

Mogućnost objave članka i na engleskom jeziku

Marko Samardžija



Poštovani čitatelji,

nakon gotovo 9 godina obnašanja dužnosti glavnog urednika časopisa "Veterinarska stanica" zadovoljstvo mi je obratiti vam se uvodnom riječju iznimno značajnog sadržaja povodom izlaska novog broja. Ujedno, ovo obraćanje čini mi čast koja u meni izaziva posebne osjećaje, ponajprije odgovornost, zahvalnost i vjeru u napredak našeg časopisa. Nadasve, čast je to koja u meni izaziva odgovornost prema budućnosti veterinarske struke u cjelini, jer bez publicističke aktivnosti sve ostaje na usmenim predajama, riječima koje tijekom vremena blijede, prepuštene su zaboravu i nestajanju. No oprečno tome, pisana je riječ, zapis ljudskog znanja i umijeća, trag koji trajno ostaje pa je samim time publicistička djelatnost od neprocjenjive vrijednosti. Činjenica jest da je Hrvatska usprkos svim oprečnim tvrdnjama i stavovima o tisućljetnoj civilizaciji, u osnovi društvo sa slabom prosječnom naobrazbom. To bez dvojbe potkrepljuje podatak o jednoznačenkastom postotku građana Hrvatske sa završenim fakultetima čime izdavačka djelatnost u cjelini ima dublje, usudio bih se reći neprocjenjivo značenje za prosperitet, izbjegavanje stagnacije i nazadovanja takvoga društva. Zato jer društvo koje stagnira je društvo bez budućnosti, a mi smo društvo duge i bogate povijesti i tradicije znanja koja svakako čini temelj i preduvjet za optimističnu i prosperitetnu budućnost. Takva vizija budućnosti jest ono što nas sve čvrsto povezuje.

Moderno i napredno društvo se svakako zasniva na znanju pa su visoko

obrazovanje i znanstvena istraživanja postala imperativom društvenog razvoja pojedinaca, zajednice i nacije u cjelini, kao i njezinog kulturnog i gospodarskog napretka. Danas se više nego ikada, svaki oblik edukacije ili znanstvenih i stručnih istraživanja odvija na razini kontinuirane razmjene informacija i ideja pa tu treba tražiti nove mogućnosti. Znanstveni projekti i individualno bavljenje znanošću i strukom te sudjelovanje na velikom broju prestižnih znanstvenih i stručnih skupova rezultiralo je mnoštvom kvalitetnih i značajnih znanstvenih i stručnih radova. No, sva ta nastojanja te izniman trud i znanje, ostale bi bez pravog odjeka kad ti radovi ne bi bili izdavani, bilo u domaćim ili stranim znanstvenim ili stručnim časopisima, udžbenicima, priručnicima, monografijama, bibliografijama i raznim oblicima znanstvenih ili stručnih knjiga i informacija. Dokaz je to da je pisana riječ, zapis ljudskog znanja i umijeća, trag koji trajno ostaje pa je samim time publicistička djelatnost od neprocjenjive vrijednosti.

Časopis "Veterinarska stanica" glasilo je duge i bogate tradicije. Svjetlo dana ugledao je na prijedlog dr. sc. Nikole Fiolica 1. rujna, sada već davne 1970. godine. Temeljna svrha časopisa bila je objavljivati radove koji ponajprije zanimaju doktore veterinarske medicine u terenskoj praksi, ostale djelatnike u veterinarskim stanicama i ambulancama te sve doktore veterinarske medicine koji svoju djelatnost obavljaju u drugim znanstvenim i stručnim institucijama,

Dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

ustanovama i organizacijama. Cilj samog časopisa bio je informirati veterinarsku, ali i širu stručnu i znanstvenu javnost o razvoju i dostignućima veterinarske struke i znanosti u Hrvatskoj. Zamišljen u početku kao stručna publikacija, časopis je evoluirao i danas s punim pravom nosi naziv znanstveno-stručni časopis, sa sve većim naglaskom na njegovom znanstvenom dijelu. U proteklom razdoblju časopis se održavao, povremeno nažalost i stagnirao, ali se i poboljšavao, uređivana su nova poglavlja, a od 1987. godine uz svaki se članak navodi i sažetak na engleskom jeziku. Članci se za tisak odabiru tek nakon provedenog recenzentskog istorazinskog postupka od strane vrsnih domaćih i stranih stručnjaka i znanstvenika iz različitih područja veterinarske medicine, ali i srodnih struka. Sve je to omogućilo da časopis danas bude uvršten u referalne baze podataka kao što su: CAB Abstracts, Index Veterinarius, Veterinary Bulletin, Global Health i Vetmed Resource.

Nakon poteškoća s pronalaženjem financijskih sredstava i mogućnosti održavanja redovitog i pravodobnog izlaženja tijekom 2008. godine zamalo je došlo do prestanka izlaženja „Veterinarske stanice“ s hrvatske publicističke veterinarske scene, ali brigu oko izdavanja časopisa od 1. siječnja 2009. godine preuzima novi izdavač, Hrvatski veterinarski institut (HVI) Zagreb, ponajprije zahvaljujući entuzijazmu i razumijevanju njegova tadašnjeg ravnatelja prof. dr. sc. Željka Cvetnića koji je vrlo dobro znao prepoznati vrijednost i značenje časopisa „Veterinarska stanica“ u hrvatskoj veterini, njegovu dugu i bogatu tradiciju te, usprkos nemalim financijskim sredstvima koje svaki časopis zahtijeva, imao dovoljno sluha i viziju da učini pravi potez, pravodobno donese ispravnu i mudru odluku. Stoga smatram da će budućnost pokazati koliko je značajnu ulogu prof. Cvetnić imao i što je zapravo učinio za časopis „Veterinarska stanica“, hrvatsku veterinarsku publicistiku, a time i veterinarsku znanost i struku u Hrvatskoj. Preuzimanjem

izdavanja časopisa od strane HVI-a došlo je do promjena u sastavu Uredništva, Uredničkog odbora i Uredničkog kolegija. Časopis je redizajniran, kvalitetno opremljen i s povećanim brojem stranica. Tako uređena „Veterinarska stanica“ i dalje je namijenjena znanstvenicima, stručnjacima iz područja veterinarske medicine i srodnih znanosti, ali i veterinarinarima praktičarima. Danas se besplatno šalje na gotovo 1400 adresa u zemlji i inozemstvu. Izlazi 6 puta godišnje s mnogim zanimljivim temama za veterinarsku, ali i srodne struke. Istovremeno, što je smatram jako važno, jest činjenica da su puni tekstovi svih članaka dostupni od 1. siječnja 2009. godine, volumen 40, on-line na mrežnoj stranici HVI-a.

S ponosom mogu istaknuti da u ovoj 2015. godini objavljujemo 46. volumen, a svi sveščići kojih ima 6 godišnje, izlaze pravodobno, što je i ne samo jedan od temeljnih uvjeta da autori steknu povjerenje za moguću objavu njihovih radova u časopisu, već i jedan od glavnih uvjeta da se časopis podvrgne procjeni za uvrštavanje u prestižne, eminentne indeksirane publikacije. Da je to prepoznato, svjedoči opsežan broj rukopisa koje godišnje zaprima Uredništvo časopisa. Istodobno, ne samo da se zavidno povećao broj pristiglih rukopisa već i njihova kvaliteta, što je i logično jer samo najbolji radovi nakon postupka istorazinske recenzije bivaju publicirani. O svemu tome svjedoči iznimno veliki broj pohvala i pozitivnih komentara koje svakodnevno zaprimamo iz svih struktura veterinarske, ali i srodnih djelatnosti. Štoviše, časopis je regionalno pa i šire prepoznat, stoga je međunarodna raznolikost autora iz dana u dan sve izraženija. S ponosom ističem da je posljednjih godina pristigao zavidan broj radova autora iz brojnih europskih država poput: Makedonije, Velike Britanije, Albanije, Irske, Kosova, Francuske, Grčke, Portugala, Srbije, Rumunjske, Bosne i Hercegovine, Njemačke, Slovenije, Španjolske, Turske, Rusije i Poljske što je nesumnjivo

dokaz međunarodne izvrsnosti i prepoznatljivosti časopisa neovisno o jezičnoj barijeri.

Ipak, želim naglasiti da osim redovitog i pravodobnog izlaženja koji časopis treba ispuniti kako bi lakše bio uvršten u prestižne indeksirane publikacije poput SCOPUS, SCI-Expanded i Current Contents, jest i objavljivanje članaka osim na hrvatskom i na engleskom ili nekom od svjetskih jezika. S obzirom da se vremena i prilike u društvu iz dana u dan mijenjaju, važno je biti spreman za promjene koje su glavni preduvjet postizanja visoke kvalitete i kompetitivnosti. Kompetitivnost u nacionalnim, a posebice u međunarodnim razmjerima od iznimnog je značenja u trenucima kada afirmiramo časopis s pozicije s koje ćemo se barem za korak približiti europskoj i svjetskoj kakvoći, odnosno prepoznatljivosti. Stoga je odluka o internacionalizaciji časopisa nužna. To znači da moramo biti svjesni kompatibilnosti i komparabilnosti našeg časopisa s časopisima diljem svijeta, ali istovremeno i očuvati njegove osobitosti i prepoznatljivost kao nacionalnog časopisa. U skladu s tim Uredništvo časopisa odlučilo je da časopis „Veterinarska stanica“ od 1. siječnja 2016. godine postane dvojezičan i da se u njemu objavljuju članci na hrvatskom ili engleskom jeziku. Time smo otvorili put za ulaz u ekskluzivno društvo eminentnih indeksiranih publikacija. Budući da je engleski jezik u našem društvu u širokoj uporabi istodobno nismo izgubili i temeljnu svrhu i cilj samog časopisa, a to je na jednostavan način omogućiti doktorima veterinarske medicine u terenskoj praksi i znanstvenim te stručnim institucijama, ustanovama i organizacijama uvid u nova dostignuća i spoznaje iz područja veterinarske medicine i srodnih struka kako u znanstvenom smislu, ali i što je još možda važnije i mogućnost njihove primjene u veterinarskoj struci. Usprkos svim nedaćama i problemima koji su pratili časopis s osobitim zadovoljstvom

mogu istaknuti da on i dalje ne samo živi i postoji, nego je dostigao visoku znanstvenu i stručnu razinu, prepoznatu u mnogim domaćim i međunarodnim krugovima te ostvario zavidne uspjehe i dobio mnoga priznanja.

Nije upitno da je naš plan i program stalnog unapređenja časopisa vrlo ambiciozan, ali, istinski sam uvjeren ostvariv na veliko zadovoljstvo urednika, članova Uredničkog odbora, a vjerujem i svih koji su na bilo koji način uključeni u hrvatsku veterinarsku publicistiku, bilo da se radi o nastavnicima i znanstvenicima bilo o stručnjacima u terenskoj praksi i različitim ustanovama, organizacijama ili institucijama.

Pred nama je vrijeme velikih izazova, teških, možda i presudnih godina za sve nas, ne misleći pritom samo na veterinarsku publicističku djelatnost nego općenito na veterinarsku struku i društvo u cjelini, jer samo željom za usvajanjem najnovijih spoznaja možemo savladati prepreke pred nama. Smatram da je neprocjenjivo čuvati svoje nematerijalne vrijednosti, tradiciju i kulturnu baštinu, a časopis „Veterinarska stanica“, to svakako jest. Moramo ih njegovati i čuvati zbog nas samih te još više zbog novih generacija koje pristižu, jer kulturna baština kojoj svakako pripada izdavačka aktivnost jednog naroda, zajedničko je bogatstvo i čovječanstva u svojoj raznolikosti i posebnosti, a njezina je zaštita jedan od važnih čimbenika za prepoznavanje, definiranje i afirmaciju kulturnog identiteta.

Za kraj bih istaknuo da su svoje znanje, trud i rad te iskustvo u dosadašnje tiskane sveščice i stranice ovog 46 godina starog časopisa utkali brojni autori, stručnjaci i znanstvenici koji su nas svih ovih godina nesebično podupirali u svakom pogledu, a time obogaćivali i oplemenjivali kvalitetu samog časopisa. Svima iskreno i od srca zahvaljujem na dosadašnjoj suradnji i upućujem iskrene želje za još plodniji nastavak suradnje u cilju prosperitetne budućnosti veterinarske struke i znanosti te našeg cjelokupnog društva.

Distinguished Readers,

It is my pleasure after serving almost 9 years as Editor-in-Chief of the *Veterinarska stanica* journal to have the opportunity to address you with an introductory note containing significant information on the publication of another issue of this journal. This address creates a number of special feelings in me, especially those of responsibility, gratitude and faith in the progress of our journal. In particular, it provokes a sense of responsibility towards the future of the veterinary profession in general, as without publications information can only be disseminated by word of mouth, and such words quickly fade away and fall into oblivion. On the other hand, the written word represents a record of human knowledge and skills, and leaves a permanent trace. Thus, publishing is an activity whose value is priceless. Despite the fact that Croatia has a thousand years of civilisation behind it, it is still basically a society with a low average level of education, which is supported by the statistic that the percentage of Croatian citizens with a university degree is in single figures. This emphasises the fact that publishing activities in general have a deeper and, if I may say, invaluable importance for the prosperity of such a society, so that it can avoid stagnation and regression. A society that has stagnated is a society without a future, but we are a society with a long, rich history and tradition of knowledge, which certainly provides the foundation and prerequisite for an optimistic and prosperous future. Such a vision of the future is what closely connects us all.

A modern and progressive society is based on knowledge, which means that higher education and scientific research have become an imperative in the social development of individuals, communities and the nation as a whole, including its cultural and economic progress. Today, more than ever, any form of education or scientific and professional research

involves the continuous exchange of information and ideas which may lead to new opportunities. Scientific projects and individual scientific research and practice, as well as participation at numerous prestigious scientific and professional conferences, have resulted in a multitude of high-quality and significant scientific and professional papers. However, all these endeavors and extraordinary efforts and knowledge will remain without any real impact if these papers are not published either in national or international academic or professional journals, textbooks, manuals, monographs, bibliographies or other scientific and professional books and works. Again, this is proof that the written word, the record of human knowledge and skills, leaves traces which remain permanently. This is what makes publishing activities in general invaluable.

The journal *Veterinarska stanica* has a long and rich tradition. It was founded upon the suggestion of Nikola Fiolić, DVM, PhD on 1 September 1970. The fundamental purpose of the journal was to publish papers that are primarily of interest to doctors of veterinary medicine in the field, others working in veterinary clinics, and all veterinarians who carry out activities in other scientific and professional institutions and organisations. The goal of the journal was to inform the veterinarians, but also the broader professional and scientific community regarding the development and achievements of the veterinary profession and science in Croatia. At the beginning, the journal was designed as a professional bulletin, but it has evolved and today rightly bears the name of a scientific and professional journal, with an increasing emphasis on its scientific aspect. The quality of the journal has been maintained, and although it has sometimes unfortunately stagnated it has also improved. New editions have

been edited, and since 1987 each article has also contained a summary in English. Articles are selected for publication after evaluation through a peer-review process by leading national and foreign experts and scientists from various fields of veterinary medicine and related fields. This has allowed the journal to be included in referral databases such as: CAB Abstracts, Index Veterinarius, Veterinary Bulletin, Global Health and Vetmed Resource.

After difficulties in finding financial resources and maintaining its regular and timely publication during 2008, publication of *Veterinarska stanica* was nearly stopped. However, since 1 January 2009, the journal has had a new publisher in the shape of the Croatian Veterinary Institute (CVI) in Zagreb. This was primarily due to the enthusiasm and understanding of its former director Professor Željko Cvetnić, DVM, PhD, who recognised the value and significance of *Veterinarska stanica* in Croatian veterinary medicine, and its long and rich tradition. Despite the not insignificant financial resources required to publish each edition of the journal, he had the faith and vision necessary to do the right things and make right and timely decisions. I strongly believe that the future will show how significant a role Professor Cvetnić has played and what he has actually done for *Veterinarska stanica* and Croatian veterinary publications, and so for the veterinary profession and science as a whole in Croatia. CVI taking over the publishing of the journal has resulted in changes in the membership of the editorial board and team. The journal has been redesigned and the number of pages increased. *Veterinarska stanica* is still intended for scientists, experts in the field of veterinary medicine and related sciences, and veterinary practitioners, and is still distributed to almost 1 400 addresses both in the country and abroad. The journal is published six times per year with many interesting topics for veterinary and related professions. At the

same time, which in my opinion is very important, the full texts of all articles since 2009 (volume 1, year 40) are available online on the website of the CVI.

I am proud to point out that in 2015, all 6 issues of the 46th volume will be published without problems and on time. This is not only one of the basic requirements if authors are to have confidence in the possible publication of their work in the journal, but also one of the main conditions for the journal to be assessed for inclusion in leading indexed publications. This can be seen in the large number of papers received annually by the editors. There has not only been an increase in the number of papers received, but also an improvement in their quality, which is logical as only the best papers get through the peer-review process to be published. This is supported by the large number of compliments and positive comments that we receive daily from all areas of veterinary and related activities. In addition, the journal is recognised at the regional level and beyond. As a result, the diversity in the nationality of authors is now more pronounced. I am proud that in recent years a remarkable number of papers have arrived from authors from various European countries, such as Macedonia, the United Kingdom, Albania, Ireland, Kosovo, France, Greece, Portugal, Serbia, Romania, Bosnia and Herzegovina, Germany, Slovenia, Spain, Turkey, Russia and Poland, which undoubtedly proves the international standard and recognition of the journal, regardless of the language barrier.

However, I would like to emphasise that in addition to the requirement of regular and timely publication, which the journal must meet in order to be more easily included in prestigious indexed publications such as Scopus, SCI-Expanded and Current Contents, another important feature is the publication of articles in English or one of the World languages other. Since policies and opportunities in society

are changing from one day to the next, it is important to be prepared for such changes, as this represents the main prerequisite for achieving high quality and competitiveness. Competitiveness at the national and particularly at the international level is of great importance in moving the journal closer to European and global quality and recognition. Therefore, the decision to internationalise the journal is a necessary one. This means that we should be aware of the compatibility and comparability of our journal with journals around the world, but at the same time preserve its characteristics and recognition as a national journal. Accordingly, the editorial board has decided that starting from 1 January 2016 *Veterinarska stanica* will become bilingual and publish articles in either Croatian or English. This will open the way to entry into the exclusive company of leading indexed publications. As English is widely used in our society, particularly in science, as a result of this decision we will not lose the fundamental purpose and scope of the journal, which is to provide veterinarians in the field and in scientific and professional institutions and organisations with an insight into new developments and achievements in the field of veterinary medicine and other related fields both in scientific terms and, perhaps more importantly, their possible application in veterinary practice. Despite all the troubles and problems that the journal has had, I can point out with great pleasure that the journal not only still exists but has reached a high scientific and professional standard, is recognised in many national and international communities, and has achieved remarkable success and received many awards.

There is no question that our plan and programme of continuous improvement

of the journal is very ambitious, but I'm truly convinced that it is feasible, which will be to the great satisfaction of the editors, editorial board members, and I believe to all others who are in any way involved in Croatian veterinary publications, regardless of whether they are university teachers, scientists, experts out in the field or working in various institutions and organisations.

Before us is a time of great challenges and serious, perhaps crucial, years for all of us. This refers not only to veterinary journal work but the veterinary profession in general and society as a whole. Only through the desire to adopt up-to-date knowledge we can overcome the obstacles ahead. I think that it is also vital to safeguard our values, tradition and cultural heritage, and *Veterinarska stanica* is certainly part of this. We need to nurture and preserve, both for ourselves and even more so for the new generations, the cultural heritage which is represented by the publishing activity of a nation, which shows humanity in its diversity and uniqueness, and the protection of which is one of the important factors in the recognition, definition and affirmation of cultural identity.

Finally, I would like to emphasise that numerous authors, experts and scientists have interwoven their knowledge, efforts, work and experience in the printed issues and pages of this 46-year-old journal. They have all these years selflessly supported us in every way, thus enriching the quality of the journal. I would sincerely like to thank all of them for their co-operation so far and give my sincerest wishes for the fruitful continuation of this co-operation in order to attain a prosperous future for the veterinary profession, science and society as a whole.

Rasprava o planu dehelmintizacije pasa (čemu služi i postoji li uopće univerzalni protokol?)

Tatjana Živičnjak



Uvod

Crijevni endoparaziti pasa (posebno invazija askaridima, ankilostomatidima, trihurisima, giardijama i izosporama) su veoma česti (Nolan i Smith, 1995.). Prema nekim istraživanjima, veterinari vlasnicima pasa daju nepotpune ili zastarjele informacije (Schanz, 1994.), a protokol dehelmintizacije pasa najčešće slijede prema uputama proizvođača lijekova (Little i sur., 2009.). Čini se da veliki broj veterinarara nije svjestan značenja endoparazita i njihova zoonotskog potencijala (Stull i sur., 2007.), a to je razlog i da se upitamo što je tome uzrok i može li ovakav tip stručnog članka biti od pomoći.

Zna li se „sve“?

Nije neobičan stav da se o nekoj temi ili problemu „sve zna“. Nije neobično niti da se o tome pojedini ljudi ili interesne skupine u svakom detalju ne slažu. Čak štoviše, katkada svaka skupina ima svoju modifikaciju stava prema problemu. Zaista, kad se govori o dehelmintizaciji pasa, odnosno o njezinoj dinamici (tzv.

plan ili protokol dehelmintizacije), moj je dojam da paralelno kohabira nekoliko skupina od kojih svaka ima svoju modifikaciju. Ne želim ovdje elaborirati stavove laika, odnosno vlasnika pasa, iako se neki uspiju kvalitetno informirati; velika je većina nedovoljno ili krivo informirana i zbunjena, što se u velikoj mjeri može pripisati živahnoj aktivnosti na društvenim mrežama i ostalim internetskim „blagodatima“. Tako „informiran“ vlasnik je sigurno izvor mnogih frustracija veterinarara koji se sa sjetom sjećaju vremena prije interneta. Naime, i vlasnici pasa (posebno uzgajivači), nerijetko imaju samo „svoj“ plan dehelmintiziranja do kojega su došli, prije svega, zato jer nisu dobili upute veterinarara ili ih nisu poslušali, ali su s povjerenjem poslušali preporuke s internetskih foruma.

Definicija plana dehelmintizacije pasa bi podrazumijevala dinamiku primjene, te vrstu i dozu ljekovitog pripravka koji bi nakon pravilne primjene trebao dati veterinarima i vlasnicima pasa sigurnost da pas nema endoparazite.

Dr. sc. Tatjana ŽIVIČNJAK, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

Učinkovito i redovito tretiranje bi trebalo spriječiti nastanak bolesti prouzročene endoparazitima s jedne strane, a također i kontaminaciju okoline s druge strane. Zvuči jednostavno, zar ne?

U biologiji, većina stvari ili ništa nije jednostavno, ali razumljivo je i da je u ljudskoj prirodi težnja pojednostavljivanja rješenja problema. Nažalost, vratimo li se na plan dehelmintizacije, moje mišljenje je da problem nije riješen, a izvjesno je da niti u skoroj budućnosti rješenje neće biti univerzalno.

Nije mi namjera pisati pregledni rad o endoparazitima pasa. Trudit ću se što manje spominjati vrste, jer veterinari praktičari znaju dovoljno o najčešćim endoparazitima pasa. Trudit ću se pojasniti moje osobno mišljenje kao kliničara i parazitologa, gdje je greška ili što se pogrešno interpretira.

Praksa i njezine dubioze

Veliki broj veterinara ne izvodi koprološku parazitološku pretragu, a ne smatra nužnim to tražiti od specijaliziranog laboratorija. Takav stav je možda posljedica postojanja sve većega broja kvalitetnih ljekovitih pripravaka širokog spektra na tržištu (Stull i sur., 2007.).

Prije nego što navedem, po mojem mišljenju, najčešće dubioze, smatram da trebam naglasiti kako je poznavanje epizootologije parazitskih bolesti ključno za njihovo suzbijanje. Važno je vlasnicima redovito i bez da smo pitani, ponavljati koje su preventivne mjere, a tu prije svega mislim na inzistiranje na prehrani termički obrađenim mesom i higijensko-sanitarnim mjerama (redovito uklanjanje izmeta iz nastambi te obvezno skupljanje izmeta na privatnim ili javnim površinama). Kod velikog broja crijevnih parazita, jajašca i oociste nisu invazijski sposobne u trenutku dolaska u vanjsku sredinu izmetom, tako da trenutno

uklanjanje u potpunosti sprječava (re) invaziju. S druge strane, ciste giardija su invazijski sposobne odmah po dolaska u vanjsku sredinu, a jajašca trakavica odmah mogu invadirati posrednika. Veterinar bi trebao vlasnika upozoriti na posljedice i treba inicirati razgovor o zoonotskome potencijalu. Niti u kojem slučaju ne odobravam zastrašivanje ili mistificiranje, ali točna informacija je neophodna.

Nabrajanje i opisivanje dubioza ću započeti citatom teksta iz *Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2015. godini*: „Prilikom cijepljenja pasa protiv bjesnoće mora biti provedena dehelmintizacija pasa protiv trakavice *Echinococcus granulosus*, pripravkom koji sadrži prazikvantel“ (Anonymus, 2013.). Nekoliko je razloga zašto to ne smatram planom (odnosno, zašto ne zadovoljava onaj uvjet da *vrsta, dinamika i doza* štite životinju, ali i okolinu).

Kao prvo, osobno smatram da nije najsretnije rješenje što se aktivna supstancija koje djeluje na *E. granulosus*, odnosno prazikvantel za primjenu kod pasa, može nabaviti samo u obliku tableta (nisu svi vlasnici vični, a niti voljni gurati tablete psu u grlo, nisu niti svi psi kooperativni). Može se postaviti više pitanja: jesu li svi psi dobili svoje tablete? Je li vlasnik, koji je sklon svome psu baciti iznutrice s ehinokokovim (sin. hidatidnim) cistama, spreman stavljati (recimo tornjaku od 50-ak kilograma) ruku u grlo, zna li uopće to, hoće li smišljati načine kako i čime ga prevariti kako bi progutao lijek, što ako ne zna ili se ne usuđuje? Hoće li će se uopće sjetiti tableta kad dođe kući? Koliko je točna procjena tjelesne mase i doza, a često nema vage. Čak i da veterinar ima vagu, volje, vremena (i hrabrosti) to učiniti, postavlja se pitanje: Što je time postignuto? Je li spriječena kontaminacija okoline jajima *E. granulosus* sljedećih godinu dana? Nije. Ako je pas invadiran

s *E. granulosus* on će ih izbaciti (vlasnik, prema Naredbi treba 48 sati skupljati izmet radi sprječavanja kontaminacije okoline; tko to provjerava?). Sljedećega dana, tjedna ili mjeseca, ako dobije (ili sam pronađe odbačene) iznutrice s hidatidama, za dva će mjeseca opet kontaminirati okolinu jajima (Bowman, 2009.). Tko onda može vjerovati da je takva propisana mjera dobra i može li ju se proglasiti sveobuhvatnim planom suzbijanja ehinokokoze?

Ne mislim da postoji jednostavno rješenje, ali mislim da bi moglo postojati *bolje* rješenje. Mislim da bi učinkovitija bila parenteralna aplikacija prazikvantela (stariji se kolege sjećaju, takav je pripravak postojao na našem tržištu do prije 15-ak godina, a na svjetskom tržištu još postoji).

Bez obzira na oblik pripravka, mislim da bi bilo opravdano postići konsenzus struke o tome kojim bi psima trebalo davati pripravak s prazikvantelom svakih osam tjedana. Prema Naredbi ga mora dobiti svaki pas (a velika većina dobiva termički obrađenu ili komercijalnu hranu). Za pse koji su u prilici sami pronaći ili dobiti iznutrice s vitalnim hidatidama (općenito ruralna područja, često pastirski/ovčarski psi; ne treba zanemariti niti trend prehrane sirovim mesom, tzv. BARF-om), ne postoji čak niti mogućnost kontrole jesu li svi dobili lijek (i progutali). Edukacija svih vlasnika (a bolje da to radi naša struka nego internetski forumi) bi trebala biti prioritet u suzbijanju ehinokokoze.

Na našem tržištu pripravak s prazikvantelom najčešće sadrži još dva antihelmintika (obično pirantel i febantel pamoat/embonat). Radi se o kvalitetnim i djelotvornim, po pravilima struke registriranim pripravcima, ali nažalost, mnogi su vlasnici uvjereni da je s cjepivom protiv bjesnoće životinja i djelotvorno „očišćena“ od svih parazita (valjda godinu dana unaprijed?!), a moj je dojam da ih mnogi veterinar ni ne razuvjeravaju. Vlasnici bi trebali dobiti

informaciju da se naređena mjera odnosi samo i jedino na ehinokoku i da jednokratno davanje tableta uz cijepljenje ne rješava problem endoparazita godinu dana unaprijed.

Što se ostalih endoparazita pasa tiče, nakon dvadesetak godina iskustva s oralnom primjenom pripravaka širokoga spektra, koji pored prazikvantela sadrže pirantel i febantel (a koja je uvijek bila popraćena kontrolnom koprološkom pretragom nakon liječenja), mnogo smo se puta osvjedočili kako ne možemo biti sigurni da je jednokratno davanje (sa ili bez ponavljanja kroz 14 dana) uvijek učinkovito. Iako se radi o djelotvornim pripravcima širokog spektra, jednostavnim za doziranje i primjenu, (iznenađujuće je da neki veterinar ne prouče priložene tabele doziranja!), mi znamo da u liječenju trihuroze psa na primjer, najčešće nije moguće jednokratnom aplikacijom postići negativan nalaz koprološke pretrage. Pokušajima i pogreškama smo došli do broja od najmanje tri uzastopna dana (uz obvezni kontrolni pregled kroz tjedan ili dva). Često smo bili svjedoci nalaza velikog broja jaja parazita kod psa koji nisu imali nikakvih zdravstvenih problema, ali tablete je u propisanoj dozi dobio jednokratno prije tjedan ili dva (često tijekom akcije suzbijanja ehinokokoze propisane Naredbom). Zbog poznavanja razvojnog ciklusa i duljine prepatentnog razdoblja, sa sigurnošću smo mogli odbaciti recentniju invaziju, odnosno reinvaziju.

Neki (ne svi!) proizvođači navedenih pripravaka preporučuju „redovitu dehelmintizaciju“ pasa svaka 3 mjeseca tijekom cijele godine, a u slučaju „teških invazija“ (kako je to ustanovljeno?) ponoviti za 14 dana. Mnogi se veterinar pridržavaju takvih priloženih uputa i to predlažu vlasnicima. Takva primjena ne nosi mnogo dobrog i ako uopće donosi bilo kakav benefit. Naime, to ima barem četiri neželjene posljedice:

- Vlasnik i veterinar su uvjereni da je

životinja, ako je i imala „neke parazite“ izliječena čim je dobila lijek i smatraju da ne treba o parazitima razmišljati sljedeća tri mjeseca.

- Ako životinja nije imala parazite, trošak je bio uzaludan. Ako je životinja invadirana izosporama, primijenjen je pogrešan lijek.
- Ako je životinja imala parazite za koje nije dovoljno jednokratno davanje lijeka (već spomenuti trihurisi i giardije, kao najčešći) i dalje ih ima (možda manje, ali i dalje kontaminira okolinu), dolazimo i do problema rezistencije.
- Tri mjeseca je u stvari vrlo dugo razdoblje (i nije mi jasno zašto baš tri?). Naime, prepatentno razdoblje kod većine gastrointestinalnih helminata pasa se kreće u rasponu od 2-4 tjedna, kod *E. granulosus* iznosi 2 mjeseca, jedino kod trihurisa je dulje od 3 mjeseca. Navedeni ljekoviti pripravci (benzimidazoli s prazikvantelom ili bez) ne djeluju preventivno (Bowman, 2009.). Kod giardija prepatentno razdoblje traje oko pet dana (osjetljiva je i na kombinaciju prazikvantel/pirantel/febantel i proizvođači lijekova koji su ih registrirali i za tu indikaciju, preporučuju 3 uzastopna dana liječenja). Giardiozu nije jednostavno dijagnosticirati, a i inače ju je relativno teško izliječiti iako psi ne moraju imati proljev; radi se o endoparazitu zoonotskoga potencijala. Što se postiže jednokratnim (napamet) davanjem svaka tri mjeseca, osim eventualno rezistencije i nastavka kontaminacije okoline?

Rješenje?

Jednostavno (i jeftino) rješenje nažalost ne postoji. Neki autori preporučuju koprološku pretragu jednom mjesečno ili aplikaciju pripravka s prazikvantelom i makrocikličkim laktonom registriranim

za primjenu kod pasa jednom mjesečno, ali uz povremene kontrole koprološkom pretragom (Little i sur., 2009.). Sve raširenija primjena makrocikličkih laktona omogućuje pojednostavljanje dehelmintizacije (djeluju i profilaktički, što nije slučaj s benzimidazolskom skupinom), ali makrociklički laktoni nemaju nikakvog učinka na protozojske invazije, niti na trakavice. Treba imati na umu da nema univerzalnog lijeka niti doze i teško da će ga ikada biti. Veterinar bi morao pronaći vremena da to objasni vlasnicima pasa. Smatramo da u našim uvjetima dinamiku provedbe koprološke pretrage moguće prilagoditi vlasnicima, jer je i jednom godišnje bolje nego nikada. Jednako je važno kontrolnu koprološku pretragu napraviti po prestanku liječenja (unutar prepatentnog razdoblja, kako reinvazija ne bi bila zamijenjena s neučinkovitošću).

Isto tako, mi koprološku pretragu preporučujemo uvijek provesti i u slučaju nekih patoloških stanja (proljeva, anemije, hipoproteinemije, nalaza krvi i/ili sluzi u izmetu, itd.) te prije većih operativnih zahvata, parenja, većeg putovanja, napora, itd.

Plan dehelmintizacije štenadi

Pokušala sam argumentirati kako ne postoji univerzalan plan dehelmintizacije (radi se o najčešće pogrešno tumačenoj odredbi iz Naredbe ili o previše doslovno prihvaćenim pojednostavljenim uputama proizvođača ljekovitih pripravaka).

Međutim, moram priznati da se jedan plan dehelmintizacije ipak provodi (podrazumijeva djelotvorni pripravak, dinamiku, dozu). Čak bi se moglo reći da se radi o profilaksi: radi se o planu dehelmintizacije štenadi.

Štenad dolazi na svijet invadirana askaridima (dormantne ličinke oblića *Toxocara canis* iz tkiva kuje u posljednjoj trećini gravidnosti budu mobilizirane i putuju preko posteljice u fetus), a manji dio ličinaka štenad dobije mlijekom

poslije porođaja (Bowman, 2009.). Štenad u dobi od tri tjedna počinje izlučivati jajašca i kontaminirati okolinu pa treba redovito provoditi dehelmintizaciju prije spolne zrelosti parazita, kako bi se spriječila kontaminacija okoline jajima (ne sprječava se invazija, ona je izvjesna).

Preporuka je početi tretirati štenad već u dobi od 14-17 dana starosti, bilo kojim dostupnim ljekovitim pripravkom registriranim za štenad i navedenu indikaciju (uputno je dehelmintizirati tada i kuju). Štenad treba tretirati svakih 14 dana do navršena 3-3,5 mjeseca. Nakon toga još barem dva puta u intervalu od mjesec dana (Stull i sur., 2007.). Kod primjene makrocikličkih laktona tretman se ponavlja jednom mjesečno, barem do dobi od šest mjeseci. Ovo je učinkovita i jednostavna metoda kojom se prije svega sprječava (ili barem znatno smanjuje) kontaminacija okoline jajima (*T. canis* može prouročiti visceralnu *larvu migrans* kod ljudi nakon ingestije invazijskog jaja), a time sprječava i oralnu reinvaziju te nakupljanje velikog broja oblića u crijevu, što za posljedicu može imati teške posljedice po zdravlje štenadi, uključujući i ileus. Opisanim se protokolom kod štenadi uspješno suzbijaju invazije i jednim drugim askaridom - obličem *Toxascaris leonina* te ankilostomatidima, ali se ne rješava trihuroza (osim ako nisu primjenjivani makrociklički laktoni), a uopće ne izosporoza i giardioza (koji su česti, nisu vidljivi prostim okom i jedino ih se parazitološkom pretragom može dokazati).

U pasa (posebice mužjaka) starijih od 6 mjeseci je patentna toksokaroza relativno rijetka (ali nije nemoguća), (Blagburn i sur., 2008.), a umjesto rutinske dehelmintizacije „napamet“, preporučujemo raditi koprološku pretragu rutinski barem jednom godišnje, svakako u slučaju patoloških stanja, odnosno već prije navedenih indikacija.

Zaključci

Nije mi bila namjera raspravljati o dostupnim ljekovitim pripravcima na tržištu. Smatram da su svi registrirani ljekoviti pripravci djelotvorni, ali isto tako smatram da bi veterinari mogli i trebali baratati s više informacija nego što se nalazi u priloženim uputama uz lijek. Davanje dodatnih informacija je bila isključiva namjena ovoga teksta.

Na kraju, moram priznati da osobno preferiram, već iščezle s tržišta monopreparate (smatram da liječenje prema konkretnome nalazu uvijek treba slijediti dijagnostiku), ali jasno mi je da farmaceutska industrija ima drugačije viđenje problematike.

Sažetak

Iako su endoparaziti pasa česti, a neki su i značajni patogeni zoonotskoga potencijala, neki veterinari nisu svjesni kako ne postoji jedinstven, univerzalni plan dehelmintizacije. Iako postoji čitava paleta ljekovitih pripravaka širokoga spektra, niti jedan od njih nije djelotvoran protiv svih parazita. Veterinari trebaju biti svjesni da plan suzbijanja toksokaroze štenadi (koji uključuje i toksaskarozu i ankilostomatidozu) prevenira kontaminaciju tla jajima, a provedbu treba započeti u dobi od 14.-17. dana starosti. Veterinari trebaju biti svjesni da se dinamika liječenja i doza lijeka moraju primijeniti sukladno parazitološkom nalazu. Idealan bi plan podrazumijevao periodično tretiranje bazirano na parazitološkome nalazu, bez obzira je li životinja obuhvaćena profilaksom ili nije.

Ključne riječi: pas, protokol dehelmintizacije

Literatura

1. Anon. (2013): Zakon o veterinarstvu, Narodne novine, 82/13.
2. BLAGBURN, B. L., R. SCHENKER, F. GAGNE and J. DRAKE (2008): Prevalence of intestinal parasites in companion animals in Ontario and Quebec, Canada, during the winter months. Vet. Ther. 9, 169-175.
3. BOWMAN, D. D. (2009): Georgis' Parasitology for Veterinarians. 9th ed., W. B. Saunders Elsevier, St. Louis, p. 451.

4. LITTLE, S. E., E. M. JOHNSON, D. LEWIS, R. P. JAKLITSCH, M. E. PAYTON, B. L. BLAGBURN, D. D. BOWMAN, S. MOROFF, T. TAMS, L. RICH and D. AUCOIN (2009): Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Vet. Parasitol.* 166, 144–152.
5. NOLAN, T. J. and G. SMITH (1995): Time series analysis of the prevalence of endoparasitic infections in cats and dogs presented to a veterinary teaching hospital. *Vet. Parasitol.* 59, 87–96.
6. SCHANTZ, P. M. (1994): Of worms, dogs, and human hosts: continuing challenges for veterinarians in prevention of human disease. *JAVMA* 204, 1023–1028.
7. STULL, J. W., A. P. CARR, B. B. CHOMEL, R. D. BERGHAUS and D. W. HIRD (2007): Small animal deworming protocols, client education, and veterinarian perception of zoonotic parasites in western Canada. *Can. Vet. J.* 48, 269–276.

Discussion About Deworming Schedule in Dogs; What is Purpose of the Schedule and Does Universal Protocol is Applicable?

Tatjana ŽIVIČNJAK, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Despite the high prevalence of endoparasites in dogs, and the significant public health risk they pose, some veterinarians are not aware that there is no universal deworming protocol. This is further complicated by the fact that among the entire range of broad spectrum products, none are effective against all parasites. Veterinarians should know that the routine deworming schedule for toxocariosis (comprising also toxascariosis and ancy-

lostomatidosis) in puppies prevents soil contamination and begins at an age of 14–17 days. Veterinarians also should be aware that the schedule and dosing recommendations must be adjusted according to the coproscopic parasitological laboratory findings. An ideal protocol should include periodic faecal examination-based treatments, regardless of whether prophylactic measures are applied or not.

