

Hrvatska veterinarska komora
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Hrvatski veterinarski institut

ZBORNIK RADOVA

znanstveno-stručni skup s međunarodnim sudjelovanjem

Veterinarski dani 2026

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria



VETERINARSKI DANI

znanstveno stručni skup s
međunarodnim sudjelovanjem

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria

ORGANIZATORI:
HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT



HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT

“VETERINARSKI DANI 2026”

ZNANSTVENO-STRUČNI SKUP
S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM

PULA, OD 22. DO 25. LISTOPADA 2026.

“VETERINARY DAYS 2026”

SCIENTIFIC-PROFESSIONAL CONFERENCE
WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION

PULA, 22 - 25 OCTOBER 2026

ZBORNIK RADOVA PROCEEDINGS

Pula, 2026.

IZDAVAČ - PUBLISHER

HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT

UREDNICI - EDITORS

Krešimir Severin
Dražen Đuričić

LEKTURA - PROOFREADER

Željana Klječanin Franić

LIKOVNA OBRADA - DESIGN AND LAYOUT OBLIKOVANJE OMOTA - COVER PAGE DESIGN

CERTITUDO PARTNER d.o.o.

ORGANIZACIJA - ORGANIZER

CERTITUDO PARTNER d.o.o. turistička agencija
Ivanićgradska 64, 10000 Zagreb
+385 1 5802 991
partner@certitour.com
www.certitour.com

TISAK - PRINT

Tiskara Zelina d.d.

Znanstveno-stručni članci tiskani u Zborniku objavljeni su izvornom obliku u kojem su poslani.
Uredništvo ne odgovara za točnost objavljenih tekstova ili eventualne pogreške.

ISSN 1334-8175

POKROVITELJI - UNDER THE PATRONAGE OF THE

GRAD PULA
ISTARSKA ŽUPANIJA
DRŽAVNI INSPEKTORAT REPUBLIKE HRVATSKE
MINISTARSTVO ZNANOSTI, OBRAZOVANJA I MLADIH
MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE, ŠUMARSTVA I RIBARSTVA
VLADA REPUBLIKE HRVATSKE
HRVATSKI SABOR
PREDSJEDNIK REPUBLIKE HRVATSKE

ORGANIZATOR - ORGANIZERS

HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT

ORGANIZACIJSKI ODBOR - COMMITTEE ORGANIZING

Predsjednik - Chairman

Ivan Zemljak

Tajnik - Secretary

Anđelko Gašpar

Članovi - Members

Andrea Humski, Dražen Zuković, Goran Kompes, Gordan Jerbić, Hrvoje Capak, Ivan Butković, Jelka Pleadin, Josip Križanić, Krešimir Pavlović, Lea Kreszinger, Marko Samardžija, Mirela Juras, Nikola Rošić, Tatjana Karačić, Tatjana Zajec, Vesna Boban, Vlado Rep

ZNANSTVENO-STRUČNI ODBOR - SCIENTIFIC-PROFESSIONAL COMMITTEE

Anđelko Gašpar, Brankica Capek, Hrvoje Capak, Goran Kompes, Gordan Jerbić, Gordana Gregurić Gračner, Ivan Butković, Ivan Zemljak, Ivana Lohman Janković, Krešimir Severin, Ksenija Vlahović, Ljupka Maltar, Marko Pećin, Marko Samardžija, Mirela Juras, Nino Maćešić, Petar Džaja, Magdalena Palić Ninić, Romel Velez, Sandra Gutić, Silvio Špičić, Snježana Zrnčić, Tatjana Karačić

TAJNIŠTVO

"VETERINARSKI DANI 2026"

HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
MB 3255034, OIB 92920751589
Heinzelova 55, 10000 Zagreb

+385 1 2441 009 (Alka Modrić)

Fax: +385 1 2441 068

hvk@hvk.hr

www.hvk.hr

SADRŽAJ

MJERE KONTROLE I SUZBIJANJA BOLESTI ŽIVOTINJA

Dijagnostika afričke svinjske kuge: pregled broja i rezultata uzoraka u Veterinarskom zavodu Vinkovci (2024. - 2026.) <i>Ana Mužik, Ena Bajić, Vlado Blagajac, Marica Lolić, Marija Krajina, Mario Škrivanko, Margarita Božiković, Magda Kamber Taslaman, Jelena Prpić, Lorena Jemeršić, Ljupka Maltar</i>	2
Kućni ljubimci – prijava nesukladnosti u iRASFF aplikaciju <i>Alen Petričević, Andrea Mihaljević</i>	7
Kontrola učinkovitosti oralne vakcinacije lisica i epidemiološki trendovi bjesnoće u Europi <i>Antun Beljan, Andreja Jungić, Ivana Lojkić</i>	10
Enzootska leukoza goveda u istočnoj Hrvatskoj (2013.-2025.): rezultati laboratorijske dijagnostike <i>Ena Bajić, Ana Mužik, Marica Lolić, Marija Krajina, Mario Škrivanko, Davor Balić, Vlado Blagajac, Andreja Jungić, Dragan Brnić, Martina Rubin</i>	12
Groznicu Zapadnog Nila u Sjevernoj Makedoniji: aktualna epidemiološka situacija, integrirani nadzor prema konceptu Jedno zdravlje i perspektive farmakoloških pristupa kontroli vektora <i>Romel Velez, Igor Džadžovski, Kiril Krstevski, Aleksandar Cvetković, Jovana Stefanovska, Aleksandar Dodovski</i>	17
Ustroj mobilne veterinarske jedinice – pravna osnova, planiranje, postupanje i način rada <i>Hana Meško</i>	22

VELIKA PRAKSA – FARMSKE ŽIVOTINJE

Uspješna dijagnoza zaraznih respiratornih bolesti – upoznavanje s neprijateljem <i>Clarissa Jung</i>	26
Uloga <i>Clostridium perfringens</i> kod ždrebadi s proljevom <i>Clarissa Jung</i>	28

Preventivna stomatologija konja kroz životni vijek: klinička kronologija, profili rizika i preventivne strategije <i>Sara Lolić</i>	30
Kirurško liječenje ubodne rane abdominalne muskulature s frakturom crijevne kosti – prikaz slučaja <i>Lea Šperanda, Katarina Miljak, Jelena Gotić, Darko Grden, Petra Bratić, Nika Brkljača Bottegaro</i>	32
Dehelmintizacijski protokoli rasplodnih kobilica i ždrebadi <i>Nika Konstantinović, Iva Čustović, Helena Đukić, Valentina Marić, Dora Višal, Ana Marija Kovač</i>	34
Primjena principa horsemanshipa u veterinarskoj praksi konja: utjecaj na suradljivost konja i sigurnost veterinara <i>Sara Lolić</i>	37
Hranidba kobilica tijekom gravidnosti i laktacije <i>Ana-Marija Kovač, Goran Mikec, Nika Konstantinović</i>	38
Analiza utjecaja kolostruma prvotelke i višetelke na imunološki status neonatalne teladi <i>Amina Kadribašić, Ivona Alilović, Ivana Dragosavac, Tomas Augustin Gadze</i>	44
Detekcija neočekivanog virusa u kravljem mlijeku. Nova perspektiva metagenomike u zdravlju vimena <i>Dinko Novosel, Naletilić, Sanja Duvnjak, Maja Ferenčaković, Zvonimir Mijadžiković, Vlatka Čubrić-Čurik, Boris Lukić, Ino Čurik</i>	45
Imaju li oralni i nazalni sekreti utjecaj na epidemiologiju rotavirusa A u goveda? <i>Dragan Brnić, Vjekoslava Kostanić, Sara Špoljar, Valentina Kunić, Marina Prišlin Šimac, Tomislav Sukalić, Marica Lolić</i>	50
Je li paratuberkuloza u koza samo teorija ili realnost? <i>Irena Reil, Šimun Naletilić, Sanja Duvnjak, Maja Zdelar-Tuk, Maja Dopuđ, Silvio Špičić</i>	52
Usporedba ručnog i automatiziranog određivanja odabranih hematoloških pokazatelja u Istarskih koza <i>Stefani Fruk Šimunec, Ivona Žura Žaja, Ana Shek Vugrovečki, Antun Kostelić, Monica Darrer, Gordan Šubara, Jadranka Pejaković Hlede, Sven Menčik, Marinko Vilić, Dražen Đuričić</i>	53
Dijele li domaće i divlje svinje u Hrvatskoj iste sojeve Rotavirusa C? Molekularno-epidemiološki uvid u potencijal međuvrtnog prijenosa <i>Vjekoslava Kostanić, Sara Špoljar, Valentina Kunić, Dragan Brnić</i>	58
Seroprevalencija krpeljnog meningoencefalitisa u divljih svinja u Hrvatskoj <i>Margarita Božiković, Jelena Prpić, Magda Kamber Taslaman, Gorana Miletić, Vladimir Stevanović, Lorena Jemeršić</i>	60
Fascioloza divljih svinja (<i>Sus scrofa</i> L.) <i>Miljenko Bujanić, Relja Beck, Krešimir Severin, Krešimir Krapinec, Nika Konstantinović, Ana Šikić, Matija Jandrilović, Dean Konjević</i>	61

MALA PRAKSA

Štetni događaji povezani s primjenom antiparazitika u mačaka: utjecaj puta primjene i djelatne tvari <i>Dominika Fajdić, Irena Žarković, Anja Vujnović, Iva Badovinac, Ksenija Šandor</i>	66
Što se krije u hrani za pse i mačke? Salmonela, enterobakterije i sigurnost <i>Mislav Unger, Matija Harča, Barbara Boljkovac Begić, Karmela Nina Barać, Mirela Sablić, Dijana Mišetić Ostojić, Kristina Krvrgić, Natalija Džafić, Mateja Šmic, Manuela Zadravec</i>	68
Digitalnim putem do novog doma: analiza povezanosti Facebook aktivnosti i udomljavanja <i>Antea Klobučar, Tihana Brkljačić, Tatjana Zajec, Ivana Iroš, Gabrijela Jurkić Krsteska, Mirna Brkljačić</i>	70
Od poslastice do problema: zajedno do rješenja <i>Maja Loborec, Sunčica Heštera, Ivana Sabolek, Petra Ricijaš, Elizabeta Pongrac, Hrvoje Valpotić</i>	78
Od slučaja do dijagnoze – interaktivna interpretacija UZV nalaza <i>Maša Efendić, Ivan Tomić</i>	79

VELIKA PRAKSA – FARMSKE ŽIVOTINJE

Fenotipska antimikrobna rezistencija sojeva bakterije <i>Listeria monocytogenes</i> podrijetlom iz hrane u Republici Hrvatskoj <i>Lucija Hlebić, Dora Tomašković, Lovran Peinović, Andrea Humski, Gordan Kompes, Antonela Bagarić, Sanja Duvnjak</i>	82
Od farme do stola, i natrag: tko je kome prenio salmonelu? <i>Sanja Duvnjak, Maja Dopud, Sandra Šuto, Dora Tomašković, Lovran Peinović, Lucija Hlebić, Irena Reil, Maja Zdelar-Tuk, Antonela Bagarić, Gordan Kompes, Silvija Šoprek, Bojan Papić, Andrea Humski, Silvio Špičić</i>	83
Antimikrona rezistencija kod salmonela: imamo li šanse? <i>Maja Dopud, Irena Reil, Maja Zdelar-Tuk, Silvio Špičić, Dora Tomašković, Lucija Hlebić, Lovran Peinović, Andrea Humski, Antonela Bagarić, Gordan Kompes, Silvija Šoprek Strugar, Bojan Papić, Sanja Duvnjak</i>	85
Pojavnost <i>Campylobacter</i> spp. u komercijalnoj proizvodnji peradi u Republici Hrvatskoj <i>Viktor Mašović</i>	87
Certificiranje certifikata INTRA-EMERGENCY kod pojave bolesti kategorije A <i>Manuela Zubčić</i>	93
Uvjeti kojima moraju udovoljavati SPH vezano za klanje svinja kod ASK-a te klanja malih preživača kod KMP-a <i>Dragutin Premzl</i>	95
Dobrobit životinja – prijava nesukladnosti u iRASFF aplikaciju <i>Alen Petričević, Andrea Mihaljević</i>	97

