nečem nesvakidašnjem – velikom pomoru stanovništva u kratkom vremenskom razmaku. Dubrovačke kronike, najčešće govore o samom početku 1348. kao vremenu dolaska epidemije u grad. Tako kronika Nikole Ragnine govori da je bolest u grad došla 15. siječnja te da se proširila čitavim dubrovačkim područjem i zadržala se sedam mjeseci, iako su se posljedice osjećale još čitave tri godine (Ravančić, 2006.). Ragnina kronika povijesti Dubrovnika spominje 170 umrlih među vlastelom, više od 300 među imućnim pučanima i više od 1.000 u običnom puku. Te su brojke, ako i nisu posve točne, s obzirom na tadašnje

malobrojno stanovništvo Dubrovnika velike i one dobro opisuju dubok dojam koji je pošast ostavila na pamćenje Dubrovčana (Buklijaš, 2002.).

Kuga je 1348. godine bila tek prvi udarac na mentalne sklopove i shvaćanja onovremenih ljudi u Dubrovniku. Čini se da su preživjeli mislili kako su nakon epidemije „izbjegli“ najgore. Međutim, njihov stav prema bolesti u osnovi se nije promijenio. Tome u prilog zorno svjedoči činjenica da su gotovo jednako pogubne bile i epidemije tijekom 60-ih godina istoga stoljeća. Djelovanje dubrovačkih vlasti, glede obuzdavanja bolesti u gradu, ostalo je jednako nedjelotvorno kao i tijekom pogubnih mjeseci 1348. godine. Promjena svijesti glede epidemije i mogućnosti njenog sprječavanja i kontrole može se uočiti tek iza 1377. godine i uvođenja prve karantene. Iz svega navedenog proizlazi da je epidemija s polovice 14. stoljeća označila tek prvi korak u mijeni društvene zbilje srednjevjekovnog Dubrovnika. Odnos prema životu i smrti znatnije će se promijeniti tek s učestalom pojavama epidemije u gradu i njegovoj okolini. Međutim, pri tome nikako ne treba izostaviti gospodarske i političke čimbenike koji su nesumnjivo doprinijeli toj mijeni (Ravančić, 2006.).

Iako su podaci oskudni, može se prepostaviti da su epidemije u 14. stoljeću (1348., 1378., 1397. godine) teško pogodile dalmatinske gradove i znatno izmijenile njihovu društvenu strukturu. Tako je, primjerice, zbog pomora plemstva u Šibeniku i manjka kvoruma u vjeću, u Šibeniku 20 pučana moralo dobiti plemički naslov. Epidemije nisu jenjavale ni u 15. stoljeću. Smatra se da je u Zadru između 1418. i 1500. bilo 12 epidemijskih valova. Epidemiski val 1526./27. godine odnio je polovicu stanovništva Splita. O kugi u Hrvatskom primorju, Istri, Kvarneru i kontinentalnom dijelu Hrvatske zna se manje nego o Dalmaciji, i osobito u Dubrovniku. Spominje se kuga

u Rijeci 1599., ali se prepostavlja da je Rijeku i Istru pogodila „Crna smrť“ 1348., a postoje podatci koji navode da je Rab u šest mjeseci 1562. od kuge izgubio tri četvrtine stanovništva. U samom je gradu ostalo stotinjak stanovnika, a na cijelom otoku jedva devet stotina (Buklijaš, 2002.).

Sredinom 16. stoljeća poznata je prva epidemija kuge koja se proširila na sjever Hrvatske (Koprivnica) iz teritorija Osmanlijskog Carstva. Kuga je u listopadu 1556. zabilježena na zagrebačkom području, a u lipnju 1557. u križevačkom kraju i Međimurju. Prema jednom izvješću iz rujna 1599. godine kugu su iz Slavonije, navodno, prenijeli Vlasi. U zaključcima Hrvatskog sabora koji se održao 21. listopada 1599. zabilježeno je da su radi kuge koja je „već počela bijesniti, opustjeli mnoge kmetske kuće“. Istovremeno je narod patio zbog oskudice hrane i krme, jer je te godine bila strahovita suša. Nevolju zbog suše i kuge ističe Hrvatski sabor koji je ban Ivan Drašković za 1. veljače 1600. godine sazvao u Varaždinu, jer je u Zagrebu vladala kuga (Petrić, 2012.).

Kuga u Europi počinje jenjavati u 17. stoljeću, ali je hrvatskim krajevima opasnost i dalje prijetila iz Turskog carstva, tako da su se lazareti i sanitarni kordoni počeli premještati s morske strane prema dalmatinskom zaleđu, odnosno kontinentalnom dijelu, duž granice Vojne krajine (Buklijaš, 2002.). Barle (1912.) spominje da je izvor kuge za Hrvatsku bila susjedna Bosna, donosili su ju časnici iz istoka. Godine 1678. spominje se da je gotovo cijelo Osmanlijsko Carstvo zahvaćeno kugom, ali bolest nije prešla na habsburško područje. Hrvatsko-slavonski sabor je u studenom 1682. godine donio odredbe o stražama protiv širenja kuge koja se pojavila u okolini Koprivnice i dijelovima Križevačke krajine (Petrić, 2012.). Godine 1710. pojavila se kuga i u okolini Zagreba. Zahvaćena su bila sela Rakovec, Vrbovec i Božjakovina. Kuga je

jako uplašila stanovnike Zagreba i okolice pa je Hrvatska kraljevska konferencija donijela odluku da će Sabor podići veliki oltar u Mariji Bistrici, ostane li Hrvatska poštēđena od kuge (Barle, 1912.).

Tijekom čitave prve polovice 18. stoljeća u Habsburškoj Monarhiji istočni dio Hrvatske (Slavonija) tretirana je kao opasan prostor i potencijalni izvor bolesti, a opasnost od epidemije kuge najviše je prijetila onim krajevima koji su bili smješteni uz granicu s Osmanlijskim Carstvom. Od svih krajeva uz granicu, Srijem je bio najizloženiji zarazi, jer su trgovci iz čitavog Osmanlijskog Carstva u Habsburšku Monarhiju ulazili najčešće preko Zemuna i Srijemske Mitrovice, a oni su i najčešće prenosili kugu. Već 1700. g. kuga se pojavila u okolini Beograda i Temišvara. Godine 1708. kuga se pojavila u Srijemskoj Mitrovici, a sljedeće godine pojavila se u Srijemskim Karlovциma te u južnoj Bačkoj. Tijekom epidemija kuge susjedne su županije i kraljevstva stalno međusobno komunicirale obavještavajući se međusobno o zdravstvenom stanju pod njihovom jurisdikcijom. Kuga se 1724. spominje u Šišincu i Opatiji, selima župe Pokupsko. Prema ljetopisu franjevačkog samostana u Slavonskom Brodu prve su vijesti o kugi, koja se pojavila u Erdelju, stigle u Slavoniju 1737. godine. Epidemija je prema ovome izvoru prvo 1737. godine zahvatila gradove u Bačkoj, a kasnije Temišvar, Arad, Beograd i Petrovaradin. Iste je godine kuga iz ovih gradova stigla u Ilok, Vukovar te u Predgrađe Osijeka. Međutim, kuga je Požešku kotlinu stigla iz drugog pravca iz Bosne, preko Gradiške i Černika gdje se pojavila tijekom zime 1738./39. godine (Skenderović, 2003.). Uz pojavu kuge u Požegi postoje različite priče, a jedna je da je kugu u Požegu prenio fratar iz Bosne. Ova priča ima i podlogu, jer je kugom posebno teško bio pogoden franjevački samostan u Požegi u kojem je umrlo nekoliko franjevaca, laika i trećoredaca te sluga, a umro je i

sam gvardijan (Barle, 1906.). Posljednja kugina pošast na dubrovačkom i općenito hrvatskom teritoriju zabilježena je 1815. godine kada je na dubrovački teritorij došla s teritorija Hercegovine (Buklijaš, 2002.).

Sažetak

Kuga je dugo bila jedna od najopasnijih zaraznih, akutnih i epidemijskih bakterijskih bolesti. Iako je bolest poznata više tisuća godina, njezin je uzročnik otkriven tek krajem 19. stoljeća. Kuga je odavno nestala iz Europe, ali i dalje trinja u žarištima diljem svijeta. U nekim područjima je i danas endemski stalno prisutna među populacijom malih glodavaca, ali se iznimno rijetko širi na druge vrste. Smatra se da su postojale tri velike pandemije. Prva je započela u 6. stoljeću, oko 540. godine u Bizantskom Carstvu za vladavine cara Justinijana, druga pandemija poznata kao „Crna smrt“ javila se polovicom 14. stoljeću (1348. godine) od koje je umrla trećina europske populacije i treća pandemija koja se proširila iz Kine u Hong Kong krajem 19. stoljeća. Navodi se da je do 1500. godine poslije Krista bilo 109 epidemija kuge, a 45 epidemija od 1500. do 1720. godine. Kuga je u Hrvatskim krajevima osobito dobro opisana u Dubrovniku 1348. godine, a epidemije su u 14. stoljeću teško pogodile i dalmatinske gradove te znatno izmijenile njihovu društvenu strukturu. Kuga u Europi počinjejenjavati u 17. stoljeću, ali hrvatskim krajevima opasnost je i dalje prijetila iz Turskog carstva, a osobito duž granice Vojne krajine. Posljednja kuga na dubrovačkom i općenito hrvatskom teritoriju zabilježena je 1815. godine kada je došla s područja Hercegovine. Epidemija kuge je znatno obilježila povijest od srednjeg vijeka do 20. stoljeća, a pitanje epidemija i njihov učinak na društvene zajednice postaje značajno za povijest čovječanstva.

Literatura

1. ABBOTT, R. C. and T. E. ROCKE (2012): Plague. USGS National Wildlife Health Center (Circular 1372).
2. BARLE, J. (1906): Kuga u požeškoj kotlini 1739. Liječnički vjesnik 28, 386-387.
3. BARLE, J. (1912): Još nekoliko podataka o kugi

- godine 1739. i godine 1743. - 1745. Liječnički vjesnik 34, 6-12.
4. BARRY, S. and N. GUALDE (2008): The Black Death in Christian and Muslim Occident, 1347 - 1353. Can. Bull. Med. Hist. 25, 461-498.
 5. BUKLIJAŠ, T. (2002): Kuga: Nastajanje identiteta bolesti. Hrvatska Revija 2, 90-95.
 6. BUTLER, T. (2009): Plague into the 21st Century. Clin. Infect. Dis. 49, 737-742.
 7. BUTLER, T. (2013): Plague gives surprise in the first dekade of the 21st century in the United States and worldwide. Am. J. Trop. Med. Hyg. 89, 788-793.
 8. DRANCOURT, M. (2011): Finally, plague is plague. Clin. Microbiol. Infect. 118, 105-106.
 9. GAGE, K. L., D. T. DENNIS, K. A. ORLOSKI, P. ETTESTAD, T. L. BROWN, P. J. REYNOLDS, W. J. PAPE, C. L. FRITZ, L. G. CARTER and J. D. STEIN (2000): Cases of cat-associated human plague in the Western US, 1977-1998. Clin. Inf. Dis. 30, 893-900.
 10. GAGE, K. L. and M. Y. KOSOY (2005): Natural history of plague: perspectives from more than a century of research. Ann. Rev. Entomol. 50, 505-528.
 11. GUIYOULE, A., F. GRIMONT, I. ITEMAN, P. GRIMONT and M. LEFEVRE (1994): Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strain. J. Clin. Microbiol. 32, 634-641.
 12. KEYS, D. (1999): Catastrophe: an investigation into the origins of the modern world. Ballantine Books, New York. Pp. 9-27.
 13. KRAUSS, H., A. WEBER, M. APPEX, B. ENDERS, H. D. ISENBERG, H. G. SCHIEFER, W. SLENCKZA, A. VON GRAEVENITZ and H. ZAHNER (2003): Zoonoses – Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. ASM Press, Washington, D. C. Plague, pp. 217-220.
 14. MEYER, K. F. (1961): Plague. In: HULL, T. G.: Diseases Transmitted from Animals to Man. Springfield, Illinois (USA). Pp. 467-508.
 15. NORRIS, J. (1977): East or West? The geographic origin of the Black Death. Bull. Hist. Med. 51, 1-24.
 16. PAPAGRIGORAKIS, M. J., C. YAPIJAKIS, P. N. SYNODINOS and E. BAZIOTOPOULOU - VALAVANI (2006): DNA examination of ancient dental pulp incriminates typhoid fever as a probable cause of the Plague of Athens. Int. J. Infect. Dis. 10, 206-214.
 17. PERRY, R. and J. FETHERSON (1997): *Yersinia pestis* - etiological agent of plague. Clin. Microbiol. Rev. 10, 35-66.
 18. PETRIĆ, H. (2012): Mikroorganizmi, epidemije i liječenje bolesti u Varaždinskom generalatu i Križevačkoj županiji u 17. stoljeću i početkom 18. stoljeća. CRIS 1, 306-319.
 19. POLAND, J. D., T. J. QUAN and A. M. BARNES (1994): Plague. In: BERAN, G. W., J. H. STEELE.: Handbook of Zoonoses, Section A: Bacterial, Rickettsial, Chlamydial and Mycotic, CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp. 93-112.
 20. PRENTICE, M. B. and L. RAHALISON (2007): Plague. Lancet 369, 1196-1207.
 21. RAVANIĆIĆ, G. (2006): Crna smrt 1348.-1349. u Dubrovniku - srednjevjekovni grad i doživljaj epidemije. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu Filozofski fakultet.
 22. SABBATANI, S. and R. MANFREDI, S. FIORINO (2012): The Justinian plague (part one). Infez. Med. 20, 125-139.
 23. SCHAT, M. (2012): Justinian's Foreign Policy and Plague: Did Justinian Create the First Pandemic? Montana State University, pp. 1-7.
 24. SKENDEROVIC, R. (2003): Kuga u Požegi i Požeškoj kotlini 1739. godine. Scrinia Slavonica 3, 157-170.
 25. TITBALL, R. W., J. Hill, D. G. LAWTON and K. A. BROWN (2003): *Yersinia pestis* and plague. Bioc. Soc. Trans. 31, 104-107.
 26. TSIAMIS, C. E. POULAKOU-REBELAKOU, A. TSARKIS and E. PETRIDOU (2011): Epidemic waves of the Black Death in the Byzantine Empire (1347-1453 AD). Infez. Med. 19, 194-201.
 27. ZIEGLER, P. (1998): The Black Death. Penguin-London.
 28. ZIETZ, B. P. and D. DUNKELBERG (2004): The history of the plague and the research on the causative agent *Yersinia pestis*. Int. J. Hyg. Environ. Health 2, 165-178.
 29. WHEELIS, M. (2002): Biological Warfare at the 1346 Siege of Caffa. Emer. Infect. Dis. 8, 971-975.

The plague – the disease that changed the world (part I.)

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

The plague is one of the most dangerous, contagious, acute, bacterial epidemics. Although the disease had been known for centuries, the causative agent was not identified until the end of 19th century. The plague has been eradicated in Europe but still appears sporadically in some areas in the world. Small rodent populations in certain areas are permanently infected by the

causative agent. However, this rarely spreads to other species. It is considered that three large pandemics have appeared throughout history. The first began in the 6th century in the Byzantine Empire during the reign of Emperor Justinian. The second one, known as the "black death" started in the mid 14th century (1348) and wiped out around one-third of the European population. The third

pandemic spread from China to Hong Kong in the late 19th century. According to some historical sources, there were 109 epidemics before the year 1500 BC, while in the period between 1500 BC to 1720 AD, there were 45 plague epidemics. Regarding the plague in the present day territory of Croatia, the epidemic in Dubrovnik in 1348 is well described. That epidemic had a huge impact on cities in the Dalmatian region, changing their social structure. In Europe, the plague started

to decline in the 17th century, although the danger continued in Croatia along the border with the Ottoman Empire. The last occurrence of the plague in the present day territory of Croatia was recorded in 1815, when it spread from Herzegovina. These plague epidemics significantly marked the history of mankind from the medieval age to the beginning of the 20th century, and impacted the social relations in society.

BILJEŠKE IZ GOSPODARSTVA POKUŠAJI SA RAZNIM VRSTAMA KOKOŠIJU S OBZIROM NA BROJ SNEŠENIH JAJA

Veterinarska i gospodarska velika/ Škola (laboratorij za gospodarska istraživanja u Kopenhagenu), priopćuje u svom 84. izvještaju pokuse, koji su provedenima ovom svrhom: 1. ustanoviti razliku koliko koja vrst kokošiju daje jaja, 2. razjasniti razne odnošje kod oplodjivanja i boje ljske kokošijeg jajeta.

Prema jednome izvještaju u „International Agrartecbnisohe Rundschau”, došlo je do ovih zaključaka

1. Trogodišnji pokusi o nešenju pojedenih vrsta (bijela i smedja talijanska rasa, prugasta „Pymouth-Rocks“, bijela „Wyendottes“, crna „Minorka“ i „Houdana“) dokazuju, da talijanska rasa zauzima prva mjesta i to koliko s obzirom na broj i na ukupnu težinu snešenih jaja.

Godišnji prosjek (3 godine) snešenih jaja bio je kod „Talijana“ 100. Kod „Pymouth-Rocks“-a 70, kod bijelih „Wyandottese“ 60, kod crnih „Minorka“ 90, kod „Houdaba“-a 80 komada. Brojevi navedeni kod posljednje tri rase nisu apsolutno ispravni, jer su medju trima rasama izbile bolesti.

Kod pokusa sa smedjima „Talijankama“, „Nessauer“-ime i „Orpingtonima“, dadoše „Orpingtoni“ najveću čistu dobit, ne drugome su mjestu bili „Talijani“, a na zadnjem „Nassau“-avci.

„Gospodar“ (Osijek), 2, 22-23, 1915 (god. 39) (ožujak 1915.).

XYLAZINE 2%

otopina injekcijska

živčani sustav

sedativ, analgetik i miorelaksans

stimulator α_2 -adrenergičnih receptora, ksilazin

za goveda, konje, pse i mačke



SASTAV

Jedan mL bistre bezbojne injekcijske otopine Xylazine 2%

sadrži:

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

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

20 mg ksilazina = 23.32 mg ksilazin klorida.

NAČIN PRIMJENE I DOZE

Govedo

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

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

Konj

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

Pas

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

Mačka

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

OSNOVNA SVOJSTVA I DJELOVANJE

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

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

KARENCIJA

Govedo i konj -

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

Mlijeko.....2 dana.

OPREMA

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

NAČIN ČUVANJA

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

Zastupnik



CENTRALNA VETERINARSKA

AGENCIJA d.o.o.