Key words: *dog, deworming protocols*

Udio masti i sastav masnih kiselina u kokošjim jajima hrvatskih proizvođača

Tina Lešić, Ana Vulić, L. Cvetnić, Nina Kudumija,
M. Škrivanko i Jelka Pleadin



Uvod

Jaja predstavljaju jedan od najboljih i najjeftinijih izvora visokokvalitetnih proteina te značajan i izbalansiran izvor različitih vitamina i minerala u odnosu na njihovu nisku kalorijsku vrijednost. Povećana potrošnja posljednjih desetljeća diljem svijeta pokazuje da jaja predstavljaju jednu od najznačajnijih vrsta namirnica u svakom domaćinstvu. Poznato je da obogaćuju ljudsku prehranu s esencijalnim nutrijentima, kao što su: folati, selen, željezo te vitaminima A i B₁₂ (Kassis i sur., 2010.). Žumanjak uklopljen u bjelanjku jajeta sastoji se od približno 48% vode, 16% bjelancevina, 33% masti, 1% ugljikohidrata i 1% mineralnih tvari, dok se masti žumanjka sastoje od 65,5% masnih kiselina, 28,3% fosfolipida i 5,2% kolesterola (Trpčić i sur., 2010.).

Međutim, budući da jaje sadrži otprilike 200 mg kolesterola (Weggemans i sur., 2001.) već se konzumacijom jednog jaja dosegne vrijednost najveće preporučene dnevne količine kolesterola unesenog hranidbom. Utvrđeno je da se od ukupnih masti u jajetu manje

od polovice odnosi na zasićene masne kiseline, koje se povezuju s bolestima krvožilnog sustava (Hu i sur., 1999.). Stoga se posljednjih nekoliko godina, putem brojnih studija, analizira sastav masnih kiselina jaja dobivenih na komercijalnim farmama i predviđenim za plasman na tržište, s tendencijom smanjena količine zasićenih, odnosno povećanja količine nezasićenih masnih kiselina, varirajući pritom odnos omega-3 i omega-6 masnih kiselina.

Omega-3 masne kiseline spadaju u skupinu hranjivih tvari čijom je konzumacijom moguće postići brojne zdravstvene dobrobiti, napose po srčanožilni sustav. Osim smanjenja pojavnosti i učestalosti srčanožilnih bolesti, konzumacija omega-3 masnih kiselina dovodi do smanjenja krvnoga tlaka, smanjenja razina triglicerida i biljega upale, a ujedno pospješuje i funkciju endotela, smanjuje nakupljanje trombocita i vazokonstrikciju te smanjuje rizik od nagle srčane smrti (Juturu, 2008., Kang, 2011., Lemahieu i sur.,

Tina LEŠIĆ, mag. ing. mol. biotehnol., dr. sc. ANA VULIĆ, dipl. ing. preh. tehnol., znanstvena suradnica, Luka CVETNIĆ, dr. med. vet., asistent, dr. sc. NINA KUDUMIJA, dipl. ing. preh. tehnol., stručna suradnica, dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, naslovna docentica, Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Mario ŠKRIVANKO, viši znanstveni suradnik, naslovni docent, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Vinkovci, Hrvatska

2013.). Nedavno provedena istraživanja pokazuju da se unosom primjerenih količina polinezasićenih omega-3 masnih kiselina, napose onih koje se nalaze u ribi ili ribljem ulju, poput eikozapentanoične (EPA) i dokozaheksanoične kiseline (DHA), optimizira zdravstveno stanje i sprječava razvoj tih bolesti (Kang, 2005., Fraeye i sur., 2012.).

Sadržaj i profil masnih kiselina u peradarskim proizvodima ovise o sastavu masnih kiselina iz hrane koja se koristi tijekom hranidbe. Na našim prostorima, osim kokošnjih, gotovo da u širokoj prodaji i nema jaja drugih vrsta peradi. Smjese koje se najčešće koriste u tovu pilića uobičajeno se baziraju na krmivima s visokim sadržajem zasićenih masnih kiselina, u odnosu na nezasićene masne kiseline (Kralik i sur., 2012.). U Hrvatskoj su suncokretovo i repičino ulje najčešće korišteni kao dodatci u hranidbi kokoši, što u konačnici djeluje nepovoljno na omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina (Škrtić i sur., 2007.). S obzirom na činjenicu da se optimizirajući prehranu i izvor masnih kiselina u hranidbi životinja može poboljšati sastav masnih kiselina u peradarskim proizvodima, mesu i jajima, istraživanja su usmjerena na obogaćenje jaja s omega-3 masnim kiselinama (Kassis i sur., 2010., Lawlor i sur., 2010.). Poznato je da su riblje brašno i ulje bogati izvori esencijalnih omega-3 masnih kiselina EPA i DHA, međutim i da veći udio ribljeg ulja u hrani za kokoši nesilice također može dovesti do negativnih organoleptičkih svojstava jaja (Scheideler i sur., 1997.) pa se stoga alternativno koriste laneno i repičino ulje u kombinaciji s ribljim (Kralik i sur., 2007., Škrtić i sur., 2007.).

Cilj ovog rada bio je utvrditi udjel masti i sastav masnih kiselina kokošnjih jaja s hrvatskog tržišta te ujedno ispitati razlike među proizvođačima i utjecaj godine proizvodnje na navedene parametre.

Materijali i metode

Uzorci i priprema uzoraka

Uzorci kokošnjih jaja (n=26) nabavljeni su tijekom 2014. i 2015. godine, po različitim proizvodnim serijama tri hrvatska proizvođača jaja. Reprezentativni uzorak za analizu predstavljao je uzorak od 10 komada jaja iz komercijalnog pakiranja.

Priprema uzoraka za analizu uključivala je uklanjanje ljuske jajeta te homogenizaciju jaja mućkanjem. Iz svježe pripremljenih uzoraka određivan je udio ukupne masti. Ekstrahirane masti čuvane su u hladnjaku na -18 °C do analize sastava masnih kiselina, provedene unutar 72 h.

Standardi i reagensi

Standardna otopina 37 metilnih estera masnih kiselina koncentracije 10 mg/mL pripremljena je otapanjem standarda Supelco™ 37 Component FAME Mix (Bellefonte, Pennsylvania, SAD) u heksanu. Tako pripravljena otopina čuvana je u ledenici na -20 °C i korištena prilikom svake analize.

Ultra čista voda elektrolitičke provodljivosti $\leq 0,05 \mu\text{S/cm}$ dobivena je uređajem Direct-Q 3 UV (Merck, Darmstadt, Njemačka). Petroleter, klorovodična kiselina (37%) i kalij hidroksid bili su analitičke čistoće (Kemika, Zagreb, Hrvatska), dok su otapala heksan i metanol bili HPLC čistoće (J. T. Baker Derventer, Nizozemska).

Verifikacija metoda

Verifikacija analitičkih metoda provedena je kroz određivanje parametra istinitosti, pri čemu su korišteni certificirani referentni materijali (CRM): za određivanje ukupne masti CRM T0149 (Fapas, Engleska) te za određivanje sastava masnih kiselina BCR-163 (Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgija) s certificiranim udjelom sedam

pojedinačnih masnih kiselina. Uzorci CRM analizirani su u šest replika te su dobivenesrednjevrijednosti uspoređivane s certificiranim vrijednostima određenim od strane proizvođača, a prema kriterijima definiranim Pravilnikom o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. 2/2005) te kriteriju ponovljivosti ($\Delta \leq 0,5\%$).

Analiza udjela masti

Udjel ukupne masti određen je gravimetrijskom metodom po Soxhletu koja uključuje razlaganje uzorka kiselinskom hidrolizom (4N klorovodična kiselina) uz kuhanje, filtraciju dobivenog sadržaja i ekstrakciju petroleterom pomoću uređaja Soxtherm 2000 Automatic (Gerhardt, Njemačka). Slijedilo je sušenje u sušioniku EPSA 2000 (Bari, Hrvatska) te vaganje ekstrahirane masti. Uzorci su analizirani u dvije paralele, uz uvjet da udovoljavaju kriteriju ponovljivosti $\Delta \leq 0,5\%$. Rezultat udjela masti izražen je kao srednja vrijednost u postotku (%) mase, s preciznošću od 0,01%.

Priprava metilnih estera masnih kiselina

Metilni esteri masnih kiselina pripremljeni su prema normi HRN EN ISO 5509:2000. Odvagano je 100 mg ekstrahiranog uzorka masti, dodano 10 mL heksana i mučkano dok se sva mast ne otopi (HS260 control, IKA Werke GmbH & Co. KG, Njemačka). Zatim je dodano 200 μ L 2N metanolne otopine kalij hidroksida (bazno katalizirana transesterifikacija). Uzorci su mučkani 30 s, a nakon toga centrifugirani 15 min. pri 3000 rpm i temperaturi od 15 °C (320AR, Hettich, Njemačka). Prije injektiranja u plinski kromatograf, 200 μ L uzorka je filtrirano kroz PTFE filter od 0,2 μ m.

Analiza metilnih estera masnih kiselina GC-FID metodom

Pripravljene metilni esteri masnih kiselina analizirani su plinskom

kromatografijom (HRN EN ISO 5508:1995) pri čemu je korišten plinski kromatograf 7890B (Agilent Technologies, Lake Forest, SAD) s kapilarnom kolonom DB23 dužine 60 m, promjera 0,25 mm te debljine sloja nepokretne faze 0,25 μ m (Agilent Technologies, Lake Forest, SAD), split-splitless injektorom (temperatura 250 °C) i plameno-ionizacijskim detektorom (temperatura 280 °C). Uzorak (1 μ L) je injektiran uz omjer razdijeljena 1:50. Početna temperatura kolone bila je 130 °C, nakon 1 min. programirano je povećavana brzinom od 6,5 °C/min. do 170 °C/min., zatim je brzinom od 2,75 °C/min. grijana do 215 °C, uz zadržavanje od 12 min., a nakon toga se ponovno brzinom od 40 °C/min. zagrijavala do 230 °C uz zadržavanje od 3 min. Plin nositelj bio je helij uz protok od 43 cm/s (konstantni tlak). Protok vodika bio je 40 mL/min., zraka 450 mL/min., a dušika 30 mL/min.

Metilni esteri masnih kiselina identificirani su usporedbom s vremenom zadržavanja (engl. *retention time*) 37 metil estera masnih kiselina standardne smjese analizirane pri istim uvjetima. Rezultat je izražen kao postotak (%) pojedine masne kiseline u odnosu na ukupno određene masne kiseline. Granica detekcije metode (LOD) bila je 0,1%.

Statistička analiza

Statistička analiza rezultata provedena je primjenom računalnog programa SPSS Statistics 20.0 (SPSS Inc., SAD). Za ispitivanje razlike u udjelu masti i masnih kiselina jaja između različitih proizvođača te utjecaja godine proizvodnje na spomenute parametre, primijenjeni su one-way ANOVA i independent sample T-test. Statistički značajne razlike izražavane su na razini vjerojatnosti $\leq 0,05$.

Rezultati i rasprava

U ovom istraživanju korištene analitičke metode prethodno su verificirane kroz određivanje parametra istinitosti (Tabela 1). Kriterij prihvatljivosti za pojedinu masnu kiselinu izračunat je na temelju kriterija za dokazivanje istinitosti kvantitativnih metoda prema Pravilniku (N.N. 2/2005) koji kaže da za udio mase $>10 \mu\text{g/kg}$ dopušteno odstupanje iznosi -20% do $+10\%$.

Usporedbom dobivenih rezultata s označenim vrijednostima CRM i kriterijima o ponovljivosti rezultata analiza zadanim Pravilnikom (N.N. 2/2005), metode primijenjene u ovom istraživanju mogu se smatrati prihvatljivim za određivanje udjela ukupne masti i sastava masnih kiselina.

Na grafikonu 1. prikazane su određene srednje vrijednosti udjela ukupne masti u kokošjim jajima različitih proizvođača s hrvatskog tržišta, koje su iznosile redom: $9,15 \pm 0,07\%$ (proizvođač 1); $8,30 \pm 1,41\%$ (proizvođač 2) i $8,55 \pm 0,71\%$ (proizvođač 3). Statističkom obradom nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$) u udjelu masti između tri proizvođača. Prema National Food Institute - DTU (Technical University of Denmark) u cijelom sirovom kokošjem jajetu udio

masti iznosi $9,9 \text{ g/100 g}$ uzorka, što je slično dobivenim rezultatima, iako s nešto većim udjelom. Ranija istraživanja govore da se gotovo sva mast jaja nalazi se u žumanjku te da masti žumanjka od masnih kiselina pretežno čine oleinska, palmitinska, stearinska i linolna te fosfolipidi (lecitin) i kolesterol (Trpčić i sur., 2010.).

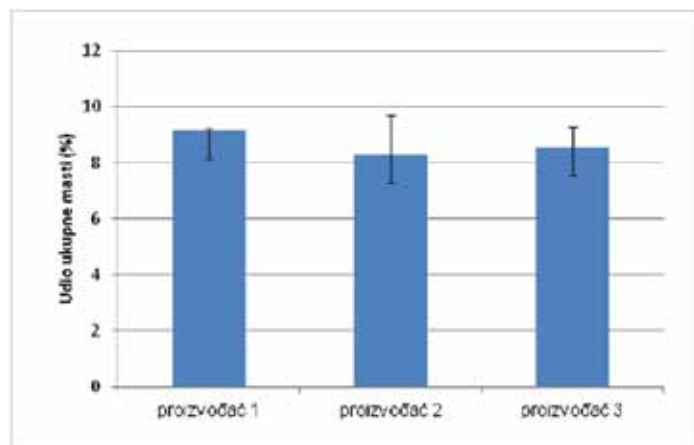
Prosječan sastav masnih kiselina jaja s hrvatskog tržišta, prema proizvođačima prikazan je u tabeli 2, dok su na grafikonu 2 prikazani udjeli skupina masnih kiselina: zasićenih (SFA), mononezasićenih (MUFA) i polinezasićenih (PUFA). Rezultati analize sastava masnih kiselina uspoređeni su sa standardnom smjesom metilnih estera masnih kiselina koja sadrži 37 komponenti od C4:0 do C22:6n3 te je identificirano od 13-16 masnih kiselina, ovisno o proizvođaču jaja. Iz tabele 2 vidljivo je da se profil masnih kiselina razlikuje po proizvođačima jaja, ali statistički značajna razlika ($p < 0,05$) među proizvođačima utvrđena je samo za skupinu MUFA, dok je za ostale skupine masnih kiselina – SFA, PUFA, omega-6, omega-3 te omjere PUFA/SFA i omega-6/omega-3 utvrđeno da nema statistički značajnih razlika ($p > 0,05$).

Rasponi prosječnih vrijednosti udjela pojedinih grupa masnih kiselina

Tabela 1. Rezultati određivanja parametra istinitosti pri verifikaciji analitičkih metoda

Parametar	Označena vrijednost CRM-a (%) ^a	Dobivena vrijednost (%) ^b	Kriterij prihvatljivosti za masne kiseline (%) ^c
Ukupna mast	2,12–2,87	$2,52 \pm 0,01$	/
C14:0	$2,29 \pm 0,04$	$2,35 \pm 0,003$	1,83–2,52
C16:0	$25,96 \pm 0,30$	$27,53 \pm 0,032$	20,77–28,56
C16:1	$2,58 \pm 0,16$	$2,15 \pm 0,004$	2,06–2,84
C18:0	$18,29 \pm 0,17$	$19,88 \pm 0,047$	14,63–20,12
C18:1n9c	$38,30 \pm 0,40$	$37,65 \pm 0,069$	30,64–42,13
C18:2n6c	$7,05 \pm 0,17$	$7,07 \pm 0,020$	5,64–7,76
C18:3n3	$0,86 \pm 0,14$	$0,77 \pm 0,007$	0,69–0,95

^a Označena vrijednost CRM-a dana je kao raspon za ukupni udio masti te kao srednja vrijednost $\pm$ mjerna nesigurnost za udio pojedinih masnih kiselina, ^b dobivena vrijednost izražena je kao srednja vrijednost $\pm$ SD, ^c kriterij prihvatljivosti izražen je kao raspon od -20% do $+10\%$ u odnosu na označenu vrijednost



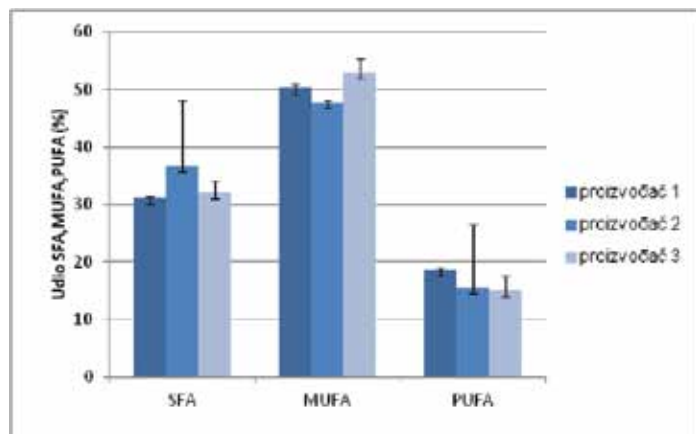
Grafikon 1. Grafički prikaz udjela ukupne masti (%) u jajima s hrvatskog tržišta prema proizvođačima

utvrđenih za proizvođače padajućim redoslijedom bili su sljedeći: MUFA $47,79 \pm 0,25\%$ - $52,89 \pm 2,54\%$ > SFA $31,14 \pm 0,16\%$ - $36,72 \pm 11,28\%$ > PUFA $15,02 \pm 2,43\%$ - $18,58 \pm 0,51\%$. Najzastupljenije pojedinačne masne kiseline bile su oleinska (18:1n9c), palmitinska (16:0) i linolna (18:2n6c). Ovakav trend pronađen je i među drugim literaturnim podatcima (Škrtić i sur., 2007., DTU, Woods and Fearon, 2009.). Samman i sur. (2009.) analizirali su jaja iz konvencionalnog uzgoja kupljenih u supermarketu, pri čemu je u prosjeku udio SFA činio 33,8% ukupnih masnih kiselina, MUFA 50%, a PUFA 16,3%, a što je u skladu i s podatcima dobivenim u ovom istraživanju.

Analizom jaja utvrđen je puno veći udio omega-6 ($14,39 \pm 2,14\%$ - $18,15 \pm 0,60\%$) u odnosu na omega-3 ($0,28 \pm 0,25\%$ - $0,45 \pm 0,18$) masne kiseline. Dominantnost omega-6 masnih kiselina se najvećim dijelom može pripisati linolnoj kiselini (C18:2n6c), koja čini čak 97% ukupnih omega-6 masnih kiselina. Visoki udio linolne kiseline ($14,74 \pm 9,99\%$ - $17,55 \pm 0,54\%$) posljedica je unosa putem hrane, budući da se ta masna kiselina nalazi u biljnim uljima, kao što je suncokretovo ili sojino, koja se ujedno i najčešće koriste u hranidbi kokoši (Kralik i sur., 2012.). U drugim istraživanjima sastava

masnih kiselina jaja, udio omega-6 u jajima iznosio je u rasponu 15,00 - 28,76%, a udio omega-3 u rasponu od 1,25 - 2,42% (Kralik i sur., 2007., Samman i sur., 2009., Petrović i sur., 2012.).

Najvažnije omega-3 masne kiseline su α -linolenska (C18:3n3, ALA), eikozapentanoična (EPA, C20:5n-3) te dokozaheksanoična (DHA, C22:6n-3), a većina se povoljnih učinaka na zdravlje veže upravo za EPA i DHA (Fraeye i sur., 2012.). Od omega-3 masnih kiselina u jajima, za većinu proizvođača, određena je samo ALA masna kiselina dok je uz nju, kod samo jednog proizvođača, određena i eikozatrienska masna kiselina (C20:3n3). Uporabom proizvoda od uljane repice i lana u krmnim smjesama za nesilice može se povećati sadržaj α -linolenske kiseline (Farell, 1998., Sari i sur., 2001., Petrović i sur., 2012.). Udio ALA u istraživanju Baucellsa i sur. (2000.) u jajima kokoši hranjenih uz dodatak 4% lanenog ulja iznosio je čak 4,87%. EPA te DHA masne kiseline nisu određene ovim istraživanjem. Škrtić i sur. (2007.) u svom istraživanju, provedenom na jajima kokoši hranjenih uz dodatak 6% suncokretova ulja, također nisu utvrdili prisutnost EPA i DHA. Poznato je da nesilice imaju vrlo ograničenu mogućnost elongiranja i desaturacije ALA u EPA



Grafikon 2. Grafički prikaz udjela zasićenih (SFA) i nezasićenih (MUFA- jednostruko nezasićenih, PUFA- višestruko nezasićenih) masnih kiselina u jajima s hrvatskog tržišta prema proizvođačima. Maseni udio masne kiseline izražen je na ukupni udio masnih kiselina; LOD=0,1%

Tabela 2. Sastav masnih kiselina u jajima s hrvatskog tržišta po proizvođačima

Parametar	Proizvođač 1	Proizvođač 2	Proizvođač 3
C14:0	0,29±0,15	0,43±0,09	0,42±0,05
C16:0	24,13±0,11	27,27±6,61	24,61±1,11
C17:0	0,22±0,03	0,25±0,06	0,16±0,06
C18:0	6,46±0,12	7,02±2,14	6,66±0,95
C23:0	-	1,35±1,91	-
C16:1n7t	0,96±0,07	1,15±0,05	0,41±0,57
C16:1n7c	2,89±0,44	2,45±0,09	3,21±0,42
C18:1n9t	-	0,15±0,21	-
C18:1n9c	44,24±0,10	41,38±1,19	48,11±2,76
C18:1n7	1,92±0,17	1,73±0,04	0,79±1,07
C20:1n9	0,22±0,03	0,24±0,01	0,15±0,12
C24:1n9	-	0,63±0,89	-
C18:2n6c	17,55±0,54	14,74±9,99	17,27±2,11
C20:2n6	0,19±0,01	0,1±0,15	-
C20:4n6	0,42±0,05	0,28±0,39	0,11±0,17
C18:3n3	0,42±0,01	0,23±0,32	0,29±0,27
C20:3n3	-	-	0,13±0,22
Omega-6	18,15±0,60	15,12±10,52	14,39±2,14
Omega-3	0,42±0,01	0,28±0,25	0,45±0,18
PUFA/SFA	0,60±0,01	0,49±0,45	0,47±0,09
Omega-6/omega-3	43,30±0,28	62,96±19,59	36,69±13,83

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna devijacija; maseni udio masne kiseline izražen je na ukupni udio masnih kiselina; LOD=0,1%; SFA=zasićene masne kiseline, PUFA=višestruko nezasićene masne kiseline

i DHA kiselinu. Međutim, smatra se da na učinkovitost konverzije utječu faktori kao što je starost i vrsta kokoši te visoki udio omega-6 masnih kiselina koji djeluje nepovoljno na učinkovitost konverzije (Fraeye i sur., 2012.). Ali, kako

je spomenuto, krmiva podrijetlom od morskih organizama (alge, ribe) utječu na povećanje sadržaja poželjnih EPA i DHA u žumanjcima jaja (Farell, 1998., Baucells i sur., 2000., Cachaldora i sur., 2005., Škrtić i sur., 2006.). U istraživanju

Tabela 3. Prosječni udio masti i skupina masnih kiselina prema godini proizvodnje

Parametar	2014. godina (n=14)			2015. godina (n=12)		
	mean±SD	max	min	mean±SD	max	min
Ukupna mast (%)	8,91±0,59*	9,7	7,8	7,93±0,42*	8,30	7,10
SFA (%)	32,44±1,49	35,73	30,51	31,49±2,34	34,35	27,42
MUFA (%)	52,69±2,32	56,18	47,83	53,24±3,03	57,62	49,33
PUFA (%)	14,87±2,77	20,4	9,85	15,27±1,81	17,09	12,39
PUFA/SFA	0,46±0,10	0,64	0,28	0,49±0,07	0,56	0,38
Omega-6 (%)	14,25±2,40	18,89	9,62	14,62±1,71	16,34	11,79
Omega-3 (%)	0,37±0,13*	0,54	0,21	0,59±0,19*	0,95	0,33
Omega-6/omega-3	42,20±13,63*	66,7	27,72	27,05±7,88*	37,81	14,81

*statistički značajna razlika ($p < 0,05$); SFA=zasićene masne kiseline, MUFA=jednostruko nezasićene masne kiseline, PUFA=višestruko nezasićene masne kiseline

Farella (1998.) u jajima kokoši hranjenih uz dodatak suncokretova ulja udio EPA iznosio je 0,20%, a udio DHA 0,44%, dok se u jajima kokoši hranjenih uz dodatak 5% ribljeg ulja udio EPA povećao na 1%, a udio DHA na čak 5,27%.

Kada govorimo o masnokiselinskom sastavu vrlo važna je vrijednost omjera omega-6 i omega-3 masnih kiselina. Preporučeni omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina je 3-5:1 (EFSA, 2009.), uz poželjan što niži omjer. Istraživanja ukazuju na drastično povećanje ovog omjera u prehrani ljudi, s omjerom često i većim od 20-30:1 u korist omega-6 masnih kiselina (Škrtić i sur., 2006.). Srednje vrijednosti omjera dobivenih ovim istraživanjem za različite proizvođače su u rasponu od 36,69±13,83%-62,96±19,59%. Ovakav nepovoljan omjer uzrokovan je hranidbom kokoši nesilica, što je pokazala i usporedba rezultata sa drugim literaturnim podatcima. Istraživanje Škrtić i sur. (2007.) utvrdilo je omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina u jajima kokoši hranjenih s dodatkom suncokretova ulja od 62,63. Drugi autori govore o povoljnijem omjeru omega-6 i omega-3 u rasponu od 11,02-13,28, iako i dalje u nesukladu s preporučenim vrijednostima (Kralik i sur., 2007., Samman i sur., 2009., Petrović

i sur., 2012.). Iz tog su razloga novija istraživanja usmjerena na povećanje udjela omega-3 u jajima. Ujedno, perad je vrlo pogodna za hranidbene pokuse te se brzo postiže željeni učinak (Marenjak i sur., 2008.). U istom istraživanju Škrtić i sur. (2007.) za jaja kokoši hranjenih uz dodatak ribljeg i repičinog ulja odredili su za zdravlje povoljniji omjer omega-6/omega-3 u iznosu od 5,44.

Minimalna vrijednost za omjer PUFA/SFA je prema preporuci 0,45 (HMSO, 1994.). Istraživanjem dobiveni prosječni omjer prema proizvođačima iznosi 0,60±0,01 (proizvođač 1), 0,49±0,45 (proizvođač 2) te 0,47±0,09 (proizvođač 3) te je u skladu sa zdravstvenim preporukama.

Tabela 3 prikazuje prosječne vrijednosti udjela masti i skupina masnih kiselina u jajima s obzirom na godinu proizvodnje istog proizvođača, uključujući najmanje (min.) i najveće (max.) vrijednosti. Pokazalo se da postoji značajna statistička razlika ($p < 0,05$) u udjelu masti te udjelu omega-3 masnih kiselina, kao i omjera omega-6/omega-3. Profil masnih kiselina, osobito PUFA, u žumanjku jaja pod visokim je utjecajem profila masnih kiselina iz hrane, dok je sadržaj SFA najmanje osjetljiv na manipuliranje sadržajem masnih

kiselina iz jaja (Škrčić i sur., 2006.). Stoga se različitost literaturnih podataka može objasniti namjernim ili slučajnim promjenama u hranidbi kokoši, ali i drugim čimbenicima koji mogu utjecati na sastav masnih kiselina, kao što je primjerice starost kokoši.

Zaključak

Istraživanjem su utvrđene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u udjelu ukupne masti te PUFA omega-3 kiselina i omjera omega-6-omega-3 masnih kiselina s obzirom na godinu proizvodnje istog proizvođača, dok je među proizvođačima značajna razlika utvrđena samo za skupinu MUFA masnih kiselina. Rezultati potvrđuju činjenicu da su nezasićene masne kiseline osjetljivije na čimbenike koji mogu utjecati na promjenu sastava masnih kiselina u odnosu na zasićene, a koji podrazumijevaju primjerice, namjernu ili slučajnu promjenu u hranidbi kokoši ili starost kokoši. Rezultati nutritivno značajnih parametara u prehrani ljudi pokazuju da je omjer PUFA/SFA masnih kiselina u jajima u skladu sa zdravstvenim preporukama, dok je omjer omega-6/omega-3 karakteristično veći u odnosu na preporuke.

Sažetak

Jaja su izvrstan izvor bjelančevina, masti kao što su fosfolipidi i nezasićene masne kiseline te vitamina i minerala. Sadržaj i sastav masnih kiselina u peradarskim proizvodima ovisi o sastavu masnih kiselina u hrani koja se koristi tijekom hranidbe. Na našim prostorima, osim kokošnjih gotovo da u širokoj prodaji i nema jaja drugih vrsta peradi. U Hrvatskoj su suncokretovo i repičino ulje najčešće korišteni kao dodatci u hranidbi kokoši, što u konačnici djeluje nepovoljno na omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina. Optimizirajući izvor masnih kiselina u hranidbi životinja može se poboljšati profil masnih kiselina u peradarskim proizvodima,

mesu i jajima. U ovom istraživanju analiziran je udio masti i sastav masnih kiselina kokošnjih jaja nabavljenih od tri hrvatska proizvođača tijekom 2014. i 2015. godine. Sastav masnih kiselina određen je plinskom kromatografijom s plameno-ionizacijskim detektorom. Analiza je provedena na ukupno 26 uzoraka. Rezultati su pokazali da postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) po proizvođačima samo za skupinu mononezasićenih masnih kiselina. S obzirom na godinu proizvodnje istog proizvođača, statistički značajna razlika ($p < 0,05$) postoji za udio ukupne masti, omega-3 masnih kiselina te za omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina. Nezasićene masne kiseline su osjetljivije na čimbenike koji mogu utjecati na promjenu sastava masnih kiselina u odnosu na zasićene. Različitost se podataka može objasniti namjernim ili slučajnim promjenama u hranidbi kokoši, ali i drugim čimbenicima koji mogu utjecati na sastav masti, kao što je primjerice starost kokoši. Među višestruko nezasićenim masnim kiselinama, dominantne su bile omega-6 masne kiseline, gdje se čak 97% ukupnih omega-6 odnosilo na linolnu kiselinu (C18:2n6c). Masne kiseline EPA i DHA nisu pronađene u jajima. Nesilice imaju vrlo ograničenu mogućnost konverzije ALA u EPA i DHA kiselinu, koja može ovisiti o čimbenicima kao što su visoki udio omega-6, starost i vrsta kokoši. Istraživanjem dobiveni omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina bio je karakteristično veći za jaja u odnosu na zdravstvene preporuke (3-5:1), dok je dobiveni omjer PUFA/SFA u skladu sa zdravstvenim preporukama ($> 0,45$). Najzastupljenije pojedinačne masne kiseline bile su oleinska (18:1n9c), palmitinska (16:0) i linolna (18:2n6c).

Ključne riječi: udio masti, profil masnih kiselina, kokošja jaja, omega-6, omega-3

Literatura

1. BAUCELLS, M. D., N. CRESPO, A. C. BARROETA, S. LOPEZ-FERRER and M. A. GRASHORN (2000): Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poult. Sci.* 79, 51-59.
2. CACHALDORA, P., J. C. DE BLAS, P. GARIAREBOLLAR, C. ALVAREZ and J. MENDEZ (2005): Effects of type and level of supplementation with dietary n-3 fatty acids on yolk composition and n-3 fatty acid retention in hen eggs. *Span. J. Agric. Res.* 3, 209-212.

3. DTU (Technical University of Denmark) National Food Institute – Danish food composition databank ed.7.01.
4. EFSA (2009): Labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids -Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. EFSA J. 1176, 1-11.
5. FARELL, J. D. (1998): Enrichment of hen eggs with n-3 long chain fatty acids and evaluation on enriched eggs in humans. Am. J. Clin. Nutr. 68, 538-544.
6. FRAEYE, I., C. BRUNEEL, C. LEMAHIEU, J. BUYSE, K. MUYLAERT and I. FOUBERT (2012): Dietary enrichment of eggs with omega-3 fatty acids: A review. Food Res. Int. 48, 961-969.
7. HMSO, U. K. (1994): Nutritional aspects of cardiovascular disease (report on health and social subjects No. 46). London: HMSO.
8. HR EN ISO 5508:1995 standard. Životinjske i biljne masti i ulja- Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom.
9. HR EN ISO 5509:2000 standard. Životinjske i biljne masti i ulja- Priprava metilnih estera masnih kiselina.
10. HU, F. B., M. J. STAMPFER, J. E. MANSON, A. ASCHERIO, G. A. COLDITZ, E. F. SPEIZER et al. (1999): Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. Am. J. Clin. Nutr. 70, 1001-1008.
11. JUTURU, V. (2008): Omega-3 fatty acids and the cardiometabolic syndrome. J. Cardiomat. Syn. 3, 244-253.
12. KANG, J. X. (2011): Omega-3: A link between global climate change and human health. Biotechnol. Adv. 29, 388-390.
13. KANG, J. X. (2005): From fat to fat-1: a tale of omega-3 fatty acids. J. Membr. Biol. 206, 165-172.
14. KASSIS, N., S. R. DRAKE, S. K. BEAMER, K. E. MATAK and J. JACZYNSKI (2010): Development of nutraceutical egg products with omega-3-rich oils. LWT - Food Sci. Technol. 43, 777-783.
15. KRALIK, G., Z. KRALIK, M. GRČEVIĆ i Z. ŠKRTIĆ (2012): Obogaćivanje peradarskih proizvoda funkcionalnim sastojcima. Poljoprivreda 18, 52-59.
16. KRALIK, G., Z. ŠKRTIĆ, Z. GAJČEVIĆ i D. HANŽEK (2007): Utjecaj različitih ulja u hrani za nesilice na kakvoću jaja i sadržaj masnih kiselina u žumanjku jajeta. Krmiva 49, 115-125.
17. LAWLOR, J. B., N. GAUDETTEA, T. DICKSONB and J. D. HOUSE (2010): Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil. Anim. Feed Sci. Tech. 156, 97-103.
18. LEMAHIEU, C., C. BRUNEEL, R. TERMOTEVERHALLE, K. MUYLAERT, J. BUYSE and I. FOUBERT (2013): Impact of feed supplementation with different omega-3 rich microalgae species on enrichment of eggs of laying hens. Food Chem. 141, 4051-4059.
19. MARENJAK, T. S., I. DELAŠ i N. POLJIČAK-MILAS (2008): Strategija proizvodnje funkcionalne hrane animalnog porijekla. Meso X, 282-287.
20. PETROVIĆ, M., M. GAČIĆ, V. KARAČIĆ, Ž. GOTTSTEIN, H. MAZIJA and H. MEDIĆ (2012): Enrichment of eggs in n-3 polyunsaturated fatty acids by feeding hens with different amount of linseed oil in diet. Food Chem. 135, 1563-1568.
21. Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata objavljen od Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva (NN 2/2005).
22. 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.
23. SARI, M., M. AKSIT, M. ÖZDOĞAN and H. BASMACIOĞLU (2001): Effects on addition of flaxseed of laying hens on some production characteristics, levels of yolk and serum cholesterol, and fatty acid composition of yolk. Arch. Geflügelk. 66, 75-79.
24. SCHEIDELER, S. E. (1997): Studies of consumer acceptance of high omega-3 fatty acid-enriched eggs. J. Appl. Poultry Res. 6, 137-146.
25. ŠKRTIĆ, Z., G. KRALIK i Z. GAJČEVIĆ (2006): Obogaćivanje jaja s PUFA n-3. Krmiva 48, 95-103.
26. ŠKRTIĆ, Z., G. KRALIK, Z. GAJČEVIĆ, I. BOGUT and D. HANŽEK (2007): The increase of the n-3 PUFA content in eggs. Poljoprivreda 13, 47-52.
27. 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.
28. WEGGEMANS, R. M., P. L. ZOCK and M. B. KATAN (2001): Dietary cholesterol from eggs increases the ratio of total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol in humans: a meta-analysis. Am. J. Clin. Nutr. 73, 885-891.
29. 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.

Fat Content and Fatty Acid Composition of Hen Eggs From Croatian Producers

Tina LEŠIĆ, BSc, Ana VULIĆ, BSc, PhD, Scientific Associate, Luka CVETNIĆ, DVM, Assistant, Nina KUDUMIJA, BSc, PhD, Expert Associate, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Mario ŠKRIVANKO, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Assistant Professor, Croatian Veterinary Institute, Veterinary Department Vinkovci, Croatia

Eggs are an excellent source of protein, fats such as phospholipids and unsaturated fatty acids, and vitamins and minerals. The content and fatty acid profile in poultry products depends on the composition of fatty acids in poultry feed. In the region, virtually no eggs other than chicken are widely available for sale. In Croatia, sunflower and rapeseed oil are commonly used as additives in chicken feed, which adversely affects the ratio of omega-6 and omega-3 fatty acids. Optimizing fatty acids in animal feed can improve the fatty acid profile in poultry products, such as meat and eggs. In this study, the fat content and fatty acid profile of eggs purchased from three Croatian producers during 2014 and 2015 were determined. The fatty acid profile was determined by gas chromatography with flame ionization detector. The analysis was performed on 26 samples. Results showed a statistically significant difference ($p < 0.05$) by manufacturers for a group of monounsaturated fatty acids. With regard to the year of manufacture by the same manufacturer, a statistically significant difference ($p < 0.05$) was found for to-

tal fat, omega-3 fatty acids, and for the ratio of omega-6 and omega-3 fatty acids. Unlike saturated fatty acids, unsaturated fatty acids are sensitive to factors that can affect the fatty acid composition. The range of the results can be explained by intentional or unintentional changes in feed or other factors that can affect the fat composition, such as hen age. Among the polyunsaturated fatty acids, omega-6 fatty acids were dominant, where 97% of total omega-6 related to linoleic acid (C18:2n6c). The fatty acids EPA and DHA were not found in eggs. Laying hens have a limited ability to convert ALA to EPA and DHA, which can depend on factors such as a high proportion of omega-6, hen age and species. In this study, the ratio of omega-6 and omega-3 fatty acids was characteristically higher than the medical recommendations (3-5:1), and ratio PUFA/SFA was in accordance with the health recommendations (>0.45). The most common individual fatty acids were oleic (18:1n9c), palmitic (16:0) and linoleic (18:2n6c) acid.

Key words: *fat, fatty acid profile, hen eggs, omega-6, omega-3*

Sadržaj teških metala i elemenata u tragovima u različitim vrstama meda iz Dubrovačke županije

Nina Bilandžić, Ivana Tlak Gajger, B. Čalopek, Marija Sedak, Božica Solomun Kolanović, Ivana Varenina, Đurđica Božić Luburić, Ines Varga i Maja Đokić



Uvod

Med je prirodni, slatki proizvod čija boja, okus, aroma i tekstura ovise o cvjetnom nektaru iz kojeg je dobiven te se koristi kao sastojak za mnoge vrste prehrambenih proizvoda (Rashed i Soltan, 2004.). Njegov sastav čine uglavnom glukoza i fruktoza (65%), voda (18%) i nizak sadržaj bjelančevina (Silva i sur., 2009.). Mineralni sastav meda je svega 0,04% u svijetlim vrstama meda, odnosno 0,2% u tamnim (Fernández-Torres i sur., 2005.). Med nastaje procesom bioakumulacije radom pčela tijekom hranidbe pri čemu pčele dolaze u kontakt s okolišem, odnosno tlom i vodom te vegetacijom u radijusu od oko 3 km (Yarsan i sur., 2007., Chua i sur., 2012.). U istraživanjima utjecaja različitih faktora na sadržaj minerala u medu od okolišnih te zemljopisnih i botaničkih aspekata najveći utjecaj na sadržaj elemenata u

tragovima pokazali su botanički faktori (Bogdanov i sur., 2007.).

