

VETERINARSKA STANICA

ČASOPIS HRVATSKOG VETERINARSKOG INSTITUTA
JOURNAL OF THE CROATIAN VETERINARY INSTITUTE

Since - Izlazi od - Since -
1970.
- Izlazi od - Since -



IZVORNI ZNANSTVENI RADOVI / ORIGINAL SCIENTIFIC PAPERS

- 1 S. Tanković, Vedrana Jelušić, Nina Bilandžić, B. Čalopek, Marija Sedak i J. Ferizbegović
Koncentracije teških metala i elemenata u različitim vrstama meda iz Bosne i Hercegovine
Concentrations of Heavy Metals and Elements in Different Types of Honey from Bosnia and Herzegovina
- 13 S. Vince, Maja Platiša, J. Grizelj, Branimira Špoljarić, D. Đuričić, Foteini Samartzi, H. Valpotić, V. Berta, N. Rošić, B. Stojanov i M. Samardžija
Određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone u ovaca pasmine lička pramenka
Determination of Physiological Particularities of the Sexual Cycle and Breeding Season of Pramenka Breed
- 25 Tea Bijelić, Vesna Dobranić, Snježana Kazazić, Ivana Filipović, Z. Dumbović i N. Zdolec
Rast *Yersinia enterocolitica* O:3 u mljevenome svinjskom mesu
Growth of *Yersinia enterocolitica* O:3 in Minced Pork Meat
- 31 Z. Stojević, Lana Vranković, Z. Petrinc, Jasna Aladrović, B. Župan i M. Božić
Geese Raising on Fish Ponds
Tov gusaka na ribnjacima

PREGLEDNI ČLANCI / REVIEW ARTICLES

- 35 Barbara Mioš, Ž. Pavičić, S. Žužul, D. Gračner, Marija Lipar, Alenka Dovč i Gordana Gregurić Gračner
Ponašanje laboratorijskih životinja-zamorčiči
Behaviour of Laboratory Animals - Guinea Pigs
- 43 Nejra Hadžimusić
C-reaktivni protein i serumski amiloid A kao biomarkeri bolesti pasa i ljudi
C-Reactive Protein and Serum Amyloid A as Biomarkers for Canine and Human Diseases
- 51 Nada Perković, Ivona Žura Žaja, Ž. Pavičić, Kristina Matković, S. Žužul, S. Menčik i M. Ostović
Stereotipije svinja
Pig Stereotypies

IZ POVIJESTI VETERINARSTVA / FROM THE HISTORY OF THE VETERINARY SCIENCE

- 59 P. Džaja, K. Severin, D. Agičić, M. Benić, Zrinka PERIĆ, J. GRBAVAC i Ž. Grabarević
Zakonski propisi o načinu klanju životinja, prodaji mesa i proizvoda životinjskog podrijetla od 13. stoljeća do 1916. g. u Republici Hrvatskoj (I. dio)
The Legislation on the Method of Animals Slaughtering, Meat Sale and Products of Animal Origin from the 13th Century to 1916 in Croatia (Part I.)

73 NAŠA FOTOGRAFIJA / OUR PHOTOGRAPHY

75 NEKROLOG / OBITUARY

78 UPUTE SURADNICIMA / INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

Koncentracije teških metala i elemenata u različitim vrstama meda iz Bosne i Hercegovine

S. Tanković*, Vedrana Jelušić, Nina Bilandžić, B. Čalopek, Marija Sedak i J. Ferizbegović



Uvod

Med je prirodno sladak, tekući, viskozni ili kristalizirani proizvod kojeg proizvode medonosne pčele (*Apis mellifera*) iz nektara medonosnih biljaka ili sekreta sa živih dijelova biljaka ili iz ekskreta insekata roda *Hemiptera* koji sišu žive dijelove biljaka, a koje pčele sakupljaju, dodaju vlastite specifične tvari, transformiraju i odlažu u stanice saća da sazri (Anonymous, 2009., 2011.). Pored ove definicije med se opisuje i kao 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 Sultan, 2004.). Bez obzira koju od definicija koristili sve se svodi na to da glavnu ulogu u proizvodnji meda imaju pčela i cvjetni nektar iz biljaka. Boja meda varira od skoro bezbojne do tamno smeđe, kao i okus i aroma koji variraju u ovisnosti od kojeg cvjetnog nektara je dobiven (mješavine cvijeća, bagrema, kadulje, kestena) (Anonymous, 2009., 2011.). Međutim, između pčele i cvjetnog nektara nalazi

se okoliš (atmosfera, voda, zrak i tlo), tj. čimbenici koji utječu na sastav meda. Med sadrži uglavnom razne vrste šećera, najviše glukozu i fruktozu (65%), vodu (18%) i nizak sadržaj bjelančevina (Silva i sur., 2009.), kao i druge sastojke kao što su: fenolne kiseline i flavonide, slobodne aminokiseline, organske kiseline, vitamine i minerale.

Bez obzira na relativno niski postotak minerala (0,04-0,2%) u medu, njihova uloga u metaboličkim procesima u ljudskom organizmu je velika. Iz tog razloga sve više se u suvremenoj medicini med koristi u terapiji različitih bolesti kao što su liječenje opekline, gastrointestinalne smetnje, astma, infekcije rana i ulkusa kože (Al-Mamary i sur., 2002., Orhan i sur., 2003.). Osim za zdravlje ljudi bitnih makro i mikro elemenata, u medu mogu biti prisutni i toksični elementi zbog ispaše pčela u područjima s rudarskim i industrijskim aktivnostima ili u blizini autocesta (Gajek i sur., 1987., Toporcák i sur., 1992.).

Dr. sc. Sanin TANKOVIĆ*, dr. med. vet., Vedrana JELUŠIĆ, dr. med. vet., Veterinarski ured Bosne i Hercegovine, Sarajevo, Bosna i Hercegovina; dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, Bruno ČALOPEK, dipl. ing. prehr. tehnol., Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Jasmin FERIZBEGOVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, direktor, Veterinarska stanica Bukinje, Tuzla, Bosna i Hercegovina

Prema tome, kako med nastaje procesom bioakumulacije radom pčela tijekom hranidbe, odnosno njihovog kontakta s okolišem (atmosfera, voda, zrak, tlo, cvjetni nektar) (Yarsan i sur., 2007., Chua i sur., 2012.), analiza meda iz nekog područja može dati važne informacije o njegovu geografskom podrijetlu, odnosno okolišu tog područja. Svrha ovog rada je ispitivanje različitih vrsta monocvjetnih medova, odnosno bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), kestena (*Castanea sativa* Mill.) i kadulje (*Salvia officinalis*) te multicvjetnih, šumskog i cvjetnog, na sadržaj toksičnih metala: arsen (As), kadmij (Cd), olovo (Pb) i barij (Ba); makro elemenata: natrij (Na), magnezij (Mg), kalij (K) i kalcij (Ca); mikro elemenata: krom (Cr), mangan (Mn), željezo (Fe), kobalt (Co), bakar (Cu), cink (Zn), selen (Se), molibden (Mo), vanadij (V), nikl (Ni), srebro (Ag) i aluminij (Al). Koncentracije elementata su određene primjenom tehnike induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS) te su upoređene sa sličnim istraživanjima provedenim u Republici Hrvatskoj i nekim drugim zemljama.

Materijali i metode

Ukupno je uzeto 24 uzorka meda s područja općina Kostajnica, Kozarska Dubica, Petrovo, Doboj, Modriča, Stolac, Odžak, Kozluk, Zvornik, Sokolac, Ljubuški, Foča, Sapna i Grude u Bosni i Hercegovini. Vrste meda su: kesten (n=7), bagrem (n=6), kadulja (n=4), šumski (n=3) i cvjetni (n=4). Uzorci su uzorkovani u količini od 100 g te pohranjeni u staklenim posudama. Čuvani su na temperaturi od 4-8 °C do analize.

Kemikalije i standardi

U postupcima pripreme uzoraka i standarada korištena je kiselina HNO₃ nabavljena od Merck (Darmstadt, Njemačka). U analizama je korištena ultračista voda (18,2 MΩ/cm) dobivena

sustavom Mill Q Advantage 10V (Merck Millipore Corporation, Darmstadt, Njemačka). Za kalibraciju instrumenta korišten je certificirani standard koji se sastoji od Ag, Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, V i Zn koncentracija 10 mg/L (Environmental Calibration Standard, Agilent Technologies, SAD). Radni su standardi za kalibracijsku krivulju pripremani razrjeđivanjem certificiranog standarda s 5% konc. HNO₃. Kao interni standard za ICP-MS koristio se certificirani standard koji se sastoji od Bi, In i Sc koncentracije 20 mg/L (Inorganic Ventures, Christiansburg, VA, SAD).

Instrumenti

U svrhu digestije uzoraka meda primijenjena je mikrovalna pećnica Multiwave 3000 (Anton Paar, Njemačka). Koncentracije elemenata mjerene su primjenom instrumenta induktivno spregnute plazme s masenim detektorom model Agilent 7900 ICP-MS (Agilent, SAD). 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 H₂O i 2,5 mL HNO₃ (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 odmjjerne tikvice od 50 mL i dopuni do oznake ultra čistom vodom. Isti postupak koristi se za slijepu probu, ali bez uzorka.

Kvantitativna analiza provedena je pomoću metode kalibracijske krivulje. Kalibracijske krivulje za svaki element su se sastojale od najmanje pet koncentracija standarda. Granice detekcije (LOD) elementata su izračunate kao tri puta

Tabela 1. Instrumentalni uvjeti rada 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/replici:	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		

standardna devijacija 10 uzastopnih mjerenja slijepe probe, pomnožene s faktorom razrjeđivanja koji se koristi za pripremu uzorka. LOD vrijednosti elementata su (mg/kg): Ag 0,001, Al 0,001, As 0,001, Ba 0,005, Ca 0,50, Cd 0,001, Co 0,001, Cr 0,001, Cu 0,001, Fe 0,005, K 0,20, Mg 0,005, Mn 0,001, Mo 0,001, Na 0,50, Ni 0,005, Pb 0,001, Se 0,005, V 0,005, Zn 0,01.

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

Teški metali su prirodni elementi koji imaju veliku atomsku težinu i gustoću najmanje 5 puta veću od vode. Njihova višestruka primjena u industriji, poljoprivredi, medicini i tehnologiji dovela je do široke rasprostranjenosti u okruženju, ali i podizanja svijesti

zbog njihovih mogućih štetnih učinaka na ljudsko zdravlje i okoliš. Njihova toksičnost (As, Cd, Pb) ovisi od nekoliko čimbenika, uključujući dozu, put izlaganja, i kemijskih vrsta, kao i dob, spol, genetiku i nutritivni status izloženih pojedinaca. Zbog svog visokog stupnja toksičnosti As, Cd i Pb su rangirani među prioritetne metale od interesa za ljudsko zdravlje (Tchounwou i sur., 2012.).

Arsen je sveprisutan element koji je otkriven u niskim koncentracijama u gotovo svim oblicima životne sredine. Zagađenje životne sredine As nastaje kao posljedica prirodnih pojava kao što su vulkanske erupcije i erozije tla te antropogene aktivnosti. Izloženost As se javlja oralnim putem (ingestija), inhalacijom, dermalnim kontaktom (ATSDR, 2000.). Kontaminacija As može izazvati brojne štetne učinke na ljudsko zdravlje, kao što su gastrointestinalne smetnje, poremećaji kardiovaskularnog i središnjeg živčanog sustava. Nekoliko epidemioloških studija su pokazale da postoji velika povezanost između izloženosti As i povećanog rizika od kancerogenih oboljenja. Arsen utječe na gotovo sve sustave u organizmu, uključujući kardiovaskularni, gastrointestinalni, respiratorni, urinarni te središnji živčani sustav (Tchounwou i sur., 2003.).

Koncentracije elemenata u pet vrsta meda prikazani su u Tabeli 2. Najviša koncentracija As je određena u medu kestena (4,25 µg/kg). Redoslijed srednjih vrijednosti koncentracija je (µg/kg): kesten (1,23) > cvjetni med (1,11) > kadulja (1,01) > bagrem (0,91) > šumski med (0,83). Srednje koncentracije As u ovome istraživanju (0,83-1,23 µg/kg) su značajno niže u odnosu na istraživanja provedena u Italiji (5,22-6,15 µg/kg; Pisani i sur., 2008.), Mađarskoj (7,86-22,8 µg/kg; Czipa i sur., 2015.), Novom Zelandu (40-170 µg/kg; Vanhanen i sur., 2011.) te u Republici Hrvatskoj (24,1-276,1; Bilandžić i sur., 2014.). Međutim, u nedavnom istraživanju u Hrvatskoj provedenom u Dubrovačkoj županiji utvrđene su približno slične

vrijednosti ovom istraživanju (1,29-4,02 µg/kg; Bilandžić i sur., 2015.).

Kadmij je široko rasprostranjen u zemljinoj kori u prosječnoj koncentraciji od oko 0,1 mg/kg (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP, 1987.). Vrlo često se koristi u industriji za proizvodnju legura i baterija (Wilson, 1988.). Akutna trovanja Cd mogu izazvati erozije gastrointestinalnog trakta, oštećenja pluća, jetra i bubrega pa čak i komu (Baselt i sur., 1995., Elinder i sur., 1996.). Spojevi Cd su klasificirani kao kancerogeni za zdravlje ljudi (IARC, 1993.). U ovome istraživanju Cd je određen u rasponu od 0,013 do 22,9 µg/kg. Najviša koncentracija od 22,9 µg/kg izmjerena je u medu kestena. Nađene koncentracije Cd u multicvjetnim medovima u Bosni i Hercegovini (0,06-6,29 µg/kg) su nešto više u odnosu na istraživanja provedena u Hrvatskoj (1,86 µg/kg; Bilandžić i sur., 2014.) te niže u odnosu na istraživanja provedena u u Turskoj (10,9-17,9 µg/kg; Tuzen i Soylak, 2005., Tuzen i sur., 2007.) i Italiji (8-18 µg/kg, Perna i sur., 2014.). Upoređujući nađene koncentracije Cd u monocvjetnim medovima (0,01-22,9 µg/kg) u ovome istraživanju, s istraživanjima provedenim u Mađarskoj (<0,80 i <0,003-2,77 µg/kg; Aytoni i sur., 2007., Czipa i sur., 2015.), Turskoj (0,28-2,37 µg/kg, Silici i sur., 2008.), Novom Zelandu (10-450 µg/kg, Vanhanen i sur., 2011.) i Italiji (1,92-2,34 µg/kg, Pisani i sur., 2008.), uočavamo znatno više koncentracije u Novom Zelandu, dok su u ostalim zemljama približno bile iste.

Olovo je metal prisutan u malim količinama u Zemljinoj kori. Pored navedenog u okoliš dospijeva i kao rezultat njegove široke primjene u industriji, kao što je proizvodnja olovnih akumulatora, metalnih proizvoda, uređaja za zaštitu X-zraka (Gabby, 2003., 2006.). Izlaganje Pb javlja se uglavnom putem udisanja čestica prašine kontaminirane Pb ili aerosol te putem kontaminirane hrane i vode

Tabela 2. Koncentracije elemenata u pet vrsta meda iz Bosne i Hercegovine.

Element (µg/kg)	Bagrem	Cvjetni	Kadulja	Kesten	Šumski
Ag	0,05±0,03	0,015±0,005	0,24±0,27	0,12±0,10	0,06±0,03
Al *	0,26±0,28	0,34±0,09	0,48±0,34	0,47**	2,88±3,75
As	0,91±0,61	1,11±0,72	1,01±0,80	1,23±0,43	0,83±0,54
Ba	529,6±690,63	146,0±244,10	449,1±609,09	51,1±71,26	649,0±817,81
Ca*	100,2±84,88	67,3±52,30	52,5±35,38	84,8±41,68	96,4±82,61
Cd	0,99±0,82	0,39±0,29	0,73±0,57	4,52±8,25	2,40±2,75
Co	2,58±2,44	0,48**	5,02±3,42	12,71±16,61	5,76±3,51
Cu	182,9±95,66	185,3±125,64	493,7±555,48	251,2±382,98	315,5±258,62
Cr	5,14±5,31	0,44±0,26	4,28±3,26	1,10±1,06	3,01±1,58
Fe	488,9±245,98	547,6±406,36	1247,1±307,05	655,9±798,81	366,0±320,84
K*	1501±1589,70	561,7±268,87	627,4±600,78	425,3±474,20	1170±921,01
Mg*	29,9±13,84	17,8±10,83	96,1±69,90	32,6±23,81	25,3±11,54
Mn*	9,43±13,47	1,82±2,37	7,30±12,32	0,545±0,83	12,4±14,18
Mo	3,80±4,07	1,36±1,47	1,46±1,16	2,51±2,63	3,19±1,40
Na*	7,68±3,62	6,96±5,26	7,52±5,03	3,21±3,31	6,38±3,33
Ni	213,8±294,87	26,3±2,54	39,9±38,52	71,6±91,29	102,2±35,97
Pb	17,6**	13,4**	12,8**	10,2±3,37	ND
Se	1,04±0,63	0,79±0,21	1,34±1,34	1,42±1,79	1,15±0,55
V	0,99±0,52	0,46±0,52	7,53±7,10	0,93±1,03	0,78±0,72
Zn*	0,83±0,53	6,94±3,80	1,33±0,67	1,31±1,11	0,35±0,09

ND - nije detektirano

* izraženo u mg/kg

**samo u jednom uzorku detektiran element

(ATSDR, 1992., 1999.). Glavobolja, loša koncentracija i pažnja, razdražljivost, gubitak pamćenja mogu predstavljati rane simptome štetnih učinaka izlaganja Pb zbog negativnog učinka na središnji živčani sustav (ATSDR, 1999., CDC, 2001.). Eksperimentalne studije su pokazale da je Pb potencijalno kancerogen te je prema IARC klasificiran kao vjerojatni kancerogen (IARC, 1987.)

Pb je određeno u pet uzoraka od ukupnih 24 te je ispod granica detekcije u uzorcima šumskog meda. Najviša koncentracija Pb od 17,64 µg/kg određena je u medu bagrema.

Koncentracije Pb u monocvjetnim medovima u ovom istraživanju su niže u odnosu na istraživanja provedena u Mađarskoj (12-99 µg/kg; Aytoni i sur., 2007., Czipa i sur., 2015.), Turskoj (1,51-55,3 µg/kg; Silici i sur., 2008.), Italiji (50,0-64,6 µg/kg; Pisani i sur., 2008.) i Novom Zelandu (3-40 µg/kg; Vanhanen i sur., 2011.). U samo jednom uzorku cvjetnog meda nađena je koncentracija Pb od 13,4 µg/kg (u ostalih 6 uzorka su ispod LOD), što je znatno niže u odnosu s nađene srednje vrijednosti od 289 µg/kg u Italiji (Perna i sur., 2014.) ili na Tenerifima (31,5-46,32 µg/kg; Frias i sur., 2008.), u Turskoj

(10,9-21,2 µg/kg, Tuzen i Soylak, 2005.; 36,7 µg/kg, Silici i sur., 2008.; 106 µg/kg, Tuzen i sur., 2007.) i Hrvatskoj (301,0-560,2 µg/kg, Bilandžić i sur., 2014.).

Koncentracije toksičnih metala (As, Cd i Pb) u uzorcima meda su na zadovoljavajućoj razini u skladu s propisanim maksimalno dopuštenim količinama u Bosni i Hercegovini i Europskoj uniji, odnosno za Pb od 100 µg/kg (Anonymous, 2016.), odnosno na temelju analize rizika i nacionalnih propisa drugih država za As i Cd.

Barij se u prirodi pojavljuje u mnogo različitih spojeva, najčešće kao Ba-sulfat i Ba-karbonat. U okoliš najčešće dospijeva u najvećoj mjeri uslijed industrijskih zagađenja zbog velike primjene u industriji, naročito u naftnoj i plinskoj industriji pri postupcima bušenja blatom (Lim i Schoenung, 2010.). Toksični utjecaji Ba su nizak sadržaj kalija u krvi, srčane aritmije, zatajenje respiratornog sustava, gastrointestinalne disfunkcije, paraliza, trzanje mišića i povišen krvni tlak (Johnson i Vantassell, 1991.). Kronična izloženost može dovesti do oštećenja bubrega, zatajenja respiratornog sustava, razvoja neurodegenerativnih bolesti uključujući i multiplu sklerozu te do smrti (Purdey, 2004.). U ovom istraživanju koncentracije Ba su izmjerene u rasponu 0,55-1924,81 µg/kg te su srednje vrijednosti pojedinih vrsta poredane ovim redoslijedom (µg/kg): šumski (649,0) >bagrem (529,6) >kadulja (449,1) >cvjetni (146,0) >kesten (51,1). U istraživanjima u drugim državama koncentracije su bile: u medu vrijeska iz Republike Hrvatske 133 µg/kg (Bilandžić i sur., 2015.), u Kini 166 µg/kg (Chua i sur., 2012.), u Španjolskoj u medu vrijesa 194-232 µg/kg i medu ružmarina 44-170 µg/kg (Fernandez-Torres i sur., 2005.). Koncentracije nađene u Bosni i Hercegovini su značajno više nego u spomenutim istraživanjima.

Natrij je element suštinske važnosti za životinje, ljude i neke vrste biljaka. U

ovom istraživanju Na se kretao u rasponu 0,1-15,98 mg/kg, a najviša koncentracija od 15,98 mg/kg određena je u cvjetnom medu. Koncentracije srednjih vrijednosti Na su se kretale ovim redoslijedom (mg/kg): bagrem (7,68) >kadulja (7,52) >cvjetni med (6,96) >šumski med (6,38) >kesten (3,21). Nađene srednje koncentracije Na u Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2014.) su bile znatno veće i kretale su se ovim redoslijedom (mg/kg): cvjetni med (36,1) >kesten (35,8) >šumski med (35,6) >bagrem (33,9) >kadulja (31,8).

Magnezij (Mg) ima ključnu ulogu u regulaciji osmotskog tlaka, enzimske aktivnosti, aktivaciji mišića, stabilizaciji živčanih funkcija, strukturi kostiju. Na kardiovaskularni sustav djeluje hipotenzivno (NAP, 1989.). Koncentracije Mg su određene u rasponu od 2,18 do 166,04 mg/kg, a najviša koncentracija je izmjerena u medu kadulje. Redoslijed srednje vrijednosti koncentracija je (mg/kg): kadulja (96,1) >kesten (32,6) >bagrem (29,9) >šumski med (25,25) >cvjetni (17,8). Za razliku od ovog istraživanja nedavno istraživanje u Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2014.) je pokazalo najviše srednje koncentracije Mg (mg/kg) u medu kestena (59,1), zatim u šumskom (27,1) i cvjetnom medu (26,9) te u medu kadulje (11,6) i bagrema (8,02).

Kalij je esencijalni makroelement prijeko potreban svim životinjskim i biljnim organizmima. Bitno utječe na rad srčanog mišića i podražljivost cijelog živčanog i mišićnog sustava. Od svih ispitivanih elemenata u ovom istraživanju, za K su određene najviše u rasponu od 14,81 do 4895,73 mg/kg. Redoslijed srednjih koncentracija K kretao se (mg/kg): bagrem (1501) >šumski med (1170) >kadulja (627,4) >cvjetni med (561,7) >kesten (425,3). Najviše koncentracije su nađene u uzorku meda od bagrema, a najniže u medu od kestena. Interesantan je podatak da je u Hrvatskoj najviša srednja koncentracija K zabilježena u kestenovom medu (2824,4

mg/kg), a najniža u medu bagrema (304,7 mg/kg), dok su približno iste koncentracije nađene u šumskom medu (1191,0 mg/kg) (Bilandžić i sur., 2014.).

Nedostatak Ca u organizmu izaziva rahitis, osteomalaciju i osteoporozu (NAP, 1989.). U uzorcima meda koncentracije Ca su izmjerene u rasponu od 2,54 do 258,1 mg/kg. Najviše srednje vrijednosti Ca određene su u medu bagrema (100,2 mg/kg), a najniže u medu kadulje (52,5 mg/kg). Najviša koncentracija je zabilježena u uzorku meda bagrema. Znatno više koncentracije Ca su određene su u Hrvatskoj u rasponu od 173,9 do 486,7 mg/kg pri čemu je kao i ovom istraživanju, najniža koncentracija Ca zabilježena u medu kadulje (Bilandžić i sur., 2014.).

Od mikroelemenata u ovom istraživanju ispitali su Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo, V, Ni, Ag i Al. Vanadij je element u tragovima koji u organizmu ima fiziološku funkciju sličnu inzulinu. Djeluje u sva tri glavna ciljna tkiva hormona inzulina, 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.). Određen je u 19 uzoraka meda u rasponu koncentracija 0,01-14,63 µg/kg. Najviša koncentracija je izmjerena u uzorku meda kadulje. Srednje koncentracije V kretale su se ovim redoslijedom (µg/kg): kadulja (7,53) >bagrem (0,99) >kesten (0,93) >šumski med (0,77) >cvjetni med (52,5). U istraživanju provedenom u Republici Hrvatskoj raspon srednjih koncentracija je bio 1,95-3,70 µg/kg (Bilandžić i sur., 2015.).

Mangan je esencijalni element za sva živa bića i sastojak je raznih enzima. Bitan je za pravilan razvoj kostiju, metabolizam kolesterola, prevenciju steriliteta, pravilnu funkciju pankreasa (Blaurock-Busch, 1997.). U pet vrsta meda u ovome istraživanju Mn je određen u rasponu od 0,019 do 37,1 mg/kg. Pri tome je

najniža srednja vrijednost određena u medu kestena (0,545 mg/kg), a najviša u šumskom medu (12,4 mg/kg).

Krom je element u tragovima koji ima bitnu ulogu u metabolizmu ugljenih hidrata, kao sastavni dio faktora tolerancije na glukozu i uključen je u mehanizam kardiovaskularnog rizika i metaboličkog sindroma (Hummel i sur., 2007.). U uzorcima meda sadržaj Cr se kretao od 0,05 do 14,9 µg/kg. Srednje vrijednosti određene su u sljedećem redoslijedu (µg/kg): bagrem (5,14) >kadulja (4,28) >šumski med (3,01) >kesten (1,10) >cvjetni med (0,44). Niže koncentracije Cr su detektirane u cvjetnom medu (0,78-3,01 µg/kg) u odnosu na istraživanja provedena u Republici Hrvatskoj (22,3 µg/kg; Bilandžić i sur., 2015.) i Turskoj (2,4-37,7 µg/kg; Tuzen i sur., 2007.) i (1,24-2,67 µg/kg; Silici i sur., 2008.). U monocvjetnim medovima u ovome istraživanju nađene koncentracije Cr su bile u rasponu (0,48-14,45 µg/kg) i slične rasponima (µg/kg) dobivenim u Mađarskoj (5,95-36,7; Czipa i sur., 2015.), odnosno Turskoj (1,57-10,2; Silici i sur., 2008.). Suprotno od navedenog, izrazito visoke koncentracije Cr nađene su na Novom Zelandu (120-550 µg/kg; Vanhanen i sur., 2011.), u Turskoj (170-370 µg/kg; Yarsan i sur., 2007.) i Kini (1,845-3,835 mg/kg; Chua i sur., 2012.).

Željezo je važan element za ljude i esencijalan za biljke. Sadrže ga sve stanice organizma te je kao komponenta hemoglobina i mioglobina nezamjenjiv u prijenosu kisika u krvi i mišićima. Nedostatak Fe u organizmu izaziva anemiju. Zbog gubitka krvi tijekom menstrualnih ciklusa, ženama u reproduktivnom periodu života su potrebne veće količine Fe od muškaraca (NAP, 1989.). U ovome radu Fe je određeno u koncentracijama od 13,28 do 2232 µg/kg. Najviša koncentracija zabilježena je u uzorku meda kestena. Redoslijed srednjih vrijednosti Fe u

različitim vrstama meda je ($\mu\text{g/kg}$): kadulja (1247,10) >kesten (655,9) >cvjetni med (547,6) >bagrem (488,9) >šumski med (366,0). Međutim, u Hrvatskoj su u svim vrstama meda utvrđene znatno više srednje koncentracije Fe ($\mu\text{g/kg}$): šumski 5170, kadulja 4170, kesten 3570, cvjetni 3290 i bagrem 2770 (Bilandžić i sur., 2014.).

Kobalt je bitan element u tragovima koji ima važnu ulogu u procesu hematopoeze, stimulacije produkcije eritropoetina te sintezi hemoglobina (Bárány i sur., 2005.). Sastavni dio je kobalamina (vitamina B_{12}) koji je esencijalan za ljude. Raspon koncentracija Co u pet vrsta meda bio je od 0,25 do 36,2 $\mu\text{g/kg}$. Najviša koncentracija je zabilježena u uzorku meda kesten. Srednje vrijednosti Co kretale su se prema redoslijedu ($\mu\text{g/kg}$): kesten (12,7) >šumski med (5,76) >kadulja (5,02) >bagrem (2,58) >cvjetni med (0,48).

Bakar ima ključnu ulogu u apsorpciji Fe te je u tom smislu bitan za stvaranje eritrocita. Nedostatak Cu prouzroči slabokrvnost (NAP, 1989.). U ovome istraživanju određen je u rasponu koncentracija 2,60-1360 $\mu\text{g/kg}$, a srednje vrijednosti su u ovom redoslijedu ($\mu\text{g/kg}$): kadulja (493,6) >šumski med (315,5) >kesten (251,1) >cvjetni med (185,3) >bagrem (182,9). Nađene koncentracije Cu u istraživanju u Hrvatskoj su značajno više nego u ovom istraživanju, a srednje vrijednosti su u ovom redoslijedu ($\mu\text{g/kg}$): šumski med (19600) > bagrem (18600) > kadulja (7850) > kesten (6190) >cvjetni med (4380) (Bilandžić i sur., 2014.).

Cink je sastojak više od 200 različitih enzima. Ima bitnu ulogu u metabolizmu nukleinskih kiselina, sintezi bjelancevina, replikaciji stanica, reparaciji tkiva, mineralizaciji kostiju pravilnu raspodjelu vitamina A (NAP, 1989.). Njegov nedostatak izaziva slabokrvnost, usporavanje brzine rasta, a kod djece izaziva niži rast i sporiji mentalni razvoj (Cashman, 2003.). U ovome istraživanju određen je u rasponu koncentracija

od 0,010 do 12,18 mg/kg . Nađene koncentracije Zn su se prema srednjim vrijednostima kretale redoslijedom (mg/kg): cvjetni med (6,94) >kadulja (1,33) >kesten (1,31) >bagrem (0,83) >šumski (0,35). Najviša srednja koncentracija je zabilježena u cvjetnom medu, a najniža u šumskom. U Hrvatskoj su izmjerene najviše koncentracije u šumskom medu (2,95 mg/kg), dok su se srednje vrijednosti za ostale vrste medova kretale u ovom redoslijedu (mg/kg): cvjetni med (1,22) >kadulja (0,94) >kesten (0,89) >bagrem (0,55) (Bilandžić i sur., 2014.).

Selen je jedan od mikroelemenata koji se mora unositi hranom. Neophodan je za rad enzimskih sustava i ulazi u sastav aminokiselina. Štiti srce i eritrocite. Pomaže pri depresiji, prekomjernom umoru i prevelikoj nervozni. Nivo selena u hrani ovisi od nekoliko geografskih i klimatskih faktora (Lyons i sur., 2003.). Neophodan je za zdravlje svih živih organizama. Činjenica je da većina populacije u svijetu unosi Se ispod optimalnih potreba, stoga postoji povećan rizik od nekoliko bolesti kao što su: tumor, bolesti srca, virusnih bolesti i drugih stanja koja uključuje povećane razine oksidativnog stresa (Haug i sur., 2007.). U pet vrsta meda određen je u koncentracijama od 0,20 do 4,93 $\mu\text{g/kg}$. Srednje vrijednosti u vrstama meda bile su u redoslijedu ($\mu\text{g/kg}$): kesten (1,42) >kadulja (1,34) >šumski med (1,15) >bagrem (1,04) >cvjetni (0,79).

Molibden je bitan esencijalni element i ima važnu ulogu u regulaciji metabolizma Ca, Mg i Cu te je biološki aktivn kao ko-faktor za nekoliko enzima, kao i oksidacija sulfita i formiranja mokraćne kiseline (McDowell, 1992.). U uzorcima meda u ovome istraživanju Mo je određen u rasponu koncentracija od 0,03 do 10,38 $\mu\text{g/kg}$. Koncentracije srednjih vrijednosti su se kretale ovim redoslijedom ($\mu\text{g/kg}$): bagrem (3,80) >šumski med (3,19) >kesten (2,51) >kadulja (1,46) >cvjetni (1,36).

Nikal je element prisutan u tlu, vodi, zraku. Tvori brojne legure s drugim metalima te se veći dio Ni u svijetu koristi za proizvodnju nehrđajućeg čelika, koji se opet koristi za proizvodnju hrane i opreme za obradu kontejnera (Sharma, 2013.). Jedan je od najčešćih uzroka senzibilizacije te prouzroči više alergijskih dermatitisa od ostalih metala (van der Walle i Brunsveld, 1994.). U ovome su istraživanju izrazito visoke koncentracije određene u medu bagrema (800,2 µg/kg), dok su ostale bile u rasponu od 11,0 do 251,9 µg/kg. Srednje vrijednosti su se kretale ovim redoslijedom (µg/kg): bagrem (213,8) >šumski med (102,2) >kesten (71,6) >kadulja (39,9) >cvjetni (26,3). Raspon koncentracija utvrđen u monocvjetnih medova (11,0-800,2 µg/kg) ukazuje na više količine u odnosu na istraživanja provedena na monocvjetnim medovima u Turskoj (1,35-56,4 µg/kg; Silici i sur., 2008.), u Italiji (378-487 µg/kg; Pisani i sur., 2011.), na Novom Zelandu (20-210 µg/kg; Vanhanen i sur., 2011.). Raspon koncentracija u cvjetnim medovima u ovome istraživanju (23,80-28,88 µg/kg) je niža u usporedbi s vrijednostima utvrđenim u Turskoj (240-1630 µg/kg; Yarsan i sur., 2007., 1,21-41,4 µg/kg; Silici i sur., 2008.) i Kini 84 µg/kg (Chua i sur., 2012.).

Srebro se u medicini zbog svog bakterioidnog svojstva koristi za prekrivanje rane 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 je radu najviša koncentracija Ag određena u medu kadulje (0,62 µg/kg), dok su ostale koncentracije bile u rasponu 0,002-0,23 µg/kg. Veće koncentracije Ag u medu kadulje potkrepljuje činjenicu i poznata saznanja o anti-septičkom djelovanju ove biljke (Kenjerić i sur., 2008.). Slične koncentracije su zabilježene i u Republici Hrvatskoj (0,089-0,51 µg/kg).

Aluminij je treći element po svojoj prisutnosti u zemljinoj kori i u tlu je koncentriran u mineralima gline. Nema nikakvog biološkog značenja. Pored male akutne otrovnosti, efekti Al po zdravlje ljudi su u fokusu zbog njegove masovne uporabe. Visoke koncentracije Al određene su u šumskom medu (8,18 mg/kg), a u ostalim uzorcima meda kretale su u rasponu od 0,001 do 0,82 mg/kg. Srednje vrijednosti su se kretale prema redoslijedu (mg/kg): šumski med (2,88) >kadulja (0,48) >kesten (0,47) >cvjetni (0,34) >bagrem (0,26). Istraživanja u nekim drugim zemljama pokazala su koncentracije u rasponu (mg/kg): Republika Hrvatska 0,708-2,355 (Bilandžić i sur., 2015.), Turska 0,094-0,325 (Tuzen i sur., 2007.), Novi Zeland 0,21-21,3 (Vanhanen i sur., 2011.), Mađarska 0,5-4,39 (Czipa i sur., 2015.).

Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti da su u ispitivanim uzorcima meda nađene količine toksičnih metala (As, Cd i Pb) u skladu s BiH i EU legislativom. Ono što zahtijeva dalja istraživanja su značajno više količine Ba u medu u odnosu na ostala istraživanja s kojima su uspoređene dobivene vrijednosti. Više su koncentracije makroelemenata utvrđene kod monocvjetnih medova u odnosu na multivjetne, što se može reći i za mikroelemente (V, Cr, Fe, Zn, Se, Ag). Utvrđene razlike u sastavu pojedinih elemenata u medu u odnosu na druga istraživanja ukazuju da na mineralni sastav meda pored cvjetnog nektara, nesumnjivo najznačajnijeg čimbenika koji utječe na sastav meda, utječe i geografsko podrijetlo.