Utjecaj stresa na kvalitetu i funkcionalne pokazatelje u mesu goveda <i>Mladenka Vukšić, Marta Kiš, Aneta Piplica, Tomislav Mikuš</i>	100
Skrivena raznolikost piroplazmi u Hrvatskoj – nova otkrića i njihov značaj za veterinarsku medicinu i javno zdravstvo <i>Relja Beck, Ema Gagović, Daria Jurković Žilić</i>	104
Groznica riftske doline – pregled zoonoze od globalnog značaja i uspostava nacionalnog referentnog laboratorija za nadzor bolesti <i>Magda Kamber Taslaman, Jelena Prpić, Margarita Božiković, Lorena Jemeršić</i>	105
Uvid u prakse propisivanja veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja za stavljanje u promet u Republici Hrvatskoj <i>Nikola Čudina, Ena Oster, Darija Vratarić, Hrvoje Pavasović</i>	107
Profesionalna izloženost veterinarskim lijekovima: zdravstveni rizici i preventivne mjere <i>Sonja Sinković, Miroslav Andrišić, Eleonora Perak Junaković, Mirta Pehnek, Ksenija Šandor</i>	114
Utjecaj veterinarskih lijekova na okoliš i važnost procjene rizika za okoliš <i>Laura Skukan, Ana Mikelić, Lucija Mandić, Irena Čaleta, Đenana Vrbanić, Ksenija Šandor</i>	116
Ljekovita hrana za životinje - aktualni izazovi, kontrole i rezultati audita <i>Helena Šokić</i>	104
Mikroplastika kao novi kontaminant stočne hrane: rezultati monitoringa i analitički izazovi <i>Marcela Šperanda, Mislav Đidara, Zvonko Antunović</i>	119
Okolišni DNK kao alat za detekciju i kvantifikaciju bakterije <i>Vibrio harveyi</i> u akvakulturi <i>Dorotea Grbin, Matea Alfier, Ivana Giovanna Zupčić, Dražen Oraić, Matko Kolega, Snježana Zrnčić</i>	120
Imunohistokemijski pristup dokazivanju patogenosti bakterije <i>Vibrio harveyi</i> u lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) <i>Ivana Kolačko, Dinko Novosel, Dunja Vlahović, Karmen Branović Čakanić, Snježana Zrnčić, Dražen Oraić</i>	121
Od ličinke velikog voskovog moljca do lubina: put prema etičnijim istraživanjima u skladu s načelom 3R <i>Mateja Alfier, Dorotea Grbin, Snježana Zrnčić, Dražen Oraić, Karmen Branović Čakanić, Ivana Giovanna Zupčić</i>	122

POSTER SEKCIJA

- Više od veterinarske medicine: doprinos društveno-humanističkih djelatnosti dobrobiti, otpornosti i povezanosti veterinarske zajednice
Iva Lehunšek Panić, Hrvoje Capak, Jovana Ivanić 126
- Od baštine veterinarskog fakulteta do nacionalnog simbola u službi biosigurnosti životinja
Maja Popović Nikolić Džolan, Branimira Špoljari, Sanja Berić, Matea Gale, Silvijo Vince, Goran Kiš, Amina Hrković, Daniel Špoljarić 128
- Ispitivanje antimikrobne aktivnosti bakterija mliječne kiseline iz mlijeka magarica postupkom difuzijskog testa
Tomislav Sukalić, Matej Krištić, Matea Pek, Marija Denžić Lugomer, Damir Pavliček, Miroslav Benić, Luka Cvetnić, Antonela Bagarić, Marija Sedak, Bruno Čalopek, Ana Končurat 134
- HISTA_TERM – višjezična terminološka baza histološkog nazivlja
Željana Klječanin Franić, Snježana Kužir, Jovana Ivanić, Marko Poletto, Lucija Devčić, Nikolina Škvorc 136
- LIFE DinPin Bear – Projekt očuvanja dinarsko-pindske populacije smeđih medvjeda (koju dijeli 9 zemalja)
Krešimir Severin, Đuro Huber, Slaven Reljić, Marina Habazin Cingulin, Magdalena Palić, Nikola Serdar, Nikica Prvanović Babić, Lana Pađen, Jasna Aladrović 138
- Modeli praćenja urbane divljači u Gradu Zagrebu
Branimir Reindl, Vlasta Ranogajec, Robert Godrijan, Marko Augustinović, Snježana Lugarić, Krešimir Krapinec, Miljenko Bujanić, Ivan Madi, Dean Konjević 139
- Uvid u mikrobiotu i zdravstvenu ispravnost sirovog mlijeka magarica
Ana Končurat, Matej Krištić, Matea Pek, Marija Denžić Lugomer, Damir Pavliček, Miroslav Benić, Luka Cvetnić, Antonela Bagarić, Marija Sedak, Bruno Čalopek, Tomislav Sukalić 141
- Prilog poznavanju slatkovodnih puževa i njihovoj ulozi kao posrednika fascioloidoze
Krešimir Severin, Magdalena Palić, Miljenko Bujanić, Nikola Serdar, Nikolina Škvorc, Ivan Jelić, Krešimir Krapinec, Tomislav Jelić, Dean Konjević 142
- Šuga divljih svinja (*Sus scrofa* L.) na području Parka prirode Medvednica
Dean Konjević, Miljenko Bujanić, Nika Konstantinović, Andrea Gudan Kurilj 144
- Lezije želuca divljih svinja (*Sus scrofa* L.) – preliminarni rezultati
Zuzana Krepelková, Jaroslav Novotný, Ján Čurlík, Katarína Bárdová, Ľubomír Čulka, Dean Konjević, Miljenko Bujanić, Ivana Sabolek 146



VETERINARSKI DANI

znanstveno stručni skup s
međunarodnim sudjelovanjem

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria

ORGANIZATORI:
HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT



MJERE KONTROLE I SUZBIJANJA BOLESTI ŽIVOTINJA

DIJAGNOSTIKA AFRIČKE SVINJSKE KUGE: PREGLED BROJA I REZULTATA UZORAKA U VETERINARSKOM ZAVODU VINKOVCI (2024. – 2026.)

Ana Mužik¹, Ena Bajić¹, Vlado Blagajac¹, Marica Lolić¹, Marija Krajina¹, Mario Škrivanko¹, Margarita Božiković², Magda Kamber Taslaman², Jelena Prpić², Lorena Jemeršić², Ljupka Maltar³

¹ Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za dijagnostiku, Veterinarski zavod Vinkovci, Vinkovci;

² Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za dijagnostiku klasične svinjske kuge, molekularnu virologiju i genetiku, Zagreb; ³ Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ribarstva, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane, Zagreb

Sažetak

Afrička svinjska kuga (ASK) virusna je zarazna bolest domaćih i divljih svinja te jedna od najvažnijih bolesti svinja, s velikim gospodarskim i epidemiološkim posljedicama. Uzročnik bolesti je DNK virus, jedini pripadnik roda *Asfivirus*, koji je izrazito otporan u vanjskoj sredini. Od prve pojave 26. lipnja 2023. u Vukovarsko-srijemskoj županiji, bolest je kontinuirano znatan izazov za veterinarsku struku, osobito u području nadzora, dijagnostike i kontrole širenja. Cilj je ovog rada prikazati rezultate pretraženih uzoraka na ASK u laboratoriju za dijagnostiku Veterinarskog zavoda Vinkovci, s posebnim naglaskom na suzbijanje bolesti u istočnoj Hrvatskoj te njezinu važnost za domaću proizvodnju svinja. Analizirani su podaci o uzorcima domaćih i divljih svinja s područja pet županija (Vukovarsko-srijemske, Osječko-baranjske, Brodsko-posavske, Požeško-slavonske i Virovitičko-podravске) u razdoblju od kolovoza 2024. do kolovoza 2026. U analizu su uključeni broj uzoraka, rezultati laboratorijskih pretraga i epidemiološki pokazatelji širenja bolesti. Za dijagnostiku uzoraka primijenjena je molekularna metoda lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (*real-time* PCR). Pozitivni uzorci poslani su u Nacionalni referentni laboratorij za afričku svinjsku kugu Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu radi potvrde i dodatnih laboratorijskih pretraga. U razdoblju od 8. kolovoza 2024. do 31. kolovoza 2026. pretraženo je ukupno 68 236 uzoraka domaćih i divljih svinja na ASK, pri čemu je 944 uzoraka bilo pozitivno (1,38 %). Tijekom 2024. pretraženo je 10 503 uzorka, od kojih je 34 bilo pozitivno (0,32 %), isključivo na području Vukovarsko-srijemske županije. U 2025. pretraženo je 32 854 uzorka, uz 488 pozitivnih (1,49 %), pri čemu je najveći broj pozitivnih uzoraka utvrđen u Osječko-baranjskoj županiji (455), većinom u divljih svinja. U razdoblju od siječnja do kolovoza 2026. pretraženo je

24 879 uzoraka, od kojih je 422 bilo pozitivno (1,70 %). Pozitivni nalazi utvrđeni su u Osječko-baranjskoj, Virovitičko-podravskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji, pri čemu je u Virovitičko-podravskoj županiji najveći udio pozitivnih uzoraka bio u domaćih svinja. Na području Brodsko-posavske i Požeško-slavonske županije tijekom cijelog razdoblja nije utvrđen ni jedan pozitivan uzorak. Rezultati upućuju na znatan porast broja pretraženih uzoraka u razdobljima intenzivnijeg širenja bolesti te na ključnu ulogu laboratorijske dijagnostike u pravodobnom otkrivanju i kontroli ASK-a. Zaključno, dvogodišnje iskustvo s ASK-om u istočnoj Hrvatskoj potvrđuje važnost kontinuiranog nadzora, brze i pouzdane dijagnostike te dosljedne provedbe biosigurnosnih mjera.

Ključne riječi: afrička svinjska kuga, dijagnostika, epidemiologija, svinje, istočna Hrvatska, biosigurnost

Uvod

Afrička svinjska kuga (ASK) virusna je zarazna bolest domaćih i divljih svinja. Zbog visoke stope smrtnosti, koja može dosegnuti i do 100 %, ova je bolest jedna od najvažnijih bolesti svinja. Uzročnik je DNK virus, jedini pripadnik roda *Asfivirus*, koji pripada porodici *Asfarviridae* (Cvetnić, 2005.). Virus je ikozaedralnog oblika i obavljen lipoproteinskom ovojnicom. Jedini je poznati DNK virus koji se prenosi člankonošcima i izrazito je otporan na vanjske uvjete (Lipej, 2015.). Replikacija se zbiva u monocitima, makrofagima, neutrofilima, endotelnim stanicama, hepatocitima i epitelnim stanicama bubrežnih tubula. Postojanost virusa u vanjskoj sredini ovisi o temperaturi i pH vrijednosti. Infektivnost je u krvi prisutna do 15 tjedana, u fecesu 2 – 3 mjeseca, a u termički neobrađenim proizvodima do 400 dana. Izravan način prijenosa virusa zbiva se izravnim kontaktom s prethodno zaraženim svinjama i njihovim izlučevinama. Virus se neizravno prenosi kontaminiranom opremom i prijevoznim sredstvima, a na veće udaljenosti prenose ga ljudi (Jori i sur., 2013.). Nadalje, znatan su izvor zaraze otpad i lešine. U staništima u kojima obitavaju divlje svinje, osim izravnog prijenosa direktnim kontaktom sa zaraženom svinjom, lešine imaju ključnu ulogu u širenju i održavanju infektivnog ciklusa (Chenais i sur., 2019.; Blome i sur., 2020.).

Klinička slika bolesti varijabilna je i ovisi o većem broju čimbenika, kao što su virulencija virusa, način širenja, infektivna doza i epizootiološki status područja na kojemu se bolest pojavljuje. Prvi znakovi bolesti koji se mogu pojaviti jesu visoka temperatura, iznad 40 °C, gubitak apetita i otežano disanje. U pojedinim slučajevima pojavljuje se i krvarenje iz nosa, povraćanje i pobačaji gravidnih krmača (Pikalo i sur., 2019.).

Radi sprječavanja širenja bolesti, propisane su određene mjere koje zahtijevaju pridržavanje propisa o premještanju i prometu životinja. Po-

sjednici moraju osigurati način držanja domaćih svinja kojim je u potpunosti onemogućen svaki izravan i neizravan kontakt s divljim životinjama. Svaku sumnju na bolest, kao i uginuće svinje, potrebno je prijaviti veterinaru, nakon čega slijedi obvezno pretraživanje uzoraka organa uginulih svinja radi isključivanja ASK-a. Biosigurnosne mjere provode se i u lovištima, gdje je potrebno dezinficirati obuću, opremu i vozila prije i nakon lova, postaviti kontejnere za otpad životinjskog podrijetla i njegovo neškodljivo uklanjanje te provoditi nadzor nad ulaskom neovlaštenih osoba i vozila u područje lovišta (Web 1).

Cilj je ovog rada prikazati rezultate laboratorijskog pretraživanja uzoraka na afričku svinjsku kugu u Veterinarskom zavodu Vinkovci u razdoblju od kolovoza 2024. do kolovoza 2026. godine, utvrditi prostornu i vremensku raspodjelu pozitivnih nalaza te ukazati na značenje ove bolesti za domaću proizvodnju svinja.