Sastav meda, odnosno boja, okus, aroma i tekstura mijenja se obzirom na sastav sirovina, odnosno ovisno o cvjetnom nektaru (mješavine cvijeća, lipa, kesten, kadulja, vrijesak, akacija, lavanda, majčina dušica, suncokret i druge vrste) iz kojeg pčela proizvodi med ovisno o godišnjem dobu i lokaciji. Med može sadržavati visoke razine toksičnih elemenata, kao što su As, Cd, Hg i Pb, kao rezultat povećanih količina u nektaru biljaka. Uslijed velikih rudarskih i industrijskih aktivnosti toksični metali se apsorbiraju u tlo, atmosferu i vodu te posljedično u biljke. Visoke koncentracije ovih metala su određene u medu iz područja s teškom industrijom ili u blizini autocesta (Gajek i sur., 1987., Toporcák i sur., 1992.). Isto tako nedostatak

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Bruno ČALOPEK, dipl. ing. prehr. tehnol., Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ LUBURIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ines VARGA, dipl. ing. biotehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Ivana TLAK GAJGER, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

pojednog elementa u tlu, stijenama ili vodi imat će utjecaj na mineralni sastav biljke. Stoga, med može služiti kao izvrstan bioindikator onečišćenja okoliša teškim metalima te obzirom na sadržaj drugih elemenata biti pokazatelj zemljopisnog podrijetla meda (Pisani i sur., 2008., Pellareno i sur., 2012.).

U posljednjih deset godina sadržaj metala određivan je u brojnim studijama u zemljama Mediterana no većina ih se odnosi na miješane cvjetne vrste (Golob i sur., 2005., Hernández i sur., 2005., Tuzen i Soylak, 2005., Garcia i sur., 2006., Muñoz i Palmero, 2006., Lachman i sur., 2007., Tuzen i sur., 2007., Frias i sur., 2008., Pisani i sur., 2008., Silici i sur., 2008., Silva i sur., 2009., Bilandžić i sur., 2011., De Alda-Garcilope i sur., 2012.). Manji broj istraživanja uključuje sadržaj u takozvanim monocvjetnim vrstama meda (Rashed i Soltan, 2004., Fernández-Torres i De Alda-Garcilope i sur., 2012.a,b), Golob i sur., 2005., Lachman i sur., 2007., Pisani i sur., 2008., Vanhanen i sur., 2011., Bilandžić i sur., 2012., 2014., Perna i sur., 2014.). Ove studije obuhvaćaju različite vrste monocvjetnih vrsta meda ovisno o geografskom položaju, odnosno o zemlji u kojoj su proizvedeni te su između njih značajne razlike u sastavu elemenata. Većina se studija odnosi i na razlike u sastavu elemenata među regijama pojedinih zemalja, odnose ovisno o zemljopisnom podrijetlu te nisu uključivale botanički utjecaj na sastav meda. Općenito, monocvjetni med je više cijenjen i skuplji u odnosu na multcvjetni miješani zbog svojih organoleptičkih i farmakoloških svojstva (Silva i sur., 2009.) Med sadrži do 200 različitih tvari (fenolne kiseline i flavonoidi, slobodne aminokiseline, organske kiseline, vitamini, minerali) te se smatra važnim dijelom tradicionalne medicine. Koristi se od davnina, a u novije vrijeme ima ulogu u liječenju opekline, gastrointestinalnih poremećaja, astme, infekcija rana i ulkusa

kože (Al-Mamary i sur., 2002., Orhan i sur., 2003.).

Dosadašnja istraživanja određivanja elemenata u medu Hrvatskoj bila su vezana na miješani cvjetni med te monocvjetne vrste meda kao što su bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.), kesten (*Castanea sativa* Mill.), lipe (*Tilia* spp.) i druge podrijetlom iz kontinentalne Hrvatske (Bilandžić i sur., 2011., 2012.a,b, 2014.). Samo jedno istraživanje se referira na vrstu meda specifičnu za južne krajeve Hrvatske, odnosno med kadulje (*Salvia officinalis*) iz Primorsko-goranskog i Zadarskog područja (Bilandžić i sur., 2014.). Stoga je svrha ovoga rada prikupljanje uzoraka specifičnih vrsta meda proizvedenih pomoću pčela na vrsti bilja karakterističnih za jug Hrvatske kao što su primorski vrisak (*Saturea montana*), vrijes (*Erica* spp.), vrijesak (*Canulla vulgaris*), ružmarin (*Rosmarinus officinalis*) i kadulja (*Salvia officinalis*). Ove vrste meda su na tržištu rijetke te su zbog svoje rijetkosti i ljekovitih svojstava vrlo cijenjene. U uzorcima meda određivane su koncentracije toksičnih metala arsena (As), kadmija (Cd), olova (Pb) i drugih elemenata u tragovima, odnosno srebra (Ag), aluminijska (Al), antimona (Sb), barija (Ba), kroma (Cr), nikla (Ni), torija (Th), uranija (U) i vanadija (V), primjenom tehnike induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS).

Materijali i metode

Uzorkovanje meda

Na području južne Hrvatske u okolici Dubrovnika, odnosno Dubrovačkog primorja i zaleđa sakupljeni su uzorci vrsta meda (n=2): cvjetni miješani, primorski vrisak (*Saturea montana*), vrijes (*Erica* spp.), vrijesak (*Canulla vulgaris*), ružmarin (*Rosmarinus officinalis*) i kadulja (*Salvia officinalis*). Uzorci meda (250 g) pohranjeni su u staklene posude te čuvani na temperaturi od 4 do 8 °C do analize.

Kemikalije i standardi

Kiselina HNO_3 nabavljena je od Merck (Darmstadt, Njemačka). U analizama je korištena ultračista voda ($18,2 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) dobivena sustavom MILLI-Q (Merck Millipore Corporation, Darmstadt, Njemačka). Za kalibraciju instrumenta korišten je certificirani standard koji se sastoji od Ag, Al, As, Ba, Cd, Cr, Ni, Pb, Sb, Th, U i V koncentracija 10 mg/L

(Environmental Calibration Standard, Agilent Technologies, SAD). Radni standardi za kalibracijsku krivulju su pripremani razrjeđivanjem certificiranog standarda s 5% konc. HNO_3 . Kao interni standard za ICP-MS koristio se certificirani standard koji se sastoji od Bi, In, Sc, Tb i Y koncentracije 20 mg/L (Inorganic Ventures, Christiansburg, VA, SAD).

Tabela 1. Uvjeti rada i parametri mjerenja za ICP-MS.

Spektrometar:	Agilent Technology 7900
Način unosa uzorka:	PeriPump
Tip raspršivača:	MicroMist
Sučelje:	Pt-konovi
RF snaga :	1550 W
Brzina protoka Ar (L/min)	
Plazma:	15
Sporedni protok:	0,9
Raspršivač:	0,1 rps
Brzina protoka He:	0,03 mL/min
Model ionskih leća:	x-leće
Voltaža leća:	10,7 V
Omega bias:	-90 V
Omega leća:	10,2 V
Akvizijski način rada:	Spectrum
Uzorak pika:	1 point
Replike:	3
Integriranje/repliki:	100
Brzina unosa uzorka:	0,3 rps

Način rada	Bez plina	He	HEHe
Plazma mod	Opća namjena	Opća namjena	Opća namjena
Vrijeme stabilizacije [sec]	0	5	5
Vrijeme integracije/masi [sec]	0,1	0,5	1

Izotopi:

Bez plina: Al^{29} , As 75 , Ag 107 , Ba 137 , Pb 208 , Th 232 , U 238

He mode: V^{51} , Cr 52 , Ni 60 , Cd 111

Interni Standardi: Bi, In, Sc

Instrumenti

Uzorci meda su razarani primjenom mikrovalne pećnice Multiwave 3000 (Anton Paar, Njemačka). Koncentracije elemenata određene su primjenom instrumenta induktivno spregnute plazme s masenim detektorom model Agilent 7900 ICP-MS (Agilent, SAD). Princip se mjerenja instrumenta zasniva na ionizaciji, razdvajanju i detektiranju iona metala obzirom na razliku u njihovom omjeru mase i naboja (m/z). Uvjeti rada instrumenta ICP-MS prikazani su u Tabeli 1.

Priprema uzoraka

Uzorci se meda (0,5 g) važu u teflonske posudice te se doda 3 mL H_2O i 2,5 mL HNO_3 (65%). Zatim se provodi mokro spaljivanje u mikrovalnoj pećnici provođenjem digestije u tri koraka: prvi korak snage 500 W 1 minutu te zadržavanje 1,5 minute, drugi korak na 1000 W 5 minuta te zadržavanje 15 minuta te treći korak 1200 W 5 minuta i zadržavanje 25 minuta. Bistra otopina kvantitativno se prenosi u odmjerne tikvice od 50 mL te dopuni do oznake ultračistom vodom. Isti postupak koristi se za slijepu probu, ali bez uzorka.

Statistička analiza

Rezultati koncentracija elemenata obrađeni su statističkim programom Statistica® 10 (StatSoft® Inc., SAD). Koncentracije elemenata izražene su kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija (SD).

Rezultati i rasprava

Med je vrlo složen proizvod čija svojstva i sastav primarno ovise o nektaru biljnih vrsta, međutim i drugim čimbenicima kao što su: vrsta pčela, zemljopisno područje, godišnje doba, način skladištenja pa čak i tehnologija i uvjeti žetve (Kaškonienė i Venskutonis,

2010.). Ova je studija jedana od rijetkih koja prikazuje rezultate elemenata u tragovima u vrstama meda koje su specifične za mediteranska i submediteranska podneblja i koje se često koriste i kao ljekoviti pripravci za različite zdravstvene probleme.

U Tabeli 2. prikazane su koncentracije metala u šest vrsta meda (cvjetni miješani, primorski vrisak, vries, vriesak, ružmarin i kadulja) s juga Hrvatske. Koncentracije elemenata u medu kretale su se u rasponima ($\mu g/kg$): Ag 0,089-0,51; Al 708-15467; As 1,29-4,02; Ba 37,4-133; Cd 0,69-12,8; Cr 3,75-22,3; Ni 5,59-30,8; Pb 5,43-11,3; Sb 0,44-0,96; Th 0,013-0,41; U 0,091-0,23; V 1,95-3,70. Izrazito više koncentracije Al, Cd i Ni u odnosu na ostale vrste meda utvrđene su u primorskom vrisaku. Cvjetni med karakteriziraju jedino više koncentracije Pb i Cr u odnosu na monocvjetne istraživane vrste meda. U medu vriesa određene su najniže koncentracije metala Al, As, Ni i Th, dok su u medu ružmarina određene najniže koncentracije Ag, Ba i Cd. Koncentracije Sb, U i V su slične za sve vrste meda.

Značajno je naglasiti da med kadulje ima 4 do 22 puta više koncentracije Ag u odnosu na ostale ispitivane vrste meda. Ova činjenica potkrepljuje i poznata znanja o antiseptičkom djelovanju kadulje (Kenjeric i sur., 2008.). Naime, Ag se koristi također u medicini za prekrivanje rana zbog svog baktericidnog svojstva te suvremena istraživanja *in vitro* i *in vivo* pokazuju sposobnost Ag da inducira oksidativni stres što se može iskoristiti u svrhu pojačavanja djelovanja antibiotika (Morones-Ramirez i sur., 2013., Gibson i sur., 2014.).

U ovome istraživanju Al je element s najvišim vrijednostima te se koncentracije u istraživanim vrstama meda kreću redoslijedom: primorski vrisak > ružmarin > cvjetni > vriesak > kadulja > vries. Utvrđene koncentracije od 15,467 mg/kg u medu primorskog

Tabela 2. Koncentracije metala u šest vrsta meda iz Dubrovačkog primorja i zaleđa.

Metal ($\mu\text{g/kg}$)	Cvjetni	Primorski vrisak (<i>Saturea montana</i>)	Vrijes (<i>Erica spp.</i>)	Vrijesak (<i>Canulla vulgaris</i>)	Ružmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	Kadulja (<i>Salvia officinalis</i>)
Ag	0,46 $\pm$ 0,20	0,51 $\pm$ 0,31	0,17 $\pm$ 0,031	0,22 $\pm$ 0,057	0,089 $\pm$ 0,002	2,01 $\pm$ 0,50
Al	2208 $\pm$ 708	15467 $\pm$ 3534	708 $\pm$ 129	1764 $\pm$ 549	2355 $\pm$ 545	1429 $\pm$ 612
As	2,30 $\pm$ 1,59	4,02 $\pm$ 2,24	1,29 $\pm$ 0,45	1,66 $\pm$ 0,89	2,88 $\pm$ 0,67	1,94 $\pm$ 0,51
Ba	59,8 $\pm$ 5,98	53,5 $\pm$ 23,5	79,5 $\pm$ 19,5	133 $\pm$ 47,2	37,4 $\pm$ 15,3	48,2 $\pm$ 21,3
Cd	1,62 $\pm$ 0,62	12,8 $\pm$ 7,31	0,77 $\pm$ 0,031	0,98 $\pm$ 0,53	0,69 $\pm$ 0,044	12,1 $\pm$ 5,22
Cr	22,3 $\pm$ 17,7	3,75 $\pm$ 1,28	9,76 $\pm$ 4,11	18,8 $\pm$ 8,06	6,59 $\pm$ 2,41	5,91 $\pm$ 1,31
Ni	30,8 $\pm$ 18,6	453 $\pm$ 35,9	ND	5,59 $\pm$ 7,91	22,3 $\pm$ 5,31	9,92 $\pm$ 3,51
Pb	11,3 $\pm$ 3,16	7,25 $\pm$ 2,55	7,18 $\pm$ 2,27	8,72 $\pm$ 1,65	7,36 $\pm$ 1,21	5,43 $\pm$ 2,31
Sb	0,59 $\pm$ 0,13	0,79 $\pm$ 0,031	0,96 $\pm$ 0,006	0,42 $\pm$ 0,12	0,45 $\pm$ 0,031	0,44 $\pm$ 0,006
Th	0,24 $\pm$ 0,11	0,41 $\pm$ 0,005	0,013 $\pm$ 0,002	0,12 $\pm$ 0,079	0,20 $\pm$ 0,002	0,24 $\pm$ 0,042
U	0,23 $\pm$ 0,012	0,13 $\pm$ 0,031	0,091 $\pm$ 0,007	0,15 $\pm$ 0,11	0,18 $\pm$ 0,031	0,11 $\pm$ 0,051
V	3,14 $\pm$ 0,76	2,76 $\pm$ 0,44	1,95 $\pm$ 0,57	2,97 $\pm$ 1,45	3,70 $\pm$ 1,51	2,79 $\pm$ 1,21

ND - nije detektirano

vrisaka su slične rasponu 10,31-13,68 mg/kg u medu iz različitih regija Turske (Yarsan i sur., 2007.). U ostalih 5 vrsta meda koncentracije Al su bile u rasponu 0,707-2,355 mg/kg dok su se u različitim vrstama meda drugih zemalja kretale u rasponima (mg/kg): Turska: 0,094-0,325 i 0,0441-0,588; Novi Zeland 0,21-21,3; Mađarska 0,810-4,39 (Tuzen i sur., 2007., Silici i sur., 2008., Vanhanen i sur., 2011., Cziza i sur., 2015.). Aluminij je treći element po svojoj prisutnosti u zemljinoj kori i u tlu je koncentriran u mineralima glina. U Primorskoj Hrvatskoj, uključujući područje Dalmacije u koju spada i dubrovačka regija, nađene su najveće prosječne koncentracije Al u tlu u rasponu do 14,04% (Halamić i Miko, 2009.). Ioni Al mogu spriječiti različite metaboličke procese usljed kompetitivnih reakcija između Al i drugih iona, kao što su Ca, Mg i Fe (MacDonald i Martin, 1988.). U nedavnim izvješćima, Al se povezuje s negativnim utjecajem na kosti i neurološkim poremećajima (Ranau i sur., 2001.).

Koncentracije As određene u monocvjetnim vrstama meda su u rasponu 1,29-4,02 $\mu\text{g/kg}$ te su značajno niže od koncentracija u monocvjetnim vrstama u medu bagrema, kestena i lipe (24,1-133,2 $\mu\text{g/kg}$), odnosno u medu kadulje od 64,7 $\mu\text{g/kg}$ u prijašnjem istraživanju u Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2014.). Isto tako su niže od prijašnjih istraživanja u različitim monocvjetnim vrstama meda u Italiji (5,22-6,15 $\mu\text{g/kg}$; Pisani i sur., 2008.), Mađarskoj (7,86-22,8 $\mu\text{g/kg}$; Cziza i sur., 2015.) i Novom Zelandu (40-170 $\mu\text{g/kg}$; Vanhanen i sur., 2011.).

U ovome istraživanje najviše srednje koncentracije Cd od 12,8 i 12,1 $\mu\text{g/kg}$ određene su u medu primorskog vrisaka i kadulje te su za 8 do 18 puta veće u odnosu na koncentracije u ostalim istraživanim vrstama meda. Slične visoke koncentracije Cd u rasponu 10,9-17,9 $\mu\text{g/kg}$ određene su u cvjetnim vrstama meda u Turskoj (Tuzen i Soylak, 2005., Tuzen i sur., 2007.), odnosno 8-18 $\mu\text{g/kg}$ u Italiji (Perna i sur., 2014.). Koncentracije

u cvjetnom medu slične su vrijednostima u prijašnjim istraživanjima u cvjetnom medu u Hrvatskoj od 1,51 i 1,86 µg/kg (Bilandžić i sur., 2011., 2014.). U monocvjetnim vrstama iz različitih zemalja određeni su rasponi koncentracija Cd (µg/kg): Mađarska < 0,80 i < 0,003-2,77 (Ajtony i sur., 2007., Czipa i sur., 2015.), Turska 0,28-2,37 (Silici i sur., 2008.), Kina - nije detektirano (Chua i sur., 2012.), Novi Zeland 10-450 (Vanhanen i sur., 2011.), Italija 1,92-2,34 (Pisani i sur., 2008.).

Krom je element u tragovima koji ima bitnu ulogu u metabolizmu ugljikohidrata, kao sastavni dio faktora tolerancije za glukozu i uključen je u mehanizam kardiovaskularnog rizika i metaboličkog sindroma (Hummel i sur., 2007.). Koncentracije Cr u cvjetnom medu u ovome istraživanju iznosile su 22,3 µg/kg dok su u Turskoj određene u rasponima 2,4-37,7 i 1,24-2,67 µg/kg (Tuzen i sur., 2007., Silici i sur., 2008.). U monocvjetnim vrstama meda u ovome istraživanju koncentracije Cr slične su rasponima dobivenim u monocvjetnim vrstama u Mađarskoj 5,95-36,7 µg/kg (Czipa i sur., 2015.), odnosno Turskoj 1,57-10,2 µg/kg (Silici i sur., 2008.). Međutim, izrazito visoke koncentracije Cr u različitim vrstama meda u rasponu 120-550 µg/kg određene su na Novom Zelandu (Vanhanen i sur., 2011.), 170-370 µg/kg u Turskoj (Yarsan i sur., 2007.), odnosno od 1,845 do 3,835 mg/kg u Kini (Chua i sur., 2012.).

Najviše koncentracije Ni od 453 µg/kg određene su u medu primorskog vriska dok su ostale koncentracije u rasponu 5,59-22,3 µg/kg. U prijašnjim istraživanjima u različitim monocvjetnim vrstama meda utvrđeni su različiti rasponi koncentracija Ni (µg/kg): Turska 1,35-56,4 (Silici i sur., 2008.), Italija 378-487 (Pisani i sur., 2008.), Novi Zeland 20-210 (Vanhanen i sur., 2011.). Isto vrijedi i za miješane cvjetne vrste meda s dobivenim koncentracijama 1,21-41,4 µg/kg (Silici i

sur., 2008.) te 84 µg/kg (Chua i sur., 2012.). Izrazito visoke koncentracije utvrđene su u Turskoj u rasponu 240-1630 µg/kg (Yarsan i sur., 2007.). Nikal je element u tragovima sveprisutan u tlu, vodi, zraku i biosferi. Tvori brojne legure s drugim metalima te se većina Ni u svijetu koristi za proizvodnju nehrđajućeg čelika, koji se uglavnom koristi za proizvodnju hrane i opreme za obradu kontejnera (Sharma, 2013.). Ovaj element je jedan od najčešćih uzroka senzibilizacije te uzrokuje više slučajeva alergijskih kontaktnih dermatitisa nego svi ostali metali zajedno. Nakon razvoja osjetljivosti u ljudi ona ostaje doživotno, a osjetljivost je češća u žena nego muškaraca (van der Walle i Brunsveld, 1994.).

U ovome istraživanju najviše koncentracije Pb od 11,3 µg/kg određene su u cvjetnom medu što je značajno niže od prije određenih koncentracija Pb od 301 i 544 µg/kg u cvjetnim vrstama meda u kontinentalnoj Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2014.) ili srednje vrijednosti 289 µg/kg u cvjetnim vrstama meda u Italiji (Perna i sur., 2014.) ili raspona 31,5-46,32 µg/kg u cvjetnim vrstama s Tenerifa (Frias i sur., 2008.). U Turskoj kao mediteranskoj zemlji koncentracije Cd u cvjetnim vrstama meda su 10,9-21,2 µg/kg (Tuzen i Soylak, 2005.), 36,7 µg/kg (Silici i sur., 2008.) te 106 µg/kg (Tuzen i sur., 2007.). U ovome istraživanje koncentracije Pb u pet vrsta monocvjetnih vrsta meda su određene u rasponu 5,43-8,72 µg/kg. Više koncentracije Pb određene su u monocvjetnim vrstama drugih zemalja (µg/kg): Mađarska 12-99 (Ajtony i sur., 2007., Czipa i sur., 2015.), Turska 1,51-55,3 (Silici i sur., 2008.), Italija 50,0-64,6 (Pisani i sur., 2008.), Novi Zeland 3-40 (Vanhanen i sur., 2011.).

Mali broj istraživanja referira se na koncentracije metala kao što su Ag, Ba, Sb, Th, U i V u medu. U nedavnom istraživanju u Kini određene su koncentracije čak od 1600 µg/kg Ag

dok je u ovome istraživanju 2,01 µg/kg najviša izmjerena vrijednost Ag (Chua i sur., 2012.). U ovome istraživanju najviše koncentracije Ba od 133 µg/kg određene su u medu vrieska. Slične koncentracije Ba određene su u šumskom medu iz Kine (166 µg/kg; Chua i sur., 2012.). U odnosu na ovo istraživanje znatno više koncentracije Ba određene su u medu vriesa (194-232 µg/kg) i ružmarina (44-170 µg/kg) u Španjolskoj (Fernández-Torres i sur., 2005.). Barij se u prirodi pojavljuje u mnogo različitih spojeva najčešće kao Ba-sulfat i Ba-karbonat. U okoliš dopijeva u najvećoj mjeri uslijed industrijskih zagađenja jer se koristi za mnoge svrhe u industriji, a jedna od najvećih je u industriji nafte i plina pri postupcima bušenja blatom (Lim i Schoenung, 2010.). Toksičnosti učinci Ba su nizak sadržaj kalija u krvi, srčane aritmije, zatajenje respiratornog sustava, gastrointestinalne disfunkcije, paraliza, trzanje mišića i povišen krvni tlak (Johnson i VanTassell, 1999.). Kronična izloženost može dovesti do oštećenja bubrega, zatajenja respiratornog sustava, razvoja neurodegenerativnih bolesti, uključujući multiplu sklerozu te do smrti (Purdey, 2004.).

U ovome istraživanju koncentracije Sb, Th i U su u svim istraživanim vrstama meda ispod 1 µg/kg. Ova tri elementa nemaju svoju funkciju u organizmu. Na primjer primjena Sb u industriji je masovna i mnogi od njegovih spojeva su toksični te je učinak akutnog trovanja kardiotskičnost i posljedično miokarditis (Foster i sur., 2005.). Dugotrajan kontakt kože sa Sb može izazvati dermatitis te oštetiti bubrege i jetru, uzrokujući često i povraćanje te u konačnici i do smrti za nekoliko dana (Sundar i Chakravarty, 2010.). U prijašnjim istraživanjima koncentracije Sb i Th u cvjetnim miješanim vrstama meda iz Argentine bile je znatno više, odnosno 6,9 i 9,35 µg/kg (Pellerano i sur., 2012.).

Također, koncentracije U određene u medu akacije i šumskim vrstama meda u Kini bile su značajno više (22-40 µg/kg) u odnosu na utvrđeni raspon u ovome istraživanju (Chua i sur., 2012.). Međutim, u navedenom istraživanju koncentracije V nisu detektirane za razliku od utvrđenog raspona srednjih vrijednosti od 1,95 do 3,70 µg/kg u ovoj studiji. Vanadij je element u tragovima koji ima fiziološku funkciju u organizmu i za koji je utvrđeno da djeluje sličnim mehanizmom kao inzulin u sva tri glavna ciljnim tkivima hormona inzulina, odnosno u skeletnim mišićima, masnom tkivu i jetri te smanjuje razinu šećera u krvi i poboljšava osjetljivost na inzulin kod ljudi s dijabetesom tipa 2 (Repinc i Benedik, 2004.).

Akumulacija elemenata i fitokemikalija u medu ovisi o klimatskim uvjetima, odnosno količini sunca i vlage, karakteristikama tla i drugim utjecajima što uvelike utječe na postojeće razlike u sastavu vrsta meda između različitih zemalja upravo zbog različitih sastava peludi ili nektara koji imaju najveći utjecaj na kemijski sastav meda (Kaškonienė i Venskutonis, 2010.). Nedavna studija sadržaja elemenata u tlu na području cijele Hrvatske pokazala je da tlo dubrovačke regije sadrži u odnosu na ostale regije Hrvatske visoke sadržaje Al (7,85%), Cd (maksimalno 3,5 mg/kg), Cr (> 140 mg/kg), Ni (> 95 mg/kg), Pb (> 45 mg/kg), Th (15-22,5 mg/kg) i V (> 178 mg/kg) (Halamić i Miko, 2009.). Međutim, tlo u ovoj regiji karakterizira niski sadržaji elemenata Ba i As. Stoga se pojedine visoke ili niske koncentracije elemenata u pojedinim vrstama meda u ovome istraživanje mogu pojasniti navedenim sadržajima elemenata u tlu te regije. Isto tako, razlike u sadržaju metala između monocvjetnih vrsta meda potvrđuju presudni utjecaj botaničkog podrijetla na sastav meda.

Sažetak

U ovome istraživanju šest vrsta meda prikupljeno je na području Dubrovačke županije: cvjetni miješani, primorski vrisak (*Saturea montana*), vries (*Erica* spp.), vriesak (*Canulla vulgaris*), ružmarin (*Rosmarinus officinalis*) i kadulja (*Salvia officinalis*). U uzorcima meda određivane su koncentracije toksičnih metala i elemenata u tragovima (Ag, Al, As, Ba, Cd, Cr, Ni, Pb, Sb, Th, U, V) primjenom induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS). Koncentracije elemenata u šest vrsta meda kretale su se u rasponu ($\mu\text{g/kg}$): Ag 0,089-0,51; Al 708-15467; As 1,29-4,02; Ba 37,4-133; Cd 0,69-12,8; Cr 3,75-22,3; Ni 5,59-30,8; Pb 5,43-11,3; Sb 0,44-0,96; Th 0,013-0,41; U 0,091-0,23; V 1,95-3,70. Najviše koncentracije Al (15467 $\mu\text{g/kg}$), Cd (12,8 $\mu\text{g/kg}$) i Ni (453 $\mu\text{g/kg}$) određene su u primorskom vrisaku. U medu vriesa određene su najniže koncentracije metala Al, As, Ni i Th, dok su u medu ružmarina određene najniže koncentracije Ag, Ba i Cd. U cvjetnom medu određene su najviše koncentracije Pb (11,3 $\mu\text{g/kg}$) i Cr (22,3 $\mu\text{g/kg}$). Koncentracije Sb, U i V su slične za sve vrste meda. Med kadulje sadrži 4 do 22 puta više koncentracije Ag (2,01 $\mu\text{g/kg}$) u odnosu na ostale vrste meda. Ovo istraživanje je jedno od rijetkih koje prikazuje rezultate elemenata u tragovima u monocvjetnim vrstama meda koji su specifični za mediteranska i submediteranska podneblja. Uspoređivanjem s prijašnjim istraživanjima koja su prikazala koncentracije elemenata u različitim monocvjetnim vrstama meda, postoje značajne razlike u sastavu elemenata obzirom na botaničke razlike te geografski položaj, odnosno zemlju podrijetla meda. Na akumulaciju elemenata u medu najveći utjecaj ima sastav peludi ili nektara te drugi čimbenici kao što su klimatski uvjeti i karakteristike tla. Obzirom da tlo dubrovačke regije karakteriziraju visoki sadržaji Al, Cd, Cr, Ni, Pb, Th i V, odnosno niski As i Ba, pojedine visoke ili niske koncentracije elemenata u vrstama meda mogu se pojasniti navedenim sadržajima elemenata u tlu te regije. Razlike u sadržaju metala između ispitivanih vrsta meda također potvrđuju presudni utjecaj botaničkog podrijetla na sastav meda.

Gljučne riječi: metali, elementi u tragovima, multicolorni med, monocvjetni med, Dubrovačko primorje

Literatura

1. AL-MAMARY, M., M. AL-MEERI, and M. AL-HABORI (2002): Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrit. Res.* 22, 1041-1047.
2. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2004): Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2004. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology, Clifton Road, NE, Atlanta, GA, available at: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/>
3. AJTONY, Z., L. BENCS, R. HARASZI, J. SZIGETI and N. SZOBOSZLAI (2007): Study on the simultaneous determination of some essential and toxic trace elements in honey by multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta* 71, 683-690.
4. BILANDŽIĆ, N., M. ĐOKIĆ, M. SEDAK, B. SOLOMUN KOLANOVIĆ, I. VARENINA, A. KONČURAT and N. RUDAN (2011): Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food Chem.* 128, 1160-1164.
5. BILANDŽIĆ, N., M. SEDAK, M. ĐOKIĆ, A. KONČURAT and M. BRSTILO (2012a): Sadržaj olova, kadmija i žive u različitim vrstama meda županija kontinentalne Hrvatske. *Vet. stn.* 43, 7-16.
6. BILANDŽIĆ, N., M. ĐOKIĆ, M. SEDAK, I. VARENINA, B. SOLOMUN KOLANOVIĆ, A. KONČURAT, B. ŠIMIĆ and N. RUDAN (2012b): Content of five trace elements in different honey types from Koprivnica-Križevci county. *Slov. Vet. Res.* 49, 167-175.
7. BILANDŽIĆ, N., M. GAČIĆ, M. ĐOKIĆ, M. SEDAK, Đ. IVANEC ŠIPUŠIĆ, A. KONČURAT and I. TLAK GAJGER (2014): Major and trace elements levels in multifloral and unifloral honeys in Croatia. *J. Food Comp. Anal.* 33, 132-138.
8. BOGDANOV, S., M. HALDIMANN, W. LUGINBÜHL and P. GALLMANN (2007): Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *J. Apicult. Res.* 46, 269-275.
9. CHUA, L. S., N.-L. ABDUL-RAHAMAN, M. R. SARMIDI and R. AZIZ (2012): Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chem.* 135, 880-887.
10. CZIPA, N., D. ANDRASI and B. KOVACS (2015): Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. *Food Chem.* 175, 536-542.
11. DE ALDA-GARCILLOPE, C., A. GALLEGO-PICÓ, J. C. BRAVO-YAGÜE, R. M. GARCINUÑO-MARTÍNEZ and P. FERNÁNDEZ-HERNANDO (2012): Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin "Miel de Granada" according to their mineral content. *Food Chem.* 135, 1785-1788.
12. FERNÁNDEZ-TORRES, R., J. L. PÉREZ-BERNAL, M. A. BELLO-LÓPEZ, M. CALLEJÓN-MOCHÓN, J. C. JIMÉNEZ-SÁNCHEZ and A. GUIRAÚM-PÉREZ (2005): Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta* 65, 686-691.
13. FRIAS, I., C. RUBIO, T. GONZALEZ-IGLESIAS, A. J. GUTIERREZ, D. GONZALEZ-WELLER and A. HARDISSON (2008): Metals in Fresh Honeys from Tenerife Island, Spain. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.* 80, 30-33.

14. FOSTER, S., W. MAHER, F. KRIKOWA, K. TELFORD and M. ELLWOOD (2005): "Observations on the measurement of total antimony and antimony species in algae, plant and animal tissues". *J. Environ. Monitor.* 7, 1214–1219.
15. GAJEK, O., M. GDANSKI and R. GAJEWSKA (1987): Metallic impurities in imported canned fruit and vegetables and bee honey. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* 38, 14–20.
16. GARCIA, J. C. R., R. I. RODRIGUEZ, R. M. P. CRECENTE, J. B. GARCIA, S. G. MARTIN and C. H. LATORRE (2006): Preliminary chemometric study on the use of honey as an environmental marker in Galicia (northwestern Spain). *J. Agricul. Food Chem.* 54, 7206–7212.
17. GIBSON, D. J., Q. YANG, D. T. KEREKES and G. S. SCHULTZ (2014): Medical Honey and Silver Dressings Do Not Interfere with Each Other's Key Functional Attributes. *Wounds* 26, 309–316.
18. GOLOB, T., U. DOBERŠEK, P. KUMP and M. NEČEMER (2005): Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chem.* 91, 593–600.
19. HALAMIĆ, J. and S. MIKO (2009): Geochemical Atlas of the Republic of Croatia. Croatian Geological Survey, Zagreb.
20. HERNÁNDEZ, O. M., J. M. G. FRAGA, A. I. JIMÉNEZ, F. JIMÉNEZ and J. J. ARIAS (2005): Characterization of honey from the Canary Islands: Determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chem.* 93, 449–458.
21. HUMMEL, M., E. STANDL and O. SCHNELL (2007): Chromium in metabolic and cardiovascular disease. *Hormone Metabol. Res.* 39, 743–751.
22. Institute of Medicine (2002): Dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Institute of Medicine of the National Academies, The National Academy Press, Washington, USA, p. 773.
23. JACOBS, I. A., J. TADDEO, K. KELLY and C. VALENZIANO (2002): Poisoning as a result of barium styphnate explosion. *Am. J. Ind. Med.* 41, 285–288.
24. JOHNSON, C. H. and V. J. VANTASSELL (1991): Acute barium poisoning with respiratory failure and rhabdomyolysis. *Ann. Emerg. Med.* 20, 1138–1142.
25. KAŠKONIENĖ, V. and P. R. VENSKUTONIS (2010): Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A Review. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safe* 9, 620–634.
26. KENJERIC, D., M. L. MANDIĆ, LJ. PRIMORAC and F. ČAČIĆ (2007): Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey. *Food Chem.* 110, 187–192.
27. LACHMAN, L., D. KOLIHVOVA, D. MIHOLOVA, J. KOŠATA, D. TITERA and K. KULT (2007): Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chem.* 101, 973–979.
28. LIM, S. R. and J. M. SCHOENUNG (2010): Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays. *J. Hazard. Mat.* 177, 251–259.
29. MACDONALD, T. L. and R. B. MARTIN (1988): Aluminum ion in biological systems. *Trends Biochem. Sci.* 13, 15–19.
30. MORONES-RAMIREZ, J. R., J. A. WINKLER, C. S. SPINA and J. J. COLLINS (2013): Silver enhances antibiotic activity against gram-negative bacteria. *Sci. Translat. Med.* 5, 190ra81.
31. MUÑOZ, E. and S. PALMERO (2006): Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology. *Food Chem.* 94, 478–483.
32. ORHAN, F., B. E. SEKEREL, C. N. KOCABAS, C. SACKESEN, G. ADALIOGLU, and A. TUNCER (2003): Complementary and alternative medicine in children with asthma. *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 90, 611–615.
33. PELLERANO, R. G., M. A. UÑATES, M. A. CANTARELLI, J. M. CAMIÑA and E. J. MARCHEVSKY (2012): Analysis of trace elements in multifloral Argentine honeys and their classification according to provenance. *Food Chem.* 134, 578–582.
34. PERNA, A., I. INTAGLIETTA, A. SIMONETTI and E. GAMBACORTA (2014): Metals in Honeys from Different Areas of Southern Italy. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 92, 253–258.
35. PISANI, A., G. PROTANO and F. RICCOBONO (2008): Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). *Food Chem.* 107, 1553–1560.
36. PURDEY, M. (2004): Chronic barium intoxication disrupts sulphated proteoglycan synthesis: a hypothesis for the origins of multiple sclerosis. *Med. Hypoth.* 62, 746–754.
37. RANAU, R., J. OEHLENSCHLÄGER and H. STEINHART (2001): Aluminium levels of fish fillets baked and grilled in aluminium foil. *Food Chem.* 73, 1–6.
38. RASHED, M. N., and M. E. SOLTAN (2004): Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *J. Food Comp. Anal.* 17, 725–735.
39. REPINC, U. and LJ. BENEDIK (2004): Determination of vanadium in dietary supplements. *Acta Chim. Slov.* 51, 59–65.
40. SHARMA, A. D. (2013): Low Nickel Diet in Dermatology. *Ind. J. Dermatol.* 58, 240.
41. SILICI, S., Ö. D. ULUOZLU, M. TUZEN and M. SOYLAK (2008): Assessment of trace element levels in rhododendron honeys of Black sea Region, Turkey. *J. Hazard. Mat.* 156, 612–618.
42. SILVA, L. R., R. VIDEIRA, A. P. MONTEIRO, P. VALENTÃO and P. B. ANDRADE (2009): Honey from Luso region (Portugal): physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchem. J.* 93, 73–77.
43. SUNDAR, S. and J. CHAKRAVARTY (2010): Antimony toxicity. *International J. Environ. Res. Pub. Health* 7, 4267–4277.
44. TOPORČÁK, J., J. LEGÁTH and J. KUL'KOVÁ (1992): Levels of mercury in samples of bees and honey from areas with and without industrial contamination. *Vet. Med.* 37, 405–412.
45. TUZEN, M. and M. SOYLAK (2005): Heavy metal

- levels in microwave digested honey samples from middle Anatolia, Turkey. J. Food Drug Anal. 13, 343–347.
46. TUZEN, M., S. SILICI, D. MENDIL and M. SOYLAK (2007): Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. Food Chem. 103, 325–330.
47. YARSAN, E., F. KARACAL, I. G. IBRAHIM, B. DIKMEN, A. KOKSAL and Y. K. DAS (2007): Contents of Some Metals in Honeys from Different Regions in Turkey. Bull. Environ. Contamin. Toxicol. 79, 255–258.
48. VAN DER WALLE, H. B. and V. M. BRUNSVELD (1994): Dermatitis in hairdressers. (I). The experience of the past 4 years. Contact Dermatitis 30, 217–221.
49. VANHANEN, L. P., A. EMMERTZ and G. P. SAVAGE (2011): Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. Food Chem. 128, 236–240.

Content of Heavy Metals and Trace Elements in Different Types of Honey from Dubrovnik County

Nina BILANDŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., PhD, Scientific Advisor, Bruno ČALOPEK, Grad. Food Technology Eng., Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ivana VARENINA, Grad. Biotechnology Eng., Đurđica BOŽIĆ LUBURIĆ, Grad. Biotechnology Eng., INES VARGA, Grad. Biotechnology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia; Ivana TLAK GAJGER, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

In this study, six honey types were collected in Dubrovnik County: multifloral, winter savoury (*Saturea montana*), heather (*Erica* spp.), common heather (*Canulla vulgaris*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and sage (*Salvia officinalis*). Concentrations of toxic metals and trace elements (Ag, Al, As, Ba, Cd, Cr, Ni, Pb, Sb, Th, U, V) were analyzed in honey samples using inductively coupled plasma with mass spectrometry (ICP-MS). The concentrations of elements in the six honey types were in the range (mg/kg): Ag 0.089–0.51; Al 708–15467; As 1.29–4.02; Ba 37.4–133; Cd 0.69–12.8; Cr 3.75–22.3; Ni 5.59–30.8; Pb 5.43–11.3; Sb 0.44–0.96; Th 0.013–0.41; U 0.091–0.23; V 1.95–3.70. The highest concentrations of Al (15467 µg/kg), Cd (12.8 µg/kg) and Ni (453 µg/kg) were determined in winter savoury honey. The lowest concentrations of Al, As, Ni and Th were measured in heather honey, while rosemary honey had the lowest concentrations of Ag, Ba, and Cd. The highest concentrations of Pb (11.3 µg/kg) and Cr (22.3 µg/kg) were determined in multifloral honey. The concentrations of Sb, U and V were similar for all honey types. Sage honey contained 4 to 22 times

higher concentration of Ag (2.01 µg/kg) than other honey types. This study is one of the few studies to report on trace elements in monofloral honey types specific for the Mediterranean and sub-Mediterranean regions. Comparison of the obtained concentrations with previous studies demonstrated significant differences between the concentration of elements in different monofloral honey types due to botanical differences and geographical location or country of origin of the honey. The greatest impact on the accumulation of elements in honeys was found to be the composition of pollen and nectar, together with other factors such as climate and soil characteristics. Since the soil of Dubrovnik County is characterized by high contents of Al, Cd, Cr, Ni, Pb, Th and V or low As and Ba levels, the individual high or low concentrations of these elements in the honey types can be explained by the element content in the soil of the region. Differences in the metal content between the examined honey types also confirmed the crucial importance of botanical origin on element content.