Sažetak

U ovome istraživanju je u pet vrsta meda, monocvjetnim bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.), kesten (*Castanea sativa* Mill.) i kadulja (*Salvia officinalis*) te multivjetnim šumskom i cvjetnom medu s područja Bosne

i Hercegovine su određivani toksični metali te makro i mikro-elementi (As, Cd, Pb, Ba, Na, Mg, K, Ca, V, Mn, Cr, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo, Ni, Ag te Al) primjenom tehnike induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS). Nađene koncentracije u pet vrsta meda su se kretale u rasponu srednjih koncentracija ($\mu\text{g/kg}$): As 0,83-1,23; Cd 0,39-4,52; Pb 10,02-17,6; Ba 51,1-649,0; V 0,46-7,53; Cr 0,44-5,14; Fe 366,0-1.247,1; Co 0,48-12,71; Cu 182,9-493,7; Se 0,79-1,42; Mo 1,36-3,80; Ni 26,3-213,8; Ag 0,015-0,24; (mg/kg): Al 0,26-2,88; Na 3,21-7,68; Mg 17,8-96,1; K 425,3-1.501; Ca 2.536,96-258.112,80; Mn 0,545-12,4 i Zn 0,35-6,94. Botanički sastav meda znatno utječe na mineralni sastav te je utvrđeno da med bagrema sadrži najveće koncentracije sljedećih elemenata (mg/kg): K 1501, Ca 100,2, Na 7,68, Mn 9,43; ($\mu\text{g/kg}$): Ni 213,8, Mo 3,80, Cr 5,14 i Pb 17,6 te najniže Al 0,26 mg/kg i Cu 182,9 $\mu\text{g/kg}$. Najveći broj elemenata s najnižim koncentracijama sadrži cvjetni med ($\mu\text{g/kg}$): Cd 0,39; Cr 0,44; V 0,46; Co 0,48; Se 0,79; Mo 1,36, Ni 26,3 i Mg 17,8 mg/kg . Med kadulje sadrži najveće koncentracije sljedećih elemenata ($\mu\text{g/kg}$): Ag 0,24; V 7,53; Cu 493,7; Fe 1247,1 i Mg mg/kg , i najniže Ca 52,5 mg/kg . U medu kestena su nađene najviše koncentracije Cd, Co i Se ($\mu\text{g/kg}$: 4,52; 12,71 i 1,42), a najmanje su za Ba 51,1 i Pb 10,2 ($\mu\text{g/kg}$), odnosno (mg/kg): K 425,3; Mn 0,545 i Na 3,21. Šumski med sadrži najviše koncentracije Al 2,88 mg/kg i Ba 649,0 $\mu\text{g/kg}$, a najniže As, Fe i Zn (najviše koncentracije Al 2,88 mg/kg i Ba 649,0 $\mu\text{g/kg}$ te najniže As, Fe i Zn ($\mu\text{g/kg}$: 0,83; 366,0 i 0,35). Pored botaničkog sastava, usporedbom s drugim istraživanjima, pokazalo se da znatan utjecaj na mineralni sastav meda imaju i geografsko podrijetlo i činitelji okoliša.

Ključne riječi: med, teški metali, mikro i makro elementi, Bosna i Hercegovina

Literatura

1. 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.
2. AL-MAMARY, M., M. AL-MEERI and M. ALHABORI (2002): Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrit. Res.* 22, 1041-1047.
3. Anon. (2009): Pravilnik o medu i drugim pčelinjim proizvodima. Službeni glasnik BiH, br. 37/09.
4. Anon. (2011): Pravilnik o medu i drugim pčelinjim proizvodima. Službeni glasnik BiH, br. 25/11.
5. Anon. (2016): Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o maksimalno dozvoljenim količinama za određene kontaminante u hrani. Službeni glasnik BiH, br. 79/16.
6. ATSDR (1992): Case Studies in Environmental Medicine - Lead Toxicity. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Public Health Service. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia, USA.
7. ATSDR (1999): Toxicological Profile for Lead. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Public Health Service. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia, USA.
8. ATSDR (2000): Toxicological Profile for Arsenic TP-92/09. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.
9. BÁRÁNY, E., I. A. BERGDAHL, L. E. BRATTEBY, T. LUNDH, G. SAMUELSON, S. SKERFVING and A. OSKARSSON (2005): Iron status influences trace element levels in human blood and serum. *Environm. Res.* 98, 215-223.
10. BASELT, R. C. and R. H. CRAVEY (1995): Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 4th Edn. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers, pp. 105-107.
11. BILANDŽIĆ, N., I. T. GAJGER, B. ČALOPEK, M. SEDAK, B. SOLOMUN KOLANOVIĆ, I. VARENINA, Đ. BOŽIĆ LUBURIĆ, I. VARGA i M. ĐOKIĆ (2015): Sadržaj teških metala i elemenata u tragovima u različitim vrstama meda iz Dubrovačke županije. *Vet. stn.* 46, 359-368.
12. 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 Compos. Anal.* 33, 123-138.
13. BLAUROCK-BUSCH, E. (1997): Mineral & Trace Element Analysis, Laboratory and Clinical Application. Tm 1997.
14. CASHMAN, K. D. (2003): Minerals in dairy products. In: *Encyclopaedia of Dairy Sciences*; Roginski, H., Fuquay, J. W., Fox P. F., Ed.; Academic Press: London, UK, 2003, 2051-2065.
15. CDC (2001): Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Managing Elevated Blood Lead Levels Among Young Children: Recommendations From the Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention. Atlanta: 2001.
16. 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.
17. CZIPA, N., D. ANDRASI and B. KOVACS (2015): Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. *Food Chem.* 175, 536-542.
18. ELINDER, C. G. and L. JÄRUP (1996): Cadmium exposure and health risks: Recent findings. *Ambio.* 25, 370-373.

19. 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.
20. FRIAS, I., C. RUBIO, T. GONZÁLEZ-IGLESIAS, A. J. GUTIERREZ, D. GONZÁLEZ-WELLER and A. HARDISSON (2008): Metals in Fresh Honeys from Tenerife Island, Spain. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.* 80, 30-33.
21. GABBY, P. N. (2003): Lead: Environmental Defense "Alternatives to Lead-Acid Starter Batteries," Pollution Prevention Fact Sheet. 2003 available at http://www.cleancarcampaign.org/FactSheet_BatteryAlts.pdf.
22. GABBY, P. N. (2006): Lead: in Mineral Commodity Summaries. Reston, VA: U.S. Geological Survey; 2006. Available at http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/lead/lead_mcs05.pdf.
23. 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.
24. GIBSON, D. J., Q. YANG, D. T. KERKEKES and G. S. SCHULTZ (2014): Medical Honey and Silver Dressings Do Not Interfere with Each Other's Key Functional Attributes. *Wounds* 26, 309-316.
25. HAUG, A., R. D. GRAHAM, O. A. CHRISTOPHERSEN, and G. H. LYONS (2007): How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. *Microb. Ecol. Health Dis.* 19, 209-228.
26. HUMMEL, M., E. STANDL and O. SCHNELL (2007): Chromium in metabolic and cardiovascular disease. *Hormone Metabol. Res.* 39, 743-751.
27. IARC (1987): Overall Evaluation of Carcinogenicity. In IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyons, France, Supplement 7, Volumes 1-42.
28. IARC (1993): Cadmium. International Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs, Lyon, France.
29. IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP (1987): Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution: Report of the seventeenth session. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1987, No. 31.
30. JOHNSON, C. H. and V. J. VANTASSELL (1991): Acute barium poisoning with respiratory failure and rhabdomyolysis. *Ann. Emerg. Med.* 20, 1138-1142.
31. KENJERIC, D., M. L. MANDIĆ, LJ. PRIMORAC and F. ČAČIĆ (2008): Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifl oral honey. *Food Chem.* 110, 187-192.
32. LIM, S. R. and J. M. SCHOENUNG (2010): Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with fl at panel displays. *J. Hazard. Mat.* 177, 251-259.
33. LYONS, G., J. STANGOULIS and R. GRAHAM (2003): High-selenium wheat: biofortification for better health. *Nutr. Res. Rev.* 16, 45-60.
34. McDOWELL, L. R. (1992): Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press Inc., CA, USA.
35. 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.
36. NAP (1989): Diet and health: Implications for reducing chronic disease risk. Chapter 13 – Minerals and Chapter 14 Trace elements. National Academies Press.
37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. PURDEY, M. (2004): Chronic barium intoxication disrupts sulphated proteoglycan synthesis: a hypothesis for the origins of multiple sclerosis. *Med. Hypoth.* 62, 746-754.
41. RASHED, M. N. and M. E. SOLTAN (2004): Major and trace elements in different types of Egyptian mono-fl oral and non-fl oral bee honeys. *J. Food Comp. Anal.* 17, 725-735.
42. REPINC, U. and LJ. BENEDIK (2004): Determination of vanadium in dietary supplements. *Acta Chim. Slov.* 51, 59-65.
43. SHARMA, A. D. (2013): Low Nickel Diet in Dermatology. *Ind. J. Dermatol.* 58, 240.
44. SILICI, S., O. 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.
45. 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.
46. TCHOUNWOU, P. B., C. G. YEDJOU, A. K. PATLOLLA and D. J. SUTTON (2012): Heavy Metal Toxicity and Environment. *Molecular. Clin. Environ. Toxicol.* 101, 133-164.
47. TCHOUNWOU, P. B., A. K. PATLOLLA, and J. A. CENTENO (2003): Carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure-a critical review. *Toxicol Pathol.* 31, 575-588.
48. 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.
49. 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.

50. 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.
51. 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.
52. VANHANEN, L. P., A. EMMERTZ and G. P. SAVAGE (2011): Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chem.* 128, 236-240.
53. WILSON, D. N. (1988): Cadmium - market trends and influences. In: *Proceedings of the 6th International Cadmium Conference*, Association Cadmium, London, pp. 9-16.
54. 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.

Concentrations of Heavy Metals and Elements in Different Types of Honey from Bosnia and Herzegovina

Sanin TANKOVIĆ, DVM, PhD; Vedrana JELUŠIĆ, DVM, Veterinary Office of Bosnia and Herzegovina, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina; Nina BILANDŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, PhD, Bruno ČALOPEK, Grad. Food Technology Eng., Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia; Jasmin FERIZBEGOVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Director, JP Veterinary Practice Bukinje, Tuzla, Bosnia and Herzegovina

In this study, five types of honey, monoflower: locust (*Robinia pseudoacacia* L.), chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and sage (*Salvia officinalis*), and multiflower: forest and floral honey from the territory of Bosnia and Herzegovina were tested with inductively coupled plasma with mass spectrometry (ICP-MS) to determine the toxic metal, macro and micro-element content (As, Cd, Pb, Ba, Na, Mg, K, Ca, V, Mn, Cr, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo, Ni, Ag and Al). Mean concentrations found in five types of honey were in the ranges (µg/kg): As 0.83–1.23, Cd 0.39–4.52, Pb 10.02–17.6, Ba 51.1–649.0, V 0.46–7.53, Cr 0.44–5.14, Fe 366.0–1247.1, Co 0.48–12.71, Cu 182.9–493.7, Se 0.79–1.42, Mo 1.36–3.80, Ni 26.3–213.8, Ag 0.015–0.24, (mg/kg): Al 0.26–2.88, Na 3.21–7.68, Mg 17.8–96.1, K 425.3–1501, Ca 2,536.96–258,112.80, Mn 0.545–12.4 and Zn 0.35–6.94. The botanical composition of honey significantly affected the mineral composition and it was found that black locust honey contained the highest concentration of the following elements (mg/kg): K 1501, Ca 100.2, Na 7.68, Mn 9.43; (µg/

kg): Ni 213.8, Mo 3.80, Cr 5.14 and Pb 17.6 and the lowest content of Al 0.26 mg/kg and Cu 182.9 µg/kg. Floral honeys contained the largest number of elements with the lowest concentrations (µg/kg): Cd 0.39, Cr 0.44, V 0.46, Co 0.48, Se 0.79, Mo 1.36, Ni 26.3 and Mg 17.8 mg/kg. Sage honey contained the highest concentrations of the following elements (µg/kg): Ag 0.24; V 7.53; Cu 493.7; Fe 1247.1 and Mg mg/kg; and the lowest Ca 52.5 mg/kg. The highest levels of Cd, Co and Se (µg/kg: 4.52, 12.71 and 1.42), and the lowest levels of Ba and Pb (µg/kg: 51.1 and 10.2) and for K, Mn and Na (mg/kg: 425.3, 0.545 and 3.21) were measured in chestnut honey. Forest honey contained the highest concentration of Al (2.88 mg/kg) and Ba (649.0 µg/kg) and the lowest As, Fe and Zn (µg/kg: 0.83, 366.0 and 0.35). In comparison with other studies, in addition to botanical composition, it can be concluded that geographical origin and environmental factors also have a substantial impact on the mineral composition of honeys.

Key words: Honey, Heavy metals, Micro and macro elements, Bosnia and Herzegovina

Određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone u ovaca pasmine lička pramenka

S. Vince*, Maja Platiša, J. Grizelj, Branimira Špoljarić,
D. Đuričić, Foteini Samartzi, H. Valpotić, V. Berta, N. Rošić,
B. Stojanov i M. Samardžija



Uvod

Pisanje ovog rada potaknuto je velikim interesom za bolje razumijevanje kompleksne fiziologije spolnog ciklusa u ovaca, što je omogućeno zahvaljujući Europskom znanstvenom projektu na temu rasplodivanja malih preživača i zaštite autohtonih hrvatskih pasmina ovaca u kojem sudjeluje Klinika za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

U Republici Hrvatskoj uzgaja se oko 600.000 ovaca, od čega oko 90% čine grla hrvatskih autohtonih pasmina, a preostalih desetak posto ostale visoko produktivne pasmine ili njihovi križanci. Ukupno je u uzgoju zastupljeno 16 pasmina od kojih su devet autohtone hrvatske pasmine: dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, cigaja, creska ovca, istarska ovca, krčka ovca, lička pramenka, paška ovca i rapska ovca.

Procjena je da se u Lici uzgaja oko 30.000 grla ličke pramenke, a zahvaljujući upisu novih uzgajivača u nekoliko posljednjih godina koji uzgajaju ovu pasminu, broj uzgojno valjanih grla narastao je na 4.982 grla (Barać i sur., 2007.).

Tijekom 2011. godine u Republici Hrvatskoj uzgojno selekcijski rad provodio se u populaciji od 46.531 uzgojno valjanih ovaca, kod 524 uzgajivača i 16 pasmina. Najbrojnija pasmina unutar uzgojno valjane populacije je dalmatinska pramenka. Druga po veličini populacija, lička se pramenka, uzgaja u stadima prosječne veličine 168 grla (Mulc i sur., 2012.).

Lička pramenka nastala je u gorsko-planinskim područjima Like i Gorskog kotara. Tijekom oblikovanja pasmine zabilježeni su pokušaji merinizacije i oplemenjivanja mesno-vunskim

Dr. sc. Silvijo VINCE*, dr. med. vet., docent (dopisni autor, e-mail: svince@vef.hr), dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Branimira ŠPOLJARIC, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Hrvoje VALPOTIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Maja PLATIŠA, dr. med. vet., Guernsey Islands, Velika Britanija; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Veterinarska stanica Đurđevac, Hrvatska; dr. sc. Foteini SAMARTZI, dr. med. vet., redovita profesorica, Hellenic Agriculture Organization-Demeter, Solun, Grčka; Velimir BERTA, dr. med. vet., Veterinarska stanica Varaždin, Hrvatska; Nikola ROŠIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Jastrebarsko, Hrvatska; Boris STOJANOV, dr. med. vet., Veterinarski centar Strumica, Makedonija

ovnovima iz Francuske i Njemačke (Merino Precoce, Ile de France, Merinolandschaf) koji nisu ostavili značajniji trag na pasmini (Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj 2010.).

Pramenka je ime dobila po otvorenom runu s jasno uočljivim pojedinim pramenovima. Pasmina je rasprostranjena u širem području jugoistočne Europe, Azije, Afrike i manjem dijelu srednje Europe. Kao posljedica različitih ekoloških uvjeta, ponajprije hranidbe, pramenka se javlja u više sojeva. Pritom se lička pramenka ističe kao najtipičniji oblik pramenke u Hrvatskoj. Jedna od najznačajnijih odlika ove pasmine, koje su i uvjetovale njezinu zastupljenost u ovčarstvu Hrvatske, su izrazita otpornost i izdržljivost za kretanje na velikim udaljenostima, dobro iskorištavanje travnjaka loše kvalitete te prilagođenost na lički tip pašnjaka, kamenite predjele osebujne klime s mnogo snijega i sa sušnim ljetima. Ovce mogu postići tjelesnu masu oko 45 do 55 kg, a ovnovi 65 do 75 kg. Pramenka je izrazito kasnozrela pasmina ovaca, spolnu zrelost doseže u dobi od 8 do 12 mjeseci te se prvi put pripuštaju u dobi od godine i pol. Glavna namjena ove pasmine je proizvodnja mesa, ali i mlijeka i vune (Uremović i sur., 2002.).

Ovce su sezonski poliestrične životinje koje se u krajevima umjereno kontinentalne klime tjeraju u jesen kao posljedica smanjenja dnevnog svjetla, a janje u proljeće (Engl. *Short day breeder*). U područjima tropske i suptropske klime ovce su spolno aktivne tijekom cijele godine jer nema godišnjih svjetlosnih varijacija. Međutim, iznimku od ovog pravila čine neke pasmine poput dorset horn i romanovske ovce koje su poliestrične i u uvjetima naše klime, a ne samo u područjima tropskog i suptropskog pojasa što dokazuje da osim fotoperioda, glavni čimbenik sezonosti ovaca je i genetika (Hafez, 1952.).

Sezonost malih preživača je regulirana putem razine melatonina u cirkulaciji. Melatonin je hormon koji se sintetizira u epifizi i pojačano se izlučuje samo noću. Smanjenjem dnevne svjetlosti početkom jeseni povećava se razina melatonina u cirkulaciji, koji djeluje kao kemijski glasnik duljine noći (dana) i potiče sintezu i izlučivanje gonadotropnih hormona adenohipofize, folikulostimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) (Legan i Karsh, 1979.).

Spolni ciklus predstavlja vrijeme od estrusa do estrusa ili od ovulacije do ovulacije. U ovaca se tijekom sezone spolni ciklus ponavlja u prosječnim razmacima od 16 do 17 dana, u rasponu od 14 do 19 dana (Asdell, 1964.), a reguliran je mehanizmom povratne veze na osovini hipotalamus-hipofiza-jajnici. Hipotalamus izlučuje gonadotropne otpuštajuće hormone (GnRH – Gonadotropin-releasing hormones) kojima regulira otpuštanje gonadotropnih hormona hipofize FSH i LH. Porastom razine FSH na jajnicima se stimulira rast folikula, koji počinju izlučivati steroidne hormone jajnika, estradiol-17 β i estron. Ova se faza spolnog ciklusa zove proestrus i u većini slučajeva traje 1 do 2 dana (Heape, 1990.). Zatim slijedi estrus u kojem je ovca spremna za prirodni pripust ili umjetno osjemenjivanje. Estrus traje 18 do 72 sata, u prosjeku 36 sati (Samardžija i sur., 2010.). Visoka razina estrogena djeluje pozitivnom povratnom vezom na adenohipofizu potičući izlučivanje LH koji dovodi do konačnog dozrijevanja i ovulacije Graafovih folikula. Ovulacija je spontana i zbiva se pred kraj estrusa, najčešće 20 do 40 sati, a u prosjeku 27 sati od njegova početka (Gordon, 1997.), odnosno 24 sata poslije porasta LH vala (Cumming i sur., 1971.). Ukoliko u ovoj fazi ciklusa nema ovna u blizini, ovce ne pokazuju vanjske znakove estrusa, mirne su, apatične, bez vidljivih promjena na stidnici. Stoga se mrkanje u ovaca otkriva pomoću ovna probača koji se pušta među ovce, a one

mu se same otkrivaju, pokazujući pasivni refleks opasivanja i dopuštaju parenje (Matthews i sur., 1991.).

Nakon estrusa ovca ulazi u metestrus, pri čemu na mjestu ovuliranog folikula dolazi do tvorbe žutog tijela. Ono sintetizira progesteron koji priprema sluznicu maternice za prihvata ploda ukoliko je došlo do oplodnje, mehanizmom negativne povratne veze prema osovini hipotalamus-hipofiza. Kao posljedica niske razine FSH i LH nastavlja se rast folikula na janjima, ali izostaje njihovo dozrijevanje i ovulacija. Nakon metestrusa, koji traje 2 do 3 dana (Heape, 1990.), slijedi diestrus u kojem pod utjecajem prostaglandina iz endometrija dolazi do razgradnje žutog tijela, ukoliko nije došlo do gravidnosti i mehanizma majčinskog prepoznavanja ploda te se ciklus ponavlja sve do kraja sezone.

Kompleksnosti sezonosti i spolnog ciklusa ovaca pridonosi i činjenica da osim već spomenutog svjetla, odnosno fotoperioda postoje i drugi vanjski ili okolišni utjecaji koji će djelovati na osovinu hipotalamus – hipofiza. Tu se ponajprije osim socijalno-spolnih utjecaja (ovan), utjecaja stresa i temperature ističe utjecaj pojačane hranidbe ovaca. Kvalitetna hranidba ovaca tijekom cijele godine, a posebno u razdoblju prije postizanja spolne zrelosti i uoči početka spolne sezone može imati veliki utjecaj na daljnji uspjeh rasplodivanja. Već je dugo godina poznata pojava pojačane hranidbe (Engl. *Flushing*) u ovaca kroz 30 do 60 dana prije planirane rasplodne sezone. Ovakav pojačan unos energije i bjelancevina utječe na povećanje tjelesne kondicije rasplodnih jedinki, a time se povećava broj folikula koji sazriju i postotak ovulacije te broj janjadi po ovci i sveukupna reproduktivna učinkovitost (Cergolj i Samardžija, 2006., Samardžija i sur., 2010.).

Cilj je ovoga rada određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone ovaca pasmine lička

pramenka, s obzirom da su podatci o ovoj tematici do sada temeljeni samo prema sezoni janjenja ovaca hrvatskih farmara. Lička pramenka je po zastupljenosti druga pasmina ovaca u hrvatskom ovčarstvu te je detaljno poznavanje njezinih reproduktivnih obilježja nužno za uspješnu reprodukciju i uzgoj. Posebno će se obratiti pozornost na precizno utvrđivanje prosječnog trajanja spolnog ciklusa u pramenke mjerenjem koncentracije progesterona i LH radi stjecanja praktičnih znanja neophodnih za daljnja istraživanja reproduktivnih osobitosti ove pasmine.

Ostvarenjem ovih ciljeva utvrdit ćemo početak i trajanje rasplodne sezone te perioda anestrusa pramenke u našem klimatskom podneblju mjerenjem koncentracije progesterona. Ovakve su spoznaje važne su i za primjenu različitih uzgojnih tehnologija (pojačana hranidba, uvođenje mužjaka) u razdoblju prije početka sezone kako bi se poboljšali reproduktivni rezultati i avansirala rasplodna sezona. Upravo je i jedan od ciljeva ovoga rada bila usporedba početka dvije rasplodne sezone nakon primjene pojačane hranidbe. Za proučavanje sezonske aktivnosti koristit će i redovita mjerenja opsega testisa i koncentracije testosterona u ovna.

Materijali i metode

Životinje

Istraživanje je provedeno na osam ovaca i jednom ovnu pasmine lička pramenka smještenih u vanjskom dijelu ovčarnika Klinike za porodništvo i reprodukciju, Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Životinje su bile kupljene za potrebe međunarodnog projekta „INDI_SHEEP TRADI_CHEESE” (SEE-ERA.NET Plus – 083) na Obiteljskom gospodarstvu Flanjak kod Slunja, a iz stada su nasumično izabrane. Prosječna starost ovaca bila je oko 3,5 godine (2-5 godina), a ovan je bio star 4 godine. Pokus je trajao 1,5 godinu.

Tabela 1. Sastav potpune krmne smjese za ovce

Analitički sastav	%	Dodatci u 1 kg hrane			
		Vitamini	i.j.	Minerali	mg
Sirove bjelančevine	12	A	8.000	Fe	50
Sirova vlaknina	5	D ₃	1.200	I	0,35
Sirova ulja i masti	3			Co	0,15
Sirovi pepeo	5			Mn	30
Kalcij	0,50			Zn	60
Fosfor	0,60			Se	0,25
Natrij	0,15				

Hranidba

Prve rasplodne sezone (2011. godine) ovce su hranjene samo sijenom kao i na Obiteljskom gospodarstvu Flanjak koje im je bilo dostupno *ad libitum*. Kako bi se analizirao učinak pojačane energetske hranidbe s vitaminsko-mineralnim dodatkom, 3 mjeseca prije očekivane druge rasplodne sezone (2012. godine) ovce su uz sijeno dobivale i potpunu krmnu smjesu za ovce (1/2 kg dnevno po životinji) čiji je sastav naveden u tabeli 1. Voda im je bila dostupna *ad libitum*.

Uzorkovanje krvi i orhidometrija

Radi određivanja početka i trajanja rasplodne sezone te trajanja perioda anestrusa ovcama je uzorkovana krv u periodu od 10. 6. 2011. do 05. 09. 2012. godine kako bi se utvrdio početak rasplodne sezone 2011. i 2012. godine te jedan period anestrusa. Krv je uzorkovana venepunkcijom (*v. jugularis*) svakih 5 do 10 dana pomoću Vacutainer sistema u epruvete od 5 mL. Odmah po vađenju krvi epruvete su centrifugirane na 4.500 okretaja u minuti kroz 15 minuta. Nakon centrifugiranja serum je preliven u plastične kivete od 2 mL i duboko smrznut (-20 °C) do analize koncentracije progesterona. U istom periodu krv je uzorkovana i ovnu radi određivanja koncentracije testosterona i to svaka dva tjedna, a postupak centrifugiranja i pohrane seruma se nije razlikovao. Uz krv, ovnu je rađena i orhidometrija svaki

tjedan u isto vrijeme ujutro mjerenjem opsega (cm) u najširem dijelu skrotuma pomoću krojačkog metra (Slika 1).

Radi određivanja karakteristika i trajanja spolnog ciklusa ovaca uzorkovana je krv u periodu od 10.–31. listopada 2012. godine. U tu svrhu estrus ovaca je sinkroniziran dvokratnom i.m. aplikacijom (u razmaku od 12 dana) sintetičkog analoga prostaglandina F_{2α} (Estrumate®, cloprostenol) u dozi od 75 µg, a pojava estrusa ovaca otkrivena je pomoću ovna probača (ovan opremljen pregačom i bojom za obilježavanje). Kada je prva ovca bila obilježena od strane ovna probača započeto je uzorkovanje krvi i to svaki dan ujutro radi određivanja koncentracije progesterona te svaka 4 sata od 10.–13. i 26.–29. listopada 2012. godine radi određivanja koncentracije LH, odnosno potvrde ovulacije (slika 2). Postupak centrifugiranja i pohrane seruma je bio isti kao i za progesteron.

Analiza seruma

Kod utvrđivanja koncentracije progesterona i testosterona, analiza seruma je rađena pomoću automatskog sistema Immulite® One (IMMULITE One Immunoassay System, Siemens Medical) na Zavodu za kemiju i biokemiju, Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. To je analitička metoda zasnovana na imuno-kemiluminiscenciji koja koristi selektivno vezanje protutijela koja inkorporiraju markere (alkalna fosfataza)



Slika 1. Mjerenje opsega u najširem dijelu skrotuma (orhidometrija).

da bi izazvala mjerljivi signal. Ova metoda se smatra najboljom alternativom radioimunoanalizi za mjerenje niskih koncentracija analita u kompleksnim uzorcima. Preciznost ove metode određena je pomoću koeficijenta varijacije (CV) unutar analiza istog dana te između analiza kroz nekoliko dana (intra and inter assay). Koeficijent varijacije unutar analize za progesteron je iznosio 3,48%, a između analiza 7,17%. Koncentracija testosterona je određena u jednom danu, a koeficijent varijacije unutar analize iznosio je 4,40%.

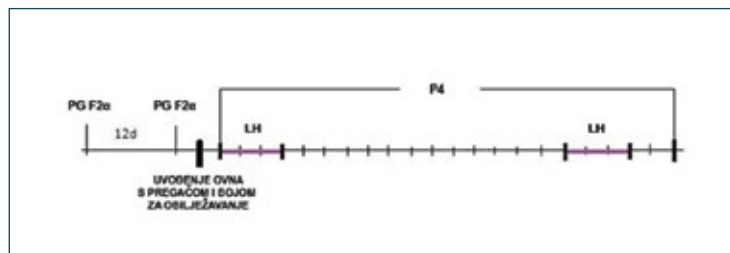
Analiza LH rađena je pomoću Imunoenzimnog testa (ELISA) na kitovima LH DETECT® (INRA; Francuska) za ovce. Apsorbancija je očitana spektrofotometrom na 450 nm, a rezultati su izračunati pomoću eksponencijalnih kalibracijskih krivulja.

Statistička analiza

Statistička analiza podataka učinjena je pomoću programskog paketa SAS (Statistical Analysis Software) 9.1.3. (2002-2003 by SAS Institute Inc., Cary, SAD) (Anonymus, 2003.). Deskriptivna statistika načinjena je pomoću SAS modula PROC MEANS i PROC FREQ.

Za analizu početka rasplodne sezone ovaca između 2011. i 2012. godine korištena je analiza preživljavanja. Datum ulaska svake ovce u rasplodnu sezonu zabilježen je kada je prvi put očitao porast koncentracije progesterona iznad 1 ng/mL, ako je iza tog datuma razina progesterona pokazivala karakteristični ciklički porast i pad što označava ulazak u rasplodnu sezonu. Vremenski period početka rasplodne sezone u danima za svaku ovcu je izračunat pomoću izabranog fiksnog datuma (01. siječanj) do navedenog datuma ulaska u rasplodnu sezonu. Kako bi se odredila statistička značajnost između kategoričke varijable (godina rasplodne sezone) korišten je neparametrijski, log-rank test i Wilcoxon test jednakosti (PROC LIFETEST). Isti test korišten je kako bi se izračunao median dana ulaska u rasplodnu sezonu za svaku godinu te kako bi se odredio oblik Kaplan-Meier krivulja preživljavanja.

Za svaku ovcu utvrđeno je trajanje spolnog ciklusa u danima mjerenjem vremenskog razmaka između dvije ovulacije koje su potvrđene porastom koncentracije LH (LH val). Isto tako, mjerenjem koncentracije progesterona utvrđeno je trajanje lutealne faze spolnog ciklusa u danima i to od ovulacije do pada koncentracije progesterona. Trajanje folikularne faze spolnog ciklusa u danima



Slika 2. Shema sinkronizacije i uzorkovanja krvi ovaca

izračunato je oduzimanjem vremenskog trajanja lutealne faze od trajanja spolnog ciklusa. Grafikoni su izrađeni pomoću modula SAS/GRAPH, (PROC GPLOT), a u izradi grafikona je korištena anotacijska grafika. Izlazni format grafikona bio je png (Portable Network Graphics) u rezoluciji od 300 dpi (Dots Per Inch).

Rezultati

Prema progesteronskom profilu ovaca gledano kroz dvije rasplodne sezone prva ovca je iskazala cikličnu aktivnost krajem srpnja, ali tek krajem kolovoza više od 50% ovaca ulazi u rasplodnu sezonu. Ciklična aktivnost u gotovo svih ovaca bila je zabilježena krajem rujna i održala se do prosinca. Zajednički progesteronski profil ovaca kroz dvije rasplodne sezone prikazan je u grafikonu 1. Iz grafikona se još može iščitati da su neke ovce imale jednokratni porast progesterona po dolasku životinja s Obiteljskog gospodarstva Flanjak na Veterinarski fakultet krajem lipnja 2011. godine.

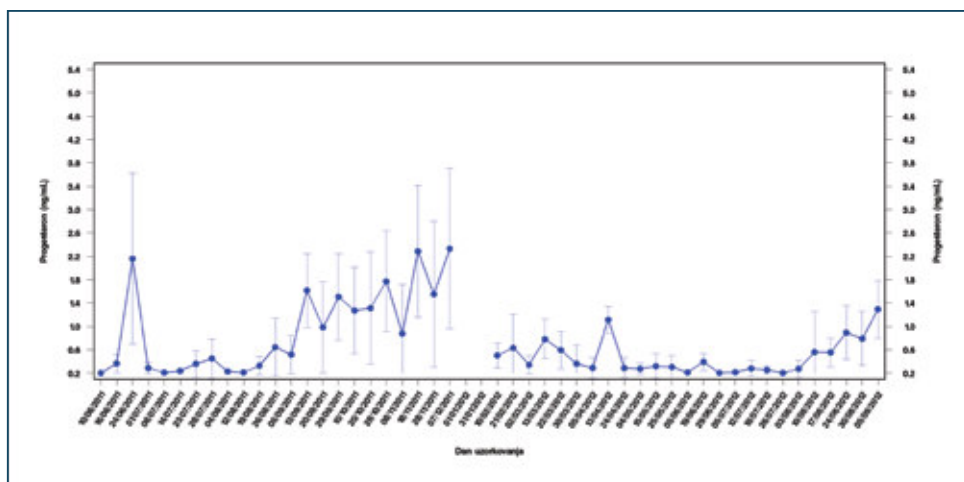
Određivanjem koncentracije testosterona (kroz dvije rasplodne sezone) u ovna utvrđen je značajniji porast tijekom kolovoza što odgovara i periodu kada je

veći postotak ovaca iskazao cikličnu aktivnost. Porastu koncentracije testosterona prethodio je porast opsega skrotuma što je vidljivo iz grafikona 2.

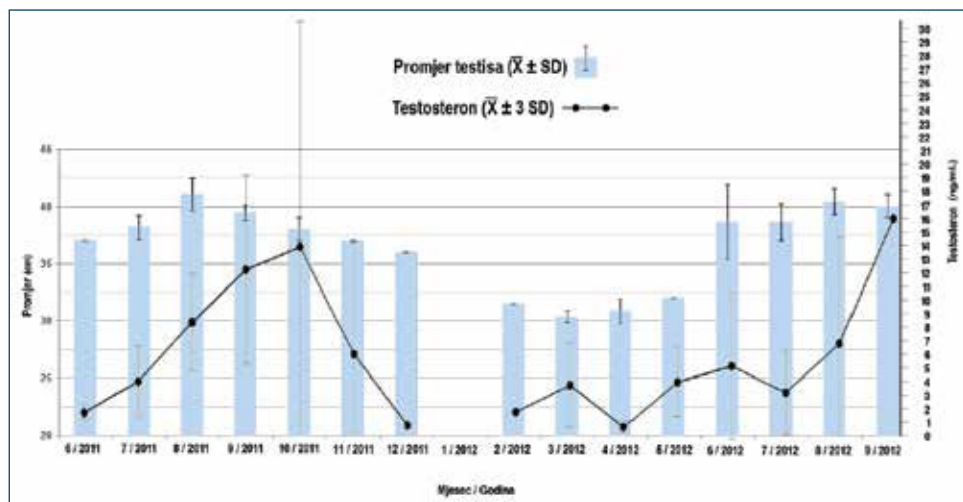
Uspoređujući dvije rasplodne sezone, za sezonu 2012. godine je zabilježen značajniji raniji početak cikličke aktivnosti u prosjeku 19 dana ($P < 0,05$). Prosječna vrijednost medijana s 95% intervalom pouzdanosti (prikazan u danima s intervalom od 1. siječnja do datuma ulaska u rasplodnu sezonu) za sezonu 2011. iznosio je 255,5 (238-272) dana dok je za sezonu 2012. godine iznosio 236,5 (229-244) dana. Procjena razlike početka cikličnosti ovaca između rasplodnih sezona 2011. i 2012. godine je prikazana u grafikonu 3.

Prosječno trajanje i standardna devijacija spolnog ciklusa ličke pramenke iznosi $17,2 \pm 0,61$ dana, lutealne faze ciklusa $13,8 \pm 1,23$ dana, a folikularne faze ciklusa $3,4 \pm 0,65$ dana (Tabela 2). Za dvije ovce nije određeno trajanje spolnoga ciklusa jer su nakon sinkronizacije iskazale estrus kasnije od predviđenog te nije zabilježen LH peak.