Zagreb, Utinska 40

tel. 01/2304-334; -335

fax. 01/6604-031

99,00 kn/30 mL

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Masti i masne kiseline u hrani životinjskog podrijetla

Tina Barbir, Ana Vulić i Jelka Pleadin



Uvod

Lipidi su skupina srodnih kemijskih spojeva koje povezuje zajedničko svojstvo da su netopljivi u vodi. Dijele se na jednostavne lipide ili masti, složene (npr. fosfolipidi) i pseudolipide (npr. kolesterol). Masti su građene iz trovalentnog alkohola glicerola i viših masnih kiselina (triglyceridi) te su uz ugljikohidrate i proteine jedan od tri glavna sastojka hrane (Karolyi, 2004.). Glavni su izvor lipida u našoj prehrani biljna ulja i različiti proizvodi životinjskog podrijetla, kao meso, jaja, mlijeko i mlječni proizvodi, a njihova uloga u biološkim tkivima je višestruka s obzirom da predstavljaju izvor energije, komponente bioloških membrana, prekursore za različite molekule kao i transportere određenih vitamina (Petrović i sur., 2010.).

Trenutno se u prehrani ljudi puno pažnje posvećuje prehrambenim mastima kao važnom faktoru ljudskog zdravlja. Istraživanja su pokazala da unos nezasićenih masnih kiselina smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti, ali i mogućnosti pojave određenih vrsta tumora, dijabetesa i sl., dok se s druge strane kritizira učestalo konzumiranje proizvoda životinjskog podrijetla zbog visokog udjela zasićenih masnih kiselina.

Prema istraživanju National Diet and Nutrition Survey (NDNS), nedugo provedenom u Velikoj Britaniji, meso i mesni proizvodi te mlijeko i mlječni proizvodi osiguravaju 25% ukupne energije dobivene prehranom. Zajedno, oni čine izvor gotovo polovine zasićenih masnih kiselina unesenih hranom, dok su meso i mesni proizvodi isto tako najznačajniji izvor mononezasićenih masnih kiselina (Woods i Fearon, 2009.).

Zakonom o deklarirajući hrane u mnogim se zemljama zahtijeva da sva procesuirana hrana bude analizirana na različite zasićene, mono- i polinezasićene masne kiseline te da je ta informacija dostupna potrošačima (Petrović i sur., 2010.). Osim povećanog unosa zasićenih masnih kiselina u odnosu na nezasićene, zabrinutost se javlja i zbog povećanog omjera omega-6/omega-3 polinezasićenih masnih kiselina, koji u današnjoj prehrani ljudi iznosi 10-30:1 (Lunn i Theobald, 2006.), dok zdravstveno preporučeni omjer u prehrani iznosi 4:1 pa i manje (HMSO, 1994.). Modernizacija i razvoj poljoprivrede u proteklom stoljeću te povećanje produktivnosti proizvodnje mesa, temeljeno na intenzivnom tovu žitaricama, doveli su do proizvodnje mesa bogatog omega-6 polinezasićenim

Tina BARBIR, mag. ing. biotehnol., dr. sc. Ana VULIĆ, dipl. ing. preh. tehnol., dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, docentica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

masnim kiselinama, uz istovremeno smanjenje sadržaja omega-3 polinezasićenih masnih kiselina. Slične su se promjene dogodile i u sastavu polinezasićenih masnih kiselina konzumnih jaja i ribe iz intenzivnog uzgoja (Karolyi, 2007.a).

Profil masnih kiselina u hrani životinjskog podrijetla moguće je mijenjati promjenom prehrane te različitim tehnološkim postupaka tijekom uzgoja životinja i prerade hrane, rezultirajući pri tom poželjnim udjelom masti i sastavom masnih kiselina. Posljednjih se godina prodaju brojni omega-3 proizvodi životinjskog podrijetla, s različitim sadržajem i tipom omega-3 masnih kiselina. U cilju pravilnog deklariranja hrane i kontrole navedenih deklaracija te informiranja potrošača, neupitna je važnost određivanja sastava masnih kiselina u hrani životinjskog podrijetla kao značajnom izvoru masti u ljudskoj prehrani.

Struktura i podjela masnih kiselina

Općenito, masne su kiseline u prirodnim mastima i uljima kemijski građene iz ugljikovog lanca s terminalnom metilnom (CH_3-) grupom na jednom i karboksilnom (-COOH) grupom na drugom kraju lanca (Karolyi, 2007.a). Klasifikacija masnih kiselina (Tabela 1) vrši se temeljem dužine ugljikovog lanca (koji može biti u rasponu od 1 do 30 C atoma), prisutnosti i broju dvostrukih veza (zasićene, mononezasićene i polinezasićene kiseline), položaju prve dvostrukе veze u ugljikovom lancu (omega-9, omega-3, omega-6 i sl.) te prostornom obliku dvostrukih veza (cis i trans izomeri). Isto ih tako, s obzirom na mogućnost njihove sinteze u organizmu, možemo podijeliti na esencijalne (omega-6 i omega-3) i neesencijalne masne kiseline (Whetsell i sur., 2003., Karolyi, 2007.a).

Masne se kiseline od C1 do C6 atoma nalaze u slobodnoj formi dok se masne kiseline s dužim lancima mogu nalaziti u slobodnoj formi, esterificirane kao trigliceridi (Whetsell i sur., 2003.) te kao sastavni dio glicerofosfolipida koji izgrađuju membrane stanica (Krvavica i sur., 2013.).

U molekuli zasićenih masnih kiselina (engl. saturated fatty acid ili SFA) svи atomi ugljika međusobno su povezani jednostrukim vezama, a na svakom se ugljikovom atomu nalazi maksimalno mogući broj vodikovih atoma. Masnim kiselinama može nedostajati jedan par vodikovih atoma u lancu i u tom slučaju masna kiselina sadrži jednu dvostruku vezu te je jednostruko ili mononezasićena (engl. monounsaturated fatty acid ili MUFA). Višestruko nezasićene ili polinezasićene masne kiseline (engl. polyunsaturated fatty acid ili PUFA) u ugljikovom lancu sadrže više od jedne nezasićene ili dvostrukе veze.

Zbog mogućnosti pucanja dvostrukih veza, nezasićene masne kiseline su nestabilnije, a reaktivnost im raste s porastom broja dvostrukih veza. Omega (ω) ili n-broj u nomenklaturi polinezasićenih masnih kiselina označava položaj prve dvostrukе veze u ugljikovom lancu brojeno od CH_3 skupine. Osnovni je predstavnik skupine omega-6 PUFA linolna kiselina (LA, C18:2n-6), a skupine omega-3 α -linolenska kiselina (ALA, C18:3n-3). Kod ljudi, sve metaboličke pretvorbe polinezasićenih masnih kiselina poput desaturacije i elongacije, odvijaju se iza devetog ugljikovog atoma od metilnog kraja (Karolyi, 2007.a). Zbog nedostatka potrebnih enzima, čovjek i farmske životinje ne mogu sintetizirati LA i ALA već ih moraju unositi u organizam što i uvjetuje njihovu esencijalnost. Za razliku od životinja, biljke sintetiziraju linolnu i linolensku masnu kiselinsku koju s drugima pohranjuju u obliku ulja u sjemenkama i drugim tkivima (Bogut i sur., 1996.).

Tabela 1. Prikaz masnih kiselina prema strukturi, nazivu i tipu

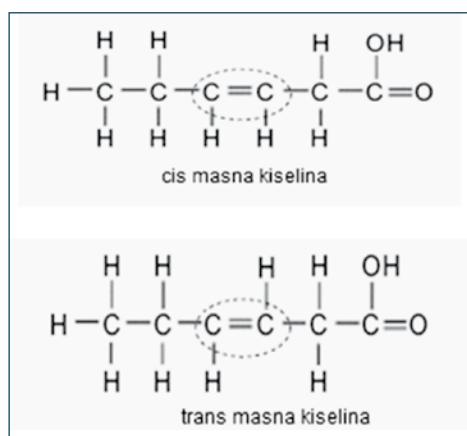
Struktura	Naziv	Tip
C4:0	maslačna kiselina	SFA ¹
C6:0	kapronska kiselina	SFA
C8:0	kaprilna kiselina	SFA
C10:0	kaprinska kiselina	SFA
C11:0	unidekanska kiselina	SFA
C12:0	laurinska kiselina	SFA
C13:0	tridekanska kiselina	SFA
C14:0	miristinska kiselina	SFA
C15:0	pentadekanska kiselina	SFA
C16:0	palmitinska kiselina	SFA
C17:0	heptadekanska kiselina	SFA
C18:0	stearinska kiselina	SFA
C20:0	arahidska kiselina	SFA
C21:0	heneikozanoična kiselina	SFA
C22:0	behenska kiselina	SFA
C23:0	trikozanoična kiselina	SFA
C24:0	lignocerinska kiselina	SFA
C14:1	miristoleinska kiselina	MUFA ² (omega-5)
C15:1	<i>cis</i> -10-pentadekanska kiselina	MUFA
C16:1	palmitoleinska kiselina	MUFA (omega-7)
C17:1	<i>cis</i> -10-heptadekanska kiselina	MUFA
C18:1n9t	elaidična kiselina	MUFA (omega-9)
C18:1n9c	oleinska kiselina	MUFA (omega-9)
C20:1	<i>cis</i> -11-eikozenska kiselina	MUFA
C22:1n9	eručna kiselina	MUFA (omega-9)
C24:1	nervonična kiselina	MUFA
C18:2n6t	linolna kiselina	PUFA ³ (omega-6)
C18:2n6c	linolna kiselina	PUFA (omega-6)
C18:3n6	γ-linolenska kiselina	PUFA (omega-6)
C20:2n6	eikozadienska kiselina	PUFA (omega-6)
C20:3n6	eikozatrienska kiselina	PUFA (omega-6)
C20:4n6	arahidonska kiselina	PUFA (omega-6)
C22:2	dokosadienoična kiselina	PUFA (omega-6)
C18:3n3	α-linolenska kiselina	PUFA (omega-3)
C20:3n3	eikozatrienska kiselina	PUFA (omega-3)
C20:5n3	eikozapentaenoična (EPA) kiselina	PUFA (omega-3)
C22:6n3	dokozaheksaenska (DHA) kiselina	PUFA (omega-3)

¹ zasićena masna kiselina (engl. SFA - Saturated Fatty Acid)² jednostruko nezasićena masna kiselina (engl. MUFA - Monounsaturated Fatty Acid)³ višestruko nezasićena masna kiselina (engl. PUFA - Polyunsaturated Fatty Acid)

Dvostrukе veze su najčešće u *cis*-obliku (geometrijska izomerizacija) gdje su H atomi smješteni na istoj strani molekule ili rjeđe u *trans*-obliku, gdje su H atomi smješteni nasuprotno u odnosu na smjer molekule masne kiselina (Slika 1). Veliki broj autora navodi da *trans* masne kiseline (izuzev konjugirane linolne) imaju nepovoljan učinak na ljudsko zdravlje, slično kao i zasićene masne kiseline (Krvavica i sur., 2013.). Nezasićene *trans* masne kiseline prirodno se pojavljuju uglavnom u mesu i mlijeku preživača, a mogu nastati i prekomjernim zagrijavanjem nezasićenih masnih kiselina, kao što je to slučaj u industriji (Whetsell i sur., 2003.).

Čimbenici koji utječu na sastav masnih kiselina

Brojna istraživanja pokazuju da na sastav masnih kiselina u hrani životinjskog podrijetla značajno utječe niz čimbenika, kao što su: hranidba, dob, tjelesna masa, anatomska pozicija, spol i genotip životinje. Ova saznanja daju mogućnosti za kreiranje i primjenu različitih tehnoloških postupaka u uzgoju životinja, koji će doprinijeti proizvodnji mesa poželjnog udjela masti i omjera masnih kiselina (Krvavica i sur., 2013.).



Slika 1. *Cis* i *trans* oblik masne kiseline (Lunn i Theobald, 2006.)

Optimizirajući prehranu i izvor masnih kiselina u hranidbi životinja može se poboljšati profil masnih kiselina u mlijeku, mesu i jajima. Ciljano se nastoji smanjiti udio linolne kiseline (omega-6), a povećati udio α -linolenske (omega-3) te dugolančanih i višestruko nezasićenih masnih kiselina. Do sada je potvrđeno da se hranidbom monogastričnih životinja znatno lakše postižu promjene u sastavu masnih kiselina u tkivu u odnosu na preživače. Ipak, bez obzira na specifične procese u složenom probavnom sustavu preživača, mesu, a naročito mlijeko, skljono je znatnim promjenama masnokiselinskog sastava u ovisnosti o hranidbenom postupku. Perad je isto tako vrlo pogodna za hranidbene pokuse te se brzo postiže željeni učinak, a povećanje PUFA u mesu i žumanjku jaja može se relativno jednostavno postići (Marenjak i sur., 2008.).

Kao što je ranije navedeno, sastav masnih kiselina je pod utjecajem i drugih čimbenika osim prehrane i sustava uzgoja, uključujući genotip, tjelesnu masu, spol i starost životinje. Genetički čimbenici utječu na sastav masnih kiselina, ali u manjoj mjeri u odnosu na prehrambene. Genetička se varijabilnost odnosi na razlike unutar vrsta, pasmina, kao i varijacije uslijed križanja pasmina (Woods i Fearon, 2009.). Wood i sur., (2008.) tvrde da sastav masnih kiselina masnog i mišićnog tkiva svinja, ovaca i goveda ovisi najviše o ukupnoj količini masnog tkiva u trupu i u mišićima. Utjecaj spola životinje na profil masnih kiselina pri sličnom udjelu intramuskularne masti zabilježili su Kazala i sur. (1999.) i Elías Calles i sur. (2000.) s nešto višim intramuskularnim omjerom MUFA/SFA za junice u odnosu na volove, međutim bez razlika u udjelu ALA.

S nutricionističkog stajališta, iako se mnogi čimbenici među pasminama i spolovima često statistički značajno razlikuju, uglavnom su za sastav masnih

Tabela 2. Najvažnije masne kiseline u različitim vrstama proizvoda [% ukupnih masnih kiselina] (Woods and Fearon, 2009.)

Vrsta proizvoda	Masna kiselina [%]							
	4:0 -10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1c n-9	18:2 n-6	20:4 n-6
Mlijeko	10,3	4,0	10,8	28,0	10,8	21,2	1,9	0,5
Govedina	Mišić	ND	2,5	24,6	15,0	39,1	2,8	0,5
	Mast	ND	0,3	3,1	25,7	17,4	36,6	1,0
Janjetina	Mišić	0,3	0,5	5,2	21,7	17,6	32,3	1,8
	Mast	0,3	0,6	5,9	21,8	19,9	28,8	1,2
Svinjetina	Mišić	ND	ND	22,8	12,4	37,4	14,8	1,4
	Mast	<0,1	ND	1,1	23,3	13,0	38,7	14,8
Piletina	Tamno meso	ND	ND	20,4	6,0	42,7	16,6	2,6
	Bijelo meso	ND	ND	18,9	6,0	36,1	13,7	1,7
Jaja		ND	ND	24,0	8,4	42,8	17,2	0,9
							ND	ND
							ND	19

*Tr = u tragovima
 * ND = nije određeno

kiselina od malog značenja (Woods i Fearon, 2009.). Dob životinje je još jedan čimbenik za koji se smatra da utječe na sastav masnih kiselina i ukupni udio masti. Nürnberg i sur. (1999.) su izvijestili o povećanju intramuskularne masti kod goveda od početka hranidbe do klanja u starosti od 24 mjeseca i kontinuirano povećanje udjela zasićenih kiselina tijekom rasta. Isto je tako zabilježeno da meso starijih ovaca u usporedbi s janjadi sadrži znatno veći udio zasićenih u odnosu na mononezasićene masne kiselina, kao i znatno manji udio polinezasićenih masnih kiselina (Krvavica i sur., 2013.).

Sastav masnih kiselina

Podatci o sastavu masnih kiselina po vrsti proizvoda navedeni su u Tabeli 2. Prikazane su samo najvažnije masne kiseline koje se najčešće nalaze u proizvodima životinjskog podrijetla (osim ribe), pri čemu je isto tako utvrđen utjecaj prehrane i probavnog sustava životinja, ali i drugih ranije spomenutih čimbenika.

Meso i mesni proizvodi

Kao glavni izvor bjelančevina s povoljnijim omjerom aminokiselina te kao izvor dobro iskoristivog željeza, vitamina i minerala, meso zauzima važno mjesto u ljudskoj prehrani (Williamson i sur., 2005.). Međutim, zbog znatnog udjela masti i činjenice da meso sadrži relativno veliki udio zasićenih i mali udio polinezasićenih masnih kiselina, posljednjih desetljeća, meso se kao namirnica sve više navodi i u negativnom kontekstu. Sastav i količina masti određuju hranidbenu vrijednost i brojna organoleptička svojstva mesa te imaju velik utjecaj na čvrstoću i održivost mesa (Kaić i sur., 2013.).

Ukusnost mesa je glavni kriterij tržišne kakvoće i u pozitivnoj je povezanosti sa sadržajem masti, koju čine

uglavnom zasićene i mononezasićene masne kiseline. Međutim, potrošači traže ne samo ukusno meso, nego i takvo meso koje će pozitivno djelovati na njihovo zdravlje te dodatni kriterij u proizvodnji mesa i mesnih proizvoda danas predstavlja niski sadržaj masti modificiranog sastava (Kralik i sur., 2001.). U sastavu mesa, lipidi se nalaze u mišićnom tkivu (intramuskularno masno tkivo) i u pripadajućem masnom tkivu, pri čemu se u masnom tkivu nalaze trigliceridi, a u mišićnom, uz triglyceride u membranama mišićnih vlakana, i fosfolipidi (Karolyi, 2007.b).

Masne kiseline mesa (sastavljene uglavnom od 12–22 C atoma, a u ovčjem su mesu prisutne u manjoj količini i C 8-10) sastoje se prosječno od oko 40% zasićenih, 40% mononezasićenih i oko 2-25% polinezasićenih masnih kiselina (Krvavica i sur., 2013.). Primjerice, leđna slanina industrijskih tovljenika u prosjeku sadrži 44% MUFA, 36% SFA i 12% PUFA (Davenel i sur., 1999.). Zabilježeni udio SFA kod janjadi iznosi 46,3% ukupnih masnih kiselina, udio MUFA 39,7% te PUFA 13,4% (Vnućec, 2011.), no kako je spomenuto, sastav može varirati ovisno o različitim čimbenicima.