Materijali i metode

U Laboratoriju za dijagnostiku Veterinarskog zavoda Vinkovci, u okviru Provedbene uredbe Komisije (EU) 2023/594 od 16. ožujka 2023. o utvrđivanju posebnih mjera za kontrolu afričke svinjske kuge te Programa nadziranja ASK-a u Republici Hrvatskoj, pretraživani su krv i organi domaćih i divljih svinja molekularnom metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (*real-time* PCR) radi dokazivanja DNK virusa ASK-a. Uzorke domaćih i divljih svinja dostavljale su ovlaštene veterinarske organizacije iz pet slavonskih županija: Vukovarsko-srijemske, Osječko-baranjske, Brodsko-posavske, Požeško-slavonske i Virovitičko-podravске, iz lovišta i svinjogajski farmi.

Nakon zaprimanja uzoraka u Veterinarskom zavodu Vinkovci, svaki se uzorak označava na način koji osigurava prepoznatljivost i sljedivost. Nakon označavanja slijedi priprema uzoraka krvi i organa domaćih i divljih svinja za pretragu. Uzorci krvi centrifugiraju se pri 1500 rpm/10 min, izdvaja se serum koji se prebacuje u sterilne mikrotubice za daljnji tijek pretrage. Uzorci organa usitnjavaju se u homogenizatoru, a zatim se homogeniziraju s fosfatnim puferom (PBS). Nakon centrifugiranja 5 min / 10000 rpm-a, izdvojeni supernatant prenosi se u sterilne mikrotubice.

Nakon pripreme uzoraka provodi se izolacija DNK pomoću uređaja KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD). U postupku izolacije upotrijebljeni su reagensi i plastični pribor za izolaciju nukleinskih kiselina proizvođača IndiMag Pathogen Kit (Indical Bioscience GmbH, Leipzig, Njemačka). Izolacija DNK virusa afričke svinjske kuge provedena je prema uputama proizvođača. Pri izvođenju izolacije svakom je uzorku dodana egzogena neciljana pozitivna kontrola (engl. *non-target positive control*, NTPC), nepatogena sekvencija DNK koja prati postupak ekstrakcije DNK i amplifikacije, omogućuje pro-

vjeru uspješnosti tih koraka te prati prisutnost pojedinih inhibitora PCR-a.

Za dokazivanje virusa ASK-a u uzorcima domaćih i divljih svinja primijenjena je lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu, koja se izvodi na uređaju Bio-Rad CFX96. Metoda je provedena pomoću komercijalnog kompleta ID Gene™ African Swine Fever Triplex, koji omogućuje dokazivanje DNK virusa ASK u izolatima dobivenima iz uzoraka seruma, krvi ili organa domaćih i divljih svinja. Tijekom reakcije polimerazom istodobno se umnažaju ciljana DNK sekvencija genoma virusa ASK-a te endogena i egzogena kontrola. Endogena kontrola prisutna je u stanicama uzorka, a njezino umnažanje potvrđuje prisutnost staničnog materijala prikladnog za analizu. Egzogena kontrola dodaje se uzorcima prije postupka izolacije DNK i služi za praćenje uspješnosti izolacije DNK. Uz izolate DNK, na PCR ploču dodaju se pozitivna kontrola (PK), negativna kontrola (NK), nacionalna slabo pozitivna kontrola (NSPK) i nacionalna negativna kontrola (NNK). Nakon završetka PCR-a, rezultati se prikazuju na računalu u obliku krivulja fluorescencije i pripadajućih Ct-vrijednosti, zasebno za svaki uzorak. Fluorescentni signal s vrijednošću praga ciklusa (Ct) ispod 35 smatra se pozitivnim. Amplifikacija ciljane sekvencije virusa ASK-a bilježi se u kanalu FAM, umnažanje endogene kontrole u kanalu HEX, a egzogene kontrole u kanalu Cy5. Valjanost testa utvrđuje se prema kriterijima za procjenu valjanosti rezultata. Pozitivni uzorci upućuju se u Nacionalni referentni laboratorij za ASK, Laboratorij za dijagnostiku klasične svinjske kuge, molekularnu virologiju i genetiku Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu radi potvrde i dodatnih laboratorijskih pretraga. Tijekom istraživanja, rezultati laboratorijskih analiza i izvješća o dokazivanju DNK virusa afričke svinjske kuge obrađeni su u centraliziranom informacijskom sustavu VetLabPro.

Rezultati

U razdoblju od 8. kolovoza 2024. do 31. kolovoza 2026. godine ukupno je pretraženo 68 236 uzoraka na ASK, a pozitivna su bila ukupno 944 uzorka domaćih i divljih svinja (1,38 %), što je vidljivo u Tablici 1.

U razdoblju od 8. kolovoza do 31. prosinca 2024. godine pretražena su ukupno 10 503 uzorka, uz znatne razlike među županijama (Tablica 2). Iz Tablice 2 vidljivo je da je najviše uzoraka pretraženo u Osječko-baranjskoj županiji (4771), zatim u Brodsko-posavskoj (2933) i Vukovarsko-srijemskoj (2720). U Požeško-slavonskoj županiji evidentirano je ukupno 76 pretraženih uzoraka, a najmanje u Virovitičko-podravskoj županiji, 3 uzorka. Virus ASK-a utvrđen je isključivo u Vukovarsko-srijemskoj županiji, s 34 pozitivna uzorka, odnosno 1,25 % pretraženih uzoraka u toj županiji. Od 34 pozitivna uzorka, 32 potječu od domaćih svinja, a samo dva od divljih svinja.



Tablica 1. Ukupan broj pretraženih i pozitivnih uzoraka na ASK te udio pozitivnih uzoraka po razdobljima od 8. kolovoza 2024. do 31. kolovoza 2026. godine.

	Ukupan broj pretraženih uzoraka	Ukupan broj pozitivnih uzoraka na ASK	Udio pozitivnih uzoraka
2024. godina (8. kolovoz – 31. prosinca)	10 503	34	0,32 %
2025. godina (1. siječanj – 31. prosinca)	32 854	488	1,49%
2026. godina (1. siječanj – 31. kolovoza)	24 879	422	1,70%
Ukupno (2024. – 2026.)	68 236	944	1,38%

Tijekom 2025. godine pretraženo je 32 854 uzoraka, ponovno najviše u Osječko-baranjskoj županiji (17 802), a zatim u Vukovarsko-srijemskoj (7831) i Brodsko-posavskoj županiji (6835). U Požeško-slavonskoj županiji pretraženo je 287 uzoraka, a u Virovitičko-podravskoj 99 uzoraka. U Tablici 2 prikazano je u kojim je županijama te godine virus ASK-a utvrđen: u Osječko-baranjskoj, gdje je utvrđeno ukupno 455 pozitivnih uzoraka (2,56 % pretraženih uzoraka) i u Vukovarsko-srijemskoj s 33 pozitivna uzorka (0,42 %). Međutim, 2025. godine u Osječko-baranjskoj županiji utvrđeno je 349 pozitivnih uzoraka kod divljih svinja, a manji udio pozitivnih uzoraka pripadao je domaćim svinjama, njih 106. U Vukovarsko-srijemskoj utvrđeno je 19 pozitivnih uzoraka divljih svinja, a 14 domaćih svinja.

U razdoblju od 1. siječnja do 31. kolovoza 2026. godine pretraženo je 24 879 uzoraka, od čega 16 019 u Osječko-baranjskoj županiji, 3935 u Vukovarsko-srijemskoj, 3827 u Brodsko-posavskoj, 749 u Virovitičko-podravskoj i 349 u Požeško-slavonskoj županiji. Virus ASK-a utvrđen je u trima županijama: u Osječko-baranjskoj 341 pozitivan uzorak (2,13 %), od čega 192 pozitivna uzorka divljih svinja, a 149 domaćih svinja. U Virovitičko-podravskoj županiji od ukupno 79 pozitivnih uzoraka (10,55 %), njih 77 potjecalo je od domaćih svinja, a samo dva od divljih. U Vukovarsko-srijemskoj županiji samo su dva pozitivna uzorka, oba podrijetlom od divljih svinja.

Rasprava i zaključci

U razdoblju od 8. kolovoza 2024. do 31. kolovoza 2026. godine u Veterinarskom zavodu Vinkovci pretraženo je 68 236 uzoraka domaćih i divljih svinja s područja pet slavonskih županija, od kojih je 944 bilo pozitivno na ASK.

Broj pretraženih uzoraka u ovom je istraživanju rastao tijekom cijelog promatranog razdoblja. Prosječan mjesečni broj pretraživanja porastao je s približno 2100 uzoraka u razdoblju od kolovoza do prosinca 2024. na približno 3110 u prvih osam mjeseci 2026. godine. Takav porast intenziteta laboratorijskog nadzora uklapa se u širi europski trend povećanja. Prema podacima EFSA-e, broj PCR pretraga divljih svinja u državama članicama EU-a povećao se s 452 262 u 2024. na 593

112 u 2025. godini, što je porast od približno 31 % (EFSA, 2026.).

Kamber Taslaman i sur. (2025.) opisali su prijenos virusa ASK-a iz populacije domaćih svinja u populaciju divljih svinja na području Hrvatske, što odstupa od uobičajenog europskog obrasca u kojemu su divlje svinje primarni izvor zaraze. Podaci prikazani u ovom radu potkrepljuju taj nalaz. U drugoj polovici 2024. godine gotovo svi pozitivni nalazi s područja pet slavonskih županija potjecali su od domaćih svinja (32 naspram 2), u 2025. prevladavaju pozitivni nalazi kod divljih svinja (368 naspram 120 domaćih), a u 2026. odnos se izjednačava (226 domaćih naspram 196 divljih).

Slična je promjena odnosa između dviju populacija zabilježena i u susjednim državama. Prema podacima EFSA-e, u Srbiji je tijekom 2024. godine zabilježeno 310 izbijanja ASK-a u domaćih svinja i 101 izbijanje u divljih svinja, dok je u Bosni i Hercegovini situacija nešto malo drukčija, zabilježeno je 33 izbijanja u domaćih i 38 u divljih svinja (EFSA, 2025.).

Kod divljih svinja broj prijavljenih slučajeva ASK-a u državama članicama EU-a porastao je sa 7677 u 2024. na 11 036 u 2025. godini, što je porast od 44 % (EFSA, 2026.). Podaci s područja pet slavonskih županija u 2025. godini pokazuju porast broja izbijanja u objema populacijama, pri čemu su izbijanja u divljih svinja brojnija, što se uklapa u širi europski porast broja slučajeva ASK-a u 2025. godini.

Tijekom razdoblja obuhvaćenog ovim istraživanjem afrička svinjska kuga ponovno se pojavila i u Španjolskoj, prvi put nakon 1994. godine. Prvi pozitivni nalazi u divljih svinja potvrđeni su u studenome 2025. godine u općini Cerdanyola del Vallès u Kataloniji (Gallardo i sur., 2026.). Usporedba s rezultatima ovog istraživanja pokazuje drugačiju početnu dinamiku. U Španjolskoj su prvi potvrđeni slučajevi bili ograničeni na populaciju divljih svinja, dok u početnoj fazi ponovne pojave bolesti nisu zabilježena izbijanja u domaćih svinja (EFSA, 2026.). Dobiveni rezultati upućuju na istodobnu cirkulaciju virusa ASK-a u populacijama domaćih i divljih svinja na području obuhvaćenom ovim istraživanjem te naglašavaju važnost nadzora nad objema populacijama.

Tijekom promatranog razdoblja najveći porast broja pretraženih uzoraka zabilježen je u žu-

Tablica 2. Broj pretraženih i pozitivnih uzoraka domaćih i divljih svinja po županijama (8. kolovoza 2024. – 31. kolovoza 2026.).

Županija	Razdoblje	Broj pretraženih uzoraka	Broj pozitivnih uzoraka- domaće svinje	Broj pozitivnih uzoraka- divlje svinje	Ukupan broj pozitivnih	Udio pozitivnih
Vukovarsko-srijemska	2024.	2720	32	2	34	1,25 %
	2025.	7831	14	19	33	0,42 %
	2026.	3935	0	2	2	0,05 %
Osječko-baranjska	2024.	4771	0	0	0	0 %
	2025.	17 802	106	349	455	2,56 %
	2026.	16 019	149	192	341	2,13 %
Brodsko-posavska	2024.	2933	0	0	0	0 %
	2025.	6835	0	0	0	0 %
	2026.	3827	0	0	0	0 %
Virovitičko-podravska	2024.	3	0	0	0	0 %
	2025.	99	0	0	0	0 %
	2026.	749	77	2	79	10,55 %
Požeško-slavonska	2024.	76	0	0	0	0 %
	2025.	287	0	0	0	0 %
	2026.	349	0	0	0	0 %
	2026.	749	77	2	79	10,55 %

panijama u kojima su potvrđeni pozitivni nalazi na ASK. Prostorna raspodjela pozitivnih nalaza pokazala je širenje bolesti od istoka prema zapadu, od Vukovarsko-srijemske preko Osječko-baranjske do Virovitičko-podravske županije. Na području Brodsko-posavske i Požeško-slavonske županije tijekom cijelog promatranog razdoblja nije utvrđen ni jedan pozitivan uzorak. Može se zaključiti da laboratorijska dijagnostika ima ključnu ulogu u pravodobnom otkrivanju i kontroli virusa ASK-a. Dvogodišnje iskustvo s ASK-om u istočnoj Hrvatskoj potvrđuje važnost kontinuiranog nadzora, brze i pouzdane dijagnostike te dosljedne provedbe biosigurnosnih mjera.