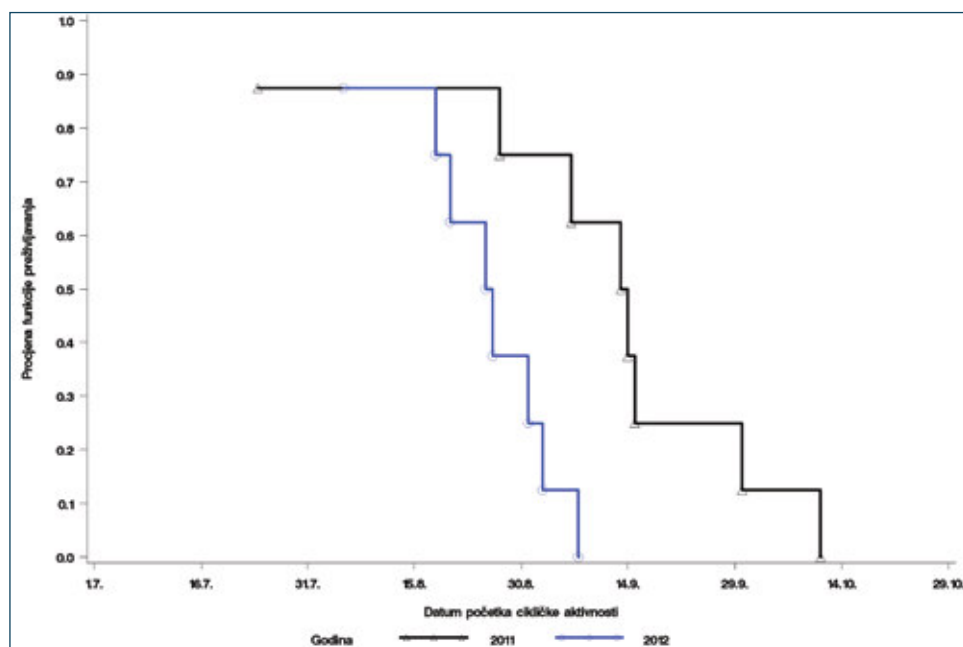
Grafički prikaz srednjih vrijednosti progesterona i LH šest ovaca tijekom spolnog ciklusa prikazan je u grafikonu 4.



Grafikon 1. Progesteronski profil ovaca tijekom dvije rasplodne sezone 2011. i 2012. godine.



Grafikon 2. Istovremeni prikaz prosječne vrijednosti za opseg skrotuma i koncentracije testosterona kroz dvije rasplodne sezone.



Grafikon 3. Krivulje procjene početka cikličke aktivnosti ovaca dviju rasplodnih sezona (2011. i 2012. godina).

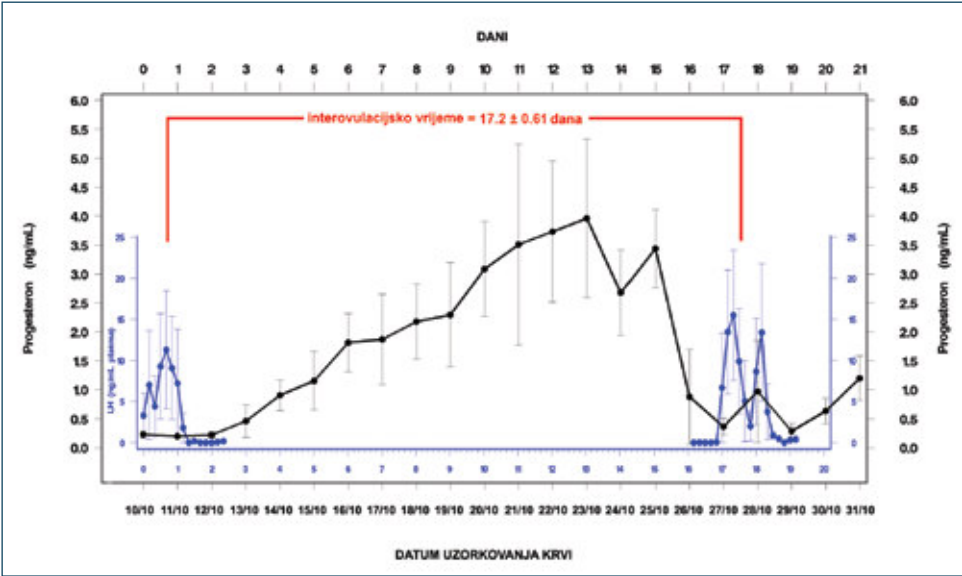
Rasprava

Na osnovu dobivenih podataka o koncentraciji progesterona zaključili smo da sezona spolne aktivnosti započinje krajem srpnja, što se podudara s

podacima farmera koji je primijetio da se manji postotak ovaca janji već krajem prosinca. Budući da gravidnost u ovce traje pet mjeseci, očigledno je da je do koncepcije došlo krajem srpnja. Ipak,

Tabela 2. Prosječno trajanje lutealne i folikularne faze ciklusa u ovaca

Ovca	Spolni ciklus (od LH peak-a do LH peak-a)	Lutealna faza (24 h od LH peak-a do pada P_4 – luteolize)	Folikularna faza (Spolni ciklus - lutealna faza)
	Dani		
77304	17,3	14,0	3,3
77326	17,0	13,0	4,0
78458	17,7	15,0	2,7
85509	16,5	12,8	3,7
85778	16,5	12,5	4,0
89814	18,0	15,5	2,5
Prosjeak	17,2	13,8	3,4



Grafikon 4. Istovremeni prikaz srednjih vrijednosti koncentracije progesterona i LH za šest ovaca.

većina ovaca u pokusu ulazi u sezonu krajem kolovoza i tijekom rujna, a nastavlja sa spolnom aktivnošću sve do prosinca što je općenito potvrđeno za većinu pasmina ovaca (Chemineau i sur., 1992.). Uspoređujući podatke s ostalim sojevima pramenki, početak sezone spolne aktivnosti se podudara i to kod pramenki držanih na sličnoj zemljopisnoj širini, u uvjetima umjerene kontinentalne

klime, kao što je slučaj sa sjeničkom pramenkom u Srbiji (Milovanović i sur., 2012.). Ukoliko su pramenke uzgajane zemljopisno južnije od ličkog soja pramenke, početak spolne aktivnosti nastupa ranije (krajem lipnja), što su potvrdili Robić i suradnici 1992. godine proučavajući sezonu spolne aktivnosti pramenki s različitih područja bivše države. Za razliku od ličke pramenke,

europske pasmine ovaca koje se uzgajaju sjevernije od našeg podneblja, započinju sa spolnom aktivnošću u studenom (Gomez-Brunet i Lopez-Sebastian, 1991.). Shodno tome i trajanje rasplodne sezone u ličke pramenke je dulje od europskih pasmina koje se uzgajaju sjevernije, ali kraće od ovaca držanih južnije od našeg podneblja. Rasplodna sezona u većine ovaca završava tijekom zimskog perioda (Hafez, 1952.), što smo i potvrdili u našem istraživanju. Općenito uzevši, ovce uzgajane u umjerenom klimatskom podneblju u srednjim i višim zemljopisnim širinama su sezonski poliestrične, dok su ovce u tropskim i suptropskim područjima nesezonalne pri čemu dostupnost i kakvoća hranidbe određuje spolnu aktivnost. Što je viša zemljopisna širina na kojoj se drže ovce, veći je svjetlosni učinak na sezonost i kraće je trajanje spolne aktivnosti, tj. period anestrusa je dulji (Rosa i Bryant, 2003.). Fotoperiod je najznačajniji čimbenik u regulaciji sezonosti spolnoga ciklusa u ovaca i njezine varijabilnosti s obzirom na zemljopisnu širinu. Njegov učinak nadopunjuju i ostali čimbenici poput temperature okoliša, hranidbe i socijalnog ponašanja u stadu. U umjerenom podneblju fotoperiod je odlučujući faktor, dok ostali okolišni čimbenici mogu uvjetovati samo nastup i trajanje perioda anestrusa (Hafez, 1952.). Prihvaćeni model koji objašnjava utjecaj fotoperioda na sezonost objašnjava da kao posljedica dugih dana u periodu anestrusa, sustav hipotalamus-hipofiza uključen u sekreciju LH, postaje izrazito osjetljiv na negativnu povratnu spregu od strane steroidnih hormona (Legan i Karsh, 1979.). Mehanizmi uključeni u ovu regulaciju nisu u potpunosti razjašnjeni, međutim poznato je da je melatonin, izlučen tijekom noćnih sati, odgovoran za prenošenje informacije o trajanju dana reproduktivnoj vezi hipotalamus-hipofiza-jajnici, mijenjajući pritom pulzatilnu sekreciju LH (Rosa i Bryant, 2003.).

Varijacije u sezonosti spolnoga ciklusa, osim u ovaca, zamijećene su i u ovnova, iako slabije izražene, poput promjena u aktivnosti spolnih žlijezda, spolnom ponašanju, gametogenezi te težini i volumenu testisa (Schanbacher i Lunstra, 1976., Lincoln i Davidson, 1977., Ortavant i sur., 1985.). Početak i trajanje sezone ovaca u našem istraživanju potvrđuju i vrijednosti koncentracije testosterona i orhidometrije u ovna, koji bilježe značajniji porast testosterona tijekom kolovoza i rujna te nagli pad u prosincu, dok opseg skrotuma raste već od lipnja, ali postupno opada krajem zime i u proljeće što su potvrdili Pelletier i Almeida 1987. godine. Navedeni rast opsega skrotuma prije porasta koncentracije testosterona se dijelom može pripisati i porastu jutarnjih temperatura tijekom mjerenja opsega, a objašnjeno je mehanizmom termoregulacije testisa (Cergolj i Samardžija, 2006.).

Kod četiri ovce 24. lipnja 2011. godine zabilježen je porast koncentracije progesterona koji se tijekom sljedećih uzorkovanja krvi nije održao, a uslijedio je nedugo nakon transporta životinja na Fakultet s Obiteljskog gospodarstva Flanjak. Uzrok tome mogao bi biti stres životinja zbog transporta i nove okoline, iako o specifičnom jednokratnom porastu progesterona nakon stresa nema podataka u dosadašnjoj literaturi.

Tri mjeseca prije ulaska u sezonu 2012. godine, hranidba sijenom je nadopunjena potpunom krmnom smjesom za ovce pa se pretpostavlja da je zbog poboljšanja kondicije početak sezone nastupio u prosjeku 19 dana ranije u odnosu na 2011. godinu. Dosadašnja istraživanja na ovu temu pokazala su da ovce s kvalitetnom hranidbom odgovaraju brže na početak sezone, a mogu imati i povećani broj ovuliranih jajnih stanica (Keisler i Buckrell, 1997.). Ovce s kvalitetnom hranidbom imaju bolju tjelesnu kondiciju (Engl. *Body condition score* - BCS), a pokazalo se da tjelesna kondicija direktno utječe na aktivnost

hipotalamusa i izlučivanje GnRH (Rhind i sur., 1989.). Na rast folikula hranidba utječe putem razine glukoze u samoj ovarijskoj tekućini te koncentracija metaboličkih hormona poput inzulina sličnoga faktora rasta (Engl. IGF-I – *insulin-like growth factor*) i leptina. Kao posljedica već kratkotrajne pojačane hranidbe raste koncentracija navedenih hormona, posebice leptina, povećava se osjetljivost receptora na gonadotropine i omogućava daljnji rast i sazrijevanje folikula (Vinoles i sur., 2005.).

Spolni ciklus ovce općenito ima raspon između 14 i 18 dana s prosječnom duljinom između 16,5–17,5 dana (Hafez, 1952., Asdell, 1964.). U našem istraživanju trajanje spolnog ciklusa u ovaca ličke pramenke je u prosjeku iznosilo 17,2 dana, što je u skladu s već spomenutim navodima literature. Trajanje folikularne faze u ovaca iznosi 2–3 dana, a lutealne 14–15 dana (Gordon, 1997.). Našim istraživanjem određeno je prosječno trajanje lutealne faze u ličke pramenke od 13,8 dana, a folikularne 3,4 dana, što odgovara podacima iz literature.

Maksimalna koncentracija preovulatornog LH varira od ovce do ovce, ali trajanje LH vala iznosi 8–12 sati (Cunningham, 1975., Legan i Karsh, 1979.). U našem istraživanju prosječno trajanje LH vala iznosilo je 12,4 sati s rasponom od 8 do 16 sati. Prema uputama proizvođača imunoenzimnog testa (ELISA) LH DETECT® (INRA; Francuska) za ovce, propisano je uzorkovanje krvi svaka četiri sata kako bi se sa sigurnošću mogao zabilježiti porast LH, odnosno "LH peak". Prema našem istraživanju zaključili smo da bi preovulatorni LH val zabilježili i uzorkovanjem krvi svakih osam sati, što bi smanjilo broj uzorkovanja krvi po ovcu, a time i troškove samog uzorkovanja i detekcije LH.

Zaključci

Na osnovu dobivenih podataka o koncentraciji progesterona zaključili smo da sezona spolne aktivnosti započinje

krajem srpnja. Većina ovaca u pokusu ulazi u sezonu krajem kolovoza i tijekom rujna, a sa spolnom aktivnošću nastavlja sve do prosinca. Vrijednosti koncentracije testosterona i orhidometrije u ovna bilježe značajniji porast testosterona tijekom kolovoza i rujna te nagli pad u prosincu, dok opseg skrotuma raste već od lipnja, ali postupno opada krajem zime i u proljeće. Kao posljedica pojačane hranidbe potpunom krmnom smjesom za ovce, tri mjeseca prije ulaska u sezonu 2012. godine te posljedično poboljšanja kondicije, početak sezone nastupio je u prosjeku 19 dana ranije u odnosu na 2011. godinu.

Trajanje spolnog ciklusa u ovaca ličke pramenke je u prosjeku iznosilo 17,2 dana. Određeno je prosječno trajanje lutealne faze u ličke pramenke od 13,8 dana i folikularne faze 3,4 dana. Prosječno trajanje LH vala iznosilo je 12,4 sati s rasponom od 8 do 16 sati te je za njegovu detekciju dostatno uzorkovanje krvi svakih osam sati.

Sažetak

Cilj našeg istraživanja bio je određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone ovaca pasmine lička pramenka. U tu svrhu uzorkovana je krv ovcama i ovnu te rađena orhidometrija ovna u periodu od 10. 6. 2011. do 05. 09. 2012. godine radi utvrđivanja sezonosti. U periodu od 10.–31. listopada 2012. godine uzorkovana je krv ovaca s ciljem određivanja duljine trajanja spolnoga ciklusa s time da je estrus ovaca prethodno sinkroniziran dvokratnom i.m. aplikacijom (u razmaku od 12 dana) sintetičkog analoga prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Estrumate®, cloprostenol) u dozi od 75 µg. Koncentracija progesterona i testosterona u serumu je analizirana pomoću automatskog sistema Immulite® One. Analiza LH rađena je pomoću Imunoenzimnog testa (ELISA). Statistička analiza podataka načinjena je pomoću programskog paketa SAS (Statistical Analysis Software) 9.1.3. Na osnovu dobivenih podataka o koncentraciji progesterona zaključili smo da sezona spolne aktivnosti započinje krajem srpnja. Većina

ovaca u pokusu ulazi u sezonu krajem kolovoza i tijekom rujna, a nastavlja sa spolnom aktivnošću sve do prosinca. Vrijednosti koncentracije testosterona i orhidometrije u ovna bilježe značajniji porast testosterona tijekom kolovoza i rujna te nagli pad u prosincu, dok opseg skrotuma raste već od lipnja, ali postepeno opada krajem zime i u proljeće. Kao posljedica pojačane hranidbe potpunom krmnom smjesom za ovce, tri mjeseca prije ulaska u sezonu 2012. godine, i poboljšanja kondicije, početak sezone nastupio u prosjeku 19 dana ranije u odnosu na 2011. godinu. Trajanje spolnog ciklusa u ovaca ličke pramenke je u prosjeku iznosilo 17,2 dana. Određeno je prosječno trajanje lutealne faze u ličke pramenke od 13,8 dana, a folikularne 3,4 dana. Prosječno trajanje LH vala iznosilo je 12,4 sati s rasponom od 8 do 16 sati te je za njegovu detekciju dostatno uzorkovanje krvi svakih osam sati.

Ključne riječi: lička pramenka, sezonost, spolni ciklus, LH, progesteron

Literatura

1. Anon. (2003): SAS Institute Inc., SAS Users Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
2. ASDELL, S. A. (1964): Patterns of Mammalian Reproduction, Cornell University Press, Ithaca, New York. Compendium of Species- specific data, pp. 371-374.
3. BARAČ, Z., B. MIOČ, V. PAVIĆ i V. SUŠIĆ (2007): Uzgoj izvornih pasmina ovaca i koza u Republici Hrvatskoj. Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine – pod pokroviteljstvom Vlade Republike Hrvatske, Šibenik, 13.-16. studenog 2007., Knjiga sažetaka/ Radna verzija, str. 12-13.
4. CERGOJ, M. i M. SAMARDŽIJA (2006): U: Veterinarska andrologija. Umjetno osjemenjivanje ovaca. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 122-126.
5. CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., DELGADILLO, J. A., GUÉRIN, Y., RAVAUULT, J. P., THIMONIER, J. and J. PELLETIER (1992): Control of sheep and goats reproduction: use of light and melatonin. Anim. Reprod. Sci. 30, 157-184.
6. CUMMING, I. A., BROWN, J. M., BLOCKEY, M. A., WINFIELD, C. G., BAXTER, R. and J. R. GOODING (1971): Consistency of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. J. Reprod. Fertil. 24, 134-135.
7. CUNNINGHAM, N. F., A. M. SYMONS and N. SABA (1975): Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrus cycle. J. Reprod. Fertil. 45, 177-180.
8. GOMEZ-BRUNET, A. and A. LOPEZ-SEBASTIAN (1991): Effect of season on plasma concentration of prolactin and cortisol in pregnant, non pregnant and lactating ewes, Anim. Reprod. Sci. 26, 251-268.
9. GORDON, I. (1997): Controlled reproduction in Sheep and Goats. The Ewe's Oestrus Cycle and Seasonal Breeding Activity, CAB International, University Press, Cambridge, UK, pp. 53-85.
10. HAFEZ, E. S. E. (1952): Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. J. Agric. Sci. Camb. 42, 189-265.
11. HEAPE, W. (1990): The sexual seasons of mammals. Quart. J. Micro. Sci. 44, 1-44.
12. KEISLER, D. H. and B. C. BUCKRELL (1997): Current therapy in large animal theriogenology 1st. edition. Chapter 88. Breeding strategies. Edited by Robert S. Youngquist. Pp. 649-661.
13. LEGAN, S. J. and F. J. KARSH (1979): Neuroendocrine regulation of the oestrus cycle and seasonal breeding of the ewe. Biol. Reprod. 20, 74-85.
14. LINCOLN, G. A. and W. DAVIDSON (1977): The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. J. Reprod. Fertil. 49, 267-276.
15. MATHEWS, L. R., A. E. ULJEE, K. J. BREMNER, A. M. PAINTING, L. R. CATE and J. F. SMITH (1991): Development of a self-drafting system for oestrus ewes. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production 51, pp. 315-318.
16. MILOVANOVIĆ, A., T. BARNA, T. LAZAREVIĆ, M. SAVIĆ, D. MILANOVIĆ i N. MAKSIMOVIĆ (2012): Progesteronski profil sjeničke ovce i vansezonski pripust, Reprodukcijska domaćih životinja I bolesti novorođenčadi, 04.-07.10.2012., Divčibare, Srbija, str. 137-141.
17. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE, RIBARSTVA I RURALNOG RAZVOJA (2010): Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj, siječanj 2010, 4. Popis izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja na području republike Hrvatske, str. 15-19.
18. MULC, D., D. JURKOVIĆ, G. DUVNJAK, T. SINKOVIĆ, J. DAUD, N. LJEŠIĆ, M. ŠPEHAR i M. DRAŽIĆ (2012): Godišnje izvješće 2011, Ovcarstvo, kozarstvo i male životinje, Republika Hrvatska, Hrvatska Poljoprivredna Agencija, izvješće za 2011. godinu, Križevci 2012, str. 7-32.
19. ORTAVANT, R., J. PELLETIER, J. P. RAVAUULT, J. THIMONIER, P. VOLLAND-NAIL (1985): Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. Oxford Rev. Reprod. Biol. 7, 306-345.
20. PELLETIER, J. and G. ALMEIDA (1987): Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. J. Reprod. Fertil. Suppl. 34, 206-345.
21. RHIND, S. M., S. McMILLEN, W. A. C. McKELVEY, F. F. RODRIGUEZHERREJON and A. S. McNEILLY (1989): Effect of the body condition of ewes on the secretion of LH and FSH and the pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone. J. Endocrinol. 120, 497-502.

22. ROBIĆ, Z., B. LIKER and V. RUPIC (1992): Duration of anoestrus in Pramenka and Romanov ewes in Yugoslavia. *J. Anim. Sci.* 70, 13-17.
23. ROSA, H. J. D. and M. J. BRYANT (2003): Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rumin. Res.* 48, 155-171.
24. SAMARDŽIJA, M., D. ĐURIČIĆ, T. DOBRANIĆ, M. HERAK i S. VINCE (2010): U: Rasplodivanje ovaca i koza. Fiziologija rasplodivanja. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 45-117.
25. SCHANBACHER, B. D. and D. D. LUNSTRA (1976): Seasonal changes in sexual activity and serum levels of LH and testosterone in Finnish Landrace and Suffolk rams. *J. Anim. Sci.* 43, 644-650.
26. UREMOVIĆ, Z., M. UREMOVIĆ, V. PAVIĆ, B. MIOČ, S. MUŽIĆ i Z. JANJEČIĆ (2002): U: Stočarstvo. Ovčarstvo. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 359-401.
27. VINOLES, C., M. FORSBERG, G. B. MARTIN, C. CAJARVILLE, J. REPETTO and A. MEIKLE (2005): Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129, 299-309.

Determination of Physiological Particularities of the Sexual Cycle and Breeding Season of Pramenka Breed

Silvijo VINCE, DVM, PhD, Assistant Professor, Juraj GRIZELJ, DVM, PhD, Associate Professor, Branimira ŠPOLJARIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Hrvoje VALPOTIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Maja PLATIŠA, DVM, Guernsey Islands, United Kingdom; Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Veterinary Practice Đurđevac, Croatia; Foteini SAMARTZI, DVM, PhD, Full Professor, Hellenic Agriculture Organization-Demeter, Thessaloniki, Greece; Velimir BERTA, DVM, Veterinary Practice Varaždin, Croatia; Nikola ROŠIĆ, DVM, Veterinary Practice Jastrebarsko, Croatia; Boris STOJANOV, DVM, Veterinary Center Strumica, Macedonia

The objective of this study was to determine the physiological characteristics and particularities of the sexual cycle and breeding season of the Pramenka sheep breed - Lika strain. For this purpose, during the period from 10 June 2011 to 05 September 2012, blood was sampled from sheep and one ram and orchidometry performed on the ram to determine reproductive seasonality. In the period from 10-31 October 2012, sheep blood was sampled to determine the duration of sexual cycle, in which oestrus was previously synchronized with i.m. application (in a 12-day interval) of a synthetic analogue of prostaglandin $F_{2\alpha}$ (Estrumate®, cloprostenol) in a dose of 75 mg. Concentrations of progesterone and testosterone were analyzed using the automatic system Immulite® One. Analysis of the LH was performed using ELISA (ELISA). Statistical analysis was conducting using the software package SAS (Statistical Analysis Software) 9.1.3. The results of progesterone concentrations indicated that the sexual activity season begins

in late July. Most sheep in the study entered the season in late August and in September, and continued with sexual activity until December. Concentrations of testosterone and ram orchidometry recorded a significant increase during August and September and a sharp decline in December, while the girth of the scrotum increased beginning in June, and gradually declined in late winter and spring. As a consequence of increased feeding with complete feed three months before the start of the season in 2012, the physical condition of sheep was improved and the season started on average 19 days earlier than in 2011. The average duration of oestrus in sheep was 17.2 days. The average length of the luteal phase in the Pramenka breed - Lika strain was 13.8 days, and the follicular phase 3.4 days. The average duration of the LH wave was 12.4 hours, with a range of 8 to 16 hours, and therefore, adequate blood sampling every eight hours is sufficient for its detection.

Key words: Pramenka breed - Lika strain, Seasonality, Sexual cycle, LH, Progesterone

Rast *Yersinia enterocolitica* O:3 u mljevenome svinjskom mesu

Tea Bijelić, Vesna Dobranić, Snježana Kazazić, Ivana Filipović,
Z. Dumbović i N. Zdolec*



Uvod

Mikrobiološka ispravnost zauzima značajan dio u prosudbi zdravstvene ispravnosti hrane životinjskog podrijetla, posebice u proizvodnji mesa i proizvoda od svježeg mesa. Naime, postupci klaoničke obrade, hlađenja, rasjećanja i daljnje obrade uvelike će uvjetovati mikrobiološku sliku svježeg mesa i proizvoda. Provođenje dobre proizvođačke prakse i dobre higijenske prakse preduvjeti su postizanja propisanih kriterija higijene procesa u proizvodnji mesa. Meso predstavlja idealnu podlogu za rast mikroorganizama koji mogu sudjelovati u procesima kvarenja, a izazvati oboljenja ljudi (Milin, 2015.). Usitnjeno meso posebno je osjetljivo u smislu higijene u proizvodnji i sigurnosti proizvoda. Pri usitnjavanju mesa, mikroflora koja se nalazi na površini podjednako se raspoređuje u mljevenom mesu, što povećava dodirnu površinu mikroorganizama i mesa te uz visok aktivitet vode dovodi do brže bakterijske razgradnje i kvarenja nego li u porcioniranom mesu (Milin i sur., 2016.). U primarnoj mikroflori mesa prevladavaju gram-negativne bakterije

što uključuje i vrlo česte crijevne bakterije kao što su *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. te neke vrste roda *Pseudomonas*, a od gram-pozitivnih najčešće nalazimo laktobacile i enterokoke (Jay i sur., 2005., cit. Milin, 2015.). Svinjsko meso može biti onečišćeno i patogenom bakterijom *Yersinia enterocolitica* koja je prirodno prisutna primarno u/na tonzilama zdravih svinja pa tijekom klaoničke obrade bude prenesena na meso i trupove (Zdolec i sur., 2015.). *Yersinia enterocolitica* je bila zanemaren uzročnik zoonoza i bolesti prenosivih hranom, no danas je prepoznata u javnom zdravstvu. Prema izvješću Europske agencije za sigurnosti hrane (EFSA, 2015.) broj prijavljenih hospitaliziranih slučajeva ljudi s dijagnosticiranom jersiniozom nalazi se na trećem mjestu odmah iza kampilobakterioze i salmoneloze. Izvor zaraze za ljude je kontaminirana hrana i to najčešće meso, mliječni proizvodi i kontaminirana voda. Izvješća o epidemijama jersinioze bila su najčešće povezana s konzamacijom svinjskog mesa. Glavni rezervoar patogenih serovarova O:3 i O:9 je svinja. *Yersinia*

Tea BIJEIĆ, dr. med. vet., Hrvatska; dr. sc. Vesna DOBRANIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Ivana FILIPOVIĆ, dr. med. vet., postdoktorandica, dr. sc. Nevijo ZDOLEC*, dr. med. vet., docent, (dopisni autor, e-mail: nzdolec@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Snježana KAZAZIĆ, dipl. ing., znanstvena suradnica, Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska; Zvonimir DUMBOVIĆ, dr. med. vet., student doktorskog studija „Veterinarske znanosti“, Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb, Hrvatska

enterocolitica je specifična i po tome što je kao i *Listeria monocytogenes* sposobna se umnožavati na temperaturama hladnjaka, koje inače inhibiraju rast većine patogena koje prouzroče trovanja hranom.

Kako bi se spriječila i predvidjela mogućnost sekundarne kontaminacije, u ovom slučaju svinjskog mesa i usprkos činjenici da bakterija preživljava temperature hladnjaka potrebno je poznavati dinamiku rasta bakterije na različitim temperaturama. Stoga je cilj ovog rada ustanoviti potencijal rasta *Y. enterocolitica* O:3 u usitnjenom svinjskom mesu tijekom pohrane na +4 °C i +10 °C. Svrha istraživanja je simuliranje naknadne (sekundarne) kontaminacije mesa te usporedba dinamike rasta bakterije s obzirom na njenu psihrotrofnost. Dobiveni rezultati mogu doprinijeti predviđanju rasta *Y. enterocolitica* u mljevenom svinjskom mesu pohranjenom na temperaturi hladnjaka.

Materijali i metode

Izolacija i identifikacija *Yersinia enterocolitica*

Izolat *Yersinia enterocolitica* izdvojen je iz svinjskih tonzila na liniji klanja u prijašnjem istraživanju (Zdolec i sur., 2015.) te identificiran primjenom MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik, Bremen, Njemačka). Ukratko, tonzile su uzorkovane sterilnim priborom na liniji klanja svinja u lokalnoj klaonici. Do laboratorija su transportirane u sterilnim stomaher-vrećicama u prijenosnom hladnjaku te laboratorijski obrađene u roku 24 sata. Deset grama tonzila usitnjeno je škarama i homogenizirano u 90 mL tekuće podloge Peptone Sorbitol Broth (PSB, Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD) i potom razrijeđeno 1:100 u Irgasan Ticarcillin Chlorate bujonu (ITC, Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD) te inkubirano 48 h na 25 °C. Kulture su naciepljene na cefsulodin-irgasan-novobiocin (CIN agar, AES Chemunex, Francuska) i inkubirane na 24 h na 30

°C te kromogenu podlogu CHROMagar *Yersinia enterocolitica* (CHROMagar, Pariz, Francuska). Serološka tipizacija provedena je monovalentnim serumima (Statens Serum Institut, Danska).

Uzorak za MALDI-TOF MS analizu pripremljen je prema preporukama proizvođača (Bruker Daltonik, Bremen, Njemačka). Nekoliko kolonija suspendirano je u 300 µL vode (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD) i dodano je 900 µL etanola (Gram-mol, Zagreb, Hrvatska) te pomiješano sa staničnom suspenzijom. Nakon centrifugiranja na 13 000 okretaja u minuti tijekom 2 minute, nadtalog je odbačen. Talog je pomiješan s 10 µL 70%-tne mravlje kiseline (v/v) (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD) i dodan je jednak volumen acetonitrila (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD). Smjesa je centrifugirana na 13 000 rpm tijekom 2 minute. 1 µL nadtaloga nanešen je na ploču od poliranog čelika i osušen na zraku na sobnoj temperaturi. Svaki uzorak prekriven je s 1 µL MALDI matriksa (zasićena otopina α-cijano-4-hidroksicijanaminske kiseline (HCCA, Bruker Daltonik, Njemačka) u 50% acetonitrila i 2,5% trifluoroctene kiseline) (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD) i osušen na zraku na sobnoj temperaturi.

Maseni spektri su automatski generirani pomoću microflex LT MALDI TOF masenog spektrometra (Bruker Daltonik, Bremen, Njemačka) koji je korišten u linearnom pozitivnom modu unutar raspona mase od 2 000-20 000 Da. Instrument je kalibriran pomoću Bruker bakterijskog standardnog testa. Zabilježeni maseni spektri su obrađeni MALDI Biotyper 3,0 softverskim paketom (Bruker Daltonik, Bremen, Njemačka), koristeći standardne postavke. Izlaz u MALDI Biotyperu je log vrijednost rezultata u rasponu 0-3,0 koja predstavlja vjerojatnost ispravne identifikacije izolata, izračunata uspoređivanjem pikova (Engl. peak) nepoznatog izolata s referentnim spektrom u bazi podataka.

Inokulacija mljevenog mesa i brojanje *Y. enterocolitica*

Svinjsko mljeveno meso pakirano u modificiranoj atmosferi kupljeno je u maloprodaji. Prije inokulacije provjerena je prisutnost *Y. enterocolitica* gore opisanim postupkom. Broj *Y. enterocolitica* O:3 određen je nakon 24 h inkubiranja u PSB hranilištu na 25 °C. 1 mL određenog razrjeđenja s poznatim brojem stanica centrifugiran je na 10 000 o/min 10 minuta. Nadtalog je odbačen, a stanice isprane dva puta u sterilnoj destiliranoj vodi i otopljene u fiziološkoj otopini. Potrebna količina stanica raspršena je u 10 grama mljevenog mesa u sterilnim stomahervrecicama kako bi se dobio početni broj *Y. enterocolitica* u gramu mesa od približno 3 log CFU/g. Ukupno je inokulirano 48 uzoraka od 10 grama, nakon čega su 24 uzorka pohranjeno u hladnjak na 4 °C i 24 uzorka na 10 °C. Broj *Y. enterocolitica* određivan je u 6 uzoraka 0., 1., 2. i 5. dana pohrane naciepljivanjem na CIN agar.

Statistička obrada

Broj kolonija mikroorganizama je izražen kao srednje vrijednosti rezultata 6 uzoraka prema danima uzorkovanja. Razlike među skupinama uzoraka u broju *Y. enterocolitica* u odnosu na temperaturu pohrane testirane su t-testom na razini značajnosti $P < 0,05$.

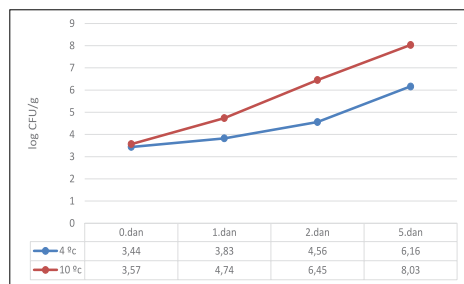
Rezultati i rasprava

Izolat koji je korišten u inokulaciji mljevenog mesa identificiran je MALDI-TOF MS metodom kao *Y. enterocolitica* (score 2,08), a tipiziran kao O:3 serotip. Izolacija i determinacija ove bakterije može predstavljati izazov i danas su aktualna nastojanja za razvojem pouzdanih metoda u odnosu na postojeće kulturne metode. U našem smo istraživanju primijenili suvremenu metodu identifikacije MALDI-TOF MS koja se sve više koristi u mikrobiologiji hrane (Pavlovic i sur., 2013., Dobranić i sur., 2016.) kao po-

uzdana i brza metoda. Primjena kromogenih podloga također može doprinijeti skraćenju vremena potrebnog za izolaciju suspektih kolonija, što je posebno primjenjivo na izolate *Y. enterocolitica* budući da su dodatni biokemijski testovi dugotrajni i kompleksni. Jedna od rijetko dostupnih kromogenih hranjivih podloga za diferencijaciju patogenih i apatogenih biotipova *Y. enterocolitica* korištena je u našem istraživanju, na kojoj kolonije patogenih biotipova rastu ljubičasto, a nepatogene su plave boje.

Inkubiranjem *Y. enterocolitica* O:3 u PSB bujonu nakon 24 h utvrđen je broj od 10^8 CFU/mL. Nakon inokulacije u mljeveno meso broj stanica po gramu mesa iznosio je 3,5 log CFU/g. Kretanje broja *Y. enterocolitica* praćeno je do 5. dana pohrane na 4 i 10 °C što je prikazano na slici 1.

Početni inokulirani broj *Y. enterocolitica* bio je podjednak u obje skupine uzoraka i nije se statistički značajno razlikovao ($P > 0,05$). Nakon prvog dana pohrane broj patogena u uzorcima mljevenog mesa na 4 °C bio je veći za 0,4 log, a na 10 °C za 1,2 log. Razlike u broju patogena bile su statistički značajne ($P < 0,05$). Drugoga dana pohrane na 4 °C broj je rastao za dodatnih 0,7 log, a na 10 °C 1,71 log ($P < 0,05$). Zadnjeg dana pohrane broj *Y. enterocolitica* bio je u mljevenom mesu na 4 °C 2,72 log veći u odnosu na početni broj, a na 10 °C konačni broj je bio veći za 4,46 log u odnosu na inicijalnu populaciju.



Slika 1. Rast *Y. enterocolitica* O:3 u mljevenom mesu tijekom pet dana pohrane na 4 i 10 °C

Općenito, inicijalni broj bakterija u mljevenom mesu vrlo je bitan za daljnji tijek mikrobioloških procesa u pakiranom mesu, uključujući u našem slučaju populaciju *Y. enterocolitica*. Održivost pakiranih mesa i mesnih proizvoda ovisna je i o temperaturi pohrane (Limbo i sur., 2010.). U istraživanju Milina i sur. (2016.) inicijalni broj aerobnih mezofilnih bakterija u mljevenom mesu pakiranom u modificiranoj atmosferi bio je visok (oko $6 \log_{10}$ cfu/g) što jasno uvjetuje i kraću održivost proizvoda, a naročito pri oscilacijama temperature pohrane (Engl. temperature abuse). U našem istraživanju simulirali smo takvo odstupanje temperature u pohrani u hladnjaku (10 °C) gdje je dinamika rasta populacije *Y. enterocolitica* značajno nadvisila onu na 4 °C ($P < 0,05$). Harrison i sur. (2000.) također preporučuju temperature od 4 °C ili niže za čuvanje hrane s obzirom na utvrđene stope rasta *Y. enterocolitica* u odnosu na vrijednosti dobivene na 8 °C.