Oleinska masna kiselina (C18:1cis9) je najvažnija masna kiselina svih vrsta mesa, koja je u ukupnim masnim kiselinama zastupljena s više od 30% te ima široku biološku funkciju. Općenito, najzastupljenije masne kiseline u mesu su osim oleinske (C18:1), palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0). Primjerice, određeno je da ove kiseline u govedini čine 80% ukupnih masnih kiselina, s udjelom oleinske kiseline od 33%, palmitinske 27% i stearinske 18% (Whetsell i sur., 2003.). Prema zastupljenosti, od zasićenih, tu je još miristinska (C14:0) masna kiselina, a od mononezasićenih palmitoleinska (C16:1). Iz rezultata istraživanja Enser i sur. (1996.), uočljivo je da je udio miristinske masne kiseline veći u mesu preživača u odnosu na svinjsko meso.

Sastav masnih kiselina mesa preživača (npr. goveda, ovaca, koza) znatno je složeniji negoli mesa nepreživača, ponajprije jer sadrže više trans masnih kiselina (npr. C18:1- elainska trans masna kiselina u govedini čini 2-5% ukupnih masnih kiselina), masnih kiselina s neparnim brojem C atoma (C15:0 i C17:0 -nastaju u buragu gdje je kao preteča u sintezi masnih kiselina umjesto acetata uključena propionska kiselina), masnih kiselina razgranatih lanaca (rezultat uključivanja metilmalonil-CoA iz metabolizma propionata umjesto malonil-CoA u proces elongacije masnih kiselina u jetri) i masnih kiselina konjugiranih dvostrukih veza. Sinteza ovih masnih kiselina rezultat je djelovanja enzima mikroorganizama u buragu preživača koji razlažu strukturne sastojke biljaka i masne kiseline hrane, pri čemu nastaju brojni produkti od kojih se neki apsorbiraju u tankom crijevu i ugrađuju u lipide životinjskih tkiva (Krvavica i sur., 2013.).

Kod preživača, linolna i α -linolna kiselina su biljne masne kiseline koje se mogu transformirati u konjugiranu linolnu masnu kiselinsku (CLA) pomoću spomenutih bakterija u buragu te imaju potencijalno pozitivno djelovanje na ljudsko zdravlje (Bergamo i sur., 2003.). CLA je, dakle, zajednički naziv mješavine izomera linolne kiseline koji uključuju dvostrukе veze na mjestima 8 i 10,9 i 11,10 i 12 ili 11 i 13. Svaki se od ovih C18 izomera mogu pojaviti u *cis-trans*, *trans-cis*, *cis-cis* i *trans-trans* formi. U mlijeku i mesu krava najzastupljeniji izomeri CLA su *cis9-trans* 11 (80% CLA) i *cis10-trans* 12. Budući da biljke ne sintetiziraju CLA, masti preživača u mlijeku i mesu su njen primarni izvor (Whetsell i sur., 2003.).

Općenito je za meso preživača karakteristično da, u odnosu na nepreživače, zbog biohidrogenizacije masti ima niži i nepovoljniji omjer polinezasićenih i zasićenih masnih

kiselina (P/S). Nasuprot tome, omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina je u mesu preživača nizak i povoljniji za ljudsko zdravlje od mesa nepreživača (Kaić i sur., 2013.). Primjerice, karakteristično visok udio PUFA u mesu svinja, a prema tome i nutritivno povoljan omjer P/S koji se najčešće kreće u zdravstveno preporučenim granicama $\geq 0,4$, ponajprije proizlazi iz visokog sadržaja linolne kiseline (C18:2n6). Stoga je i u svinjskom mesu omjer omega-6/omega-3 značajno veći od nutritivno preporučenih vrijednosti < 4 . Istraživanja Enser i sur. (1996.) su pokazala da se kod preživača veći udio PUFA nalazi u mišićima nego u adipoznom tkivu, dok za svinje vrijedi suprotno. Tako je izmjereni omjer P/S u masnom tkivu i mišiću svinja iznosio 0,61, odnosno 0,58, kod ovaca 0,09, odnosno 0,15 te kod goveda 0,05, odnosno 0,11. U analizi mesa iz maloprodajnih trgovачkih lanaca (Enser i sur., 1996.) u masnom tkivu svinja, zabilježeni omjer omega-6/omega-3 iznosio je 7,60, a u goveda, odnosno ovce 2,30 i 1,40.

Meso pilića se zbog visoke nutritivne vrijednosti, prije svega visokog sadržaja bjelančevina, a relativno niskog sadržaja masti, ubraja i u dijetetske proizvode. Kemijski sastav mesa pilića ovisi o različitim čimbenicima, između ostalog, o tjelesnoj regiji, odnosno dijelu trupa, a meso prsa i meso batka s nadbabičkom razlikuje se u hranjivim sastojcima. Kralik i sur. (2001.) analizirali su sadržaj zasićenih, mono- i polinezasićenih masnih kiselina u bijelom i tamnom mesu (mišići prsa i batka s nadbabičkom). Bijelo meso sadrži znatno manje masti nego tamno meso pilića. Kod obje vrste mesa najzastupljenije masne kiseline su palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) od zasićenih, oleinska (C18:1) od mononezasićenih te LA (C18:2n6) od polinezasićenih masnih kiselina. Udjeli pojedinih grupa masnih kiselina

u bijelom i tamnom mesu bili su sljedeći: SFA 40,4%, odnosno 35,3%, MUFA 29,1%, odnosno 32,2%, PUFA omega-6 17,4%, odnosno 20,22% te PUFA omega-3 5,6% i 4,6%. Omjer omega-6/omega-3 povoljniji je u bijelom nego u tamnom mesu (Kralik i sur., 2001.). Odnos omega-6/omega-3 u istraživanju Komprda i sur. (1999.), u bijelom mesu bio je u rasponu od 3,1 do 13,6, a u tamnom mesu od 4,5 do 19,2, ovisno o sadržaju navedenih polinezasićenih masnih kiselina u smjesama kojima su pilići hranjeni.

Riba i riblji proizvodi

Kakvoća ribljeg mesa se, između ostalog, vrjednuje prema količini masti i sastavu masnih kiselina. Meso ribe je posebice varijabilno u pogledu količine masti, koja i jest parametar za razvrstavanje riba u kategorije i to: nemasne - do 3% masti, kao npr. štuka i bakalar, srednje masne – do 8% masti, poput šarana i deverike i masne s količinom masti većom od 8% kao što su som, haringa i skuša. Količina masti u mesu riba varira od 0,7% do 20%, a ponekad i više. Isto tako, masti u tijelu riba nisu ravnomjerno raspoređene. Riba se na osnovi raspodjele masti dijeli na plavu i bijelu. Plava riba pohranjuje masti u masnim stanicama po cijelom tijelu, a bijela u jetru i donekle trbušnu šupljinu. Udio masti u bijeloj ribi je nizak, napose u mesu gdje čini oko 1%, a od toga oko 90% čine strukturalne masti ili fosfolipidi (Bogut i sur., 1996., Cvrtila i Kozačinski, 2006.).

Meso ribe je male energetske vrijednosti u odnosu na meso sisavaca koje se koristi u prehrani, no nutritivno je njegovo značenje veliko. Nutritivna važnost u konzumaciji ribe najvećim dijelom je povezana s povolnjim profilom masnih kiselina. Riblja se mast većim dijelom sastoji od nezasićenih masnih kiselina pa se stoga može usporediti s biljnim mastima. Kao jedan od značajnih

sastojaka ribe navode se omega-3 masne kiseline. Posebno zanimanje za njih počelo je 1970. godine, nakon otkrića danskih liječnika da Eskimi na Grenlandu, unatoč masnoj prehrani, rjeđe obolijevaju od kardiovaskularnih bolesti, a smrtnost je niža od prosječne. Prehrana Eskima se temeljila na hrani iz mora (Bogut i sur., 1996., Prato i Biandolino, 2012.).

Masti riba se, dakle, po sastavu razlikuju od masti toplokrvnih životinja. Riblja mast je uglavnom sastavljena od dugolančanih (14–22 C atoma) te nezasićenih masnih kiselina (60–84%) i to su u morske ribe oko 88% visoko nezasićene masne kiseline s 5 ili 6 dvostrukih veza (Stansby i Hall, 1967.), a što ih čini posebice podložnim oksidacijskim procesima i kvarenju (Cvrtila i Kozačinski, 2006.). Naravno, usporedbom različitih studija očekivane su varijacije, budući i da sastav masti i sadržaj lipida ovise o sezoni ulova, veličini, spolnoj zrelosti i geografskoj lokaciji (Prato i Biandolino, 2012.).

Od zasićenih su masnih kiselina u mastima riba zastupljene palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), miristinska (C14:0), a samo kod nekih vrsta riba u maloj koncentraciji i laurinska masna kiselina (C12:0). Mononezasićene masne kiseline su u najvećem postotku oleinska (C18:1) i palmitoleinska (C16:1). Osim njih, u lipidima riba od mononezasićenih masnih kiselina prisutne su još i miristoleinska (C14:1), eikozagenska (C20:1), eručna (C22:1n9). Posljednje dvije masne kiseline se u najvećoj koncentraciji nalaze u mastima morskih riba. Od omega-6 masnih kiselina u lipidima riba, uz najznačajnije linolnu (C18:2n6) te arahidonsku (AA, C20:4n6), analizom se mogu utvrditi i eikozadienska (C20:2n6), eikozatrienska (C20:3n6), dokozatetraenska (C22:4n6) i dokozapentaenska (C22:5n6). Najvažniji članovi omega-3 skupine su uz α -linolensku kiselinu (C18:3n3),

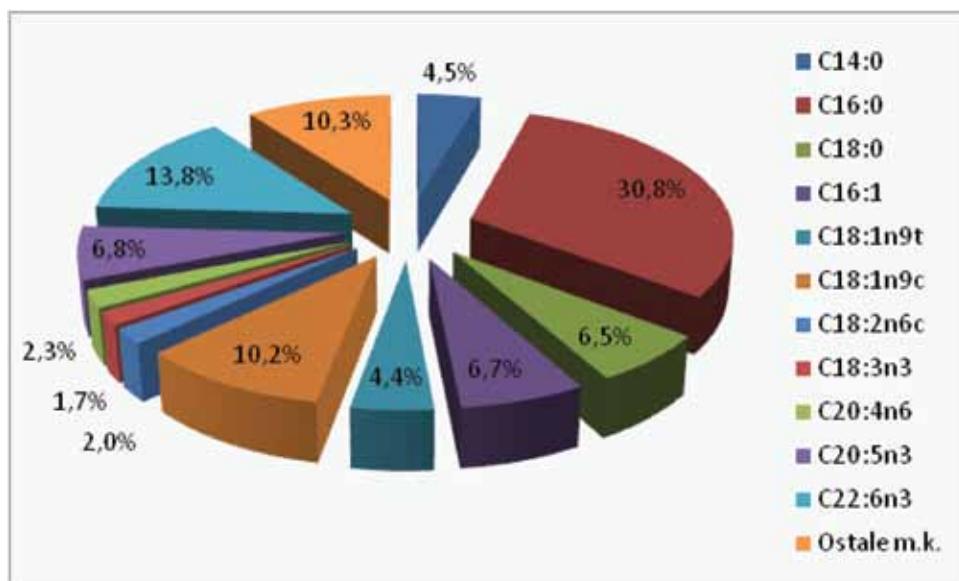
eikosapentaenoična (EPA, C20:5n3) i dokozaheksenoinska (DHA, C22:6n3) masna kiselina. Osim njih, u lipidima riba od omega-3 masnih kiselina utvrđene su još i stearidonska (C18:4n3), eikosatrienoična (C20:3n3), eikosatetraenoična (C20:4n3) (Bogut i sur., 1996.).

Prato i Biandolino (2012.) istraživali su udio masti i sastav masnih kiselina u desetak ribljih vrsta s Mediterana, točnije iz mora južne Italije, od kojih se većina nalazi i kod nas na Jadranu (Slika 2). Identificirano je 25 masnih kiselina od C12 do C22:6n3 i uspoređeno među vrstama. Količina masnih kiselina prema skupinama u svim ribljim vrstama bila je slijedeća: SFA (38,1-49,8%), PUFA (27,6-34,7%) i MUFA (17,8-32,4%). Dominacija SFA je uglavnom posljedica visoke razine palmitinske kiseline koja čini 70% ukupnih zasićenih kiselina. Oleinska kiselina je predominantna među MUFA u lipidima mnogih morskih riba s udjelom oko 60-75% mononezasićenih masnih kiselina. Prema navedenom istraživanju neke ribe pokazuju i visoke koncentracije

C18:1n9 trans masne kiseline koje u usporedbi s cis imaju nepoželjan učinak za ljudsko zdravlje. Sve analizirane vrste sadržavale su veći udio omega-3 od omega-6 masnih kiselina, što rezultira pogodnim omega-6/omega-3 omjerom (<4) iako s velikom raznolikosti među vrstama (Prato i Biandolino, 2012.). Iako su ribe glavni prehrabeni izvor visoko nezasićenih masnih kiselina, osobito EPA i DHA, nisu sposobne sintetizirati dugolančane omega-3 PUFA, nego ih stječu na način da se hrane mikroorganizmima kao što su alge ili manjim ribama koje jedu PUFA-sintetizirajuće mikroorganizme. Posljedično, udio omega-3 PUFA u mesu ribe ovisi o ishrani (Lunn i Theobald, 2006.).

Mlijeko i mliječni proizvodi

Mliječna mast ima kompleksni sastav masnih kiselina, a neke od značajki profila masnih kiselina u lipidima mlijeka su visoki udio maslačne kiseline (C4:0) i drugih kratkolančanih i srednjelančanih te nizak udio polinezasićenih masnih



Slika 2. Prosječni sastav najzastupljenijih masnih kiselina u mesu morskih riba Mediterana (Prilagođeno prema Prato i Biandolino, 2012.)

kiselina. Fosfolipidi predstavljaju manje od 1% ukupnih lipida i oni uglavnom sadrže duže i nezasićene masne kiseline u odnosu na trigliceride (Collins i sur., 2003.). Prehrambena se vrijednost mlijecne masti, na temelju svog visokog udjela zasićenih masnih kiselina dugo dovodila u vezu s različitim bolestima, međutim nedavna istraživanja CLA kao sastojka mlijecne masti ukazala su na njenu poželjnost u prehrani. Mlijecna mast je najveći prehrambeni izvor CLA u kojoj 90% čini izomer *cis*-9 trans-11 (Bergamo i sur., 2003.).

Ferrand-Calmels i sur. (2014.) analizirali su mlijeko velikog broja uzoraka krava, ovaca i koza različitih sustava uzgoja. Mlijeko je u prosjeku sadržavalo 71,5-74,2 g SFA/100 g FA, 20,6-24,3 g MUFA/100 g FA i 2,9-4,1 g PUFA/100 g FA. Unatoč razlikama u količini pojedinih masnih kiselina između, ali i unutar vrsta, trend ostaje isti. Sva mlijeka su sadržavala najveći udio SFA, zatim MUFA i u konačnici PUFA. Zasićene su masne kiseline podrazumijevale sve one s parnim brojem C atoma od C4 do C18, s tim da je palmitinska (C16:0) imala najveći udio, a zatim miristinska (C14:0) i stearinska (C18:0). Od ukupne količine MUFA u mlijeku, 90% se odnosi na oleinsku kiselinu, pri čemu se oko 10% oleinske nalazi u, za zdravlje nepovoljnom, transobliku. Udio linolne (C18:2n6) je bio najveći u kozjem mlijeku s 2,5 g/100 g FA, koje je ujedno imalo i najmanji udio alfa linolenske (C18:3n3) u iznosu od 0,5 g/100 g FA. Omjer omega-6/omega-3 se u prosjeku pokazao dosta povoljan s obzirom na preporuke s vrijednošću 2,4 za kravljе mlijeko, 2,0 za ovčje mlijeko te 4,9 za kozje mlijeko (Ferrand-Calmes i sur., 2014.).

Kod fermentiranih mlijecnih proizvoda treba imati na umu da su neki rodovi bakterija u mogućnosti mijenjati profil masnih kiselina mlijeku i proizvoditi funkcionalne masne kiseline

tijekom fermentacije kao rezultat rasta i metabolizma. Rezultati nekoliko studija pokazali su da fermentacijska aktivnost mnogih sojeva bakterija mlijecne kiseline u mlijeku utječe na povećanje udjela kratkolančanih i srednjelančanih masnih kiselina u fermentiranom mlijeku, čime mu se povećava prehrambena vrijednost (Slačanac i sur., 2005.).

Jaja

Jaja su važan i povoljan izvor životinjskih masti. Masti jaja nalaze se unutar žumanjka koji je uklopljen u bjelanjku i sastoji se od približno 48% vode, 16% bjelančevina, 33% masti, 1% ugljikohidrata i 1% mineralnih tvari. Lipidi žumanjka se sastoje od 65,5% triglicerida, 28,3% fosfolipida i 5,2% kolesterolja (Trpcić i sur., 2010.).

Od ukupnih masti u jaju, više od polovice otpada na nezasićene masne kiseline. Samman i sur. (2009.) analizirali su 96 jaja iz konvencionalnog uzgoja kupljenih u supermarketu, pri čemu je u prosjeku udio SFA (C14:0, C16:0, C18:0) činio 33,8% ukupnih masnih kiselina, MUFA (C16:1, C18:1) 50%, a PUFA 16,3% (od čega se 15% odnosilo na omega-6 masne kiseline i 1,3% na omega-3). Udio oleinske (C18:1) kiseline u žumanjku jaja bio je 46%. Od zasićenih masnih kiselina, udio palmitinske (C16:0) bio je najveći s čak 25% ukupnih masnih kiselina. Od omega-6 masnih kiselina u jaju određene su LA (C18:2) s udjelom od 13% te AA (C20:4) od 1,8%. Linolna masna kiselina je ujedno nakon oleinske i stearinske bila treća najzastupljenija masna kiselina. Od omega-3 masnih kiselina određena je ALA (C18:3) s 0,5% te DHA (C22:6) s 0,8%. Omjer omega-6/omega-3 iznosio je 9,4.

Posljednjih nekoliko godina, putem brojnih studija analizira se sastav masnih kiselina jaja dobivenih na komercijalnim farmama i predviđenim za plasman na tržištu. Istraživanja su usmjerena na obogaćenje jaja s omega-3 masnim

kiselinama, s obzirom na utvrđen njihov povoljan učinak na ljudsko zdravlje, a ujedno s obzirom na općenito nepovoljan omjer omega-6/omega-3 u jajima. U novije vrijeme znanstvenici su dizajnirali obroke za perad, s ciljem modificiranja masnih kiselina u mesu i jajima, na način da su primijenili različite hranidbene tretmane. Poznato je da su riblje brašno i ulje bogati izvor esencijalnih omega-3 masnih kiselina EPA i DHA, no dokazano je ako se navedena krmiva dodaju u smjesu za tov pilica u većem postotku, imaju negativan učinak na organoleptička svojstva mesa (Scaife i sur., 1994.). Veći udio ribljeg ulja u hrani za kokoši nesilice također može dovesti do negativnih organoleptičkih svojstava jaja pa se tako kao alternativa može koristiti kombinacija lanenog i repičinog ulja s ribljim (Scheideler, 1997.). U nastavku istraživanja Sammana i sur. (2009.), jaja obogaćena s omega-3 imala su niže razine miristinske i palmitinske kiseline u odnosu na konvencionalna, što je rezultiralo i manjim postotkom zasićenih masnih kiselina uz veći postotak omega-3 kiselina. U skladu s time, omjer omega-6/omega-3 bio je znatno povoljniji za razliku od konvencionalnih jaja i iznosio je oko 2,25.