Literatura

- Blome, S., Franzke, K., Beer, M. (2020): African swine fever – A review of current knowledge. *Virus Research*, 287, 198099.
- Chenais, E., Depner, K., Guberti, V., Dietze, K., Viltrop, A., Ståhl, K. (2019): Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018. *Porcine Health Management*, 5, 6.
- Cvetnić, S. (2005.): *Virusne bolesti životinja*. Školska knjiga, Zagreb.
- EFSA (European Food Safety Authority), Ståhl, K., Boklund, A. E., Podgórski, T., Vergne, T., Aminalragia-Giamini, R., Abrahantes, J. C., Papaleo, S., & Mur, L. (2025): *Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union during 2024*. *EFSA Journal*, 23(5), e9436.
- EFSA (European Food Safety Authority), Ståhl, K., Boklund, A., Podgórski, T., Vergne, T., Mur, L., Aminalragia-Giamini, R., Rusinà, A., Lima, E. (2026): *Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union during 2025*. *EFSA Journal*, 24(5), e10106.
- Gallardo, C., Marcet-Houben, M., Agüero, M., Nieto, R., Casado, N., Soler, A., Ruano, M. J., Villalba, R., Fernández-Pinero, J., Simón, A., Pérez, C., Gómez, C., García, C., Labrador, M., Argilaguet, J., Coronado, L., Majó, N., Aguilera-Sepulveda, P., Aldea, I., Gabaldón, T., Gómez, M. B., Arias, M. (2026): *Genetically Distinct African Swine Fever Virus Genotype II Variant in Wild Boar, Spain, 2025–2026*. *Emerging Infectious Diseases*, 32(9), 1497–1501.
- Jori, F., Vial, L., Penrith, M. L., Pérez-Sánchez, R., Etter, E., Albina, E. (2013): *Review of the sylvatic cycle of African swine fever in sub-Saharan Africa and the Indian Ocean*.
- Kamber Taslaman M., Prpić J., Božiković M., Lolić M., Barbić L., Gallardo C., Nieto R., Jemeršić L. *Epi-zootiology of African Swine Fever in the Croatian Wild Boar Population and the Estimation of the Surviving Dynamics (2023-2024)*. *Viruses*. 2025 Dec 22;18(1):15.
- Lipej, Z. (2015.): *Bolesti svinja*, Zagreb: Medicinska naklada, 235.
- Pikalo, J., Zani, L., Hühr, J., Beer, M., Blome, S. (2019.): *Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar – Lessons learned from recent animal trials*. *Virus Research*, 2 271, 197614.
- <https://poljoprivreda.gov.hr/istaknute-teme/poljoprivreda-173/africka-svinjska-kuga-ask/6383>



DIAGNOSIS OF AFRICAN SWINE FEVER: AN OVERVIEW OF SAMPLE NUMBERS AND RESULTS AT THE VETERINARY DEPARTMENT VINKOVCI (2024–2026)

and reliable diagnostics, and consistent implementation of biosecurity measures.

Key words: African swine fever, diagnostics, epidemiology, pigs, eastern Croatia, biosecurity

Abstract

African swine fever (ASF) is a contagious viral disease of domestic pigs and wild boar and one of the most significant swine diseases, with major economic and epizootiological consequences. The causative agent is a DNA virus, the sole member of the genus *Asfivirus*, which is highly resistant in the external environment. Since its first occurrence on 26 June 2023 in Vukovar-Srijem County, the disease has continuously posed a considerable challenge to the veterinary profession, particularly in surveillance, diagnosis and control of its spread. The aim of this study was to present the results of samples tested for ASF at the diagnostic laboratory of the Veterinary Department Vinkovci, with particular emphasis on disease control in eastern Croatia and on the significance of the disease for domestic pig production. Data on samples from domestic pigs and wild boar originating from five counties (Vukovar-Srijem, Osijek-Baranja, Brod-Posavina, Požega-Slavonia and Virovitica-Podravina) were analysed for the period from August 2024 to August 2026. The analysis included the number of samples tested, the results of laboratory testing and epidemiological indicators of disease spread. Samples were tested using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). Positive samples were forwarded to the National Reference Laboratory for African Swine Fever at the Croatian Veterinary Institute in Zagreb for confirmation and further laboratory testing. Between 8 August 2024 and 31 August 2026, a total of 68 236 samples from domestic and wild pigs were tested for ASF, of which 944 samples were positive (1,38%). In 2024, 10 503 samples were tested, of which 34 were positive (0,32%), exclusively in Vukovar-Srijem county. In 2025, 32 854 samples were tested, with 488 positive results (1,49%); the highest number of positive samples being recorded in Osijek-Baranja county (455), mostly in wild boar. From January to August 2026, 24 879 samples were tested, of which 422 were positive (1,70%). Positive results were recorded in Osijek-Baranja, Virovitica-Podravina and Vukovar-Srijem counties, with the highest proportion of positive samples in Virovitica-Podravina county being detected in domestic pigs. No positive samples were detected in Brod-Posavina or Požega-Slavonia counties throughout the entire period. The results indicate a significant increase in the number of samples tested during periods of intensified disease spread and highlight the key role of laboratory diagnostics in the timely detection and control of ASF. In conclusion, two years of experience with ASF in eastern Croatia confirm the importance of continuous surveillance, rapid

KUĆNI LJUBIMCI – PRIJAVA NESUKLADNOSTI U APLIKACIJU IRASFF

Andrea Mihaljević, Alen Petričević

Državni inspektorat, Sektor za veterinarski nadzor i nadzor sigurnosti hrane, Šubićeva 29, 10000 Zagreb

Sažetak

Države članice putem aplikacije iRASFF unutar platforme IMSOC prijavljuju sve sumnje na prijevare sukladno Uredbi (EU) 2017/625 Europskog parlamenta i Vijeća o službenim kontrolama i drugim službenim aktivnostima kojima se osigurava primjena propisa o hrani i hrani za životinje, pravila o zdravlju i dobrobiti životinja, zdravlju bilja i sredstvima za zaštitu bilja (u daljnjem tekstu Uredba o službenim kontrolama) i Provedbenoj Uredbi Komisije (EU) 2019/1715 o utvrđivanju pravila za funkcioniranje sustava za upravljanje informacijama za službene kontrole i njegovih sistemskih komponenata (Uredba o IMSOC-u). Sustav Administrativna pomoć i suradnja (*Administrative Assistance and Cooperation Network*, AAC) koristi se aplikacijom iRASFF kojom je osigurana kvalitetna i brza razmjena kvalitetnih i potpunih obavijesti između kontaktnih točaka zemalja članica i EU Komisije. Mreža AAC sastoji se od triju podsustava: Sustava za prijevare radnje (FF), Sustava za kućne ljubimce (PA) i Sustava za dobrobit životinja (AW). Sustav za kućne ljubimce (PA) kvalitetnom i ažurnom razmjenom kvalitetnih i potpunih obavijesti između kontaktnih točaka zemalja članica i EU Komisije postiže žurno reagiranje i postupanje u svrhu sprečavanja nezakonite trgovine kućnim ljubimcima, što pridonosi zaštiti zdravlja i dobrobiti kućnih ljubimaca, javnog zdravlja i potrošača. Razmjena obavijesti te suradnja i komunikacija među članovima mreže, osobito u kontekstu koordiniranog plana kontrole, pridonosi prepoznavanju obrazaca i subjekata koji se opetovano pojavljuju u slučajevima nezakonite trgovine kućnim ljubimcima te omogućuje analizu podataka iz kojih je moguće potvrditi načine i izvore kršenja propisa iz zdravlja i dobrobiti životinja.

Ključne riječi: aplikacija iRASFF, sustav za kućne ljubimce (PA), nezakonita trgovina, razmjena obavijesti.

Uvod

Uredba o službenim kontrolama obvezuje države članice da putem aplikacije iRASFF prijavljuju sve sumnje na prijevare u poljoprivredno-prehrambenom sektoru koje imaju prekogranični karakter. Države članice i Komisija obrađuju osobne podatke putem sustava IMSOC i bilo koje od njegovih komponenata isključivo u svrhu provedbe službenih kontrola i drugih službenih ak-

tivnosti iz navedenih područja na koja se primjenjuje Uredba o IMSOC-u.

Sustav IMSOC sastoji se od sljedećih komponenata:

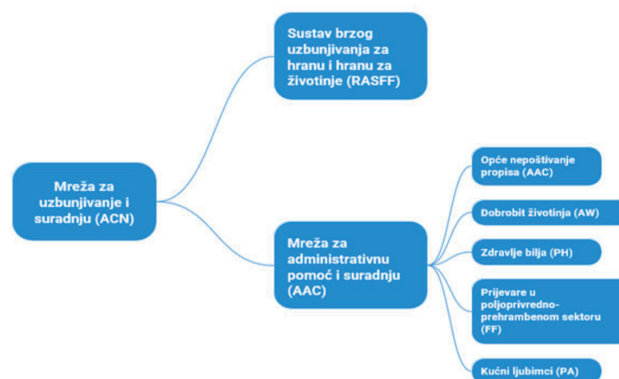
- (a) iRASFF –elektronički sustav za provedbu postupaka u okviru RASFF-a i AAC-a opisanih u članku 50. Uredbe (EZ) br. 178/2002 odnosno člancima od 102. do 108. Uredbe (EU) 2017/625
- (b) ADIS
- (c) EUROPHYT
- (d) TRACES.

Mreža za uzbunjivanje i suradnju (ACN)

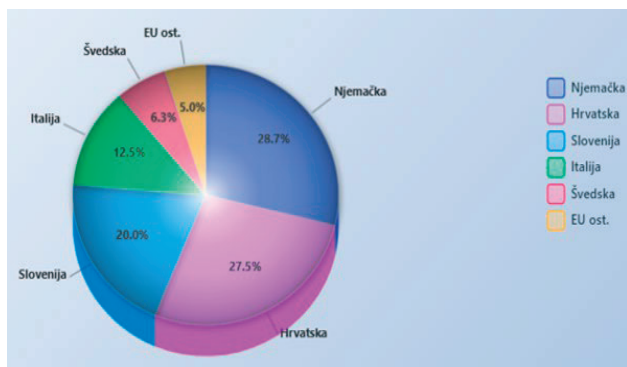
Razvojem mreže naziva Administrativna pomoć i suradnja (*Administrative Assistance and Cooperation Network*, AAC) koja se također počela koristiti aplikacijom iRASFF, ujedinila se sa RASFF-om u Mrežu za uzbunu i suradnju (*Alert and Cooperation Network*, ACN). Objedinjenjem je postignuta kvalitetna i brza razmjena administrativnih informacija i suradnja između država članica u pogledu službenih kontrola. Kako bi se pojednostavio rad unutar ACN mreže, u AAC sustavu izdvojene su nove podaplikacije, kao što su Sustav za prijevare radnje, Sustav za kućne ljubimce i Sustav za dobrobit životinja.

Mreža za administrativnu pomoć i suradnju (AAC)

Mrežu za administrativnu pomoć i suradnju (AAC) čini Europska komisija i tijela za vezu koja su imenovale države članice radi olakšavanja razmjene informacija. Pravila Mreže za administrativnu pomoć i suradnju (AAC) omogućuju i nalažu nadležnim tijelima različitih država članica međusobnu suradnju kako bi se osigurala učinkovita provedba u kontekstu Uredbe o službenim kontrolama u slučajevima s prekograničnom suradnjom. Mogući slučajevi neusklađenosti zahtijevaju pomoć i druge zemlje zbog utvrđivanja postoji li neusklađenost, kako bi se osigurala provedba



Slika 1. Pregled sustava ACN



Slika 2. Omjer prijava u 2026. godini unutar mreže za administrativnu pomoć i suradnju (AAC-PA) – sustava za kućne ljubimce.

usklađenosti i u drugoj državi članici te u svrhu osiguranja mogućnosti izricanja sankcija povezanih s neusklađenošću.

Sustav za kućne ljubimce (*Pet Animals, PA*)

Unutar sustava za kućne ljubimce (PA) razmijenjeno je 100 obavijesti o sumnji na prijevaru do 1. listopada 2026. godine, vezano za ilegalni promet kućnim ljubimcima.