U Hrvatskoj su dostupna rijetka istraživanja *Y. enterocolitica* u kontekstu sigurnosti hrane. Tako su Hadžiosmanović i sur. (1992.) istraživali prikladnost metodologije, stupanj onečišćenja mesa i mesnih prerađevina u različitim fazama njihove proizvodnje te površina i pribora s vrstom *Yersinia enterocolitica*. Posebna pažnja bila je posvećena mogućnosti rasta i razmnožavanja *Y. enterocolitica* u mesnim prerađevinama tijekom pohrane, dinamici rasta i razmnožavanja pri različitim temperaturama te osjetljivost prema dezinfekcijskim sredstvima i antibioticima. Od ukupno 1224 uzoraka mesa, mesnih prerađevina i brisova s površina i pribora izolirano je ukupno 6 sumnjivih sojeva *Y. enterocolitica*, no naknadnom serološkom tipizacijom i biokemijskom determinacijom utvrđeno je da je samo jedan soj pripadao spomenutoj vrsti. Istraživanja su nadalje pokazala da uobičajeni način čuvanja namirnica na temperaturi oko 4 °C povoljno djeluje na mogućnost razmnožavanja *Y. enterocolitica* u namirnicama. U nedavnim istraži-

vanjima (Dumbović i sur., 2015., Zdolec i sur., 2015.) određivana je prisutnost *Y. enterocolitica* u tonzilama divljih i domaćih svinja nakon odstrela/klanja u svrhu potencijalnog rizika od onečišćenja mesa patogenom tijekom obrade trupova. Zabilježena je prevalencija *Y. enterocolitica* u tonzilama divljih svinja od 22,9% te u domaćih svinja od 33%. Autori upozoravaju da procjenu takvih rezultata treba uzeti s oprezom budući da su tijekom istraživanja uočene nepravilnosti u obradi trupova koji rezultiraju križnom kontaminacijom (sterilizacija noževa, rasijecanje trupa s glavom, sterilizacija pile). Stoga onečišćenje možemo najprije očekivati u mesu regije vrata, glave, jeziku, ždrijelu, a manje na trupu. U svakom je slučaju mljeveno meso mogući izvor *Y. enterocolitica* što potvrđuju i istraživanja drugih autora. Uspješnost izolacije i determinacije patogena uvelike ovisi o primijenjenoj metodologiji (Fredriksson-Ahomaa i Korkeala, 2003.). Visnubhatla i sur. (2001.) su zabilježili visok stupanj kontaminacije mljevene govedine i svinjetine patogenom *Y. enterocolitica* od čak 10^6 CFU/g što predstavlja rizik za potrošače. U našem smo istraživanju simulirali i relativno visok stupanj kontaminacije (3 log CFU/g) koji je na kraju roka trajanja iznosio preko 6, odnosno 8 log CFU/g, na 4, odnosno 10 °C.

Zaključno, rezultati ukazuju na značajnije provođenja dobre higijenske prakse u klaoničkoj obradi i proizvodnji mljevenog mesa, budući da se hlađenje (mljevenog) mesa na uobičajenim temperaturama ne sprječava rast patogene *Y. enterocolitica*.

Zahvala

Istraživanje je financirano Programskim ugovorom Sveučilišta u Zagrebu 2015.-2016., „Pojavnost i karakterizacija patogene *Yersinia enterocolitica* u lancu proizvodnje mesa domaćih i divljih svinja“ (voditelj: doc. dr. sc. N. Zdolec). Prikazani rezultati dio su diplomskog rada Tee Bijelić (mentor: doc. dr. sc. Nevijo Zdolec).

Sažetak

Yersinia enterocolitica patogena je bakterija od javnozdravstvenog značenja u proizvodnji svinjskog mesa. U radu je istražen potencijal rasta u mljevenom mesu tijekom pohrane na 4 i 10 °C soja *Yersinia enterocolitica* O:3 izoliranog iz tonzila svinja. Determinirana je pomoću MALDI-TOF masene spektrometrije i inokulirana u svinjsko mljeveno meso u broju 3 log CFU/g. Nakon prvog dana pohrane broj patogena u uzorcima mljevenog mesa na 4 °C bio je veći za 0,4 log, a na 10 °C za 1,2 log ($P < 0,05$). Drugoga dana pohrane na 4 °C broj je rastao za dodatnih 0,7 log, a na 10 °C za 1,71 log ($P < 0,05$). Zadnjeg dana pohrane broj *Y. enterocolitica* bio je u mljevenom mesu na 4 °C 2,72 log veći u odnosu na početni broj, a na 10 °C konačni broj je bio veći za 4,46 log u odnosu na inicijalnu populaciju. Rezultati ukazuju na važnost provođenja dobre higijenske prakse u klaoničkoj obradi i proizvodnji mljevenog mesa, budući da se hlađenjem na navedenim temperaturama ne sprječava rast patogene *Y. enterocolitica*.

Cljučne riječi: *Yersinia enterocolitica*, MALDI-TOF MS, svinjsko mljeveno meso, hlađenje, potencijal rasta

Literatura

- DOBRANIĆ, V., S. KAZAZIĆ, I. FILIPOVIĆ, N. MIKULEC and N. ZDOLEC (2016): Composition of raw cows milk microbiota and identification of enterococci by MALDI-TOF MS – short communication. *Vet. arhiv* 86, 581-590.
- DUMBOVIĆ, Z., V. DOBRANIĆ and N. ZDOLEC (2015): Presence of *Yersinia enterocolitica* in wild boars tonsils. *Hygiene alimnetorum XXXVI*, Safe and quality products of poultry, fish, wild and farmed game (Štrbske Pleso, 13. - 15. May 2015). Proceedings of lectures and posters. Kosice (193-195).
- EFSA (2015): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA J.* 13, 12: 4329.
- FREDRIKSSON-AHOMAA, M. and H. KORKEALA (2003): Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 220-229.
- HARRISON, W. A., A. C. PETERS and L. M. FIELDING (2000): Growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* colonies under modified atmospheres at 4 °C and 8 °C using a model food system. *J. Appl. Microbiol.* 188, 38-43.
- HADŽIOSMANOVIĆ, M., M. NOSO I J. ŽIVKOVIĆ (1992): Nalaz *Yersinia enterocolitica* u mesu i mesnim prerađevinama. *Stočarstvo* 46, 141-152.
- JAY, J. M., M. J. LOESSNER and D. A. GOLDEN (2005): *Modern food microbiology*. 7th edition. Springer.
- LIMBO, S., L. TORRI, N. SINELLI, L. FRANZETTI and E. CASIRAGHI (2010): Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Sci.* 84, 129-136.
- MILIN, M. (2015): Održivost mljevenog mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi uz dodatak stabilizatora i antioksidansa. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- MILIN, M., N. ZDOLEC, K. SOKOLIĆ, V. DOBRANIĆ, V. PAŽIN, J. GRBAVAC I K. ZDOLEC (2016): Utjecaj antioksidansa i stabilizatora na mikrofloru mljevenog mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi. *Hrv. vet. vjesn.* 26, 32-38.
- PAVLOVIĆ, M., I. HUBER, R. KONRAD and U. BUSCH (2013): Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria. *Open Microbiol. J.* 7, 135-141.
- VISHNUBHATLA, A., R. D. OBERST, D. Y. C. FUNG, W. WONG LUMSOM, M. P. HAYS and T. G. NAGARAJA (2001): Evaluation of a 5'-nuclease (TaqMan) assay for the detection of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* in raw meat and tofu samples. *J. Food Prot.* 64, 355-360.
- ZDOLEC, N., I. FILIPOVIĆ and V. DOBRANIĆ (2015): Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in/on tonsils and mandibular lymph nodes of slaughtered pigs. *Folia Microbiol.* 60, 131-135.

Growth of *Yersinia enterocolitica* O:3 in Minced Pork Meat

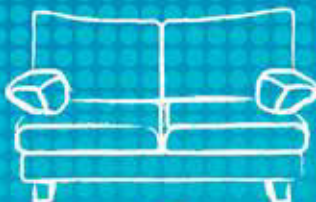
Tea BIJEIĆ, DVM, Croatia; Vesna DOBRANIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Ivana FILIPOVIĆ, DVM, PhD, Postdoctoral Student, Nevijo ZDOLEC, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Snježana KAZAZIĆ, BSc, Scientific Associate, Institute Ruđer Bošković, Zagreb, Croatia; Zvonimir DUMBOVIĆ, DVM, Postdoctoral Student, Ministry of Agriculture, Zagreb, Croatia

Yersinia enterocolitica is a pathogenic bacteria of public health relevance in pork meat production. This study evaluated the growth potential of *Y. enterocolitica* O:3 isolated from pig's tonsils in minced meat stored aerobically at 4 °C and 10 °C. *Y. enterocolitica* was determined using MALDI-TOF mass spectrometry and inoculated to pork at a level of 3 log CFU/g. After the first day of storage, the pathogen count in minced meat at 4 °C and 10 °C was 0.4 log and 1.2 log higher, respectively ($P < 0.05$). On the second day of storage, the increase of the population was 0.7 and 1.71 log ($P < 0.05$). At

the end of storage, the *Yersinia* count in samples stored at 4 °C was 2.72 log higher than the initial population, while in samples stored at 10 °C it was 4.46 log higher. These results indicate the importance of implementing good hygiene practices in slaughter processing and production of minced pork, since cooling at the usual temperatures does not prevent the growth of the pathogenic *Y. enterocolitica*.

Key words: *Yersinia enterocolitica*, MALDI-TOF MS, Pork minced meat, Cooling, Growth potential

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 (5,0 ml) sadržava 50 mg fipronila i 60 mg S-metoprena. **Indikacije** Liječenje buhavosti (Ictenocephalidae spp.) u pasa, mačaka i tvorova. Lijek sprječava razvoj jajašaca (ovicidno djelovanje), ličinki i kukuljica (larvicidno djelovanje). Liječenje krpeljivosti (Ixodes ricinus, Dermacentor variabilis, Dermacentor reticulatus, Rhipicephalus sanguineus) u pasa i mačaka. Eliminacija krpelja (Ixodes ricinus) sa tvorova. Liječenje uljivosti u pasa (Trichostrongylus axei). Liječenje uljivosti u mačaka (Felicola subrostratus). Lijek se može koristiti u sklopu liječenja alergijskog dermatitisa uzrokovanog buhama prethodno dijagnostičnog od veterinara. **Ciljne životinjske vrste** Psi, mačke, tvorovi. **Kontraindikacije** Preparat ne smijete uporabiti na mladunčadi mlađoj od 8 tjedna (ili lakih od 1 kg, jer o 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, vučica) i životinjama tijekom operacija. Ne koristite na kunčima jer može doći do nuspojava čak i sa smrtnim ishodom. Ne preporuča se uporaba proizvoda na nećilnim životinjskim vrstama zbog nedostatka ispitivanja.

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

KRKA-FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/II, 10000 Zagreb
Telefon (01) 63 12 100, Telefaks (01) 61 76 739
E-mail: info@krka-bio, www.krka-farma.hr

www.krka-farma.hr

 **KRKA**

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

Geese Raising on Fish Ponds

Z. Stojević, Lana Vranković*, Z. Petrinec, Jasna Aladrović,
B. Župan and M. Božić



Introduction

Poultry production is mostly limited to chicken and turkeys where the technological process is profitable due to the short duration cycle, low-cost of day old chicks, small food conversion and wide availability of meat for consumption at a lower cost. In contrast, goose meat achieves a higher price as goose production is more demanding. Intensive fattening of geese on deep litter is related to a number of negative side effects. A large amount of bedding material is produced, and manure removal and disposal is an additional, unnecessary expense. Disposal of bedding material also pollutes the environment. Manure removal requires disinfection of the breeding area which together with the disposal of bedding, represents a burden on the ecosystem. In this regard, integrated farming alongside aquaculture is environmentally acceptable (Chan, 1993). There is a significant financial loss on the disintegration of feed. Namely, geese take feed in a way that creates dispersal that ends up in bedding material and is irreversibly lost. Moreover, geese droppings are perfect base for zooplankton and phytoplankton development, which serves as fish feed (Colman and Edwards, 1987). This is based on the specific physiology of water birds (Bilo, 1983). Le Hong (1992) used integrated breeding of duck and fish, where ducks were fed in a confined area where feed dispersal did not fall into the pond. Cruz and Sheha-

deh (1980), Delmendo (1980), Esteky et al. (1995) and Soliman et al. (2000) proposed a similar method of integrated husbandry. Following a successful study on duck raising at fish ponds (Stojević et al., 2003), we wanted to explore the symbiotic relationship of geese and fish.

Materials and Methods

This study was carried out on the indigenous goose breed "Pakračka goose" (Croatia) and at an annual plantation of one-year old carp; initial weight about 100 grams.

Technology Description

One-day old goslings were received in a room heated to 30 °C. Reception of goslings was performed in enclosures of 1.5 m² ("circles") with cardboard (Fig. 1). Each circle contained 65 goslings. The cardboard background was changed daily. After three days, the barrier between circles was removed and goslings were released into a space room with bedding material of wood shavings. Upon receipt, goslings were offered drinking water with 0.5% glucose and 1 g/L vitamin C. In the first 8 hours after receipt, goslings were denied feed in order to completely resorb yolk sac. After this period, goslings were offered feed (pellets, starter with 22% protein) and drinking water (addition of 2 g/L Muvisel®; vitamin formulation - PLIVA Zagreb). The supplement Muvisel® was administered for three days, and after

Zvonko STOJEVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Lana VRANKOVIĆ*, DVM, PhD, Senior Assistant, (corresponding author, e-mail: lana.vrankovic@vef.hr), Jasna ALADROVIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Zdravko PETRINEC, Retired Professor, DVM, PhD, Croatia; Boris ŽUPAN, DVM, MSc, Advisory Service, Osijek, Croatia; Milan BOŽIĆ, DVM, MSc, Fish Farming, Poljana, Croatia

that, goslings were only given clean water. Room temperature was reduced daily by 0.5 °C. At the end of third week, warm breeding was finished. During the next two weeks, the goslings were discharged to an outdoor enclosure during pleasant weather conditions (Fig. 2). Afterwards, animals were given the mixture for growing chicks. At the beginning of a sixth week, they were released to the fish pond and fed the final forage for chicks. The mixture was gradually replaced by ground corn with the abundant addition of grass mass. Feed containers for goslings were placed on pontoons (wooden posts driven into the bottom of the pond). The feed container is characterized with dry access comprised of boards that allows geese to come out of the water to feed. The feed also has an improvised wooden bridge that allows employees easy access for feed transport (Fig. 3). Feed container size, primarily the dry access surface, was determined by the number of geese. Since geese do not all feed at the same time, in this study, the length of dry access from both sides of feed containers was 1 m for 50 geese, which proved sufficient. The experimental area consisted of a fish pond measuring 80 x 110 m, 2 m depth and terrestrial, dry confined area measuring 20 x 80 m. In the dry part of the enclosure, there was an improvised canopy where the geese could seek shelter from inclement weather. Prior to the receipt of goslings in enclosure, the fish pond was planted with one-year old common carp (*Cyprinus carpio*) weighing about 100 grams, with a planting density of 10,000 individuals; white and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) whose numbers were based

on weight in relation to the carp hatchlings and was 20% of the carp weight. The water level in the fish pond was constant and was kept by constant flow of fresh water through the flood barrier. On a pond prepared in the described manner, 394 geese were discharged (400 geese entered the enclosure, 6 perished during the warm breeding period). According to research conducted on ducks, the number of geese in similar conditions could possibly be higher. However, due to the consumption of large amounts of grass we assumed that the organic loading of fish ponds could be much higher than in the fattening of ducks on the fish ponds. The production cycle was carried out on one geese flock, from April to mid-September. During the production cycle, fish were not fed, but their growth was entirely dependent on the symbiotic relationship of geese and fish.

Results and Discussion

During the described technological process, we wanted to explore the possibilities, results and cost-effectiveness of goose fattening on fish ponds. The idea was designed after the model of duck fattening on fish ponds (Stojević et al., 2003). Although the breeding process appears similar, goose fattening is completely different from that in ducks. Duck fattening lasts 7 weeks and alternates cyclically on the pond every 4 weeks (after the warm breeding period). Goose fattening is performed in one cycle as described in the technological process here. Furthermore, geese eat grass mixtures, unlike ducks, which markedly increases the organic loading of fish ponds from drop-



Fig. 1. Reception of goslings



Fig. 2. Discharging of goslings in an enclosure



Fig. 3. Feed container

pings. Previous studies have suggested that a more cautious approach should be taken with regard to geese number and fish plantation. The results in this study undoubtedly show that goose fattening on fish ponds is an extremely economically and environmentally justified technology. The final weight of geese at the end of the fattening period amounted to an average of 5.37 kg, with a mortality of 1.5%. This mortality referred to the warm breeding period, which is not attributed to production technology but rather due to weak individuals and errors in transport of one-day old goslings. The food conversion in this experiment was extremely high (5.5 kg of weight gain) and considered the time spent on the fishing ponds. This high food conversion is a consequence of not using protective nets over the rearing area. The feed containers on the fish pond were also abundantly used by wild birds, who cohabited the area with the geese and fed on the goose feed. Due to the time spent on the water, the geese had extremely dense and clean feathers. Goose down and feathers have significant applications in the textile industry, which should be considered as an economically extremely important product. Four weeks after geese were excluded and sent to slaughter, experimental fishing of carp was carried out. Results of weighing the two-year old juvenile fish showed an average weight of 250 grams, with no extra feed. In conclusion, this study shows that there is justification of integrated production in aquaculture for geese and fish. The weight gain of both geese and fish was satisfactory. Goose mor-



Fig. 4. Destroyed mound on fish pond (marked in a red circle)

tality on fish ponds was not recorded, but only in the initial warm breeding phase (1.5%), which can be considered economically negligible. There were several disadvantages in the technological process, which further justifies this studies. In fact, it would be mandatory to use protective nets over the fish ponds and confined area in order to prevent access of wild birds to fish, and also to reduce the high feed consumption (5.5 unjustified conversion). Furthermore, it was noticed that geese incurred significant damages to the pond banks. The geese's natural way of eating and anatomically adapted beak makes them to willingly root up the humid ground in searching of worms. This natural instinct should be suppressed by a network setup on the pond banks. This is corroborated by the fact that the geese in this study destroyed ("ate") a mound of a width of 1.8 meters during one production cycle (Fig. 4). In addition, it would be necessary to investigate a larger number of geese on fish pond with denser carp and silver carp plantation, which would prevent excessive development of algae and micro-organisms in general.

Summary

We studied the mutual benefit of geese and fish raising in a common habitat, a fish pond. Birds living in or very near water in aquatic or wetland habitats, live in a symbiotic relationship with the fish, whereby a cycle is closed when the bird droppings enhance the development of zooplankton and phytoplankton, which provides the basis for fish nutrition. Also, in the floor keeping of geese feed is lost in bedding material, but in this system, feed

in the pond falls into the water and serves as fish feed. The floor keeping of animals burdens the manufacturer with a large production of bedding material, resulting in higher costs of the technological process for manure removal and disinfection. In addition to cost, bedding material and disinfection pollute the environment; such pollution is completely negligible in the technological process in this study. This paper describes the technology of raising geese on fish ponds. The results showed that gosling mortality was negligible, only 1.5% in the initial warm breeding phase. The final weight of geese was on average 5.37 kg of body mass. Upon reception, the one-year old carp weighed 100 g and during the production cycle, their mass increased to 250 g without additional feeding.

Key words: *Goose, Fish, Fish ponds*

Acknowledgments

This study was financed by the Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management of the Republic of Croatia in the context of the VIP project: IV - 20 - 10/3 "Integrated farming in aquaculture".

References

1. BILO, D. (1983): Bewegung-Lauten Schwimmen, Fliegen, In: MEHNER, A, W. HARTFIELD: Handbuch der Geflügelphysiologie Teil 1,1 Auflage. VEB Gustav Fisher Verlag, Jena.
2. CHAN, G. L. (1993): Aquaculture, ecological engineering: lessons from China. *Ambio* 22, 491-494.
3. COLMAN, J. and P. EDWARDS (1987): Feeding Pathways and Environmental Constraints in waste-Fed Aquaculture: Balance and Optimization. Detritus and microbial ecology in aquaculture, ICLARM Conference Proceedings 14, International Center for Living Aquatic Resources Management Manila, Philippines, (240-281).
4. CRUZ, E. M. and Z. H. SHEHADEH (1980): Preliminary results of integrated pig and duck-fish production tests. Integrated agriculture-aquaculture farming systems. Proceedings of the ICLARM-SEARCA Conference on Integrated Agriculture-Aquaculture Farming System, Manila Philippines, (225-238).
5. DELMENDO, M. N. (1980): A Review of integrated Livestock-Fowl Farming System in Integrated Agriculture-Aquaculture Farming System. Proceedings of the ICLARM-SEARCA Conference on Integrated Agriculture-Aquaculture Farming System, Manila, Philippines, (59-70).
6. ESTEKY, A. A., J. OLAH, S. A. NEZAMI and F. PEKAR (1995): The effect of high stocking density of fish and duck on pond community structure. *Aquaculture* 129, 391-392.
7. Le HONG, M. (1992): Duck-fish integration in Vietnam [http://www.fao.org/DOCREP/004/AC155E15.htm].
8. SOLIMAN, A. K., A. A. A. EL-HORBEETY, M. A. R. ESSA, M. A. KOSBA and I. A. KARIONY (2000): Effects of introducing ducks into fish ponds on water quality, natural productivity and fish production together with the economic evaluation of the integrated and non-integrated systems. *Aquacul. Intern.* 8, 315-326.
9. STOJEVIĆ, Z., Z. PETRINEC, S. MILINKOVIĆ-TUR, M. ZDELAR-TUK, J. PIRŠLJIN, B. BEER-LJUBIĆ, B. ŽUPAN, Z. BOŠNJAK (2003): Ducks breeding on fish ponds. Symposium Proceeding Peradarski dani Poreč, Republic of Croatia 14-17 May, (90-92).

Tov gusaka na ribnjacima

Dr. sc. Zvonko STOJEVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Lana VRANKOVIĆ, dr. med. vet., znanstvena novakinja, dr. sc. Jasna ALADROVIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Zdravko PETRINEC, dr. med. vet., profesor u mirovini, Hrvatska; mr. sc. Boris ŽUPAN, dr. med. vet., Poljoprivredna savjetodavna služba, Osijek, Hrvatska; Milan BOŽIĆ, dr. med. vet., Ribnjačarstvo, Poljana, Hrvatska

U ovom istraživanju proučili smo međusobne koristi uzgoja gusaka i riba na zajedničkom staništu; ribnjaku. Poznato je da ptice koje očitavaju na vodi žive u simbiozi s ribama, čime je stvoren zatvoreni ciklus u kojemu ptici izmet pospješuje razvoj zoo- i fito planktona te na taj način osigurava osnovu prehrane riba. Rasap hrane u podnom držanju gusaka, koji se gubi u stelji, hranidbom na ribnjaku pada u vodu i služi kao hrana ribama. Podno držanje gusaka opterećuje uzgajivača s velikom količinom stelje što rezultira povećanim troškovima izgojavanja i dezinfekcije. Osim troškova, stelja i dezinfekcija zagađuju okoliš, što je u ovakvom načinu držanja u potpunosti

zanemarivo. U radu je opisan tehnološki uzgoj gusaka na ribnjacima. Tehnološki proces sadrži opise toplog uzgoja, pripreme guščića za ispušt, naseljavanje na ribnjak, prehrane tijekom proizvodnog ciklusa te nasada riba po hektaru proizvodnog prostora. Rezultati pokusa pokazali su kako je mortalitet guščića zanemariv, samo 1,5% u prvoj fazi toplog uzgoja. Završne težine gusaka u prosjeku su bile 5,37 kg. Šaranska mlađ zaprimljena u težini od 100 grama narasla je tijekom proizvodnog ciklusa na težinu od 250 grama bez dodatne hranidbe.

Ključne riječi: *guska, riba, tov gusaka na ribnjaku*

Ponašanje laboratorijskih životinja-zamorčići

Barbara Mioš, Ž. Pavičić, S. Žužul, D. Gračner, Marija Lipar, Alenka Dovč i Gordana Gregurić Gračner*



Uvod

U znanstveno-stručnom časopisu Veterinarska stanica 46 (3), 2015. objavljen je rad Ponašanje laboratorijskih životinja-miševi i štakori, autora Gordane Gregurić Gračner, Damjana Gračnera i Željka Pavičića. Međutim, osim miševa i štakora, u Prilogu I Pravilnika o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN 55/2013) (Anonymous, 2013.), kao životinje koje se u pokusima smiju koristiti jedino ako su u tu svrhu uzgojene, navode se još i zamorac (*Cavia porcellus*), zlatni hrčak (*Mesocricetus auratus*), kineski hrčak (*Cricetulus griseus*) i mongolski skakač (*Meriones unguiculatus*). Nužno je napomenuti da je pravilni hrvatski naziv za vrstu *Cavia porcellus* zamorčić, a ne zamorac kako je navedeno u Pravilniku. Zamorac je, u biti, majmun iz porodice uskonosnih majmuna (*Cercopithecidae*), dugoga repa (Đuričić i Samardžija, 2014.).

Dobro poznavanje obrazaca ponašanja laboratorijskih glodavaca omogućuje prepoznavanje neuobičajenog ponašanja i može se, uz procjenu općeg izgleda životinje, promjene u iznosu tjelesne mase i vrijednosti fizioloških pokazatelja koristiti kao jedan od pokazatelja prilikom procjene njihove dobrobiti.

Osobitosti ponašanja zamorčića koji se koriste kao modeli u znanstvenim

istraživanjima i kao modeli u nastavi, bit će svrstane u devet osnovnih oblika: reaktivnost, odmor i san, kretanje, održavanje higijene tijela, ponašanje pri hranjenju, teritorijalno, istraživačko te društveno i reproduktivno ponašanje. Obrasci ponašanja u devet se nabrojanih kategorija često isprepliću pa ih je stoga ponekad gotovo nemoguće razgraničiti.

Reaktivnost

Zamorčićima se relativno lako manipulira (Morton, 2007.). Međutim, kada se iznenadi "ukopa se" na mjestu ili može krenuti u stampedo. To može otežati njihovo hvatanje i dovesti do gaženja mladunaca (Wolfensohn i Lloyd, 2013.). Najmanji šušanj ili neka kretnja u okolišu može ih navesti u paničan bijeg (Lazarz, 2008.). U trenutku kada jedan zamorčić počne bježati slijede ga i ostali, a pretpostavlja se da pritom životinje ispuštaju zvukove upozorenja ultrazvučnih frekvencija (Sachser i sur., 2007.). Cijela skupina pojuri, čak i ako pojedine životinje jedna drugu ne vide i nije im poznat razlog bježanja. To je zapravo obrana od napada, zbunjivanjem ptica grabljivica (Sachser i sur., 2007.). Osiguravanje skrovišta s rupama unutar

Barbara MIOŠ, studentica, dr. sc. Željko PAVIČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Slavko ŽUŽUL, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Damjan GRAČNER, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Marija LIPAR, viša stručna suradnica, znanstvena savjetnica, dr. sc. Gordana GREGURIĆ GRAČNER*, dr. med. vet., docentica (dopisni autor, e-mail: ggracner@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Alenka DOVČ, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet Univerziteta u Ljubljani, Slovenija

nastambi te učestalo, nježno baratanje zamorčićima može spriječiti pojavu takvog ponašanja (Wolfensohn i Lloyd, 2013.).

Zamorčići „predu“ u svrhu izgladivanja nesporeda i sukoba, a takvim glasanjem pokušavaju djelovati i na ljude, ako im rade nešto što im ne odgovara. Takvo glasanje može se usporediti s predenjem mačke, no samo po sličnosti zvuka. Naime, zamorčići time, za razliku od mačaka, izriču nelagodu. U divljini im glasanje nalikuje cvrkutu ptica i tako se opuštaju od stresa. Domesticirani zamorčići jako rijetko „cvrkuću“. Kada domesticirani zamorčić cvrkuće to najčešće upućuje da je pod jakim stresom. Pritom se često i ostali zamorčići „ukoče“ i nepomično slušaju onog koji cvrkuće. Zamorčić zauzima posve određen položaj tijela koje se trzne pri svakom novom cvrkutu. Takvo glasanje može trajati 10 do 15 minuta (Rood, 1972.). Kad se pojavi vlasnik/laboratorijski radnik, cvrkutanje najčešće prestane te je potrebno ustanoviti i ukloniti izvor i uzrok stresa (Lazarz, 2008.). Kad se zamorčić ukoči i razrogači oči znači da se jako boji (Sachser i sur., 2007.). Ako se uplaše ili čuju neki nagli i nepoznati zvuk i time ostalim pripadnicima skupine signaliziraju opasnost. Često je ukočenost popraćena kratkim vibracijskim zvukom koji je pokazatelj straha i upozorava na opasnost (Lazarz, 2008.). U stanje ukočenosti mogu zapasti ako je u skupinu došao novi član, kao i pri razmiricama oko položaja u skupini. Nakon kratkog vremena sve se vraća u normalno, uobičajeno stanje. Ukoliko životinja dulje vrijeme ostane u stanju ukočenosti to bi moglo ukazivati na pojavu bolesti ili značajnijih problema unutar skupine (Sachser i sur., 2007.).

Zamorčići se nerado daju dirati, uzimati u ruke i podizati, a u slučajevima kada su pripitomljeni uzet će hranu iz ruke i doći se igrati. Zamorčići koji se drže u malim nastambama u kojima nemaju kamo pobjeći, ostaju nepomično sjediti i puštaju da ih se uzme, ali pritom grčevito

istegnu noge kao da se pokušavaju o nešto oduprijeti (Lazarz, 2008.).

Kad su uzbuđeni, u stresu ili tijekom borbe za položaj u skupini, dlaka im se na vratu nakostriješi, a kada su ljubomorni ili proždrljivi i brzo jedu. Za mužjake je uzgoj u skupini od presudne važnosti za društvenu interakciju u kasnijem razdoblju života jer o njemu ovisi način na koji reagiraju na stres. Mužjaci uzgojeni u kolonijama kasnije se lakše prilagođavaju novim društvenim okolnostima i situacijama za razliku od onih uzgojenih u parovima ili pojedinačno. U ženki to nije zamijećeno (Sachser i sur., 2007.).

Naskakivanje kod istospolnih životinja najčešće predstavlja dokazivanje hijerarhijskog položaja u skupini jer više pozicionirana životinja naskaće na niže pozicioniranu. Prilikom razmirica i u svrhu prijetnje glasno škripe zubima, posebice tijekom uspostavljanja hijerarhijskog položaja u skupini. Škripanje zubima je često povezano s geganjem prema drugom zamorčiću. Zabacivanje glave uvis predstavlja prijetnju, a jedinka koja više zabaci glavu u skupini ima viši hijerarhijski položaj. Ukoliko joj se neki zamorčić previše približi, zabacivanjem glave i pokazivanjem zubi zamorčić pokazuje da mu to približavanje smeta i da želi da ga se ostavi na miru. Životinje često samo zabacuju glave i onda se razidu, a opisane su i situacije da ponekad nakostriješene prijeteci stoje jedna prema drugoj, nakon čega se mirno razidu, a po rangi niži zamorčići još svejedno jednom trznu glavom unatrag, okrenu se i odu (Sachser i sur., 2007.).

Odmor i san

Zamorčići ne pokazuju dnevno-noćni ciklus aktivnosti. U njih prevladava ultradijalni ritam tijekom kojeg se izmjenjuju faze aktivnosti s fazama odmora koje traju 2 do 3 sata, stoga aktivnosti zamorčića ne ovise o svjetlosnom režimu dan/noć (Ritskes-Hoitinga i Strubbe, 2007., Sachser i sur., 2007.).

Poskoče čim se uplaše ili ih se omete. Ukoliko ipak zaspu, spavaju vrlo kratko i više u kombinaciji sa "spavajuće-hodajućom" aktivnošću. U laboratoriju su zamorčici često mirni i neaktivni što znači da ih je strah ili su u stresu. Ako ih se drži pod kontroliranim dnevnim i noćnim ciklusima, uz neograničenu mogućnost uzimanja hrane, zamorčici na početku i na kraju faze dnevnog svjetla pokazuju najveću aktivnost, konzumirajući pritom hranu (Clemons i Seeman, 2011.).

Kretanje

Divlji zamorčici u prirodi žive u jamama, ali ne kopaju ih sami i ne obitavaju isključivo pod zemljom. Njihove jazbine se mogu naći i u gustim grmovima i drugoj vegetaciji, gdje progrižu dovoljno prostrane tunele, a u skrovištu leže potpuno ispruženi.

U laboratorijskim im se nastambama kao sklonište mogu postaviti plastične cijevi, drvo, kartonske ili plastične kutije, a postavljanje slame, sijena ili drvene vune u kojoj životinje mogu izgraditi tunele pruža im dodatnu mogućnost skrivanja (Suckow i sur., 2012.).

Zamorčici vole skakutati. Pritom skakuću na sve četiri noge u zrak, poput divokoze. Skokove često prati divlje jurcanje, a najčešće skakuću kada su uznemireni, kada ih nešto veseli, prilikom hranjenja te kad se međusobno igraju ili kad otkriju nešto novo. Mladi zamorčici poskakuju puno češće od odraslih (Lazarz, 2008.).

Održavanje higijene tijela

Zamorčici se vrlo malo, ili gotovo uopće uzajamno ne timare osim tijekom parenja ili pri njezi mladunaca (Clemons i Seeman, 2011.). Čiste samo sebe, brzo i ovlaš (Lazarz, 2008.). Tek ponekad ženka timari drugu jedinku grickajući joj dlaku na glavi ili uskama (Clemons i Seeman, 2011.). Imaju specifičan miris kojega se uz pravilnu higijenu nastambe i opreme gotovo ne može osjetiti (Lazarz, 2008.).

Ponašanje pri hranjenju

Zubna formula zamorčica je 2 (I1/1 C0/0 P1/1 M3/3) (Keeble i Meredith, 2009.). Od rođenja im treba ponuditi veliki izbor različitih vrsta hrane kako bi se izbjeglo da životinje ubuduće prihvaćaju isključivo poznatu vrstu hrane. Vrlo su izbirljivi, stoga će odbijati hranu koja im nije poznata (Wagner i Manning, 1976.). Hrana im mora biti bogata energijom, s manjim udjelom sirovih vlakana kojih, ipak, mora biti najmanje 15%. U suprotnom zamorčici jedu vlastitu ili tuđu dlaku, što može dovesti do stvaranja trihobezoara, ali i prouzročiti proljev (Lazarz, 2008.). Poput primata i ljudi nužan im je unos dovoljne količine C vitamina hranom, jer u protivnom mogu oboljeti od skorbuta (Huerkamp, 2005.) i uginuti u roku od 14 dana (Ritskes-Hoitinga i Strubbe, 2007.).

Dnevne potrebe zamorčica, na 100 g tjelesne mase iznose 10 mL vode i 6 g hrane. Uz veću količinu svježe hrane uzimaju manju količinu vode. Iako neki zamorčici u tim slučajevima uopće ne piju, svježa voda im uvijek mora biti dostupna. Kada oglasne glasaju se skvičanjem, ispuštajući glasan, visoki, ritmičan ton (Lazarz, 2008.). Rado se igraju pojilicama, što rezultira brzim praznjenjem boca i, vrlo često, mokrom steljom. Bolje je napajati ih iz automatskih pojilica unatoč tome što u kavezima s punim podom uvijek postoji mogućnost poplave. Svaka promjena rutine u napajanju ih uznemirava te im treba vremena za postupnu prilagodbu (Wolfensohn i Lloyd, 2013.).

Zamorčice treba hraniti u točno određeno vrijeme, a barem jednom tjedno treba im davati sijeno kao hranu, ali i odličan materijal za igru (Sachser i sur., 2007.).

Probava zamorčica rezultira nastajanjem fecesa osobito bogatog vitaminima i bjelančevinama. Takav izmet može se i vizualno razlikovati od uobičajenoga jer je od njega svjetliji i mekaniji, a sadrži i važne sastojke za razvoj i zdravu prehranu zamorčica, a to su: B-vitaminski, vitamin

K, bjelančevine i bakterije neophodne za urednu probavu. Zamorčići su koprofagi, a feces uzimaju izravno iz perinealnog džepa (Lazarz, 2008.).

Zamorčićima su noge relativno kratke u odnosu na tijelo te imaju po 4 prsta na prednjim i po 3 prsta na stražnjim nogama. Zbog nepostojanja palca i konfiguracije kandži ne koriste svoje šapice za manipulaciju hranom (Lazarz, 2008.). Stoga, za razliku od štakora koji su sposobni prednjim nogama pridržavati hranu dok jedu, zamorčići cijelu peletu odmah uzimaju u usta pa promjer peleta namijenjenih zamorčićima mora biti manji od onih namijenjenih štakorima (Ritskes-Hoitinga i Strubbe, 2007.). Isto tako, radi spriječavanja prekomjernog rasta sjekutića, nužno im je osigurati drvene grančice, tvrde pelete ili mrkvu (Sachser i sur., 2007.).

Ne povraćaju ili povraćaju iznimno rijetko (Morton, 2007.). Odbijanje hrane i vode, neuredna dlaka i bezvoljnost ukazuju na vrlo ugroženu dobrobit (Sachser i sur., 2007.).