Zakonski propisi i analitičke metode određivanja

U Europskoj uniji trenutno je na snazi mnogo propisa i pravila na europskom i nacionalnim razinama u pogledu općeg označavanja i pakiranja prehrambenih i ostalih proizvoda. Uredbom (EU) br. 1169/2011, člankom 30. te Zakonom o informiranju potrošača o hrani (NN 56/2013), navedeno je da nutritivna deklaracija obvezno treba sadržavati sljedeće: energetsku vrijednost i količine masti, zasićenih masnih kiselina, ugljikohidrata, šećera, bjelančevina i soli. Sadržaj obvezne nutritivne deklaracije može biti nadopunjena navođenjem

količine jedne ili više sljedećih hranjivih tvari: jednostruko nezasićenih masnih kiselina, višestruko nezasićenih masnih kiselina, poliola, škroba, vlakana, određenih vitamina i minerala. Označavanje proizvoda propisano je isključivo radi zaštite zdravlja i interesa potrošača i služi kao točna informacija o onome što se kupuje.

Uzimajući u obzir znanstvene dokaze i iskustvo država članica, Europska komisija će do 13. prosinca 2014. godine izraditi izvješće o prisutnosti trans masnih kiselina u hrani i općenito prehrani stanovništva Europske unije. Cilj je toga izvješća ocijeniti utjecaj odgovarajućih sastojaka hrane na zdravlje ljudi te općenito odabir zdravije prehrane i njeno promicanje među potrošačima, što između ostalog uključuje i pružanje informacije potrošačima o trans masnim kiselinama te ograničenjima njihove uporabe. Europska komisija će, prema potrebi, tome izvješću priložiti zakonodavni prijedlog (NN 56/2013).

Plinska kromatografija (GC) je najšire korištena metoda za određivanje profila masnih kiselina, a plameno ionizacijski detektor (FID) je dovoljan za većinu analitičkih primjena ove vrste. GC/MS se koristi za analizu masnih kiselina u tragovima posebice za identifikaciju masnih kiselina kada standardi nisu dostupni, dok je GCxGC tehnika najkorisnija za identifikaciju masnih kiselina s neparnim brojem C atoma. Prije analize masnih kiselina, masti se pomoću organskih otapala ekstrahiraju iz uzorka hrane te određuju gravimetrijskim putem. Lipidna se smjesa dobivena ekstrakcijom otapala sastoji od različitih razreda lipida različite polarnosti: triacilgliceroli, fosfolipidi, slobodne masne kiseline, slobodni steroli, steril esteri i sl. Kada se radi o GC analizi, dobiveni se lipidi tada konvertiraju u hlapive derivate i kako je najčešće slučaj, u metilne estere masnih kiselina (Petrović i sur., 2010.). U literaturi

su opisane različite metode metilacije, a najčešće su korištene: kiselinski ili bazno katalizirana metilacija, metilacija borovim trifluoridom i diazometanom (Anonymus, 2004., Mendez i sur., 2008.). Najprihvatljivija je prva metoda, budući da koristi manje agresivne reagense od drugih (Petrović i sur., 2010.).

Još neke od novijih metoda za određivanje struktura i sastava masnih kiselina su LC/MS, GC povezan sa spektroskopijom s Furierovom transformacijom infracrvenog spektra (FTIR), ili srednjom infracrvenom spektroskopijom (MIR), *silver ion* i reverzno faznom tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) (Christie, 1998.).

Sažetak

Masti su građene iz trovalentnog alkohola glicerola i viših masnih kiselina te su uz ugljikohidrate i proteine jedan od tri glavna sastojka hrane. Zbog visokog udjela zasićenih masnih kiselina u proizvodima životinjskog podrijetla, kao što su: meso, mlijeko i jaja, oni se često spominju u negativnom kontekstu pitanja ljudskog zdravlja, dok suprotno vrijedi za nezasićene masne kiseline. Masne kiseline u prirodnim mastima i uljima kemijski su građene iz ugljikovog lanca s terminalnom metilnom grupom na jednom i karboksilnom grupom na drugom kraju lanca i možemo ih podijeliti s obzirom na dužinu ugljikovog lanca (C1-30), prisutnost i broj dvostrukih veza (zasićene, mononezasićene i polinezasićene kiseline), položaj prve dvostrukе veze u ugljikovom lancu (omega-9, omega-3, omega-6 i sl.) te prostorni oblik dvostrukih veza (*cis* i *trans* izomeri). Brojna istraživanja pokazuju da na sastav masnih kiselina u hrani životinjskog podrijetla značajno utječe niz čimbenika kao što su: hranidba, dob, tjelesna masa, anatomska pozicija, spol i genotip životinje. Masne se kiseline mesa sastoje prosječno od oko 40% zasićenih, 40% mononezasićenih i oko 2-25% polinezasićenih masnih kiselina, pri čemu je oleinska masna kiselina najvažnija masna kiselina svih vrsta

mesa. Sastav masnih kiselina mesa preživača znatno je složeniji negoli mesa neprezivača uslijed djelovanja mikroorganizma u buragu. Riblja se mast većim dijelom sastoji od dugolančanih te nezasićenih masnih kiselina (60-84%) i to su u morske ribe oko 88% visoko nezasićenih masnih kiselina. Neke od značajki profila masnih kiselina u mlječnoj masti su visoki udio maslačne i drugih kratko lančanih masnih kiselina te nizak udio polinezasićenih masnih kiselina. Što se tiče ukupnih masti u jaju, više od polovice otpada na nezasićene masne kiseline, a s obzirom na nepovoljan omjer omega-6/omega-3 istraživanja su usmjerena na dobivanje jaja obogaćenih s omega-3 masnim kiselinama. Najšire korištena metoda za određivanje profila masnih kiselina je plinska kromatografija (GC) s plameno ionizacijskim detektorom (FID). Ured bom (EU) br. 1169/2011 te Zakonom o informiranju potrošača o hrani (NN 56/2013), navedeno je da nutritivna deklaracija obvezno treba sadržavati količine masti i zasićenih masnih kiselina, a sadržaj obvezne nutritivne deklaracije može biti nadopunjeno navođenjem količine jednostruko i višestruko nezasićenih masnih kiselina, a koristi se u svrhu zaštite zdravlja i interesa potrošača.

Literatura

1. Anon. (2004): HRN EN ISO 5509 standard. Životinske i biljne masti i ulja- priprava metilnih estera masnih kiselina.
2. BERGAMO, P., E. FEDELE, L. IANNIBELLI, and G. MARZILLO (2003): Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. Food Chem. 82, 625-631.
3. BOGUT, I., A. OPAČAK, I. STEVIĆ i S. BOGUT (1996): Nutritivna i protektivna vrijednost riba s osvrtom na omega-3 masne kiseline. Ribarstvo 54, 21-37.
4. CHRISTIE, W. W. (1998): Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acid. Lipids 33, 343-353.
5. COLLINS, Y. F., P. L. H. McSWEENEY and M. G. WILKINSON (2003): Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. Int. Dairy J. 13, 841-866.
6. CVRTILA, Ž. i L. KOZACINSKI (2006) Kemijski sastav mesa riba. Meso VII, 365-370.
7. DAVENEL, A., P. RIAUBLANC, P. MARCHAL and G. GANDEMÉR (1999): Quality of pig adipose tissue relationship between solidfat content and lipid composition. Meat Sci. 51, 73-79.
8. ELIAS CALLES, J. A., C. T. GASKINS, J. R.

- BUSBOOM, S. K. DUCKETT, J. D. CRONRATH and J. J. REEVES: (2000) Sire variation in fatty acid composition of crossbred Wagyu steers and heifers. *Meat Sci.* 56, 23–29.
9. ENSER, M., K. HALLET, B. HEWETT, G. A. J. FURSEY and J. D. WOOD (1996): Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Sci.* 44, 443–458.
 10. FERRAND-CALMELS, M., I. PALHIÈRE, M. BROCHARD, O. LERAY, J. M. ASTRUC, M. R. AUREL, S. BARBEY, F. BOUVIER, P. BRUNSWIG, H. CAILLAT, M. DOUGUET, F. FAUCON-LAHALLE, M. GELE, G. THOMAS, J. M. TROMMEN-SCHLAGER and H. LARROUQE (2014): Prediction of fatty acid profiles in cow, ewe, and goat milk by mid-infrared spectrometry. *J. Dairy Sci.* 97, 17–35.
 11. HMSO, U.K. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease (report on health and social subjects No. 46), London: HMSO.
 12. KAIĆ, A., I. KOS i B. NIKIĆ (2013): Načini poboljšanja nutritivno-funkcionalnih svojstava mesa. *Meso XV*, 464–474.
 13. KAROLYI, D. (2004): Dijetalne masti i meso. *Meso VI*, 14–17.
 14. KAROLYI, D. (2007a): Polinezasičene masne kiseline u prehrani i zdravlju ljudi. *Meso IX*, 151–158.
 15. KAROLYI, D. (2007b): Masti u mesu svinja. *Meso IX*, 335–340.
 16. KAZALA, E. C., F. J. LOZEMAN, P. S. MIR, A. LAROCHE, D. R. C. BAILEY and R. J. WESELAKE (1999): Relationship of fatty acid composition to intramuscular fat content in beef from crossbred Wagyu cattle. *J. Anim. Sci.* 77, 1717–1725.
 17. KOMPRDA, T., J. ZELENKA, P. TIEFFOVA, M. ŠTOHANLOVÁ and J. FOLTYN (1999): Effect of the composition of commercial feed mixture on total lipid, cholesterol and fatty acids content in broiler chicken meat. *Czech J. Anim Sci.* 44, 179–185.
 18. KRALIK, G., Z. ŠKRTIĆ, M. GALONJA i S. IVANKOVIĆ (2001): Meso pilića u prehrani ljudi za zdravlje. *Poljoprivreda 7*, 32–36.
 19. KRVAVICA, M., J. ĐUGUM i A. KEGALJ (2013): Masti i masne kiseline ovčeg mesa. *Meso XV*, 111–121.
 20. LUNN, J. and H. E. THEOBALD (2006): The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr. Bull.* 31, 178–224.
 21. MARENJAK, T. S., I. DELAŠ i N. POLJIČAK-MILAS (2008) Strategija proizvodnje funkcionalne hrane animalnog poriječja. *Meso X*, 282–287.
 22. MENDEZ, A. E., D. MARRERO DELANGE and V. GONZALES CANAVACIOLO (2008): Evaluation of five methods for derivatization and GC determination of a mixture of very long chain fatty acids. *J. Pharmacut. Biomed.* 46, 194–199.
 23. NÜRNBERG, K., B. ENDER, H. J. PAPSTEIN, J. WEGNER, K. ENDER and G. NÜRNBERG (1999): Effects of growth and breed on the fatty acid composition of muscle lipids in cattle. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 208, 332–335.
 24. PETROVIĆ, M., N. KEZIĆ and V. BOLANČA (2010): Optimization of the GC method for routine analysis of the fatty acid profile in several food samples. *Food Chem.* 122, 285–291.
 25. PRATO, E. and F. BIANDOLINO (2012): Total lipid content and fatty acid composition of commercially important fish species from the Mediterranean, Mar Grande Sea. *Food Chem.* 131, 1233–1239.
 26. SAMMAN, S., F. P. KUNG, L. M. CARTER, M. J. FOSTER, Z. I. AHMAD, J. L. PHUYAL and P. PETOCZ (2009): Fatty acid composition of certified organic, conventional and omega-3 eggs. *Food Chem.* 116, 911–914.
 27. SCAIFE, R. J., J. MOYO, H. GALBRAITH, W. MICHIE, and V. CAMPBELL (1994): Effect of dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers. *Brit. Poult. Sci.* 35, 107–118.
 28. SCHEIDEKER, S. E. (1997): Studies of consumer acceptance of high omega-3 fatty acid-enriched eggs. *J. Appl. Poultry Res.* 6, 137–146.
 29. SLAČANAC, V., J. HARDI, H. PAVLOVIĆ, M. VLAINIĆ and M. LUČAN (2005): Promjena udjela masnih kiselina tijekom fermentacije kozjeg i kravljeg mlijeka ABT-2 kulturom. *Mlječarstvo* 55, 113–124.
 30. STANSBY, M. E. and A. S. HALL (1967): Chemical composition of commercially important fish of the USA. *Fish. Ind. Res.* 3, 29–34.
 31. TRPČIĆ, I., B. NJARI, N. ZDOLEC, Ž. CVRTILA FLECK, T. FUMIĆ i L. KOZAČINSKI (2010): Mikrobiološka kakvoća i ocjena svježine konzumnih jaja. *Meso XII*, 286–293.
 32. UREDBA (EU) br. 1169/2011 Europskog parlamenta i vijeća od 25. listopada 2011. o informiranju potrošača o hrani, izmjeni uredbi (EZ) br. 1924/2006 i (EZ) br. 1925/2006 Europskog parlamenta i Vijeća te o stavljanju izvan snage Direktive Komisije 87/250/EEZ, Direktive Vijeća 90/496/EEZ, Direktive Komisije 1999/10/EZ, Direktive 2000/13/EZ Europskog parlamenta i Vijeća, direktiva Komisije 2002/67/EZ i 2008/5/EZ i Uredbe Komisije (EZ) br. 608/2004, L 304/18.
 33. VNUČEC, I. (2011): Odlike trupa i kakvoća mesa janjadi iz različitih sustava uzgoja. *Doktorska disertacija*. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 34. WHETSELL, M. S., E. B. RAYBUM and J. D. LOZIER (2003): Human Health Effects of Fatty Acids in Beef. Extension Service West Virginia University.
 35. WILLIAMSON, C. S., R. K. FOSTER, S. A. STANNER and J. L. BUTTRISS (2005): Red meat in the diet. *Nutr. Bull.* 30, 323–355.
 36. WOOD, J. D., M. ENSER, A. V. FISHER, G. R. NUTE, P. R. SHEARD, R. I. RICHARDSON, S. I. HUGHES and F. M. WHITTINGTON (2008): Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78, 343–358.
 37. WOODS, V. B. and A. M. FEARON (2009): Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livest. Sci.* 126, 1–20.
 38. Zakon o informiranju potrošača o hrani. Ministarstvo poljoprivrede (NN 56/13).

Fats and fatty acids in foods of animal origin

Tina BARBIR, MSc, Ana VULIĆ, BSc, PhD, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb

Fats consist of the trivalent alcohol glycerol and fatty acids, and alongside carbohydrates and proteins, are one of the three major micronutrients. Due to the high proportion of saturated fatty acids in animal products such as meat, milk and eggs, they are often referred to in a negative context for human health, while the opposite is true for unsaturated fatty acids. Fatty acids in natural fats and oils are chemically composed of a carbon chain with a terminal methyl group at one end of the chain and a carboxyl group at other. Fatty acids can be divided according to the length of the carbon chain (C1-30), presence and number of double bonds (saturated, monounsaturated and polyunsaturated fat), position of the first double bond in the carbon chain (omega-9, omega-3, omega-6, etc.) and spatial form of the double bond (*cis* and *trans* isomers). Numerous studies have shown that the composition of fatty acids in foods of animal origin is significantly affected by a number of factors, including nutrition, age, body weight, anatomical location, gender and genotype of animals. Fatty acids in meat consist, on average, of about 40% saturated, 40% monounsaturated and about 2–25% polyunsaturated fatty acids, where the most important fatty acid is oleic (C18:1).

The fatty acid composition of the meat of in ruminants is considerably more complex than meat of non-ruminants due to the action of microorganisms in the rumen. Fish fat is mainly composed of long chains and unsaturated fatty acids (60–84%) and marine fish typically contain about 88% polyunsaturated fatty acids. Some features of the fatty acid profile in milk fat are a high ratio of butanoic acid and other short chain fatty acids, and a low proportion of polyunsaturated fatty acids. With regard to the total fat in eggs, more than half belongs to the unsaturated fatty acids, and due to the unfavourable omega-6/omega-3 ratio, studies have focused on obtaining omega-3 enriched eggs. The most widely used technique for the determination of the fatty acid profile is gas chromatography (GC) with flame ionization detector (FID). Regulation (EU) No. 1169/2011 and Act on Informing Consumers about Food (OG 56/13) state that the mandatory nutritional declaration should list the levels of fat and saturated fatty acids. The content of the mandatory nutrition declaration may be amended by specifying the amounts of mono- and polyunsaturated fatty acids and is intended to protect consumer health and interests.

C-reaktivni protein pasa

Nejra Hadžimusić



Uvod

Upala je skupni tkivni odgovor na upalotvornu noksu koji se temelji na predodređenim obrascima ponašanja tkiva i organizma. Organizam se tijekom života susreće s brojnim noksama, koje homeostatskim mehanizmima nastoji ograničiti ili ukloniti. Osnovni homeostatski mehanizam održavanja ustrojbenog i funkcionalnog integriteta tkiva je upala (Kovač, 1998.). Za obranu organizma od raznih etioloških činilaca važna je rana faza opće reakcije (prvih nekoliko sati do nekoliko dana). Ovaj odgovor organizma poznat kao akutnofazni odgovor (engl. *Acute phase response*, APR), odnosno, odgovor akutne faze, predstavlja reakciju organizma na lokalne ili sistemske poremećaje homeostaze prouzročene infektivnom noksom, parazitarnom infestacijom, oštećenjem tkiva, traumom ili kirurškim zahvatom, neoplastičnim rastom ili pak imunološkim poremećajem (Cerón i sur., 2005., Serin i Ulutas, 2010.).

Rezultat odgovora akutne faze predstavlja kompleksnu sustavnu reakciju koju prati promjena koncentracije brojnih proteina plazme poznatih kao proteini akutne faze (engl. *Acute phase proteins*, APP) (Chaprazov i Borissova,

2009.). Koncentracija APP u serumu se tijekom odgovora akutne faze izrazito mijenja te se prema kinetičkim osobinama za vrijeme i nakon odgovora akutne faze dijele na pozitivne i negativne proteine akutne faze (Eckersall, 2000., Martínez-Subiela i Cerón, 2005.).