Podaci potrebni za razmjenu obavijesti o neusklađenosti:

- ime tijela nadležnog za postupanje u vezi s obavijesti, ako to nije kontaktna točka
- opis moguće neusklađenosti
- ako je moguće, identitet subjekata povezanih s mogućom neusklađenosti
- pojediniosti o uključenim životinjama ili robi
- sve informacije o rizicima na koje se sumnja
- napomenu o tome odnosi li se obavijest na mogući slučaj neusklađenosti koja proizlazi iz prijevornih praksi.

Kontaktna točka Komisije razmjenjuje obavijesti i bez nepotrebnog odgađanja provjerava svaku razmijenjenu obavijest o neusklađenosti.

U svrhu izrade PA obavijesti pri sumnji u ilegalno premještanje kućnih ljubimaca upisuju se i sljedeći podaci: (1) broj životinja, (2) vrsta, pasmina, dob, (3) detalji o vlasniku (ime i prezime, adresa, mjesto i zemlja), (4) detalji o veterinaru (ime i prezime, adresa, mjesto i zemlja), (5) detaljan opis pronađene nesukladnosti/prijevara, (6) potpuna preslika dokumentacije koja prati životinju.

Najčešće utvrđene nesukladnosti su: (1) krivotvorena dokumentacija (putovnica, test titracije protutijela na bjesnoću, certifikat o zdravlju životinja), (2) lažno upisani podaci u dokumentaciji vezani za cijepljenje protiv bjesnoće s obmanjujućim informacijama o dobi i podrijetlu (prodaja premladih životinja), (3) nepostojanje mikročipa ili se mikročip životinje ne veže uz dokumentaciju koja je prati.

Glavne rute ilegalnog prometa kreću se cestovnim prijevozom iz Rumunjske, Mađarske i Poljske, a prijevozi idu i iz Ukrajine, Rusije i Bjelorusije u Poljsku i Latviju te Mađarsku, dok iz Srbije i Crne Gore u Hrvatsku i Sloveniju dolaze preko Bosne i Hercegovine. Najčešće su u optjecaju krivotvorene putovnice Bugarske i Grčke, ali je bilo i krivotvorenja hrvatskih putovnica. U krivotvorenim putovnicama, osim navedenoga, utvrđeno je da se u njima većinom ponavljaju iste veterinarske organizacije, pečati i potpisi istih veterinarara, ali i krivotvorene naljepnice cjepiva protiv bjesnoće.

Važnost veterinarskih organizacija u sprečavanju ilegalne trgovine

Veterinarske organizacije imaju jednu od važnih uloga pri sprečavanju ilegalne trgovine kućnih ljubimaca u svrhu zaštite zdravlja i dobrobiti životinja, ali i zaštite zdravlja ljudi jer su one prva karika u sprečavanju ilegalnog prometa, odnosno ilegalne trgovine kućnim ljubimcima. Kada veterinarska organizacija utvrdi da je dokumentacija dovedenoga kućnog ljubimca nepotpuna, nesukladna ili sumnja u njezinu vjerodostojnost, obavještava veterinarskog inspektora Državnog inspektorata ovlaštenog da naredi mjere za otklanjanje utvrđenih nepravilnosti te vlasnika upućuje da se i sam javi veterinarskom inspektoratu. Ako veterinarski inspektor utvrdi nesukladnost, utvrđene činjenice (zapisnik) s preslikom (u boji) svih pregledanih dokumenata prosljeđuju se nacionalnoj kontaktnoj točki Državnog inspektorata koja putem mreže sustava za kućne ljubimce / PA razmjenjuje obavijest s nacionalnim kontaktnim točkama zemalja navedenih u zaprimljenoj dokumentaciji kako bi se ona provjerila te ustanovilo radi li se o ilegalnoj trgovini kućnim ljubimcima.

Osim zemalja članica Europske unije o neusklađenostima povezanim s komercijalnim ili nekomercijalnim premještanjem pasa i mačaka, obavještavaju se i nadležna tijela trećih zemalja od kojih se traži da istraže i dostave rezultate. Ako se to ne postigne, Komisija vodi bilateralni dijalog s dotičnom zemljom kako bi razumjela s kakvim se ograničenjima suočavaju i prema potrebi pružila pomoć.

Ilegalnu trgovinu odnosno promet kućnih ljubimaca Eu komisija istražuje i uz pomoć mreže SIENA (*Secure Information Exchange Network Application*) koja je glavna platforma za sigurnu razmjenu operativnih i strateških kriminalističko-obavještajnih podataka koju pruža Europol. Ažurnom razmjenom kvalitetnih i potpunih obavijesti pridonosi se smanjenju počinjenja djela nezakonite trgovine kućnim ljubimcima koja, potpomognuta digitalnim alatima, ugrožava ne samo dobrobit životinja i zdravlje životinja nego i javno zdravlje i potrošače.

Zaključak

Velika većina kućnih ljubimaca iz nezakonitih izvora prodaje se putem interneta, a njihova unosna trgovina diljem EU-a često se prikriva kao nekomercijalno kretanje kućnih ljubimaca. S gospodarskog gledišta, nezakonito je tržište nelojalna konkurencija uzgajivačima i prodavačima koji posluju u skladu s propisima. Ilegalni prodavači ne plaćaju porez na svoje aktivnosti niti snose troškove nužne za humani i etični uzgoj, držanje ili prijevoz, što znatno utječe na funkcioniranje jedinstvenog tržišta EU-a. Žurnim reagiranjem i postupanjima u svrhu sprečavanja nezakonite trgovine kućnim ljubimcima nakon razmjene obavijesti putem sustava za kućne ljubimce, pridonosi se zaštiti zdravlja i dobrobiti kućnih ljubimaca, javnog zdravlja i potrošača. Razmjena obavijesti putem aplikacije iRASFF, mreže za kućne ljubimce, te suradnja i komunikacija članova mreže jedan su od alata sprečavanja nezakonite trgovine kućnim ljubimcima diljem Europe.

Literatura

- Uredba (EU) 2017/625 Europskog parlamenta i Vijeća o službenim kontrolama i drugim službenim aktivnostima kojima se osigurava primjena propisa o hrani i hrani za životinje, pravila o zdravlju i dobrobiti životinja, zdravlju bilja i sredstvima za zaštitu bilja
- Provedbena Uredba Komisije (EU) 2019/1715 o utvrđivanju pravila za funkcioniranje sustava za upravljanje informacijama za službene kontrole i njegovih sistemskih komponenata
- Uredba (EU) 2016/429 Europskog parlamenta i Vijeća od 9. ožujka 2016. o prenosivim bolestima životinja te o izmjeni i stavljanju izvan snage određenih akata u području zdravlja životinja (Zakon o zdravlju životinja)
- Zakon o službenim kontrolama i drugim službenim aktivnostima koje se provode sukladno propisima o hrani, hrani za životinje, o zdravlju i dobrobiti životinja, zdravlju bilja i sredstvima za zaštitu bilja (Narodne novine, broj 2/2021).

PET ANIMALS – REPORTING OF NON-COMPLIANCE THROUGH THE IRASFF APPLICATION

Abstract

Member States use the iRASFF application within the IMSOC platform to report all suspected fraud in accordance with Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council on official controls and other official activities performed to ensure the application of food and feed law, rules on animal health and welfare, plant health and plant protection products and Commission Implementing Regulation (EU) 2019/1715 laying down rules for the functioning of the information management system for official controls and its system components. The Administrative Assistance and Cooperation (AAC) system utilizes the iRASFF application to ensure the high-quality and rapid exchange of complete and reliable notifications between Member State contact points and the EU Commission. The AAC network comprises three subsystems: the Food Fraud (FF) system, the Pets (PA) system, and the Animal Welfare (AW) system. Through the high-quality and timely exchange of complete and reliable notifications between Member State contact points and the EU Commission, the Pets (PA) system enables rapid response and action to prevent the illegal trade in pets, thereby contributing to the protection of pet health and welfare, public health, and consumers. The exchange of information and cooperation and communication among network members – particularly in the context of a coordinated control plan – contributes to identifying patterns and entities that repeatedly appear in cases of illegal trade in pets; furthermore, it enables data analysis that makes it possible to confirm the methods and sources of violations regarding animal health and welfare regulations.

Key words: iRASFF app; PA system; illegal trade; exchange of notifications

KONTROLA UČINKOVITOSTI ORALNE VAKCINACIJE LISICA I EPIDEMIOLOŠKI TRENDVI BJESNOĆE U EUROPI

Antun Beljan, Andreja Jungić, Ivana Lojkić

Hrvatski veterinarski institut, Odjel za virologiju,
Laboratorij za dijagnostiku bjesnoće i opću virologiju,
Savska cesta 143, 10000 Zagreb

Sažetak

Bjesnoća je akutna, fatalna virusna zarazna bolest i zoonoza uzrokovana virusom iz porodice *Rhabdoviridae*, roda *Lyssavirus*, od koje oboljevaju ljudi te domaće i divlje životinje. Glavni su rezervoari virusa bjesnoće divlji mesojedi iz porodice Canidae, koji su odgovorni za održavanje prirodnog ciklusa infekcije i izvor su zaraze za domaće životinje i ljude. U najvećem dijelu Europe, pa tako i u Hrvatskoj, rezervoar i prenositelj bjesnoće jest crvena lisica (*Vulpes vulpes*). Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije, ova bolest godišnje usmrti približno 59 000 ljudi, uglavnom zbog ugriza zaraženih pasa, zbog čega se cijepljenje, uz nadzor i kontrolu infekcije u divljih životinja, smatra ključnom preventivnom mjerom. Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i ribarstva sustavno od 2011. godine provodi program oralne vakcinacije lisica (OVL), koji propisuje i sufinancira Europska komisija. Program se provodi na cijelom području Hrvatske dvaput godišnje, u proljeće i jesen, distribucijom vakcinalnih mamaca iz zrakoplova. Uspješnost ovog programa potvrđuje činjenica da je posljednji nalaz bjesnoće u lisica zabilježen 2014. godine, a Hrvatska je službeno slobodna od bjesnoće od 2021. godine. Laboratorij za dijagnostiku bjesnoće i opću virologiju Hrvatskog veterinarskog instituta kao nacionalni referentni laboratorij za bjesnoću provodi kontrolu učinkovitosti programa OVL, što uključuje određivanje postotka odstrijeljenih životinja koje su konzumirale mamac te dokazivanje specifičnih neutralizacijskih protutijela za virus bjesnoće u njima. Najvažnija je komponenta nadzora bjesnoće pasivni nadzor, koji se odnosi na pretraživanje moždanog tkiva uginulih, stradalih i odstrijeljenih prijemljivih životinja imunofluorescencijskim testom. Glavni je pokazatelj uspješnosti OVL-a upravo dovoljno visok broj pretraženih životinja u svrhu pasivnog nadzora, koji osigurava da ni jedna pozitivna životinja ne ostane neotkrivena. Ta brojka za Hrvatsku iznosi oko 1800 uzoraka godišnje. Premda je bjesnoća u najvećem dijelu Europe uspješno suzbijena upravo primjenom OVL-a, koji se u zapadnoj Europi počeo provoditi još 80-ih godina prošlog stoljeća, pojedina žarišta infekcije i dalje se pojavljuju, osobito u srednjoj i istočnoj Europi. Slučajevi bjesnoće u divljih, a posljedično i u domaćih životinja posljednjih su godina zabilježeni

u Poljskoj, Slovačkoj, Mađarskoj i Rumunjskoj, odnosno u državama koje graniče s Ukrajinom, Bjelorusijom i Rusijom. Stoga je i dalje nužno održavanje visoke procijepljenosti, provođenje pasivnog nadzora te točne, precizne i službeno preporučene laboratorijske dijagnostike.

Ključne riječi: bjesnoća, oralna vakcinacija lisica, pasivni nadzor bjesnoće, Hrvatska, Europa

MONITORING THE EFFECTIVENESS OF ORAL VACCINATION OF FOXES AND EPIDEMIOLOGICAL TRENDS OF RABIES IN EUROPE

Abstract

Rabies is an acute, fatal viral infectious disease and zoonosis caused by a virus belonging to the family *Rhabdoviridae*, genus *Lyssavirus*, which affects humans as well as domestic and wild animals. The main reservoirs of rabies virus are wild carnivores of the family Canidae, which maintain the natural transmission cycle and represent a source of infection for domestic animals and humans. In most parts of Europe, including Croatia, the red fox (*Vulpes vulpes*) is the principal reservoir and transmitter of rabies. According to World Health Organization estimates, the disease causes approximately 59,000 human deaths annually, primarily as a result of bites from infected dogs. Vaccination, together with surveillance and control of infection in wildlife, is therefore considered a key preventive measure. Since 2011, the Veterinary and Food Safety Directorate of the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries has systematically implemented an oral vaccination of foxes (OVF) programme, prescribed and co-financed by the European Commission. The programme is carried out across Croatia twice a year, in spring and autumn, by distributing vaccine baits from aircraft. The effectiveness of this programme is demonstrated by the fact that the last case of rabies in foxes was recorded in 2014, and Croatia has been officially rabies-free since 2021. As the national reference laboratory for rabies, the Laboratory for Rabies Diagnostics and General Virology of the Croatian Veterinary Institute monitors the effectiveness of the OVF programme. This includes determining the proportion of hunted animals that have consumed vaccine baits and detecting rabies virus-specific neutralising antibodies in these animals. The most important component of rabies surveillance is passive surveillance, which involves testing brain tissue from susceptible animals that have died, been found dead, or been hunted, using the fluorescent antibody test. The main indicator of the effectiveness of the OVF programme is a sufficiently high number of animals

tested under passive surveillance, ensuring that no rabies-positive animal remains undetected. In Croatia, this amounts to approximately 1,800 samples annually. Although rabies has been successfully controlled in most of Europe through the implementation of OVF programmes, introduced in Western Europe as early as the 1980s, individual outbreaks of infection continue to occur, particularly in Central and Eastern Europe. In recent years, cases of rabies in wild animals and, consequently, in domestic animals have been recorded in Poland, Slovakia, Hungary, and Romania, countries bordering Ukraine, Belarus, and Russia. Therefore, maintaining high vaccination coverage, implementing passive surveillance, and ensuring accurate, precise, and officially recommended laboratory diagnostic procedures remains essential.