Teritorijalno ponašanje

Divlji zamorčići su društvene životinje koje žive u jazbinama, u malim skupinama od 5-10 jedinki (Nowak, 1999.). Nisu izrazito teritorijalni pa čak niti zbog reprodukcije, međutim teritorij ipak obilježavaju mirisnim iscjetkom perinealnih žlijezdi (Sachser i sur., 2007.).

Perinealne žlijezde postoje u oba spola, ali kod ženki predstavljaju samo jedan uski prorez, dok kod mužjaka ispunjavaju cijeli prostor između anusa, penisa i testisa. Sekret perinealnih žlijezdi koriste za obilježavanje teritorija te kao stimulans pri reproduktivnom ponašanju. Mužjak obilježava teritorij tako da izvrne „džep“ prema van i svoje mirise protrlja po podu. Pritom pogrbi leđa, pritisne anus o pod kojim se kliže stražnjim dijelom tijela. I ženke na isti način obilježavaju teritorij, naročito ako su spremne za parenje. Prskanje urinom im je jedan od načina obrane. Pritom

zamorčica podigne stražnji dio tijela što omogućuje daleko i visoko prskanje urinom. Zbog toga neki uporniji mužjaci mogu biti mokri i smrdjeti (Sachser i sur., 2007.).

Istraživačko ponašanje

Kad su zamorčići nesigurni ili istražuju novi teren, najčešće se kreću jedan za drugim. Hijerarhijski najviše pozicionirana životinja ide prva, no, kod domesticiranih zamorčica to više nije strogo pravilo. Jedan za drugim idu iz čiste zabave, a često, nakon nekakve razmirice, više pozicionirani zamorčić slijedi onog niže pozicioniranog (Lazarz, 2008.).

Društveno ponašanje

Populaciju koju čini manji broj jedinki (npr. tri mužjaka i tri ženke) karakterizira linearna hijerarhijska dominacija među odraslim mužjacima, ali i ženkama. Podređeni mužjaci se povlače čim se približava nadređeni čime se izbjegavaju prijetnje i borbe. Unutar skupine nema jedinki na istom hijerarhijskom položaju. Najviše pozicionirani mužjak udvara ženkama puno češće od ostalih i uglavnom je otac većine mladunčadi (Thyen i Hendrichs, 1990.).

Kada populacija naraste do iznad 10 do 15 jedinki, skupina se dijeli u podskupine koje se sastoje od jednog mužjaka i jedne do sedam ženki, a u svakoj se podskupini ustanovljuje hijerarhija. Svaka podskupina zauzme određeno područje nastojeći da se ono minimalno preklapa sa susjednim. Te su skupine stabilne tijekom vremena. Te su skupine tijekom vremena stabilne. Socijalni stres, kao i agresivnost su u tom razdoblju neznatni. Čak i nepoznate životinje mogu biti smještene zajedno, s neznatnom pojavom agresije jer se hijerarhija uspostavlja vrlo brzo. Obično do borbi dolazi između dva nepoznata mužjaka smještena u skućenim uvjetima ili kada je prisutna ženka u estrusu. U tom slučaju treba izdvojiti podređenog

mužjaka (Wolfensohn i Lloyd, 2013.). U laboratorijima, unutar mješovitih dobnih i spolnih kolonija mužjaci formiraju neku vrstu "harema" (Hennessy i Ritchey, 1987., 2003.).

Utvrđeni hijerarhijski položaj jedinki stabilan je tijekom duljeg vremena (Sachser i sur., 2007.).

Društvene životinje poput miševa, gerbila, zamorčica, ženki kunića doživljavaju stres kada ih se drži izdvojeno iz skupine te se u njih očituje „stres izolacije“ ili „sindrom izolacije“ (Ader i Friedman, 1964., Brain, 1975., Haseman i sur., 1994.).

Dakle, protivno je dobrobiti zamorčica izdvajati jedinke ili pak držati ih u skupinama sastavljenim od samih mužjaka. Treba ih držati u skupini s istovrsnim životinjama, preporučuje se držanje u parovima (mužjak/ženka), haremu (mužjak/nekoliko ženki, samo ženke, dva mužjaka, nekoliko mužjaka/nekoliko ženki), a najbolje ih je držati u u velikim skupinama mužjaka ili ženki (Sachser i sur., 2007.). U rasplodnoj skupini koju čini jedan mužjak i nekoliko odraslih ženki, zreli sinovi i kćeri će se miroljubivo uklopiti u društveni sustav i sve će životinje zajedno živjeti u miru, bez agresije i stresa (Sachser, 1998.).

Zamorčiči razvijaju stabilnu hijerarhiju temeljenu na dominaciji koja se održava isključivo na olfaktornim znacima, ponekad s „brijanjem“ i žvakanjem dlake podređenih (Wolfensohn i Lloyd, 2013.). Mladunci tako, prema mirisu urina jasno razlikuju majčin urin od urina nepoznate ženke u laktaciji (Jäckel i Trillmich, 2003.). Ženke su društveno prilagodljivije od muških prilikom preseljenja iz jedne stabilne skupine u novu koloniju, a učestalost borbe može se povećati kada se uspostavljene društvene strukture pokušaju mijenjati ili kada se pokušaju uspostaviti nove skupine. Kod združivanja zamorčica u skupinu njuškanje stražnjeg dijela tijela i gurkanje ili njuškanje ispod bradice znači pozdrav

i upoznavanje, povlačenje stražnjice po podu znači obilježavanje teritorija, glasno „pređenje“ zamorčica, bez znakova agresije, izraženo njihanje stražnjicom s jedne na drugu stranu dok prolazi pored drugog zamorčica u skupini znači pokazivanje svoje „raskoši“, trzanje i podizanje glave u vis bez znakova agresije znači pokazivanje dominacije. Najviše podignutu glavu obično ima najdominantniji zamorčić (Lazarz, 2008.). Općenito, zamorčiči ne izbjegavaju kontakt s drugim zamorčicima te ne pokazuju pretjeranu potrebu za druženjem (Sachser i sur., 2007.).

Mladi zamorčiči, odrastajući u koloniji, uče vještine potrebne za interakciju unutar društvene skupine i ponašanje kako bi se izbjegli sukobi (Lazarz, 2008.). Mogućnost parenja i dostupnost hrane primarni su podražaji za pojavu agresivnih interakcija (Sachser i sur., 2007.).

Mladunci do osmog tjedna starosti uče društveno ponašanje od odraslih zamorčica i potrebna im je zaštita skupine. Zamorčiči koji se u dobi od 3 tjedna zajedno sa svojom braćom i sestrama pojedinačno odvoje budu, na žalost, društveno neprilagodljivi te su često vrlo plašljivi i samim tim se teško uklapaju u skupine. Ženke je najbolje ostaviti s majkom do njihova desetog tjedna života. Rano zreli mužjaci moraju najčešće biti rano odvojeni od majke. Idealno bi ih bilo odvojiti u dobi od 3-4 tjedna, tj. kad postignu tjelesnu masu od 250 g. Potrebno ih je staviti s ocem ili drugim odraslim mužjakom kako bi se dalje normalno društveno razvijali (Lazarz, 2008.).

Reproduktivno ponašanje

Tek okoćeni zamorčiči izgledaju kao umanjene kopije odraslih. U cijelosti su prekriveni dlakom, otvorenih očiju i potpuno razvijenih zubi. Odmah su sposobni jesti krutu hranu i piti vodu, iako laktacija traje 2 do 3 tjedna. Prvi estrus u ženki nastupa u dobi 4 do 5 tjedana,

međutim, spolnu zrelost postižu u dobi od 2 do 3 mjeseca (tjelesna im je masa tada oko 500 g) (Sachser i sur., 2007., Đuričić i Samardžija, 2014.). Mužjaci su spolno zreli u dobi od 8 do 9 tjedana (i ranije), a rasplodno tek u dobi od 3 do 5 mjeseci (Đuričić i Samardžija, 2014.). Potpuno odrastaju u dobi od 8 do 12 mjeseci. U laboratorijskim uvjetima žive 3 do 4 godine, a mogu postići tjelesnu masu od 800 do 1000 g, dok im je tijelo dugačko do 30 cm (Sutherland i Festing, 1987.).

Uzevši u obzir rano doba spolnog sazrijevanja zamorčića i mužjaka i ženki, preporučuje se odvojiti mlade mužjake najkasnije u dobi od tri tjedna (Lazarz, 2008.).

Ženke zamorčića mogu samo nekoliko sati nakon okota ponovo ostati skotne jer je ovulacija spontana te se javlja oko 10 sati nakon koćenja, a estrus traje od 6 do 48 sati (Đuričić i Samardžija, 2014.). Zbog toga je jako važno mužjaka, prije okota, odvojiti od ženke (Lazarz, 2008.). Otvaranje rodničkog zaliska prethodi estrusu. Za vrijeme prvog ciklusa rodnički zalistak je otvoren 11 dana, no u svim sljedećim ciklusima, oko 5 dana. Estrus traje 24 do 48 sati, a ženka prihvaća mužjaka samo 9 do 11 sati (Đuričić i Samardžija, 2014.). U to je vrijeme mužjak zavodi specifičnim pokretima tijela. Ženka najčešće bježi, a mužjak trči za njom. Kad je ženka spremna za parenje, stane i podigne stražnji dio tijela (Lazarz, 2008.). Graviditet traje 68 dana (između 63 do 72 dana) ovisno o pasmini, broju mladunaca i zdravstvenom stanju ženke (Sachser i sur., 2007.). Kote 2 do 5 mladunaca (Keeble i Meredith, 2009.).

Zamorčica ne gradi gnijezdo nego čuči na mirnom mjestu u nastambi, s raširenim stražnjim nožicama i mladunce koti gotovo sjedeći. Posteljicu ženka na kraju pojede (Lazarz, 2008., Suckow i sur., 2012.). Druga skotna zamorčica ne bi nikako smjela tuđe mladunce oslobađati od posteljice jer proždiranje posteljice uzrokuje trudove što može dovesti

do pobačaja. Međutim, poželjno je da koćenju prisustvuje ženka koja se već kotila (Sachser i sur., 2007.). Već kratko nakon okota zamorčići trčkaraju oko majke (Lazarz, 2008.). Tjelesna masa tek okoćenog zamorčića može iznositi i 35 do 37% ukupne tjelesne mase majke, što je najveći odnos koji postoji među sisavcima (Sachser i sur., 2007.). Pri okotu mladunci u prosjeku imaju masu 60 do 100 g.

Zamorčići su jako društvene životinje i majke često dopuštaju tuđim mladuncima da sišu. U slučaju da ženka uquine može se pokušati podmetnuti njene mlade drugoj zamorčici, međutim, samo ako ona sama nema previše mladunaca (Lazarz, 2008.).

Krajem graviditeta mužjaci se okupljaju oko gravidne ženke te će dominantni mužjak čuvati ženku i pariti se s njome odmah nakon koćenja (Nowak, 1999.).

Zaključak

Nepoznavanje izvjesnih osobitosti u ponašanju zamorčića može znatno ugroziti njihovu dobrobit. Naime, upravo su promjene u ponašanju često prvi pokazatelj narušene dobrobiti bez obzira je li ona ugrožena neprikladnim smještajem ili postupanjem. Iako se zamorčići u istraživanjima, ali i kao modeli u nastavnim procesima koriste u zamjetno manjem broju nego miševi i štakori, dobro poznavanje ne samo bioloških osobitosti vrste, već i ponašanja, jamstvo su zaštite i osiguranja njihove dobrobiti.

Sažetak

Zamorčići su glodavci koji u znanstvene i nastavne svrhe mogu koristiti samo ako su za tu namjenu uzgojeni. Ovaj rad je nastavak članka o ponašanju laboratorijskih miševa i štakora te donosi podroban pregled osobitosti ponašanja zamorčića (*Cavia porcellus*) razvrstanih u devet poglavlja: Održavanje higijene tijela, Ponašanje pri hranjenju, Odmor i san, Kretanje, Teritorijalno ponašanje, Reaktivnost,

Istraživačko ponašanje, Reprodukativno ponašanje, Društveno ponašanje.

Ključne riječi: zamorčić, ponašanje životinje, laboratorijski zamorčić

Literatura

- ADER, R. and S. B. FRIEDMAN (1964): Social factors affecting emotionality and resistance to disease in animals. IV Differential housing, emotionality, and Walker 256 Carcinosarcoma in the rat. *Psychol. Rep.* 15, 535-541.
- Anon. (2013): Pravilnik o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe. *Narodne novine*, br. 55/2013.
- BRAIN, P. (1975): What does individual housing mean to a mouse. *Life Sci.* 16, 187-200.
- CLEMONS, D. J. and J. L. SEEMAN (2011): *The Laboratory Guinea Pig*, Second Edition. CRC Press. Boca Raton, London, New York.
- ĐURIČIĆ, D. i M. SAMARDŽIJA (2014): Zamorčici. Samardžija, M. (ur.). *Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*.
- GREGURIĆ GRAČNER, G., D. GRAČNER i Ž. PAVIČIĆ (2015): Ponašanje laboratorijskih životinja-miševi i štakori. *Vet. stn.* 46, 197-206.
- HASEMAN, J. K., J. BOURBINA and S. L. EUSTIS (1994): Effect of individual housing and other experimental design factors on tumor-incidence in B6C3F1 mice. *Fund. Appl. Toxicol.* 23, 44-52.
- HENNESSY, M. B. and R. L. RITCHEY (1987): Hormonal and behavioral attachment responses in infant guinea pigs. *Dev. Psychobiol.* 20, 613-625.
- HENNESSY, M. B. and R. L. RITCHEY (2003): Enduring maternal influences in a precocial rodent. *Dev. Psychobiol.* 42, 225-236.
- HUERKAMP, M. J. (2005): Guinea pigs. In: Kahn, C. M.: *The Merck Manual*. Ninth Edition. Merck&Co., inc. Whitehouse Station, N. J., USA.
- JÄCKEL, M. and F. TRILLMICH (2003): Olfactory individual recognition of mothers by young guinea-pigs (*Cavia porcellus*). *Ethology* 109, 197-208.
- KEEBLE, E. and A. MEREDITH (2009): *BSAVA Manual of Rodents and Ferrets*. British Small Animal Veterinary Association. Quedgely, UK.
- LAZARZ, B. (2008): Verhalten von Meerschweinchen. Dostupno na: <http://tierklinikduisburg.de/akt17.htm> [pristupljeno: 22.8.2016.]
- MORTON, D. B. (2007): *Experimental Procedures: General Principles and Recommendations*. In: Kaliste, E.: *The Welfare of Laboratory Animals*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- NOWAK, R. (1999): *Walker's Mammals of the World*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- RITSKES-HOITINGA, J. and H. STRUBBE (2007): *Nutrition and Animal Welfare*. In: Kaliste, E.: *The Welfare of Laboratory Animals*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- ROOD, J. P. (1972): Ecological and behavioural comparisons of three genera of Argentine caviens. *Anim. Behav. Monograph.* 5, 1-83.
- SACHSER, N. (1998): Of domestic and wild guinea pigs: studies in sociophysiology, domestication, and social evolution. *Naturwissenschaften* 85, 307-317.
- SACHSER, N., C. KÜNZEL and S. KAISER (2007): *The Welfare of Laboratory Guinea Pigs*. In: Kaliste, E.: *The Welfare of Laboratory Animals*. Springer, The Netherlands (181-210).
- SUCKOW, M. A., K. A. STEVENS and R. P. WILSON (2012): *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, First edition. Elsevier Academic Press.
- SUTHERLAND, S. D. and M. F. W. FESTING (1987): *The guinea-pig*. In: Poole, T. B.: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*, Sixth Edition. Churchill Livingstone, New York (393-410).
- THYEN, Y. and H. HENDRICH (1990): Differences in behaviour and social organization of female guinea pigs as a function of the presence of a male. *Ethology* 85, 25-34.
- WAGNER, J. E. and P. J. MANNING (1976): *The Biology of the Guinea Pig*. New York: Academic Press.
- WOLFENSOHN, S. and M. LLOYD (2013): *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare* Fourth Edition. West Sussex: Wiley-Blackwell. Dostupno na: <http://www.diebrain.de/re-index.html> [pristupljeno 12.1.2016.]

Behaviour of Laboratory Animals - Guinea Pigs

Barbara MIOŠ, student, Željko PAVIČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Slavko ŽUŽUL, DVM, Assistant, Damjan GRAČNER, DVM, PhD, Full Professor, Marija LIPAR, Senior Expert Associate, Scientific Advisor, Gordana GREGURIĆ GRAČNER, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Alenka DOVČ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Ljubljana, Slovenia

Guinea pigs are rodents that should only be used for scientific and educational purposes if they were bred for that purpose. This study is a continuation of the series on the behaviour of mice and rats, and delivers a detailed overview of the peculiarities of guinea pig (*Cavia porcellus*) behaviour, divided into nine chapters: Maintenance

of body hygiene, Feeding behaviour, Rest and sleep, Movement, Territorial behaviour, Reactivity, Behaviour during environmental investigation, Reproductive behaviour, Social behaviour.

Key words: Guinea pig, Animal behaviour, Laboratory guinea pig

canergy

100 mg, tableta za pse
propentofilin



- propentofilin
- aromatizirana tableta
- 6-10 mg propentofilina/kg t.m./dan
- poboljšanje perifernog i cerebralnog krvotoka
- ublažavanje stanja bezvoljnosti i letargije

C-reaktivni protein i serumski amiloid A kao biomarkeri bolesti pasa i ljudi

Nejra Hadžimusić



Uvod

Za obranu organizma od raznih etioloških činitelja, kao i za tijek i krajnji ishod poremećaja i održavanja homeostatske ravnoteže, osobito je važno prvih nekoliko sati do nekoliko dana, koliko traje rana faza opće obrambene reakcije organizma. Ovaj odgovor organizma poznat kao akutno-fazni odgovor (Engl. *Acute phase response*, APR), odnosno, odgovor akutne faze, predstavlja reakciju organizma na lokalne ili sistemske poremećaje homeostaze prouzročene infektivnim mikrobima, parazitarnom invazijom, oštećenjem tkiva, traumom ili kirurškim zahvatom i neoplastičnim rastom ili imunološkim poremećajima (Cerón i sur., 2005., Galezowski i sur., 2010., Serin i Ulutas, 2010.).

Koncentracija proteina akutne fazi kod različitih bolesti

Uloga odgovora akutne faze očituje se u prevenciji daljnjeg oštećenja organa, izolaciji i uništavanju infektivnog uzročnika, uklanjanju štetnih molekula i staničnog debrisa te aktivaciji procesa obnavljanja koji je neophodan za normalnu funkciju organa (Jain i sur., 2011.). U glavnu skupinu proteina akutne faze ubrajaju se C-reaktivni

protein (CRP) i serumski amiloid A (SAA). Povišene se koncentracije CRP-a i SAA-a javljaju u životinja prilikom velikog broja različitih patoloških stanja (Tabela 1.). Sukladno s tim, s obzirom na vrlo slabu dijagnostičku specifičnost, povišene koncentracije ovih proteina ne pružaju informacije o uzroku bolesti te se ne mogu koristiti u svrhu primarnog dijagnostičkog testa za određenu bolest (Tabela 2.). Ipak, visoko su specifični za otkrivanje stanja koja mijenjaju zdravlje životinje te pružaju dokaze o postojanju subkliničke upale ili infekcije, no, na žalost njihove koncentracije nisu indikativne za otkrivanje uzročnika bolesti.

U humanoj medicini mnogi stručnjaci smatraju koncentraciju CRP-a pouzdanim činiteljem diferencijalne dijagnostike virusne od bakterijske infekcije. Tako, na primjer, bakterijski meningitis prati signifikantno povećanje serumske koncentracije CRP-a, dok promjene koncentracije prilikom meningitisa virusne etiologije nisu zapažene (Petersen i sur., 2004.). Vrijeme trajanja povišene koncentracije CRP-a smatra se posljedicom kliničkog tijeka bolesti. Prema nekim autorima koncentracija CRP-a u serumu omogućava i diferencijalnu dijagnostiku između bakterijske i virusne pneumonije (Sasaki i sur., 2002.), dok s druge strane neki autori smatraju

Dr. sc. Nejra HADŽIMUSIĆ, dr. med. vet., docentica, (dopisni autor, e-mail: nejra.hadzimusic@vfs.unsa.ba), Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Bosna i Hercegovina

Tabela 1. Koncentracije APP-a u eksperimentalnim uvjetima i tijekom bolesnih stanja različitih vrsta životinja [Cray i sur., 2009.].

Etiologija APR	Vrsta	Znatne promjene u APP
	Pas	↑ CRP i Cp kod babezioze
		↑ CRP kod pasa eksperimentalno invadiranih s <i>Ehrlichia canis</i>
		↑ CRP kod pasa prirodno invadiranih s <i>Leishmania</i> spp.
	Mačka	↑ SAA, AGP i Hp kod zaraznog peritonitisa
	Konj	↑ SAA kod kolika
		↑ SAA kod bakterijske infekcije
	Krava	↑ Hp, SAA i Fb kod infekcija goveđim koronavirusom i adenovirusom
	Svinja	↑ CRP i SAA kod eksperimentalne infekcije s respiratornim patogenom <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
		↑ Hp tijekom infekcije koronavirusom
		↑ CRP, SAA i Hp kod virusnih infekcija i mikoplazmoze
Upala	Pas	↑ CRP i AGP nakon aplikacije terpentinskog ulja
		↑ Hp i Fb kod hiperadrenokorticisma
		↑ CRP kod akutnog pankreatitisa
		↑ CRP kod upalne bolesti crijeva
		↑ CRP, Fb, Hp i SAA prilikom eksperimentalno izazvanog oštećenja sluznice želuca
		↑ CRP kod kirurškog zahvata
		↑ CRP kod kronične bolesti srčanih zalistaka
		↑ CRP kod idiopatskog poliartritisa
		↑ CRP kod panikulitisa
	Mačka	↑ SAA kod akutnog panreatitisa
		↑ SAA, AGP i Hp nakon kirurškog zahvata ili aplikacije LPS-a ili terpentina
	Konj	↑ SAA kod upala zglobova
		↑ SAA nakon kirurškog zahvata
	Svinja	↑ SAA nakon eksperimentalno izazvanog neinfektivnog artritisa
		↑ CRP i Hp nakon aplikacije turpentina
		↑ CRP, SAA i Hp kod svinja s ugrizima repa i ušiju te kod artritisa
Neoplazije	Pas	↑ CRP kod multicentričnog limfoma
		↑ CRP i Hp kod limfatične neoplazije
		↑ CRP kod hemangiosarkoma
		↑ CRP i ↑ SAA kod mamarnih tumora
		↑ CRP, Hp i Cp kod hematoloških i neoplastičnih patoloških stanja
	Mačka	↑ SAA kod limfoma i malignog mezotelioma
		↑ AGP kod limfoma
		↑ AGP kod karcinoma i sarkoma

↑ označava porast koncentracije; APR, odgovor akutne faze; APP, proteini akutne faze; CRP, C-reaktivni protein; SAA, serumski amiloid A; Cp, ceruloplazmin; AGP, kiseli alfa glikoprotein; Hp, haptoglobin; Fb, fibrinogen.

Tabela 2. Raspon porasta CRP-a i SAA-a tijekom različitih bolesti/uzročnika (Cerón i sur., 2005.)

Bolest/uzročnik	APP	Raspon porasta koncentracije istraživanog APP-a
Babezioza	CRP	Nije navedeno
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	CRP	95×
	SAA	20×
<i>Ehrlichia canis</i>	CRP	3,3-6,5×
<i>Escherichia coli</i>	CRP	3,5-4×
Lišmanijoz	CRP	25-30×
	SAA	80-90× †
Leptospiroza	CRP	16-80× (prouzročena eksperimentalno)
		30× (prirodna infekcija)
Parvoviroza	CRP	20×
	SAA	30-800×
Tripanozomijaza	CRP	20×

APP označava protein akutne faze; CRP, C-reaktivni protein; SAA, serumski amiloid A; † Neke životinje s lišmanijozom su imale koncentraciju SAA unutar normalnih vrijednosti

da diferencijalna dijagnostika na osnovu koncentracije CRP-a nije moguća (Petersen i sur., 2004., van der Meer i sur., 2005.). Suprotni rezultati ispitivanja postoje i na području kardiovaskularnih bolesti, gdje neki istraživači smatraju da blago povišene koncentracije CRP-a mogu ukazivati na povećan rizik od srčanih bolesti u ljudi (Clearfield, 2005., Bahadursingh i sur., 2009.). Najnovija istraživanja jasno pokazuju da je povećanje koncentracije CRP-a u okviru referentnog intervala povezano s budućim koronarnim patološkim procesima kod naizgled zdravih muškaraca i žena (Ignjatović, 2005.). Uprkos činjenici da je CRP pouzdan marker rizika poremećaja rada srca u ljudi, prilikom istraživanja na psima utvrđeno je da mu nedostaje osjetljivost i specifičnost za otkrivanje kronične bolesti srčanih zalistaka (Engl. *Chronic valvular disease*, CVD) zbog širokog preklapanja intervala vrijednosti CRP-a kod zdravih pasa i onih oboljelih od CVD-a. Iako su kod pasa s CVD-om utvrđene povišene koncentracije CRP-a, one se nisu mogle povezati s prisustvom

poremećaja rada srca ili stupnja šuma (Rush i sur., 2006.).

Povišena koncentracija CRP-a predviđa razvoj dijabetesa tip-2 neovisno o predisponirajućim činiteljima rizika u ljudi i podržava stav da je upala povezana s inzulinskom rezistencijom (Festa i sur., 2002.).

Interleukin-6 (IL-6) ima središnju ulogu u normalnom sazrijevanju B-stanica, ali i u proliferaciji maligno promijenjenih B-stanica, poput non-Hodgkin-ovog limfoma (NHL) i multiplog mijeloma. U ljudi s dijagnosticiranim NHL-om je uočena značajna veza između koncentracije CRP-s i razine IL-6 (Legouffe i sur., 1998.). Određivanje serumske koncentracije CRP-a u pacijenata oboljelih od NHL-a smatra se prognostički važnim. Naime, pacijenti sa znatno povišenom koncentracijom CRP-a imali su srednju vrijednost preživljavanja 8,5 mjeseci, za razliku od grupe pacijenata s koncentracijom CRP-a manjom od 10 mg/L, kad je njih 75% živjelo i 32 mjeseca nakon postavljene dijagnoze (Legouffe i sur., 1998.).

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

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

Do sada provedena istraživanja na psima pokazuju da se koncentracija CRP-a povećava zbog kirurške traume i upale (Conner i sur., 1988.). Inokulacija terpentinskog ulja psima prouzročila je povišenje koncentracije CRP-a, pri čemu je najviša koncentracija zabilježena drugog dana od inokulacije. Znatno niže koncentracije CRP-a utvrđene su u pasa mlađih od mjesec dana, u usporedbi s psima starosti 3 ili 18 mjeseci, što ukazuje da vrlo mladi psi imaju ograničen kapacitet produkcije CRP-a (Hayashi i sur., 2001.). Povišena koncentracija CRP-a zabilježena je kod mnogih bolesti s upalnim promjenama i tkivnim oštećenjima, posebice tijekom neoplastičnih i imuno-posredovanih bolesti (Nakamura i sur., 2008.). Isti autori navode kako je manje vjerovatno da će koncentracija CRP-a biti povišena tijekom neuroloških poremećaja i poremećaja gornjeg respiratornog sustava te lokaliziranih tumora. Studija koja je određivanjem koncentracije serumskih proteina akutne faze istraživala ishod dva različita terapijska protokola

tijekom invazije pasa s *Leishmania infantum*, uspjela je predvidjeti recidive na temelju povišenih koncentracija ovih proteina (Martínez-Subiela i sur., 2003.). Recidive prilikom eksperimentalne invazije s *Trypanosoma brucei* na temelju koncentracije CRP-s odredili su Ndung'u i sur. (1991.).

Visoke koncentracije CRP-a su zabilježene prilikom invazije/infekcije s *Ehrlichia canis*, *Leishmania infantum* (Martínez-Subiela i Cerón, 2005.) babezioze (Ulutas i sur., 2005., Matijatko i sur., 2007.), leptospiroze (Yamamoto i sur., 1993.), generazirane demodikoze (Ulutas i sur., 2011.), kod akutnog oštećenja mukoze želuca (Otabe i sur., 2000.), parvovirusnog i hemoragičnog enteritisa (Nakamura i sur., 2008.), akutnog pankreatitisa, autoimune hemolitične anemije (Galezowski i sur., 2010.), piometre (Fransson i sur., 2007., Nakamura i sur., 2008.), autoimunog poliartritisa (Kjelgaard-Hansen i sur., 2006.), artritisa, glomerulonefritisa, alergija (Onishi i sur., 2000.), neoplazija (Shimada i sur., 2002., Tecles i sur., 2005.) te različitih kirurških trauma (Hayashi i sur., 2001., Nakamura i sur., 2008.).

Koncentracija CRP-a u pasa je značajan činitelj prilikom klasifikacije efuzije (izljeva) (Parra i sur., 2006.), kod diferenciranja piometre od cistične hiperplazije endometrija/mukometre (Fransson i sur., 2003.), a svoje mjesto nalazi i u laboratorijskim testovima za procjenu učinkovitosti liječenja pacijenata s upalnim bolestima crijeva (Engl. *Inflammatory bowel disease*, IBD) (Köster i sur., 2009.). S druge strane, neurološka stanja poput epilepsije, atlanto-aksijalne suplaksacije, hidrocefalusa i nekrotizirajućeg meningoencefalitisa, kao i endokrini poremećaji poput hipotiroidizma i hiperadrenokorticisma u većini slučajeva ne pokazuju povišene vrijednosti CRP-a (Nakamura i sur., 2008.).

Psi podvrgnuti kirurškom zahvatu ili inficirani s *Bordetella bronchiseptica* imali su najvišu koncentraciju CRP-a prvog dana od stimulusa; s druge strane, psi s

infekcijama prouzročenim intracelularnim mikroorganizmima, poput *Trypanosoma brucei* ili *Ehrlichia canis* imali su najviše koncentraciju CRP-a između 4. i 10. dana od invazije (Cerón i sur., 2005.).

Prednost proteina akutne faze nad leukogramom je dokazana u brojnim istraživanjima (Nakamura i sur., 2008., Cheng i sur., 2009.). Studija koja je evaluirala upalu u pasa, zabilježila je znatne promjene u koncentraciji proteina akutne faze, dok su promjene leukograma izostale (Cray i sur., 2009.). Isto tako, psi s idiopatskim poliartritisom su pozitivno reagirali na liječenje steroidima, što se očitovalo smanjenjem simptoma i znatnim smanjenjem koncentracije CRP-a, dok je leukogram ostao nepromijenjen (Ohno i sur., 2006.). U mačaka s pankreatitisom, koncentracija SAA-a je bila povećana s prvom pojavom simptoma, dok je leukogram bio normalan (Cray i sur., 2009.). Nestajanjem simptoma kod ovih mačaka koncentracija SAA se vratila u normalne vrijednosti, dok je broj leukocita tek počeo rasti. Ovakav nalaz je rezultat brzog porasta proteina akutne faze (nekoliko sati), u odnosu na duže vrijeme koje je potrebno za proliferaciju stanica koštane srži.

Određivanje proteina akutne faze smatra se pouzdanijim od određivanja sedimentacije eritrocita (SE). Prednost SE jest, osim jednostavnosti izvođenja, i činjenica da su laboratoriji odavno upoznati s ovom metodom. Unatoč tome, određivanje koncentracije CRP-a ima nekoliko prednosti. SE je indirektno mjerenje koncentracije proteina akutne faze i ovisi o veličini, broju i obliku eritrocita, kao i nekim sastojcima plazme, poput imunoglobulina. Zbog toga rezultati mogu biti neprecizni i navesti na pogrešne zaključke. Kada je prvi put uvedena kao metoda 1920. godine, SE je smatrana naprednom metodom. Danas kada postoji mogućnost direktnog određivanja fibrinogena ili koncentracije CRP-a, ova metoda se smatra zastarjelom.

Promjenu zdravstvenog stanja pacijenta u pravcu poboljšanja ili pogoršanja prati SE, međutim, to se odvija znatno sporije u usporedbi s promjenama koncentracije CRP-a. Prema istraživanju nekih autora do porasta SE dolazi tek 2 do 4 dana nakon porasta CRP-a (Paul i sur., 2011.). Isto tako, SE nije pouzdana metoda procjene upalnog stanja koje prati promijenjen ili smanjen broj eritrocita. U takvim slučajevima se u svrhu monitoringa upalnog stanja može koristiti CRP. Prednost CRP-a prema SE uočava se i činjenicom da se SE povećava sa starošću jedinke, dok koncentracija CRP-a ostaje nepromijenjena (Gabay i Kushner, 2001.). Naime, Jovanović (2004.) navodi tek blago povišenje koncentracije CRP-a u starijih osoba.

Broj istraživanja proteina akutne faze koji obuhvaća SAA je znatno manji, nego što je slučaj s CRP-om, koji je primarni protein akutne faze u pasa. Ipak, nekoliko studija se bavilo i određivanjem koncentracije SAA u različitim patološkim stanjima te je otkriveno znatno povećanje koncentracije u pasa inficiranih s *B. bronchiseptica* i parvovirusom (Cerón i sur., 2005.), dok je određivanje koncentracije SAA bilo manje osjetljivo prilikom identificiranja životinja invadiranih s *Leishmaniam*, u usporedbi s drugim proteinima akutne faze. Ipak, Eckersall (2006.) navodi znatno povećanje koncentracije SAA tijekom lišmanioze. Povezanost između serumske koncentracije SAA i amiloidoze je pronađena kod pasmine Shar Pei, ali još uvijek nije u potpunosti razjašnjena (Eckersall, 2006.).

Novija istraživanja su pokazala da se povišena koncentracija SAA javlja s mnogim upalnim stanjima uključujući i kardiovaskularne bolesti (Chait i sur., 2005.). Tako je uočena korelacija koncentracije SAA s težinom koronarne arterijske ateroskleroze ljudi (Mezaki i sur., 2003.) i nekih kardiovaskularnih činitelja rizika poput pretilosti, inzulinske rezistencije,

dijabetesa i reumatoidnog artritisa (Wang i sur., 2008.). SAA i Hp određivani su u pasa s piometrom prije i poslije ovariohisterektomije. Najviše koncentracije SAA određene su unutar 24 sata od kirurškog zahvata, nakon čega su se postupno vraćale u prvobitne vrijednosti kod onih životinja koje nisu imale postoperativne komplikacije (Cray i sur., 2009.).

Koncentracije APP-a su važne za otkrivanje upalnog procesa životinja u kojih koštana srž ne može normalno odgovoriti na upalnu reakciju, kao što je slučaj kod mijelosupresije koja se javlja posljedično hemoterapeutičima ili za vrijeme leukemije (Cerón i sur., 2005.).

Općenito, povećanje koncentracije CRP-a i SAA-a, ali i ostalih pozitivnih proteina akutne faze (npr. Hp, AGP i Cp) može se odrediti prilikom većine akutnih i kroničnih infekcija/invazija (Cerón i sur., 2005.). Nadalje, opisana je korelacija između koncentracije APP-a i težine bolesti, pri čemu su serumske koncentracije APP-a znatno više kod teških patoloških stanja ili prilikom komplikacija (Matijatko i sur., 2002.) te u životinja s izraženim kliničkim znacima u usporedbi s onima u ljudi kod kojih bolest ima subklinički tijek (Martínez-Subiela i sur., 2002.).

Tijekom nekih patoloških stanja poput sistemskog eritemskog lupusa, skleroderme, Sjögrenovog sindroma i polimiozitisa, koncentracije CRP-a i SAA-a ostaju normalne ili tek neznatno povišene, uprkos prisustvu jake upale, koju prati i povišena vrijednost SE (Gabay i Kushner, 2001.).

Indeks akutne faze

Neki su autori u goveda i svinja odredili takozvani „indeks akutne faze“ (Engl. *Acute phase index*, API), koji se koristi s ciljem prosuđivanja zdravstvenog stanja i odgovora na terapiju (Toussaint i sur., 2000., Martínez-Subiela i Cerón, 2005.). U pasa je API određen prilikom

invazije s *Leishmania infantum*. Određena su 2 različita API-a (Martínez-Subiela i Cerón, 2005.):

- Indeks-1 akutne faze, određen je omjerom pozitivnog i negativnog proteina akutne faze. Indeks je izračunat za svaki pozitivni protein akutne faze.

$$API = \frac{\text{Pozitivni APP (g/100 ml)}}{\text{Negativni APP (g/100 ml)}} \times 10^6$$

- Indeks-2 akutne faze je određen omjerom između dva pozitivna i jednog negativnog proteina akutne faze.

$$API = \frac{\text{Pozitivni APP (g/100 ml)} \times \text{Pozitivni APP (g/100 ml)}}{\text{Negativni APP (g/100 ml)}} \times 10^6$$

U radu Martínez-Subiela i Cerón (2005.) optimalni proteini za izračunavanje APP indeksa kod invazije pasa s *Leishmania infantum* su CRP i Cp, odnosno indeks $\frac{CRP \times Cp}{Alb}$ je pokazao najveću specifičnost u usporedbi s ostalim izračunatim indeksima. Ovaj nalaz upućuje da bi izračunavanje API-a moglo poslužiti kao vrlo značajan biomarker za procjenu ranog odgovora na terapiju prilikom lišmanijoze.