Key words: metals, trace elements, multifloral honey, monofloral honey, Dubrovnik County

Kompjutorizirana tomografija u dijagnostici fragmentiranog medijalnog koronoidnog izdanka (MKI-a) u pasa



Mensur Šehić, Milan Matko, Zoran Vrbanc i Hrvoje Capak

Uvod

Prve kliničke i rendgenografske znake fragmentiranog medijalnog izdanka lakta pasa opisao je Olsson (1974.). Prije njega objavljeni su članci o degenerativnim oboljenjima lakta za koja se smatralo da pripadaju primarnoj osteoartrози ili su posljedica izoliranog ankonealnog izdanka. U retrospektivnim analizama takozvanog sindroma displazije lakta, sadržaj rentgenografskih analiza ukazuje na fragmentarni koronoidni izdanak (Henry, 1984.). Godine 1976. Olsson je upotrijebio izraz fragmentirani koronoidni izdanak. Taj naziv je pogodniji nego izolirani koronoidni izdanak, zbog toga što koronoidni izdanak ne potječe od izdvojene jezgre osifikacije.

Patološke promjene na medijalnom koronoidnom izdanku (MKI) ulne često se pojavljuju sa šepavosti mladih većih pasmina pasa s većom tjelesnom težinom. Istraživanjem je ta bolest potvrđena i u bigla, šetlandskog ovčara i pomeranija. Fragmentirani koronoidni izdanak najčešće se pojavljuje kod labrador retrivera, rotvajlera, zlatnog retrivera, njemačkog ovčara, bernskog brdskog

psa. Učestalost pojave tih patoloških promjena je veća u mužjaka, nego u ženki i češće se nalaze bilateralno. Pretpostavlja se da je ta bolest genetskog podrijetla.

Te patološke promjene imaju oblik osteohrskavičnih fragmenata koji su uglavnom smješteni na vrhu ili srednjem dijelu trupa MKI-a i one se opisuju kao fragmentirani medijalni koronoidni izdanak. Osim toga može biti vidljiva fisura u zgloboj hrskavici duž medijalnog koronoidnog izdanka s različitim stupnjevima uzuriranosti zahvaćenog MKI-a, ili se te promjene mogu naći i na suprotnoj površini medijalnog dijela kondila humerusa (Grøndalen and Grøndalen, 1981., Van Ryssen and van Bree, 1997.).

Kod dijagnostike šepavosti često se upotrebljava konvencionalna rendgenografija za prikaz zglobova lakta, no ta metoda ne pruža potrebne dijagnostičke podatke kod utvrđivanja patoloških promjena na MKI-u i na kondilu humerusa (Olsson, 1983., Wosar i sur., 1999., Houdiquet i sur., 2002.). Dijagnoza fragmentiranog koronoidnog

Dr. sc. Mensur ŠEHIĆ, dr. med. vet., profesor emeritus, dr. sc. Zoran VRBANAC, dr. med. vet., dr. sc. Hrvoje CAPAK, dr. med. vet., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Milan MATKO, dr. med. vet., Veterinarska bolnica, Topolšica, Slovenija

izdanka se često postavlja na osnovu sekundarnih promjena, kao što su periartikularni osteofiti i osteoskleroza (Carpenter i sur., 1993., Burton i sur., 2007.). Za otkrivanje patoloških promjena fragmentiranog MKI-a kompjutorizirana tomografija (CT) daje znatno veće dijagnostičke mogućnosti u odnosu prema konvencionalnoj rendgenografiji (Carpenter i sur., 1993., Richle i sur., 2000., Rovesti i sur., 2002.). Slike CT-a daju detaljni prikaz koštane strukture, ali ne i razlučivanje hrskavice u odnosu prema mekim dijelovima, što je moguće prikazati oslikavanjem magnetskom rezonancijom (Snaps i sur., 1999.).

Učestalost CT pojava patoloških nalaza u lakatnom zglobu pasa koji su pokazivali šepavost opisana je u 102 lakta kod 51 psa (Richle i sur., 2000.). U tim istraživanjima patološki nalazi uključuju sklerozu medijalnog koronoidnog izdanka (95%), nepravilne radijalne usjekline ulne (83%), periartikularne osteofite (74%), fragmentirani medijalni koronoidni izdanak (28%), nalazi fisura na patološki promijenjenom MKI-u (27%) i subhondralna prozračnost medijalnog dijela kondila humerusa (16%). Te su patološke promjene oslikane, ali nije priopćena konačna dijagnoza artikularnih promjena.

Drugo istraživanje kod 12 pasa s različitim patološkim zbivanjima u laktu uključuju osam njih kod kojih su kirurški utvrđeni fragmenti MKI-a (Rovesti i sur., 2002.). U tim laktovima CT znaci fragmentiranih koronoidnih izdanaka nisu se podudarali s kirurškim nalazima, zbog toga što CT nalazi nisu detaljno opisani.

Nedavno su objavljeni rezultati istraživanja CT nalaza u odnosu prema artroskopiji kod 101 zglobova laktova pasa koji su pokazivali šepavosti (Moore i sur., 2008.). Analizom CT slika utvrđene su signifikantne pojave s artroskopskim nalazima: dislociranih medijalnih koronoidnih fragmenata, uzuriranja hrskavica zahvaćenih medijalnih koronoidnih izdanaka i uzuriranja zahvaćenih kondila humerusa. CT nalazi nepravilnih radijalnih uzuriranja ulne bili

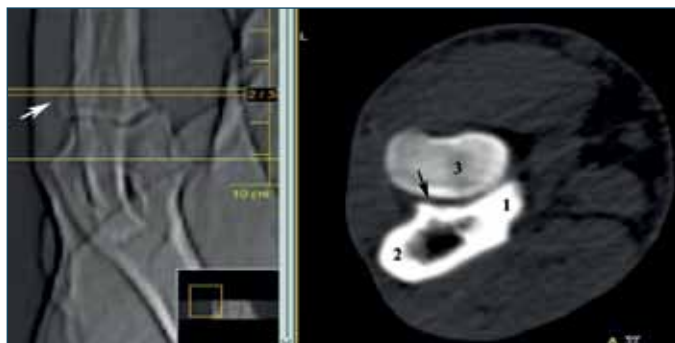
su signifikantni s pojavama uzuriranja hrskavice zahvaćenog MKI-a. Bila je i umjerena korelacija između veličine osteofita i težine promjena uzuriranja hrskavice u medijalnom dijelu lakta (Moore i sur., 2008.). Groth i sur. (2009.) daju detaljne CT nalaze u 58 pas s fragmentiranim MKI-om. Svrha tih istraživanja bila je da se istakne više detalja u CT slikama u pasa kod kojih su artroskopski utvrđene fragmentacije MKI-a.

Materijali i metode

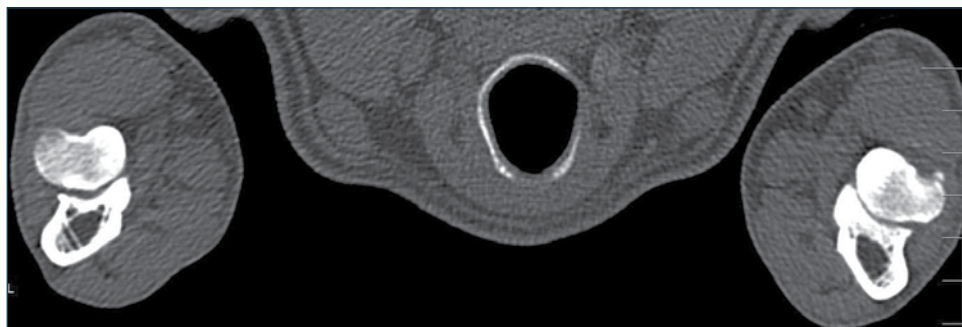
Nakon obavljenih kliničkih pretraga pasa koji su pokazivali lakatne šepavosti, načinjene su CT slike oba lakta u dorzalnom položaju. Analizom slika oba lakta detaljnije je pretražen onaj lakat koji je pokazivao promjene strukture. Kod pojedinih pasa izvršene su artroskopije kao i artroskopski zahvati.

CT presjeci obavljeni su spiralnim CT uređajem "Somatom" (Siemens) kod pacijenata u Veterinarskoj bolnici Topolšica (Republika Slovenija). Svi su psi bili dublje sedirani ili anestetizirani. Psi su postavljeni u sternalni položaj s ekstenziranom laktovima. Debljina CT rezova bila je od 1,5 do 2,5 mm u koštanom algoritmu (Slika 1).

Poprečni rezovi upotrijebljeni su za multiplanarnu rekonstrukciju (MPR) da se dobiju slike u dorzalnom i sagitalnom prikazu. Kod analize laktova bili su sljedeći znaci: fisura, fragmentacija, skleroza i/ili smanjena gustoća sjene MKI-a, promjena oblika medijalnog koronoidnog izdanka, zatim subhondralna skleroza trohlearnog udubljenja, nepravilna radijalna usjeklina ulne, skleroza medijalnog dijela kondila humerusa i periartikularni osteofiti. Dijagnoza pojave fragmenata razmatrana je na osnovu kalcificiranih struktura koje se pojavljuju odvojeno od susjedne kosti. Fisura se utvrđuje prisutnošću uže i/ili slabije nepotpune prozračne linije na medijalnom koronoidnom izdanku u jednoj ili u više CT slika. Naznačene su veličine i broj fragmenata. Sklerotične promjene MKI-a, polumjesečastog usjeka ulne i kondila humerusa procijenjeni su subjektivno u odnosu prema susjednoj



Slika 1. Na topogramu kursorom označeno je mjesto poprečnog presjeka (strijelica) lijeve podlaktice. Na poprečnom presjeku vide se radius [3] i ulna [1- *processus coronoideus*; 2 - *olecranon*]. Strelica pokazuje proksimalnu radioulnarnu artikulaciju.



Slika 2. Poprečni prikazi oba lakta u ravninama MKI-a

kosti kao referentnoj vrijednosti. Osteofiti su procijenjeni prema oblicima i njihovim veličinama. Inkongruencija zgloba analizirana je na slikama u multiplanarnoj rekonstrukciji (MPR).

Rezultati

Oslikavanje laktova kompjutoriziranom tomografijom obavljeno je kod 48 pasa različitih pasmina. CT-om su istodobno prikazana oba lakta (Slika 2). Česti su asimetrični prikazi laktova zbog iskrivljenih položaja pacijenata u vrijeme snimanja.

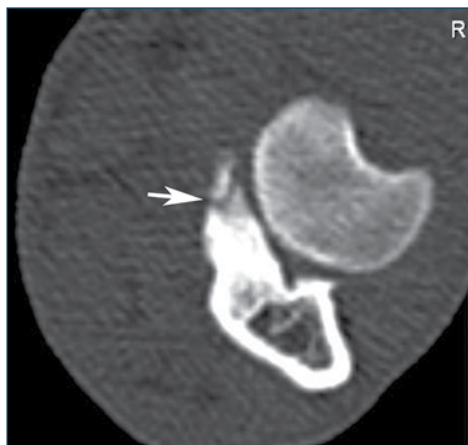
U našim slučajevima ustvrdili smo različite CT promjene na laktima zahvaćenih MKI-a. One se očituju u vidu fisura (slika 3), fragmentacija, skleroza i/ili smanjenja gustoće sjene MKI-a, promjena oblika MKI-a, zatim subhondralna skleroza trohlearnog udubljenja, nepravilna radijalna usjeklina ulne, skleroza medijalnog dijela kondila humerusa i periartikularni osteofiti.

Na slikama su prikazani i nedislocirani (Slika 4) i dislocirani fragmenti MKI-a (Slika 5). Fragmenti isto tako variraju prema broju i smještaju. Veličine fragmenata se kreću između 1 i 10 mm. Veći broj fragmenata zadržao se uz odgovarajući defekt lateralnog dijela MKI-a, no neki od njih dislociran je kranijalno.

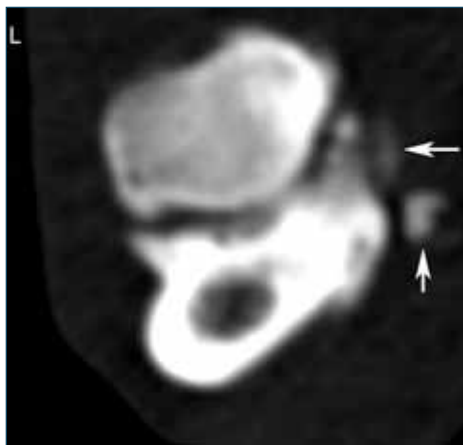
U poprečnim presjecima susreću se promjene oblika MKI-a, zatim skleroza, smanjena gustoća sjene kosti zahvaćenog MKI-a, nepravilna radijalna incizura ulne i poput cista subhondralne promjene (Slika 6). Utvrđeni su periartikularni osteofiti različitih veličina istodobno s dislociranim i nedislociranim fragmentima.

Zaključak

Konvencionalna rendgenografija često se upotrebljava kod pretrage lakatnog zgloba šepavih pasa, no ona je nedostatna kod otkrivanja finih promjena na medijalnom koronoidnom izdanku



Slika 3. Strelica pokazuje mjesto fisure preko vrha MKI-a desnog lakta



Slika 5. Multipli kranijalno dislocirani fragmenti MKI (strelice) lijevog lakta



Slika 4. Jedan izdvojeni veći fragment između lateralnog dijela MKI i proksimalnog radijusa desnog lakta



Slika 6. Nepravilna radijalna incizura ulne i poput cista subhondralne promjene (glave strelica)

(MKI) i kondilima humerusa. Dijagnoza fragmentiranog koronoidnog izdanka ulne se često postavlja na osnovu sekundarnih promjena, kao što su periartikularni osteofiti i osteoskleroza. Za otkrivanje patoloških promjena fragmentiranog medijalnog koronoidnog izdanka, kompjutorizirana tomografija (CT) daje znatno veće dijagnostičke mogućnosti u odnosu prema konvencionalnoj rendgenografiji. Slike kompjutorizirane tomografije (CT) daju detaljni prikaz koštane strukture, ali ne i razlučivanje hrskavice u odnosu prema

mekim dijelovima, što je moguće prikazati oslikavanjem magnetskom rezonancijom. Patološke promjene u lakatnom zglobu dijagnosticirane kompjutoriziranom tomografijom (CT) pasa koji su pokazivali šepavost, uključuju sklerozu medijalnog koronoidnog izdanka, nepravilne radijalne usjekline ulne, periartikularne osteofite, fragmentirani medijalni koronoidni izdanak ulne, nalaze fisura na patološki promijenjenom medijalnom koronoidnom izdanku ulne i subhondralnu prozračnost medijalnog dijela kondila humerusa.

Sažetak

Knovencionalna se rendgenografija često upotrebljava kod pretrage lakatnog zgloba šepavih pasa, no ona je nedostatna kod otkrivanja fi njih promjena na MKI-u i kondilima humerusa. Dijagnoza fragmentiranog koronoidnog izdanka ulne često se postavlja na osnovu sekundarnih promjena, kao što su periartikularni osteofiti i osteoskleroza. Za otkrivanje patoloških promjena fragmentiranog medijalnog koronoidnog izdanka, CT daje znatno veće dijagnostičke mogućnosti u odnosu prema konvencionalnoj rendgenografiji. Slike CT-a daju detaljni prikaz koštane strukture, ali ne i razlučivanje hrskavice u odnosu prema mekim dijelovima, što je moguće prikazati oslikavanjem magnetskom rezonancijom. Patološke promjene u lakatnom zglobu dijagnosticirane CT-a pasa koji su pokazivali šepavost, uključuju sklerozu MKI-a, nepravilne radijalne usjekline ulne, periartikularne osteofite, fragmentirani medijalni koronoidni izdanak ulne, nalaze fisura na patološki promijenjenom MKI-u ulne i subhondralnu prozračnost medijalnog dijela kondila humerusa.

Ključne riječi: pas, lakatni zglob, kompjutorizirana tomografija, fragmentirani medijalni koronoidni izdanak

Literatura

- BURTON, N. J., E. J. COMERFORD, M. BAILEY, M. J. PEAD and M. R. OWAN (2007): Digital analysis of ulnar trochlear notch sclerosis in Labrador retrievers. J. Small Anim. Pract. 48, 220-224.
- CARPENTER, L. G., P. D. SCHWARZ, J. E. LOWRY, R. D. PARK and P. F. STEYN (1993): Comparison of radiologic imaging techniques for diagnosis of fragmented medial coronoid process of the cubital joint in dogs. JAVMA 203, 78-83.
- GRØNDALLEN, J. and T. GRØNDALLEN (1981): Arthrosis in the elbow joint of young rapidly growing dogs. V. A pathoanatomical investigation. Nordics Veterinaermedicin. 33, 1-16.
- GROTH, A. M., L. BENIGNI, A. P. MOORES and C. R. LAMB (2009): Spectrum of computed tomographic findings in 58 canine elbows with fragmentation of the medial coronoid process. Journal of Small Animal Practice 50, 15-22.
- HOUDIQUE, P. R., D. J. MARCELLUN-LITTLE and M. E. STEBBINS (2002): Use of distomedial-proximalateral oblique radiographic view of the elbow joint for examination of the medial coronoid process in dogs. Am. J. Vet. Res. 63, 1000-1005.
- MOORES, A. P., L. BENIGNI and C. R. LAMB (2008): Computed tomography versus arthroscopy for the detection of the canine elbow dysplasia lesions. Vet. Surg. 37, 490-498.
- OLSSON, S. E. (1983): The early diagnosis of the fragmented coronoid process and osteochondritis dissecans of the canine elbow joint. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 10, 616-626.
- OLSSON, S. E. (1974): En ny typ av armbagsledsdysplasi hos hund? En preliminar rapport. Svensk. Vet. Tidn. 5, 152.
- OLSSON, S. E. (1976): Osteochondrosis - A growing problem to dog breeders. Gaines Progress 1, 32-34.
- REICHLE, J. K. et al. (2000): Computed tomography findings of dogs with cubital joint lameness. Vet. Radiol. & Ultrasound 41, 125-130.
- ROVESTI, G. L. et al. (2002): The use of computed tomography in the diagnostic protocol of the elbow in the dog: 24 joints. Vet. Comp. Orthoped. Traumatol. 15, 35-43.
- SNAPS, F. R. et al. (1999): Magnetic resonance arthrography of the cubital joint in the dog affected with fragmented medial coronoid processes. Am. J. Vet. Res. 60, 190-193.
- VAN RYSEN, B. and H. VAN BREE (1997): Arthroscopic findings in 100 dogs with elbow lameness. Vet. Rec. 140, 360-362.
- WOSAR, M. A. et al. (1999): Radiographic evaluation of elbow joints before and after surgery in dogs with possible fragmented medial coronoid process. JAVMA 214, 52-58.

Computed Tomography in the Diagnosis of Fragmented Medial Coronoide Process (MCP) in Dogs

Mensur ŠEHIĆ, DVM, PhD, Professor Emeritus, Zoran VRBANAC, DVM, PhD, Senior Assistant, Hrvoje CAPAK, DVM, PhD, Senior Assistant, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Milan MATKO, DVM, Veterinary Hospital, Topolšica, Slovenia

Survey radiography is widely used to examine the elbow joints of lame dogs, but it is relatively insensitive for lesions affecting the MCP and humeral condyle. The objective of this study was to identify the incidence of abnormal computed tomography (CT) findings in 48 dogs with lameness of one or both elbows. Frequently encountered

abnormalities included a fragmented medial coronoid process, abnormal shape and sclerosis of the medial coronoid process of the ulna, irregularity of the radial incisure of the ulna, and ulnar trochlear notch sclerosis.

Key words: canine, cubital joint, computed tomography, fragmented medial coronoid process

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil[®] Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

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

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

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

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

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

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

Patofiziologija metaboličkog sindroma konja

Mirna Robić, Maja Belić i Romana Turk



Uvod

U posljednjih je dvadesetak godina u humanoj medicini ustanovljeno da promjena načina života sa smanjenom tjelesnom aktivnošću i neodgovarajućom i preobilnom prehranom dovodi do pojave pretilosti i s pretilošću povezanih patofizioloških procesa (Kaplan, 1989.) koji se prepoznaju kao metabolički sindrom ili sindrom X, a čini ih prisutnost tri od pet dijagnostičkih kriterija: abdominalni tip pretilosti, hipertenzija, hipertrigliceridemija, povišeni trigliceridi i snižena razina HDL kolesterola. Istodobno s epidemijskom pojavom pretilosti u ljudi, sve je veća pojava pretilosti kod domaćih životinja, uključujući konje, kao i prepoznavanje patoloških stanja koja se mogu razviti kao posljedica pretilosti (Johnson i sur., 2009.).

Metabolički sindrom konja predstavljaju pretilost, inzulinska rezistencija i laminitis ili predispozicija laminitisu, a dodatne komponente fenotipa metaboličkog sindroma konja uključuju: hipertrigliceridemiju ili dislipidemiju, hiperleptinemiju, arterijsku hipertenziju, poremećaje reproduktivnog ciklusa kod kobila i povišene sustavne biljege upale u krvi (Frank i sur., 2010.).

Pretilost

Pretilost Svjetska zdravstvena organizacija definira kao stanje prekomjernog nakupljanja masnog tkiva s pogubnim utjecajem na zdravlje (Anonymus, 2012.). Kod konja se pretilost dijagnosticira skoriranjem tjelesne kondicije (Carrol i Huntington, 1988.) i određivanjem debljine masnog tkiva na predilekcionim mjestima (oko nuhalnog ligamenta na vratu, uz korijen repa, između ramena ili u području vimena) koje se pokazalo korisnim u procjeni ukupne količine tjelesnih masti u organizmu (Frank i sur., 2010.).

Kada masne stanice dosegnu maksimalni kapacitet skladištenja lipida, stvara se podloga za zbivanja koja uključuju upalna i hipoksična oštećenja. Do hipoksičnih oštećenja dolazi budući da promjer lipidima prekranih adipocita prelazi duljinu 100 μ m pa kisik ne može do njih difundirati. Nadalje, endotel krvnih žila u masnom tkivu ne odgovara na stimulaciju dušičnog oksida pa je smanjen njegov vazodilatacijski učinak. Uslijed hipoksije smanjena je i funkcija mitohondrija, dolazi do nekrotičnih promjena na adipocitima i oslobađanja proupalnih citokina koji djeluju kao ke-

Dr. sc. Mirna ROBIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Maja BELIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Romana TURK, mag. med. biochem., docentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

moatraktanti za makrofage. Upalni medijatori koji se stvaraju u masnom tkivu od strane samih adipocita, kao i djelovanjem upalnih stanica, djeluju lokalno i na udaljena područja u organizmu (Fantuzzi, 2005.).

Povišena razina upalnih citokina kod pretilosti može dovesti do samoobnavljajućih ciklusa upale u masnom tkivu, pojačane sinteze adipokina i pojačane sinteze proteina akutne faze te je u ljudi pretilost praćena kroničnim upalnim stanjem (Rasouli i Kern, 2008.).

Masno se tkivo dugo smatralo inertnim organom, međutim danas je poznato da je endokrinološki vrlo aktivno, izlučuje adipokine: leptin, rezistin, adiponektin, visfatin, apelin te proupalne citokine: čimbenik nekroze tumora alfa, interleukine 1, 6 i 8 (Ouchi i sur., 2011.). Leptin je hormon koji proizvodi bijelo masno tkivo, a interakcija leptina s receptorom u hipotalamusu regulira osjećaj sitosti (Meier i Gresner, 2004.). Koncentracija leptina je povišena kod ekvida koji su pretili (Buff i sur., 2002.). Adiponektin je hormon s brojnim učincima, uključujući povećanu oksidaciju masnih kiselina i toleranciju na glukozu (Shehzad i sur., 2012.). Koncentracija adiponektina u pretilih je konja smanjena. Leptin i adiponektin imaju izravne učinke na krvožilni endotel i neizravne učinke preko modulacije osjetljivosti na inzulin, uz to adiponektin djeluje kao protuupalni agens i antagonizira djelovanje upalnih citokina na endotel (Tilg i Wolf, 2005.), a leptin djeluje proupalno i potiče aktivaciju endotela i stvaranje slobodnih radikala koji oštećuju endotel (Korda i sur., 2008.).

Pretilost u konja ima i drugih štetnih posljedica: umanjuje intenzitet tjelesne aktivnosti (Lawrence i sur., 1992.), utječe na termoregulaciju (Cymbaluk i Christison, 1990.), povećava se učestalost mezenteričnih lipoma (Garcia-Seco i sur., 2005.) a javljaju se i poremećaji reprodukcije u kobila (Vick i sur., 2006.).

Inzulinska rezistencija

Inzulinska rezistencija označava poremećaje u signalizaciji inzulina, uključujući smanjenu aktivnost inzulinskog receptora tirozin kinaze i smanjenu postreceptornu fosforilaciju, što utječe na metaboličke i krvožilne učinke inzulina (Kashyp i Defronzo, 2007.). U inzulinskoj rezistenciji sudjeluje i oksidativni stres, budući da reaktivni metaboliti kisika oštećuju receptorni protein prijenosnik glukoze u stanice (GLUT4). U konja s inzulinskom rezistencijom ustanovljena je značajno manja ekspresija GLUT4 na površini mišićnih i masnih stanica (Waller i sur., 2011.). Inzulinska rezistencija u konja može biti kompenzirana ili dekompenzirana. Kompenzirana inzulinska rezistencija označava stanje u kojem gušterača proizvodi više inzulina, a što u kombinaciji sa smanjenim klirinsum inzulina vodi u hiperinzulinemiju (De Graaf-Roelfsema, 2014.). Dekompenzirana inzulinska rezistencija karakterizira se iscrpljivanjem gušterače, hipoinzulinemijom i dijabetesom tipa II, koji se u konja rijetko javlja (Durham i sur., 2009.). Kod metaboličkog sindroma konja ključnu ulogu ima kompenzirana inzulinska rezistencija s hiperinzulinemijom (Frank i Tadors, 2014.), a hiperinzulinemija može pogoršati inzulinsku rezistenciju.

Laminitis

Pod laminitisom podrazumijevamo upalni proces koji zahvaća lamalarnu površinu specijalizirane dermoepidermalne veze za koju se prihvata čahura kopita s vezivnim tkivom i distalnom falangom (Bailey i sur., 2004.). Upalni proces i oštećenja lamelarne površine kopita može kao posljedicu imati rotaciju distalne falange. Klinički se laminitis očituje šepavošću.

Laminitis se eksperimentalno može izazvati prekomjernim unosom lakoprobavljivih ugljikohidrata (Eades i sur.,

2007.) što utječe na mikrofloru debelog crijeva, dovodi do povećanog stvaranja mliječne kiseline i povećava propustljivost crijeva, a pojačana je proizvodnja egzo i endotoksina, vazoaktivnih amina i ostalih bakterijskih proizvoda, koji potom započinju sustavni upalni odgovor koji okida laminitis (Bailey i sur., 2004.).

Mehanizmi koji su uključeni u razvoj laminitisa u metaboličkom sindromu konja su poznati, iako još uvijek nije potpuno jasno u kojoj su mjeri odgovorni za razvoj bolesti (Ertlet i sur., 2014.).

Laminitis tijekom metaboličkog sindroma konja nastaje kao posljedica krvožilnih disfunkcija (Katz i Bailey, 2012.). Primarni inzult kod laminitisa koji nastaje u sklopu metaboličkog sindroma konja odnosi se dakle na promjene u funkciji krvnih žila pod utjecajem hiperinzulinemije, budući da visoka koncentracija inzulina dovodi do poremećaja tonusa krvnih žila kopita i smanjene prokrvljenosti (Venugopal i sur., 2014.). U odgovoru tkiva na inzulin u normalnim uvjetima poveća se sinteza dušičnog oksida od strane endotelnih stanica uzrokujući vazodilataciju, međutim istraživanja inzulinske rezistencije u ljudi ukazala su da je put sinteze dušičnog oksida preko aktivacije fosfadilinozitol-3 kinaze inhibiran (Muniyappa i sur., 2008.). Stoga izostaje vazodilatatorni učinak dušičnog oksida. Nadalje, inzulin može izazvati i vazokonstrikciju preko stimulacije simpatikusa i aktivacijom puta mitogen aktivirane protein-kinaze (Muniyappa i sur., 2008.). Tako vazokonstrikcija u životinja s inzulinskom rezistencijom i hiperinzulinemijom dovodi do smanjene sposobnosti krvnih žila kopita da odgovore na krvožilne stimulanse. Kao drugi mogući uzrok mehanizma nastanka laminitisa u konja s metaboličkim sindromom navodi se ekspresija endotelinskog receptora (ETR-1) (Gauff i sur., 2014.). Endotelin, proizvod stanica krvožilnog endotela je snažan vazokonstriktor, koji se veže za

dva receptora: ETRA i ETRB. Receptor ETRA nalazi se prvenstveno u glatkim mišićima krvnih žila i u ljudi izaziva rast i kontrakcije glatkih mišićnih stanica krvnih žila, dovodeći do hipertenzije (Mazzuca i Khalil, 2012.). Istraživanja Gauff i sur. (2014.) u konja s hiperinzulinemijom ukazuju da je moguće da je vazokonstriktivni učinak inzulina posljedica aktivacije ETRA receptora u glatkim mišićnim stanicama krvnih žila.

Krvožilna disfunkcija dovodi do pojačane adhezije trombocita i leukocita (Geor i Frank, 2009.) i migracije leukocita u lamelarna tkiva (Eades i sur., 2007.). Ulazak neutrofila u tkivo dovodi i do oštećenja samog tkiva uslijed djelovanja enzima, od kojih su u patogenezi laminitisa najvažnije mijeloperoksidaza (Riggs i sur., 2007.) i metaloproteinaze, koje izlučuju i monociti. Metaloproteinaze olakšavaju migraciju stanica i remodeliranje tkiva, ali su i potencijalni medijator ozljede lamelarnog tkiva (Lunn i Hurley, 2009.).

Osim toga, ustanovljeno je da inzulin može imati i izravni učinak na epidermalne stanice lamelarnog tkiva preko signalizacijskih puteva inzulinu sličnog čimbenika rasta-1 (IGF-1) (De Laat i sur., 2013.), polipeptida koji dovodi do stanične proliferacije i sudjeluje u procesima rasta i cijeljenja. Inzulinska stimulacija receptora za inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (IGF1R) dovodi do neadekvatne proliferacije lamelarnih epidermalnih stanica i slabljenja lamelarnih struktura s posljedičnom upalom (De Laat i sur., 2013.).

Dijagnostika i liječenje

Dijagnoza se postavlja na temelju anamneze, kliničke pretrage, procjene rendgenograma kopita i laboratorijskih pretraga glukoze i inzulina u krvi. U većine konja s metaboličkim sindromom ustanovi se normoglikemija s hiperinzulinemijom (Johnson i sur., 2012.). Ukoliko nema

znakova laminitisa preporučuje se smanjenje tjelesne težine promjenom prehrane koja uključuje snižavanje glikemijskog indeksa u obroku i postupnim povećanjem tjelesne aktivnosti (Frank i sur., 2010.). U protivnom treba najprije izliječiti laminitis. U liječenju metaboličkog sindroma konja mogu se koristiti lijekovi koji povećavaju osjetljivost na inzulin i pomažu smanjivanju tjelesne težine kao što je natrij levotiroksin (Frank i sur., 2010.) te metformin koji povećava aktivnost inzulina, inhibira glukogenezu i oksidaciju masnih kiselina u jetri i smanjuje crijevnu apsorpciju glukoze (Giannarelli i sur., 2003.).

Sažetak

Promjena načina života i prehrane u ljudi i životinja unatrag dvadesetak godina dovela je do epidemijske pojave pretilosti i s njome povezanih patoloških procesa. Metabolički sindrom kod ljudi uključuje pretilost, hipertrigliceridemiju i dislipidemiju, hipertenziju, porast biljega upale, povećan rizik nastanka šećerne bolesti tipa II, kardiovaskularnih bolesti, infarkta miokarda i moždanog infarkta i niza drugih kroničnih bolesti. U konja je prepoznat metabolički sindrom koji čine pretilost, inzulinska rezistencija i laminitis, a naziv je preuzet zbog nekih sličnosti s metaboličkim sindromom kod ljudi. Prekomjerno nakupljanje masnog tkiva kod metaboličkog sindroma konja dovodi do porasta plazmatske koncentracije upalnih citokina i nekih adipokina koji predisponiraju nastanku inzulinske rezistencije. Kod oboljelih konja inzulinska rezistencija je najčešće kompenzirana, s normalnom koncentracijom glukoze u krvi a povišenom koncentracijom inzulina. Stoga se kod konja, za razliku od ljudi, rjeđe javlja šećerna bolest tipa II. Povišena koncentracija inzulina u metaboličkom sindromu konja dovodi do poremećaja sposobnosti krvnih žila da odgovore na krvožilne stimulanse, pojačane vazokonstrikcije i smanjene oksigenacije lamelnog tkiva kopita, pojačane stimulacije receptora za inzulinu sličan čimbenik rasta-1 i posljedičnom neadekvatnom proliferacijom lamelnih epidermalnih stanica. Oba stanja

promoviraju upalni proces s ulaskom trombocita i neutrofilnih granulocita i monocita i porastom aktivnosti enzima upalnih stanica i pojačanim stvaranjem reaktivnih metaboličkih kisika, koji dodatno oštećuju lamelarno tkivo, što sve zajedno dovodi do laminitisa koji se klinički manifestira šepanjem. Metabolički sindrom konja liječi se promjenom načina prehrane i povećanjem tjelesne aktivnosti u svrhu smanjenja tjelesne težine uz eventualnu primjenu lijekova koji povećavaju aktivnost inzulina i osjetljivost tkiva na inzulin.

Ključne riječi: metabolički sindrom, inzulinska rezistencija, pretilost, laminitis, konj

Literatura

1. Anon. (2012): Obesity and overweight. Fact Sheet No. 311. World Health Organization.
2. BAILEY, S. R., C. M. MARR and J. ELLIOTT (2004): Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. *Vet. J.* 167, 129-142.
3. BUFF, P. R., A. C. DODDS, C. D. MORRISON, C. D., N. C. WHITLEY, E. L. McFADIN, J. A. DANIEL, J. DJIANE and D. H. KEISLER (2002): Leptin in horses: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. *J. Anim. Sci.* 80, 2942-2948.
4. CARROLL, C. L. and P. J. HUNTINGTON (1988): Body condition scoring and weight estimation of horses. *Equine Vet. J.* 20, 41-45.
5. CYMBALUK, N. F. and G. L. CHRISTISON (1990): Environmental effects on thermoregulation and nutrition of horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 6, 355-372.
6. DE GRAAF-ROELFSEMA, E. (2014): Glucose homeostasis and the enteroinsular axis in the horse: A possible role in equine metabolic syndrome. *Vet. J.* 199, 11-18.
7. De LAAT, M. A., C. C. POLLITT, M. T. KYAW-TANNER, C. M. McGOWAN and M. N. SILENCE (2013): A potential role for lamellar insulin-like growth factor-1 receptor in the pathogenesis of hyperinsulinaemic laminitis. *Vet. J.* 197, 302-306.
8. DURHAM, A. E., K. J. HUGHES, H. J. COTTLE, D. I. RENDLE and R. C. BOSTON (2009): Type 2 diabetes mellitus with pancreatic beta cell dysfunction in three horses confirmed with minimal model analysis. *Equine Vet. J.* 41, 924-929.
9. EADES, S. C., A. M. STOKES, P. J. JOHNSON, C. J. LeBLANC, V. K. GANJAM, P. R. BUFF and R. M. MOORE (2007): Serial alterations in digital hemodynamics and endothelin-1 immunoreactivity, platelet-neutrophil aggregation, and concentrations of nitric oxide, insulin, and glucose in blood obtained from horses following carbohydrate overload. *Am. J. Vet. Res.* 68, 87-94.
10. ERTLET, A., A. BARTON, R. R. SCHMITZ and H. GEHELEN (2014): Metabolic syndrome: is equine

- disease comparable to what we know in humans? *Endocrine Connections* 3, R81–R93.
11. FANTUZZI, G. (2005): Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115, 911–919.
12. FRANK, N., R. J. GEOR, S. R. BAILEY, A. E. DURHAM and P. J. JOHNSON (2010): Equine metabolic syndrome. *J. Vet. Int. Med.* 24, 467–475.
13. FRANK, N. and E. M. TADROS (2014): Insulin dysregulation. *Equine Vet. J.* 46, 103–112.
14. GARCIA-SECO, E., D. A. WILSON, J. KRAMER, K. G. KEEGAN, K. R. BRANSON, P. J. JOHNSON and J. W. TYLER (2005): Prevalence and risk factors associated with outcome of surgical removal of pedunculated lipomas in horses: 102 cases (1987–2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226, 1529–1537.
15. GAUFF, F. C., B. PATAN-ZUGAJ and T. F. LICKA (2014): Effect of short-term hyperinsulinemia on the localization and expression of endothelin receptors A and B in lamellar tissue of the forelimbs of horses. *Am. J. Vet. Res.* 75, 367–374.
16. GEOR, R. and N. FRANK (2009): Metabolic syndrome – From human organ disease to laminar failure in equids. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 129, 151–154.
17. GIANNARELLI, R. M., M. ARAGONA, A. COPPELLI and S. DEL PRATO (2003): Reducing insulin resistance with metformin: the evidence today. *Diabetes. Metab.* 29 (4 Pt 2): 6S28–35.
18. JOHNSON, P. J., C. E. EIDMEYER, N. T. MESSER and V. K. GANJAM (2009): Medical implications of obesity in horses: Lessons for human obesity. *J. Diabetes Sci. Technol.* 3, 163–174.
19. JOHNSON, P. J., C. E. WEIDMEYER, A. LACARUBBA, V. K. GANJAM and N. T. MESSER (2012): Diabetes, Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Horses. *J. Diabetes Sci. Technol.* 6, 534–539.
20. KAPLAN, N. M. (1989): The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch. Int. Med.* 149, 1514–1520.
21. KASHYAP, S. R. and R. A. DEFRONZO (2007): The insulin resistance syndrome: physiological considerations. *Diab. Vasc. Dis. Res.* 4, 13–19.
22. KATZ, L. M. and S. R. BAILEY (2012): A review of recent advances and current hypotheses on the pathogenesis of acute laminitis. *Equine Vet. J.* 44, 752–761.
23. KORDA, M., R. KUBANT, S. PATTON and T. MALINSKI (2008): Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 295, H1514–H1521.
24. LAWRENCE, L. M., S. JACKSON, K. KLINE, L. MOSER, D. POWEL and M. BIEL (1992): Observations on body weight and condition of horses in 150-mile endurance ride. *J. Equine Vet. Sci.* 12, 320–324.
25. LUNN, D. P. and D. J. HURLEY (2009): The role of leukocyte biology in laminitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 129, 158–160.
26. MAZZUCA, M. Q. and R. A. KHALIL (2012): Vascular endothelin receptor type B: structure, function and dysregulation in vascular disease. *Biochem. Pharm.* 84, 147–162.
27. MEIER, U. and A. M. GRESSNER (2004): Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin. Chem.* 50, 1511–1525.
28. MUNIYAPPA, R., M. IANTORNO and M. J. QUON (2008): An integrated view of insulin resistance and endothelial dysfunction. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 37, 685–711.
29. OUCHI, N., J. L. PARKER, J. J. LUGUS and K. WALSH (2011): Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 85–97.
30. RASOULI, N. and P. A. KERN (2008): Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 93, S64–S73.
31. RIGGS, L. M., T. FRANCK, J. N. MOORE, T. M. KRUNKOSKY, D. J. HURLEY, J. F. PERONI, G. DE LA REBIERE and D. A. SERTEYN (2007): Neutrophil myeloperoxidase measurement in plasma, lamellar tissue and skin of horses given black walnut extract. *Am. J. Vet. Res.* 68, 81–86.
32. SHEHZAD, A., W. IQBAL, O. SHEHZAD and Y. S. LEE (2012): Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases. *Hormones (Athens)* 11, 8–20.
33. TILG, H. and A. M. WOLF (2005): Adiponectin: a key fat-derived molecule regulating inflammation. *Expert Opin. Ther. Targets* 9, 245–251.
34. VENUGOPAL, C., E. HOLMES, R. BEADLE, M. KEARNEY and S. EADES (2014): Comparison of insulin-induced digital vessel ring responses of laminitic and clinically healthy horses. *J. Equine Vet. Sci.* 34, 998–1002.
35. VICK, M. M., D. R. SESSIONS, B. A. MURPHY, E. L. KENNEDY, S. E. REEDY and B. P. FITZGERALD (2006): Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity. *Reprod. Fertil. Dev.* 18, 609–617.
36. WALLER, A. P., T. A. BURNS, M. C. MUDGE, J. K. BELKNAP and V. A. LACOMBE (2011): Insulin resistance selectively alters cell-surface glucose transporters but not their total protein expression in equine skeletal muscle. *J. Vet. Int. Med.* 25, 315–321.