CRP je glavni pozitivni protein akutne faze ne samo kod pasa, nego i kod svinja i ljudi (Cray i sur., 2009.). Gabay i Kushner (2001.) navode da se koncentracija CRP kod ljudi može povećati čak i za 1000 puta. Međutim, zbog veoma kratkog poluživota njegova koncentracija brzo opada (Cray i sur., 2009.). Povećane se koncentracije ovog proteina kod ljudi mogu odrediti unutar pet do šest sati od upalnog stimulusa. Kod pasa se koncentracija ovih proteina može odrediti i ranije (Cerón i sur., 2005.), a prema navodima Chaprazov i Borissova (2009.) to je već unutar četiri sata od stimulusa.

Put znanstvene spoznaje o C-reaktivnom proteinu

Činjenica da je CRP nađen u „živom fosilu“ *Limulus polyphemus*-u, ukazuje na njegovu prisutnost i očuvanost tijekom evolucije proteklih 500 milijuna

Dr. sc. Nejra HADŽIMUSIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, Fakultet Veterinarske medicine Sarajevo, Bosna i Hercegovina

godina. CRP je otkriven 1930. godine u humanom serumu pacijenata oboljelih od pneumonije kao faktor koji aglutinira s C-polisaharidom pneumokoka, po čemu je kasnije ovaj protein i dobio svoj današnji naziv (Tillet i Francis, 1930.). Aglutinirajući je čimbenik identificiran kao protein 1941. godine (Abernethy i Avery, 1941.), nedugo potom, 1947. godine, kristaliziran je humani CRP (Kjelgaard-Hansen, 2004.), a samo tri godine kasnije zabilježen je prvi izvještaj o primjenjivosti CRP u praćenju reumatske aktivnosti kod pacijenata s ovom bolešću (Anderson i McCarty, 1950.). Tijekom sljedećeg desetljeća napredovala su istraživanja na području veterinarske medicine pa je tako ispitivan analog humanom CRP u serumu pasa (Gotschlich, 1962.). CRP pasa je konačno i izoliran 1970. godine (Riley i Coleman, 1970.), a određivanje koncentracije ovog proteina u serumu pasa omogućeno je dvije godine kasnije, uporabom specifičnog antiseruma (Riley i Zontine, 1972.). Ipak, CRP pasa je detaljnije istražen tek sredinom 1980.-tih i početkom 1990.-tih godina. S obzirom na zapažene sličnosti u kinetici humanog i CRP pasa tijekom upalnog odgovora akutne faze, psi su često korišteni s ciljem boljeg razmijevanja mehanizama akutne faze ljudi (Eckersall i Conner, 1988., Burton i sur., 1994.) te se u ove svrhe i danas koriste (Higgins i sur., 2003.).

Uloga CRP i biokemijske osobine

Uloga CRP je višestruka; može se vezati direktno za nekoliko mikroorganizama, pri tom dovodeći do degeneracije stanice i staničnih ostataka, aktivira komplement klasičnim C_{1q} putem i ponaša se kao opsonin. Ipak, glavna funkcija CRP kao komponente urodenog imunog sustava je njegova sposobnost da veže fosfokolin i prepoznae strani patogen, kao i fosfolipidne sastojke oštećenih stanica (Cicarelli i sur., 2008.).

CRP isto tako regulira produkciju citokina i kemotaksu (Cray i sur., 2009.).

C-reaktivni protein je član obitelji pentameričnih proteina poznatih kao pentraksini. Ova obitelj predstavlja filogenetski predak grupe proteina pronađenih kod kičmenjaka i beskičmenjaka (Jain i sur., 2011.). CRP se iznimno dobro očuvao tijekom evolucije što ukazuje na njegov veliko biološko značenje. Visok stupanj očuvanosti, široka rasprostranjenost u raznim tkivima upućuje na važnu ulogu CRP u obrani organizma (Wang i Colón, 2005.).

Elektronskom mikroskopijom CRP uočava se da je sastavljen od pet identičnih subjedinica povezanih nekovalentnim vezama (Klenner i sur., 2010.). Glavna fizičko-kemijska razlika humanog CRP i onog kod pasa jest glikozilacija dvije subjedinice CRP pasa, dok je humani CRP u potpunosti neglikoziran (Cerón i sur., 2005.). Pretpostavlja se da između humanog i CRP pasa postoji i razlika u afinitetu liganda, kao i sposobnosti aktivacije komplementa (Mitchell, 2008.). Molekularna masa CRP pasa iznosi između 100 kDa i 155kDa (Kjelgaard-Hansen, 2004.). Otkriveno je da humani CRP ima afinitet prema širokom rasponu molekula te da može ostvariti interakciju s nekoliko tipova stanica, što je temelj velikog broja hipoteza o njegovim fiziološkim karakteristikama. Na osnovu istraživanja provedenog od strane Caspi i suradnika (1984.) te Fujise (1992.) nekoliko je sličnih afiniteta utvrđeno i za CRP pasa te je to još jedna od činjenica koja govori u prilog sličnosti između humanog i CRP pasa.

Fiziološke varijacije koncentracije CRP pasa

Dosadašnja su istraživanja pokazala da je koncentracija CRP kod zdravih pasa znatno niža nego što je to slučaj kod pasa s upalnom reakcijom (Caspi i sur., 1984., Yamamoto i sur., 1994., Kurabayashi

Tabela 1. Koncentracija CRP u serumu zdravih pasa

Koncentracija CRP [mg/L]	Referenca:
<5	Caspi i sur., 1984.
0,2–0,8	Yamamoto i sur., 1992.
2,4–30,0	Yamamoto i sur., 1993.
0–67,4	Börngen, 1998.
0,8–22,6	Otabe i sur., 1998.
0,22–4,04	Martínez-Subiela i sur., 2004.
<10	Cheng i sur., 2009.
1,2–6,4	Kjelgaard-Hansen i sur., 2003.
0,2–18	German i sur., 2009.
0,18–1,78	Tecles i sur., 2009.

i sur., 2003.). Međutim, koncentracija CRP zdravih pasa određene navedenim istraživanjima međusobno se dosta razlikuju (Tab. 1.).

Tako su serumske koncentracije CRP određivane ELISA tehnikom (Tecles i sur., 2005., German i sur., 2009.), imunodifuzijom (Conner i sur., 1998.), elektro-imunoesejem (Caspi i sur., 1984.), lateks aglutinacijom (Yamamoto i sur., 1993.) i imunoturbidimetrijski (Burton i sur., 1994.). Na vrijednosti koncentracije APP mogu utjecati i laboratorijski uvjeti pa je preporučivo da svaki laboratorij uspostavi i koristi vlastite vrijednosti. Ovo je naročito važno za APP zbog nedostatka referentnih vrijednosti i protokola za određivanje njihove koncentracije. Unatoč primjeni različite metode, koncentracija je CRP u serumu zdravih pasa niska, nekada čak i ispod granica detekcije.

U fiziološkim uvjetima, odnosno u uvjetima normalne homeostaze, vrijednosti CRP su veoma niske (Yamamoto i sur., 1992., Otabe i sur., 1998.).

Utvrđeno je da koncentracija CRP varira i ovisi o fiziološkom stanju, odnosno fazni reproduktivnog ciklusa. Tako se CRP može odrediti u nešto

većim koncentracijama kod pasa tijekom gravidnosti, što je vjerovatno prouzročeno implantacijom zametka, rastom posteljice i hormonalnim promjenama (Kuribayashi i sur., 2003.). Istraživanje provedeno u humanoj medicini od strane Sacksa i suradnika (2004.) isto tako upućuje na porast koncentracije CRP prilikom implantacije zametka, nakon čega se njegova koncentracija vraća u fiziološke vrijednosti tijekom gravidnosti, s ponovnim povećanjem za vrijeme partusa. Isti autori smatraju da porast koncentracije CRP tijekom gravidnosti, s izuzetkom partusa, može ukazivati na poremećaj gravidnosti. Istraživanje razine CRP provedeno od strane Ulutas i suradnika (2009.) kod kuja tijekom različitih faza estrusa i kuja tijekom gravidnosti ukazalo je na sličnost humanog i psećeg modela. Naime, autori kod gravidnih kuja zapažaju značajan porast koncentracije CRP između 21.–55. dana nakon ovulacije, dok se koncentracija CRP kod negravidnih kuja tijekom iste faze estrusa nije povećala. Porast koncentracije CRP kod gravidnih kuja u periodu 30–45 dana od ovulacije navode i Kuribayashi i suradnici (2003.). Porast koncentracije CRP je jednak onom kod odgovora akutne faze, iako specifični

stimulus nije u potpunosti razjašnjen. Upravo zbog porasta koncentracije CRP na početku gravidnosti predloženo je da se kod kuja određivanje vrijednosti CRP koristi u svrhu testa na ranu gravidnost (tri tjedna od gestacije). U tom je slučaju potrebno izvršiti kompletan pregled životinje prije parenja da bi se procijenilo zdravstveno stanje i isključilo prisustvo upalnih procesa koji bi mogli dati lažno pozitivan rezultat na ispitivanje gravidnosti. Za razliku od istraživanja provedenog od strane Eckersall i suradnika (1993.), koji navode porast koncentracije CRP tijekom postpartalnog perioda. Kurabayashi i suradnici (2003.) opažaju tek jedan slučaj porasta CRP od ukupno osam ispitivanih pasa.

Prema dosadašnjim istraživanjima nije utvrđeno da starost i spol pasa utječu na vrijednost koncentracije CRP pasa (Kurabayashi i sur., 2003., Cerón i sur., 2005.). Ipak je uočen jači odgovor akutne faze prilikom pokušne inokulacije terpentinskog ulja ili *Staphylococcus aureus* kod odraslih pasa, nego kod pasa starosti mjesec dana (Cerón i sur., 2005.). Prema istraživanju Onishi i suradnika (2000.) nije utvrđen utjecaj pasmine na koncentraciju CRP pasa. Istraživanja heterogene populacije ljudi pokazala su utjecaj pasmine i spola na koncentraciju CRP (Khera i sur., 2005.), dok postoje i navodi koji to opovrgavaju (Nazmi i sur., 2008.). Hutchinson i suradnici (2000.) zapažaju blago povećanje u koncentraciji CRP kod starijih osoba, što je u radu pripisano učestalijim prisustvom drugih čimbenika, kao što su subklinička upala i povećanje tjelesne mase. Više koncentracije CRP pronađene su kod pojedinaca s povećanom vrijednošću indeksa tjelesne mase i u vezi su s *in vivo* oslobođanjem IL-6 iz adipoznog tkiva (Ignjatović, 2005.). S druge strane, istraživanjima kod pasa nije ustanovljen utjecaj tjelesne mase na koncentraciju APP (Tvarijonaviciute i sur., 2011.).

Povišena koncentracija CRP ustanovljena je kod izuzetno fizički aktivnih pasa. U ovim se slučajevima visoke koncentracije CRP pripisuju upali izazvanoj naporom (Wakshlag i sur., 2007.).

Otabe i suradnici (1998.) su istraživali dnevne varijacije koncentracije CRP zdravih pasa. Određivali su vrijednost CRP unutar 24 sata tijekom 28 dana i nisu ustanovili značajne varijacije. Ispitivanja provedena na ljudima pokazala su da na koncentraciju CRP ne utječe unošenje hrane i da ne postoji cirkadijalni ritam (Ignjatović, 2005.). Samim tim koncentracija CRP ne varira u zavisnosti od vremena uzorkovanja. Diurnalne oscilacije ne navodi ni Tîrziu (2009.), ipak smatra da postoje značajne individualne razlike. Iako proučeni citokini, kao što je IL-6, pokazuju cirkadijalni ritam, to ipak ne utječe na vrijednost CRP, vjerovatno zbog njegovog vremena poluživota (19 sati) koje maskira cirkadijalne učinke citokina (Meier-Ewert i sur., 2001.). Na osnovu navedenih istraživanja, smatra se da CRP nije značajnije podložan fiziološkim ili biološkim promjenama u odsustvu upalnih poremećaja.

Ipak, za vrijeme gladovanja zapaža se smanjenje obima pozitivnog odgovora, kao i opće smanjenje sinteze proteina na razini jetre. Pothranjenost i anoreksija utječu na proučalne citokine, mijenjajući tako sintezu proteina (Jain i sur., 2011.).

Koncentracija CRP se u serumu zdravih osoba povećava za oko 65% poslije promjene nadmorske visine s razine mora na 3600 m (Ignjatović, 2005.). Slična istraživanja kod pasa do sada nisu objavljena.

Interesantno je zapažanje grupe autora da psi držani u svojstvu laboratorijskih životinja imaju niže vrijednosti koncentracije CRP od onih držanih kao kućni ljubimci (Cerón i sur., 2005., Cray i sur., 2009.). Autori prepostavljaju da uvjeti i izoliran

Tabela 2. Magnituda porasta CRP tijekom različitih bolesti (Cerón i sur., 2005.)

Bolest	Magnituda porasta koncentracije CRP
Babezioza	Nije navedeno
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	95x
<i>Ehrlichia canis</i>	3,3-6,5x
<i>Escherichia coli</i>	3,5-4x
Lajšmanioza	25-30x
Leptospiroza	16-80x (prouzročena eksperimentalno) 30x (prirodna infestacija)
Parvoviroza	20x
Tripanozomijaza	20x

CRP, C-reaktivni protein

način držanja laboratorijskih životinja minimizira kontakt s potencijalno upalnim uzročnicima, što za posljedicu ima niže vrijednosti CRP.

Još uvjek nema preciznijih podataka o poluživotu CRP pasa, ali se čini da je poluživot CRP pasa veoma kratak (Cerón i sur., 2005.). Brza produkcija i klirens čine CRP dobrim indikatorom kliničkog stanja životinje u trenutku uzorkovanja.

CRP kao marker bolesti ljudi i pasa

C-reaktivni protein utječe na funkciju i aktivnost brojnih stanica. Sposobnost CRP da prepozna patogen na molekularnoj razini te da posreduje u njegovoj eliminaciji aktivirajući sistem komplementa i fagocitne stanice, čini ga značajnim u prvoj liniji obrane organizma (Volanakis, 2001.). Smatra se i da ima znatnu ulogu u uklanjanju apoptozičnih, nekrotičnih i oštećenih stanica domaćina što doprinosi održanju normalne strukture i funkcije (Du Clos i sur., 1994., Gershov i sur., 2000.).

Prema tome, fiziološka funkcija CRP se ogleda u ostvarivanju urođene nespecifične obrane organizma, prepoznavajući potencijalno štetne strane molekule i promijenjene endogene strukture i molekule.

Uporaba CRP kao pokazatelja upalnog odgovora organizma uveliko ovisi o utjecaju lijekova na njegovu koncentraciju. Do danas nije otkriven mehanizam utjecaja farmakološke terapije na koncentraciju CRP u serumu pasa. Jedna od značajnih studija doprinijela je spoznaji da terapija steroidima ne prouzroči povećanje koncentracije CRP kod zdravih pasa (Martínez-Subiela i sur., 2004.). Tijekom pokušno izazvanog akutnog sinovitisa u istraživanju provedenom od strane Borer i suradnika (2003.) na koncentraciju CRP nisu utjecale terapijske doze karprofena, etodolaka, meloksikama ili butorfanola.

Na koncentraciju CRP ne utječu ni kemoterapija i transfuzija, koje mogu utjecati na vrijednosti sedimentacije eritrocita (engl. *Erythrocyte sedimentation rate*, ESR) (Beayou i sur., 2009.).

Povišena se koncentracija CRP javlja kod životinja prilikom velikog broja različitih bolesti. Pri tom, s obzirom na veoma slabu dijagnostičku specifičnost, povišena koncentracija ovog proteina ne pruža informaciju o uzroku bolesti te se ne može koristiti u svrhu primarnog dijagnostičkog testa za određenu bolest (Tab. 2.). Ipak, visoko je osjetljiv za otkrivanje stanja koja mijenjaju zdravljje životinje te pružaju dokaze o postojanju

subkliničke upale ili infekcije, no, nažalost ne otkriva uzročnika.

U humanoj medicini mnogi stručnjaci smatraju koncentraciju CRP pouzdanim čimbenikom diferencijacije virusne od bakterijske infekcije. Tako, na primjer, bakterijski meningitis prati signifikantno povećanje serumske koncentracije CRP, dok promjene koncentracije nisu zapažene prilikom meningitisa virusne etiologije (Petersen i sur., 2004.). Vrijeme trajanja povišene koncentracije CRP smatra se odrazom kliničkog tijeka bolesti. Prema jednom broju autora koncentracija CRP u serumu isto tako omogućava diferencijaciju između bakterijske i virusne pneumonije (Korppi i Kröger, 1993., Sasaki i sur., 2002.), dok s druge strane neki smatraju da diferencijacija tog tipa na osnovu koncentracije CRP nije moguća (Petersen i sur., 2004.). Oprečni rezultati ispitivanja postoje i na području kardiovaskularnih bolesti, gdje neki istraživači smatraju da blago povišene koncentracije CRP mogu ukazivati na povećan rizik od srčanih bolesti ljudi (Bahadursingh i sur., 2009.). Najnovija istraživanja jasno pokazuju da je povećanje koncentracije CRP u okviru referentnog intervala povezano s budućim koronarnim poremećajima kod naizgled zdravih muškaraca i žena (Ignjatović, 2005.). Uprkos činjenici da je CRP dobar marker rizika srčane slabosti kod ljudi, prilikom istraživanja na psima utvrđeno je da mu nedostaje osjetljivost i specifičnost za otkrivanje kronične bolesti zalistaka (engl. *Chronic valvular disease*, CVD) zbog širokog preklapanja intervala vrijednosti CRP kod zdravih pasa i onih oboljelih od CVD. Iako su kod pasa s CVD ustanovljene povišene koncentracije CRP, one se nisu mogle povezati s prisustvom srčane slabosti ili stupnja šuma (Rush i sur., 2006.).

Povišena koncentracija CRP predviđa razvoj dijabetesa tip-2 neovisno o tradicionalnim činiteljima rizika kod

ljudi i podržava stanovište da je upala povezana s rezistencijom na inzulin (Festa i sur., 2002.).

IL-6 ima centralnu ulogu u normalnom sazrijevanju B-stanica, ali i u proliferaciji malignih B-stanica, poput non-Hodgkin-ovog limfoma (NHL) i multiplog mijeloma. Kod pacijenata s dijagnosticiranim NHL uočena je značajna veza između koncentracije CRP i razine IL-6 (Legouffe i sur., 1998.). Određivanje serumske koncentracije CRP kod pacijenata oboljelih od NHL smatra se prognostički značajnim. Naime, pacijenti sa značajno povišenom koncentracijom CRP imali su srednju vrijednost preživljavanja 8,5 mjeseci, za razliku od grupe pacijenata s koncentracijom CRP manjom od 10 mg/L, gdje je njih 75% bilo živo i nakon 32 mjeseca od dijagnoze (Legouffe i sur., 1998.).