Sažetak

Odgovor akutne faze upalne reakcije očituje se povećanom sintezom specifičnih proteina poznatih pod nazivom proteini akutne faze. U proteine akutne faze ubrajaju se C-reaktivni protein, serumski amiloid A, haptoglobin, alfa-1-glikoprotein, fibrinogen, α 1 kiseli glikoprotein, ceruloplazmin i drugi. Ove proteine najvećim dijelom sintetiziraju hepatociti. U ovom preglednom radu praćene su vrijednosti koncentracija navedenih proteina akutne faze u različitim patoloških stanja pasa i ljudi. Dosadašnja istraživanja ukazuju na značenje ovih proteina pri dijagnosticiranju i praćenju tijeka i ishoda različitih bolesti.

Ključne riječi: odgovor akutne faze, C-reaktivni protein, serumski amiloid A, biomarkeri

Literatura

1. BAHADURSINGH, S., K. BEHARRY, K. MAHARAJ, C. MOOTOO, P. SHARMA, J. SINGH, K. TEELUCKSINGH and R. TILLUCKDHARRY (2009): C-reactive protein: adjunct to cardiovascular risk assessment. *West Indian. Med. J.* 58, 551-555.
2. CERÓN, J. J., P. D. ECKERSALL and S. MARTÍNEZ-SUBIELA (2005): Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Pathol.* 34, 85-99.
3. CHAIT, A., C. Y. HAN, J. F. ORAM and J. W. HEINECKE (2005): Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Lipoprotein-associated inflammatory proteins: markers or mediators of cardiovascular disease? *J. Lipid. Res.* 46, 389-403.
4. CHENG, T., K. A. MATHEWS, A. C. G. ABRAMS-OGG and R. D. WOOD (2009): Relationship between assays of inflammation and coagulation: A novel interpretation of the canine activated clotting time. *Can. J. Vet. Res.* 73, 97-102.
5. CLEARFIELD, M. B. (2005): C-Reactive Protein: A New Risk Assessment Tool for Cardiovascular Disease. *JAOA* 105, 409-416.
6. CONNER, J. G., P. D. ECKERSALL, J. FERGUSON and T. A. DOUGLAS (1988): Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res. Vet. Sci.* 45, 107-110.
7. CRAY, C., J. ZAIAS and N. H. ALTMAN (2009): Acute phase response in animals: A Review. *AALAS* 6, 517-526.
8. ECKERSALL, P. D. (2006): Acute phase proteins as biomarkers of disease in companion and laboratory animals. In: *Proceedings of the Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology*, Tucson, Arizona.
9. FESTA, A., R. P. TRACY and S. M. HAFFNER (2002): Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 51, 1131-1137.
10. FRANSSON, B. A., A. S. LAGERSTEDT, A. BERGSTROM, R. HAGMAN, J. S. PARK, B. P. CHEW, M. A. EVANS and C. A. RAGLE (2007): C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 17, 373-381.
11. FRANSSON, B. A. and C. A. RAGLE (2003): Canine pyometra: An update on pathogenesis and treatment. *Compendium Small animal/exotics.* 25, 602-612.
12. GABAY, C. and I. KUSHNER (2001): Acute-phase proteins. *Encyclopedia of Life Science.*
13. GALEZOWSKI, A. M., E. C. R. SNEAD, B. A. KIDNEY and M. L. JACKSON (2010): C-reactive protein as a prognostic indicator in dogs with acute abdomen syndrome. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 395-401.
14. GILLESPIE, S., C. DOW, J. RAYNES, R. BEHRENS, P. L. CHIODINI and MCADAM K. (1991): Measurement of acute phase proteins for assessing severity of *Plasmodium falciparum* malaria. *J. Clin. Pathol.* 44, 228-311.
15. GRANINGER, W., F. THALHAMMER, U. HOLLENSTEIN, G. M. ZOTTER and P. G. KREMSNER (1992): Serum protein concentrations in *Plasmodium falciparum* malaria. *Acta Trop.* 52, 121-128.
16. HAYASHI, S., T. JINBO and K. IGUCHI (2001): A Comparison of the Concentrations of C-Reactive Protein and alpha-Acid Glycoprotein in the Serum of Young and Adult Dogs with Acute Inflammation. *Vet. Res. Commun.* 25, 117-126.
17. IGNJATOVIĆ, S. (2005): Određivanje visoko osjetljivog C-reaktivnog protein: klinički i analitički kvalitet. *Jugoslav. Med. Biohem.* 24, 85-93.
18. JAIN, S., V. GAUTAM and S. NASEEM (2011): Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *J. Pharm. Bioall. Sci.* 3, 118-127.
19. JOVANOVIĆ, D. B. (2004): Klinički značaj određivanja serum-amiloida A. *Srp. Arh. Celok. Lek.* 132, 267-271.
20. KJELGAARD-HANSEN, M., A. L. JENSEN, G. A. HOUSER, L. R. JESSEN and A. T. KRISTENSEN (2006): Use of Serum C-Reactive Protein as an Early Marker of Inflammatory Activity in Canine Type II Immune-Mediated Polyarthritis: Case Report. *Acta Vet. Scand.* 48, 9.
21. KÖSTER, L. S., M. VAN SCHOOR, P. N. THOMPSON, P. T. MATIJILA and M. KJELGAARD-HANSEN (2009): C-reactive protein in canine babesiosis caused by *Babesia rossi* and its association with outcome. *S. Afr. Vet. Ass.* 80, 87-91.
22. LEGOUFFE, E., C. RODRIGUEZ, M. C. PICOT, B. RICHARD, B. KLEIN, J. F. ROSSI and T. C. COMMES (1998): Reactive protein serum level is a valuable and simple prognostic marker in non Hodgkin's lymphoma. *Leuk. Lymphoma.* 31, 351-357.
23. MARTÍNEZ SUBIELA, S. and J. J. CERÓN (2005): Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment. *Vet. Med. – Czech* 50, 39-46.
24. MARTÍNEZ SUBIELA, S., F. TECLES, J. J. CERÓN and P. D. ECKERSALL (2002): Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis. *Vet. Rec.* 150, 241-244.
25. MARTÍNEZ-SUBIELA, S., L. J. BERNAL and J. J. CERÓN (2003): Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis during short-term treatment. *Am. J. Vet. Res.* 64, 1021-1026.
26. MATIJATKO, V., N. KUČER, R. BARIĆ-RAFAJ, J. FORŠEK, I. KIŠ, D. POTOČNJAK, G. RAZDOROV and V. MRLJAK (2002): CRP concentrations in dogs with uncomplicated babesiosis. In: *Proceedings of the Third Colloquium on Food Safety and Acute phase Proteins*. Doorn, Netherlands (55-56).
27. MATIJATKO, V., V. MRLJAK, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, T. ŽIVIČNJAK, Ž. ROMIĆ, Z. ŠIMEC and J. J. CERÓN (2007): Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. *Vet. Parasitol.* 144, 242-250.
28. MEZAKI, T., T. MATSUBARA, T. HORI, K. HIGUCHI, A. NAKAMURA, I. NAKAGAWA, S. IMAI, K. OZAKI, K. TSUCHIDA, A. NASUNO, T. TANAKA, K. KUBOTA, M. NAKANO, T. MILDA and Y. AIZAWA (2003): Plasma levels of soluble thrombomodulin, C-reactive protein and serum amyloid A protein in the atherosclerotic coronary circulation. *Jpn. Heart J.* 44, 601-612.
29. NAKAMURA, M., M. TAKAHASHI, K. OHNO, A. KOSHINO, K. NAKASHIMA, A. SETOGUCHI, Y. FUJINO and H. TSUJIMOTO (2008): C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *J. Vet. Med. Sci.* 70, 127-131.
30. NDUNG'U, J. M., P. D. ECKERSALL and F. W. JENNINGS (1991): Elevation of the concentration

- of acute phase protein in dogs infected with *Trypanosoma brucei*. Acta Trop. 49, 77-86.
31. OHNO, K., Y. YOKOYAMA, K. NAKASHIMA, A. SETOGUCHI, Y. FUJINO and H. TSUJIMOTO (2006): C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis. J. Vet. Med. Sci. 68, 1275-1279.
 32. ONISHI, T., H. INOKUMA, K. OHNO, S. SOEDA, K. NOGUCHI and K. SASAKI (2000): C-reactive protein concentrations in normal and diseased dogs – measured by laser nephelometric immunoassay. J. Jpn. Vet. Med. Assoc. 53, 595-601.
 33. OTABE, K., T. ITO, T. SUGIMOTO and S. YAMAMOTO (2000): C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. Lab. Anim. 34, 434-438.
 34. PARRA, M. D., K. PASASOLIOTIS and J. J. CERÓN (2006): Concentrations of C-reactive protein in effusions in dogs. Vet. Rec. 58, 753-757.
 35. PAUL, C., L. O. HANSSON, S. L. SEIERSTAD and K. KRIZ (2011): Canine C-Reactive Protein - A Clinical Guide. LifeAssays AB Lund, Sweden Art. No: 40301-10 First edition.
 36. PETERSEN, H. H., J. P. NIELSEN and P. M. H. HEEGAARD (2004): Application of acute phase measurements in veterinary clinical chemistry. Vet. Res. 35, 163-187.
 37. RUSH, J. E., N. D. LEE, L. M. FREEMAN and B. BREWER (2006): C-reactive protein concentration in dogs with chronic valvular disease. J. Vet. Intern. Med. 20, 635-639.
 38. SASAKI, K., I. FUJITA, Y. HAMASAKI and S. MIYAZAKI (2002): Differentiating between bacterial and viral infection by measuring both C-reactive protein and 2'-5'-oligoadenylate synthetase as inflammatory markers. J. Infect. Chemo. 8, 76-80.
 39. SERIN, G. and P. A. ULUTAS (2010): Measurement of serum acute phase proteins to monitor postoperative recovery in anaestrous bitches after ovariohysterectomy. Vet. Rec. 166, 20-22.
 40. SHIMADA, T., Y. ISHIDA, M. SHIMIZU, M. NOMURA, K. KAWATO, K. IGUCHI and T. JINBO (2002): Monitoring C-reactive protein in beagle dogs experimentally inoculated with *Ehrlichia canis*. Vet. Res. Commun. 26, 171-177.
 41. SINGH, U. K., A. K. PATWARI, R. K. SINHA and R. KUMAR (1999): Prognostic value of serum C-reactive protein in Kala-azar. J. Trop. Pediat. 45, 226-228.
 42. TECLES, F., E. SPIRANELLI, U. BONFANTI, J. J. CERÓN and S. PALTRINIERI (2005): Preliminary Studies of Serum Acute-Phase Protein Concentrations in Hematologic and Neoplastic Diseases of the Dog. J. Vet. Intern. Med. 19, 865-870.
 43. TOUSSAINT, M. J. M., P. D. ECKERSALL, M. ALAVA, F. MADEC, R. H. MELOEN and E. GRUYS (2000): Acute phase proteins assays as tool in assessment of health in pigs. In: Proceedings from IX Congress of International Society of Animal Clinical Biochemistry, Toulouse, France, Revue de Médecine Vétérinaire (151, 780).
 44. ULUTAS, B., G. BAYRAMLI, P. A. ULUTAS and T. KARAGENC (2005): Serum Concentration of some Acute Phase Proteins in Naturally Occurring Canine Babesiosis: A Preliminary Study. Vet. Clin. Pathol. 34, 144-147.
 45. ULUTAS, B., K. URAL and P. A. ULUTAS (2011): Acute phase response with special reference to C-reactive protein in dogs with generalized demodicosis. Acta Sci. Vet. 39, 980.
 46. VAN DER MEER, V., A. K. NEVEN, P. J. VAN DEN BROEK and W. J. J. ASSENDELFT (2005): Diagnostic value of C reactive protein in infections of the lower respiratory tract: systematic review. BMJ. doi:10.1136/bmj.38483.478183.EB
 47. WANG, X., H. CHAI, Z. WANG, P. H. LIN, Q. YAO and C. CHEN (2008): Serum amyloid A induces endothelial dysfunction in porcine coronary arteries and human coronary artery endothelial cells. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 295, H2399-H2408.
 48. YAMAMOTO, S., T. SHIDA, S. MIYAJI, H. SANTSUKA, H. FUJISE, K. MUKAWA, E. FURUKAWA, T. NAGAE and M. NAIKI (1993): Changes in Serum C-Reactive Protein Levels in Dogs with various Disorders and Surgical Traumas. Vet. Res. Commun. 17, 85-93.

C-Reactive Protein and Serum Amyloid A as Biomarkers for Canine and Human Diseases

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

The acute phase response of inflammatory reaction is manifested by increased synthesis of specific proteins known as acute phase proteins. Acute phase proteins include the C-reactive protein, serum amyloid A, haptoglobin, alpha-1-glycoprotein, fibrinogen, α 1 acid glycoprotein, ceruloplasmin and others. These proteins are mostly synthesised by the hepatocytes. This review article outlines

the concentration values of these acute phase proteins monitored in pathological conditions in dogs and humans. Recent studies indicated the significance of these proteins for diagnosis and monitoring the course and outcome of different diseases.

Key words: Acute phase response, C-reactive protein, Serum amyloid A, Biomarkers

Stereotipije svinja

Nada Perković, Ivona Žura Žaja, Ž. Pavičić, Kristina Matković,
S. Žužul, S. Menčík i M. Ostović*



Uvod

Ponašanje predstavlja sve uočljive aktivnosti i reakcije životinja, uključujući i fazu mirovanja na podražaje koji potječu iz samog organizama i/ili vanjske sredine, radi prilagođavanja uvjetima života i opstanka u određenom životnom okruženju. Kao i svaka druga osobina, tako i ponašanje ima svoje fiziološke i patološke oblike. Fiziološko je ponašanje karakteristika vrste unutar kojeg postoje individualne razlike uvjetovane nasljeđem, učenjem i starošću, pri čemu je iskustvo od presudnog značenja (Vučinić, 2006.). Kako učenje i prilagodba mijenjaju ponašanje svake jedinke, uvijek postoji veliki raspon oblika ponašanja koji se mogu smatrati fiziološkim. Stoga je potrebno razlučiti koji su oblici ponašanja svojstveni za vrstu, spol i dob životinje od onih koji to nisu (Keeling i Jensen, 2014.). Kada ponašanje životinje znatno odstupa od fizioloških oblika ponašanja karakterističnih za vrstu, kažemo da je došlo do poremećaja ili izražavanja nenormalnih (patoloških) oblika ponašanja (Vučinić, 2006.).

Kretanje je ključni element aktivnosti svake životinje. Sloboda kretanja omogućava životinji kontrolu nad okolišem i zadovoljenje potreba izražavanjem prirodnog ponašanja (Metz i Bracke, 2005.), čime utječe na

njezino zdravlje, dobrobit i proizvodnost. Okoliš farmских životinja značajno se promijenio intenziviranjem proizvodnje. Stroga je kontrola okolišnih čimbenika, uz genetsku selekciju, rezultirala većom proizvodnošću, ali i osiromašenim životnim uvjetima životinja, pri čemu često nisu u mogućnosti izraziti vrsno svojstveno ponašanje za koje su i dalje izrazito motivirane (Ostović, 2012.). To posljedično rezultira nenormalnim oblicima ponašanja životinja, uz narušavanje njihove dobrobiti (Broom i Fraser, 2007.).

Motivacija je snaga koja djeluje iz samog organizma u cilju iskazivanja određenog ponašanja (npr. motivi mogu biti: glad i žeđ, strah, porivi za migriranjem, parenjem, gradnjom gnijezda, „kupa-njem“ u prašini). Motivacija ne uključuje naučene, tj. stečene oblike ponašanja, već prirodne reakcije koje mogu biti izmijenjene unutarnjim ili vanjskim podražajima, odnosno njihovim međusobnim djelovanjem. Tako nam istraživanje motivacije pomaže da bismo otkrili uzroke problema bitnih s gledišta dobrobiti životinja i spriječimo ili ublažimo njihove posljedice, poput pojave nenormalnih ponašanja (Vučinić, 2006., Mason i Bateson, 2014.).

Tehnopatije su poremećaji zdravlja životinja koji nastaju kao posljedica

Nada PERKOVIĆ, dr. med. vet., Zagreb, Hrvatska, dr. sc. Ivona ŽURA ŽAJA, dr. med. vet., postdoktorandica, dr. sc. Željko PAVIČIĆ, dr. med. vet., dipl. ing. agr., redoviti profesor, dr. sc. Kristina MATKOVIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Slavko ŽUŽUL, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Sven MENČIK, dr. med. vet., docent, dr. sc. Mario OSTOVIĆ*, dr. med. vet., docent, (dopisni autor, e-mail: mostovic@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

grešaka u tehnološkom procesu proizvodnje, tj. tehnologiji uzgoja životinja. Ako su posljedica takvih grešaka promjene tjelesnog zdravlja, tada govorimo o fizikopatijama, dok se poremećaji u ponašanju životinja nazivaju etopatije. Etopatije uključuju samoozljeđivanje, patološko reagiranje (npr. izostanak reakcije ili njezina prenatrženost), preusmjereno ponašanje (npr. kljućanje perja kod peradi, grizenje repova i uški kod svinja) i stereotipije, kao najbrojnije patološke oblike ponašanja farmских životinja (Pavičić i Ostović, 2013.).

U ovom će radu biti opisane stereotipije svinja, čije je izražavanje ujedno i jedan od pokazatelja njihove dobrobiti (Welfare Quality®, 2009.).

Uzroci, razvoj, oblici i posljedice stereotipija

Stereotipije su nenormalni oblici ponašanja životinja ustaljeni u obliku i načinu njihova izražavanja. Očituju se pravilnim ponavljanjem malog broja istovjetnih skupina pokreta i aktivnosti, koje nemaju ni cilj ni funkciju (Mason, 1991., Mason i Rushen, 2006., Broom i Fraser, 2007.). Razvijaju se kao posljedica prostorno ograničenih i osiromašenih ambijentalnih uvjeta, odnosno dosade, frustracije i stresa zbog nezadovoljenih potreba životinja, kao što su istraživanje okoliša i traženje hrane (Barnett i sur., 2001.).

Veliki broj stereotipija povezan je s hranidbom životinja. Stereotipije se češće javljaju u životinja kojima je duže vremena uskraćivana hrana, kao i u životinja koje se hrane restriktivno. Usto, učestalost izražavanja stereotipija u svinja povećava se s trajanjem prostornog ograničenja (von Borell i sur., 1997.) i rednim brojem prasnja plotkinja (Chapinal i sur., 2010.). Sklonost izražavanju stereotipija može biti i nasljedna, kao što je to slučaj kod laboratorijskih (Gregory, 2007.) i životinja

koje se uzgajaju u svrhu proizvodnje krzna (Barré i sur., 2001.).

Stereotipije mogu biti oralne i lokomotorne. U pašnih se životinja uglavnom razvijaju oralne stereotipije, čime oponašaju produženo uzimanje hrane i žvakanje, dok u životinja koje su grabežljivci lokomotorni oblici stereotipija, kojima oponašaju hvatanje plijena. Tako pašne životinje stereotipije izražavaju najčešće nakon uzimanja hrane, a životinje koje su po prirodi grabežljivci prije hranjenja. Oralne stereotipije su, primjerice, žvakanje u prazno ili grizenje pregrada u svinja, igranje jezikom u goveda i gutanje zraka u konja, a lokomotorne hodanje u krug (npr. životinje u zoološkim vrtovima) i tkanje (npr. konji) (Vučinić, 2006., Mills i sur., 2010.).

Stereotipije su štetne za organizam životinje koja ih izražava jer mogu rezultirati oštećenjima tkiva i organa koji su preopterećeni aktivnim učešćem u izražavanju stereotipija (Barnett i sur., 2001.). Iako ih pojedini autori smatraju pokazateljem narušene dobrobiti životinja (von Borell i sur., 1997., Broom i Fraser, 2007.), noviji pogled je da su stereotipije dio prilagodbenog mehanizma životinja, tj. da predstavljaju pokušaj prilagodbe životinje na neodgovarajuće uvjete života. Za životinju može biti bolje izražavanje stereotipija, nego izostanak ovog nenormalnog ponašanja, jer njime nadoknađuje ono što joj je načinom uzgoja i smještaja onemogućeno (Vučinić, 2006.). Tako istraživanja pokazuju da oralne stereotipije u svinja zapravo imaju funkciju - služe kao mehanizam za neutralizaciju želučane kiseline (Marchant-Forde i Pajor, 2003.).

Stereotipije se razvijaju u dugom vremenskom razdoblju, a ne kao direktan odgovor na određenu situaciju, što znači da se u jednom trenutku može izbjeći njihova pojava. U početku je takvo ponašanje specifično za određeni kontekst, no kasnije ga životinja izražava

u sve više različitih situacija, sve dok se potpuno ne ustali i onda se nastavlja čak i kad se životinja premjesti u drugi, obogaćeni okoliš. Kada se jednom razviju, teško ih je iskorijeniti. To znači da je poznavanje osnovnih nagona, motiva i potreba životinja ključ za njihov pravilan uzgoj i iskorištenje, a tako i za sprječavanje pojave patoloških oblika ponašanja, kao što su stereotipije (Vučinić, 2006.).

Stereotipije su dokaz da je u nekom trenutku života dobrobit životinje bila narušena, no ne mora nužno značiti da je tako i sada. Ipak, ostaju važan pokazatelj da okoliš ne pruža životinjama dovoljno mogućnosti za izražavanje vrsno karakterističnog ponašanja. Broj životinja koje izražavaju stereotipije u određenom okolišu i udio vremena koje provode u izražavanju stereotipija važni su pokazatelji njihove dobrobiti (von Borell i sur., 1997., Ostović, 2012., Keeling i Jensen, 2014.).

Kako mlade životinje oponašaju one starije, tako će vrlo brzo početi izražavati i stereotipije. Ako stereotipije istovremeno počne izražavati veći broj životinja, tada je u pitanju utjecaj istih čimbenika, tj. istovjetnih grešaka u uzgoju. Kod starijih je životinja teže iskorijeniti stereotipije jer su kod njih već ustaljene, dok je kod mlađih lakše. Upravo zato je lakše spriječiti nastanak nenormalnih oblika ponašanja nego ih iskorijeniti kada se već ukorijene kao navike u svom patološkom obliku (Vučinić, 2006.).

Žvakanje u prazno

U oro-nazalno-facijalna (ONF) ponašanja svinja ubrajamo funkcionalna ponašanja kao što su hranjenje, napajanje i rovanje, no mogu uključivati i stereotipna ONF ponašanja (Curtis i sur., 2009.), od kojih su najučestalija žvakanje u prazno, grizenje pregrada i igranje pojilicom, a izražavaju ih najčešće u stojećem položaju (Sekiguchi i Koketsu, 2004., Ostović i sur., 2015.). Također se javljaju

igranje jezikom, lizanje pregrada/poda i škrgutanje zubima (Welfare Quality®, 2009.).

Žvakanje u prazno (Engl. *vacuum-chewing*, *sham-chewing*) se očituje pokretima čeljusti kao pri žvakanju hrane, no bez supstrata za hranjenje. Ovakvo ponašanje uobičajeno je prisutno kod krmača držanih pojedinačno, u odjeljcima bez stelje. Životinja energično žvače i nakon što je pojela hranu. Žvačni pokreti prouzroče pjenušanje slina, koja se sakuplja na rubovima usana i kutovima usta te pada na tlo, što može poslužiti kao dokaz ove stereotipije (slika 1). U takvom ponašanju krmače mogu provesti i do nekoliko sati dnevno. Učestalost izražavanja žvakanja u prazno može se smanjiti ako se krmačama osigura slama ili piljevina koju mogu žvakati ili rovati po njoj (Broom i Fraser, 2007.). Tako i Pravilnik o minimalnim uvjetima za zaštitu svinja (Narodne novine 119/10) propisuje da svinje moraju imati stalan pristup dovoljnoj količini materijala kojim im se omogućuje prikladno istraživanje i



Slika 1. Žvakanje krmača u prazno

manipulacija, poput slame, sijena, drva, piljevine, komposta od gljiva, treseta, njihove mješavine ili drugih prikladnih materijala kojima se ne dovodi u pitanje zdravlje životinja. Pojedinačno držane krmače sklonije su izražavanju stereotipija. Marchant-Forde (2010.) navodi da krmače držane u pojedinačnim odjeljcima izražavaju stereotipije u trajanju od 500 sekundi po satu u usporedbi s krmačama držanim u malim (100 sek/h) ili velikim skupinama (10 sek/h), iz čega proizlazi da ih je s obzirom na izražavanje stereotipija najbolje držati u skupinama (Broom i Fraser, 2007.). Prema Pravilniku o minimalnim uvjetima za zaštitu svinja (Narodne novine 119/10), krmače i nazimice moraju se držati u skupinama u razdoblju koje počinje 4 tjedna nakon umjetnog osjemenjivanja i završava tjedan dana prije očekivanog vremena prasnja.

Grizenje pregrada

Grizenje pregrada (Engl. *bar-biting*) je stereotipija koja se izražava na način da životinja ustima obavije pregradu odjeljka ili boksa, uključujući jezik i zube te čini žvačne pokrete (slika 2) (Mason i Rushen, 2006., Ostović i sur., 2015.). Životinja stavlja u usta jednu od poprečnih pregrada odjeljka i grize ju, trlja jezikom ili ritmičkim pokretima kliže ustima po pregradi s jedne na drugu stranu – brušenje. Uobičajena je pojava kod suprasnih krmača smještenih pojedinačno u strogo prostorno ograničenim odjeljcima u kojima se ne mogu niti okrenuti, s punim ili rešetkastim betonskim podom. Ova se stereotipija može djelomično kontrolirati poboljšanjem uzgojnih uvjeta tako da se svinjama osigura dovoljno slame ili piljevine (stelje) koju mogu žvakati ili rovati po njoj. Broom i Fraser (2007.) navode da se pojavnost grizenja pregrada i drugih stereotipija ne smanjuje nakon hranjenja svinja slamom ili zobnim

ljuskama, iz čega proizlazi da mogućnost manipulacije hranom ima veće značenje za svinje nego sam sadržaj vlaknine u hrani.

Igranje pojilicom

Stereotipija u obliku igranja pojilicom (Engl. *drinker-pressing*, *drinker-playing*), bez akta napajanja, česta je kod suprasnih krmača držanih u pojedinačnim odjeljcima s automatskom pojilicom u obliku siske. Pojilica je jedan od zanimljivijih predmeta, ako ne i jedini, koji se nalaze u okolišu svinja te tako neke životinje utroše veliki dio vremena na takvo ponašanje. Kako opisuju Broom i Fraser (2007.), krmače tijekom osam sati dnevnog svjetla provedu od 2 do 74 minute igrajući se pojilicama, pri čemu prosječno vrijeme iznosi 10 minuta, što je duže od vremena potrebnog za napajanje. Međutim, treba imati na umu da se svinje na taj način tijekom visokih temperatura u nastambi mogu i rashlađivati, ukoliko im nisu omogućeni drugi načini rashlađivanja.



Slika 2. Nazimica grize pregradu

Sažetak

Stereotipije su nenormalni oblici ponašanja životinja, ustaljeni u obliku i načinu izražavanja, koji nemaju cilj niti funkciju, a mogu rezultirati oštećenjima tkiva i organa najaktivnijima u njihovu izražavanju. Obično se razvijaju kod životinja držanih u zatočeništvu, kao što je to slučaj kod farmskih životinja, kao posljedica prostorno ograničenih i osiromašenih životnih uvjeta, odnosno dosade, frustracije i stresa zbog nezadovoljenih potreba, kao što su istraživanje okoliša i traženje hrane. Veliki broj stereotipija farmskih životinja posljedica je neprikladnog hranjenja. Stereotipije se mogu očitovati kao oralne ili lokomotorne. Svinje većinom izražavaju oralne stereotipije, žvakanje u prazno, grizenje pregrada i igranje pojilicom, koje su najučestalije kod suprasnih krmača držanih u pojedinačnim odjeljcima bez stelje. U svrhu sprječavanja i smanjivanja učestalosti izražavanja stereotipija, svinjama je nužno osigurati odgovarajuću hranidbu te materijale za istraživanje i manipulaciju, primjerene načine držanja i smještaja te dovoljno aktivnosti, s naglaskom na mogućnost izražavanja vrsno karakterističnog ponašanja.

Ključne riječi: *stereotipije, nenormalno ponašanje, farmske životinje, svinje*

Literatura

- BARNETT, J. L., P. H. HEMSWORTH, G. M. CRONIN, E. C. JONGMAN and G. D. HUTSON (2001): A review of the welfare issues for sows and piglets in relation to housing. *Aust. J. Agric. Res.* 52, 1-28.
- BARRÉ, H., B. BRAASTAD, G. de JONGE, R. DANTZER, G. MASON, V. PEDERSEN, T. REKILA and E. SMEDS (2001): The welfare of animals kept for fur production. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. Brussels: European Commission.
- BROOM, D. M. and A. F. FRASER (2007): Domestic animal behaviour and welfare. 4th edition. Cambridge: CAB International, Cambridge University Press.
- CHAPINAL, N., J. L. RUIZ de la TORRE, A. CERISUELO, J. GASA, M. D. BAUCCELLS, J. COMA, A. VIDAL and X. MANTECA (2010): Evaluation of welfare and productivity in pregnant sows kept in stalls or in 2 different group housing systems. *J. Vet. Behav.* 5, 82-93.
- CURTIS, S. E., R. B. BAKER, M. J. ESTIENNE, P. B. LYNCH, J. J. McGLONE and B. K. PEDERSEN (2009): Scientific assessment of the welfare of dry sows kept in individual accommodations. Ames: Issue Paper 42, CAST.
- GREGORY, N. G. (2007): Animal welfare and meat production. 2nd edition. Trowbridge: N. G. Gregory, Cromwell.
- KEELING, L. i P. JENSEN (2014): Nenormalno ponašanje, stres i dobrobit. U: PAVIČIĆ, Ž., K. MATKOVIĆ, ur.: Ponašanje domaćih životinja, prema 2. engleskom izdanju: uvodni tekst. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (85-101).
- MARCHANT-FORDE, J. N. (Ed.) (2010): The welfare of pigs. Springer Science+Business Media B. V.
- MARCHANT-FORDE, J. N. and E. A. PAJOR (2003): Dietary sodium bicarbonate and stereotypic behavior of gestating sows. *Purdue Univ. Swine Res. Rep.* 2003, 72-75.
- MASON, G. J. (1991): Stereotypies: a critical review. *Anim. Behav.* 41, 1015-1037.
- MASON, G. and J. RUSHEN (2006): Stereotypic animal behaviour: fundamentals and applications to welfare. 2nd edition. Wallingford: CAB International.
- MASON, G. i M. BATESON (2014): Motivacija i organizacija ponašanja. U: PAVIČIĆ, Ž., K. MATKOVIĆ, ur.: Ponašanje domaćih životinja, prema 2. engleskom izdanju: uvodni tekst. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (38-56).
- METZ, J. H. M. and M. B. M. BRACKE (2005): Assessment of the impact of locomotion on animal welfare. *Stočarstvo* 59, 31-38.
- MILLS, D. S., J. N. MARCHANT-FORDE, P. D. MCGREEVY, D. B. MORTON, C. J. NICOL, C. J. C. PHILLIPS, P. SANDØE and R. R. SWAISGOOD (Eds.) (2010): The Encyclopaedia of Applied Animal Behaviour and Welfare. Cambridge: CAB International, Cambridge University Press.
- OSTOVIĆ, M. (2012): Učinak gumene podne obloge u pripustilištu na dobrobit nazimica. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- OSTOVIĆ, M., S. MENČIK, A. EKERT KABALIN, G. GREGURIĆ GRAČNER, M. VUČEMILO, K. MATKOVIĆ, T. TRBOJEVIĆ VUKIČEVIĆ, J. GRAHOVAC and Ž. PAVIČIĆ (2015): The effect of rubber flooring on displaying stereotypies in gilts. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 128, 14-19.
- PAVIČIĆ, Ž. i M. OSTOVIĆ (2013): Dobrobit farmskih životinja. *Hrv. vet. vjesn.* 21, 55-59.
- Pravilnik o minimalnim uvjetima za zaštitu svinja (Narodne novine 119/10)
- SEKIGUCHI, T. and Y. KOKETSU (2004): Behavior and reproductive performance by stalled breeding females on a commercial swine farm. *J. Anim. Sci.* 82, 1482-1487.
- Von BORELL, E., D. M. BROOM, D. CSERMELY, A. A. DIJKHUIZEN, S. HYLKEMA, S. A. EDWARDS, P. JENSEN, F. MADEC and C. STAMATARIS (1997): The welfare of intensively kept pigs. Report of the

- Scientific Veterinary Committee (SVC). Brussels: European Commission.
21. VUČINIĆ, M. (2006): Ponašanje, dobrobit i zaštita životinja. Beograd: Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
 22. WELFARE QUALITY® (2009): Welfare Quality® assessment protocol for pigs (sows and piglets, growing and finishing pigs). Lelystad: Welfare Quality® Consortium.

Pig Stereotypies

Nada PERKOVIĆ, DVM, Zagreb, Croatia; Ivona ŽURA ŽAJA, DVM, PhD, Postdoctoral Student, Željko PAVIČIĆ, DVM, B. Agr. Sc., PhD, Full Professor, Kristina MATKOVIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Slavko ŽUŽUL, DVM, Assistant, Sven MENČIK, DVM, PhD, Assistant Professor, Mario OSTOVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Stereotypies are abnormal forms of animal behavior, established in form and manner of expression, with no purpose or function that can result in damage to the tissue and organs most active in their expression. They usually develop in animals kept in captivity, as in the case of farm animals, as a result of space-restricted and barren living conditions, *i.e.* because of boredom, frustration and stress due to unmet needs, such as exploring and foraging. A large number of stereotypies in farm animals are the result of inappropriate nutrition. Stereotypies can manifest themselves in oral

or locomotion form. Pigs usually express oral stereotypies, such as vacuum-chewing, bar-biting and drinker-pressing. These are most common in pregnant sows kept in gestation stalls with no litter. In order to prevent and reduce the incidence of stereotypies, it is necessary to ensure that pigs have adequate nutrition and materials for exploring and manipulation, appropriate housing systems and accommodation, and plenty of activity, with an emphasis on the ability to express species-typical behaviour.

Key words: *Stereotypies, Abnormal behaviour, Farm animals, Pigs*



ANIMEDICA

- * Stalno ste prljavi?
- * Diza se začepila, a niste potrošili sprej!
- * Nepravilno sprejanje?
- * Curi !!!
- * Teško je pristupiti rani.

Don't worry – be happy!

Imamo rješenje !

Animedazon sprej (Klortetraciklin hidroklorid)

Aktivna tvar: Klortetraciklin hidroklorid...3,210 g

Ciljne vrste životinja: Goveda, svinje, ovce

Indikacije: Primjena kod površinskih ili operacionih rana kontaminiranih sa uzročnicima osjetljivim na klortetraciklin. Može se koristiti i kao dio tretmana kod površinskih infekcija kože i papaka, posebno kod interdigitalnih infekcija kao što su infekciozni pododermatitis, interdigitalna flegmona i digitalni dermatitis uzrokovani sa uzročnicima osjetljivim na klortetraciklin.

Način primjene i doze: Za primjenu na koži, dobro protresti prije primjene, držati na udaljenosti od 15-20 cm od mjesta na koje primjenjujemo. Sprejati 3 sek. dok tretirano mjesto ne poprimi jednaku boju. Kod infekcija papaka ponoviti nakon 30 sek.

Kod primjene na površinskim ranama dovoljna je jednokratna primjena.

Digitalni dermatitis - dvije primjene u razmaku od 30 sek., 1-2 puta na dan tijekom 3 dana. Kod drugih infekcija papaka, kao što su



Jednostavna primjena:
dodatke dimenzionirani za
primjenu samo jednom
rukom



Točno i precizno sprejanje



Diza se neće začepiti prije
nego potrošite sprej



Može se koristiti
u različitim položajima



Brzo se suši



Ne curi



CIJENA
48,53 kn
+ PDV

infekciozni pododermatitis i interdigitalna flegmona potrebne su dvije primjene u razmaku od 30 sek., 1-2 puta na dan. Ovisno o ozbiljnosti infekcije primjena treba trajati 1-3 dana.