Patohophysiology of equine metabolic syndrome

Mirna ROBIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Maja BELIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Romana TURK, Mag. Med. Biochem., PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Lifestyle changes and excessive food intake during the last two decades has led to the epidemic prevalence of obesity in the human population and an increased incidence of pathophysiological processes related to obesity. Human metabolic syndrome includes obesity, hypertriglyceridemia, dyslipidemia, elevated blood pressure, elevated biomarkers for the presence of inflammation, increased risk of diabetes mellitus type II, cardiovascular diseases, myocardial and cerebral infarctions, and many other chronic diseases. A similar condition, named equine metabolic syndrome, has been recognized in horses, characterized by obesity, insulin resistance and laminitis. Excessive fat tissue accumulation in equine metabolic syndrome leads to increased plasmatic inflammatory cytokine and adipokine concentration and a predisposition to insulin resistance. In affected animals, insulin resistance is usually compensated for and they are in a normoglycemic and hyper-

insulinemic state. Therefore, the incidence of diabetes mellitus type II is low. An elevated insulin concentration induces disturbances in the blood vessels' ability to respond to vascular stimuli, enhanced vasoconstriction and decreased oxygenation of hoof lamellar tissue, increased stimulation of insulin-like growth factor-1 receptors with subsequent inadequate lamellar epidermal cell proliferation. Both conditions promote an inflammatory reaction with thrombocyte and leukocyte accumulation and an elevated concentration of inflammatory cell enzymes and reactive oxygen species production, additionally damaging lamellar tissue and resulting in laminitis, clinically visible as lameness. Equine metabolic syndrome is treated with dietary management, increased physical activity and drugs which improve insulin activity and tissue sensitivity to insulin.

Key words: *metabolic syndrome, insulin resistance, obesity, laminitis, equine*

Naputak o pakiranju uzoraka Hrvatske pošte

Ovim putem bi vam htjeli skrenuti pozornost na pakiranje i zatvaranje pošiljaka koje sadrže razne uzorke, a koje se poštanskim putem šalju na analizu nadležnim tijelima. Povod tome su sve češće situacije kada se pošiljke koje sadrže razne uzorke, zbog nepropisnog pakiranja i zatvaranja pošiljaka pokvare, procure pa čak i oštete druge pošiljke, a mogu i utjecati na zdravlje poštanskih djelatnika. Sukladno odredbama Zakona o poštanskim uslugama (NN 144/12, 153/13 i 78/15), pošiljatelj je obavezan pakirati pošiljku na način da se zaštiti njezin sadržaj, druge pošiljke i radnici koji rukuju pošiljkom te je odgovoran i za unutarnje pakiranje. Pošiljke bi se trebalo pakirati na način da se sadržaj pošiljke stavi u odgovarajući omot (omotnicu, kutiju ili sl.) koji mora odgovarati sadržaju i obliku pošiljke, veličini, masi i vrijednosti pošiljke te uvjetima i duljini relacije na kojoj se pošiljka prenosi. Ukoliko se radi o osjetljivim predmetima, tekućinama, masnim i topljivim tvarima i sl., moraju se koristiti čvrste kutije ili nepropusne posude koje moraju biti ispunjene odgovarajućim zaštitnim materijalom koji može upiti tekućinu ili spriječiti istjecanje sadržaja. Ovisno o sadržaju, pošiljka može imati dva pakiranja - unutarnje i vanjsko.

Primjena molekularne epidemiologije u proučavanju parazitskih bolesti divljih životinja

*D. Konjević, Tatjana Živičnjak, F. Martinković, Magda Sindičić,
D. Cvitković, M. Bujanić i Marina Pavlak*



Molekularna epidemiologija

Epidemiologija je znanstvena disciplina koju je moguće opisati kroz nekoliko definicija. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) epidemiologija je znanstvena disciplina koja proučava pojavu i proširenost bolesti, uzroke koji do nje dovode, pogodovne čimbenike za nastanak bolesti te mogućnosti kontrole. Drugim riječima, epidemiologija proučava složene odnose između domaćina i uzročnika bolesti, vektora bolesti i okolišnih čimbenika (Slika 1). Pri tome je neophodno istaknuti kako je naglasak u epidemiologiji stavljen na populaciju, a ne na jedinku (Thrusfield, 1995.). Već 60-tih godina prošlog stoljeća veterinarska epidemiologija je prepoznata kao neodvojivi čimbenik stočarske proizvodnje, zdravlja stada i veterinarskog-javnog zdravstva (Schwabe, 1982.). Od tada pa do danas veterinarska epidemiologija, osim izravnog značenja u istraživanju bolesti, ima nepobitnu ulogu u osmišljavanju i unaprjeđivanju programa očuvanja

zdravlja životinja na svjetskoj razini. U suglasju s navedenim Salman (2009.) navodi kako veterinarska epidemiologija nije podružnica veterinarskog-javnog zdravstva, već jedinstvena disciplina, kako glede pristupa, tako i pogleda na probleme koje rješava. Temeljne sastavnice epidemiologije su opisna (deskriptivna) i analitička epidemiologija. Ipak, poddioba epidemiologije ne staje na tome, već se razvojem sofisticiranih laboratorijskih metoda dijagnostike i



Slika 1. Temeljna trijada veterinarske epidemiologije.

Dr. sc. Dean KONJEVIĆ, dr. med. vet., Dipl. ECZM, docent, dr. sc. Tatjana ŽIVIČNJAK, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Franjo MARTINKOVIĆ, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Magda SINDIČIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Denis CVITKOVIĆ, dr. med. vet., docent, Miljenko BUJANIĆ, dr. med. vet., doktorand, dr. sc. Marina PAVLAK, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

proučavanja bolesti i sama epidemiologija prilagođavala i razvijala te su tako nastale brojne pod-discipline poput primjerice: genetske, molekularne, imunogenetske i sl. Ovdje treba dodatno naglasiti da iako se epidemiologija najčešće koristi u istraživanju bolesti, ne treba zaboraviti niti njenu sve češću primjenu u istraživanju reproduktivnih sposobnosti ili primjerice dobrobiti životinja.

Pojam molekularna epidemiologija zabilježen je 70-tih godina prošlog stoljeća na primjeru influence (Kilbourne, 1973.). Higginson (1977.) je nešto kasnije postavio definiciju prema kojoj je molekularna epidemiologija zapravo „primjena sofisticiranih metoda u epidemiološkoj analizi bioloških uzoraka”. Otprilike 16 godina kasnije Schulte (1993.) navodi kontroverznu definiciju prema kojoj je molekularna epidemiologija “primjena biomarkera ili mjerenja u epidemiološkim istraživanjima”. Ta je definicija ovdje istaknuta kao kontroverzna, jer iako je njena primarna primjena bila u proučavanju novotvorenina, danas se naglašavanje biomarkera zapravo ističe kao manjkavi dio ove definicije. Razlog tomu je ponajprije u zanemarivanju brojnih drugih primjena molekularne epidemiologije poput primjerice proučavanja zaraznih i parazitskih bolesti, ili pak taksonomskih i filogenetskih istraživanja (Foxman i Riley, 2001.). Nakon poduljeg niza različitih definicija, konačna, potpuna definicija molekularne epidemiologije bila bi primjena molekularnih metoda u pojašnjenju pojave, učestalosti i „rasprostranjenosti bolesti u određenoj populaciji.” To ne znači isključivanje tradicionalnih epidemioloških metoda u proučavanju bolesti, već ih samo nadopunjuje. S obzirom na činjenicu da je molekularna epidemiologija zapravo nadogradnja molekularnih istraživanja bolesti, u potpunosti je razumljivo da razvoj i sve češća uporaba molekularnih

metoda u proučavanju bolesti posljednjih godina (Holmes, 2007.), izravno za sobom povlači i razvoj molekularne epidemiologije. Primjeri uspješne primjene molekularne epidemiologije u razumijevanju i kontroli bolesti su brojni, kako u humanoj, tako i u veterinarskoj medicini. Tako je primjerice molekularna epidemiologija odigrala značajnu ulogu u rasvjetljavanju tuberkuloze, kao i infekcija mokraćnog sustava bakterijom *Escherichia coli* u ljudi u SAD-u (Small i sur., 1994., Zhang i sur., 2000.). Slično, molekularna epidemiologija je ubrzo pronašla svoje mjesto i u veterinarskoj medicini (Zadoks i Schukken, 2006.). Tako je primijenjena pri salmonelozi i koliseptikemiji peradi (Ridley i Threlfall, 1998., Ewers i sur., 2004.), slinavki i šapu (Knowles i Samuel, 2003.), giardiozi i kriptosporidiozi (Becher i sur., 2004., Thompson, 2004.), virusnim bolestima lososa (Snow, 2011.) ili u novije vrijeme šuge iberijskih vukova (Oleaga i sur., 2013.). Pored toga u novije vrijeme se sve veće značenje ove metode stavlja u kontekstu istraživanja prijetjećih zaraznih bolesti koje mogu dovesti do znatnog pada brojnosti pa čak i izumiranja čitavog niza životinjskih vrsta, poput primjerice citridiomikoze vodozemaca (Fisher i sur., 2009.) ili karcinoma obraza tasmanijskog vraga (DFTD, Hamede i sur., 2012.).

Uobičajeno je molekularna epidemiologija usmjerena na bolje upoznavanje uzročnika bolesti kroz molekularne osnove. Tako je Snow (2011.) iznio temeljna postignuća primjenom molekularne epidemiologije u akvakulturi, a koje se uz manje preinake lako mogu primijeniti i na druge bolesti: bolje razvrstavanje uzročnika, bolje poznavanje prirodne rasprostranjenosti uzročnika, poznavanje izvora uzročnika, poznavanje rizika prijenosa uzročnika van uobičajenog popisa prijemljivih vrsta, bolju mogućnost praćenja izvora novih slučajeva bolesti, stvaranje temelja

za učinkovitiju dijagnostiku i mogućnost klasificiranja izolata i usmjeravanja budućih istraživanja.

Značenje parazitskih bolesti divljih životinja

Parazitske bolesti čine oko 70% svih oboljenja divljih životinja. S obzirom na navedeno neki autori čak kazuju da nalaz parazita u divljim životinjama predstavlja pravilo, a ne iznimku. Značenje parazitskih (i zaraznih) bolesti divljih životinja naglašavaju Daszak i sur. (2000.) razvrstavajući ove bolesti u tri kategorije: 1. bolesti prouzročene prijenosom s domaćim na divlje životinje, 2. bolesti prouzročene izravnom ljudskom intervencijom (primjerice unos fasciolidoze u Europu) i 3. bolesti kod kojih nema povezanosti s ljudskim utjecajem ili domaćim životinjama. Pri tome naglašavaju da su divlje životinje kao rezervoari uzročnika bolesti potencijalna prijetnja zdravlju domaćih životinja i ljudi te da bolesti divljih životinja predstavljaju prijetnju bioraznolikosti na svjetskoj razini. Ovdje treba odmah naglasiti kako pojam rezervoara bolesti treba sagledati u novijem svjetlu. Naime, pojam rezervoara bolesti dugo je vremena promatran primarno kroz ekonomsku prizmu te su domaće životinje imale daleko veću vrijednost od divljih. Nasuprot tome, danas znamo da za neke bolesti nije dokazana poveznica između divljih i domaćih životinja ili ljudi na istom tom području. Pored toga, Thompson i sur. (2010.) na primjeru giardioze, kriptosporidioze, blastocistoze i hidatidoze lijepo predočuju suprotni smjer invazija, od ljudi i domaćih životinja prema divljima. Naravno, u takvim je slučajevima moguć naknadni povrat uzročnika prema ljudima ili domaćim životinjama, ali je tada pitanje rezervoara u najmanju ruku upitno. Konačno, sa stajališta bioraznolikosti i činjenice da se

određene vrste divljih životinja nalaze na popisu izrazito ugroženih vrsta, danas se nameće pitanje njihove vrijednosti i samim time se potreba njihovog očuvanja stavlja u prvi plan. Upravo činjenica da parazitske bolesti mogu imati znatan učinak na preživljavanje i očuvanje ugroženih populacija, daje naglasak na potrebu za detaljnijim proučavanjem bolesti divljih životinja (Daszak i sur., 2000., Albon i sur., 2002., Newey i Thirgood, 2004., Hawlena i sur., 2007., Møller i Nielsen, 2007., Pedersen i sur., 2007., Aguirre i Tabor, 2008., Burthe i sur., 2008., Thompson i sur., 2010.).

Ipak, tipično mnijenje da su paraziti isključivo negativna pojava zapravo predstavlja pojednostavljeno poimanje jednog složenog odnosa. Naime, ukoliko isključimo nezavičajne vrste parazita koje u novim, neprilagođenim domaćinima mogu nanijeti velike gubitke, pa čak dovesti i do lokalnog izumiranja (Daszak i sur., 2000., Pedersen i sur., 2007.), većina parazita je s nositeljem ipak razvila razmjerno miran suživot ne uzrokujući pritome teže posljedice (Stauffer i sur., 2007.). Jedan od očitih primjera svojevrsnog suživota je nosni štrk (*Cephenomyia* spp.) (Konjević i sur., 2006.). Nosni štrk parazitira u ždrijelu nositelja (u kontekstu ovog rada to su prije svega srna obična i jelen obični), a ne u nosu kao što mu ime sugerira. Takav naziv je zapravo posljedica činjenice da štrk pri napuštanju domaćina izlazi kroz nosnice,



Slika 2. Nosni štrk u dišnim prohodima srne po odstrjelju.

ali i toga što se nakon uginuća (odstrjela) životinje štrkovi uznemire te napuštaju ždrijelo pa ih se prigodom rasijecanja glave pronalazi u nosnim prohodima, dušniku i sl. (Slika 2). Ovaj štrk, dakle, parazitira u ždrijelu pričvršćen kukicama za sluznicu. Pri tome nadražuje sluznicu, izaziva upalu i otok. Zanimljivo je da se otok stjenke ždrijela širi prema van, ostavljajući lumen ždrijela prohodnim. Kada bi smjer upalnog procesa bio drukčiji došlo bi do začepljenja prohoda i uginuća životinje. Takav razmjerno miran suživot lako se može narušiti odgovarajućim promjenama u organizmu ili populaciji. Tako primjerice šugu lisica (prouzročenu šugarcima vrste *Sarcoptes scabiei*) često nazivamo jednim od regulatora brojnosti lisica u prirodi. Naime, pri povećanoj gustoći populacije lisica dolazi do češćeg međusobnog kontakta i pojave šuge koja tada može prouzročiti teška oboljenja (Slika 3) sa smrtnim ishodom. Posebno jak utjecaj šugaraca (*S. scabiei*) na populaciju lisica zabilježen je u skandinavskim zemljama pri čemu je brojnost lisica opala za čak 70% (Forchhammer i Asferg, 2000.). S druge strane, u slučaju nekih diksenih parazita, završetak ciklusa parazita uvjetovan je činjenicom da je posrednik pojeđen od strane konačnog nositelja. U tim slučajevima razvojni stadij parazita mora na određeni način olakšati konačnom nositelju hvatanje posrednika. To je moguće putem slabljenja organizma, izazivanja upala, edema, bolnosti i posljedično otežanog kretanja, oštećenjem živčanog sustava



Slika 3. Šugavost lisice.

mehanički (pritiskom) ili promjenama ponašanja (Rothschild, 1962., Holmes i Bethel, 1972.). U takvim slučajevima slabljenje i promjene u ponašanju čine domaćina podložnim predaciji te se time olakšava nastavak razvojnog ciklusa parazita.

Iz prethodno navedenoga razvidna je činjenica da parazitske bolesti predstavljaju najčešća oboljenja divljih životinja te da mogu imati nepovoljan utjecaj na populacijsku dinamiku. Odnos parazita i domaćina predstavlja složen i evolucijski dugotrajan proces, u kojem ishodi ovise o vrsti parazita, vrsti domaćina (posrednik ili konačni nositelj), gustoći populacije i drugim bolestima. S obzirom na činjenicu da divlje životinje nisu dostatno istražene, a da predstavljaju potencijalne izvore bolesti za domaće životinje i ljude, neophodno je provoditi praćenje zdravlja divljih životinja, posebice na područjima s povećanim rizikom za zdravlje ljudi, poput nacionalnih parkova, parkova prirode i sl.

Molekularna epidemiologija i parazitske bolesti divljih životinja

Kako je razvidno iz pregleda dosadašnjih istraživanja temeljni cilj molekularne epidemiologije je proučavanje molekularnih osobitosti uzročnika bolesti s ciljem utvrđivanja izvora i puteva širenja uzročnika, prepoznavanja rezervoara i vektora te razumijevanja odnosa patogena i domaćina (za pregled vidi Benton i sur., 2015.). Drukčiji pristup, ponuđen i u nedavno odobrenom uspostavnim projektu Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom "Molekularna epidemiologija odabranih parazitskih bolesti divljih životinja" je proučavanje utjecaja parazita na domaćina kroz promjene njegovog obrambenog sustava. Glavna

pretpostavka projekta se tako temelji na potencijalnoj raznolikosti gena glavne tkivne podudarnosti (MHC) u ovisnosti o invazijama odabranim parazitskim vrstama, ne uvjetujući pri tome postojanje otpornosti organizma na invaziju. Naime, iako u obrani organizma od parazita postoje dokazi o djelovanju određenih čimbenika, poglavito interleukina IL-5, na migrirajuće stadije parazita (Klion i Nutman, 2004.), imunosni odgovor organizma prema parazitskim invazijama u pravilu nije dostatan za eliminiranje parazita iz organizma, posebice ako je poznata sposobnost imunomodulacije od strane parazita. Pri tome se obrana organizma od parazitskih invazija zasniva primarno na eozinofilima, bazofilima i Th2 odgovoru (Falcone i sur., 2001., Klion i Nutman, 2004., Karasuyama i sur., 2011.). Konačno, kada je riječ o parazitima svakako treba imati na umu da narav, tijek i ishod parazitiranja u određenoj jedinki/populaciji je prvenstveno "posloženosti" predisponirajućih čimbenika kao što su: dob, gustoća populacije, klima i određeno doba godine (sposobnost preživljavanja razvojnog stadija ili posrednika). Pored navedenoga ključnu ulogu ima zdravstveno stanje i kondicija jedinke/populacije, a isto tako se u odnosu parazit-nositelj nikako ne smije zanemariti evolucijska prilagođenost parazita nositelju i obrnuto.

Proučavanjem MHC gena moguće je primjenom metoda molekularne epidemiologije doći do određenih poveznica između njihovih osobitosti i otpornosti prema parazitskim invazijama. Pri tome je nužno znati da se MHC geni ubrajaju u najraznolikije gene kralježnjaka (Hedrick, 1994.), a njihova raznolikost je u korelaciji s varijacijama receptora za T limfocite i samim time se dovodi u spregu s otpornosti organizma na bolesti (Klein, 1986., Castro-Prieto i sur., 2012.). Isto je još uvijek većim dijelom predmet brojnih rasprava. Tako

se glede odnosa MHC gena prema bolesti javljaju dvije pretpostavke: jedna koja predmnijeva da su heterozigotne jedinke rezistentnije od homozigotnih i druga koja govori da je otpornost/prijemljivost nije uvjetovana raznolikošću, već točno specifičnim alelima (Doherty i Zinkernagel, 1975., Takahata i Nei, 1990.). U konačnici, poznato je da homozigotnost nije prepreka dobrom oporavku i povećanju brojnosti nekih vrsta, kao što su primjerice europski dabar, neki kitovi i sl.

Primjeri proučavanja međuodnosa heterozigotnosti MHC gena u divljih životinja i otpornosti prema parazitskim bolestima su, iako ne pretjerano brojni, zabilježeni na nekoliko različitih vrsta. Tako su primjerice Froeschke i Sommer (2005.) na primjeru afričkog prugastog miša (*Rhabdomys pumilio*) utvrdili statistički značajan odnos heterozigotnosti i jačine parazitskih invazija. No pored toga utvrdili su i češću pojavu alela *Rhpu-DRB*1* u jedinki s jačim stupnjem invazije. Za razliku od njega nalaz alela *Rhpu-DRB*8* je bio povezan s jedinkama s manjim brojem jajašaca u izmetu (FEC). Takav nalaz govori u prilog pretpostavki o specifičnim alelima odgovornim za otpornost/prijemljivost organizma. Ditchkoff i sur. (2005.) su proučavali povezanost invazija ekto- i endoparazitima u bjelorepih jelena (*Odocoileus virginianus*) i utvrdili povezanost između varijabilnosti MHC gena i invazija. Na primjeru jelena običnog u Španjolskoj (*Cervus elaphus hispanicus*) utvrđeno je da postoji veliko funkcionalno značenje MHC gena klase II (lokus *DRB-2*) u obrani od parazitskih oboljenja (Fernandez-de-Mera i sur., 2009.). Na primjeru žutogrlog šumskog miša (*Apodemus flavicollis*) su Axtner i Sommer (2011.) proučavali povezanost pojave imunosupresije pri invaziji oblicima *Heligmosomoides polygyrus* s varijabilnošću MHC gena.

Za razliku od njih Radwan i sur. (2010.) su proučavali slučajeve invazija Euroopskih bizona (*Bison bonasus*) hematofagnim oblicima *Ashworthius sidemi* te unatoč potvrđenoj heterozigotnosti DRB alela nisu potvrdili i njenu povezanost s jačinom invazije. Nasuprot tomu, zaključili su da je povećanje gustoće populacije zbog okupljanja tijekom zimskog hranjenja bilo izravno povezano s povećanjem invazije ovim oblicima, što je i razumljivo ukoliko se u obzir uzmu čimbenici koji uvjetuju rizik prijenosa uzročnika.

Konačno, Zhang i sur. (2015.) su ustvrdili statistički značajnu povezanost *Aime-DRB1*10* i prijemljivosti na parazite kod pandi (*Ailuropoda melanoleuca*), podupirući pri tome pretpostavku o specifičnim alelima odgovornim za otpornost/prijemljivost.

U suglasju s navedenim proučavanjem parazitskog statusa jedinke i heterozigotnosti MHC gena moguće je primjenom epidemioloških metoda unaprijediti naše razumijevanje odnosa domaćina prema parazitskim invazijama, posebice u slučaju vrsta s imunomodulatorskim učinkom.

Zahvala

Rad je u potpunosti potpomognut uspostavnim istraživačkim projektom Hrvatske zaklade za znanost "Molekularna epidemiologija odabranih parazitskih bolesti divljih životinja", šifra 3421.

Sažetak

Molekularna epidemiologija predstavlja primjenu molekularnih i epidemioloških metoda u pojašnjenju pojave, učestalosti i rasprostranjenosti bolesti u određenoj populaciji. Pri tome je primarno usmjerena na osobitosti uzročnika bolesti s ciljem boljeg razvrstavanja uzročnika, boljeg poznavanja njegove prirodne rasprostranjenosti i izvora, poznavanja rizika prijenosa uzročnika izvan uobičajenog popisa prijemljivih vrsta, osigu-

ravanja bolje mogućnosti praćenja izvora novih slučajeva bolesti, stvaranja temelja za učinkovitiju dijagnostiku i mogućnost razvrstavanja izolata i usmjeravanja budućih istraživanja. U ovome je radu prikazana mogućnosti primjene molekularne epidemiologije u proučavanju međuodnosa parazita i divljih životinja kroz heterozigotnost/postojanje specifičnih alela MHC gena.

Ključne riječi: molekularna epidemiologija, parazitske bolesti, divlje životinje, MHC geni

Literatura

1. AGUIRRE, A. A. and G. M. TABOR (2008): Global factors driving emerging infectious diseases. Impact on wildlife populations. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1149, 1–3.
2. ALBON, S. D., A. STIEN, R. J. IRVINE, R. LANGVATN, E. ROPSTAD and O. HALVORSEN (2002): The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.* 269, 1625–1632.
3. AXTNER, J. and S. SOMMER (2011): *Heligmosomoides polygyrus* infection is associated with lower MHC class II gene expression in *Apodemus flavicollis*: Indication for immune suppression?. *Infection, Genetics and Evolution* 11, 2063–2071.
4. BECHER, K. A., I. D. ROBERTSON, D. M. FRASER, D. G. PALMER and R. C. A. THOMPSON (2004): Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Vet. Parasitol.* 123, 1–9.
5. BENTON, C. H., R. J. DELAHAY, H. TREWBY and D. J. HODGSON (2015): What has molecular epidemiology ever done for wildlife disease research? Past contributions and future directions. *Eur. J. Wildl. Dis.* 61, 1–16.
6. BURTHE, S. J., S. TELFER, M. BEGON, M. BENNETT, A. SMITH and X. LAMBIN (2008): Cowpox virus infection in natural field vole, *Microtus agrestis*, populations: significant negative impacts on survival. *J. Animal Ecol.* 77, 110–119.
7. CASTRO-PRieto, A., B. WACHTER, J. MELZHEIMER, S. THALWITZER, H. HOFER and S. SOMMER (2012): Immunogenetic variation and differential pathogen exposure in free-ranging cheetahs across namibian farmlands. *PLoS One* 7:e49129.
8. DASZAK, P., A. A. CUNNINGHAM and A. D. HYATT (2000): Emerging Infectious Diseases of

- Wildlife - Threats to Biodiversity and Human Health. Science 287, 443-449.
9. DITCHKOFF, S. S., S. R. HOOVER, R. L. LOCHMILLER, R. E. MASTERS and R. A. VAN DEN BUSSCHE (2005): MHC-DRB evolution provides insight into parasite resistance in white-tailed deer. The Southwestern Naturalist 50, 57-64.
10. DOHERTY, P. C. and R. M. ZINKERNAGEL (1975): Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at H-2 gene complex. Nature 256, 50.
11. EWERS, C., T. JANSEN, S. KIEBLING, H.-C. PHILIPP and L. H. WIELER (2004): Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. Vet. Microbiol. 104, 91-101.
12. FALCONE, F. H., D. I. PRITCHARD and B. F. GIBBS (2001): Do basophils play a role in immunity against parasites? Trends Parasitol. 17, 126-129.
13. FERNANDEZ-DE-MERA, I. G., J. VINCENTE, V. NARANJO, Y. FIERRO, J. J. GARDE, J. DE LA FUENTE and C. GORTÁZAR (2009): Impact of major histocompatibility complex class II polymorphisms on Iberian red deer parasitism and life history traits. Infection, Genetics and Evolution 9, 1232-1239.
14. FISHER, M. C., T. W. GARNER and S. F. WALKER (2009): Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time, and host. Annu. Rev. Microbiol. 63, 291-310.
15. FORCHHAMMER, M. C. and T. ASFERG (2000): Invading parasites cause a structural shift in red fox dynamics. Proc. Biol. Sci. 22, 779-786.
16. FOXMAN, B. and L. RILEY (2001): Molecular Epidemiology: Focus on Infection. Am. J. Epidemiol. 153, 1135-1141.
17. FROESCHKE, G. and S. SOMMER (2005): MHC Class II DRB Variability and Parasite Load in the Striped Mouse (*Rhabdomys pumilio*) in the Southern Kalahari. Mol. Biol. Evol. 22, 1254-1259.
18. HAMEDE, R. K., H. MCCALLUM and M. JONES (2012): Biting injuries and transmission of Tasmanian devil facial tumour disease. J. Anim. Ecol. 82, 182-190.
19. HEDRICK, P. W. (1994): Evolutionary genetics of the major histocompatibility complex. Am. Nat. 143, 945-964.
20. HIGGINSON, J. (1977): The role of the pathologist in environmental medicine and public health. Am. J. Pathol. 86, 460-484.
21. HOLMES, J. C. and W. M. BETHEL (1972): Modification of intermediate host behaviour by parasites. In: CANNING, E. U., C. A. WRIGHT: Behavioural Aspects of Parasite Transmission. Academic Press, London, pp. 123-149.
22. HOLMES, E. C. (2007): Viral evolution in the genomic age. PLoS Biol. 5, e278.
23. KARASUYAMA, H., T. WADA, S. YOSHIKAWA and K. OBATA (2011): Emerging roles of basophils in protective immunity against parasites. Trends Immunol. 32, 125-130.
24. KILBOURNE, E. D. (1973): The molecular epidemiology of influenza. J. Infect. Dis. 127, 478-487.
25. KLEIN, J. (1986): Natural history of the major histocompatibility complex. Wiley & Sons, New York.
26. KLION, A. D. and T. B. NUTMAN (2004): The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. J. Allergy Clin. Immunol. 113, 30-37.
27. KNOWLES, N. J. and A. R. SAMUEL (2003): Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. Virus Res. 91, 65-80.
28. KONJEVIĆ, D., Z. JANICKI, A. SLAVICA and K. SEVERIN (2006): Nosna štrkljivost u srna (*Capreolus capreolus* L.). Vet. stn. 37, 153-158.
29. MØLLER, A. P. and J. T. NIELSEN (2007): Malaria and risk of predation: a comparative study of birds. Ecology 88, 871-881.
30. NEWWEY, S. and S. THIRGOOD (2004): Parasite-mediated reduction in fecundity of mountain hares. Proc. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci. 271, S413-S415.
31. OLEAGA, A., S. ALASAAD, L. ROSSI, R. CASAIS, J. VICENTE, S. MAIONE, R. C. SORIGUER and C. GORTÁZAR (2013): Genetic epidemiology of *Sarcoptes scabiei* in the Iberian wolf in Asturias, Spain. Vet. Parasitol. 196, 453-459.
32. PEDERSEN, A. B., K. E. JONES, C. L. NUNN and S. ALTIZER (2007): Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. Conserv. Biol. 21, 1269-1279.
33. RADWAN, J., A. W. DEMIASZKIEWICZ, R. KOWALCZYK, J. LACHOWICZ, A. KAWALKO, J. M. WOJCIK, A. M. PYZIEL and W. BABIK (2010): An evaluation of two potential risk factors, MHC diversity and host density, for infection by an invasive nematode *Ashworthius sidemi* in endangered European bison (*Bison bonasus*). Biol. Conserv. 143, 2049-2053.
34. RIDLEY, A. and E. J. THRELFALL (1998): Molecular Epidemiology of Antibiotic Resistance Genes in Multiresistant Epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104. Microb. Drug Resist. 4, 113-118.
35. ROTHSCCHILD, M. (1962): Changes in behaviour in the intermediate hosts of trematodes. Nature 193, 1312-1313.
36. SALMAN, M. D. (2009): The role of veterinary epidemiology in combating infectious animal diseases on a global scale: The impact of training and outreach programs. Prev. Vet. Med. 92, 284-287.
37. SCHULTE, P. A. (1993): A Conceptual and Historical Framework for Molecular Epidemiology. In: SCHULTE, P. A., F. P. PERERA: Molecular epidemiology principles and practices. Academic Press, San Diego, USA, pp. 3-45.
38. SMALL, P. M., P. C. HOPEWELL, S. P. SINGH, A. PAZ, J. PARSONNET, D. C. RUSTON, G. F. SCHECTER, C. L. DALEY and G. K. SCHOOLNIK (1994): The epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based study using conventional and molecular methods. N. Engl. J. Med. 330, 1703-1709.
39. SNOW, M. (2011): The contribution of molecular epidemiology to the understanding and control of

- viral diseases of salmonid aquaculture. Vet. Res. 42, 56.
40. STAUFFER, D., A. PROYKOVA and K.-H. LAMPE (2007): Monte Carlo simulation of age-dependent host–parasite relations. *Physica A* 384, 387–391.
 41. TAKAHATA, N. and M. NEI (1990): Allelic genealogy under overdominant and frequency-dependent selection and polymorphism of major histocompatibility complex loci. *Genetics* 124, 967–978.
 42. THOMPSON, R. C. A. (2004): The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet. Parasitol.* 126, 15–35.
 43. THOMPSON, R. C. A., A. J. LYMBERY and A. SMITH (2010): Parasites, emerging disease and wildlife conservation. *Int. J. Parasitol.* 40, 1163–1170.
 44. THRUSFIELD, M. (1995): *Veterinary Epidemiology*, 2nd edn. Blackwell Science Ltd., UK, p. 15.
 45. ZADOKS, R. N. and Y. N. SCHUKKEN (2006): Use of molecular epidemiology in veterinary practice. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 22, 229–261.
 46. ZHANG, L., B. FOXMAN, S. D. MANNING, P. TALLMAN and C. F. MARRS (2000): Molecular epidemiologic approaches to urinary tract infection gene discovery in uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 68, 2009–2015.
 47. ZHANG, L., Q. WU, Y. HU, H. WU and F. WEI (2015): Major histocompatibility complex alleles associated with parasite susceptibility in wild giant pandas. *Heredity* 114, 85–93.

Application of Molecular Epidemiology in Studying Parasitic Diseases of Wildlife

Dean KONJEVIĆ, DVM, PhD, Dipl. ECZM, Assistant Professor, Tatjana ŽIVIČNJAK, DVM, PhD, Associate Professor, Franjo MARTINKOVIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Magda SINDIČIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Denis CVITKOVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Miljenko BUJANIĆ, DVM, PhD Candidate, Marina PAVLAK, DVM, PhD, Associate Professor, Veterinary Faculty University of Zagreb, Croatia

Molecular epidemiology represents the application of molecular and epidemiological methods in understanding the occurrence, frequency and distribution of diseases within certain populations. This field is primarily oriented toward the characteristics of pathogens, aiming to achieving better classification, improving knowledge of pathogen distribution and sources, understanding the risks of transmission outside of usual hosts, finding better ways

to track new cases of disease, achieving more efficient diagnostics, improving the possibilities of classifying isolates, and at directing future studies. This paper presents the potential applications of molecular epidemiology in research of the relations between parasites and wild animals through heterozygosity and the presence of specific alleles of MHC genes.

Key words: *molecular epidemiology, parasitic diseases, wildlife, MHC genes*

Hipoadrenokorticism u pasa



Mirna Robić, Maja Belić, Romana Turk i Marija Podgorski

Uvod

Hipoadrenokorticism (Addisonova bolest) predstavlja poremećaj sa smanjenom funkcijom nadbubrežne žlijezde, odnosno smanjenim izlučivanjem kortikosteroida (glukokortikoida i mineralokortikoida). Bolest je prvi puta opisana u ljudi (Addison, 1855.). Prvi opis hipoadrenokorticisma u pasa datira iz 1953. (Hadlow). U prirodnim se uvjetima hipoadrenokorticism rijetko javlja u pasa (Reusch, 2000., Feldman i Nelson, 2004.) i teško se prepoznaje, jer znaci bolesti nisu specifični i slični su drugim, češćim bolestima u pasa (Klein i Peterson, 2010.a). Bolest se najčešće dijagnosticira oko četvrte godine života i češće u kuja nego pasa (Feldman i Nelson, 2004.). Postoji pasminska predispozicija pa češće obole velike doge, pudle, leonbergeri, portugalski vodeni psi i bradati koliji (Hertage, 2005., Hughes i sur., 2007.).

Etiopatogenetska podjela hipoadrenokorticisma

Hipoadrenokorticism dijelimo na primarni i sekundarni. Primarni je češći i posljedica je destrukcije ili atrofije sva tri sloja kore nadbubrežne žlijezde, najčešće imunološki posredovan (Feldman i Nelson, 2004., Hughes i sur., 2007.),

a može biti i jatrogen uslijed davanja lijekova koji dovode do progresivne nekroze i atrofije *zone fasciculatae* i *zone reticularis*. To su lijekovi koji se koriste kod liječenja hiperadrenokorticisma ovisnog o hipofizi, mitotan i trilostan (Feldman i Nelson, 2004.). Sekundarni prirodno pojavljujući hipoadrenokorticism je posljedica nedostatka ACTH ili CRH, najčešće zbog patoloških promjena u hipofizi i hipotalamusu i kao takav je u pasa rijedak. Češće se sekundarni hipoadrenokorticism u pasa javlja kao jatrogeni, izazvan dugotrajnom terapijom glukokortikoida (Reusch, 2000.).

Posljedice manjka hormona kore nadbubrežne žlijezde

Manjak mineralokortikoida

Snižena razina aldosterona kao posledicu ima neravnotežu u sastavu elektrolita i snižen pH krvi. Laboratorijskim se pretragama ustanove hiponatrijemija, hipokloremija i hiperkalijemija (Kintzer i Peterson, 1997.a, Reusch, 2000., Feldman i Nelson, 2004.). Kod primarnog hipoadrenokorticisma hiperkalemija i hiponatrijemija posljedice su deficita aldosterona te nemogućnosti da bubrežni tubuli reteniraju natrij i izluče kalij

Dr. sc. Mirna ROBIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Maja BELIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Romana TURK, mag. med. biochem., docentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Marija PODGORSKI, dr. med. vet., Hrvatska

(Di Bartola, 2006.a, Di Bartola i De Morais, 2006.). Kod sekundarnog je hipoadrenokortizma hiponatrijemija posljedica gubitka preko probavnog sustava i smanjenog uzimanja hrane. Tkivo srčanog mišića najosjetljivije je na učinke hiperkalijemije koji dovode do smanjene podražljivosti, sporijeg provođenja podražaja i srčanog aresta (Guyton i Hall, 2000., Ganong, 2003.). No, hiperkalijemija djeluje i izazivajući generaliziranu mišićnu slabost (Rausch, 2000.). Gubitak natrija preko bubrega za sobom povlači vodu, a potpomaže i gubitak tekućine preko probavnog sustava. Sve to ima za posljedicu jak pad volumena ekstracelularne tekućine: hipovolemiju, hipotenziju, oslabljen rad srca i oslabljenu perfuziju tkiva, uključujući bubrege s posljedičnim padom glomerularne filtracije (Guyton i Hall, 2000., Ganong, 2003., Feldman i Nelson, 2004.). U najgorem slučaju pacijent pada u hipovolemijski šok.

Kao posljedica smanjene glomerularne filtracije i izmjene kationa u području distalnih bubrežnih tubula nastaje hiperkalijemija, koju pojačava metabolička acidoza potičući prijelaz iona kalija iz stanice u izvanstanični prostor. To smanjuje podražljivost miokarda, povećava refrakterni period, a funkciju srca dodatno ometaju hipoksija uslijed hipovolemije i smanjene perfuzije tkiva. Nedostatak aldosterona onemogućuje bubrežnim tubulima ekskreciju iona vodika (Feldman i Nelson, 2004., Kempmann i Behred, 1997., Guyton i Hall, 2000.) što doprinosi metaboličkoj acidozi. Pri tome većina pasa ima umjerenu, a 10% jaku metaboličku acidozu (Feldman i Nelson, 2004.). Blage i umjerene acidoze većinom se isprave poboljšanjem volumena cirkulirajuće krvi i perfuzije, no u teškim slučajevima potrebno je dati bikarbonate. Osim toga, acidoza pojačava hiperkalemiju što doprinosi pojavnosti srčanih problema, a jaka metabolička acidoza predisponira ventrikularnoj aritmiji (Di Bartola, 2006.b).