Key words: rabies; oral vaccination of foxes; passive rabies surveillance; Croatia; Europe

ENZOOTSKA LEUKOZA GOVEDA U ISTOČNOJ HRVATSKOJ (2013.- 2025.): REZULTATI LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE

Ena Bajić¹, Ana Mužik¹, Marica Lolić¹, Marija
Krajina¹, Mario Škrivanko¹, Davor Balić¹, Vlado
Blagajac¹, Andreja Jungić², Dragan Brnić²,
Martina Rubin³

¹Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za
dijagnostiku, Veterinarski zavod Vinkovci, Vinkovci;

²Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za serološku
dijagnostiku virusnih bolesti, Zagreb; ³Ministarstvo
poljoprivrede, šumarstva i ribarstva, Uprava za
veterinarstvo i sigurnost hrane, Zagreb

Sažetak

Enzootska leukoza goveda (ELG) zarazna je, kronična bolest uzrokovana virusom iz roda *Deltaretrovirus* (porodica Retroviridae). Bolest najčešće prolazi supklinički, uz perzistentnu limfocitozu, dok se u manjeg broja životinja razvijaju tumorske promjene. Uzrokuje znatne gospodarske gubitke zbog odbacivanja trupova, smanjene proizvodnje mlijeka i plodnosti. U Republici Hrvatskoj suzbijanje ELG-a provodi se sustavnim nadzorom od 2013. godine, u skladu s europskim zakonodavstvom. Cilj je rada prikazati rezultate laboratorijske dijagnostike ELG-a u istočnoj Hrvatskoj u razdoblju od 2013. do 2025. godine. Analizirani su podaci Veterinarskog zavoda Vinkovci s područja pet županija, uključujući broj uzoraka, rezultate seroloških pretraga i trendove pojavljivanja bolesti. Dijagnostika je provedena imunoenzimnim testom (ELISA) za dokazivanje protutijela u uzorcima seruma goveda, a pozitivni nalazi potvrđeni su u Nacionalnom referentnom laboratoriju Hrvatskog veterinarskog instituta. U promatranom razdoblju pretraženo je ukupno 345 132 uzorka krvnog seruma goveda s područja Brodsko-posavske, Osječko-baranjske, Požeško-slavonske, Virovitičko-podravske i Vukovarsko-srijemske županije. Protutijela na virus ELG potvrđena su u 2556 uzoraka, odnosno u 0,7 % ukupno pretraženih uzoraka. Najveći broj pretraženih uzoraka zabilježen je u Osječko-baranjskoj županiji, gdje je analiziran 188 261 uzorak, od kojih je 1965 (1,0 %) bilo pozitivno. Najmanji broj pretraženih uzoraka zabilježen je u Požeško-slavonskoj županiji, s 22 794 uzorka i 72 (0,3 %) pozitivna nalaza. U promatranom razdoblju uočava se smanjenje broja pozitivnih nalaza u kasnijim godinama, uz istodobno smanjenje ukupnog broja pretraženih uzoraka. Dugogodišnji podaci potvrđuju ključnu ulogu laboratorijske dijagnostike u praćenju zdravstvenog statusa stada i provedbi mjera kontrole. Zaključno, sustavni nadzor i kontinuirano testiranje ključni su za održavanje statusa slobodnog od bolesti, koji Republika Hr-

vatska ima od veljače 2026. godine, uz potrebu daljnjeg serološkog praćenja.

Ključne riječi: enzootska leukoza goveda, nadzor, dijagnostika, epidemiologija, goveda, istočna Hrvatska

Uvod

Enzootska leukoza goveda (ELG) zarazna je, kronična i limfoproliferativna bolest koju uzrokuje goveđi virus leukemije, RNA virus koji pripada rodu Deltaretroviridae, porodici Retroviridae. Primarno je bolest goveda, no prirodna je infekcija zabilježena u vodenih bivola i zebua (EFSA, 2015.). Virus je strukturno i funkcionalno sličan ljudskim T-limfotropnim virusima 1 i 2 (HTLV-1 i HTLV-2) te T-limfotropnim virusima primata 1, 2 i 3 (STLV-1, STLV-2, STLV-3). Glavna meta virusa jesu B-limfociti (Beyer i sur., 2002; Gillet i sur., 2007.), iako je dokazan i u T-limfocitima te epitelu mliječne žlijezde. Virus se sastoji od dviju jednolančanih RNA koje kodiraju proteine kao što su nukleoprotein p12, kapsidni protein 24, transmembranski glikoprotein gp30 te enzim reverzna transkriptaza. Taj je enzim važan za sve retrovire jer omogućuje prijenos virusnoga genoma u provirusnu DNA, koja se zatim integrira u DNA domaćina. Jednom inficirana stanica dijeli se mitozom te tako prenosi virusni genom, koji u domaćina opstaje doživotno (Hutchinson i sur., 2021.).

Prijenos virusa može se ostvariti horizontalno, izravnim ili neizravnim kontaktom sluznice ili ozlijeđene kože s tjelesnim izlučevinama u kojima se virus nalazi, primjerice krvlju, slinom, sekretom nosa, eksudatom, kolostrumom i sjemenom. Moguć je i ijetrogeni prijenos putem korištenih igala, rukavica za rektalnu palpaciju, tijekom dekontaminacije te putem hematofagnih insekata. Prijenos može biti i vertikalno, s krave na sisajuću telad preko kolostruma (Righi i sur., 2021.).

Virus uzrokuje perzistentnu, doživotnu infekciju B-stanica limfocita. Infekcije su najčešće supkliničke naravi, osobito u goveda starijih od tri godine. Samo 30 – 70 % zaraženih goveda razvije perzistentnu limfocitozu, a samo 0,1 – 10 % zaraženih životinja razvije neoplazije. Dugoročno virus uzrokuje disregulaciju imunskog sustava, perzistentnu limfocitozu i kroničnu limfoproliferativnu progresiju. Tijek bolesti ima četiri stadija: (1) primarna infekcija, u kojoj se virus integrira u genom domaćina, (2) perzistentna infekcija, koju obilježava proliferacija i dijeljenje B-limfocita mitozom te umnažanje virusa, (3) perzistentna limfocitoza, u kojoj broj limfocita u krvi prelazi fiziološki razinu, uz izraženu opću slabost i sekundarne bakterijske infekcije zbog oslabljenog imunskog sustava (jedno od čestih upalnih stanja jest mastitis koji rezultira smanjenom proizvodnjom mlijeka), (4) faza stvaranja limfoma, u kojoj zbog genske mutacije zaražena stanica pro-

liferira i stvara limfom unutar ili izvan limfnog čvora (EFSA, 2015.).

Klinički znakovi ovise o mjestu pojave tumora i uključuju probavne smetnje, inapetenciju, gubitak tjelesne mase, opću slabost i malaksalost, a katkad i neurološke simptome. Površinski limfni čvorovi mogu biti povećani te se mogu palpirati ispod kože ili rektalno. Tijekom razudbe limfni su čvorovi povećani, a neoplastične stanice infiltriraju većinu tkiva. Najčešće zahvaćeni organi jesu sirište, desna srčana uška, slezena, crijeva, jetra, bubrezi, knjižavac, pluća i maternica. Kad se limfomi jednom razviju, uzrokuju smrt životinje unutar nekoliko mjeseci.

Bolest uzrokuje velike gospodarske štete zbog smanjene proizvodnje mlijeka uzrokovane supkliničkim mastitisima, prijevremenog uklanjanja životinja iz proizvodnje, restrikcija prometa životinja ako se bolest dokaže te gubitaka na liniji klanja zbog uklanjanja dijelova zahvaćenih tumorima (Berg i sur., 2015.; Nakada i sur., 2022.).

Provedbena uredba (EU) 2018/1882 kategorizira ELG u bolest kategorije C, što znači da je relevantna za neke države članice i da su za nju potrebne mjere kako bi se spriječilo njezino širenje u dijelove Unije koji su slobodni od bolesti ili u kojima postoje programi iskorjenjivanja. Republika Hrvatska je 13. veljače 2026. godine, Provedbenom uredbom 2023/293 stekla status države članice slobodne od enzooske leukoze goveda. Program nadziranja ove bolesti u Republici Hrvatskoj provodi se na cijelom području Republike Hrvatske. U Laboratoriju za dijagnostiku (V-1) Veterinarskog zavoda Vinkovci provodi se probirna metoda, imunoenzimni test za dokazivanje protutijela na virus ELG u serumu goveda (engl. *screening*).

Cilj je ovog rada prikazati rezultate laboratorijske dijagnostike ELG-a u pet županija istočne Slavonije u razdoblju od 1. siječnja 2013. do 31. prosinca 2025. godine te istaknuti važnost provedbe programa nadzora i laboratorijske dijagnostike u smanjenju pojavnosti bolesti.

Materijali i metode

U Laboratoriju za dijagnostiku Veterinarskog zavoda Vinkovci, u okviru Naredbe o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkih bolesti te Programa iskorjenjivanja enzooske leukoze goveda u Republici Hrvatskoj, tijekom trinaestogodišnjeg razdoblja pretraživani su serum goveda na prisutnost protutijela na virus enzooske leukoze goveda. Uzorci su dostavljani iz pet slavonskih županija: Vukovarsko-srijemske, Osječko-baranjske, Brodsko-posavske, Požeško-slavonske i Virovitičko-podravске. Ovlaštene veterinarske organizacije uzorkovale su krv goveda na farmama i dostavljale je u laboratorij. Uzorci krvi dostavljani su u epruvetama bez antikoagulanasa, potom centrifugirani pri 2500 rpm/5 min kako bi se odvojio sloj seruma od korpuskularnih elemenata. Dobiveni serum goveda u laboratorij

ju pretraživani su serološkom metodom, probirnim imunoenzimnim testom za dokazivanje specifičnih protutijela na virus ELG-a.

Za serološku dijagnostiku ELG-a primijenjeni su probirni (engl. *screening*) imunoenzimski testovi ELISA Enzootic Bovine Leucosis Virus (BLV) Idexx Leukosis Serum Screening komplet (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, SAD) i SVA-NOVIR BLV-gp51-Ab-Screening komplet (Svanova, Biotech Ab, Uppsala, Švedska) od 2013. do 2015. godine kako bi se dokazala prisutnost specifičnih protutijela na virus ELG-a u serumu goveda. Stijenke mikrotitracijske pločice obložene su BLV antigenom (glikoproteinom gp51). Ispitivani uzorci seruma razrijeđeni su u jažicama mikrotitracijske pločice i inkubirani. Nakon inkubacije BLV antigen i BLV specifična protutijela tvore imunski kompleks. Višekratnim ispiranjem uklanja se nevezani materijal, a zatim se dodaje konjugat koji se veže za stvorene imunskomplekse. Ispiranjem se višak konjugata uklanja, nakon čega se dodaje kromogeni supstrat (TMB) koji reakciju čini vidljivom. Prisutni imunskompleksi mijenjaju plavu boju otopine u žutu. Intenzitet boje povezan je s količinom protutijela u uzorku seruma. Potom se mikrotitracijska ploča stavlja u spektrofotometar (BioTek, SAD i Tecan, Švicarska) s filtrom od 450 nm kako bi se izmjerila optička gustoća. Daljnji izračun rezultata provodi se prema uputama proizvođača u računalnim programima Gen 5 i Magellan. Pozitivni serum goveda, koji su probirnim imunoenzimnim testom bili pozitivni na virus ELG-a, dostavljeni su u Nacionalni referentni laboratorij (NRL), Laboratorij za serološku dijagnostiku virusnih bolesti u Hrvatskom veterinarskom institutu (HVI) u Zagrebu, na potvrdu konfirmacijskim imunoenzimnim testom. Pozitivni serum goveda pohranjivani su u zamrzivač na dulje vrijeme na -20 °C.