Kontraindikacije: Ne koristiti kod životinja preosjetljivih na tetra cikline. Ne koristiti na vimenu životinja u laktaciji čije se mlijeko koristi za prehranu ljudi.

Posebna upozorenja: Područje na koje primjenjujemo sprej treba dobro očistiti. Ako sprej primjenjujemo na glavi, obavezno treba zaštititi oči životinje. Životinje treba spriječiti da ližu tretirano područje, kao i da ližu druge tretirane životinje. Nakon primjene na papcima, životinje treba držati na suhoj podlozi barem 1 sat.

Karencija: Meso i jestive iznutrice - 0 dana

Mlijeko - 0 dana

Rok trajanja: 18 mjeseci

Način čuvanja: Boca je pod pritiskom. Zaštiti od sunca i ne izlagati temperaturama višim od 50 °C. Ne čuvati na temperaturi nižoj od 25 °C. Ne rashlađivati ili smrzavati. Bocu ne bušiti niti spaljivati, čak i ako je prazna. Ne pušiti tijekom primjene.

GVA

Centralna Veterinarska Agencija d.o.o.

Zagreb; Utinjska 40; R. Hrvatska

tel: 01/2304-334; -335; mob: 091/4655-112; -113

fax: 01/6604-031; mail: cva@cva.hr

www.cva.hr

XXL ZAŠTITA!



Ataxxa®

permetrin, imidakloprid
spot-on solucija za pse



NE PRIMJENJIVATI MAČKAMA



Vaš izbor zaštite protiv buha i krpelja

Sadržaj 0,4 ml pipeta sadrži 200 mg permetrina i 40 mg imidakloprida. 1,0 ml pipeta sadrži 500 mg permetrina i 100 mg imidakloprida. 2,5 ml pipeta sadrži 1250 mg permetrina i 250 mg imidakloprida. 4,0 ml pipeta sadrži 2000 mg permetrina i 400 mg imidakloprida. **Indikacije** Za liječenje i sprječavanje infestacije buhama (*Ctenocephalides felis*). Buhe na psima uginjavu unutar jednog dana nakon primjene. Jedna primjena sprječava nove infestacije buhama tijekom četiri tjedna. Veterinarsko-medicinski proizvod (VMP) se može koristiti kao dio strategije liječenja alergijskog dermatitisa uzrokovanog buhama (FAD). VMP omogućuje neprekidnu akaricidnu učinkovitost protiv infestacija krpeljima (*Rhipicephalus sanguineus* i *Ixodes ricinus* tijekom četiri tjedna, a *Dermacentor reticulatus* tijekom tri tjedna). Moguće je da krpelji, koji su već pričvršćeni na psu, ne uginu unutar dva dana nakon primjene VMP-a te mogu ostati pričvršćeni i vidljivi. U vrijeme primjene VMP-a preporučuje se uklanjanje nepricvršćenih krpelja na psu, kako bi se spriječilo da se pričvrste i počnu hraniti krvlju. **Ciljne vrste životinja** Psi. **Kontraindikacije** Zbog nedostatka odgovarajućih podataka, VMP se ne smije primjenjivati štenadi mlađoj od 7 tjedana ili lakšoj od 1,5 kg. VMP se ne smije primjenjivati u slučaju preosjetljivosti na djelatne tvari ili na bilo koju pomoćnu tvar. VMP se ne smije primjenjivati mačkama.

Samo za liječenje životinja. Prije uporabe pročitati kompletnu uputu u lijeku.

KRKA-FARMA d.o.o.
Radnička cesta 48, 10000 Zagreb
www.krka-farma.hr



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

Zakonski propisi o načinu klanja životinja, prodaji mesa i proizvoda životinjskog podrijetla od 13. stoljeća do 1916. g. u Republici Hrvatskoj - (I. dio)

P. Džaja, K. Severin, D. Agičić, M. Benić, Zrinka Perić, J. Grbavac i Ž. Grabarević*



Srednjovjekovni Statuti naših otoka i priobalnih gradova postoje od 13. stoljeća, a možda i prije jer se smatra da su neki Statuti postojali i prije, ali nisu sačuvani u pisanom obliku. Ovi Statuti uređuju društveno pravni odnos među žiteljima otoka i priobalnih gradova, njihove obveze i prava. Oni samo u manjem dijelu reguliraju odnos ljudi prema životinjama kako u smislu čuvanja životinja tako i naknade štete učinjene

od životinja bilo da je ona nastala na plodnim njivama, vinogradima i sl., zatim naknade štete počinjene na životinjama te obveze pastira prema vlasniku životinja i sl. Oni propisuju pravila postupanja s mesom, ribom, sirom, kožom i medom. Neki Statuti propisuju cijenu pojedinih vrsta mesa s obzirom na životinju od koje potječe, starosti životinje, ugojenosti, datum

Dr. sc. Petar DŽAJA*, dr. med. vet., redoviti profesor (dopisni autor, e-mail: dzaja@vef.hr), dr. sc. Krešimir SEVERIN, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Željko GRABAREVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Damir AGIČIĆ, dr. med. vet., Uprava za veterinarstvo, Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Marijan BENIĆ, dr. med. vet., Sanatio, d.o.o., Hrvatska; Zrinka PERIĆ, dr. med. vet., Pia-vet. d.o.o., Hrvatska; dr. sc. Jozo GRBAVAC, dr. med. vet., docent, Agronomski i Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Mostaru, Bosna i Hercegovina

prodaje i dr.^{1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15}
 Prodaja mesa dopuštena je bila samo u mesnicama uz obvezno vaganje, a ribe u ribarnicama, u suprotnom su se plaćale kazne.^{16 17 18 19 20 21 22 23 24}
 U nekim gradovima postojali su nadzornici mesa i prodaje mesa, sira i ribe.^{25 26 27} Prodavatelji ribe nisu smjeli sjediti pokrivene glave.^{28 29 30} Nitko u mesnicama nije smio prodavati

crkotine^{31 32}, a u slučaju bolesti životinje su se mogle voditi samo u klaonicu, a strogo je bilo zabranjena prodaja smrdljive ribe.³³ U nekim je slučajevima bila propisano da se meso uginulih životinja moglo prodavati izvan klaonice bez kazne,³⁴ a u drugim slučajevima bilo je zabranjena prodaja nezdrava mesa ili crkotine na trgovima.³⁵ Isto je tako bilo propisano da se svaka osoba koja otruje hranom drugu osobu kažnjavala na smrt vješanjem, a žene su spaljivane.³⁶ U Zagrebu su od 1450.-1480. izdani propisi o pregledu mesa. Za mesara kod kojega se dokazalo da je klaao nezdrave životinje i prodavao pokvareno meso bile su predviđene stroge kazne (Zavrnik, 1931.). Ocjenjivanje tržišne vrijednosti mesa vršila su 2 nadziratelja, procjenitelja mesa. Jednog su imenovali građani, a drugog su birali suci. Blago čije je meso bilo namijenjeno prodaji u mesnici nije se smjelo zaklati bez znanja procjenitelja. Klanje se moglo obaviti u klaonicama koje su bile izvan grada. Govedina se prodavala samo u mesnicama, a svinjetina se mogla prodavati i na trgu. U mesnici se nije smjelo prodavati meso bolesnih i suviše mršavih životinja te prljavo i pokvareno meso. Meso bolesnih životinja se oduzimalo i bacalo psima, a cijene mesa su bile administrativno propisane (Strahonja, 1977.). U Hrvatskoj kajkavštini protokole mesarskoga ceha vodili su „cehmeštri“ od 1589. do 1708. g. Predčasnik mesarskog obrta bila je crkvena bratovština Tijela Kristova koja se spominje u 15. stoljeću. Mesari su bili bogati obrtnici, a njihov ceh bio je veoma cijenjen što potvrđuje i njihov oltar u varaždinskoj župnoj crkvi s lijepim nizozemskim lusterom i cehovskim klupama. Mesarski je ceh imao stroga

- 1 Korčulanski statut o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 21, 43-47.
- 2 Lastovski statut iz 1310.g. o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 22, 78-80.
- 3 Splitski statut (1312.) o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 21, 60-63.
- 4 Rapski statut iz 1328. g. o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesnik 23, 44-46.
- 5 Hvarski statut. Književni krug Split.
- 6 Mljetski statut. Književni zavijačni klub Mljet. Split-Dubrovnik.
- 7 Krčki (Vrbanski statut iz 1388). Krk.
- 8 Senjski statut iz 1388. Senj. zb. 34, 5-160.
- 9 Statut grada Trogira. Književni krug Split.
- 10 Trogirski statut o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrvatski vet. vjesn. 22, 56-61.
- 11 Poljički statut. Književni krug Split.
- 12 Veprinac, Kastav, Trsat (2007): Adamić-Rijeka.
- 13 Statut grada Bala. Adamić-Rijeka.
- 14 Mošćenički zakoni i statuti. Adamić-Rijeka.
- 15 Šibenski statut o životinjama, proizvodima životinjskog podrijetla, pastirima i lokvama. Hrvatski vet. vjesn. 22, 48-54.
- 16 kao 1
- 17 kao 3
- 18 kao 5
- 19 kao 8
- 20 Statut paške općine. Pag-Zagreb.
- 21 kao 11
- 22 kao 13
- 23 kao 14
- 24 kao 12
- 25 kao 3
- 26 kao 5
- 27 kao 15
- 28 kao 4
- 29 kao 5
- 30 kao 9

- 31 kao 3
- 32 kao 15
- 33 kao 4
- 34 kao 5
- 35 kao 11
- 36 kao 13

pravila koja je potvrđivao kralj. Cehom je upravljao cehmeštar koji je od članova ceha biran na godinu dana. Neki su u cehu bili tako ugledni da su birani za gradske suce. Među najuglednijim u 17. stoljeću bio je Petar Riđanec. Djetići (pomoćnici) su imali svoj ceh kojemu je na čeku stajao jedan od mesarskih majstora. U pravilima ceha bili su vrlo strogi propisi za crkvene dužnosti majstora, pomoćnika i naučnika, a ceh je pomagao udovice mesara i mesarske djece bez roditelja. U 15. stoljeću Varaždin je imao svega 2500 žitelja, a mesara koliko i puno veći Graz. Toliki broj mesara mogao je preživjeti jer su se uz prodaju mesa bavili prodajom životinja i koža susjednim državama. Za higijenu se brinula gradska općina i uprava ceha. Klanje je bilo dopušteno samo izvan unutrašnjosti grada, jer je u suprotnom sudac zapečaćivao klupe za rasijecanje mesa. Nadzor se vodio u pogledu higijene, mjesta klanja, točnosti vaganja, prekoračivanje cijena. Bile su stroge kazne u slučaju klanja bolesnih krava i prodaje pokvarenog mesa. Kazne su bile novčane, zatvorske i zabrane rada na godinu dana. U slučaju pojave neke zarazne bolesti klanje je bilo zabranjeno (Rapić, 1970.). u Osijeku 1697. nalazimo prve mesare: Eberhardt, Geleschitz, Hummer, Medvecko, Reiuch i Wolbolfl.

Među prvim pravnim dokumentima koji reguliraju pregled stoke prije klanja i pregled mesa za javnu potrošnju Carska naredba izdana za područje Vojne krajine to 13. 12. 1846. g.³⁷ i koja je vrijedila do njena razvojačenja 1873. g. Seljaštvo se 1851. g. upozorava da je patvorenje vina, meda, mlijeka, masla i sl. kuhanim i zgnječenim krumpirom, vodom, zemljom, suhim komom kažnjivo kaznenim zakonom.³⁸

Naredba iz 1877. g. br. 2355 koju je potpisao ban Ivan Mažuranić je

propisivala da je svako mjesto gdje se obavljalo rasijecanje mesa trebalo imati dovoljan broj „razgledavača“ za marvu i meso te za to vješte osobe koje su ih mogle zamijeniti. Pregled marve za klanje i mesa za ljudsku uporabu obavljali su živinari, konjski vidari, ranari ili liječnici, a u mjestima gdje nije bilo ovih osoba njih je zamjenjivao neki drugi općinar koji je trebao biti pismen i nepodmitljiv te nije smio biti u srodstvu s osobama koje se bave prodajom i proizvodnjom mesa i proizvoda. Primarno je trebalo razlikovati zdravo od promijenjenog mesa. Obrtnik koji je tržio mesom, životinjama za klanje goveda, telića, ovaca, koza i svinja trebao je osigurati da se iste pregledaju 24 sata prije klanja, dok ostali koji su klali, a nisu obrtnici, bili su u obvezi klanje goveda prijaviti. Zabranjivala se prodaja ne pregledana mesa, a svako novokupljeno govedo, ako se nije odmah klalo, moralo se 10 dana držati odvojeno od ostale stoke. Po kaznenom zakonu obrtnik koji je prodavao ne pregledano meso kažnjavao se prvi put globom od 25-200 forinti i gubitkom novca ili mesa, a drugi put dvostruko više. Isto tako su bile propisane kazne za one koji bi zatajili bolesnu životinju i na taj način bi doprinijeli širenju zarazne bolesti. Za vrijeme pregleda „razgledavač“ je promijenjeno meso odstranjivao i uništavao, a pripadala mu je nagrada iz općinskih sredstava. Samo je zdrava živinčad dobivala „razglednicu“, a u slučaju da je neka životinja bila bolesna ili sumnjiva na bolest, a vlasnik ju je želio zaklati na svoj trošak, u takvim slučajevima tek kada bi se „razgledavač“ uvjerio da je živinče zdravo isto je moglo dobiti dopusnicu. U slučaju da se prije ili poslije klanja dokazalo da je živinče bilo bolesno, a vlasnik ga o svojom trošku nije želio zaklati, takav slučaj „razgledavač“ je prijavljivao općinskom načelniku koji je zabranjivao da se takvo živinče pod rukom zakolje i da se meso od njega potroši. U slučaju

37 Naredba o obveznom pregledu životinja prije klanja i pregledu mesa namijenjenog javnoj potrošnji. 13. 12. 1846. B 5770.

38 Okružnica od 17. 11. 1851. g. br. 18115.

nezadovoljstva vlasnika životinje o nalazu živinčeta bolesnim zbog čega nije mogao dobiti razglednicu, isti je mogao svoje primjedbe iznijeti općinskom načelniku koji je o trošku protutužitelja zatražio druge strukovnjake koji su trebali ispitati predmetno živinče na osnovu čijeg se pregleda odmah dopuštalo, ili zabranjivalo klanje istoga. „Razgledavači“ marve bili su dužni barem svakih 14 dana pregledati mesnice i ostala tržišta svježeg ili priređena mesa i druge prostorije takvih stranaka, njihove sprave i pri tome paziti potječe li meso koje trže od zdrave marve, a ako opaze neku sumnju odmah je trebalo obavijestiti općinskog načelnika. Razglednica izdana po „razgledivaču“ stranci, ovlašćivala ju je na trženje prijesna, svježeg nepokvarena mesa samo na neko vrijeme i to za vrijeme mjeseca svibnja, lipnja, srpnja i kolovoza najdulje 3, a ostala doba godine 4 dana. U svakom mjestu gdje je bilo više mesara trebala je biti jedna zajednička klaonica.³⁹

Ovu Naredbu popratilo je Naputak-za „razgledavače“ marve i mesa, a koji se odnosi na: razgledavanje žive marve za klanje, razgledavanje unutarnjih organa (čestih) zaklanih životinja, razgledavanju mesa ili drugih čestih zaklanih životinja na tržištu, dakle mesa prijesna, kuhana ili prgotovljena, kao i načina, kojim se jestive životinjske česti za čuvanje prerađuju i drže pa i o čistoći i propisanom držanju klaonica, mesnica itd. Mršavo živinče nije bilo za klanje. Meso mršavih životinja kod kojih je količina masti mala za hranu ljudi manje je vrijedilo nego meso dobro uhranjenih životinja, kao i meso mršavih životinja, a koje su bile prije dobroga gojnog stanja prešlo je u loše. Navedene su bolesti životinja od kojih meso nije valjalo, te se zabranjivalo, ili samo dijelom, uvjetno

dopušteno. „Razgledavač“ mesa bio je dužan da poglavarstvu općine odmah prijavi kad se kod koje životinje primijete bjesnoća, otrovanje bedrenica, slinavka i šap, gnjiloća pluća, griža, stroka, goveđa kuga, ikravost. Od bolesti marve za klanje (posjek), uz koje se potrošnja mesa mogla dopustiti, pod manju cijenu i za vlastitu uporabu, jer zdravlju nije škodljivo su: žljezdobolja, sušica, mekušnost kostiju, proljev mokraćne, metiljavost, vrtoglavost, klapajica, ovčja sakagija. Klanjem pod silu podrazumijevalo se klanje zbog frakture pod uvjetom da je ozljeda svježja, kad živinčetu u grlu stane, kad se živinče nadme, kad se izvali plodnica ili kad se iz nje podlije krv.⁴⁰

U slučaju udara groma u neko zdravo živinče te ako isto odmah uginu ukućani su mogli jesti to meso, a prodaja mesa od ovako stradale životinje se kažnjavala. U slučaju da živinče nije uginulo te je unutar 24 sata od događaja zaklano, meso se moglo uporabiti kako je gore navedeno, a ako se držalo duže vremena bolesno te se onda klalo od njega se mogla uporabiti samo koža, a meso nije bilo za ljudsku uporabu te se moralo zakopati.⁴¹ Zabranjena je bila prodaja gnjilih i trulih riba te se zahtijevalo da se zabrani prodaja pečene i sirove ribe po sajmovima, proštenjima i gostionicama. Ovlaštenim ribarom i zakupnicima ribolova dopuštalo se živu ribu prodavati, ako je riba hvatana u živoj vodi, o čemu je valjalo doprinijeti svjedodžbu dotične općine. Sušene ribe iz mrtve vode bezuvjetno su zabranjivane i morala se svagdje uništiti gdje se kod zatekla. Nad prodajom suhe ribe trebalo je posebno bdjeti, a nagnjilu i meku ribu trebalo je zapremeti i uništiti.⁴² Da se

39 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade odjela za unutarnje poslove, od 5. 5. 1877. br. 2355. i zatim naredbe ces. kr. glavnoga zapovjedništva u Zagrebu kao krajiško-zemaljske upravne oblasti, od 30. 6. 1880. g. br. 6454 o razgledbi marve za klanje i mesa.

40 Naputak-za razgledavače marve i mesa.

41 Naredba kraljevsko hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 21. rujna 1881. g. br. 17771. kojom se izdaje naputak, kako se ima postupati s mesom goveda ubijenih munjom.

42 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade odjela za unutarnje poslove, od 24. 8. 1875. g.

spriječi prodaja nezdravih i pokvarenih riba, rakova i školjaka za ljudsku hranu te time zaštititi zdravlje ljudi, određuje se: prije rasparčavanja ribe, rakova i školjaka prodavatelj je iste morao dati pregledati nadležnom organu, koji će ustanoviti jesu li navedene životinje svjež, zdrave i za ljudsku hranu prikladne. Pečena riba i suha riba mogla se prodavati javno bude li prilikom stručnog pregleda u vrijeme prodaje za ljudsku hranu pronađena prikladnom, tj. da nije gnjila ili pokvarena. Pregled se obavljao na mjestu dopreme prije prodaje, a pregledavale su se škrge. Ovaj pregled obavljao je uredovni veterinar, a gdje ga nije bilo, uredovni liječnik, a gdje nije bilo ni jednog ni drugog taj posao je obavljao „pregledavač“ marve i mesa⁴³. Meso peradi, riba, divljači, rakova, mekušaca, žaba i kornjača moglo se uvažati u Švicarsku samo u čitavom stanju.⁴⁴ Nevaljale ribe, rakovi i školjke su se uništavale pod nadzorom stručnjaka ili povjerenika. Ako je strana time zadovoljna, a ako nije trebala je tražiti da na pregled iziđe veterinar višeg čina.⁴⁵

Iz Zakona o veterinarstvu iz 1888. g. proizlazi da su mesari, trgovci marvom i tovitelji marve bili dužni u roku od 12 sati prijaviti općini marvu koju su kupovali ili dopremali te općini predati na daljnju pohranu marvinske putnice. Marva mesara i marvinskih trgovaca,

koja je izvana dopremljena smjela je na pašu samo odijeljena od domaće stoke, a morala se držati odijeljenom od domaće marve punih 8 dana, računajući od drugog dana, kada je dopremljena. Dok je trajala neka marvinska pošast, vlastne oblasti su zabranjivale mesarima i trgovcima marvom zalaziti u tuđe staje. U gradovima i u mjestima gdje se trošilo mnogo mesa, smjela su se goveda klati samo u javnim klaonicama. Mjesta podizanja javnih klaonica određivala je vlada na prijedlog županijskih upravnih odbora. Kod konja, goveda i kod obrtnog klanja ovaca, koza i svinja valjalo je da živinče, prije nego li bude zaklano i nakon klanja, pregleda uredovni veterinar. Gdje nije bilo uredovnog veterinara određivao se poseban povjerenik koji je pregledavao marvu. Zemaljska vlada trebala je ustanoviti, to jest naredbom propisati koja mjesta će se odabrati za klaonice, kako bi se osposobili povjerenici „pregledavači“ marve te kojim se načinom životinje pregledavaju. Naputkom je bilo propisano mjesto pravljenja klaonica (izvan mjesta, nepristupačno za životinje, čvrsta temelja, tako zidane da se mogu lako očistiti). Klaonički otpad mogao je ići u tekuću vodu, a voda ispod klaonice nije se mogla rabiti za napajanje stoke. Ako se klaonica nije mogla izgraditi uz tekuću vodu moralo se pobrinuti za zdenac, ili za vodovod s izgrađenom odložnom jamom, a ona i odvod su se svaka 24 sata morali okužiti, a pribor i oprema nakon svake uporabe. Goveda su se mogla bezuvjetno klati samo uz nazočnost povjerenika za pregledavanje, a ovce, koze i svinje ako su namijenjene za javnu potrošnju. Poslove „pregledavača“ marve za klanje bezuvjetno je obavljao uredovni veterinar, gdje ga je bilo, a samo tamo, gdje uredovnog veterinara nije bilo, moglo se pregledavanje povjeriti

br. 16099 o prodaji ribe za javni potrošak. str. 102.

43 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjel za unutarnje poslove od 16. 9. 1908. g. br. 1355, o strukovnoj pregledbi riba, raka i školjaka namijenjenih javnom potrošku.

44 Okružnica kr. hrv.-slav.-dal. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 5. 3. 1910. g. br. III. B. 3158/2 ex 1909. glede uvoza mesa od peradi, riba, divljači itd. u Švicarsku.

45 Naredba kr.-hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za narodno gospodarstvo, od 9. 10. 1915. br. III.2224, kojom se preinačuje čl. 6 naredbe kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 6. 9. 1908. br. 1355, o strukovnoj pregledbi riba, raka i školjaka, namijenjenih javnom potrošku.

„sukromnomu“ veterinaru, a gdje i njega nije bilo, posebnome povjereniku koji je morao za taj posao biti osposobljen. Ovaj je povjerenik morao biti stanovnik općine, čudorednoga ponašanja, dovoljno vješt u poznavanju zdrave i bolesne živine te sposoban za vođenje zapisnika marve za klanje.⁴⁶ Izrazito pravo na rasprodaju košer-mesa pripadala je članovima izraelske crkvene općine. U pogledu sjećanja „košer mesa“ članovi crkvene općine mogli su sami sjeći meso, davati u zakup i ustanoviti uvjete pod kojim se prepušta sječa košer mesa. Bila je propisana kazna od 20 do 200 forinti za one koji su prodavali košer meso, a da nisu bili ovlašteni od izraelske crkvene općine.⁴⁷ Povjerenici postavljeni za preglede životinja (marve) za klanje i meso, neposredno su od stranke ubirali pristojbe za pregledavanja. Nadopunjuju se pojedini članci iz Naredbe od 1877. i 1880. (broj 2355 i 6454) na način da je u čl. 10 općinama prepušteno da s „razgledavačima“ sklope pogodbu koja je postojala valjana tek nakon odobrenja od podžupanijske vlasti. Tako se mijenja čl. 51 Zakona o veterinarstvu koji glasi: „Nagradu za pregledavanje ustanovljivalo je općinsko zastupstvo dogovorno s pregledavačem. Gdje nije došlo do sporazumijevanja nagradu je određivala kr. kotarska oblast saslušavši mišljenje uredovnog veterinara koji nije stranka. Ako je uredovni veterinar bio stranka, mišljenje je trebao dati veterinar višeg ranga, odnosno zemaljski nadzornik za veterinarstvo. Ovom naredbom izričito je zabranjeno neposredno pobiranje spomenutih pristojbi po povjereniku od stranki, a nije ukinuto staro pravilo da povjereniku pripada nagrada za

razgledbu iz općinskih sredstava“.⁴⁸ Dvije godine kasnije propisana je pristojba za pregled zaklanih životinja koja su se dopremala željeznicom⁴⁹. Za stručni pregled životinja, što se na Varaždinskoj gradskoj klaonici klala izvan za to određenog vremena, a koje su bile opredijeljene za izvoz u inozemstvo, otprema bilo kuda izvan područja grada Varaždina, pripadala je gradskom uredovnom veterinaru, ako mu stranke nisu dale podvoz u naravi, propisanu mjesnu pristojbu za podvoz na gradsku klaonicu i natrag, kao i posebne pregledne pristojbe od svake životinje napose. Za pregled životinja, koje su klane na varaždinskoj gradskoj klaonici izvan za to određenog vremena, a opredijeljene su za potrošnju u gradu Varaždinu, nije pripadala gradskom uredovnom veterinaru nikakva „pregledbena“ pristojba, nego ako stranka nije dala podvoz veterinaru u naravi –propisana je mjesna pristojba za podvoz na klaonici i natrag⁵⁰. Propisana je pristojbu za pregled stoke u svrhu izdavanja dozvole za klanje zabranjenih vrsta goveda. Trebalo je uvesti jednoličan postupak i to za pregled ženske teladi za njezinu rasplodnu sposobnost i za izdavanje potvrde o nalazu dozvole klanja, uredovnom veterinaru nije pripadala nikakva pristojba. Za jednostavni pregled junica i krava na njihovu rasplodnu sposobnost, a ako nije za ustanovljenje steonosti, odnosno

46 Zakon ob uređenju veterinarstva u kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji 27. 8. 1888. g.

47 Naredba bana kraljevina Hrvatske, Slavonije i Dalmacije od 19. 11. 1889. g. br. 41506 glede prodavanja „košer“ mesa.

48 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 28. rujna 1895. g. br. 49170 glede ubiranja pristojba za pregledbu marve za klanje i mesa za javni potrošak.

49 Rješitba kr. zem. vlade., o.z.u.p., od 14. 10. 1902. br. 74306 glede veterinarskih pristojba za pregledbu zaklanih životinja, što se dopremaju željeznicom.

50 Načelna rješitba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 6. 2. 1904. g. br. 74926 ex 1903., upravljena na kr. velikog županja u Varaždinu glede veterinarskih pristojba za pregledbu životinja zaklanih na varaždinskoj klaonici izvan za to opredijeljenog vremena.

jalavosti potrebno unutarnje, manualno pretraživanje jajnjaka i rodnice te izdavanje svjedodžbe, a nije pripadalo uredovnom veterinaru za pregled, nije pripadala nikakva pristojba. Za unutarnje manualno pretraživanje rodnice i jajnika u svrhu ustanovljenja steonosti, odnosno jalavosti pripadala je uredovnom veterinaru po traženom grlu pristojba od 5 kruna, dok je za izdavanje svjedodžbe, odnosno dozvole za klanje nije pripadala nikakva daljnja pristojba⁵¹.

Glede uporabe mesa i masti životinja oboljelih na ikričavost (ikravosti) mijenjaju se dosadašnji propisi: Meso goveda i svinja i slanina od svinja koje su болоvale od ikričavosti radi zametaka trakavice koji su se mogle naći u pojedinim ikricama, a čije je meso u kojemu se iste nalaze štetno za zdravlje ljudi, zabranjivala se uporaba takvog mesa i slanine, kao i svih ostalih organa takovih životinja za ljudsku hranu. U slučaju nalaza manjeg broja ikrica mogla se uporabiti mast za javnu potrošnju, a u većem broju slučajeva samo za privatnu uporabu i to onda ako se slanina u prisustvu „razgledavača“ na žestokoj vatri istopi. Isto je vrijedilo i za meso goveda i svinja pod uvjetom da se isto podvrgavalo visokoj temperaturi kuhanja. Uporaba mesa i slanine od ikričavih životinja za pravljenje sapuna i sl. bilo je dopuštena bez obzira na stupanj ikričavosti. Prije se takvo meso pred veterinarom moralo učiniti neškodljivim. U svakom drugom slučaju meso se ikričavih životinja neškodljivo uništavalo osim kože goveda.⁵² Dopusšten je bio uvoz

mesa u kraljevine i zemlje zastupane u carevinskom vijeću pod uvjetom da je meso pratila svjedodžba iz koje je bilo vidljivo da ono potječe od živih i nakon što su zaklane zdravim proglašenih životinja. Tako je strogo bio zabranjen transport mesa bez svjedodžbe, ili mesa kojega je pratila svjedodžba, a koja nije dokazivalo gore navedeno.⁵³ Meso goveda i svinja oboljelih od lokalizirane tuberkuloze, gdje je bolest ograničena na pojedine organe jedne tjelesne utline (pleure), kod oboljenja jednoga ili više abdominalnih organa moglo se rabiti za javnu potrošnju samo u slučajevima gdje dotična životinja uslijed bolesti nije jako omršavila. Kod jake mršavosti, iako se radi o lokalnoj tuberkulozi, meso se nije moglo rabiti za javnu potrošnju te se moglo uporabiti za tehničke svrhe. Bolesni organi morali su se uništiti kao i sve meso na kojemu su nađene tuberkulozne promjene. Meso goveda i svinja koje su болоvale od opće generalizirane tuberkuloze, gdje je bolest razgranjena po svom organizmu, što znači da je mikroorganizam krvlju raznesen po organizmu, meso se uništavalo. Iznimno kod generalizirane tuberkuloze kad su patološke promjene bile ograničene na pojedine organe te gdje su promjene zacijelile, a životinje nisu jako omršavile meso se iznimno moglo koristiti za javnu potrošnju. Mlijeko krava koje boluju od tuberkuloze vimena moralo se od javne potrošnje isključiti. U slučaju prijepora između stranaka mjerodavno je bilo mišljenje višeg „čina.“⁵⁴ Propisano je izdavanje izkaznica za životinjske sirovine koje se otpremaju na Rijeku⁵⁵. Godine 1906. g. izdaju se

51 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za narodno gospodarstvo od 23. 7. 1915. g., br. I.2182/13, o pristojbama uredovnih veterinarara za pregledbu stoke u svrhu izdavanja dozvola za klanje zabranjenih vrsta goveda.

52 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 28. 2. 1898. g. br. 53451 ex 1897. glede uporabe mesa i masti životinja, oboljeli na ikravosti, a kojom se nadopunjuje odnosno mijenja točka 9 slova A. naputka za razgledavače marve uvedena naredbom od 5. 5. 1877. br. 2355.

53 Okružnica kr.-hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 18. 5. 1900. g. br. 26091 glede dopreme svježeg mesa u kraljevine i zemlje, zastupane u carevinskom vijeću.

54 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 26. 12. 1901. g. br. 86270, glede uporabe mesa i mlijeka od životinja koje boluju na tuberkulozi.

55 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 31. svibnja 1904. g. br. 49655 glede uredovnih izkaznica za živo-

propisi o pregledu svježeg mesa za izvoz, koji obavljaju uredovni liječnici⁵⁶, a 1907. g. zabranjuje se uvoz i rasparčavanje Irnol sredstva za konzerviranje mesa i kobasica.⁵⁷ Ugovorom između Austrije i zemalja Krune sv. Stjepana propisano je da se sa životinjama i životinjskim proizvodima i predmetima, kojih se hvata kuživo, dolazećim iz jedne države, postupa kao u drugoj državi, to jest onako kako se postupa sa sličnim pošiljkama, koje potječu iz vlastitog područja. Svjedodžba je jamčila da za 40 dana prije otpreme nije vladala prijemljiva bolest u općinskom području i u susjednim općinama. Šuga ovaca nije se uzimala u obzir kod šuge kopitara, a šuga kopitara kod svjedodžbe na ovce. Iskaznica o podrijetlu i zdravlju vrijedila je 8 dana. U slučaju pojave goveđe kuge moglo se ograničiti ili zabraniti uvoženje preživača, životinjskih sirovina te predmeta kojih se kuživo hvata. U slučaju plućne zaraze kod goveda, slinavke i šapa, svinjske kuge i druge „opasne“ bolesti putem prometa u drugu državu, vlada države davala je pravo ograničenja ili zabrane uvažanja za dotičnu bolest osjetljivih životinjskih vrsti iz upravnog kotara u koje je spadalo ono mjesto iz kojeg je okužena otprema potekla. Uvezene svinje trebalo je zaklati u roku od 8 dana.⁵⁸ Godine 1908. izdaje se Naredba o strukovnom

pregledu riba, rakova i školjki.⁵⁹ Kako se došlo do saznanja da veterinari ne pregledavaju životinje prije klanja 1909. g. izdaje se Naredba glede zapisnika o klanju životinja. Strogo je bilo naređeno pregledavanje životinja na željeznicama i parabrodskim postajama.⁶⁰ Dopušten je bio uvoz kobasica u Švicarsku za mortadelu, salamu od lopatice, salamu od pisane pečenke, krakovske i debrecinske kobasice, smotanu šunku, jetrene kobasice, getski cervelat kobasice, mesne kobasice.⁶¹ Bila je propisana kvota uvoza pojedinih životinjskih vrsta iz Crne Gore. Godišnje se bez carine moglo iz C. Gore uvesti 6000 goveda koja po glavi nisu smjela biti teža od 300 kg, 20 000 ovaca, koza, jaradi ili janjadi za klanje koja su se morala obaviti čim prije, a meso se trebalo potrošiti u općinama Kotarskog satništva u Kotoru. Trebalo je dokazati da su životinje zdrave i da su 40 dana slobodne (proste) od zaraze. Nadalje bez carine je bilo odobreno uvesti 1000 metričkih centi sušene ovčetine ili bravetine za istu namjenu.⁶² Uvoz životinja i životinjskih proizvoda i sirovina propisan je bio s Grčkom, Turskom, Bugarskom, Rusijom,

tinjske sirovine, koje se odpremaju na Rieku.

- 56 Propisi o pregledu svježeg mesa za izvoz koji trebaju obaviti uredovni liječnici od 15. 12. 1906. br. 66343.
- 57 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade odjela za unutarnje poslove od 1. 11. 1907. g. br. 56764. kojom se zabranjuje uvoz i rasparčavanje „Irnol-a“ sredstva za konzerviranje mesa i kobasica.
- 58 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 13. 2. 1908. g. br. III.-B. 96/3. izdana sukladno sa naredbom gospodina kr. ugarskog ministra poljodjelstva od 31. 12. 1907. br. 100000 /III.3.1907. kojom se proglašuje ugovor sklopljen između Austrije i zemalja krune sv. Stjepana, glede uređenja uzajamnih trgovačkih prometnih odnosa te k istom spadajućih provedenih modaliteta. Nadopuna Naredba 16. 7. 1912. br. III 1695/2.

59 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 16. 9. 1908. br. 1355 o strukovnoj pregledbi riba, raka i školjaka namjenjenih javnom potrošku.

60 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 26. 3. 1909. br. III. B.709. glede pregledbe životinja, koje se kolju za izvoz u Austriju i glede vođenja zapisnika na postajama za tovljenje marve.

61 Okružnica kr. hrv.-slav.-dal, zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 7. 6. 1910. g. br. III. B. 1745 glede uvoza kobasica u Švicarsku.

62 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, 12. 6. 1912., br. III.B.1280/1., izdana sukladno s naredbom kr. ug. ministra poljodjelstva od 9. 3. 1912., br. 22000/III/3. kojom se oglašuju ustanove o veterinarsko-redarstveninom rukovanju sa životinjama i mesom iz kraljevine Crne Gore.