Manjak glukokortikoida

Nedostatak kortizola vodi u cijeli niz poremećaja, uključujući letargiju, slabost, smanjenu toleranciju stresa te simptome od strane probavnog sustava uključujući anoreksiju, povraćanje, proljev i bol u trbušnoj šupljini, a osim toga smanjena je i glomerularna filtracija. Zbog povišene razine antidiuretskog hormona javi se smanjeno izlučivanje urina (Reusch, 2000.). Zbog nedostatka glukokortikoida i posljedične smanjene glukoneogeneze i glikogeneze te povećane osjetljivosti na inzulin može se razviti i hipoglikemija. Smanjena glukoneogeneza i pojačana osjetljivost na inzulin vode u hipoglikemiju, koja se očituje neurološkim znacima: slabošću i tremorom. Klinički znaci hipoglikemije – grčevi i tupost, rijetko se javljaju (Levy, 1994., Herrtage, 2005.). Diferencijalno dijagnostički treba isključiti sepsu, bolesti jetre, gladovanje, maldigestiju, hipoglikemiju štenadi, hipoglikemiju lovačkih pasa, inzulinome, i prekomjernu dozu inzulina. Psi oboljeli od hipoadrenokortizma skloni su sepsi, osobito nakon opsežnih ulceracija u probavnom sustavu i bakterijske translokacije. Nadalje, umjerena do jaka hipoalbuminemija može se ustanoviti u nekih pasa (Reusch, 2000., Feldman i Nelson, 2004., Herrtage, 2005.). Smanjena sinteza albumina može biti posljedica anoreksije i njegova gubitka preko probavnog sustava i poremećene apsorpcije te smanjene jetrene sinteze (Herrtage, 2005.). Nedostatak glukokortikoida dovodi do supresije koštane srži i blage, normocitne, normokromne neregenerativne anemije (Kinzer i Peterson, 1997.b, Thompson i sur., 2007.). Uslijed sekundarnih infekcija može doći i do blagog porasta broja leukocita. U bolesnih pasa izostaje stresni leukogram, što nam je važan dijagnostički pokazatelj, osobito kod deficita glukokortikoida. Zbog deficita glukokortikoida javlja se hiperkalcemija koja je posljedica smanjene ekskrecije kroz bubrege i smanjene crijevne apsorpcije.

Klinička manifestacija hipoadrenokorticizma

Budući da su znaci bolesti često netipični i predstavljaju dijagnostički izazov, bolest se često u anglosaksonskoj literaturi navodi kao „the great pretender“ (veliki varalica) (Klein i Peterson, 2010.b). Nema patognomoničnih znakova, oni su nejasni, nespecifični i mogu uključivati znakove od strane drugih organskih sustava, a mogu se i periodički pojačavati ili smanjivati, ili u nekih pacijenata biti progresivni. Akutne egzacerbacije Addisonove bolesti su po život opasne i označuju se kao Addisonijanska kriza, pri čemu manjak hormona izaziva po život opasne promjene i zahtijeva promptnu intervenciju. Addisonijanska kriza najčešće se javlja u stresnim situacijama.

Hiperkalijemija na srčanom mišiću djeluje izazivajući bradikardiju, koja je predisponirajući čimbenik za cirkulatorni kolaps i nakon manjeg napora. Na EKG-u se kao prva indikacija hiperkalijemije uočava šatorasti T-val, mirovanje atrijske, sniženi P-val i prolongirani QRS kompleks. Kada koncentracija kalija poraste iznad 11 mEq/L mogu se uočiti ventrikularna fibrilacija ili ventrikularna asistola (Tillley, 1992.).

U velikog broja pasa oboljelih od Addisonove bolesti javi se povraćanje i proljev. Do njih dolazi zbog nedostatka glukokortikoida koji su potrebni za očuvanje sluznice probavnog trakta pa s tim u vezi dolazi do oštećenja sluznice i krvarenja, s posljedičnom hematemezom i melenom, koji, premda rijetko, mogu biti izraziti (Medinger i sur., 1993.).

Laboratorijski nalazi

Kod neliječenih pacijenata uočavaju se promjene u hemogramu, jer steroidi stimuliraju eritropoezu. Stoga možemo uočiti neregenerativnu normokromnu i normocitnu anemiju (Peterson i sur., 1996.), koja je potencirana i krvarenjima u probavnom traktu.

Nadalje, uočavaju se eozinofilija i limfocitoza te hipoalbuminemija koja može biti i posljedica gubitka krvi u probavnom sustavu, enteropatije ili smanjene sinteze proteina (Langlais-Burgess i sur., 1995.). U biokemijskim nalazima dominira hiponatrijemija i hiperkalijemija, a ako je omjer Na:K manji od 23:1 postavlja se opravdana sumnja na hipoadrenokorticism (Adler i sur., 2007.). U pasa kod kojih se razvije hipovolemija i hipotenzija s posljedičnom prerenalnom azotemijom ustanovi se jak porast ureje i kreatinina, a zbog smanjene glomerularne filtracije poraste i koncentracija anorganskih fosfata. Vrijednosti ureje i kreatinina normaliziraju se već nakon 24 sata po početku terapije (Reusch, 2000.). U oko 30% oboljelih pasa javi se hiperkalcemija (Peterson i Feinman, 1982.), patogeneza hiperkalcemije nije sasvim jasna, a smatra se da je hemokoncentracija kritični čimbenik (Strewler, 1984.).

Dijagnostika

Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke slike, laboratorijskih nalaza i ACTH stimulacijskog testa, koji predstavlja „zlatni standard“ dijagnostike bolesti u ljudi, pasa i mačaka (Kintzer i Peterson, 1997.b, Feldman i Nelson, 2004., Hill i sur., 2004.). Provodi se nakon što se obave druge pretrage, na način da se uzme uzorak krvi i odredi bazalna razina kortizola. Potom se aplicira sintetski ACTH i nakon jednog sata ponovno se uzme krv i odredi stimulirani kortizol. Ukoliko je razina stimuliranog kortizola manja od 2 µg/dL kod pasa postavlja se dijagnoza hipoadrenokorticizma. ACTH stimulacijskim testom ne možemo razlikovati primarni i sekundarni hipoadrenokorticism (Reusch, 2000.).

Od ostalih dijagnostičkih metoda može se koristiti torakalna radiografija pri čemu se uočavaju mikrokardija, smanjena vena *cava caudalis* i hipoperfuzija plućnih vena (Peterson

i sur., 1996., Melian i sur., 1999.). No, ovaj nalaz je nespecifičan, jer se može uočiti i kod drugih uzroka hipovolemije i dehidracije. Mezgaezofagus, koji se rijetko uoči, a može se javiti kod atipičnog hipoadrenokorticisma (Feldman i Nielson, 2004.). Abdominalnom radiografijom uočava se smanjena jetra, no ni to nije specifično, jer se takav nalaz nađe i kod bolesti jetre i kao posljedica hipovolemije (Reusch, 2000.). Ultrazvučnom pretragom može se ustanoviti smanjenje nadbubrežne žlijezde (Hoeraul i Reusch, 1999.).

Liječenje hipoadrenokorticisma

Liječenje Addisonijanske krize

Addisonijanska je kriza urgentno stanje, jer je pacijent u jakoj hipovolemiji, dehidraciji, hipotenziji, poremećaju elektrolita i acido-bazne ravnoteže, a sve je to potrebno korigirati i dati kortikosteroide (Panciera, 2006.). Ako pacijent uquine, smrt je posljedica hipovolemijskog šoka te je prioriteto najprije ispraviti hipovolemiju nadoknadom tekućine intravenski (Kinzer i Peterson, 1997.a,b, Feldman i Nelson, 2004., Panciera, 2006.). Početna doza kroz prvih 1-2 sata treba biti 60-90 mL/kg/h, a potom se prilagođava kako se vitalni znaci poboljšavaju. Najbolje je koristiti 0,9% otopinu natrij klorida, jer će nadoknaditi deficit natrija i razrijediti kalij te poboljšati metaboličku acidozu. Hipoglikemiju se tretira bolusom 50% glukoze do 1 mL/kg ako su prisutni znaci hipoglikemije. Budući da se hiperkalijemija brzo popravljala nakon intravenske terapije, preko korekcije bubrežne perfuzije i izlučivanja urina te skretanja kalija iz ekstracelularnog prostora u stanice, popravljala se metabolička acidoza (Feldman i Neilson, 2004., Panciera, 2006.). Najučinkovitije kardioprotektivno djelovanje ima 10% kalcij glukonat koji privremeno antagonizira učinke hiperkalijemije na

membranski potencijal stanica. Daje se uz kontrolu EKGa. Protektivni se učinak javlja već za 15-30 minuta (Plumb, 2005., Panciera, 2006.). Kroz to vrijeme treba nastaviti nadoknadu tekućine. Kod akutne adrenokortikalne insuficijencije vrlo je važna suplementacija glukokortikoidima u svrhu poboljšanja vaskularnog integriteta, integriteta probavnog sustava te zadržavanja krvnog tlaka. Glukokortikoide treba davati parenteralno. Mišljenja oko suplementacija mineralokortikoida su podijeljena. Neki autori smatraju da nije potrebna (Kintzer i Peterson, 1997.a,b, Reusch, 2004.), dok neki smatraju da je tijekom krize potrebno suplementirati i mineralokortikoide (Feldman i Nielson, 2006., Herrtage, 2005., Greco, 2007.). Osim etiološke terapije, potrebno je ublažiti simptome bolesti, povraćanje i mučninu antiemeticima, krvarenja u probavnom sustavu gastroprotektivima, a anemiju možemo terapijati transfuzijom pune krvi, a dobro je i preventivno dati antibiotike.

Uz pravilan nadomjestak tekućine i suplementaciju glukokortikoidima, pacijent će se oporaviti u roku od nekoliko sati, a terapiju treba nastaviti još najmanje 2 dana. Glukokortikoidi se trebaju davati parenteralno do prestanka povraćanja, a potom oralno.

Dugotrajna terapija hipoadrenokorticisma

Psi koji boluju od primarnog hipoadrenokorticisma s klasičnim disbalansom elektrolita (hiperkalemija, hiponatrijemija, hipokloremija) trebaju doživotno primati supleme glukokortikoida i mineralokortikoida. Oni koji boluju od sekundarnog hipoadrenokorticisma ili primarnog atipičnog hipoadrenokorticisma trebaju samo suplementaciju glukokortikoidima. Bez obzira na vrstu terapije koju primaju oboljeli psi cilj je terapije postići klinički zdravu životinju s fiziološkim parametrima u biokemijskim

i hematološkim pretragama krvi te pratiti težinu da bi se odredila terapija. Stabilizirane pse treba kontrolno pregledavati 3-4 puta godišnje, a po potrebi i češće (Klein i Peterson, 2010.b).

Stabiliziranom je pacijentu potrebno svakodnevno davati hormone kore nadbubrežne žlijezde što se postiže peroralnom primjenom gluko i mineralokortikoida koji se daju, prednizolon u dozi 0,1-0,2 mg/kg svakih 12 sati, a kod izloženosti stresu doza se može povećati. Od mineralokortikoida daje se fludokortizon u dozi 10-30 mg/kg svakih 24 sata. U početku treba pratiti razinu natrija i kalija u krvi za određivanje točne doze, kasnije se razina provjerava dva do tri puta godišnje (Kintzer i Peterson, 1997.b). Novi izbor u liječenju je DOCP (dezoksikortikosteron pivalat), dugodjelujući mineralokortikoid koji se daje svakih 25 dana intramuskularno ili supkutano, uz nastavak terapije prednizolonom (Plumb, 2005.).

Prognoza

Prognoza bolesti je dobra kod redovito primjenjivane terapije, a vlasnik mora davati lijekove na vrijeme i u propisanoj dozi (Kintzer i Peterson, 1997.b). Potrebno je pratiti apetit, potrebu za vodom i mokrenjem, aktivnost i tjelesnu težinu te provoditi redovite laboratorijske pretrage u svrhu provjere razine elektrolita.

Sažetak

U ovom preglednom radu donose se nova saznanja o hipoadrenokortizmu (Addisonovoj bolesti) kod pasa. Insuficijencija kore nadbubrežne žlijezde prva je ustanovljena endokrina bolest, rijetko se javlja u pasa, a još rjeđe u mačaka. Hipoadrenokortizam se dijeli na primarni i sekundarni oblik: primarni je češći i karakterizira ga atrofija sva tri sloja kore s gubitkom sposobnosti sekrecije glukokortikoida i mineralokortikoida. Sekundarni oblik nastaje zbog patoloških procesa na hipo-

fizi i vodi u gubitak sposobnosti sekrecije glukokortikoida. Klinički znaci hipoadrenokortizma su nejasni i nespecifični, uključeni su različiti organski sustavi, a najčešći znaci su: smanjen apetit, anoreksija, letargija, depresija, povraćanje, proljev, poliurija, polidipsija, tremor i kolaps. Addisonijanska kriza je po život opasno stanje koje nastaje zbog naglih poremećaja ravnoteže elektrolita i hipovolemijskog šoka. Najčešći poremećaji u laboratorijskim nalazima kod hipoadrenokortizma su hiperkalijemija i hiponatrijemija. Dijagnoza se postavlja na temelju laboratorijskih testova i ACTH stimulacijskog testa. Liječenje uključuje stabilizaciju pacijenta te suplementaciju glukokortikoida i po potrebi mineralokortikoida. Uz redovnu terapiju prognoza je povoljna.

Ključne riječi: hipoadrenokortizam, Addisonijanska kriza, psi

Literatura

1. ADDISON, T. (1855): On the constitutional and local effects of disease of supra-renal capsules. London, Highley.
2. ADLER, J. A., M. K. J. DROBATZ and R. S. HESS (2007): Abnormalities of serum electrolyte concentrations in dogs with hypoadrenocorticism. *J. Vet. Inter. Med.* 21, 1168-1173.
3. Di BARTOLA, S. P. (2006a): Disorders of sodium and water: hyponatremia nad hyponatremia. In: Di Bartola S. P., ed. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*, 3rd ed. St. Louis, Missouri, Elsevier, pp. 47-79.
4. Di BARTOLA, S. P. (2006b): Metabolic acid-base disorders. In: Di Bartola, S. P., ed. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*, 3rd ed, St. Louis, Missouri, pp. 251-283.
5. Di BARTOLA, S. P. and A. H. DE MORAIS (2006): Disorders of potassium: hypokalemia and hyperkalemia. In Di Bartola, S. P., Ed. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*, 3rd ed, St. Louis, Missouri, Elsevier, pp. 91-121.
6. FELDMAN, E. C. and R. W. NELSON (2004). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 3rd ed. St. Louis, Missouri: W. B. Saunders, pp. 394-439.
7. GANONG, W. F. (2003): *Review of Medical Physiology*. 21st ed. New York, Lange Medical Books, 359-384.
8. GRECO, D. S. (2007): Hypoadrenocorticism. *Clin. Tech Small Anim. Pract.* 22, 32-35.
9. GUYTON, A. C. and J. E. HALL (2000): *Textbook of Medical Physiology*. 10th ed., St. Louis, W. B. Saunders, pp. 869-883.
10. HADLOW, W. J. (1953): Adrenal cortical atrophy in the dog. *Am. J. Path.* 29, 353-361.
11. HERRTAGE, M. E. (2005): Hypoadrenocorticism. In: Ettinger, S. J. and E. C. Feldman, eds. *Textbook*

- of Veterinary Internal Medicine. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, pp. 1612-1622.
12. HILL, K., J. C. SCOTT-MONCREIFF and G. MOORE (2004): ACTH stimulation testing: A review and a study comparing synthetic and compounded ACTH products. *Vet. Med.* 99, 134-146.
 13. HOERAUL, A. and C. REUSCH (1999): Ultrasonographic evaluation of adrenal glands with dogs with hypoadrenocorticism. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 214-218.
 14. HUGHES, A. M., R. W. NELSON, T. R. FAULA and D. L. BANNASCH (2007): Clinical features and heritability of hypoadrenocorticism in Nova Scotia Duck Tolling Retrievers: 25 cases (1994-2006). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231, 407-412.
 15. KEMPPANIEN, R. J. and E. BEHREND (1997): Adrenal physiology. *Vet. Clin. North Am.* 27, 173-186.
 16. KINTZER, P. P. and M. A. PETERSON (1997a): Primary and secondary hypoadrenocorticism. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 27, 349-357.
 17. KINTZER, P. P. and M. E. PETERSON (1997b): Treatment and long-term follow-up of 205 dogs with hypoadrenocorticism. *J. Vet. Int. Med.* 11, 43-49.
 18. KLEIN, S. C. and M. E. PETERSON (2010a): Canine hypoadrenocorticism: part I. *Can. Vet. J.* 51, 63-69.
 19. KLEIN, S. C. and M. E. PETERSON (2010b): Canine hypoadrenocorticism: part II. *Can. Vet. J.* 51, 179-184.
 20. LANGLAIS-BURGESS, L., J. H. LUMSDEN and A. MACKIN (1995): Concurrent hypoadrenocorticism and hypoalbuminemia in dogs. A retrospective study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 31, 307-311.
 21. LEVY, J. K. (1994): Hypoglycemic seizures attributable to hypoadrenocorticism in a dog. *JAVMA* 204, 526-530.
 22. MEDINGER, T. L., D. A. WILLIAMS and D. S. BRUYETTE (1993): Severe gastrointestinal tract hemorrhage in three dogs with hypoadrenocorticism. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 202, 1869-1972.
 23. MELIAN, C., J. STEFANACCI, M. E. PETERSON and P. P. KINTZER (1999): Radiographic findings in dogs with naturally occurring primary hypoadrenocorticism. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 208-212.
 24. PANCIERA, D. L. (2006): Fluid therapy in endocrine and metabolic disorders. In: Di Bartola, S. P., ed., *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*, 3rd ed., St. Louis, Missouri: Elsevier, pp. 478-489.
 25. PETERSON, M. E. and J. M. FEINMAN (1982): Hypercalcemia associated with hypoadrenocorticism in 16 dogs. *JAVMA* 181, 802-804.
 26. PETERSON, M. E., P. P. KINTZER and P. H. KASS (1996): Pretreatment clinical and laboratory findings in dogs with hypoadrenocorticism: 225 cases (1979-1993). *JAVMA* 208, 81-95.
 27. PLUMB, D. C. (2005): *Veterinary Drug Handbook*. 5th ed. Ames, Iowa: Blackwell Publ.
 28. REUSCH, C. E. (2000): Hypoadrenocorticism. In: Ettinger S. J., E. C. Feldman, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 5th ed. Philadelphia, W. B. Saunders, pp. 1488-1499.
 29. STREWLER, G. J. (1984): Paget's disease of bone. *West J. Med.* 140, 763-768.
 30. THOMPSON, A. L., J. C. SCOTT-MONCREIFF and J. D. ANDERSON (2007): Comparison of classic hypoadrenocorticism with glucocorticoid-deficient hypoadrenocorticism in dogs: 46 cases (1985-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230, 1190-1194.
 31. TILLEY, L. A. (1992): *Essential of canine and feline electrocardiography*, 3rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger.

Canine Hypoadrenocorticism

Mirna ROBIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Maja BELIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Romana TURK, Mag. Med. Biochem., PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Marija PODGORSKI, DVM, Croatia

In this review, the recent knowledge on canine hypoadrenocorticism (Addison disease) is presented. Adrenal cortical insufficiency was the first diagnosed endocrinopathy, occurring rarely in dogs, and diagnosed even less frequently in cats. Hypoadrenocorticism occurs in the primary or secondary form. The primary form is more frequent and is characterized by atrophy of all three cortical layers, accompanied by an inability to secrete glucocorticoid and mineralocorticoid. The secondary form is a consequence of pathological processes on the pituitary gland and leads to an inability to secrete glucocorticoid. Clinical signs of hypoadrenocorticism are unclear and non-specific, and include various organ sys-

tems. The most common symptoms are lack of appetite, anorexia, lethargy, depression, vomiting, diarrhoea, polyuria, polydipsia, tremor and collapse. Addison disease is a life-threatening condition that arises from sudden disturbances in the electrolyte balance and hypovolemic shock. The most common laboratory findings in hypoadrenocorticism are hyperkalemia and hyponatremia. Diagnosis is made after laboratory testing and ACTH stimulation test. Treatment includes stabilization of the patient, supplementation of glucocorticoids and, when needed, mineralocorticoids. Prognosis is good when patients are well medicated.

Key words: hypoadrenocorticism, Addison disease, canine

Naknada štete za povrijeđenu ili usmrćenu životinju - prikaz slučaja



Nina Mišić Radanović, Gordan Mršić i Maja Popović

Uvod

Odštetno pravo utemeljeno je na načelu zabrane prouzročenja štete koje znači da je svatko dužan suzdržati se od postupka kojim se drugome može prouzročiti šteta. Odgovornost za štetu je građanski obveznopravni odnos u kojem je jedna strana dužna popraviti prouzročenu štetu drugoj strani, a druga je strana ovlaštena zahtijevati takav popravak. Nastanak odnosa odgovornosti za štetu veže se za kumulativno ispunjenje zakonom određenih pretpostavki. Neke od njih, poput subjekata odgovornosti, štetne radnje, štete, uzročne veze i protupravnosti u objektivnom smislu su zajedničke za sve vrste odgovornosti pa ih nazivamo općim pretpostavkama, dok su druge, one posebne, poput krivnje karakteristične samo za pojedine vrste odgovornosti.

Subjekti odgovornosti za štetu su štetnik i oštećenik. Štetnik je osoba koja je svojom radnjom prouzročila štetu, odgovoran je za štetu i, u pravilu, dužan ju je popraviti. Oštećenik je osoba koja trpi posljedice štetne radnje, tj. trpi štetu te potražuje njeno popravljanje u obliku naknade. Štetnik i oštećenik mogu biti fizičke ili pravne osobe (uz posjedovanje deliktne i poslovne sposobnosti za odgovornost za štetu).

Štetna radnja je svaki čin ili propust štetnika koji prouzroče štetu na

strani oštećenika. Štetna radnja može biti samo ljudska radnja te se može podijeliti na građanski delikt (povodom kojeg nastaje deliktna odgovornost) i povreda obveznog odnosa (povodom kojeg nastaje ugovorna odgovornost za štetu). Potrebno je naglasiti da ljudska radnja u ovom slučaju ne znači samo aktivitet (*commisio*) već se može sastojati i u propustu (*omissio*). Šteta je umanjeње nečije imovine (obična šteta), sprječavanje njezina povećanja (izmakla korist) i povreda prava osobnosti (neimovinska šteta zbog povrede prava na život, na tjelesno i duševno zdravlje, ugled, čast, dostojanstvo, slobodu i dr.).

Uzročna veza nužna je pretpostavka odgovornosti u svim sustavima odgovornosti za štetu, ali je istodobno i u teoriji i u praksi najkontroverznija. Uzročna veza (*kauzalni nexus*) postoji ako je izvršena štetna radnja uzrok određene štete, odnosno ako se šteta pojavljuje kao posljedica štetne radnje. Bez kauzalnog nekusa nema ni štetnikove odgovornosti za štetu. Uzročna veza mora biti neprekinuta te oštećenik mora dokazati postojanje uzročne veze, jer se ona u pravilu ne predmnijeva (jedina iznimka kada se i uzročnost predmnijeva je kod štete nastale od opasne stvari, odnosno opasne djelatnosti, jer se smatra da

Nina MIŠIĆ RADANOVIĆ, mag. iur., asistentica, Sveučilišni odjel za forenzične znanosti, Split, Hrvatska; dr. sc. Gordan MRŠIĆ, dipl. ing., docent, Centar za forenzična ispitivanja istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Maja POPOVIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

potječe od te stvari, odnosno djelatnosti, izuzev ako se dokaže da one nisu bile uzrok štete). Uzročno-posljedična veza dokazuje se u sudskom postupku uz pomoć stručnjaka-vještaka.

Protupravnost štetne radnje predstavlja takvo postupanje (djelovanje ili propuštanje) kojim se povrijeđuje neki propis. Protupravnost znači povredu nekog pravila pozitivnog pravnog poretka i može se odnositi samo na štetnu radnju. Za protupravnosti u objektivnom smislu dovoljno je da je štetnom radnjom povrijeđeno neko pravno pravilo, dok je subjektivni element protupravnosti izražen u krivnji počinitelja, odnosno štetnika.

Popravljanje štete znači uklanjanje, naknađivanje ili ublažavanje onih štetnih posljedica koje su nastupile zbog određene štetne radnje. Prema načelu potpune naknade štete oštećenik ima pravo na naknadu u iznosu koji je potreban da se njegova materijalna situacija dovede u ono stanje u kojem bi se nalazila da nije bilo štetne radnje ili propuštanja.

U pravu postoje tri osnovna oblika popravljanja štete: naturalna restitucija, naknada štete i satisfakcija za popravljanje neimovinske štete (objavljivanjem presude ili ispravka ili pravičnom novčanom naknadom). Naturalna restitucija je uspostava stanja koje je bilo prije nego što je šteta nastala i pojavljuje se u tri osnovna oblika: *individualna restitucija* (vraćanje stvari koja je na primjer bila oduzeta), *generična restitucija* (davanje zamjenjivih stvari umjesto oduzetih ili oštećenih) te *restitucija u obliku troškova* (kad je stvar oštećena pa je sam oštećenik da popraviti, a štetnik mu je dužan nadoknaditi troškove). Ako restitucija nije moguća, u obzir dolazi naknada štete kao oblik popravljanja štete koji se sastoji u *novčanom ekvivalentu* (Vedriš i Klarić, 2009.).

Prikaz slučaja

Pas Pauli na benzinskoj postaji: *Tko pregazi i tako ozlijedi psa na benzinskoj crpki koji nije adekvatno vezan na uzici, u načelu mora refundirati troškove liječenja neovisno o vrijednosti psa. Vlasnici psa se treba uračunati krivnja zbog neadekvatnog vezanja psa na uzici* (pravomoćna presuda Općinskog suda u Münchenu od 6.12.2013., br. Az. 344C 1200/3.)¹.

Tužiteljica iz Münchena je vlasnica 8 godina starog psa i 35 cm visokog mješanca terijera Paulia kojeg je nabavila u azilu i platila 175 eura. Dana 25. srpnja 2011. oko 16.45 sati došla je s psom na benzinsku postaju na području Münchena kako bi kupila neke proizvode u njihovoj trgovini. Psa je zavezala na ulazu benzinske postaje te je uzicu omotala o kantu za otpatke, a kraj uzice je bio pričvršćen za otvor kante za otpatke. Vozač osobnog vozila naletio je na psa između postaje i ulaza pri čemu su psu bili oštećeni zadnji ligamenti te slomljene dvije kosti nogu (metatarzalna kost). Pas je zbog toga trebao biti operiran, a troškovi operacije i liječenja iznosili su 2200 eura.

Tužiteljica je tužila vozača za naknadu troškova liječenja koje je vozač odbio platiti. Vozač je tvrdio da nije primijetio psa te da vlasnica mora jamčiti za štetu, jer nije na odgovarajući način vezala psa pa je mogla pretpostaviti da će isti istrčati na cestu. Po pitanju vrijednosti psa, s obzirom na činjenicu da je pas star 8 godina i njegove već postojeće bolesti, troškovi liječenja su bili nerazmjerno visoki.

Sud je zaključio kako na parkiralištu kao i na benzinskoj postaji vrijedi jednaka dužnost pažnje i kod ulaska i izlaska s benzinske postaje, ako ne i veća zbog opasnih stvari na benzinskoj postaji. Na temelju dokaznog postupka sud je uvjeren da je vozač uočio psa i stoga se

¹ Pressemitteilung Amtsgericht München - Pressesprecherin - 21.7.2014.

tražila njegova povećana pažnja. Pod ovim okolnostima vozač je trebao polako proći pored psa ili čekati dok tužiteljica pusti psa te se zaputi dalje. S obzirom da on to nije učinio, odgovoran je za rizik poduzimanja radnje svojim automobilom i stoga postoji njegova krivnja. Između ostalog, sud je ustvrdio sukrivnju vlasnice psa. Ona je psa trebala čvrsto zavezati tako da on nije mogao doći do ulaza/izlaza na benzinsku postaju kuda prolaze automobili. Ovu dužnost brige ona nije ispunila pa je sud smatra suodgovornom i to u iznosu od 25%. Većinska odgovornost vozača postoji s aspekta okolnosti koje je on trebao prepoznati da je mjesto gdje je pas zavezan nesigurno i kao takvo nije bezopasno, jer je manevarski prostor za kretanje automobilom bio sužen. Vozač je ovakvu situaciju trebao procijeniti kao činjenično opasnu situaciju.

U modernim građanskopravnim uređenjima prisutna je tendencija da se životinje ne izjednačavaju sa stvarima, već im se sve češće priznaje svojevrsni pravni subjektivitet i posebna zaštita. Tako njemački Građanski zakonik izrijeком posebno ističe u odredbi § 90.a: *»Životinje nisu stvari. One se štite posebnim zakonima. Na njih se primjenjuju propisi koji vrijede za stvari ako nije nešto drugo određeno«* kao i u § 903., kojim se ograničavaju prava vlasnika životinja: *»Vlasnik stvari može, ako se tome ne protive zakon ili prava trećih osoba, sa stvari činiti što ga je volja i iz toga isključiti bilo čiji utjecaj. Vlasnik životinje mora prilikom izvršavanja svojih ovlasti poštovati posebne propise o zaštiti životinja.«*² I austrijski ABGB (§ 285.a)³ također je noveliran u istom smislu (Radošević, 2010.).

U prikazanom slučaju sud je svoju presudu utemeljio na subjektivnoj (kulpoznoj) odgovornosti koja postoji ako je za odštetnu odgovornost potrebna, među ostalim općim pretpostavkama i

krivnja štetnika kao njegov subjektivni odnos prema prouzročenju štete. U odštetnom pravu postoje dvije vrste krivnje: namjera (štetnik je postupao znajući i hotimice) i nepažnja (svjestan je da svojom radnjom može počiniti štetu, ali olako smatra da do nje neće doći, pri čemu se razlikuje krajnja i obična nepažnja). Pravilo je da se krivnja presumira, i to najniži stupanj krivnje, odnosno obična nepažnja, dok je svaki viši stupanj krivnje (namjeru i krajnju nepažnju) oštećenik dužan dokazati.

Za razliku od gore navedene vrste odgovornosti, postoji i tzv. objektivna (kauzalna) odgovornost za štetu za čiji se nastanak ne traži krivnja štetnika nego se odgovara već na temelju objektivne činjenice što je šteta prouzročena. Već samo ispunjenje općih pretpostavki dovoljno je za postojanje odgovornosti. Stoga, objektivna se odgovornost primjenjuje u jednom užem području odštetnog prava, tj. kod odgovornosti za štetu od opasne stvari ili opasne djelatnosti. U odštetnom pravu neke životinje kada se pojavljuju kao štetnici smatraju se opasnim stvarima, jer predstavljaju povećanu opasnost od nastanka štete za okolinu npr. njemački ovčar, pit bull, divlje životinje, psi čuvari i sl. (Crnić, 2008.).

Utvrđujući iznos štete sud je u prikazanom slučaju primijenio odredbu njemačkog Građanskog zakonika (§ 251 BGB) prema kojemu je propisano da troškovi za liječenje životnje koja je ozlijeđena nisu već tada nerazmjerni u slučaju kada oni značajno premašuju vrijednost ozlijeđene životinje. Različito od slučaja kada je čovjek ozlijeđen pa se iznos štete utvrđuje u punom stvarnom iznosu te je onda i neograničen, u slučaju kada je ozlijeđena životinja postoji limit ukoliko su troškovi pretjerano visoki i nerazmjerni. To znači da se troškovi liječenja kod životinja ne nadoknađuju kada oni značajno premašuju vrijednost životinje. Ipak, BGB ne određuje kriterije

2 <http://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer>

3 <http://www.admin.ch/ch/d/sr/210/index1.html>

za nerazmjernost pa pri procjeni omjera troškova liječenja i stvarne vrijednosti stvari, treba uzeti u obzir sve okolnosti konkretnog slučaja. Tako bi za kućnog ljubimca trebalo priznati veće troškove liječenja nego za životinje koje se uzgajaju za hranu. Načelno, dob i vrijednost životinje smatraju se od supsidijarnog značenja dok je primarno potrebno procijeniti troškove liječenja i usporediti ih s mogućnošću za preživljavanje. U prikazanom slučaju liječenje životinje bilo je moguće bez velikog rizika i pri uobičajenim okolnostima mogao se očekivati potpuni oporavak. Kako je sud ustvrdio postojanje i odgovornosti vlasnice u omjeru od 25%, vozač je morao nadoknaditi troškove liječenja u iznosu od 1 650 eura.

Posebno uređenje u pogledu kućnih ljubimaca postoji i u području odštetnog prava. Tako švicarski Građanski zakonik određuje da se u slučaju ozljede ili usmrćenja životinje koja se drži u kući (a ne radi stjecanja imovinske koristi) iznos naknade može odrediti prema afekcijskoj vrijednosti koju je ta životinja imala za svojeg vlasnika ili članove njegova kućanstva. Prema Hrvatskom obveznom pravu visina naknade štete određuje se po redovitoj cijeni koju neka stvar ima u vrijeme donošenja sudske odluke, dok se naknada štete prema vrijednosti koju je stvar imala za oštećenika (tj. po afekcijskoj cijeni/*pretium affectionis*) dosuđuje jedino u slučaju kada je stvar uništena ili oštećena kaznenim djelom počinjenim namjerno. Ovaj stav prihvatila je i sudska praksa u odluci po kojoj *»kada je gubitak psa uzrokovan umišljajnim krivičnim djelom, oštećenik ima pravo na naknadu prema vrijednosti koju stvar ima za njega (pretium affectionis) i to prema cijenama u vrijeme donošenja prvostupanjske odluke.«* (VS Rev-759/92). Razlog za ovakvo rješenje leži u posebnoj emotivnoj povezanosti ljudi s kućnim ljubimcima.

Trovanje krava umjetnim gnojivom:

Nije osnovan prigovor revidenta o

nepostojanju njegove odgovornosti ili o većem doprinosu tužitelja nastanku štete, prihvaća se pravna ocjena nižih sudova o tome da su tuženici bili dužni na pravno dopušteni način spriječiti tužitelja u nedozvoljenom korištenju dvorišta koje posjeduje majka revidenta. Stoga opisano ponašanje tužitelja ne može u mjeri većoj od one koju su utvrdili niži sudovi osloboditi revidenta od odgovornosti za štetu nastalu njegovim postupanjem te u tom dijelu niži sudovi nisu na štetu revidenta pogrešno primijenili odredbu Zakona o obveznim odnosima o podijeljenoj odgovornosti (odluka VSRH Rev 2288/1993-2).

Predmet spora u ovoj pravnoj stvari predstavlja zahtjev tužitelja radi naknade štete koja mu je nastala uslijed trovanja krava od kojih je jedna uginula, a tri su krave oboljele. Činjenično, tužitelj je dovodio svoje krave u dio dvorišta koji koristi majka prvotuženice koja je tamo namjerno ostavila veću količinu umjetnog gnojiva svjesna da upravo takva veća količina navedenog umjetnog gnojiva može djelovati štetno kao otrov na životinje koje bi s travom konzumirale takvo umjetno gnojivo pa su takve štetne posljedice i nastupile kad su krave konzumirale umjetno gnojivo koje je bilo postavljeno u većim hrpama skriveno pod ovčim listovima postojećeg raslinja. Zbog toga sud nalazi da je tuženik u pretežitom dijelu odgovoran tužitelju za štetu, i to u dijelu od 80%, dok nalaze da je sam tužitelj pridonio nastanku štete u dijelu od 20%, jer je dovodio krave u spomenuti dio dvorišta koji koristi majka prvotuženice, a da zato nije imao njeno dopuštenje.

U prikazanom slučaju vidimo da su ispunjene sve potrebne pretpostavke odgovornosti za štetu, kako opće tako i posebne. Tako je utvrđena uzročna veza između štetne radnje kao uzroka, odnosno ostavljanja veće količine umjetnog gnojiva u dvorištu te nastale štete, odnosno uginuća i oboljenja krava kao posljedice. S obzirom da je načelo našeg Odštetnog prava subjektivna odgovornost kod koje se krivnja

presumira, a presumira se onaj najblaži stupanj krivnje, odnosno nepažnja dok svaki viši stupanj mora dokazati oštećenik, u konkretnom slučaju možemo ustvrditi da je tužitelj uspio dokazati da je tuženica namjerno prouzročila trovanje krava zbog sukoba između njezine majke i tužitelja.

Što se tiče opsega i visine utvrđene štete tuženik mora nadoknaditi štetu koju je prouzročio tužitelju uginućem jedne krave koja je bila steona, odnosno stvarnu štetu, ali i tzv. izmaklu dobit (negativnu štetu, *lucrum cessans*), odnosno onaj prihod koji bi tužitelj ostvario prodajom mlijeka kroz vrijeme bolesti svojih krava. Izmakla dobit je vrsta imovinske štete te se njezina visina u pravilu određuje prema cijenama u vrijeme donošenja prvostupanjske presude.

Eutanazija životinja po nalogu, a bez znanja i dopuštenja vlasnika: *Šteta na koju se tužitelj poziva nije uzrokovana postupanjem tuženica koje bi „imalo značajke protupravnosti“, pa sve da su po nalogu tuženica eutanazirane i uklonjene životinje u vlasništvu tužitelja, tuženice nisu u obvezi tužitelju naknaditi utuženu štetu (odluka VSRH Rev 1618/09-2).*

Predmet spora je bio tužbeni zahtjev na obvezivanje tuženica da tužitelju solidarno isplate 1.356.000,00 kuna. Tužitelj je smatrao da mu je šteta prouzročena eutanaziranjem i uklanjanjem njegovih životinja po nalogu tuženica. U postupku je utvrđeno da je rješenjem Republike Hrvatske, Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, Uprave veterinarstva, Veterinarskog ureda I. županije u postupku zaštite dobrobiti životinja i sprječavanja mogućih opasnosti i šteta od opasnih, nenadziranih, nezbrinutih, lutajućih goveda i drugih životinja zabranjeno posjednicima životinja da iste drže na neograđenim, otvorenim pašnjacima. Istim je Rješenjem naređeno da se i opasne, napuštene ili izgubljene životinje koje

se bez nadzora vlasnika ili čuvara nađu na javnim površinama, prometnicama te privatnim posjedima prikupe i smjeste u odgovarajuće sklonište na 30 dana te da se izvršeno prikupljanje životinja javno objavi i pozove vlasnike da podmire štetu nastalu nekontroliranim djelovanjem njihovih životinja. Ukoliko se vlasnik ne odazove pozivu i podmiri štetu, Veterinarski ured se može namiriti prodajom ili gospodarskim iskorištavanjem životinja ukoliko je to moguće. U protivnom, životinje će se eutanazirati i neškodljivo ukloniti na propisani način.

Temeljem gore spomenutog Rješenja, Veterinarski ured I. županije je eutanazirao tužiteljeve životinje (goveđa, kobile, ovce, ždrijebe) koje je isti držao na neograđenim, otvorenim pašnjacima bez nadzora posjednika i čuvara.

U navedenom slučaju potrebno je poći od osnova odštetne odgovornosti, odnosno od pretpostavke protupravnosti štetne radnje. Tužitelj je trebao dokazati da tuženice nisu postupale prema navedenom Rješenju i zaključku Republike Hrvatske i državnih tijela i tvrdnji da su sve činile u skladu sa svojim pravima i obvezama. Tužitelj tvrdi da mu je utužena šteta prouzročena samom činjenicom što su "po nalogu tuženica, a bez njegova znanja i dozvole, ubijene njegove životinje," što ne predstavlja protupravnu radnju i ne daje osnovu tužiteljevom zahtjevu. Naime, u građanskom odštetnom pravu postoje slučajevi isključenja protupravnosti radnje u kojim slučajevima nema ni odgovornosti za štetu ni njene naknade, kao što su: nužna obrana (odbijanje protupravnog napada), nanošenje štete po službenoj dužnosti, viša sila, dopuštena samopomoć i pristanak oštećenika. U ovom slučaju radi se o nanošenju štete po službenoj dužnosti, jer su tuženice postupale u skladu sa zakonitim rješenjima državnih tijela te prema pravilima svoje struke (Klarić, 2003.).