Ljudi infestirani protozoom *Plasmodium falciparum*, uzročnikom malarije imali su povišene koncentracije CRP prilikom pojave prvih simptoma (Graninger i sur., 1992.). Težina falciparum malarije ljudi je određivana na osnovu koncentracije CRP, s obzirom da se na osnovu kliničke procjene pacijenta često ne može predvidjeti razvoj komplikacija (Gillespie i sur., 1991.).

Uvid u liječenje kala-azar, kroničnog i potencijalno fatalne parazitarne bolesti visceralnih organa, naročito jetre, slezene, koštane srži i limfnih čvorova, uslijed infestacije s *Leishmania donovani*, pružale su invazivne metode: česte aspiracije koštane srži ili slezene. Određivanje koncentracije CRP pokazalo se učinkovitim za monitoring bolesti te se ranije spomenuti invazivni dijagnostički testovi ne moraju koristiti (Singh i sur., 1999.).

U posljednjih tridesetak godina nanočestice imaju široku primjenu u industriji, visokoj tehnologiji, medicini i farmaciji (Moser i sur., 2002.). Nanočestice su općenito superfine čestice veličine

od 1 nm do 1 mikrona. Dodatkom nanočestica materijalima se poboljšava čvrstoća, tvrdoća te druga mehanička svojstva; u nanotehnologiji se promjenom veličine nanočestica mijenjaju njihova magnetska, optička, električna svojstva. Primjena u medicini je raznolika, od primjene u liječenju malignih stanica, do glavnog sastojka krema za sunčanje. Njihovom sve većom primjenom raste i briga o potencijalnim rizicima koje nose za ljudsko zdravlje. Upravo uporaba proteina akutne faze kao biomarkera našla je svoje mjesto u ispitivanju toksičnosti nanočestica. Higashisaka i suradnici (2011.) prilikom izlaganja miševa silika-nanočesticama dijametra 70 nm zapažaju porast u koncentraciji CRP, SAA i Hp plazme te navedene proteine smatraju visoko senzitivnim biomarkerima za procjenu rizika koji nosi izlaganje silika nanočesticama.

Visoke su koncentracije CRP zabilježene prilikom infekcije s *Ehrlichia canis*, *Leishmania infantum* (Martínez-Subiela i Cerón, 2005.), babezioze (Ulutas i sur., 2005., Matijatko i sur., 2007.), leptospiroze (Yamamoto i sur., 1993.), generalizirane demodikoze (Ulutas i sur., 2011.), kod akutnog oštećenja mukoze želuca (Otabe i sur., 2000.), parvovirusnog i hemoragičnog enteritisa (Nakamura i sur., 2008.), akutnog pankreatita, imuno-posredovane hemolitične anemije (Galezowski i sur., 2010.), piometre (Nakamura i sur., 2008.), imuno-posredovanog poliartritisa (Kjelgaard-Hansen i sur., 2006.), artritisa, glomerulonefritisa, alergija (Onishi i sur., 2000.), neoplazija (Tecles i sur., 2005.) te različitih kirurških trauma (Nakamura i sur., 2008.).

Koncentracija CRP kod pasa je značajan čimbenik prilikom klasifikacije efuzije (Parra i sur., 2006.), kod diferenciranja piometre od cistične hipoplazije endometrija/mukometre (Fransson i Ragle, 2003.), a svoje mjesto

nalazi i u laboratorijskim testovima za procjenu učinkovitosti liječenja pacijenata s upalnim bolestima crijeva (engl. *Inflammatory bowel disease*, IBD) (Köster i sur., 2009.). S druge strane, neurološka stanja poput epilepsije, atlanto-aksijalne subluksacije, hidrocefala i nekrotizirajućeg meningoencefalitisa, kao i endokrini poremećaji poput hipotireodizma i hiperadrenokorticizma u većini slučajeva ne pokazuju povišene vrijednosti CRP (Nakamura i sur., 2008.).

Psi podvrgnuti kirurškom tretmanu ili inficirani s *Bordetella bronchiseptica* imali su najvišu koncentraciju CRP prvog dana od stimulusa; s druge strane, psi s infekcijama prouzročenim intracelularnim mikroorganizmima, poput *Trypanosoma brucei* ili *Ehrlichia canis* imali su najvišu koncentraciju CRP 4-10 dana od infekcije (Cerón i sur., 2005.).

Prednosti uporabe CRP

Superiornost CRP nad leukogramom je dokazana u brojnim ispitivanjima (Nakamura i sur., 2008., Cheng i sur., 2009.). Studija koja je evaluirala upalu kod pasa, zabilježila je značajne promjene u CRP, dok su promjene leukocitarne slike izostale (Cray i sur., 2009.). Isto tako, psi s idiopatskim poliartritisom su pozitivno reagirali na liječenje steroidima, što se manifestiralo smanjenjem simptoma i značajnim smanjenjem koncentracije CRP, dok je leukocitarna slika ostala nepromijenjena (Ohno i sur., 2006.).

Određivanje koncentracije CRP kod pasa smatra se pouzdanim od određivanja ESR (brzina sedimentacije eritrocita). Prednost ESR jest, osim u jednostavnosti izvođenja, i u činjenici da su laboratoriji odavno upoznati s ovom metodom. Unatoč tome, određivanje koncentracije CRP imanekoliko prednosti. Sedimentacija eritrocita je indirektno mjerjenje koncentracije proteina akutne faze i ovisi o veličini, broju i obliku eritrocita, kao i o nekim sastojcima

plazme, poput imunoglobulina. Usljed toga rezultati mogu biti neprecizni i navesti na pogrešne zaključke. Kada je prvi put uvedena kao metoda 1920. godine, ESR je smatrana naprednom metodom. Danas kada postoji mogućnost direktnog određivanja fibrinogena ili pak koncentracije CRP, ova se metoda smatra zastarjelom. Promjenu zdravstvenog stanja pacijenta u pravcu poboljšanja ili pogoršanja prati ESR, međutim to se odvija znatno sporije u usporedbi s promjenama koncentracije CRP. Prema istraživanju nekih autora do porasta ESR dolazi tek dva do četiri dana nakon porasta CRP (Paul i sur., 2011.). Isto tako, ESR nije pouzdana metoda procjene upale koju prati promijenjen ili smanjen broj eritrocita. U takvim se slučajevima u svrhu monitoringa upale može koristiti CRP. Superiornost CRP nad ESR uočava se i činjenicom da se ESR povećava sa starošću jedinke, dok koncentracija CRP ostaje nepromjenjena (Gabay i Kushner, 2001.). Naime, Jovanović (2004.) navodi tek blago povišenje koncentracije CRP kod starijih osoba.

Sažetak

C-reaktivni protein je glavni protein akutne faze pasa. Okriven je 1930. godine u humanom serumu, a njegovo prisustvo kod pasa je dokazano četrdeset godina kasnije. Iako je CRP u humanoj medicini zauzeo mjesto veoma važnog markera upale, u veterinarskoj medicini je njegova uporaba još uvijek ograničena na znanstveno-istraživačko područje. Ipak, bilježi se sve veći interes za ovaj protein akutne faze i mogućnosti njegove primjene. Porast koncentracije CRP utvrđen je kod različitih bolesti pasa. Zahvaljujući brzom porastu koncentracije smatra se pouzdanim markerom upale od sedimentacije eritrocita i leukograma.

Literatura

- ABERNETHY, T. J. and O. T. AVERY (1941): The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C-polysaccharide of Pneumococcus. *J. Exp. Med.* 73, 173-182.
- ANDERSON, H. C. and M. McCARTY (1950): Determination of C-reactive protein in the blood as a measure of the activity of the disease process in acute rheumatic fever. *Am. J. Med.* 8, 445-455.
- BAHADURSINGH, S., K. BEHARRY, K. MAHARAJ, C. MOOTOO, P. SHARMA, J. SINGH, K. TEELUCKSINGH and R. TILLUCKDHARRY (2009): C-reactive protein: adjunct to cardiovascular risk assessment. *West Indian Med. J.* 58, 551-555.
- BEAYOU, A. M., A. S. ABUSEDRA and F. I. NAJAM (2009): Evaluation of C-reactive protein as a diagnostic tool in the detection of infection in patients with malignancy and pyrexia. *Lybian J. Infectious Dis.* 3, 27-42.
- BORER, L. R., J. E. PEEL, W. SEEWALD, P. SCHAWALDER and D. E. SPRENG (2003): Effect of carprofen, etodolac, meloxicam, or butorphanol in dogs with induced acute synovitis. *Am. J. Vet. Res.* 64, 1429-1437.
- BÖRNGEN, S. (1998): Nachweis von C-reaktivem protein beim Hund. Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig, Germany. Pp. 1-95.
- BURTON, S. A., D. J. HONOR, A. L. MACKENZIE, P. D. ECKERSALL, R. J. F. MARKHAM and B. S. HORNEY (1994): C-reactive protein concentration in dogs with inflammatory leukograms. *Am. J. Vet. Res.* 55, 613-618.
- CASPI, D., M. L. BALTZ, F. SNEL, E. GRUYNS, D. NIV, R. M. BATT and E. A. MUNN (1984): Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. *Immunology* 53, 307-313.
- CERÓN, J. J., P. D. ECKERSALL and S. MARTÍNEZ-SUBIELA (2005): Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Pathol.* 34, 85-99.
- CHAPRAZOV, T. S. and I. BORISSOVA (2009): Time course of blood C-reactive protein and fibrinogen concentrations after experimental *Pseudomonas* infection in dogs. *Bulg. J. Vet. Med.* 12, 240-245.
- CHENG, T., K. A. MATHEWS, A. C. G. ABRAMS-OGG and R. D. WOOD (2009): Relationship between assays of inflammation and coagulation: A novel interpretation of the canine activated clotting time. *Can. J. Vet. Res.* 73, 97-102.
- CICARELLI, D. C., J. E. VIEIRA and I. BENSEÑOR (2008): Comparison of C-Reactive Protein and Serum Amyloid A Protein in Septic Shock Patients. *Med. Inflamm.*, 1-5.
- CONNER, J. G., P. D. ECKERSALL, J. FERGUSON and T. A. DOUGLAS (1998): Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res. Vet. Sci.* 45, 107-110.
- CRAY, C., J. ZAIAS and N. H. ALTMAN (2009): Acute phase response in animals: A Review. *Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 6, 517-526.
- DU CLOS, T. W. and C. MOLD (2001): The role

- of C-reactive protein in the resolution of bacterial infection. *Current Opinion in Infectious Diseases* 14, 289-293.
16. ECKERSALL, P. D. (2000): Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Rev. Méd. Vét.* 151, 577-584.
 17. ECKERSALL, P. D. and J. G. CONNER (1988): Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.* 12, 169-178.
 18. ECKERSALL, P. D., M. J. A. HARVEY, J. M. FERGUNSON, J. P. RENTON, D. A. NICKSON and J. S. BOYD (1993): Acute phase protein in canine pregnancy (*Canis familiaris*). *J. Reprod. Fertil.* 47, 159-164.
 19. FESTA, A., R. P. TRACY and S. M. HAFFNER (2002): Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 51, 1131-1137.
 20. FRANSSON, B. A. and C. A. RAGLE (2003): Canine pyometra: An update on pathogenesis and treatment. *Compendium Small animal/exotics* 25, 602-612.
 21. FUJISE, H., H. TAKANAMI, M. YAMAMOTO, I. OHTA, S. YAMAMOTO, T. FUKASE, M. NAIKI, S. AKIHAMA and E. OGAWA (1992): Simple Isolation of Canine C-Reactive Protein (CRP) by Phosphorylcholine (PC) Affinity Chromatography. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 165-167.
 22. GABAY, C. and I. KUSHNER (2001): Acute-phase proteins. *Encyclopedia of Life Science*.
 23. GALEZOWSKI, A. M., E. C. R. SNEAD, B. A. KIDNEY and M. L. JACKSON (2010): C-reactive protein as a prognostic indicator in dogs with acute abdomen syndrome. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 395-401.
 24. GERMAN, A. J., M. HERVERA, L. HUNTER, S. L. HOLDEN S., P. J. MORRIS, V. BIOURGE and P. TRAYHURN (2009): Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Dom. Anim. Endocrinol.* 37, 214-226.
 25. GERSHOV, D., S. KIM, N. BROT and K. B. ELKON (2000): C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J. Exp. Med.* 192, 1353-1364.
 26. GILLESPIE, S., C. DOW, J. RAYNES, R. BEHRENS, P. I. CHIODINI and K. McADAM (1991): Measurement of acute phase proteins for assessing severity of *Plasmodium falciparum* malaria. *J. Clin. Pathol.* 44, 228-311.
 27. GOTSCHLICH, E. C. (1962): Occurrence of a substance analogous to C-reactive protein in acute phase dog sera. *Federation Proceedings* 21, 14.
 28. GRANINGER, W., F. THALHAMMER, U. HOLLENSTEIN, G. M. ZOTTER and P. G. KREMSNER (1992): Serum protein concentrations in *Plasmodium falciparum* malaria. *Acta Trop.* 52, 121-128.
 29. HIGASHISAKA, K., Y. YOSHIOKA, K. YAMASHITA, Y. MORISHITA, M. FUJIMURA, H. NABESHI, K. NAGANO, Y. ABE, H. KAMADA, S. TSUNODA, T. YOSHIKAWA and Y. TSUTSUMI (2011): Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and toxicity of nanomaterials. *Biomaterials* 32, 3-9.
 30. HIGGINS, M. A., B. R. BERRIDGE, B. J. MILLS, A. E. SCHULTZE, H. GAO, G. H. SEARFOSS, T. K. BAKER and T. P. RYAN (2003): Gene expression analysis of the acute phase response using a canine microarray. *Toxicol. Sci.* 74, 470-484.
 31. HUTCHINSON, W. L., W. KOENIG, M. FROHLICH, M. SUND, G. D. O. LOWE and M. B. PEPYS (2000): Immunoradiometric Assay of Circulating C-Reactive Protein: Age-related Values in the Adult General Population. *Clin. Chem.* 46, 934-938.
 32. IGNJATOVIĆ, S. (2005): Određivanje visoko osetljivog C-reaktivnog protein: klinički i analitički kvalitet. *Jugoslov. Med. Biohem.* 24, 85-93.
 33. JAIN, S., V. GAUTAM and S. NASEEM (2011): Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *J. Pharm. Bioall. Sci.* 3, 118-127.
 34. JOVANOVIĆ, D. B. (2004): Klinički značaj određivanja serum-amiloida A. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo* 132, 267-271.
 35. KHERA, A., D. K. MCGUIRE, S. A. MURPHY, H. G. STANEK, S. R. DAS, W. VONGPATANASIN, F. H. WIANS, S. M. GRUNDY and J. A. De LEMOS (2005): Race and Gender Differences in C-Reactive Protein Levels. *J. Am. Coll. Cardiol.* 46, 464-469.
 36. KJELGAARD-HANSEN, M. (2004): Canine C-reactive protein. Ph.D. Thesis. Veterinary Clinical Pathology, Department of Small Animal Clinical Sciences. The Royal Veterinary and Agricultural University. Frederiksberg, Denmark.
 37. KJELGAARD-HANSEN, M., A. L. JENSEN, G. A. HOUSER, L. R. JESSEN and A. T. KRISTENSEN (2006): Use of Serum C-Reactive Protein as an Early Marker of Inflammatory Activity in Canine Type II Immune-Mediated Polyarthritis: Case Report. *Acta Vet. Scand.* 48, 9
 38. KJELGAARD-HANSEN, M., A. T. KRISTENSEN and A. L. JENSEN (2003): Evaluation of commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of C-reactive protein in canine serum. *J. Vet. Med. A, Physiol. Pathol. Clin. Med.* 50, 164-168.
 39. KLENNER, S., N. BAUER and A. MORITZ (2010): Evaluation of Three Automated Human Immunoturbidimetric Assays for the Detection of C-Reactive Protein in Dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 544-552.
 40. KORPPi, M. and L. KRÖGER (1993): C-Reactive Protein in Viral and Bacterial Respiratory Infection in Children. *Scand. J. Infect. Dis.* 25, 207-213.
 41. KÖSTER, L. S., M. VAN SCHOOR, P. N.