Srbijom i dr.^{63, 64, 65, 67} Propisano je da od 16. 12. 1915. do 15. 1. 1916. g. cijena za topljenu (taljenu) svinjsku mast bude 700 kruna, za salo i drugu sirovinu netopljenu svinjsku mast 660 kruna, za svježu sirovu slaninu 620 kruna za cijelo područje Ugarske krune po metričkoj centi (100 kg) čiste težine. Od 16. 1. do 15. 2. 1916. cijena za topljenu mast je 650 kruna, za salo i drugu netopljenu svinjsku mast 610 kruna, a svježu sirovu slaninu 590 kruna. U razdoblju od 16. 2. uključivo do 15. ožujka 1916. za topljenu svinjsku mast 600 kruna, salo i drugu netopljenu svinjsku mast 560 kruna, za svježu sirovu slaninu 540 kruna. Poslije 16. ožujka za

topljenu svinjsku mast 550 kruna, za salo i drugu sirovu netopljenu svinjsku mast 510 kruna, a za svježu slaninu 490 kruna.⁶⁸
Za 100 kg:

- za taljenu svinjsku mast od 16. 12. 1915. do 15. 1. 1916. bila je cijena 700 kruna,
- za salo i drugu sirovinu netopljenu svinjsku mast 660 kruna,
- svježa sirova slanina 620 kruna.
- od 16. 1. do 15. 2. 1916.-za topljenu svinjsku mast 6550 kruna, za salo i drugu sirovu netopljenu mast 610 kruna a svježu sirovu slaninu 590 kruna.
- od 16. 2. - 15. 3. 1916.- za topljenu svinjsku mast 600 kruna, za salo i drugu netopljenu svinjsku mast 560 kruna, i svježu sirovu slaninu 540 kruna.
- poslije 16. ožujka za topljenu svinjsku mast 550 kruna za salo 510 kruna, a za svježu slaninu 490 kruna⁶⁹. Kasnije će biti propisano da je potrebna iskaznice za otpremanje svake vrste svinjske masti, slanine i svinjskog mesa željeznicom, brodom ili automobilom u mjesta, koja su izvan područja zemalja Krune sv. Stjepana.⁷⁰

Zaklana telad, svinje, ovce i koze mogle su se bilo kojim načinom iz područja Kraljevine Hrvatske i Slavonije

63 Naredba kr.-hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 7. 7. 1914. br. XII.302/1, izdana sukladno s naredbom gospodina kr. ug. ministra poljodjelstva od 24.3.1914. br.43595/III.B. glede uvoza i provoza životinja, životinjskih sirovina i predmeta, prikladnih za raznos kuživa iz Grčke-proglašuju slijedeće odredbe.

64 Naredba kr.-hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za narodno gospodarstvo, od 7. 7. 1914. br. XII. 414, kojom se povodom obavijesti, da se je u Turskoj i to naročito u europskom dijelu Turske raširila goveđa kuga,-suglasno s naredbom kr. ug. ministra poljodjelstva od 20. 1. 1914. br. 42332 III B, što no ju je izdao sporazumno s gosp. c. Austrijskim ministrom poljodjelstva glede uvoza i provoza životinja, životinjskih sirovina i predmeta prikladnih za raznos kuživa, proglašavaju slijedeće odredbe.

65 Naredba kr.-hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za narodno gospodarstvo, od 15. 4. 1915. br. III.-497, kojom se oglašavaju ustanove o veterinarsko-redarstvenim rukovanju sa životinjama, životinjskim sirovinama i životinjskim proizvodima iz Bugarske.

66 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, 3. 7. 1912., br. III. B. 1910., izdane sukladno sa naredbom kr. ug. ministra poljodjelstva od 10. 6. 1910. br. 1708 PR. III./3. kojom se oglašuju ustanove o veterinarsko-redarstvenom rukovanju s pošiljkama peradi i životinjskim sirovinama, nadalje o uvozu i provozi životinja, životinjskih sirovina i predmeta, prikladnih za raznos kuživa iz Rusije.

67 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 3. 7. 1912. br. III. B 1912. izdana sukladno s naredbom kr. ug. ministra poljodjelstva od 19. 5. 1910. br. 2690 PR-/III/3. kojom se oglašuju ustanove veterinarsko-redarstvenom rukovanju sa životinjama, životinjskim sirovinama i predmetima, prikladnim za raznos kuživa iz Turske.

68 Naredba ug. ministarstva od 29. 11. 1915. br. 4291-1915. kojom se ustanovljuje maksimalna cijene, što se mogu tražiti za svinjsku mast, slaninu i svinjetinu.

69 Naredba kraljevina hrv.-slav.-dalm. odjela za narodno gospodarstvo od 12. 12. 1915. g. pod brojem III-2925 kojom se proglašava naredba kr. ugarskog ministarstva od 29.11.1915. g. br. 4291, a kojom se ustanovljuje maksimalna cijena što se može tražiti za svinjsku mast, slaninu i svinjetinu.

70 Naredba kraljevina hrv.-slav.-dalm. odjela za narodno gospodarstvo od 12. 12. 1915. g. pod brojem III-2926 kojom se proglašava naredba kr. ugarskog ministarstva od 29. 11. 1915. g. broj 4292 u predmetu iskaznica, potrebnih za otpremanje svake vrsti svinjske masti, slanine i svinjskog mesa željeznicom, brodom ili automobilom u mjesta, koje leži izvan područja zemalja svete krune Ugarske.

otpremiti na Rijeku samo uz veterinarsku svjedodžbu kojom se potvrđivalo da su dotične životinje prije i poslije klanja po nadležnom veterinaru pregledane i pronađene zdravim. Ovakve svjedodžbe smjeli su izdati, osim nadležnih veterinara i kr. kotarski (općinski) liječnici, ako su u dotičnom mjestu obavljali službu „razgledavača“ marve i mesa za ljudski užitak. Istovarivanje je bilo dopušteno na svakoj željezničkoj postaji bez obzira je li ona proglašena postajom za tovarenje marve ili nije⁷¹. Zaklane životinje goveda, teladi, ovaca i svinja ili pošiljke svježeg mesa, mogle su se u svrhu otpreme željeznicom (lađom) bilo kuda utovariti na svakoj za to prikladnoj željezničkoj postaji, bez obzira na to je li ta postaja za tovarenje marve određena ili ne. Pošiljka zaklanih životinja (svježeg mesa) što se otpremala željeznicom na Rijeku te u Kaljevinu Ugarsku, morale su biti popraćene (proviđene) svjedodžbom oblasnog veterinara, kojim je isti potvrdivao da je dotične životinje prije i poslije klanja pregledao i zdravim pronašao. Za pošiljke svježeg mesa koje su se otpremale samo unutar područja Kaljevine Hrvatske i Slavonije te na Rijeku, mogao je u mjestima gdje nema oblasnog veterinara, rečene certifikate izdati općinski, odnosno kotarski liječnik i to u slučaju ako je u dotičnom mjestu pregled marve i mesa za ljudski užitak. Za izdavanje ovakvih certifikata izdavatelju nije pripadala nikakva naknada.⁷² Dopušten je bio uvoz svinja i goveda iz zatvorenih područja Kaljevine Slavonije i Hrvatske u sanitarnu klaonicu Bečko Novo Mesto.⁷³ Iz općina u kojima

su nastupili sporadični slučajevi šuštačva ili bjesnoće životinje za klanje mogle su se uvažati na austrijske klaonice, ako su iste potjecale iz nezaraženih dvorišta i koja nisu u neposrednoj blizini zaraženog dvorišta. Iz općina u kojima je nastupio sporadičan slučaj bedrenice, životinje su se mogle uvažati, a za klanje uvoziti bez posebne dozvole, ako su potjecale iz nezaraženog područja, koja nisu bile u neposrednoj blizini zaraženog dvorišta.⁷⁴ Dopuštalo se klanje goveda i ovaca iz zemalja Krune sv. Stjepana te uvažanje neposredno u javnu klaonicu u Resenheim u području Kraljevine Bavorske, dočim su se gradovi Detmold i Lemgo u području Kneževine Lippe do daljnjega su se brisali sa spiska javnih klaonica koje su za takav uvoz određene.⁷⁵ Glede klaonica u Njemačkoj određenih za uvoz goveda i ovaca iz zemalja Krune sv. Stjepana⁷⁶ kao i okružnica glede marve za klanje uz postojeće odobrenje za klanja životinja u St. Galenu, Bazelu, Genfu, a bilo je dopušteno i u Zurichu i to volova, bikova, ovaca i svinja i to Savezno Švicarsko vijeće davalo je ovlast pojedinim osobama za uvoz.⁷⁷ Dopušten

br. III. B.1053. glede dozvole uvoza svinja i goveda iz zatvorenih područja kraljevina Hrvatske i Slavonije u sanitarnu klaonicu u Bečko Novo mjesto.

- 71 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 4. svibnja 1904. g. br. 27778 glede odpremanja zaklane teladi, svinja itd. na Rieku.
- 72 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 26. 12. 1904. g., br. 99481 glede strukovne pregledbe životinja i životinjskih sirovina prigodom otpremanja željeznicom ili lađom.
- 73 Okružnica kr.-hrv.-slav.-dalm. zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 12. 4. 1908.,

- 74 Naredba kr. hrv.-slav.-dalm.- zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove, od 30.1.1909.g. broj 768 izdana skladno sa naredbom gospodina kr. ug. ministra poljodjelstva od 29. 12. 1908. g. br. 118549 III./3 glede olakšanja uzajamnog prometa sa životinjama za klanje između kraljevina i zemlja zastupanih u carevinskom vieću i području kraljevina Hrvatske i Slavonije. Stavljena bezpredmetno van snage od 16. lipnja 1912. br. III.B.1695/2.
- 75 Okružnica kr. hrv.-slav.-dal., zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 16. 3.1909. g. br. III. B. 953/13-1908.
- 76 Okružnica kr. hrv.-slav.-dal., zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 3. 1. 1910. br. III. B.665/2 ex 1909. glede klaonica u Njemačkoj, opredijeljenih za uvoz goveda i ovaca iz zemalja krune sv. Stjepana.
- 77 Okružnica kr. hrv.-slav.-dal., zemaljske vlade, odjela za unutarnje poslove od 4. 2. 1910. g. br. III. B. 2981 ex 1909. glede uvoza marve a klanje u klaonicu u Zurichu.

je bio uvoz marve za klanje u klaonicu u Rorschachu bez posebne dozvole.⁷⁸ U navedene austrijske klaonice marva se mogla uvažati bez obzira na sporadične slučajeve šuštavca ili bjesnoće.

** Autori su koristili terminologiju povijesnih razdoblja koja su u radu izučavali.*

Sažetak

U radu je prikazan povijesni pregled postupka sa životinjama za klanje, mesa i drugih proizvoda od 13. stoljeća do 1916. g. navodeći pojedine zakonske propise koji su regulirali ovu tematiku. Tako se vidi da se na prostorima današnje RH od 13. stoljeća postoje pisani tragovi o odnosu hrvata prema životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Od tih dana naši srednjovjekovni Statuti propisuju pregled mesa, mesnica, ribarnica, cijenu mesa, način prodaje i sl. uz propisane kazne za prekršitelje navedenih propisa. Ova pravila donesena su u Statutima u kojima su ova pravila manji njihov dio, dok podzakonske akte koji su samo posvećeni ovoj temi prvi put susrećemo od 1846. g. i 1877. g. Donošenjem veterinarskog zakona 1888. g. uslijedit će mnogi drugi zakonski propisi koji reguliraju pregled životinja za klanje, pregled trupa životinja, pregled trupa iz nužde zaklanih životinja kao i pregled bolesnih životinja, a koji će se tijekom vremena nadopunjavati, mijenjati ili donositi novi. Iz prikazanih zakonskih propisa uočavamo uvjete izvoza zdravih i bolesnih životinja iz Kraljevine Hrvatske i Slavonije u Austriju, Ugarsku, Švicarsku i dr. zemlje, to jest pojedine klaonice koje su obavljale klanje životinja po vrstama kao unaprjeđivanje stočarstva u smislu zabrane klanje mladunčadi pojedinih životinjskih vrsta.

Ključne riječi: zakonski propisi, srednjovjekovni statuti, veterinarski zakon

Literatura

1. ČEPULO, D. (2011): Statut paške općine. Pag-Zagreb.
2. DŽAJA, P., K. SEVERIN i Ž. GRABAREVIĆ (2013a): Splitski statut (1312.) o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrv. vet. vjesn. 21, 60-63.
3. DŽAJA, P., K. SEVERIN, D. AGIČIĆ, J. MIHALJ, J. STOJANOVIĆ, A. LOKIN i Ž. GRABAREVIĆ (2013b): Korčulanski statut o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrv. vet. vjesn. 21, 43-47.
4. DŽAJA, P., K. SEVERIN, Ž. GRABAREVIĆ, D. AGIČIĆ i I. VRANJEŠ (2014a): Lastovski statut iz 1310.g. o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrv. vet. vjesn. 22, 78-80.
5. DŽAJA, P., K. SEVERIN, Ž. GRABAREVIĆ, D. AGIČIĆ i I. VRANJEŠ (2015): Rapski statut iz 1328. g. o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrv. vet. vjesn. 23, 44-46.
6. DŽAJA, P., K. SEVERIN, Ž. GRABAREVIĆ, D. AGIČIĆ i I. VRANJEŠ (2014b): Trogirski statut o životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Hrv. vet. vjesn. 22, 56-61.
7. DŽAJA, P., K. SEVERIN, Ž. GRABAREVIĆ, D. AGIČIĆ, I. VRANJEŠ i E. ŠATROVIĆ (2014c): Šibenski statut o životinjama, proizvodima životinjskog podrijetla, pastirima i lokvama. Hrv. vet. vjesn. 22, 48-54.
8. MARGETIĆ, L. (2006): Mošćenički zakoni i statuti. Adamić-Rijeka.
9. MARGETIĆ, L. (2007a): Senjski statut iz 1388. Senj. zb. 34, 5-160.
10. MARGETIĆ, L. (2007b): Statut grada Bala. Adamić-Rijeka.
11. MARGETIĆ, L. (2007c): Veprinac, Kastav, Trsat. Adamić-Rijeka.
12. MARGETIĆ, L. i P. STRČIĆ (1988): Krčki (Vrbanski statut iz 1388). Krk.
13. PERA, M. (1988): Poljički statut. Književni krug Split.
14. PETRINOVIĆ, I. (2002): Mljetski statut. Književni zavičajni klub Mljet. Split-Dubrovnik.
15. RAPIĆ, S. (1970): Varaždinski mesarski ceh. Rukopis.
16. RIMONDO, V. (1991): Hvarski statut. Književni krug Split.
17. RIMONDO, V. (1988): Statut grada Trogira. Književni krug Split.
18. SCHULZ, F. (1917): Zbirka zakona i naredaba tičućih veterinarstva. Tisak Kraljevsko zemaljske tiskare Zagreb.
19. SMREKAR, M. (1903): Priručnik za političku upravnu službu Kraljevinah Hrvatskoj i Slavoniji. IV Knjiga. Ignjat Granitz Zagreb.
20. STRAHONJA, E. (1977): Nadzor nad klanjem stoke i tržišni nadzor mesa u Varaždinu u XV stoljeću. Folia historica medicinae veterinariae 1, 15-22.
21. VUKOVIĆ, V. i L. KERN (1906): Zbirka zakona, naredba i propisa valjanih za kraljevine Hrvatsku i Slavoniju što se odnose na Veterinarstvo. Vilim Eisenstadter Zagreb.
22. ZAVRNIK, F. (1931): Naša veterinarska Historija. Jugosl. vet. vjesnik 10-11, 248-256.

The Legislation on the Method of Animals Slaughtering, Meat Sale and Products of Animal Origin from the 13th Century to 1916 in Croatia (Part I.)

Petar DŽAJA, DVM, PhD, Full Professor, Krešimir SEVERIN, DVM, PhD, Associate Professor, Željko GRABAREVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia; Damir AGIČIĆ, DVM, Veterinary Directorate, Ministry of Agriculture Republic of Croatia, Zagreb, Croatia; Marijan BENIĆ, DVM, PhD, Sanatio d.o.o., Croatia; Zrinka PERIĆ, DVM, Pia-vet d.o.o., Croatia; Jozo GRBAVAC, DVM, PhD, Faculty of Agriculture and Foodbiotechnology University of Mostar, Bosnia and Herzegovina

In this paper are presented historic overview of animals for slaughter, meat and other products from the 13th century to 1916 specifying certain legal regulations covering this subject. Thus can be seen that in the region of present-day Republic of Croatia from the 13th century exist written records on the relationship between the Croatian man to animals and animal products. Since those days our medieval statutes prescribe examination of meat, butcher, fishmarket, the price of meat, manner of sale, etc. with prescribed sentences for offender these regulations. These rules were adopted from the statutes in which these rules smaller part, while the by-laws that are just dedicated to this subject first encounter from the 1846 and the 1877. The adoption of Veterinary Act in 1888 will be followed by many

other legal regulations governing inspection of animals for slaughter, inspection bodies of animals, review of carcass referred emergency slaughtered animals, as well as an overview of diseased animals, and which will be supplemented over time, modify or make a new one. From the presented legislation can be observed conditions of export healthy and diseased animals from the Croatian and Slavonian Kingdom to Austria, Hungary, Switzerland and other countries *i.e.* certain slaughterhouses which performed the slaughter of animals by species as improving livestock production in aspect of prohibition the slaughter of offspring of certain animal species.

Key words: *Legislation, Medieval statutes, Veterinary act*



Odjel za veterinarsko javno zdravstvo

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Laboratorij za analitičku kemiju

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

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

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

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

Laboratorij za analizu veterinarsko-medicinskih pripravaka

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

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

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

Procapen Injektor 3g

(benzylpenicilin procaine)

Procapen injektor 3g intramamarna suspenzija - posebno formuliran preparat za liječenje mastitisa goveda izazvanog bakterijama iz roda *Staphylococcus* i *Streptococcus*, vrlo često izoliranim iz vimena goveda, a osjetljivim na benzilpenicilin.

PREDNOSTI

- * Pogodan i učinkovit tretman protiv *Stafilokoka* i *Streptokoka* u vimenu.
- * Odlično se resorbira u cijelo vime i ima dugotrajno djelovanje.
- * Optimalna dužina vrha injektora omogućava primjenu preparata u svaku četvrt vimena bez oštećivanja osjetljivog tkiva
- * Velika doza benzilpenicilina (3,000,000 I.J.)
- * Postiže visoku koncentraciju djelatne tvari u mlijeku.

PODACI O PROIZVODU

SASTAV: Svaki od 10 mL intramamarnog injektora sadržava 3,0 g benzilpenicilin prokaina.

FARMACEUTSKI OBLIK: Bijela do žućkasta intramamarna suspenzija.

CILJNE VRSTE ŽIVOTINJA: Goveda (mznua goveda).

INDIKACIJE: Liječenje infekcije vimena mznih krava uzrokovane bakterijama iz roda *Staphylococcus* i *Streptococcus* osjetljivim na benzilpenicilin.

NAČIN I PUTEVI PRIMJENE: Za intramamarnu primjenu. 3,0 g benzilpenicilin prokaina po zahvaćenoj četvrti vimena (3,000,000 I.J. penicilina), što znači - 1 **Procapen injektor** po četvrti vimena, svaka 24 sata kroz 3 uzastopna dana.

PREDOZIRANJE: Liječenje treba prekinuti ranije, nakon savjetovanja s veterinarom, u slučaju opasnosti od razvoja rezistentnih sojeva bakterija.

KARENCIJA: Meso i jastive iznutrice - 5 dana; Mlijeko - 6 dana.

ROK TRAJANJA: 36 mjeseci.

POSEBNE MJERE PRI ČUVANJU: Držati u hladnjaku (2°C - 8°C). Zaštititi od svjetla.

PAKOVANJE: Kartonska kutija sa 24 bijela intramamarna injektora od 10 mL.

1 DJELATNA TVAR = MANJE REZISTENCIJE

U SVIM BOLJIM VELEDROGERIJAMA

Zabrinuti zbog mastitisa ?



**Kutija sa 24 injektora
VPC 350,00 kn**

Procapen Injektor 3g

(benzylpenicilin procaine)



ANIMEDICA

Polaznici III. stupnja (znanstveni magisterij) na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu iz područja “Fiziologije, uzgoja, higijene i patologije peradi” s profesorima i predavačima na zajedničkoj večeri i druženju u Zagrebu, 28. veljače 1978. godine

Ivan Majdak



Nazočni nastavnici: prof. dr. sc. Mirko FINDRIK, prof. dr. sc. Marijan HAJSIG, prof. dr. sc. Dubravko TIMET, prof. dr. sc. Eugen TOPOLNIK, prof. dr. sc. Adolf REŽEK, prof. dr. sc. Marijan ŽUKOVIĆ, prof. dr. sc. Uroš BEGO, prof. dr. sc. Stjepan MEKNIĆ, prof. dr. sc. Vjekoslav SREBOČAN, prof. dr. sc. Slavko CVETNIĆ, prof. dr. sc. Mato WINTERHALTER, prof. dr. sc. Milan KRALJ, dr. sc. MARJANOVIĆ.

Nazočni polaznici: ZIN (Sudan), JERKOVIĆ, -, HAUBRICK, KOSOVEC, GOJŠIĆ, -, VAJDIĆ, KLINAR, -, -, JOŠIĆ, BLAJIĆ, MAJDAK, -, -, PAPIĆ, -, GLIBOTA

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

zagrebački MASTITIS REAGENS[®]



Zagrebačkim mastitis reagensom u terenskim uvjetima, može se veoma pouzdano utvrditi zdravstveno stanje mliječne žljezde tj. da li je sekrecija vimena normalna ili poremećena (patološka).



Proizvodi : Laboratorij za mastitise i kakvoću sirovog mlijeka

In memoriam – Krešimir Samobor, dr. med. vet. (1935.-2016.)



Umro je gospodin Krešimir Samobor, doktor veterinarske medicine.

Rodio se 25. rujna 1935. godine u Varaždinskim Toplicama u uglednoj obitelji oca liječnika i majke učiteljice. Osnovnu školu završio je u Varaždinskim Toplicama, a srednjoškolsko obrazovanje dijelom u varaždinskoj gimnaziji, a dijelom u Zagrebu. Na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao je 10. travnja 1962. godine. Republičkom sekretarijatu za poljoprivredu, prehrambenu industriju i šumarstvo pristupio je 15. prosinca 1971. godine i položio stručni ispit za položajno zvanje veterinarski inspektor.

Godine 1962., 15. travnja, primljen je na mjesto veterinara stažiste u Veterinarskoj stanici Varaždin, stožernoj ambulanti Biškupec. Stažiranja je razriješen

već u rujnu iste godine zbog odlaska na odsluženje vojne obveze.

Nakon odsluženja vojnog roka, 10. kolovoza 1963., vraća se u Veterinarsku stanicu Varaždin i zapošljava se na ponuđenom mu radnom mjestu *statističara*, do otvaranja radnog mjesta veterinara.

Dvije godine kasnije 1. siječnja 1965. dobiva radno mjesto veterinara u ambulanti Vidovec, područnoj ambulanti Veterinarske stanice Varaždin. Postavljen je na mjesto upravitelja ambulante koju će dužnost obavljati do 1. ožujka 1973. godine kada je premješten u Varaždin i postavljen na dužnost rukovoditelja Djelatnosti veterinarsko-poljoprivrednih apoteka. Istovremeno je imenovan zamjenikom direktora Veterinarske stanice Varaždin.

Organizacijskim preustrojem, osamdesetih godina prošlog stoljeća, Veterinarska stanica Varaždin postaje Organizacija udruženog rada u čijem sastavu je i Osnovna organizacija kooperanata ili OOK Stočar, čija je djelatnost stočarska proizvodnja. Krešimir Samobor postaje 21. siječnja 1981. zamjenikom direktora OOK Stočar Varaždin, a vršitelj dužnosti direktora od 31. siječnja 1985. godine.

S danom 1. srpnja 1985. godine imenovan je vršiteljem dužnosti predsjednika kolegijalnog poslovnog odbora RO Veterinarske stanice Varaždin, a 1. siječnja 1986. postaje predsjednik kolegijalnog poslovnog odbora.

Nakon novog organizacijskog preustroja RO Veterinarska stanica postaje društveno poduzeće, a Krešimir Samobor direktor društvenog poduzeća Veterinarska stanica Varaždin. Konačno nakon

pretvorbe u dioničko društvo biva imenovan predsjednikom Uprave Veterinarske stanice d.d. na kojoj će dužnost ostati do umirovljenja 5. ožujka 2001. godine. Upravo u privatizaciji i pretvorbi Krešimir je, po ne znam koji put pokazao koliko je velik i pošten kao čovjek. Iako mu se ukazala mogućnost da postane većinski vlasnik Veterinarske stanice Varaždin, nije to želio, vođen idejom kako ju on nije ni stvorio nego oni kojih više nema, i oni koji ju i danas grade. Po njegovoj zamisli vlasnici Stanice postali su svi zaposlenici, svi u dijelu koji mu je omogućio minuli rad.

Gospodin Samobor je bio veoma aktivan u strukovnim organizacijama. U više navrata bio je član Izvršnog odbora Društva veterinara i veterinarskih tehničara Hrvatske, član IO regionalnog DVIVT, član Izvršnog i koordinacijskog odbora Poslovnog udruženja veterinarskih stanica u više navrata, predsjednik IO Poslovne zajednice Veterinarskih stanica u dva četverogodišnja mandata, jedan od nositelja ideje za osnivanje Hrvatske veterinarske komore, predsjednik regionalne HVK varaždinsko-međimurske podružnice, član IO HVK od njezina osnivanja do umirovljenja, Član IO Zadružnog saveza ZO Varaždin, član IO Zadružnog saveza Hrvatske itd.

Bio je aktivan i u društveno-političkim organizacijama. U mandatu 1974.-1978. godine bio je zastupnik u Vijeću udruženog rada Hrvatskog sabora, član Društveno-političkog vijeća Skupštine grada Varaždina, zamjenik predsjednika Općine Varaždin.

Odlukom Presjedništva SFRJ za svoj predani rad odlikovan je Ordenom zasluga za narod sa srebrnom zvijezdom. Nagrađen je i nizom priznanja i diploma strukovnih i društveno političkih organizacija te grada Varaždina i Gospodarske komore ZO Varaždin.

Uz sve obveze Krešimir je bio odan obiteljski čovjek. Sa suprugom Vesnom, profesoricom njemačkog jezika, bogatom posebnom naravi odgojio je troje djece - Sandru doktoricu medicine, Gorana doktora veterinarske medicine i Velimira inženjera građevinarstva. Temelj obitelji bilo je poštenje pa su tako odgajali i djecu u poštenju i težnji k intelektualnom.

Rastanci s dragim prijateljima s kojima ste proveli gotovo pola životnog vijeka uvijek stižu prerano, bez obzira na životnu dob. Potpuno svjesni činjenice da u ovom surovom svijetu sve ima svoj početak i kraj, početke volimo, a rastanke teško prihvaćamo. U srcima svih koji su ga poštivali ostaje praznina. Gospođo Vesna, Sandra, Gorane, Velimire i ovim putem, svi mi Krešimirovi poklonici, želimo vam još jednom iskazati izraze naše najdublje sućuti.

Umro je 16. listopada 2016. u Varaždinu. Njegovo ime i njegov lik ostat će trajno zabilježeni u našim sjećanjima. Dragi Krešimire, spokoj tvojoj duši nek je vječni. Nek ti je lahka naša hrvatska gruda. Sahranjen je na Gradskom groblju u Varaždinu 19. listopada 2016.

Marijan SABOLIĆ

In memoriam – Željko Horvat, dr. med. vet.



Dana 03. prosinca 2016. godine, puno prerano, iznenadna smrt nas je razdvojila od ovozemaljskog života s dragim kolegom i prijateljem Željkom Horvatom. Vesele i vedre naravi, uvijek otvoren i izravan, ali korektan i dobronamjeren te nadasve marljiv i praktičan, ušao je u naše živote da u njima ostane nezaboravljen.

Željko je rođen 5. lipnja 1967. u Velikoj Barni u općini i župi Grubišno Polje. Osnovnu školu pohađao je u Velikoj Barni i Grubišnom Polju, a posljednja dva razreda matematičke gimnazije završio je u Virovitici. Željko je volio matematiku i fiziku pa je vođen tim sklonostima upisao Fakultet elektrotehnike i računarstva u Zagrebu, no ubrzo je shvatio da ga taj studij ne zanima pa je nakon druge godine napustio FER i upisao Veterinarski fakultet na kojem je diplomirao 2000. godine. Željko je u tim ratnim godinama svoj studij u Zagrebu uglavnom sam financirao radeći razne poslove preko studentske servisa i paralelno spremao i polagao ispite. Uvijek se rado osvrtao na lijepe, ali zahtjevne studentske dane te nam je često na druženjima prepričavao najljepše doživljaje iz tog životnog razdoblja. Godine

2002. zaposlio se na Zavodu za prehranu i dijetetiku životinja Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na radnom mjestu stručnog suradnika u nastavi. Kao stručni suradnik, Željko je uglavnom obnašao poslove vezane za znanstveno istraživačke pokuse s područja prehrane i njezinog utjecaja na zdravlje, proizvodnost i dobrobit životinja. Isto tako, sudjeluje u izvođenju dodiplomske nastave na 2. godini studija na predmetima „Opća hranidba“ i „Primijenjena hranidba“. Godine 2012. na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje poslijediplomski doktorski studij. Bio je koautor na desetak znanstvenih radova objavljenih u međunarodnim i domaćim časopisima te na 6 radova objavljenih u zbornicima sa znanstvenih skupova. Aktivno je sudjelovao u radu na znanstvenim i stručnim istraživačkim projektima koji su provedeni na Zavodu tijekom posljednjih četrnaest godina.

To bi bio sažetak profesionalnog životnog puta kolege i dragog prijatelja Željka Horvata. Onaj privatni dio njegovog života najbolje zna njegova uža obitelj, majka Slavka, supruga Ana i kćerka Marta. Stoga bi ovdje trebalo reći da se životni put jednog čovjeka ne može sažeti u stranicu i pol teksta, već je na nama svima koji smo ga poznavali, bilo kao sina, supruga, oca ili kao kolegu i suradnika te prijatelja, da se s veseljem sjećamo svih onih sitnih radosnih detalja i lijepih trenutaka koje smo imali priliku s njime dijeliti. Zbog svega toga, a posebice njegovog optimizma i životnosti, naši osjećaji tuge i gubitka miješaju se s ohrabrenjem da se treba radovati životu, svakom novom danu, sjećati se lijepih zajedničkih trenutaka provedenih sa Željkom. Siguran sam da će zauvijek biti prisutan u nama koji smo ga znali dok god bude nas koji ga pamtimo.

Hrvoje VALPOTIĆ

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 osvrtne 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. Rukopisi podneseni časopisu se najprije razmatraju na Uredništvu radi utvrđivanja njihove prihvatljivosti za eventualno objavljivanje u časopisu s obzirom na ciljeve i djelokrug časopisa. Također se razmatra zadovoljavaju li rukopisi temeljne standarde znanstvenog ili stručnog članka.

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 et al., 2009).

Nakon odluke Uredništva znanstveni i stručni rukopisi koji zadovoljavaju prije spomenute kriterije upućuju se na istražinsko vrednovanje dvojici nezavisnih recenzenta, znanstvenika/stručnjaka u području tematike rukopisa. Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj rad bez da ga pošalje na istražinsko 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 od 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 uređivačku odluku, ali ako je članak prihvaćen za objavljivanje, takvi se podatci moraju pripričati 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 je odgovorno za utvrđivanje i sprječavanje publiciranja istraživanja koja nisu provedena u skladu s etičkim i znanstvenim/stručnim standardima časopisa. Uredništvo je voljno u svakoj situaciji povući članak kada je nužno te objaviti ispravke pojašnjenja i isprike ukoliko su potrebne. 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.

Časopis Veterinarska stanica neće prihvatiti članke za objavljivanje čiji autori nisu poštivali pravila, propise i zakone o humanom postupanju sa životinjama. Vidi: Direktivu 2010/63/EU Europskog Parlamenta i Savjeta za zaštitu životinja koje se koriste u znanstvene svrhe, 22. rujna 2010., Službeni časopis Europske unije L 276, 20. listopada 2010., str. 33-79. Svi materijali objavljeni u časopisu Veterinarska stanica moraju poštivati visoke etičke standarde u vezi s dobrobiti životinja. (Usluglašene upute o animalnoj etici i dobrobiti za veterinarske časopise – Međunarodna Udruga Veterinarskih Urednika, Ženeva, Švicarska, 2010.).

Kriteriji temeljeni na animalnoj etici za razmatranje rukopisa radova

Rukopisi radova biti će razmatrani za objavljivanje samo ukoliko rad opisan u njima:

Slijedi međunarodne, nacionalne i/ili institucionalne upute za humano postupanje sa životinjama i pridržava se relevantne legislative;

Bude odobren od etičkog recenzenskog odbora u instituciji ili u praksi s malim i velikim životinjama gdje su istraživanja provedena, odnosno gdje takvi odbori postoje;

Sadržaj istraživanja u kojim su korištene životinje određenih vlasnika, i pri tome se pridržavaju visokih standarda (najboljih standarda struke) veterinarke zdravstvene njege te uključuje suglasnost informiranog vlasnika.

Prije prihvaćanja rukopisa, a radi verificiranja pridržavanja gore spomenutih uvjeta, autori moraju:

Potpisati pismo kojim potvrđuju da su zakonski i etički uvjeti poštovani u vezi s humanim postupanjem sa životinjama opisanim u istraživanju;

Specificirati u podpoglavlju Materijali i metode postupak odobrenja etičkog recenzenskog odbora te međunarodnih, nacionalnih i/ili institucionalnih uputa kojih su pridržavali.

Kriteriji za odbacivanje rukopisa rada temeljeni na animalnoj etici:

Rukopisi radova autora koji se nisu pridržavali prije spomenutih propisa;

Istraživanja koja su uključivala nanošenje nepotrebnih boli, distresa, patnje te svih trajnih oštećenja zdravlja životinja;

Urednik zadržava pravo da odbaci rukopis rada na temelju osnovane sumnje u poštivanje etike i dobrobiti životinja.

c) Informacije o autorskim pravima i dopuštenju
Informacije o autorskim pravima i dopuštenju mogu se pronaći na mrežnoj stranici časopisa, a pripadaju Hrvatskom veterinarskom institutu, Zagreb, Hrvatska, vlasniku i izdavaču časopisa. Svi objavljeni članci dostupni su čitateljima besplatno on-line i u tiskanom obliku na hrvatskom i engleskom jeziku.

d) Arhiviranje
Časopis se arhivira u on-line i tiskanom obliku što jamči trajnu dostupnost časopisa čitateljima.

e) Informacije o vlasništvu i menadžmentu časopisa
Informacije su dostupne na mrežnoj stranici Hrvatskog veterinarskog instituta, Zagreb, Hrvatska koji je ujedno i vlasnik i izdavač časopisa.

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 mliječnih krava tijekom prijelaznog razdoblja. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Zbornik referata: SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživaca. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. 51 - 58).

Zbornik sažetaka: ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odgovor svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujeszkegoga. 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. The manuscripts submitted to the journal are firstly considered by Editorial Board for their suitability for eventual publication in the journal regarding the aims and the scope of the journal, assuming that they should satisfied basic standards of scientific and professional articles.

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).

Following Editorial Board decision the scientific and professional manuscripts which satisfied above mentioned criteria are send to peer-review processing by two independent reviewers who are experts in the field of the topic of manuscripts and have no conflict of interest. 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.

b) 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 Board is responsible to identify and prevent publication of manuscripts where research misconduct has occurred and also should always be willing to retract articles when needed and to publish corrections clarifications and apologies when needed. 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.

The journal Veterinarska stanica will not accept reports for publishing whose authors have not adhered to the rules, regulations, and the laws for the human treatment of animals. See: Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes, 22 September 2010, Official Journal of the European Union L276, 20 October 2010, pp. 33-79. All materials published in journal Veterinarska stanica must adhere to high ethical standards concerning animal welfare. (Consensus Guidelines on Animal Ethics and Welfare for Veterinary Journals - International Association of Veterinary Editors, Geneva, Switzerland, 2010).

Animal ethics based criteria for manuscript consideration

Manuscripts will be considered for publication only if the work described therein:

- 1) Follows international, national, and/or institutional guidelines for human animal treatment and complies with the relevant legislation;
- 2) Has been approved by the ethics review committee at the institution or practice at which the studies were conducted, were such a committee exists,
- 3) For studies using client-owned animals, demonstrates a high standard (best practice) of veterinary care and involves informed client consent.

Prior to acceptance of a manuscript, to verify compliance with the above policies, the authors must:

- 1) Sign a letter certifying that the legal and ethical requirements have been met with regards to the humane treatment of animals described in the study;
- 2) Specify in Materials and methods the ethical review committee approval process and the international, national, and/or institutional guidelines followed.

Animal ethics based criteria for manuscript rejection:

- 1) Manuscripts and authors that fail to meet the aforementioned requirements;
- 2) Studies that involve unnecessary pain, distress, suffering, all lasting harm to animals;
- 3) The Editor retains the right to reject manuscripts on the basis of ethical or welfare concerns.

c) Copyright and licensing information

Copyright and licensing information are owned by Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia as the

publisher of the journal. All published articles are available free of charge to readers on the journal's web site in Croatian and English language.

d) Archiving

The journal archiving in on-line and printed version which guarantee the permanent access to the journal.

e) Ownership and management information

Information are available at the web site of the Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia as a owner and publisher of the journal.

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): Serološki odgovor svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujeszkoga. 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.