Tijekom izrade ovog prikaza u našim je medijima zabilježen slučaj iz prakse

hrvatskih sudova koji je izazvao velike polemike opće i stručne javnosti. Radi se o rješenju Općinskog suda u Puli (P-486/14-21) kojim je tuženiku izrečena privremena mjera kojom psa koji se nalazi na njegovoj nekretnini mora držati zatvorenog unutar stambene zgrade na toj nekretnini svakog dana od 20.00 do 08.00 sati idućeg dana, a pod prijetnjom izricanja novčane kazne u iznosu od 20.000,00 kuna svaki put kada se ne bude pridržavao obveze koja mu je nametnuta privremenom mjerom (Slika 1-2).

Pod pojmom privremene mjere Ovršni zakon smatra posebna sredstva sudskog prisilnog osiguranja tražbine koja može biti novčana i nenovčana. Gore spomenuti sud odredio je ovu privremenu mjeru zbog osiguranja nenovčane tražbine tužiteljice koja je morala učiniti vjerojatnim postojanje svoje tražbine, kao i dokazati činjenicu da bi tuženik bez određivanja takve mjere spriječio ili znatno otežao ostvarivanje tražbine ili da bi se time spriječilo nasilje ili nastanak nenadoknadive štete koja prijete.

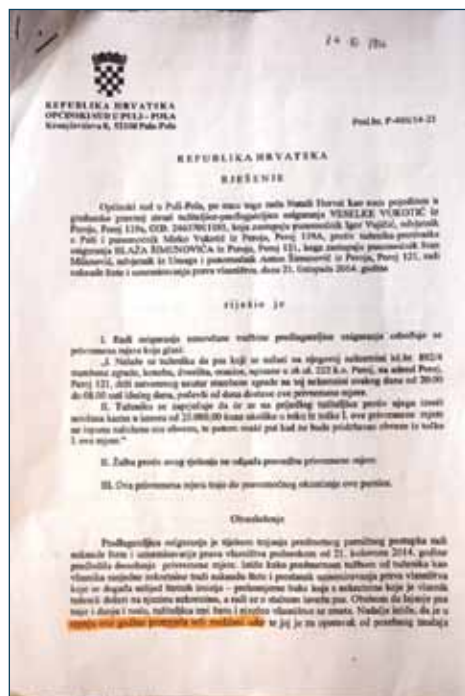
Parnični postupak tijekom kojeg je izrečena ova privremena mjera vodi se zapravo radi naknade štete i prestanka uznemiravanja vlasništva te je pokrenut tužbom zbog uznemiravanja prava vlasništva, tzv. *actio negatoria*. Predmetnom tužbom od tuženika kao vlasnika susjedne nekretnine tužiteljica traži naknadu štete od 10.000,00 kuna zbog povrjede prava osobnosti koju opravdava činjenicom da je pretrpjela moždani udar te joj je potreban mir te prestanak uznemiravanja njezinog prava vlasništva koje se događa zbog štetnih imisija, odnosno u vidu



Slika 1. Pas Medo (Izvor: Jutarnji list, Goran Šebelić/CROPIX)

prekomjerne buke koja dolazi s tuženikove nekretnine, a u konkretnom slučaju radi se o lavežu psa.

Imisijama smatramo štetne utjecaje koji dolaze sa susjednih nekretnina bilo da se radi o krutim, tekućim ili plinovitim tvarima. Njih kao takve možemo podijeliti na neposredne i posredne. Neposredne imisije su one kod kojih je radnja upravljena izravno na to da štetne tvari dospiju na susjedno zemljište. Posredne su, pak one kod kojih je susjedovo zemljište slučajno ili djelovanjem prirodne sile izloženo smetnjama koje potječu od radnji na susjednom zemljištu. Potonje se kao takve mogu podijeliti na uobičajene i prekomjerne imisije, odnosno one kojima se otežava korištenje nekretnina preko mjere koja je uobičajena s obzirom na vrstu i namjenu nekretnine i na mjesne prilike ili kojima se pak prouzroči znatnija šteta. Tako, kada govorimo o buci kao jednoj od imisija pri određivanju radi li se o uobičajenoj ili



Slika 2. Rješenje Općinskog suda u Puli (Izvor: Jutarnji list)

prekomjernoj posrednoj imisiji zasigurno nije svejedno radi li se o stanu, tvornici ili bolnici s obzirom na jačinu buke koja se mora trpjeti (Vedriš i Klarić, 2003.).

U ovom slučaju bi se i moglo učiniti vjerojatnim da Medin lavež kao takav doista predstavlja imisiju i to onu posrednu, prekomjernu imisiju koja je nedopuštena. No, možemo li time i buku koju proizvodi plač susjedovog djeteta ili pak kuhinjske mirise koji dolaze sa susjednog zemljišta isto tako smatrati imisijama.

Prema Zakonu o vlasništvu i drugim stvarnim pravima iz 1996. godine vlasnik nije dužan trpjeti da ga itko bez posebnog pravnog temelja uznemiruje time što na njegovu nekretninu odašilje dim, neugodne mirise, otpadne vode i buku pa je ovlašten zahtijevati da to uznemiravanje prestane te da mu se nadoknadi pretrpljena šteta. Upravo u ovoj zakonskoj odredbi svoj temelj nalazi gore spomenuta negatorna tužba koju svaki vlasnik može podići protiv svakog onog koji ga neosnovano uznemiruje. Teret dokaza kod ovakve tužbe leži na tužitelju koji mora dokazati čin uznemiravanja, što bi u konkretnom slučaju značilo da tužiteljica treba dokazati Medino lajanje kako bi se udovoljilo njezinom tužbenom zahtjevu. Stoga je tužiteljica kao dokazno sredstvo kojim dokazuje čin uznemiravanja priložila CD-ove na kojima se nalaze snimke snažnog i glasnog laveža snimljenog u razdoblju od lanjskog travnja do kolovoza. S druge je pak strane veterinarska inspekcija nakon obilaska psa utvrdila da je njegovo ponašanje svojstveno pasmini i dobi te da je pas počeo lajati tek po ulasku njemu nepoznatih osoba u dvorište.

Vlasnik ima pravo podignuti negatornu tužbu kad ga netko uznemirava u pravu vlasništva. Riječ "uznemirava" znači da stanje izazvano radnjom uznemiravanja traje u vremenu, stalno ili da se radnja uznemiravanja povremeno ponavlja. Istovremeno, to znači da uznemiravanje mora postojati u vrijeme podnošenja tužbe. Može se

govoriti o postojanju uznemiravanja i onda kada s obzirom na okolnosti postoji vjerojatnost da će se čin uznemiravanja i ubuduće ponavljati. Jasno je i da uznemiravanje treba biti posljedica neke ljudske radnje ili propuštanja ili uređaja kojeg je čovjek stvorio, a ne slučajnog događaja ili više sile (Vedriš i Klarić, 2003.).

Prema nekim mišljenjima, ovdje bi se moglo raditi ili o propustu vlasnika psa da ga adekvatno smjesti ili čak o vlasnikovom neodgovornom ponašanju prema psu. Naime, držanje psa na lancu može predstavljati fizičko i psihičko zlostavljanje koje dovodi do trajne patnje životinje i njene agresivnosti.

Prema našim saznanjima radi se o prvom i samim time jedinstvenom slučaju koji je zabilježen u praksi sudova Republike Hrvatske s tim da je parnica još uvijek u tijeku i da parnični postupak nije okončan.

Zaključak

Većina pravnih sustava još uvijek prihvaća načelo starog Rimskog prava koje životinje smatra stvarima (*stvari »koje se same kreću«, res se moventes*), odnosno »tjelesnim dijelom prirode, različitim od ljudi, koji služi ljudima za uporabu« (pokretna imovina vlasnika koja mu po pravu pripada i stoji na raspolaganju i na upravljanje, sve dok je ne otuđi ili uništi prema svojoj volji). Radi se o tradicionalnom konceptu odnosa prema životinjama, prema kojem se one tretiraju objektima prava vlasništva, odnosno kao vrijednosti koje uživaju pravnu zaštitu u svrhu ostvarivanja potreba i interesa ljudi.

Ipak, moderni europski građansko-pravni poretci sve više napuštaju to stajalište uređujući način na koje bi životinje u sustavu stvarnog i obveznog prava bile nositelji vlastitih prava ili interesa. Time se prihvaća koncept prema kojemu životinje uživaju pravnu zaštitu zbog toga što su vrijednosti same po sebi te imaju specifičan pravni položaj, tj.

pravni subjektivitet *sui generis*. Životinje mogu imati pravnu sposobnost za određena neimovinska prava, npr. pravo na život, tjelesni i psihički integritet, zaštitu zdravlja i dr. Ovakav *sui generis* pravni subjektivitet životinja uključuje i njihov specifičan pravni položaj kao objekata prava, jer se na njima može imati pravo vlasništva, zakup i neka druga imovinska prava, dok se šteta na životinjama tretira kao šteta na stvari.

Zakonodavstva u području građanskog prava propisuju da je vlasnik dužan prema životinjama kao imovini odnositi se s pažnjom dobrog domaćina. Njemački, austrijski i švicarski Građanski zakonici izriječno navode da životinje nisu stvari, da se one štite posebnim zakonima te da se na njih primjenjuju propisi koji vrijede za stvari samo ako nije nešto drugo određeno. Time se životinjama priznaje svojevrsni pravni subjektivitet i posebna zaštita, što je najočiglednije upravo u ograničavanju prava vlasnika životinja, jer vlasnik stvari može, ako se tome ne protive zakon ili prava trećih osoba, sa stvari činiti što ga je volja i iz toga isključiti bilo čiji utjecaj, ali vlasnik životinje mora prilikom izvršavanja svojih ovlasti poštovati posebne propise o zaštiti životinja.

Sažetak

Odštetno pravo je dio građanskog obveznog prava utemeljeno na načelu zabrane

prouzročenja štete, što znači da je svatko dužan suzdržati se od postupka kojim se drugome može prouzročiti šteta. Odgovornost za štetu je obveznopravni odnos u kojem je jedna strana dužna popraviti prouzročenu štetu drugoj strani, a druga je strana ovlaštena zahtijevati takav popravak. Rad prikazuje slučajeve naknade štete vlasniku ili posjedniku povrijeđene ili usmrćene životinje koji se na taj način pojavljuje kao osoba oštećenika.

Ključne riječi: *naknada štete, odgovornost za štetu, zaštita životinja, privremena mjera, actio negatoria, imisije*

Literatura

1. CRNIĆ, I. (2008): Odštetno pravo, Zbirka sudskih rješidbi o naknadi i popravljanju štete s napomenama i propisima, drugo bitno izmijenjeno i dopunjeno izdanje, Zagreb.
2. KLARIĆ, P. (2003): Odštetno pravo, Narodne novine, Zagreb.
3. RADOŠEVIĆ, P. (2010): Pravni status i zaštita životinja u građanskom pravu, Informator br. 5902 od 29. 9. 2010.
4. VEDRIŠ, M. i P. KLARIĆ (2003): Građansko pravo - opći dio, stvarno pravo, obvezno i nasljedno pravo, sedmo izmijenjeno i dopunjeno izdanje, Zagreb, 2003. godina.
5. VEDRIŠ, M. i P. KLARIĆ (2009): Građansko pravo, Narodne novine, Zagreb.
6. Švicarski građanski zakonik ZGB 2002. <http://www.admin.ch/ch/d/sr/210/index1.html>.
7. Njemački građanski zakonik BGB <http://www.gesetze-im-internet.de/bgb/>.
8. Austrijski građanski zakonik ABGB <http://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer>.

Compensation for an Injured or Killed Animal (Case Study)

Nina MIŠIĆ RADANOVIĆ, Assistant Professor, University Department for Forensic Sciences, Split, Croatia; Gordan MRŠIĆ, BSc, PhD, Assistant Professor, Forensic Science Centre "Ivan Vučetić", General Police Directorate, Ministry of Interior, Zagreb, Croatia; Maja POPOVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Tort law is part of the civil law of obligations based on the principle of prohibition of causing damage, meaning that everyone shall refrain from any act which may cause damage to others. Liability for damages is a contractual relationship in which one party is obliged to repair the damage incurred to the other side, and the other party is entitled

to require such repair. The paper presents a case of damages to the owner or possessor of injured or killed animals which thus appear as a person injured.

Key words: *compensation, liability for damages, protection of animals, temporary measure, actio negatoria, imissions*

Oksalatna nefroza u mačke –otrovanje etilen glikolom?- prikaz slučaja

Branka Artuković, I-C. Šoštarić-Zuckermann, Lidija Medven Zagradišnik, M. Hohšteter, Andrea Gudan Kurilj, Andrija Musulin i Ž. Grabarević



Uvod

Oksalatna nefropatija je česta tzv. kristalinična nefropatija koja je zabilježena kako kod životinja tako i u ljudi i klinički se različito manifestira. Sam naziv kristalinična nefropatija se koristi za opisivanje oštećenja bubrega s nalazom većih količina kristala kako u tubulima tako i u intersticiju (Mohamaden i sur., 2013.). Klinički se bolest može očitovati u akutnom i kroničnom obliku i uglavnom je karakterizirana zatajivanjem bubrega, koje je često ireverzibilno. Uzroci su joj različiti. Može nastati kao posljedica enteralne hiperoksalurije, izlaganja različitim toksinima, kao posljedica unosa veće količine oksalata hranom ili urođenih poremetnji metabolizma (Herlitz i sur., 2012.). Najčešći toksični čimbenik koji prouzroči razvoj akutne, uglavnom ireverzibilne oksalatne nefropatije, je etilen glikol (Poldelski, 2001., Keller i Goddard 2005.). Ingestija etilen glikola, koji je glavni sastojak antifrizu (čini 95% koncentracije u otopini antifrizu) je čest uzrok akutne tubularne nekroze u mačaka i pasa. Pojavnost ovog otrovanja je često povezana sa zamjenom antifrizu u automobilima (najčešće u jesen i proljeće). Kako etilen

glikol ima slatkast okus životinje ga rado poližu (i psi i mačke) (Janczyk, 2002.), a može biti i namjerno trovanje antifrizom. Treba spomenuti da su mačke znatno osjetljivije nego psi. Tako je minimalna letalna doza za mačku 1,5 mL/kg, a za psa 6,6 mL/kg etilen glikola (Maxie i Newman, 2007.), a Keller i Goddard (2005.) navode da 5 mL etilen glikola u mačke i 20 mL u psa može izazvati uginuće životinje. Etilen glikol je slabo toksičan, ali glavni toksični učinak imaju njegovi metaboliti. On se brzo resorbira iz gastrointestinalnog trakta i dio se nepromijenjen izlučuje urinom, a dio se alkoholnom i aldehidnom dehidrogenazom metabolizira u toksične produkte kao što su: glikoaldehid, glikolna kiselina, glioksilat i oksalat. Oksalati zajedno s kalcijem u tubulima formiraju kalcijev oksalat koji se može naći u urinu i u krvnim žilama drugih organa, uključujući i mozak (Gaynor i Dhupa, 1999.a,b, Corley i sur., 2005., Guo i sur., 2007.). Primarni nefrotoksični metaboliti su glikoaldehid i glioksilat (Jacobsen i sur., 1988.). Ovi metaboliti izazivaju depleciju ATP i destrukciju fosfolipida membrane. Drugi krajnji produkti metabolizma su:

Dr. sc. Branka ARTUKOVIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Ivan-Conrado ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, dr. med. vet., viši asistent, Lidija MEDVEN ZAGRADIŠNIK, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Marko HOHŠTETER, dr. med. vet., docent, dr. sc. Andrea GUDAN KURILJ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Andrija MUSULIN, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

mliječna kiselina, hipurična kiselina i ugljični dioksid (Maxie i Newman, 2007.). Mehanizam djelovanja nefrotoksičnih metabolita je vezan za izravnu interakciju toksičnih metabolita s epitelom tubula. Kalcijevi oksalati se talože kao velike molekule blijedožutih kristala u lumenu tubula te epitelnim stanicama i intersticiju i tako izazivaju opstrukciju tubula te degeneraciju i nekrozu epitela tubula najvjerojatnije direktnim mehaničkim oštećenjem. Kristali mogu biti različitog oblika, od okruglih do piramidalnih koji su često poredani u snopice ili rozete što je praktički patognomonično za trovanje etilen glikolom u pasa i mačaka (Newman i sur., 2007.). Kod otrovanja životinja najčešće prolazi tri stadija (Beasley i Buck, 1980., Grauer i Thrall, 1985.). U prvom stadiju koji se pojavljuje 30 minuta nakon uzimanja etilen glikola i traje do 12 sati životinja najčešće pokazuje kliničke simptome slične trovanju alkoholom (pospanost, teturanje, posrtanje, mučnina, povraćanje, žeđ, i često uriniranje). Drugi stadij je u vremenu od 12-24 sata nakon ingestije i većina znakova iz prvog stadija nestaje, ali se u životinja pojavi tahikardija i tahipneja zbog velike količine glikolata u krvi i posljedične acidoze. U trećem stadiju (24-96 sati nakon ingestije) dolazi do jakog oštećenja i zatajenja bubrega. Tretman kod akutne intoksikacije se prije svega mora fokusirati na preveniranje apsorpcije etilen glikola te preveniranje njegovog daljnjeg metaboliziranja. To se postiže inhibiranjem enzima koji su uključeni u metabolizam. Prije svega se kao antidot koristi etanol, iako on može imati i štetne učinke na mozak i respiratorni sustav te 4-methylpyrazole (fomepizol) (Beasley i Buck, 1980., Thrall i sur., 1995., Connally i sur., 1996., Gaynor i Dhupa, 1999.b).

Iako je trovanje etilen glikolom važan problem u maloj veterinarskoj praksi i prema Europskom veterinarskom toksikološkom informativnom centru u periodu od 1975.-1996. on je bio odgovoran

za 10% svih slučajeva trovanja pasa (Janczyk, 2002.). Po našim saznanjima u Hrvatskoj nema sustavne evidencije o pojavnosti trovanja. Najvjerojatniji razlog tome je često i izostanak dijagnoze. Naime, vlasnici često ne primjete simptome pa kasno životinju dovedu veterinaru tako da one ponekad uginu bez obavljenih pretraga koje bi isključile ili potvrdile trovanje. Upravo zbog toga u ovome radu po prvi puta u Hrvatskoj opisujemo patomorfološke i patohistološke promjene u mačke koje najviše odgovaraju trovanju metabolitima etilen glikola.

Prikaz slučaja

Anamnestički podatci

Na Kliniku za kirurgiju, oftamologiju i ortopediju Veterinarskog fakulteta u listopadu 2014. godine je dostavljena mačka, domaće pasmine, nepoznate dobi, vlasništvo Azila za životinje. Mačka je pola sata prije dolaska na Kliniku pronađena kako nepomično leži na cesti. Kliničkim je pregledom utvrđeno da je mačka mirna, smanjene svijesti i nestabilna na nogama, ali nema vidljivih vanjskih znakova ozljede. Menace refleks je bio odsutan i zjenice su izrazito trome reagirale na svjetlosni podražaj. Građa tijela je bila pravilna, a gojno stanje dobro. Ponašanje je bilo depresivno. Sluznice spojnice oka su bile svjetloružičaste, a nosa fiziološko. Limfni čvorovi su bili fiziološki, trbuh u tonusu, nos fiziološki, palpacija grkljana, dušnika te prsnog koša s obje strane je pokazala fiziološki nalaz. Nad plućima lijevo i desno su utvrđene kreptacije. Nalaz na koži je bio u fiziološkim granicama. Životinja je upućena na rentgen (Rtg). Rtg nalaz organa grudne i trbušne šupljine kao i zdjelice je bio bez osobitosti. Životinja je dobila infuziju (NaCl 0,9%, 3 mL/kg/hr Cri), ali je uginula nakon 40-ak sati te je lešina dostavljena na obdukciju. Na žalost, osim Rtg druge pretrage nisu

napravljene. Zbog nepoznatog cijepnog statusa i kliničkih znakova kod životinje dežurni ordinarijus je tražio i pretragu na bjesnoću.

Na Zavodu za veterinarsku patologiju obavljena je obdukcija dostavljene nam lešine mačke te su dijelovi organa uzorkovani za patohistološku pretragu, a mozak je uzorkovan za virusološku pretragu (pretraga na bjesnoću).

Patomorfološki nalaz

Obdukcijom mačke utvrđena je anemija sluznica prirodnih otvora te

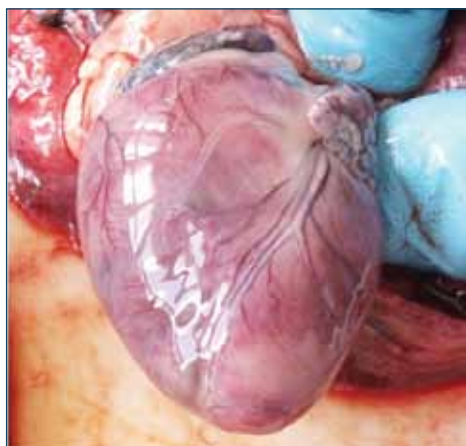
suho i anemično potkožje. Pluća su bila povećana (sl. 1) i iz njih se cijedila veća količina tekućeg, dijelom pjenušavog, sadržaja. U osrčju se nalazilo oko 3 mL tekućeg bistrog sadržaja (sl. 2), a miokard lijeve klijetke je bio zadebljao i prošaranog izgleda (izmjenjuju se područja smeđe i žućkastosivkaste boje) te umjereno prhke koherencije (sl. 3). Jetra je bila punokrvna, a slezena nešto povećana i smeđe crvene boje. U želucu se nalazila manja količina tamnosmeđeg dijelom sluzavog sadržaja, a po sluznici se vidjelo nekoliko rasijanih površnih oštećenja promjera 2-3 mm, a u području pilorusa dublje oštećenje



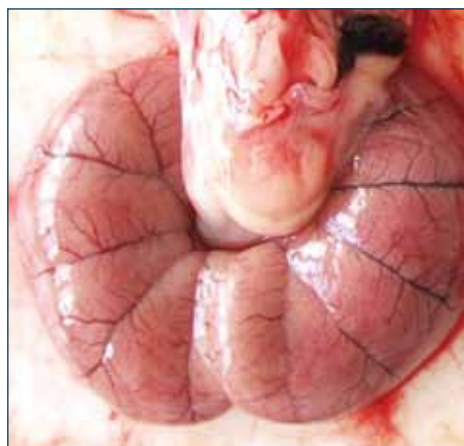
Slika 1. Mačka. Pluća. Povećana sivocrvenkasta pluća (edem).



Slika 2. Mačka. Osrdje i srce. Hidroperikard.



Slika 3. Mačka. Srce. Prošaran izgled srca (degeneracija) i hipertrofija lijeve klijetke.



Slika 4. Mačka. Bubrege-površina. Povećan bubreg sivosmeđe boje.



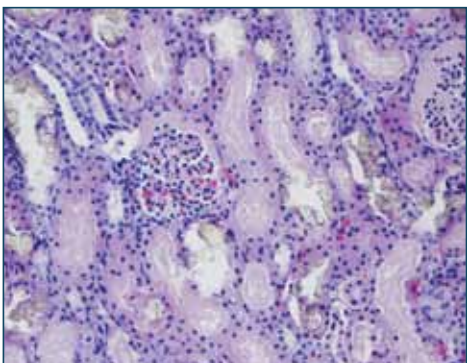
Slika 5. Mačka. Bubrež-prerezna površina. Bjeličasto isprugana kora i punokrvnost srži.

sluznice promjera oko 1 cm. U crijevima je bio sadržaj kao i u želucu, ali bez makroskopskih promjena na sluznici. Oba bubrega su bila povećana, smeđesivkaste boje i umjereno prhke koherencije (sl. 4). Na prerezu su se mjestimice u kori nazirala bjelkasta prugasta područja (sl. 5). Mozak je bio punokrvan i edematozan. Nalaz na ostalim organima b.o.

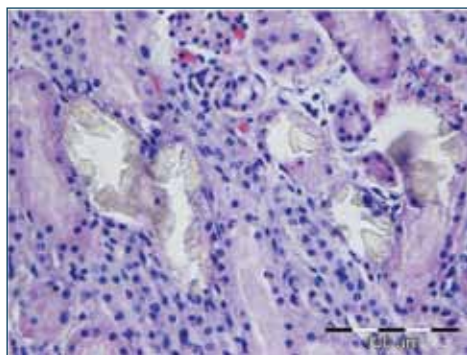
Patohistološki nalaz

Dominantne patohistološke promjene su bile na bubrežima. Veliki broj tubula je bio proširen i u njima su se nalazile kristalične strukture koje su u potpunosti

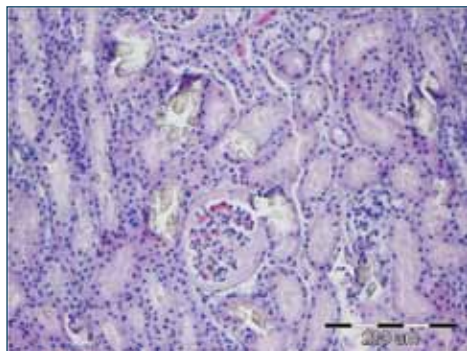
ispunjavale lumen tubula. (sl. 6, 7 i 8). Kristali su bili blijedožućkaste boje (transparentni), različitog oblika, od okruglastog do piramidalnog te su mjestimice bili posloženi tako da su tvorili snopiće ili rozete i u nekim tubulima su bili u kontaktu s bazalnom membranom tubula (sl. 7 i 8). Epitelne stanice tubula su uglavnom bile ili izrazito nabubrele ili skvrčene (često trokutastog oblika). Ove skvrčene stanice su se jače bojile eozinom i imale su piknotičnu jezgru (sl. 8). U lumenu znatnijeg broja tubula bio je vidljiv eozinofilniji bjelčančevinasti materijal pomiješan sa staničnim detritusom (sl. 6, 7 i 8). Oko nekih tubula kod kojih je bila oštećena bazalna membrana kristalima bio je prisutan fokalni mješoviti stanični infiltrat. U pojedinim glomerulima Bowmanov prostor je bio proširen, glomerularno klupko je bilo atrofično, a utvrđen je i fokalni membranozni glomerulitis (sl. 8). Od mikroskopskih promjena na drugim organima treba spomenuti punokrvnost i edem (sl. 9), osobito jako izražen oko krvnih žila te parenhimska krvarenja po plućima te kataralično deskvamativni bronhitis. U srcu je, uz punokrvnost i fokalna parenhimska krvarenja, bila vidljiva i multifokalna degeneracija miofibrila (sl. 10). U jetri je bila vidljiva hidropičnovakuolarna degeneracija s



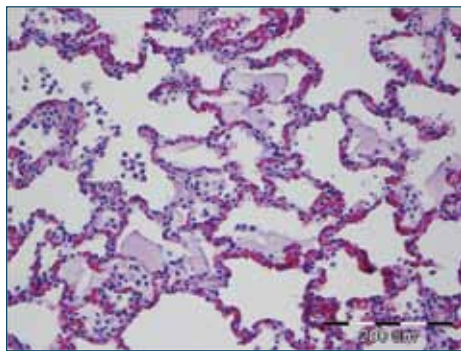
Slika 6. Mačka. Bubrež. Prošireni tubuli ispunjeni kristalima i djelomično s eozinofilnim sadržajem (bjelčančevinasti materijal i stanični detritus); U Bowmanovom prostoru nekih tubula veća količina eozinofilnog sadržaja i atrofija kapilarnog klupka. HE.



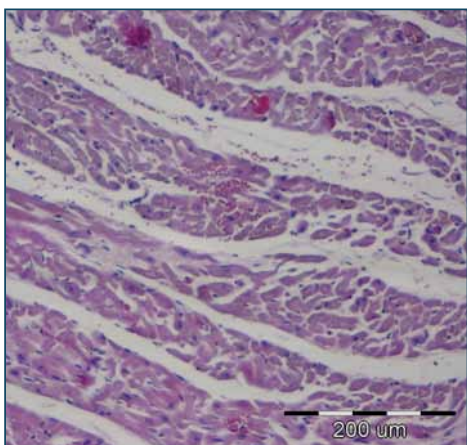
Slika 7. Mačka. Bubrež. U proširenim tubulima epitel gotovo potpuno nedostaje. Kristali poredani na ogoljeloj bazalnoj membrani u obliku rozete. HE.



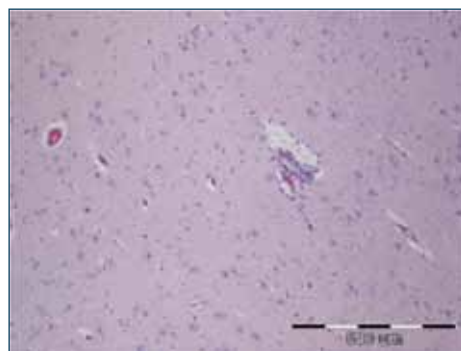
Slika 8. Mačka. Bubrež. Prošireni tubuli s kristalima; fokalni membranozni glomerulitis; fokalni mikstocelularni intersticijski nefritis (oko tubula oštećenog kristalima). HE.



Slika 9. Mačka. Pluća. Edem i punokrvnost. HE.



Slika 10. Mačka. Srce. Mutifokalna degeneracija miofibrila i fokalna parenhimska krvarenja. HE.



Slika 11. Mačka. Mozak. Perivaskularni edem. HE.

rijetko rasijanim milijarnim nekrozama. Mozak je bio punokrvan s fokalnom gliozom te izraženijim perivaskularnim edemom (sl. 11).

Virusološka pretraga

Laboratorijska je pretraga moždanog tkiva mačke pokazale negativan rezultat na prisutnost virusa bjesnoće.

Rasprava

U našem je radu opisan slučaj oksalatne nefroze kod mačke, domaće pasmine, za koju pretpostavljamo da

je došlo do trovanja etilen glikolom. Naime, kod ove životinje nedostaju nalazi laboratorijskih pretraga. Dijelom je to i zbog činjenice da je mačka nađena uz cestu pa su pretrage bile prije svega usmjerene na isključivanje traume, a u međuvremenu je došlo do uginuća životinje. Međutim, vrijeme uginuća životinje (kraj listopada- vrijeme stavljanja i mijenjanja antifrizu u automobilima) je u suglasju s navodima iz literature (Janczyk, 2002., Keller i Goddard, 2005., Maxie i Newman, 2007.), a i klinički nalaz pri primitku životinje te karakterističan nalaz na bubrezima (gotovo u svim tubulima prisutni kristali koji po svojoj morfologiji odgovaraju oksalatima) što je u suglasju s rezultatima drugih

autora (Poldelski i sur., 2001., Guo i Mc Martin 2005., Guo i sur., 2007., Rusenov i sur., 2014.) s posljedičnim zatajivanjem bubrega i promjenama na drugim organima koje prate uremiju. Otrovanje etilen glikolom u pasa i mačaka je najčešći uzrok nastanka oksalatne nefroze (Thrall i sur., 1985.) s tim da treba naglasiti da su mačke posebno osjetljive, osobito mlađe. Dovoljna je ingestija vrlo malih količina, a opisano je i otrovanje mačke koja je čistila dlaku namočenu u antifriz. Simptomi koji su bili prisutni u naše mačke su se očito izrazito brzo razvijali i odgovarali su onima kod otrovanja etilen glikolom, a i brzina nastupa smrti odgovara onoj koja je opisana u literaturi (Keller i Goddard, 2005.). Naravno i simptomi i duljina trajanja te ishod bolesti ovise o količini uzetog etilen glikola, prepoznavanju simptoma bolesti od strane vlasnika, ali i veterinaru (Janczyk, 2002.). Životinje bi trebale biti tretirane sredstvima za preveniranje apsorpcije etilen glikola i stvaranja metabolita (prije svega inhibiranje alkoholne dehidrogenaze- etanol ili fomepizol) (Thrall i sur., 1995., Gaynor i Dhupa 1999.a).

Važni europski i svjetski centri za toksikologiju ukazuju na povećanu pojavnost oksalatnih urolita u mačaka i pasa (Kirk i sur., 1995., Houston i sur., 2003., Houston i Moore 2009.). Predisponirajući čimbenici za nastanak oksalatnih urolita su acidifikacija urina i hipomagnezijemija. Češće se pojavljuju u mačaka srednje do starije dobi, muških životinja, a od pasmina su najčešće zastupljene: domaća, himalajska, perzijska i sijamska mačka (Kirk i sur., 1995., Houston i Moore 2009.). Zbog toga je potrebno naglasiti da je potreban intenzivan monitoring ovih pacijenata te rana veterinarska intervencija da bi došlo do povoljnog ishoda (Keller i Goddard, 2005.). Isto tako, povećana pojavnost oksalatne nefroze kod mačaka koja nastaje i zbog drugih uzroka zahtijeva ulaganje

dodatnih napora pri dijagnosticiranju i registriranju ovih stanja. Uz to potrebna je edukacija vlasnika o potencijalnim mogućnostima trovanja, prepoznavanju simptoma te pravovremena veterinarska intervencija. Naime, za mačke bi trebalo reagirati unutar četiri sata nakon ingestije antifrizu ili neke druge supstance koja sadrži etilen glikol (Janczyk, 2002.).

Sažetak

U radu su opisane patomorfološke i patohistološke promjene kod oksalatne nefroze u mačke. Budući da je u mačaka čest razlog nastanka oksalatne nefroze otrovanje etilen glikolom postavljena je sumnja na to otrovanje kao uzrok uginuća, iako nedostaju popratni laboratorijski nalazi. Klinički nalaz također opravdava sumnju na trovanje. Naš rad predstavlja prvi opis patomorfoloških i patohistoloških promjena kod oksalatne nefroze u mačaka u Hrvatskoj. Svjetski toksikološki centri pokazuju veliku učestalost ovih otrovanja u mačaka i pasa pa su ona vjerojatno i u Hrvatskoj češća nego što su dijagnosticirana. Zbog toga bi trebalo uložiti dodatne napore pri dijagnosticiranju, registriranju slučajeva trovanja te edukaciji vlasnika o potencijalnim mogućnostima trovanja, prepoznavanju simptoma i ukazati na potrebu za pravovremenom veterinarskom intervencijom.

Ključne riječi: *oksalatna nefroza, etilen glikol, otrovanje, mačka*

Literatura

1. BEASLEY, V. and W. BUCK (1980): Acute ethylene glycol toxicosis: a review. *Vet. Hum. Toxicol.* 22, 255-263.
2. CONNALLY, H., M. THRALL and S. FORNEY (1996): Safety and efficacy of 4-methylpyrazole as treatment for suspected or confirmed ethylene glycol intoxication in dogs: 107 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209, 1880-1883.
3. CORLEY, R. A., M. E. MEEK and E. V. CARNEY (2005): Mode of action: oxalate crystal induced renal tubule degeneration and glycolic acid – induced dysmorphogenesis- renal and developmental effects of ethylene glycol. *Crit. Rev. Toxicol.* 35, 691-702.
4. HOUSTON, D. M. and A. E. P. MOORE (2009): Canine and feline urolithiasis: Examination of over 50 000 urolith submission to the Canadian Veterinary Urolith Centre. *Can. Vet. J.* 50, 1263-1268.
5. HOUSTON, D. M., A. E. P. MOORE, M. G. FAVRIN and B. HOFF (2003): Feline urethral plugs and

- bladder uroliths: A review of 5484 submission 1998-2003. *Can. Vet. J.* 44, 974-977.
6. GRAUER, G. and M. THRALL (1982): Ethylene glycol (antifreeze) poisoning in the dog and cat. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 18, 492-497.
 7. GAYNOR, A. and N. DHUPA (1999a): Acute ethylene glycol intoxication. Part I. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 21, 1014-1023.
 8. GAYNOR, A. and N. DHUPA (1999b): Acute ethylene glycol intoxication. Part II. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 21, 1124-113.
 9. GUO, C., T. A. CENAC, Y. LI and K. E. McMARTIN (2007): Calcium oxalate, and not pther metabolites, is responsible for the renal toxiciti of ethylene glycol. *Toxicol. Letters* 173, 8-16.
 10. HERLITZ, L. C., V. D. D'AGATI and G. S. MARKOWITZ (2012): Crystalline Nephropathies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 136, 713-720.
 11. JACOBSEN, D., T. P. HEWLETT, R. WEBB, S. T. BROWN, A. T. ORDINARIO and K. E. McMARTIN (1988): Ethylene glycol intoxication: evaluation of kinetics and crystalluria. *Am. J. Med.* 84, 145-152.
 12. JANCZYK, P. (2002): Ethylene glicolpoisoning in dogs and cats. *Med. Weter.* 58, 501-506.
 13. KELLER, N. and A. GODDARD (2005): First report of suspected ethylene glycol poisoning in 2 dogs in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 76, 116-119.
 14. KIRK, C. A., G. F. LING, C. E. FRANTI and J. M. SCARLETT (1995): Evaluation of factors associated with development of calcium oxalate urolithiasis in cats: case report of 5 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 297-301.
 15. MAXIE, M. G. and S. J. NEWMAN (2007): Urinary system. In: Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals, vol. 2, ed. Maxie M. G., 5th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto, pp. 470-472; 512-513.
 16. MOHAMADEN, W., H. WANG, H. GUAN and J. LI (2013): Effect of potassium oxalarte on liver function and kidney tissue of dogs (Beagles). *Arch. Biol. Sci. Belgrade* 65, 1363-1370.
 17. NEWMAN, S. J., A. W. CONFER and R. J. PANCIERA (2007): Urinary system. In: Pathologic Basis of Veterinary Disease, eds. Mc Gavin, M. D. and J. F. Zachary, 4th ed., Elsevier, St. Louis, MO, pp. 645-662.
 18. POLDELSKI, V., A. JOHNSON, S. WRIGHT, V. D. ROSA and R. A. ZAGER (2001): Ethylene glycol-mediated tubular injury: identification of critical metabolites and injury pathways. *Am. Kidney Dis.* 38, 339-348.
 19. RUSENOV, A., G. SIMEONOVA, R. SIMEONOV, R. DIMITROV, K. STAMATOVA-YOVICHEVA, Y. NIKOLOV and K. UZUNOVA (2014): A case of acute renal failurefollowing ethylene glycol intoxication in a dog. *J. Vet. Med. Istanbul Univ.* 40, 114-120.
 20. THRALL, M. A., S. M. DIAL and D. R. WINDER (1985): Identification of calcium oxalate monohydrate crystals by X- ray diffraction in urine of ethylene glycol-intoxicated dogs. *Vet. Pathol.* 22, 625-628.
 21. THRALL, M. A., G. GRAUER and S. DIAL (1995): Antifreeze poisoning. In: Kirk's current veterinary therapy XII. Bonagura, J. ed. W. B. Saunders, Philadelphia (232-237).

Oxalate Nephrosis an a Cat – Ethylen Glycol Toxicity?- A Case Report

Branka ARTUKOVIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Ivan Conrado ŠOŠTARIĆ-ZUCKREMANN, DVM, PhD, Assistant, Lidija MEDVEN ZAGRADIŠNIK, DVM, Assistant, Marko HOHŠTETER, DVM, PhD, Assistant Professor, Andrea GUDAN KURILJ, DVM, PhD, Assistant Professor, Andrija MUSULIN, DVM, PhD, Senior Assistant, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

This case report describes macroscopic and microscopic changes occurring in an oxalate nephrosis of a cat. Since common cause of oxalate nephrosis in cats is ethylene glycol intoxication, a presumption was made that this intoxication was the cause of death, even though ancillary laboratory tests are lacking. Recorded clinical signs also justify the presumption of this toxicity. Our work represents first description of macroscopic and microscopic changes in oxalate nephrosis in cats in Croatia. Global toxicological centers

indicate high incidence of these intoxications in cats and dogs, therefore we assume that this type of intoxication many times goes undiagnosed in Croatia. For that reason, more effort should be put in diagnosing and recording of this intoxication. Moreover, there is a need of informing owners about potential danger of intoxication, symptom recognition and need of prompt veterinary intervention.