- THOMPSON, P. T. MATJILA and M. KJELGAARD-HANSEN (2009): C-reactive protein in canine babesiosis caused by *Babesia rossi* and its association with outcome. *S. Afr. Vet. Ass.* 80, 87-91.
42. KOVAČ, Z. (1998): Upale. Iz: GAMULIN S, MARUŠIĆ M. i suradnici (ur.) Patofiziologija. Medicinska naklada, Zagreb. Str. 383-407.
43. KURIBAYASHI, T., T. SHIMIDA, M. MATSUMOTO, K. KAWATO, T. HONJYO, M. FUKUYAMA, Y. YAMAMATO and S. YAMAMATO (2003): Determination of serum CRP in healthy beagle dogs of various ages and pregnant beagle dogs. *Exp. Anim.* 52, 387-390.
44. LEGOUFFE, E., C. RODRIGUEZ, M. C. PICOT, B. RICHARD, B. KLEIN, J. F. ROSSI and T. C. COMMES (1998): Reactive protein serum level is a valuable and simple prognostic marker in non Hodgkin's lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 3, 351-357.
45. MARTÍNEZ-SUBIELA, S. and J. J. CÉRON (2005): Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment. *Vet. Med. – Czech.* 50, 39-46.
46. MARTÍNEZ-SUBIELA, S., P. J. GINEL and J. J. CÉRON (2004): Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. *Vet. Rec.* 154, 814-817.
47. MATIJATKO, V., N. KUČER, R. BARIĆ-RAFAJ, J. FORŠEK, I. KIŠ, D. POTOČNJAK, G. RAZDOROV and V. MRLJAK (2002): CRP concentrations in dogs with uncomplicated babesiosis. Proceedings of the Third Colloquium on Food Safety and Acute phase Proteins. Doorn, Netherlands. Pp. 55-56.
48. MEIER-EWERT, H. K., P. M. RIDKER, N. RIFAI, D. F. DINGES and J. M. MULLINGTON (2001): Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin. Chem.* 47, 426-430.
49. MITCHELL, K. D. (2008): The acute phase response in canine autoimmune hemolytic anemia. Doctoral thesis, University of Guelph.
50. MOSER, A., K. TAKANO, D. T. MARGULIES, M. ALBRECHT, Y. SONOBE, Y. IKEDA, S. SHOUHENG and E. F. FULLERTON (2002): Magnetic recording: advancing into the future. *J. Phys. D., Appl. Phys.* 35, R157-R167.
51. NAKAMURA, M., M. TAKAHASHI, K. OHNO, A. KOSHINO, K. NAKASHIMA, A. SETOGUCHI, Y. FUJINO and H. TSUJIMOTO (2008): C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *J. Vet. Med. Sci.* 70, 127-131.
52. NAZMI, A., I. O. OLIVEIRA and C. G. VICTORIA (2008): Correlates of C-reactive protein levels in young adults: a population-based cohort study of 3827 subjects in Brazil. *Brazil. J. Med. Biol. Res.* 41, 357-367.
53. OHNO, K., Y. YOKOYAMA, K. NAKASHIMA, A. SETOGUCHI, Y. FUJINO and H. TSUJIMOTO (2006): C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis. *J. Vet. Med. Sci.* 68, 1275-1279.
54. ONISHI, T., H. INOKUMA, K. OHNO, S. SOEDA, K. NOGUCHI and K. SASAKI (2000): C-reactive protein concentrations in normal and diseased dogs – measured by laser nephelometric immunoassay. *J. Japan Vet. Med. Assoc.* 53, 595-601.
55. ONISHI, T., H. INOKUMA, K. OHNO, S. SOEDA, K. NOGUCHI and K. SASAKI (2000): C-reactive protein concentrations in normal and diseased dogs – measured by laser nephelometric immunoassay. *J. Japan Vet. Med. Assoc.* 53, 595-601.
56. OTABE, K., T. ITO, T. SUGIMOTO and S. YAMAMOTO (2000): C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. *Lab. Anim.* 34, 434-438.
57. OTABE, K., T. SUGIMOTO and T. JINBO (1998): Physiological Levels of C-Reactive Protein in Normal Canine Sera. *Vet. Res. Commun.* 22, 77-85.
58. PARRA, M. D., K. PAPASOULIOTIS and J. J. CÉRON (2006): Concentrations of C-reactive protein in effusions in dogs. *Vet. Rec.* 58, 753-757.
59. PAUL, C., L. O. HANSSON, S. L. SEIERSTAD and K. KRIZ (2011): Canine C-Reactive Protein - A Clinical Guide. LifeAssays AB Lund, Sweden Art. No: 40301-10 First edition.
60. PETERSEN, H. H., J. P. NIELSEN and P. M. H. HEEGAARD (2004): Application of acute phase measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.* 35, 163-187.
61. RILEY, R. F. and M. K. COLEMAN (1970): Isolation of C-reactive proteins of man monkey, rabbit and dog by affinity chromatography on phosphorylated cellulose. *Clinica Chimica Acta* 30, 483-496.
62. RILEY, R. F. and W. ZONTINE (1972): Further observations on the properties of dog C-reactive protein and the C-reactive protein response in the dog. *J. Lab. Clin. Med.* 80, 698-703.
63. RUSH, J. E., N. D. LEE, L. M. FREEMAN and B. BREWER (2006): C-reactive protein concentration in dogs with chronic valvular disease. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 635- 639.
64. SACKS, G. P., L. SEYANI, S. LAVERY and G. TREW (2004): Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation. *Human Reprod.* 19, 1025-1030.
65. SASAKI, K., I. FUJITA, Y. HAMASAKI and S. MIYAZAKI (2002): Differentiating between bacterial and viral infection by measuring both C-reactive protein and 2'-5'-oligoadenylate synthetase as inflammatory markers. *J. Infect. Chemother.* 8, 76-80.
66. SERIN, G. and P. A. ULUTAS (2010): Measurement of serum acute phase proteins to monitor postoperative recovery in anoestrous bitches after ovariohysterectomy. *Vet. Rec.* 166, 20-22.
67. SINGH, U. K., A. K. PATWARI, R. K. SINHA and R. KUMAR (1999): Prognostic value of serum C-reactive protein in Kala-azar. *J. Trop. Pediat.* 45, 226-228.
68. TECLES, F., E. SPIRANELLI, U. BONFANTI, J. J. CÉRON and S. PALTRINIERI (2005): Preliminary Studies of Serum Acute-Phase Protein

- Concentrations in Hematologic and Neoplastic Diseases of the Dog. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 865-870.
69. TECLES, F., M. CALDÍN, A. ZANELLA, F. MEMBIELA, A. TVARIJONAVICIUTE, S. MARTÍNEZ-SUBIELA and J. J. CÉRON (2009): Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumor. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21, 214-219.
 70. TILLET, W. S. and T. FRANCIS (1930): Serologic reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.* 52, 561-571.
 71. TÎRZIU, E. (2009): Acute-phase proteins in immune response. *Lucrări stințifice medicina veterinară*.
 72. TVARIJONAVICIUTE, A., S. MARTINEZ-SUBIELA, J. D. CARRILLO-SANCHEZ, F. TECLES and J. J. CERON (2011): Effects of orchidectomy in selective biochemical analytes in Beagle dogs. *Reprod. Domest. Anim.* 46, 957-964.
 73. ULUTAS, B., G. BAYRAMLI, P. A. ULUTAS and T. KARAGENC (2005): Serum Concentration of some Acute Phase Proteins in Naturally Occurring Canine Babesiosis: A Preliminary Study. *Vet. Clin. Pathol.* 34, 144-147.
 74. ULUTAS, B., K. URAL and P. A. ULUTAS (2011): Acute phase response with special reference to C-reactive protein in dogs with generalized demodicosis. *Acta Sci. Vet.* 39, 980.
 75. ULUTAS, P. A., B. MUSAL, F. KIRAL and A. BILDIK (2009): Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches. *Res. Vet. Sci.* 86, 373-376.
 76. VOLANAKIS, J. E (2001): Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol. Immunol.* 38, 189-197.
 77. WAKSHLAG, J. J., T. STOKOL, S. M. GESKE, C. E. GREGER, C. T. ANGLE and R. L. GILLETT (2007): Evaluation of exercise-induced changes in concentrations of C-reactive protein and serum biochemical values in sled dogs completing a long-distance endurance race. *Am. J. Vet. Res.* 71, 1207-1213.
 78. WANG, L. and W. COLÓN (2005): Urea-induced denaturation of apolipoprotein serum amyloid A reveals marginal stability of hexamer. *Protein Sci.* 14, 1811-1817.
 79. YAMAMOTO, S., K. TAGATA, H. NAGAHATA, Y. ISHIKAWA, M. MORIMATSU and M. NAIKI (1992): Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 30, 329-339.
 80. YAMAMOTO, S., S. MIYAJI, Y. ASHIDA, K. OTABE, E. MOMOTANI and Y. RIKIHISA (1994): Preparation of anti-canine serum amyloid A (SAA) serum and purification of SAA from canine high-density lipoprotein. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 41, 41-53.
 81. YAMAMOTO, S., T. SHIDA, S. MIYAJI, H. SANTSUKA, H. FUJISE H, K. MUKAWA, E. FURUKAWA, T. NAGAE and M. NAIKI (1993): Changes in Serum C-Reactive Protein Levels in Dogs with various Disorders and Surgical Traumas. *Vet. Res. Commun.* 17, 85-93.

Canine C-reactive protein

Nejra HADŽIMUSIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Faculty of Veterinary Medicine, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

C-reactive protein (CRP) is a major acute phase protein in dogs. CRP was discovered in human acute phase serum in 1930. A canine analogue to the human CRP was investigated in canine acute phase sera forty years later. Although CRP in human medicine plays a very important role as a marker of inflammation, in veterinary medicine, its use is still

limited only to a scientific research. However, there is increasing interest in CRP and the possibilities of its application in veterinary medicine. The increase in CRP was found in various diseases in dogs. Due to rapid increase of CRP concentrations during inflammation, CRP is considered to be a more reliable marker than ESR and the leukogram.



Harmonija druženja

Dehinel® Plus & flavour

1 tableta
sadržava:

febantel 150 mg
pirantel embonat 144 mg
prazikvantel 50 mg

Dehinel® Plus XL

tablete

1 tableta sadržava:

febantel 525 mg
pirantel embonat 504 mg
prazikvantel 175 mg

Antiparazitik za pse (nematocid, cestocid)

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

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

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



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

Zapadnonilski virus mogući je uzročnik mraclinske bolesti konja

Slavko Cvetnić



Iznenada, kao što to biva kod svake nesreće, u Mraclinu (Velika Gorica) oboljeli su krajem ljeta 1938. godine mnogi konji, a dvadesetak ih je u kratko vrijeme i uginulo. Evo što o tome piše dr. Josip Kucel, tada kotarski veterinar u Velikoj Gorici: „Početkom kolovoza 1938. pojavila se u nekoliko turopoljskih sela bolest u konja s vrlo izraženim encefalitičkim sindromom. Bolest ne bi bila toliko zapažena da se nije dogodio tzv. Mraclinski slučaj, gdje su od iste bolesti počeli konji u epidemijskim razmjerima oboljevati i ugibati. U rujnu i listopadu te godine oboljelo je u Mraclinu 198, od 440 konja u selu. Njih 25 je uginulo. Od tada se slična klinička stanja u konja običavaju nazivati „mraclinska bolest“ (Kucel, 1938.). Tijekom ove epizootije su nastavnici, ali i studenti zadnje godine studija Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu svakodnevno dolazili i činili sve što su tada mogli, da se pruži pomoć bolesnim životinjama i utvrdi uzrok pošasti. Pomoći se sastojala u liječenju lokalnih rana u konja koji su se pomahnitali izranjavali, osobito po glavi. Sve poduzete laboratorijske pretrage (bakteriološke, toksikološke, histološke), razudbeni nalazi i biološki pokusi na konjima, mačkama i kunicima nisu omogućili postavljanja etiološke dijagnoze. Nemir, mahnitanje, nekoordinirano kretanje i neprirodno držanje tijela ukazivali su na tešku

neurološku bolest. To najbolje potvrđuju izvorne fotografije i crtež akademskog slikara Petra Šimage (Šumski), rođenog 1912. u Ostri. Slikovni matarijal prikupio je, sačuvao i poklonio mi prof. dr. Stjepan Rapić, utemeljitelj rentgenologije na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu. Sjećam se „mraclinskog slučaja“, imao sam tada 9 godina. Ostale su slike teško bolesnih konja koje sam danima promatrao u obližnjoj, za tu priliku uređenoj priručnoj ambulantni i stacionaru. O tome sam pisao u više navrata i posebnih prigoda, a nešto opširnije u dva rada u stručnom tisku (Cvetnić, 1989., Cvetnić, 2007.).

Iznenaden sam bio slušajući na simpoziju „Epidemiološke i kliničke osobitosti infekcije virusom Zapadnog Nila u Hrvatskoj i susjednim zemljama“, održanom u palači Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti u Zagrebu 25. listopada 2012. podatak o bolesti ljudi 1937. godine u Ugandi u distriktu (pokrajini, subregiji) West Nile. Distrikt je obilježen kao močvarno područje, leglo komaraca i izvor malarije. Tom je prigodom pokazana slika bolesnog konja koja me podsjetila na oboljele konje u Mraclinu 1938. Spomenute godine u Ugandi nije bio dokazan uzročnik. Tek je 1940. iz krvi febrilne tamošnje žene izdvojen virus na laboratorijskim miševima, nazvan West Nile Virus (WNV) (Smithburn i sur., 1940.).

Slavko CVETNIĆ, akademik, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti

Prilagođeno našem Enciklopedijskom rječniku humanog i veterinarskog medicinskog nazivlja možemo ga nazvati zapadnonilski virus, a ZNV rabiti kao domaću kraticu.

Virus pripada RNK virusima, porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, a opisano je nekoliko linija ZNV. Danas je poznato da je proširen u svjetskim razmjerima, kako u ljudi, tako i u mnogih životinjskih vrsta. Madić i sur. serološki su prvi dokazali (2007.) pozitivne konje na ZNV u Hrvatskoj. U novijim stručnim prikazima, koje su napisali Savić (2012.) i Barbić sa suradnicima (2013.) izvrsno su prikazani veterinarski aspekti virusa i bolesti koju on uzrokuje. Danas znamo da se ZNV širi posredstvom ptica koje su rezervoari (selice!), a s njih ga komarci prenose na ljude i životinje. Spoznaja o kojoj se 1938. nije moglo ni naslućivati. Smithburn i sur. (1940.) su pretpostavili mogućnost da virus šire miševi. Njihovi su napori da to potvrde bili uzaludni.

Pokušajmo sada logičnim redom potkrijepiti, sada već višekratno utvrđenim činjenicama, pretpostavku istaknutu u naslovu ovoga članka.

1. MBK pojavila se godinu dana nakon što je u pokrajini West Nile u Ugandi među ljudima harala teška smrtonosna epidemija neurološke bolesti. Tri godine poslije kao uzročnik bolesti dokazan je virus. Odmah je dobio ime West Nile Virus (WNV). Već je tada dokazano da je virus patogen za miša, rhesus majmuna, zamorčića, dikobraza, ali ne i za kunića (Schmidt i Elmansoury, 1963.). Pojedinačni slučajevi bolesti u konja utvrđeni su prvi put u Egiptu, a potom i u Francuskoj u ranim 1960-im godinama (Schmidt i Elmansoury, 1963.).
2. Klinička slika bolesti konja izazvana sa ZNV, pomno opisana u prikazu Barbića i sur. (2013.), poklapa se s onom kod MBK (akutna neurološka

bolest). Trajanje bolesti kao i konačni ishod infekcije – pobol (morbidity), pomor (mortality) i smrtnost (letalitet) - odgovaraju opisanim omjerima u spomenutom prikazu (Barbić i sur., 2013.) i izvornim podatcima koje nam je ostavio Kucel (1938.). Na temeljima današnjih znanja iz epizootiologije možemo reći da se kod MBK radilo o epizootiji ograničenoj na prostor jednoga sela (zajedno s pašnjakom na kojem su konji pasli svake noći i poljima koja su obrađivali, taj prostor možemo ograničiti na kvadrat 10x10 km). Pojave bolesti konja, u kojih je ZNV potvrđen kao uzročnik, isto se tako navode kao ograničene epizootije.

3. Spoznaja o načinu širenju ZNV je temeljna činjenica koja potkrepljuje hipotezu. Virus prenose ptice koje su čest rezervoar (bez ikakvih znakova bolesti). Naročito treba istaknuti ptice selice (!). Komarci prenesu virus s ptica na životinje i čovjeka.
 4. Ornitološki utvrđene činjenice govore da više vrsta ptica selica, kojima je primarno stanište u Africi, proljeće područjem Hrvatske i privremeno ovdje zastaje, upravo u vrijeme godine kada se pojavila MBK – rujan i listopad. (Vidjeti /odličan!/: Atlas selidbe ptica Hrvatske, urednici Jelena Kralj, Sanja Barišić, Vesna Tutiš, Davor Ćiković. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb 2013.).
 5. Po opsegu i karakteru epizootije moguće je da se 1938. godine ZNV prvi put pojavio na našem tlu. Uzročnik je možda pripadao virusnoj liniji za koju čovjek nije primljiv, jer nitko od mještana, kao ni ljudi koji su tada povremeno dolazili u selo nije bolovao.
- Sve navedene činjenice, kolikogod bile logične, samo su podloga za hipotezu. Ipak postoji, iako ne osobito ohrabrujuća mogućnost, da se dokaže virusna

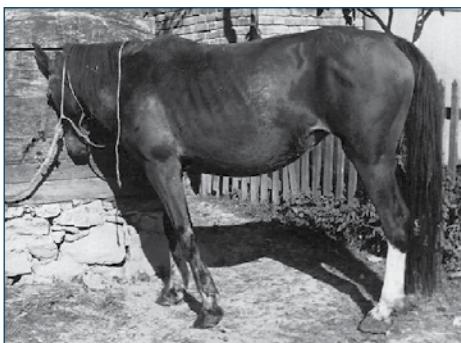
nukleinska kiselina (RNK) u ostacima konja uginulih od MBK. Možda još postoji u Zavodu za Veterinarsku patologiju Veterinarskoga fakulteta u Zagrebu histološki preparat od uginulog konja.



Slika 1. Neprirođeni pokušaj ustajanja (autor: Petar Šimaga, ak. slikar).



Slika 2. Raskrećen položaj nogu i neprirođan položaj glave.

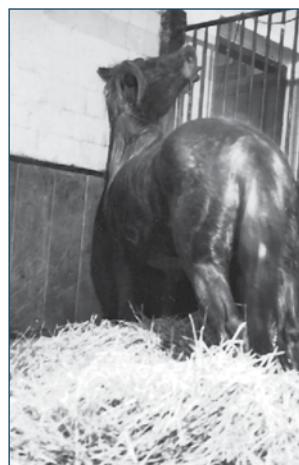


Slika 3. Upiranje glavom u zid.

A mogući „kompot mozga“ pohranjen u Zavodu bio bi neprocjenjiv materijal. Spominjem i posljednju mogućnost, za koju bi trebalo imati arheološke sposobnosti i vještine, da se iz ostataka konjskih lešina na „konjskom groblju“ u Mraclinu dobije početni materijal. Još ima nekoliko mještana koji mogu pobliže locirati to mjesto na istočnom obodu šume Novi gaj, uz zapadni rub Autoceste Zagreb-Sisak.



Slika 4. Nemir i hvatanje ograde zubima.



Slika 5. Izranjavana glava u stadiju krajnjeg nemira životinje.

Sažetak

U rujnu i listopadu mjesecu 1938. godine pojavila se u Mraclinu (Velika Gorica) akutna neurološka bolest konja. Bolest je poprimila odlike ograničene epizootije. Od 440 konja u selu obolilo ih je 198, a 25 je uginulo. Svi su imali gotovo jednake akutne neurološke simptome. Uzrok epizootije nije nikada dokazan. Novija opsežna saznanja o zapadnonilskom virusu (orig. West Nile Virus), koji uzrokuje bolest u ljudi i nekih životinja pa i konja, ponukala su na pretpostavku da je taj virus izazvao "mraclinsku bolest" konja 1938. godine. Sačuvan patološki materijal, ako postoji, mogao bi biti podlogom za rješenje dijagnoze MBK.

Literatura

1. BARBIĆ, IJ., V. STEVANOVIĆ, Z. MILAS, V. STAREŠINA, N. TURK, Z. ŠTRITO MAJETIĆ, J. HABUŠ, M. PERHARIĆ, S. KOVAČ, K. MARTINKOVIĆ, V. MOJČEC PERKO i J. MADIĆ (2013): West Nile virus in Croatia – veterinary aspects. *Hrv. vet. vjes.* 21, 46-54.
2. CVETNIĆ, S. (1989): Mraclinska bolest u svjetlu suvremenih spoznaja o encefalitisima konja. *Vet. stn.* 20, 145-149.
3. CVETNIĆ, S. (2007): Mraclinska bolest konja izbliza. *Hrv. vet. vjesn.* 15, 26-28.
4. KUCEL, J. (1938): Izvještaj o pojavi jedne po kliničkim simptomima Borni (Meningo encephalomyelitis equorum) slične bolesti kod konja na području sreza Veliko Goričkog. *J. V. G.* 18, 501-504.
5. MADIĆ, J., G. SAVINI, A. DI GENNARO, F. MONACO, B. JUKIĆ, S. KOVAČ, N. RUDAN i E. LISTEŠ (2007): Serological evidence for West Nile Virus infection in horses in Croatia. *Vet. Rec.* 160, 772-773.
6. SAVIĆ, V. (2012): Virus Zapadnog Nila. *Vet. stn.* 43, 365-370.
7. SCHMIDT, J. R. and H. K. ELMANSOURY (1963): Natural and experimental infection of Egyptian equines with West Nile Virus. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 57, 415-427.
8. SMITHBURN, K. C., T. P. HUGHES, A. W. BURKE and J. H. PAUL (1940): A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med.* 20, 471-492.