Rezultati

U razdoblju od 2013. do 2025. godine u Laboratoriju za dijagnostiku V-1 Veterinarskog zavoda Vinkovci pretraženo je 345 132 uzoraka krvnog seruma goveda, a protutijela za virus ELG-a potvrđena su u 2556 uzoraka (0,7 %). Osječko-baranjska županija u tom je razdoblju imala najveći broj pretraženih uzoraka, njih 188 261 (54,5 %), te najveći broj pozitivnih uzoraka, njih 1 965, što je 77 % od ukupnog broja pozitivnih uzoraka u tom razdoblju. Požeško-slavonska županija imala je najmanji broj pretraženih uzoraka, njih 22 794 (6,6 %) sa 72 pozitivna uzorka, što je 2,8 % od ukupnog broja pozitivnih uzoraka. Svi podaci o rezultatima analize preuzeti su iz informacijskog sustava VetLabPro. Detaljniji podaci o broju pretraženih i pozitivnih uzoraka u trinaestogodišnjem razdoblju u pet županija istočne Hrvatske prikazani su u tablici 1, dok je odnos broja pretraženih i pozitivnih uzoraka kroz 12 godina prikazan u grafu 1.



Tablica 1. Ukupan broj pretraženih uzoraka seruma goveda na prisutnost protutijela na virus ELG-a i ukupan broj pozitivnih uzoraka tijekom 13 godina u pet županija istočne Hrvatske

ŽUPANIJE										
Godina	Brodsko-posavska		Osječko-baranjska		Požeško-slavonska		Virovitičko-podravska		Vukovarsko-srijemska	
	Ukupno	Pozitivno	Ukupno	Pozitivno	Ukupno	Pozitivno	Ukupno	Pozitivno	Ukupno	Pozitivno
2013.	7488	148	29 287	495	5486	29	3775	47	15 730	41
2014.	7104	28	29 268	203	5210	19	4863	48	14 144	63
2015.	6943	43	28 455	260	771	5	4128	15	12 234	31
2016.	1458	2	22 196	72	2337	13	3013	14	7099	0
2017.	5348	11	27 104	653	4209	2	3540	3	10 651	2
2018.	3680	3	25 743	168	969	1	1226	5	1762	1
2019.	126	6	1712	31	/	/	51	0	/	/
2020.	61	0	308	33	/	/	46	0	/	/
2021.	575	0	887	14	260	1	345	0	74	0
2022.	5580	4	20 765	13	3404	2	3482	1	8203	2
2023.	488	1	1658	8	45	0	105	0	113	0
2024.	158	0	409	2	50	0	32	0	421	0
2025.	156	0	469	13	53	0	10	0	315	0
Ukupno	38 715	246	188 261	1965	22 794	72	24 616	133	70 746	140

Rasprava

Enzootska leukoza goveda (ELG) danas je velik problem u govedarstvu: nespecifična klinička slika, smanjena proizvodnja mlijeka i mesa, ranije izlučivanje bolesnih goveda te odbacivanje zaraženih trupova uzrokuju ekonomske gubitke. Prema najnovijim podacima, države članice EU-a u kojima se još provodi program iskorjenjivanja te nemaju status države slobodne od ELG-a jesu Mađarska, Rumunjska, Bugarska, Grčka i Malta.

U prosincu 2025. godine na sastanku Stalnog odbora za biljke, životinje, hranu i hranu za životinje Republici Hrvatskoj odobren je status države članice slobodne od enzootske leukoze goveda. Nadzor bolesti u 2026. godini provodi se u skladu s Delegiranom uredbom (EU) 2020/689 prema Programu nadziranja enzootske leukoze goveda u Republici Hrvatskoj (verzija 05-veljača 2026.). Cilj je programa zadržavanje statusa države članice slobodne od ELG-a na cijelom području RH, nadziranjem i testiranjem svih goveda starijih od 24 mjeseca u nasumično odabranim objektima.

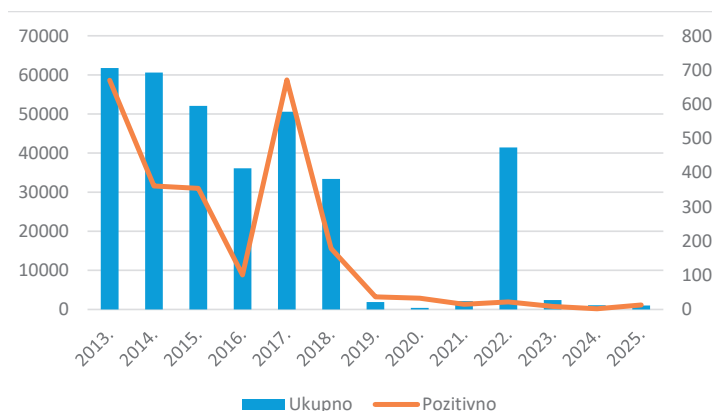
Prema podacima iz 2025. godine, u susjednim zemljama kao što je Mađarska još su prisutna žarišta izbijanja epidemije ELG-a, i to na dvije lokacije. Italija, kao i Hrvatska ima status članice slobodne od ELG-a, no bilježi se pojava izbijanja bolesti na ograničenim područjima središnje i južne Italije, naime u 2025. godini zabilježeno ih je šest, ograničeno na tri žarišta (<https://webgate.ec.europa.eu/tracesnt/adis/public/notificati->

[on/outbreaks-current-year-report](https://webgate.ec.europa.eu/tracesnt/adis/public/notificati-on/outbreaks-current-year-report)). Prema istraživanju Righi i sur. (2021.), prevalencija bolesti u Italiji zadržala se ispod 0,2 % u razdoblju od 2018. do 2021. godine.

U Rumunjskoj su Irimia i sur. (2021.) u razdoblju između 2017. i 2021. godine proveli istraživanje u dvjema regijama u kojima je prevalencija varirala između 0 i 1,9 %. Vidljivo je da se iz godine u godinu smanjuje broj izbijanja bolesti, zbog uspješnog provođenja programa suzbijanja i iskorjenjivanja bolesti. U 2025. godini u Rumunjskoj je bilo prijavljeno 418 slučajeva bolesti (<https://webgate.ec.europa.eu/tracesnt/adis/public/union-reporting/current-dold-yearly-report>).

Bosna i Hercegovina i Srbija također imaju potvrđene slučajeve bolesti, te nemaju status države slobodne od ELG-a (<https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>).

Usporedba rezultata ranijih istraživanja na području Republike Hrvatske s rezultatima ovog rada pokazuje da je Osječko-baranjska županija tijekom promatranih razdoblja kontinuirano imala najveći broj pretraženih i pozitivnih uzoraka, što se podudara s rezultatima radova Balić i sur. (2013.) i Roić i sur. (2013.). U razdoblju od 2013. do 2025. godine u toj je županiji analiziran 188 261 uzorak, od kojih je 1965 (1,0 %) bilo pozitivno. Velik udio uzoraka iz Osječko-baranjske županije može se povezati s njezinim znatnim udjelom u ukupnom broju goveda u Republici Hrvatskoj. Prema podacima za 2025. godinu na



Graf 1. Ukupan broj pretraženih i pozitivnih uzoraka od 2013. do 2025. godine

području Osječko-baranjske županije nalazi se gotovo 20 % ukupnog broja goveda u Republici Hrvatskoj (Rastija, 2025.).

Vukovarsko-srijemska županija prema broju pretraženih uzoraka bila je druga, s ukupno 70 746 uzoraka, od kojih je 140 (0,2 %) bilo pozitivno. U usporedbi s rezultatima navedenima u radu Roić i sur. (2013.), u kojemu su udjeli pozitivnih uzoraka u ovoj županiji iznosili 0,6 % i 1,32 %, u promatranom razdoblju ovog istraživanja zabilježen je niži udio pozitivnih nalaza. Brodsko-posavska županija prema broju pretraženih uzoraka bila je treća, s ukupno 38 715 uzoraka, dok je prema broju pozitivnih uzoraka zauzela drugo mjesto, s 246 pozitivnih nalaza (0,6 %). U ranijem istraživanju Roić i sur. (2013.) udio pozitivnih uzoraka u ovoj županiji iznosio je 2,0 %, što je više u odnosu na rezultate ovog istraživanja. Virovitičko-podravsko županija prema broju pretraženih uzoraka bila je četvrta, s ukupno 24 614 uzoraka, te treća prema broju pozitivnih uzoraka, s ukupno 133 pozitivna uzorka (0,5 %). U usporedbi s ranijim istraživanjem, u kojemu je udio pozitivnih uzoraka iznosio 1,2 %, u ovom je istraživanju zabilježen niži udio pozitivnih nalaza. Najmanji broj pretraženih uzoraka zabilježen je u Požeško-slavonskoj županiji, s ukupno 22 794 uzorka, od kojih su 72 (0,3 %) bila pozitivna. U ranijim istraživanjima prisutnost ELG-a u ovoj županiji nije bila potvrđena do 2011. godine, kada je u razdoblju obuhvaćenom istraživanjem Roić i sur. (2013.) utvrđeno 17 pozitivnih uzoraka, odnosno 0,6 %.

Nakon analize rezultata laboratorijske dijagnostike vidljiva je niska prevalencija bolesti u analiziranim uzorcima, koja se kreće od 0,2 % do 1 %, što upućuje na malu pojavnost bolesti unutar populacije. Uočava se i trend smanjenja postotka pozitivnih uzoraka kroz godine: gdje je udio pozitivnih uzoraka u Brodsko-posavskoj županiji 2013. godine bio 1,9 %, dok 2025. godine nije bila potvrđena prisutnost bolesti. Istu situaciju nalazimo i u drugim županijama, kao što su Požeško-slavonska, Virovitičko-podravsko i Vukovarsko-srijemska županija, gdje u posljednje dvije godine nema potvrđene prisutnosti bolesti.

Malo drukčiju sliku nalazimo u Osječko-baranjskoj županiji, gdje 2025. godine i dalje postoji prisutnost bolesti s udjelom od 2,7 %, što je više od podataka iz 2013. godine, kada je udio bio 1,6 %. Sveukupno, ti podaci potvrđuju uspješnost Programa za iskorjenjivanje enzooske leukoze goveda, ali potrebno je daljnje provođenje seroloških testiranja te nadziranje i praćenje pojavnosti bolesti, s ciljem potpunog iskorjenjivanja i zadržavanja statusa države članice slobodne od ELG-a.

Zaključak

Dugogodišnji rezultati laboratorijske dijagnostike ELG-a u istočnoj Hrvatskoj upućuju na smanjenje udjela pozitivnih nalaza u odnosu na ranija istraživanja te potvrđuju važnost sustavnog serološkog nadzora. Kontinuirano laboratorijsko praćenje i provedba propisanih mjera ključni su za očuvanje statusa Republike Hrvatske kao države slobodne od enzooske leukoze goveda.

Literatura

- BALIĆ, D., T. KIŠ, I. LOHMAN JANKOVIĆ, B. ROIĆ, I. LOJKIĆ, J. MADIĆ, M. PERIŠKIĆ, M. ŠKRIVANKO, M. LOLIĆ, M. AGIČIĆ (2013): Rasprostranjenost enzooske leukoze goveda u Hrvatskoj u razdoblju od 2006. do 2011. godine s osvrtom na probleme suzbijanja i iskorjenjivanja. Vet. Stanica 44, 261-272.
- BERG, C., A. BØTNER, H. BROWMAN, A. DE KOEIJER, K. DEPNER, M. DOMINGO, C. DUCROT (2015): Scientific opinion on enzootic bovine leukosis. EFSA J. 13, 4188.
- BEYER, J., B. KÖLLNER, J. P. TEIFKE, E. STARICK, D. BEIER, I. REIMANN, U. GRUNWALD, M. ZILLER (2002): Cattle infected with bovine leukaemia virus may not only develop persistent B-cell lymphocytosis but also persistent Bcell lymphopenia. J. Vet. Med. 49, 270-277.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) (2015): Enzootic bovine leukosis. EFSA J. 13, 4188.
- ILLET, N., A. FLORINS, M. BOXUS, C. BURTEAU, A. NIGRO, F. VANDERMEERS, H. BALON, A. B. BOUZAR, J. DEFOICHE, A. BURNY, M. REICHERT, R. KETTMANN, L. WILLEMS (2007): Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. Retrovirology. 4, 18.