Key Words: *oxalate nephrosis, ethylen glycol, toxicity, cat*

florogen 30%

300 mg/ml, otopina za injekciju
florfenikol



300 mg/ml
OTOPINA ZA
INJEKCIJU



- Učinkovito liječenje infekcija dišnih organa u goveda i svinja
- Jednokratna subkutana ili dvokratna intramuskularna primjena

Uloga akademika Vase Butozana u razvoju moderne veterinarske medicine u Bosni i Hercegovini

Oliver Stevanović, Lejla Krkalić i Edin Šatrović



Razvoj veterinarske medicine u Bosni i Hercegovini je prošao kroz nekoliko perioda. Moderna veterinarska medicina najveći je napredak doživjela u doba okupacije Austro-Ugarske Monarhije (1878.-1918.). Bez obzira na to što je u vrijeme više vjekovne turske vladavine (1463.-1878.) došlo do mnogostrukih socijalnih i kulturoloških promjena među narodima u Bosni i Hercegovini, liječenje životinja se zasnivalo na religioznoj i etno veterinarskoj medicini (Šatrović i sur., 2012.). Početke prve veterinarske službe u Bosni i Hercegovini možemo vezati za 1873. godinu, a prvi ozbiljni početci djelovanja i rada navedene službe uspostavljaju se donošenjem Zakona o ustrojstvu Zemaljske vlade BiH dolaskom Austro-Ugarske na vlast koja sa sobom donosi potpuno drugačiji pristup bolestima stoke, naročito u poslovima suzbijanja stočnih zaraza, a posebno epidemija nekih težih zaraznih bolesti domaćih životinja: kuge goveda, durine, kuge svinja, antraksa, vrbanaca itd. Formiraju se službe za neškodljivo uklanjanje leševa, karantene, uređuju se stočna groblja, kontrolira se transport stoke, a veterinarska se medicina

implementira u zakonsku legislativu Zemaljske vlade Bosne i Hercegovine (Hadžiomerović i Šatrović, 2004.). Veća se regresija veterinarske službe desila za vrijeme Prvog svjetskog rata (1914.-1918.), nakon kojega, Bosna i Hercegovina ulazi u novu zajednicu Kraljevinu Srba, Hrvata i Slovenaca s veterinarskom službom koja je doživjela znatan pad, ponovnu stagnaciju s prisutnim bolestima koje su osiromašile cjelokupni stočni fond. Nakon rata dolazi do ponovnog oporavka veterinarske službe, a znanja koja su se stekla za vrijeme Austro-Ugarske okupacije poslužila su kao dobra osnova za novi razvoj stočarstva i veterinarske medicine. Ubrzo nakon rata dolazi do osnivanja prve veterinarske škole u Republici Hrvatskoj 1919. godine, jer više nije bilo mogućnosti da se nastavi školovanje u Austriji (Vučevac-Bajt, 2012.). Uglavnom je i tada Bosna i Hercegovina privredno nazadovala u odnosu na neke druge članice Kraljevine. Sve do 1934. godine u Bosni i Hercegovini nisu postojale laboratorijske institucije kao ni veterinarske škole te se nije moglo govoriti o modernoj veterinarskoj službi. Razvoj Odjeljenja za veterinarsku

Oliver STEVANOVIĆ, dr. med. vet., stručni suradnik, JU Veterinarski institut Republike Srpske „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka, Bosna i Hercegovina; Lejla KRKALIĆ, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Edin ŠATROVIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sarajevo, Bosna i Hercegovina

epidemiologiju pri Higijenskom zavodu u Banjoj Luci 1934. godine, a čiji je rukovoditelj bio dr. Vaso Butozan, kao i osnivanje prvih veterinarskih stanica s početkom 1940. godine popravilo je do tada loše stanje veterinarske službe u BiH. Nakon tog perioda, veterinarska je medicina nastavila svoj razvoj i unapređenje, a tome su znatno doprinijele brojne osobe koje su potjecale s tek osnovanog Veterinarskog fakulteta u Sarajevu.

Akademik dr. Vaso Butozan (1902.-1974.)

Ne postoji veterinar u Bosni i Hercegovini koji je nije čuo za dr. Vasu Butozana, osobu koja je obilježila razvoj moderne veterinarske medicine i poljoprivrede u Bosni i Hercegovini. Začudno je da mladi oštromni dječak iz srednje klasne poljoprivredne obitelji u Pančevu postane jedan prvoklasni znanstvenik, stručnjak, osnivač Univerziteta, znanstvenih organizacija i društava jedne ratom opustošene siromašne Bosne i Hercegovine. Tuga je obgrlila i eminentnu akademsku javnost kada je 1974. godine akademik Dr. Edhem Čamo odao posljednju počast dr. Vasi Butozanu u tekstu „Preminuo je naš predsjednik Vaso Butozan“ (Čamo i Talić, 1974.).

U svom se kratkom životnom vijeku dr. Vaso Butozan dokazao kao veliki radnik i entuzijast. Karijera mu počinje na Katedri za histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu gdje je bio asistent. Ubrzo nakon toga prelazi u Banja Luku gdje postaje načelnik Odjeljenja za epidemiologiju Higijenskog zavoda. Poslije rata napušta Banja Luku i postaje Ministar poljoprivrede i stočarstva, Ministar nauke NR BiH, osnivač Društva veterinara i veterinarskih tehničara Jugoslavije, nekoliko fakulteta Univerziteta u Sarajevu i na kraju



Slika 1. Dr. Vaso Butozan

direktor Akademije nauka i umjetnosti BiH. Pored toga bio je dopisni član Srpske i Slovenske akademije nauka i umjetnosti, redovni član akademije znanosti i umjetnosti u New Yorku. Za svoj rad na razvoju veterinarske službe i prosvjete u Bosni i Hercegovini dodijeljen mu je počasni doktorat Humboldtovog univerziteta iz Berlina i Univerziteta u Sarajevu. Objavio je oko 90 znanstveno-stručnih radova iz područja veterinarske medicine i stočarstva.

Rani život, školovanje i dolazak u Bosnu i hercegovinu

Vaso Butozan je rođen u Starčevu 5. prosinca 1902. godine, selu pored Pančeva u manjoj obitelji poljoprivrednika. Osnovnu je školu završio u Pančevu, nakon čega upisuje pančevačku gimnaziju koju završava 1922. godine kao najbolji učenik u generaciji. Ubrzo nakon toga ispočetka zainteresiran društvenim znanostima i slobodnijeg duha upisao je Filozofski fakultet Univerziteta u Beogradu. U Pančevu je bio aktivni član Nezavisne radničke partije zbog čega je hapšen 1925. godine, ali je pušten zbog nedostatka dokaza. Filozofski fakultet je apsolvirao, ali ne i diplomirao. Početkom 1926. godine prelazi na Veterinarski fakultet u Zagrebu koji završava u rekordnom vremenu 1930. godine kao izvrstan student što je dovelo da

postane asistent Zavoda za histologiju i embriologiju pod mentorstvom profesora Plasaja. Tada mladi asistent i veterinar, Vaso Butozan se bavio problematikom hematologije, jer je i bio zaposlen u Zavodu u za anatomiju i embriologiju. Doktorirao je u rekordnom roku na temu: "Prilozi normalne leukocitarne krvne slike teladi u starosti od 6-10 nedjelja". Dok je bio asistent u Zavodu za anatomiju i embriologiju radio je pod mentorstvom prof. dr. sc. Frana I. Zavrnik. Odmah nakon obrane doktorata 1933. godine prelazi na mjesto asistenta zaraznih bolesti kod prof. dr. sc. Stjepana Plasaja, tada rukovoditelja Zavoda nauke o zarazama. Mr. Radoslav Likar lijepo navodi u tekstu kojim opisuje mladog i buntovnog, tada već dr. Vasu Butozana: „*onakav kakav je bio, vječiti bundžija nije mu bilo mjesta na Zagrebačkom sveučilištu*“ (Despotović i sur., 2009.). Početkom 1934. godine prelazi kao mladi i već afirmirani doktor znanosti u Odjeljenje za veterinarsku epidemiologiju Instituta za javno zdravlje u Banja Luci, koja je tada bila društveni i privredni centar Vrbaske banovine. Literaturni podatci govore, da je Vrbaska banovina bila najsiromašnija u tadašnjoj Kraljevini Srba, Hrvata i Slovenaca, a sama poljoprivreda, kao i veterinarska služba je dosta nazadovala. Iako je veterinarska služba bila organizirana i bila je dio Resora za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede banovine, nije postajao nijedan znanstveno-stručni, specijalistički i laboratorijski veterinarski centar. U takvim je okolnostima teško bilo organizirati učinkovitu i transparentnu veterinarsku službu, formirati strategije iskorjenjivanja i zdravstvene zaštite domaćih životinja na području Vrbaske banovine. Ipak, početak 30-ih je bio i početak društvenog, kulturnog i privrednog napretka Vrbaske banovine, što se odrazilo na veterinarsku medicinu. Dr. Butozan se nakon dolaska u Banja

Luku, prije svega bavio problematikom epidemiologije i zaraznih bolesti, ali se njegova oblast interesiranja vremenom mijenjala. To je i shvatljivo, ako se zna da je tada u Banovini vladao deficit stručnog kadra (Nedić i sur., 2014.).

Aktivnosti na odjeljenju za epidemiologiju instituta za javno zdravlje

Odjeljenje za epidemiologiju osnovano je iz potrebe, koja je vladala tada u Vrbaskoj banovini. Nažalost mnogi arhivski podatci koji su opisivali rad Odjeljenja nisu preživjeli Drugi svjetski rat, ali se po publicistici dr. Butozana iz ovog razdoblja može vidjeti da se mnogo rada posvetilo upravo salmonelozi, koleri peradi, američkoj gnjiloći pčela, brucelozi goveda, vezikularnih hematuriji itd. Svakako, arhivski podatci pokazuju da nije bilo moguće vršiti analize u novoosnovanom Odjeljenju za veterinarsku epidemiologiju Instituta za javno zdravlje, već su poslani na daljnje analize u Veterinarski fakultet u Zagreb. Neizbježno je bilo popularizirati veterinarsku medicinu u tadašnjom društvu, tako da je dr. Butozan preuzeo inicijativu i počeo istraživanja na cjelokupnom području Vrbaske banovine. Budući da je dr. Butozan bio prvi hematolog u Bosni i Hercegovini, pozornost mu je svakako privukla vezikularna hematurija goveda, bolest koja je u to vrijeme, prema dr. Butozanu pravila veliku ekonomsku štetu stočarima u Vrbaskoj banovini. U svom prvom radu iz ovog područja „Vezikularna hematurija goveda u Vrbaskoj banovini“ objavljenom 1936. godine u Jug. Veterinarskom Glasniku, sistematično prikazuje distribuciju i rasprostranjenost bolesti u svakom kotaru Banovine. Iako, se tada nije mogla razjasniti točna etiologija bolesti u radu dr. Butozana napominje se da je bolest stočarima i

veterinarima poznata od davnina i da se može povezati sa zaraznim bolestima, fizičkim opterećenjem životinja (volova) i trovanjem na paši. Metodologija izučavanja vezikularne hematurije je bila zasnovana na podacima koji su prikupljeni od lokalnih veterinara po kotarima i klaonicama. Ova početna istraživanja vezikularne hematurije su poslužila da dr. Vaso Butozan postane vodeći stručnjak u proučavanju ove bolesti, tako da 1937. publicira rad pod nazivom „Raširenosti vezikularne hematurije u Jugoslaviji“.

Za vrijeme rada u Odjeljenju za epidemiologiju dr. Butozan je izvršio nekoliko većih pionirskih studija o rasprostranjenosti opasnih zaraznih i parazitarne bolesti u Vrbaskoj banovini i Bosni i Hercegovini. Svakako, neke su od njih bile studije o bjesnoći, brucelozi goveda, antraksu, metiljavosti, koleri peradi, američkoj gnjiloći pčela itd. Svakako, po autorima je posebno ilustrativno i interesantno istraživanje koje prikazuje nekoliko slučajeva bjesnoće goveda i konja u Banja Luci. Iz navedenog se rada zapaža koliko autor u razrješenje problema unosi iskustvo, znanje i komparativno, sveobuhvatno sagledavanje ove zarazne bolesti. Naime, tada se u Odjeljenju za epidemiologiju redovno moglo dijagnosticirati bjesnoću, što dr. Butozan opisuje i potvrđuje nalazom Negrijevih tijela suspektnih životinja.

Godine 1938. dr. Vaso Butozan publicira seroepidemiološku studiju o prevalenciji i raširenosti bruceloze goveda u Vrbaskoj banovini (Bangove bolest), kad je kao materijal koristio krv 329 goveda i mliječni serum kod 31 junice, a metoda laboratorijske analize bila je aglutinacija. Ovo je jedna od prvih opsežnijih studija o prisustvu bruceloze u Bosni i Hercegovini i Jugoslaviji. Svakako, praktično značenje ovog istraživanja leži u tome da je autor dokazao da se bolest proširila u Bosnu i Hercegovinu uvozom

pasmina (u ovom slučaju montafonske pasmine) iz inozemstva. Poznajući način prenošenja bolesti na ljude preko mlijeka i mliječnih proizvoda, novoutvrđene činjenice su bile razlog za uvođenje kontrole mlijeka i drugih animalnih proizvoda koje su se prodavale po tržnicama i trgovinama u gradovima Vrbaske banovine, i to posebno Banja Luke. Oskudni su podatci iz tog vremena koji ukazuju na pravo stanje prisustva Bangove bolesti u ljudi.

Nažalost, poslije ovog velikog napretka za veterinarsku službu i medicinu u Vrbaskoj banovini i u Bosni i Hercegovini, dolazi ponovno do velike krize u zemlji, koja je uslijedila zbog početka II. svjetskog rata. Stručni rad dr. Vase Butozana trpi, jer se 1939. pridružuje Komunističkoj partiji, a 1941. odlazi u partizane.

Učešće u II. svjetskom ratu

Malo je poznato o aktivnostima dr. Vase Butozana u II. svjetskom ratu. Prema nekim podacima, (Despotović i sur., 2009.) godine saznajemo da je on sudjelovao u borbi i organiziranju vojnih bataljona na teritoriju Banja Luke. Na šehitlucima kod Banja Luke bio je običan borac, a kasnije je postavljen za šefa saniteta za Bosansku Krajinu. Godine 1941. godine je postavljen za političkog komesara III. krajiškog odreda partizana. Poslije oslobođenja Prijedora 1942. godine, aktivno je sudjelovao u formiranju gradske izvršne vlasti. Poslije ponovnog pada Prijedora, odlazi na Kozaru gdje je bio član Odbora za obranu Kozare, kao i organizator obrane i prihvatanja izbjeglica. Kao član navedenog odbora, sudjelovao je na „sektoru oživljavanja privrede“ na oslobođenom teritoriju, civilne zdravstvene službe, zbrinjavanju tijela poginulih boraca itd. Za zasluge u Drugom svjetskom ratu postaje nositelj Spomenice 1941. i Ordena narodnog oslobođenja I. reda.

Godine 1943. godine je izabran u predsjedništvo ZAVNO BiH i AVNOJ-a, a 1944. godine postavljen je za rukovoditelja za poljoprivredu pri Predsjedništvu ZAVNOJ-a. Na toj je funkciji ostao do oslobođenja Bosne i Hercegovine i Jugoslavije.

Aktivnosti poslije II. svjetskog rata u Bosni i Hercegovini

U poslijeratnom razdoblju dr. Vaso Butozan sudjeluje u oporavku zemlje te se aktivno uključuje u društveno-političke aktivnosti NR Bosne i Hercegovine. Poslije rata se afirmira u društveno-političkim aktivnostima. Bio je član Narodne skupštine Bosne i Hercegovine do 1953. godine, a 1945.-1946. godine biran je za pomoćnika Ministra poljoprivrede i stočarstva. Sljedeće 1947. godine izabran je za Ministra poljoprivrede i stočarstva NR BiH. Godine 1950. je izabran za Ministra za nauku i kulturu. Iz objavljenih tekstova mogla se primijetiti promjena područja istraživanja dr. Vase Butozana. Od 1954. godine, dr. Butozan redovno publicira radove s različitim temama organiziranja i menadžmenta veterinarske službe u NR Bosne i Hercegovine. Aktivno se bavio temama unaprjeđenja stočarstva u ratom opustošenoj zemlji. Autor je nekoliko publikacija o povijesti veterinarske medicine. Poslije rata ostao je dosljedan daljnjem znanstveno-edukativnom radu

te je kao renomirani stručnjak bio i urednik brojnih časopisa: *Veterinaria* - Sarajevo, *Acta historica medicinae, pharmaciae et veterinae* – Beograd. Bio je član redakcije Enciklopedije Jugoslavije za BiH te član redakcije u publikacijama: Veterinarski glasnik, Enciklopedija moderna i Poljoprivredna enciklopedija. Nije se prestao baviti zaraznim bolestima tako da je publicirao opširne studije o prisutnosti i raširenosti anaerobnih infekcija ovaca u Bosni i Hercegovini, zaraznoj agalaksiji ovaca, zaraznoj šepavosti itd. Jasno se može uočiti da je cilj dr. Vase Butozana bio aktivno reorganizirati i unaprijediti poljoprivredu, stočarstvo, ali i znanstvena istraživanja u zemlji. Sudjelovao je u stvaranju i osnivanju novih stručno-znanih organizacija u Bosni, koje će se kasnije pretvoriti u vodeće državne i javne institucije. Treba spomenuti nekoliko fakulteta u Sarajevu, tako što je bio aktivan član Komiteta, visoke škole i znanstvene ustanove BiH. Nakon Drugog svjetskog rata, rekonstrukcijom poljoprivrede i stočarstva, prisutan je problem manjka veterinarskih kadrova i institucija usprkos postojanju dva fakulteta u Zagrebu i Beogradu. Ideja za osnivanjem trećeg, Veterinarskog fakulteta u Sarajevu nastala je 1946. godine, a sljedeće godine uslijedile su i prve organizacijske pripreme te je sastavljena posebna komisija od priznatih veterinarskih stručnjaka u čijem je sastavu bio i dr. Vaso Butozan. Vlada NR



Slika 2. Govor povodom osnivanja Akademije nauka i umjetnosti BiH

BiH je u kolovozu 1949. godine donijela Uredbu o osnivanju Veterinarskog fakulteta u Sarajevu, a jedan od osnivača i matičara, kao i jedan od prvih izabranih nastavnika Fakulteta bio je i dr. Vaso Butozan (Hadžiomerović i Šatrović, 2004.). U dva je navrata izabran za dekana Veterinarskog fakulteta čiji je funkciju obavljao od 1957.-1959. godine. Pored funkcije u službi nastavnika i dekana, 1949. godine izabran je i za prvog Rektora Univerziteta u Sarajevu na čijoj je funkciji ostao do 1950. godine. Kod studenata je bio omiljeni profesor s različitim temama koji su ga iz milja zvali „čika Vasa“.

Prvi je rektor Univerziteta u Sarajevu 1949./50., 1952./53. i 1955./56. (Hadžiomerović i sur., 2009.). Poslije toga nekoliko je puta biran za rektora Univerziteta u Sarajevu: 1952./1953., 1954./1955. i 1955./1956. godine. Godine 1961. preuzima funkciju direktora u Istraživačkom institutu Veterinarskog fakulteta Sarajevo. Bio je ministar poljoprivrede i ministar nauke i kulture u Republičkom izvršnom vijeću BiH, član stalne komisije Svjetske veterinarske organizacije i Svjetske organizacije za zdravlje životinja. Ovaj svjetski priznati znanstvenik bio je prvi predsjednik Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine u periodu 1966.-1968. godine, kada je otišao u mirovinu. Umro je 14. svibnja 1974. godine u Zagrebu. Od 1975. godine Veterinarski institut u Banja Luci nosi njegovo ime, kada je otkrivena i spomen bista ovog velikana veterinarske struke.

Danas, 42 godine od smrti dr. Butozana i 82 godine nakon osnivanja prvog Veterinarskog instituta u Bosni i Hercegovini koji nosi njegovo ime, prisjetili smo se još jednom rada i života čovjeka i kako kaže mr. Likar „čovjeka koji je radio za desetoricu“, revolucionara, znanstvenika, veterinara, učitelja, političara, a prije svega čovjeka.

Sažetak

U ovom je radu prikazan kratak povijesni pregled o radu i životu akademika dr. Vase Butozana. Dr. Butozan je bio jedna od najutjecajnijih javnih osoba u Bosni i Hercegovini. Rođen je u Pančevu 1904. godine, gdje je završio osnovno i srednje obrazovanje. Veterinarski fakultet u Zagrebu je upisao 1926. godine. Doktorirao je 1933. kada je počeo raditi kao asistent u Zavodu za anatomiju i embriologiju, i nakratko u Zavodu za znanosti o zaraznim bolestima. Početkom 1934. godine prelazi u Odjeljenje za veterinarsku medicinu koje je bilo dio Higijenskog zavoda u Banja Luci. U to vrijeme, tada vrlo siromašnoj Bosni i Hercegovini počinje pionirski rad u veterinarskoj epidemiologiji, mikrobiologiji i patologiji. Poslije Drugog svjetskog rata postaje prvi Ministar poljoprivrede i učestvuje u osnivanju Veterinarskog fakulteta u Sarajevu. Osim toga, bio je rektor Univerziteta u Sarajevu i prvi predsjednik Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine. Umro je 1974. u Zagrebu. Akademik dr. Vaso Butozan ostavio je velik trag u razvoju moderne veterinarske medicine u Bosni i Hercegovini.

Ključne riječi: Vaso Butozan, veterinarska medicina, Bosna i Hercegovina

Literatura

1. DESPOTOVIĆ, D., D. KUBELKA, M. ŠARIĆ, S. DOJČINOVIĆ i R. LIKAR (2009): Sabrani radovi dr. Vase Butozana iz vremena nastajanja Veterinarskog instituta u Banja Luci, Banja Luka, BiH.
2. ČAMO, E. i A. TALIĆ (1974): Preminuo je naš predsjednik Vaso Butozan. Vet. glasnik 28, 523- 526.
3. NEDIĆ, D., M. BALTIĆ, R. TRKULJA, V. TEODOROVIĆ i M. TEŠIĆ (2014): Monografija osamdeset godina Veterinarskog instituta Republike Srpske „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka (1934-2014), Banja Luka, BiH.
4. HADŽIOMEROVIĆ, Z. i E. ŠATROVIĆ (2004): Uvod u veterinarstvo. Univerzitetski udžbenik, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH.
5. HADŽIOMEROVIĆ, Z., E. ŠATROVIĆ i A. ZUKO (2009): 60 godina Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH.
6. VUČEVAC-BAJT, V. (2012): Povijest veterinarstva. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska.

The Role of Academician Vaso Butozan in the Development of Modern Veterinary Medicine in Bosnia and Herzegovina

Oliver STEVANOVIĆ, DVM, Expert Associate, Veterinary Institute of Republika Srpska "Dr Vaso Butozan", Banja Luka, Bosnia and Herzegovina; Lejla KRKALIĆ, DVM, Assistant, Edin ŠATROVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

This paper presents a brief historical review of the life and work of Academician Dr. Vaso Butozan. Dr. Butozan was one of the most influential public figures in Bosnia. He was born in Pancevo in 1904, where he completed his primary and secondary education. He enrolled in the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb in 1926, and received his doctorate in 1933, when he began working as an assistant professor at the Department of Anatomy and Embryology, and shortly thereafter, at the Institute for Infectious Diseases. In early 1934, he took up employment at the Department for Veterinary Medicine, which was a functional part of the Public Health Institute in Banja Luka. At this

time, Dr. Butozan began his pioneer work in veterinary epidemiology, microbiology and pathology in the very poor areas of Bosnia. After World War II, he became the first Minister of Agriculture, and participated in the establishment of the Faculty of Veterinary Medicine at the University of Sarajevo. He also served as chancellor of the University of Sarajevo and was the first president of the Academy of Sciences and Arts in Bosnia and Herzegovina. He died in Zagreb in 1974. Academician Dr. Vaso Butozan left a great mark in the development of modern veterinary medicine in Bosnia and Herzegovina.

Key words: *Vaso Butozan, Veterinary Medicine, Bosnia and Herzegovina*

Enrotron 100 mg/ml

Otopina za injekciju za
goveda i svinje

ANIMEDICA

Što je Enrotron ?

- Enrotron je injekcijski proizvod čija je aktivna tvar enrofloxacin, veterinarima dobro poznat fluorokinolon, koji se uspješno koristi u veterinarskoj praksi širom svijeta.

Enrotron 100 mg/ml, otopina za injekciju za goveda i svinje.

Sastav: 1 ml sadržava 100 mg djelatne tvari Enrofloxacin i 30 mg pomoćne tvari 1-Butanola.

Indikacije:

Goveda - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereloza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloza) i sekundarne bakterijske infekcije koje uslijede nakon virusnih infekcija (npr. virusna upala pluća), gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloxacin lijek izbora. Liječenje lokalnih znakova (upala, kvaliteta i količina mlijeka) pridruženih perakutnom/ akutnom mastitisu mliječnih krava u laktaciji uzrokovanih s E.coli, gdje povijest stada i raniji nalazi antibiograma upućuju da je enrofloxacin lijek izbora.

Svinja - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereloza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloza) i multifaktorske bolesti kao što su atrofični rinitis i enzootska pneumonija, gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloxacin lijek izbora.

Doze: Pročitati uputu VMP prije primjene.

Primjena tijekom graviditeta, laktacije ili nosenja: Može se primjenjivati tijekom graviditeta i laktacije.

**PROČITATI UPUTU O VMP
PRIJE PRIMJENE**

Enrotron

Injekcijska otopina enrofloxacina
100 mg/ml

- Višestruke indikacije
- Kratka karenca za meso i mlijeko
- Različite mogućnosti aplikacije (s/c, i/m, i/v)
- Ekonomičnost

Enrotron 100 mg/ml

Goveda, s/c: meso i iznutrice
12 dana
mlijeko - 4 dana
Goveda, i/v: meso i iznutrice
5 dana
mlijeko - 3 dana
Svinje, i/m: meso i iznutrice
13 dana

**CIJENA
90,00 kn**

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

Apsolventska večera u Okrugljaku, 1967.

Ivan Majdak



Na slici je djelić atmosfere sa zajedničke završne apsolventske večere generacije upisne godine 1962., koji su u

svom životnom i radnom vijeku postigli zapažene stručne i znanstvene rezultate.



Š lijeva na desno stoje: Antun TOMAŠKOVIĆ, Miro JAKOVINA, Ante JELIĆ, Zdenko MAKEK, Ivan MAJDAK. Čuče: Dinko VIDUKA, Ljudevit MINK

Dr. sc. Ivan MAJDAK, dr. med. vet., Zagreb

NOVO



FYPRYST[®] combo

fipronil, S-metopren

Učinkovit na



Zaštita na pravi način!

Sastav Pipeta (0,67 ml) sadržava 67 mg fipronila i 60,3 mg S-metoprena. Pipeta (1,34 ml) sadržava 134 mg fipronila i 120,6 mg S-metoprena. Pipeta (2,68 ml) sadržava 268 mg fipronila i 241,2 mg S-metoprena. Pipeta (4,02 ml) sadržava 402 mg fipronila i 361,8 mg S-metoprena. Pipeta (10,5 ml) sadržava 50 mg fipronila i 60 mg S-metoprena. **Indikacije** Liječenje buhavalosti (*Ctenocephalides* spp.) u pasa, mačaka i tvorova. Lijek sprječava razvoj jajelaca (izvaidno djelovanje), ličinki i kukuljica (servidno djelovanje). Liječenje krpeljivosti (kodov ricinus, *Dermanosor variabilis*, *Dermanosor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus*) u pasa i mačaka. Eliminacija krpelja (kodov ricinus) sa tvorova. Liječenje ušljivosti u pasa (*Trifodectes canis*). Liječenje ušljivosti u mačaka (*Felicola subrostratus*). Lijek se može koristiti u sklopu liječenja aienjskog dermatitisa uzrokovanog buhama prethodno dijagnostičnog od veterinara. **Ciljne životinjske vrste** Psi, mačke, tvorovi. **Kontraindikacije** Preparat ne smijete uporabiti na mladunčadi mlađoj od 8 tjedana i/ili laklih od 1 kg, jer u uporabi u toj dobi nema podataka. Lijek ne smijete uporabiti na tvorovima mlađim od 6 mjeseci. Ne koristite ga na bolesnim životinjama (npr. sustavne bolesti, vrućica) i životinjama tijekom operacija. Ne koristite na kunićima jer može doći do narpajiva čak i sa smrtnim ishodom. Ne preporuča se uporaba proizvoda na nećilnim životinjama vrsitama zbog nedostatka ispitivanja.

Samo za stručnu javnost.
Pažljivo pročitatte priloženu uputu prije uporabe lijeka.

KRKA-FARMA d.o.o., Radrička cesta 48/1, 10000 Zagreb
Telefon (01) 63 12 100, Telefaks (01) 61 26 739
E-mail: info@krka-farma.hr, www.krka-farma.hr

www.krka-farma.hr



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

In memoriam – Josip Krešić, dr. med. vet.

Josip Krešić dr. med. vet., rođen je 15.02.1950. u Vinkovcima gdje je završio gimnaziju. Na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu diplomirao je 11. siječnja 1977. god. U Veterinarskoj stanici d.o.o. Vinkovci radio je od

01.03.1977. do umirovljenja te je bio voditelj veterinarske ambulante Vinkovci. Preminuo je 26.08.2015. u svome domu u Andrijaševcima. Josip Krešić je sudjelovao u društvenom životu zajednice u kojoj je radio i živio. Aktivno je sudjelovao i u Domovinskom ratu nesebično pomažući ozlijeđenim i napuštenim životinjama. Kao veliki znalac i stručnjak u području veterine, cijenjen je i poštovan od strane kolega i prijatelja.

Njegov svaki savjet bio je zlata vrijedan. S velikom strašću volio je ribolov i Dunav. Zbog svih njegovih humanih i moralnih kvaliteta trajno će ostati u sjećanju svih nas koji smo imali privilegiju živjeti i raditi s njim.

Veliko hvala, poštovani kolega Josipe!

Djelatnici Veterinarske stanice d.o.o.
Vinkovci

Menbutil®

Menbuton 100 mg/ml

Otopina za injekciju za goveda, konje, svinje, ovce i koze

Menbutil® -djelatna tvar, menbuton, stimulira jetreno-probavnu aktivnost kod probavnih smetnji i nedostatne funkcije jetre. Menbuton potiče izlučivanje žuči i probavnih enzima tripsina i pepsina od strane gušterače i probavnog trakta. Pojačano izlučivanje žuči potiče bolje izbacivanje otpadnih tvari probave i optimizira metabolizam masti. Hrana, stoga, može biti bolje probavljena i učinkovitije metabolizirana. Mnoge bolesti kod životinja za posljedicu imaju smanjenje iskoristivosti hrane i probavne smetnje. Primjena Menbutila omogućava optimizaciju probave u takvim situacijama.



**KARENCE
ZA MESO I
MLJEKO
0 DANA**

Menbutil, 100 mg/mL, otopina za injekciju, za goveda, svinje, konje, ovce i koze.

Sastav: 1 mL otopine sadržava - djelatna tvar: Menbuton 100,0 mg; pomoćne tvari: Klorokrezol 2,0 mg, Natrijev metabisulfid (E223) 2,0 mg. Bistra blijedo-žuta otopina.

Indikacije: Poticanje jetreno-probavne aktivnosti u slučajevima probavnih poremećaja i nedostatne funkcije jetre. **Doze:** Ako se u mišić daje više od 20 mL lijeka, dozu treba rasporediti na nekoliko mjesta. Kod konja je preporučena isključivo polagana primjena u venu. **Telad do 6 mjeseci, svinje, ovce i koze:** 10 mg menbutona na kg tjelesne mase treba primijeniti duboko u mišić ili polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 10 kg tjelesne mase. **Goveda:** 5-7,5 mg menbutona na kg tjelesne mase primijeniti polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 15-20 kg tjelesne mase (npr. govedo težine 400 kg = 20-27 mL Menbutila). **Konji:** 2,5-5 mg menbutona na kg tjelesne mase primijeniti polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 20-40 kg tjelesne mase. Ukoliko je potrebno, primjena se može ponoviti nakon 24 sata.

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

**PROČITATI UPUTU O VMP
PRIJE PRIMJENE**

CILJEVI I DJELOKRUG

Cilj je časopisa pružiti međunarodnu platformu za objavljivanje članaka u području veterinarskih i životinjskih znanosti i biotehnologije. Sadržaj časopisa posebno je posvećen veterinarskoj praksi, ali i svim znanstvenicima kao i sveučilišnim nastavnicima u cilju ohrabrenja da podijele svoje znanje i iskustvo na ovoj platformi. Rukopisi poslani u časopisu mogu uključivati: izvorne znanstvene radove, pregledne članke, kratka priopćenja, stručne članke, prikaze slučajeva i kongresna priopćenja te literarne zapise kao i osvrte novih knjiga na hrvatskom ili engleskom jeziku.

Tekstovi originalnih znanstvenih radova, preglednih članaka i stručnih rasprava mogu imati do 20 stranica (pisanih u MS Wordu, Times New Roman, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvatit će se i veći broj stranica. Kratka priopćenja i prikazi slučajeva do 7 stranica, a kongresna priopćenja, literarni zapisi i osvrti novih knjiga do 3 stranice.

Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:

- ako je jedan autor: Cvetnić (2015.).
- ako su dva autora: Džaja i Severin (2012.).
- ako su tri ili više autora: Dobranić i sur. (2008.); (Vince i sur., 2009.).

Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj rad bez da ga pošalje na istorazinsku recenziju ili ga može odmah odbiti.

Svaki originalni znanstveni rad, pregledni članak, stručna rasprava, kratko priopćenje i prikaz slučaja mora imati sažetak na engleskom jeziku, od najmanje 300-500 riječi, a ostali rukopisi moraju imati sažetak do najviše 300 riječi. Ključne riječi trebaju biti također napisane, minimalno 3-6.

Ističemo napose da svi grafikoni moraju biti izrađeni u Microsoft programima na računalu, a fotografije (analogne i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.

Popratno pismo autora mora sadržavati:

a) Izjavu o sukobu interesa

Autori su dužni objaviti svaki potencijalni sukob interesa, kao što su konzultantske, financijske uključenosti, vlasništvo patenta, itd. Autori originalnih znanstvenih članaka moraju u trenutku podnošenja objaviti financijski aranžman koji imaju s tvrtkom čiji je proizvod istaknut u dostavljenom rukopisu, ili s tvrtkom s kojom izrađuju kompetitivni proizvod. Takve informacije će se povjerljivo čuvati sve dok je članak na recenziji i neće utjecati na sudeću odluku, ali ako je članak prihvaćen za objavljivanje, takvi se podatci moraju priopćiti čitatelju.

b) Izjavu o etičnosti

Autori moraju potvrditi da materijal dostavljen za objavljivanje nije objavljen niti poslan za objavljivanje nigdje drugdje osim, eventualno u obliku sažetka. Uredništvo neće dopustiti objavljivanje radova koji opisuju pokusne postupke na živim životinjama za

koje se može razumno pretpostaviti da su im nanijeli nepotrebnu bol ili nelagodu. Kako bi za objavljivanje bili prihvatljivi, pokusi na živim kralježnjacima ili *Octopus vulgaris* trebaju biti u skladu s propisima Europske unije te su u skladu sa smjernicama koje je donio Odbor za istraživanje i etičkim pitanjima IASP. Uredništvo zahtjeva da svaki originalni znanstveni članak dostavljen časopisu uključuje izjavu da je za istraživanje dobiveno etičko odobrenje nadležne institucije ili izjavu da isto nije bilo potrebno.

Rukopisi se ne vraćaju.

Oglašavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu "Veterinarska stanica" mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.). U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.

U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u radu i to prema uputama koje se prilažu:

Knjiga: HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.

Poglavlje 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).

Disertacija: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Utjecaj tjelesne kondicije i pariteta na energetske, antioksidacijske i reproduksijske status visoko mlječnih krava tijekom prijelaznog razdoblja. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

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).

Zbornik sažetaka: ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odgovor svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezskog. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Časopis: CERUNDOLO, R. (2004): Generalized Microsporum canis dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. Vet. Dermatol. 15, 181-187.

Predaja rukopisa:

Rukopise na hrvatskom ili engleskom jeziku treba poslati elektroničkom poštom na adresu glavnog urednika na e-mail: smarko@vef.hr

U svakom članku treba navesti:

Dopisnog autora, njegov akademski stupanj, naziv i adresu organizacije u kojoj radi, broj telefona, telefaksa i elektroničku adresu (e-mail). Isto tako treba navesti akademski stupanj i organizaciju u kojoj rade svi ostali autori.

AIMS AND SCOPE

The goal of the journal is to provide an international platform for the publication of articles in the fields of veterinary and animal sciences, and biotechnology. The content of the journal is particularly dedicated to veterinary practitioners, but also to veterinary scientists and university professors, to encourage them to share their knowledge and experience on this platform. Manuscripts submitted to the journal may include: original scientific papers, review articles, short communications, professional articles, case reports, conference reports and literary records and reviews of new book either in Croatian or English languages.

Original research papers, review articles and expert discussions may have up to 20 pages (written in MS Word, Times New Roman, font size 12, spacing 1.5); however, in exceptional cases, a larger number of pages may be accepted. Case reports may be up to 7 pages and conference reports, literary records and reviews of new books may be up to 3 pages.

In the text, references should be cited as follows:

- single author: Cvetnić (2015)
- two authors: Džaja and Severin (2012)
- three or more authors: Dobranić et al. (2008); (Vince et al., 2009).

The Editorial Board may require authors to improve their work without submitting it to the peer review process or may immediately reject it.

Original scientific papers, review articles, and expert discussions must have an abstract in English between minimum 300 to 500 words, while other papers must have an abstract of up to 300 words. A minimum of 3 – 6 keywords should also be provided.

All figures should be prepared using Microsoft programs, and photos (analogue and digital) should be of such quality that allows for successfully reproduction.

The Covering letter authors must include:

- Conflict of interest statement

Authors are required to disclose any potential conflict of interest such as consultancies, financial involvement, patent ownership, etc. Authors of research articles must disclose at the time of submission any financial arrangement they have with the company whose product features prominently in the submitted manuscript, or with a company making a competing product. Such information will be held in confidence while the paper is under review and will not influence the editorial decision, but if the article is accepted for publication, such information must be communicated to the reader.

- Ethical statement

The authors must certify that the material submitted for publication has not been published except in abstract form, and is not being considered for publication elsewhere. The Editorial Boards will not allow the publication of papers describing

experimental procedures on living animals which may reasonably be presumed to have inflicted unnecessary pain or discomfort upon them. To be acceptable for publication, experiments on living vertebrates or *Octopus vulgaris* should conform to the European Union's legislation and are in accordance with guidelines set by the Committee for Research and Ethical Issues of IASP. We require every research article submitted to the Journal to include a statement that the study obtained ethics approval or a statement that it was not required.

Manuscripts will not be returned.

Advertising of veterinary medicinal products in the journal Veterinarska Stanica must be in accordance with Articles 75-78 of the Act on Veterinary Medicinal Products (Official Gazette 84/2008) and the Ordinance on the advertising of veterinary medicinal products (Official Gazette 146/2009). For veterinary medicinal products that have not been granted marketing authorisation, advertisers are required to request consent for advertising from the competent authority.

The literature citations may list only the papers cited in the manuscript and according to the instructions below:

Book: HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.

Book chapter: 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).

Dissertation: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Effect of body condition and parity on energetic, antioxidative and reproductive status in high yielding dairy cows during transition period. Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb.

Proceedings manuscripts: 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).

Proceeding abstracts: ČAJAVEC, S., Lj. MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Seroški odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezškoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Journal: CERUNDOLO, R. (2004): Generalized Microsporum canis dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. Vet. Dermatol. 15, 181-187.

Manuscripts submission:

Manuscripts should be submitted either in Croatian or English languages by electronic mail to the chief editor via e-mail: smarko@vef.hr

All submissions should include:

Academic degree, Affiliation, Phone number, Fax number and e-mail of Corresponding author. It should also specify the Academic degree and Affiliation for all other authors.