West Nile Virus as a possible cause for the Mraclin Horse Disease

Slavko CVETNIĆ, Academician, Croatian academy of sciences and arts

In September and October 1938, an acute neurological disease appeared in horses in the settlement of Mraclin (Velika Gorica). The disease took on all the characteristics of a limited epizootic event. Of the 440 horses in the village, 198 were affected by the disease, and 25 perished. All the horses had virtually the same acute neurological symptoms. The cause of the epizootic event was never proven.

New comprehensive knowledge of the West Nile Virus, which causes disease in humans and in some animals, including horses, have raised the assumption that this virus was the causative agent for the horse disease of 1938. Preserved pathological material, if any, could be suitable material for obtaining a diagnosis for the Mraclin Horse Disease.

U Milatu je održan jubilarni XX. Kongres europskih veterinara specijalista konjske prakse (FEEVA)



Nikica Prvanović Babić

Ove godine Europska udruga veterinara specijalista konjske prakse (FEEVA) slavi svoju dvadesetu obljetnicu što je svečano obilježeno kombinacijom edukacije (niz kliničkih radionica i predavanja), sajma veterinarske opreme i godišnjeg znanstvenog kongresa FEEVA-SIVE održanih 07.-09. veljače 2014. u Milatu. Domaćin je, kao i obično, bila Talijanska udruga veterinara specijalista

konjske prakse (SIVE) koja već godinama ugošćuje ovaj značajan stručno-znanstveni skup. Predavanja i radionice održavali su se po kliničkim disciplinama i paralelno su obuhvaćala porodništvo, unutarnje bolesti i kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju. Plenarna predavanja bila su posvećena pojavi novotvorevina u konjskoj praksi i suvremenim pristup lječenju istih, kao i pojavi novih,



Slika 1. Sudionici iz Hrvatske s domaćinima skupa predsjednikom i potpredsjednikom SIVE (Talijanskog udruženja veterinara specijalista za konje)

S lijeva na desno: Jelena SELANEĆ, dr. med. vet., dr. sc. Barbara RICCIO, dr. med. vet., potpredsjednica SIVE, Andrea Marcello BRIGNOLO, predsjednik SIVE, dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Nika BRKLJACA BOTTEGARO, dr. med. vet., znanstvena novakinja, univ. mag. spec. Branimir NOVAK, dr. med. vet., Bioinstitut, Čakovec.

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



Slika 2. Prof. dr. sc. Nikica PRVANOVIC BABIC s Klinike za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu s pozvanim predavačem za područje reprodukcije iz Kanade, Klinika za porodništvo i reprodukciju Sveučilišta Langley prof. dr. sc. Juanom C. SAMPEROM DVM, PhD, Dipl. ACT

nespecifičnih oblika otrovanja konja. Pozvani predavači bili su eminentni međunarodno priznati stručnjaci iz područja bolesti i raspolođivanja konja i to: Lawrence R. Bramlage, DVM, MS, Dipl. ACVS, Sveučilište Lexington, Kentucky (SAD), Thomas J. Divers, DVM, Dipl. ACVIM i ACVECC, Sveučilište Cornell, Ithaca New York (SAD), Sue Dyson, MA, VETMB, PhD, DEO, FRCVS, Newmarket (Velika Britanija), Derek Knottenbelt, OBE, DVM&S, Dipl. ECEIM, MRCVS, Sveučilište Liverpool (Velika Britanija), Romain Paillot, Dipl. l'EPHE i AHT, Sveučilište Caen (Francuska), Juan C. Samper, DVM, PhD, Dipl. ACT,

Sveučilište Langley, (Kanada), Stephanie Valberg, DVM, Dipl. ACVIM, Sveučilište Minnesota (SAD) i Pamela A. Wilkins, DVM, MS, PhD, Dipl. ACVIM-LA, Dipl. ACVECC, Sveučilište u Illinoisu (SAD). Na pratećem sajmu veterinarske opreme, lijekova i stručnih knjiga bili su predstavljeni svi vodeći proizvođači i distributeri u zemljama EU.

Kongresu je prisustvalo više stotina praktičara, znanstvenika i sveučilišnih nastavnika iz svih dijelova svijeta, ali prije svega iz Europe, zemalja Bliskog Istoka s razvijenim konjogradstvom, SAD i Kanade. Iz Hrvatske kongresu su nazočili prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić, dr. sc. Nika Brkljača Bottegaro i Jelena Selanec dr. med. vet. s Veterinarskog fakulteta i univ. mag. spec. Branimir Novak, specijalist za velike životinje iz Bioinstituta Čakovec.

Prilikom neformalnog dijela Kongresa održani su sastanci predstavnika Hrvatske, Italije, Francuske, Portugala i Egipta o mogućnostima daljnje suradnje navedenih zemalja na području zajedničke prijave projekata u svrhu očuvanja i zaštite autohtonih i zaštićenih pasmina konja i magaraca. Temeljem zaključaka s navedenih sastanaka logično je očekivati da će se navedena suradnja u budućnosti produbiti na nastavnoj, znanstvenoj i stručnoj razini, jer za to, očigledno, postoji vrlo izražen i postojan interes svih uključenih zemalja.



Slika 3. Jelena SELANEĆ, dr. med. vet. i dr. sc. Nika BRKLJACĀ BOTTEGARO, dr. med. vet. na poster sekciji prezentiraju svoje znanstvene radeve

Ainil je generički ketoprofen koji ima slijedeće indikacije:

Govedo

Protuupalno, analgetsko i antipyretsko 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 obveznu etiološku terapiju;
- Pomoć u liječenju poslijeporodajne pareze pridružene teljenju.

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

Da, 0 dana.

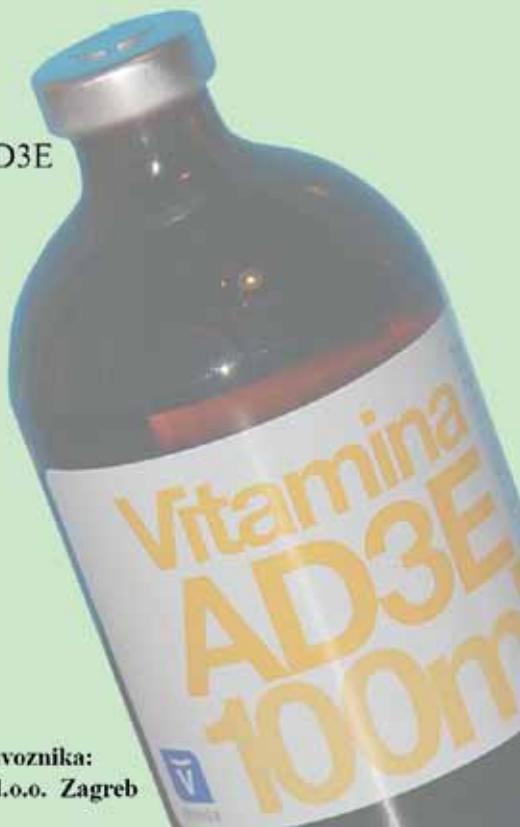


Vitamina AD3E

Visokokoncentrirani liposolubilni vitamini AD3E

Doza za npr. kravu je 5 ml.

Da, 5 ml.



Invesa



Za više informacija kontaktirati uvoznika:

Centralna veterinarska agencija d.o.o. Zagreb

091 46 55 112

091 46 55 113

ABANTEL

ANTIPARAZITARNI
BOLUSI ZA OVCE

NOVO

Visokoučinkovita
dvokomponentna kombinacija
klozantela i abamektina široka
spektra djelovanja protiv
ekonomski najznačajnijih ekto
i endo parazita u ovaca.



ABANTEL 260 mg / 520 mg
bolusi za ovce

Sadžaj 1 bolusa od 260 mg / 520 mg
Klozantel (u obliku klozantel natrija)
250 mg / 500 mg
Abamektin 10 mg / 20 mg



GENERA

Jedna kompanija za Jedno zdravlje

GENERA d.d.

Svetonedelska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok, Hrvatska

Telefon: +385 1 33 88 888 / telefaks: +385 1 33 88 600

e-mail: info@genera.hr / www.genera.hr

www.facebook.com/GeneralInc



SMJERNICE U LIJEĆENJU PASA I MAČAKA

Sophia A. Yin • Ingo Nolte

Prevoditeljice na njemački jezik:
Elinor Switzer i Christiane Fetzer

3. prerađeno na njemački jezik; prevedeno
izdanje.

2013. godina; 944 stranice; format knjige
11 x 18 cm; meki uvez
ISBN 978-3-8993-675-9

Knjiga je dostupna i u elektronskom
izdanju

Cijena: € 59,95 (D) / € 61,60 (A).

U izdanju njemačkog izdavača Schlüterische Verlagsgesellschaft mbH- & Co. KG objavljeno je treće dopunjeno izdanje priručnika o lijećenju pasa i mačaka „Smjernice u lijećenju pasa i mačaka“ autora Dr. Sophie A. Yin s Veterinarskog fakulteta u Davisu, California, SAD i prof. dr. Ingoa Noltea, predstojnika Klinike za kirurgiju i unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Hannoveru, Njemačka. Priručnik je do sada bio samo na engleskom jeziku, ali

schlütersche
Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG

je zbog velikog interesa stručne javnosti, nadopunjeno, reorganiziran i preveden i na njemački jezik. Prof. Nolte je svoje veliko kliničko znanje i iskustvo rado prenio u novo, poboljšano i nadopunjeno izdanje na svom materinjem jeziku, dok su engleski dio, koji je napisala Dr. Sophia A. Yin, vrlo uspješno prevele na njemački jezik i prilagodile Elinor Schwitzer i Christiane Fetzer.

Knjiga je zamišljena tako da pomogne mladim veterinarima i studentima veterine da u kratkom vremenskom roku pronađu potrebnu kliničku informaciju, a dobro će doći i njihovim starijim kolegama koji trebaju precizan podatak vezano za konkretni problem (doziranje lijeka, kontraindikacije, diferencijalna dijagnostika). U svijetu je ova knjiga doživjela pravi „boom“ i prodana je u 30.000 primjeraka, a danas postoji i u on-line izdanju. Knjiga je praktičnog džepnog formata i vrlo je pregledna. Smatra se „zlatnim standardom“ prilikom obrade, dijagnostike i liječenja pasa i mačaka, jer pruža pravovremenu, preciznu i točnu informaciju iz svih područja male prakse. Podijeljena je u 21 poglavlje od kojih je u svakom obilje tabela, grafikona i slika. U knjizi su sljedeća poglavlja: Anesteziologija, Dišni sustav, Bakteriologija, Dermatologija, Endokrinologija, Hranidba, Probavni sustav, Zarazne bolesti, Kardiologija, Klinička patologija i laboratorijska dijagnostika, Neurologija, Hitna veterinarska medicina i intenzivna skrb, Onkologija, Oftalmologija, Ortopedija, Parazitologija, Rasplodivanje, Toksikologija, Urologija, Stomatologija i Citologija. Sva su područja dodatno potkrijepljena pripadajućim tabelama, ilustracijama i grafikonima.

Slike, tabele i dijagrami su pregledni da su upotrebljivi sami za sebe, bez

dodatnog teksta koji ih obrazlaže. To se osobito odnosi na poglavje Anesteziologija gdje je vrlo detaljno i lijepo prikazan anestezioološki monitoring i briga za pacijenta uz detaljna obrazloženja djelovanja pojedinih anestetika. Vrlo je korisno i to što su tablično prikazane koncentracije aktivne tvari u gotovo svim značajnijim preparatima koji se koriste u liječenju pasa i mačaka. Poglavlje o Parazitologiji uz već poznate i opisane parazitarne invazije, vrlo detaljno opisuje i novije spoznaje o dirofilariozi u smislu preporuka međunarodnog udruženja za suzbijanje ove bolesti. Poglavlje koje obrađuje rasplodivanje daje detaljan uvid u procjenu reproduktivne sposobnosti rasplodnih muških i ženskih životinja uz opis najčešćih reproduktivnih poteškoća.

U poglavljima Urologija vrlo su kvalitetno i detaljno opisana sva 4 stadija kronične bolesti bubrega, dok je u poglavljima o probavnom sustavu vrlo pregledno i iscrpno dan diferencijalno dijagnostički pristup i terapija. Uz knjigu je uvršten i popis doza za sve lijekove koji se smiju koristiti u liječenju pasa i mačaka. Osim toga, kupci knjige dobivaju i pristup online izdanju koje sadržava i brojne dodatne informacije kao što su: protokol za obradu neuroloških pacijenata, video materijali za procjenu poremećaja u ponašanju pasa i mačaka te dodatni izvori informacija u smislu preporuke pojedinih članaka i časopisa te njihovi linkovi.

Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ i
Marko SAMARDŽIJA

Praktični dio nastave iz predmeta Stočarstvo



Studenti druge godine studija Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, snimljeni u lipnju 1982. godine na ergeli Ivandvor nedaleko Đakova. To je druga lokacija državne ergele na kojoj je bilo

smješteno matično stado lipicanskih kobila s podmlatkom. Tom prilikom posjetili smo i pastuharnu u središtu Đakova.



U gornjem redu stoje (s lijeva na desno):

Prof. dr. sc. Krešimir MIKULEĆ, Neda BUDIĆ, Stjepan JELAČA, Julijana PRENKA, prof. dr. sc. Franjo SANKOVIĆ, Višnja DOBRENIĆ, Marina BOLFAN, Antonija SMOJVIR, Branka ARTUKOVIĆ, Albert MARINCULIĆ, Sanja BOGDAN, Palma EFENBERGER, Darko MARINAC, Svetozar POZNANOVIC

U donjem redu (sjede ili čuče):

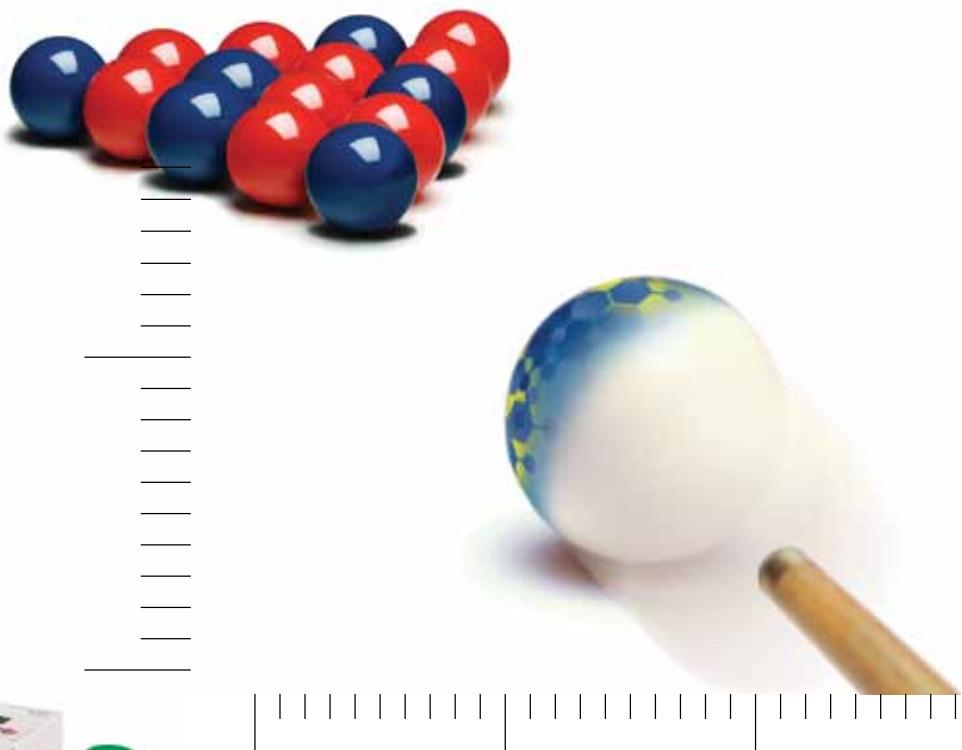
Krešimir LUČIĆ, Vlasta HERAK, neprepoznata kolegica, Vladimir KERKEZ, Marica BOROJEVIĆ, Renata NOVAK, Dijana ČIFARIĆ, Marija ŠPERANDA, Eni JURKOVIĆ-PERIŠA, Bosiljka BEGIĆ, Zdravko MARINOVIC, Ljiljana NOVOSEL

Ispred svih leže:

Mario LUKEŠ, iza njega neprepoznati kolega, Miroslav CVETIĆ

Dr. sc. Vlasta HERAK-PERKOVIĆ, dr. med. vet., Zagreb

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil® Max

enrofloxacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

Sastav: Jedan ml otopine za injekciju Enroxil® Max sadržava 100 mg enrofloxacina.

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 enrofloxacin 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 krmčića i ostalih infekcija čiji su uzročnici osjetljivi na enrofloxacin. Enroxil® Max primjenjuje se u svinja kada kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma, ukazuje da je enrofloxacin lijek izbora.

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

- 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 osvrt 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 prihvativat 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: Lojkic i sur. (1978.); (Vince i sur., 2009.).
 - 9) Sve što se obrađuje mora imati oblik primjereno 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) Išticiemo 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) Oglasavanje 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. ŠIC (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. BRÄNDL, H. LUGINBÜHL, R. FATZER, H. KÖNIG und J. NICOLET: Vorkommen und Bedeutung von Schweinekrankheiten: Analyse eines Sektionsguts (1971 - 1973) Schweiz. Arch. Tieheilk. 118, 105 - 125, 1976).
- 9. sažetak u nekom časopisu:** NORVEL, R. A. I. (1981): The ticks of Zimbabwe. III. *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Zimbabwe Vet. J. 12 (2 - 3) 31 - 35 (Ref. Veterinarstvo, 33, 21, 1983).

Predaja rukopisa:

Jednu kopiju rukopisa zajedno s računalnim zapisom u Microsoft Word programu na CD mediju 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@fef.hr bez tiskanog primjera.

Svaki autor treba navesti:

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

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

Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljivani u časopisu.