- IRIMIA, E., M. MINCU, E. N. POGURSCHI, J. J. HODNIK, I. M. G. A. SANTMAN-BERENDS (2021): Enzootic Bovine Leukosis: Surveillance Measures and Control Program in the Northern Dobruja Area of Romania Between 2017 and 2020. *Front. Vet. Sci.* 8.
- HUTCHINSON, H. C., V. J. RUGGIERO, B. NORBY, K. R. B. SPORER, P. C. BARTLETT (2021): Diagnostic Measures of Disease Progression in Cattle Following Natural Infection with Bovine Leukemia Virus. *Pathogens* 10, 987.
- NAKADA, S., Y. FUJIMOTO, J. KOHARA, K. MAKITA (2022): Economic losses associated with mastitis due to bovine leukemia virus infection. *J. Dairy Sci.* 106 (1), 576-588.
- RASTIJA, K. (2025): Tko tovi hrvatsku junad? Ovo su tvrtke koje godišnje okreću desetke tisuća grla. *Agroklub.com*. Dostupno na: <https://www.agroklub.com/stocarstvo/tko-tovi-hrvatsku-junad-ovo-su-tvrtke-koje-godisnje-okrecu-desetke-tisuca-grla/108971/>
- RIGHI, C., C. ISCARO, S. PETRINI, R. LOMOLINO, R. FELIZIANI (2021): Enzootic Bovine Leukosis in Italy: Epidemiological Issues after Free Status Recognition and Measures Applied to Tackle the Last Persistent Clusters. *Pathogens* 10, 1475.
- RIGHI, C., C. ISCARO, S. PETRINI, E. SCOCCIA, S. PIRANI, A. FIORUCCI, R. LOMOLINO, F. FELIZIANI (2025): An Update of Epidemiological Trends in Enzootic Bovine Leukosis in Italy and an Analysis of Risk Factors Associated with Infection Persistence. *Pathogens* 14, 1088.
- ROIĆ, B., T. KIŠ, A. JUNGIC, B. BAČANEK, M. LOLIĆ, A. TOMAC, D. LUKAČEVIĆ (2013): Provedba nacionalnog programa iskorjenjivanja enzootske leukoze (ELG) u Republici Hrvatskoj u 2011. godini. *Vet. Stanica* 44, 83-92.
- ROIĆ, B., I. SUČEC, I. LOHMAN JANKOVIĆ, M. ZORETIĆ, Ž. CVETNIĆ, V. STAREŠINA, Z. MILAS, N. TURK (2013): Proširenost enzootske leukoze goveda u Republici Hrvatskoj tijekom 2009. i 2010. godine. *Vet. Stanica* 44, 437-448.

sults of serological tests and trends of disease occurrence. Diagnostic was carried through enzyme immunoassay (ELISA) for antibody presence in bovine samples of serum, while all the positive samples were confirmed at the National Reference Laboratory of the Croatian Veterinary Institute. During this period a total of 345 132 blood samples of bovines from east Croatian area were tested. Antibodies for EBL virus were confirmed in 2 556 samples or rather 0,7 % of total samples tested. The biggest number of samples were from Osječko-baranjska county, which had 188 261 samples, of which 1 965 (1,0 %) were positive. The smallest number of samples was noted in Požeško-slavonska county, with 22 794 samples of which 72 (0,3 %) were positive. During the observed period, a decrease in the number of positive results is noted in the later years, alongside a simultaneous decrease in the total number of samples tested. Results show continued implementation of surveillance and a gradual reduction in disease incidence, with variations linked to biosecurity measures and production organization. Long-term data confirm the key role of laboratory diagnostics in monitoring herd health status and implementing control measures. In conclusion, systematic surveillance and continuous testing are crucial for maintaining the disease-free status that Croatia has held since February 2026., alongside the need for continued serological monitoring.

Key words: enzootic bovine leucosis; surveillance; diagnostics; epidemiology; cattle; East Croatia

BOVINE LEUKEMIA VIRUS IN EAST CROATIA (2013.-2025.): LABORATORY DIAGNOSTIC (TEST) RESULTS

Abstract

Enzootic bovine leukosis (EBL) is an infectious, chronic illness caused by bovine leukemia virus from *Deltaretrovirus* genus (family *Retroviridae*). In most cases this disease has subclinical nature, with persistent lymphocytosis, while a small number of animals develop tumor-like lesions. It causes significant economic losses due to discarding of carcasses, lesser production of milk and fertility. In Croatia, the control of EBL has been carried out through systematic monitoring since 2013., in accordance with European legislation. The purpose of this research is to show laboratory diagnostic results of EBL in east Croatia from 2013. to 2025. All results were analysed from Veterinary institute in Vinkovci across five provinces, including number of samples, re-

GROZNICA ZAPADNOG NILA U SJEVERNOJ MAKEDONIJI: AKTUALNA EPIDEMIOLOŠKA SITUACIJA, INTEGRIRANI NADZOR PREMA KONCEPTU *JEDNO ZDRAVLJE* I PERSPEKTIVE FARMAKOLOŠKIH PRISTUPA KONTROLI VEKTORA

Romel Velev, Igor Džadžovski, Kiril Krstevski,
Aleksandar Cvetković, Jovana Stefanovska,
Aleksandar Dodovski

Fakultet veterinarske medicine – Skoplje, Univerzitet
„Sv. Ćiril i Metodij“ u Skoplju, Sjeverna Makedonija

Sažetak

Sezona virusa Zapadnog Nila (WNV) 2026. u Sjevernoj Makedoniji pokazala je da sektorski podaci i mjere ne osiguravaju pravodobno rano upozoravanje ako humani, veterinarski i entomološki nadzor ostaju nepovezani. Cilj rada bio je usporediti aktualnu situaciju s prethodnim razdobljima, prepoznati ključne praznine sustava i razmotriti unapređenje prema konceptu *Jedno zdravlje*, uključujući farmakološku kontrolu vektora. Pregledane su znanstvene publikacije, službena izvješća, propisi i podaci platforme HealthAlert. Zaključno sa 6. listopada 2026. prijavljen je 71 slučaj u ljudi (66 potvrđenih i pet vjerojatnih); 70 infekcija procijenjeno je autohtonima, 69 slučajeva bilo je neuroinvazivno, a deset smrtno. WNV je potvrđen u četiri uginula gavrana (*Corvus corax*). Prisutnost vrste *Culex pipiens* potvrđuje lokalni vektorski kapacitet, ali nije proveden WNV-specifičan entomološki nadzor koji bi humane i veterinarske nalaze povezao s brojnošću i zaraženošću komaraca. Evidentirane aktivnosti kontrole dokumentiraju odgovor, ali bez standardiziranih pokazatelja ne dokazuju njegovu učinkovitost. Ivermektin i fluralaner pokazuju eksperimentalni moskitocidni potencijal, ali ostaju istraživački kandidati. Prioritet je integrirani sustav ranog upozoravanja koji povezuje podatke o ljudima, životinjama, vektorima, okolišu i intervencijama.

Ključne riječi: virus Zapadnog Nila, *Jedno zdravlje*, integrirani nadzor, komarci, kontrola vektora

Uvod

Virus Zapadnog Nila (West Nile virus, WNV) zoonotski je flavivirus koji se u prirodi održava u enzootskom ciklusu između ptica kao glavnih rezervoarskih i amplifikacijskih domaćina te ornitofilnih komaraca, ponajprije vrsta roda *Culex*. Ljudi i konji najčešće su terminalni domaćini jer njihova viremija u pravilu nije dovoljna za nastavak prijenosa na komarce. Većina infekcija u ljudi prolazi asimptomatski, dok se u manjeg dijela

razvija febrilna bolest, a približno jedna od 150 infekcija može dovesti do neuroinvazivnog oblika bolesti (WHO Regional Office for Europe, 2024). Pojava i intenzitet transmisije ovise o virusu, kompetentnim vektorima, osjetljivim ptičjim populacijama te klimatskim, okolišnim i antropogenim čimbenicima. Nadzor ograničen na humane slučajeve zato daje zakašnjeni prikaz cirkulacije virusa. Praćenje komaraca, pasivni nadzor uginuća divljih ptica, nadzor ptica i konja te pravodobna razmjena podataka mogu osigurati ranije upozorenje i usmjeriti kontrolu vektora, zaštitu krvi i komunikaciju rizika (ECDC i EFSA, 2023).

Nacionalni podaci potvrđuju autohtonu cirkulaciju WNV-a najmanje od početka prethodnog desetljeća, serološku izloženost domaćih ptica i konja te prisutnost kompetentnog vektora *Culex pipiens* (Meshterovikj i sur., 2018). Događaj iz 2026. obilježen je naglim porastom humanih slučajeva, visokom zastupljenošću neuroinvazivnog oblika i smrtnim ishodom, uz potvrdu virusa u uginulim divljim pticama. Istodobno su uočena ograničenja u povezivanju humanog, veterinarskog i entomološkog nadzora te vrednovanju mjera kontrole komaraca. Uz standardne larvicidne i ciljane adulticidne mjere, u literaturi se razmatra host-ciljana primjena sistemskih endektocida. Ivermektin i fluralaner u eksperimentalnim modelima pokazuju moskitocidni učinak nakon hranjenja komaraca na tretiranim domaćinima, ali primjena takvog koncepta u slobodnoživućih ptica otvara farmakokinetička, toksikološka, ekološka i regulatorna pitanja.

Cilj je ovoga stručnog preglednog rada objediniti dostupne humane, veterinarske i entomološke podatke o WNV-u u Sjevernoj Makedoniji, analizirati aktualni odgovor i mogućnosti njegova unaprjeđenja prema konceptu *Jedno zdravlje* te kritički razmotriti dokaze i ograničenja farmakoloških pristupa kontroli vektora.

Materijal i metode pregleda

Rad je oblikovan kao narativni stručni pregled s ciljanim pretraživanjem provedenim tijekom kolovoza i rujna 2026., uz ažuriranje 7. listopada. Pretraženi su PubMed/MEDLINE, Crossref i Google Scholar te izvori Instituta za javno zdravlje Republike Sjeverne Makedonije (IJZ), Ministarstva zdravstva, Agencije za hranu i veterinarstvo (AHV), Europskog centra za sprečavanje i kontrolu bolesti (ECDC), Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA), Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) i platforme HealthAlert. Osnovna sintaksa bila je („West Nile virus“ OR WNV) AND („North Macedonia“ OR Macedonia), dopunjena pojmovima *Culex pipiens*, *birds*, *horses*, *mosquitoes*, *surveillance*, *One Health*, *ivermectin*, *fluralaner*, *endectocide*, *mosquitocidal* i *vector control*.

Uključene su recenzirane epidemiološke, veterinarske, entomološke, farmakološke i sigurnosne publikacije, službena izvješća s datumom presjeka, nacionalni propisi te konferencijski sa-



Tablica 1. Ključni epidemiološki, veterinarski i entomološki pokazatelji za Sjevernu Makedoniju

Razdoblje i domena	Ključni nalaz	Epidemiološko značenje	Glavno ograničenje
2010. – 2016. / humana dijagnostika	214 neuroloških bolesnika; 53 WNV IgM-pozitivna	WNV je relevantan u diferencijalnoj dijagnostici neuroinfekcija	Klinički odabrana skupina; nije populacijska prevalencija
2011. – 2017. / humane prijave	22 slučaja; 81,8 % bez putovanja; tri smrti	Podupire autohtonu transmisiju i klinički značaj bolesti	Moguća usmjerenost nadzora na teže slučajeve
2011. – 2012. / ptice i konji	IgG u 5,6 % od 1.293 ptice i 3,2 % od 316 konja	Dokaz prethodne izloženosti dviju životinjskih populacija	Serologija ne određuje vrijeme ni mjesto infekcije
2017. / komarci	Potvrđena prisutnost vrste <i>Culex pipiens</i>	Prisutan glavni europski kompetentni vektor	Nije objavljena detekcija WNV RNA u komarcima
2016. – 2018. / invazivni komarci	<i>Aedes albopictus</i> potvrđen u zemlji i Skoplju	Pokazuje širenje invazivne vrste i stručni kapacitet nadzora	Ne dokazuje primarnu ulogu u prijenosu WNV-a
Do 6. 10. 2026. / humani slučajevi	71 slučaj; 66 potvrđenih; 70 autohtonih; 69 neuroinvazivnih; 10 smrti	Intenzivna, pretežno lokalna transmisija, dominantno u Skoplju	Blage i asimptomatske infekcije uglavnom ostaju nevidljive
Kolovoz – rujan 2026. / uginule ptice	WNV u četiri gavrana: Skoplje 3, Resen 1	Neposredan dokaz cirkulacije u ptičjoj komponenti	Nisu objavljeni nazivnik, potpuni metodološki podaci ni virusna linija

žetak nacionalne procjene rizika kada cjelovit rad nije bio dostupan. Isključeni su duplikati, metodološki nedostadni ili nerelevantni izvori, medijski napisi uz dostupan primarni izvor te farmakološki radovi bez mjerljivog učinka na komarce. Šira analiza obuhvatila je 33 izvora, od kojih je u ovoj skraćenoj verziji navedeno 18 ključnih referencija. Nacionalni pokazatelji prikazani su zaključno sa 6. listopada, a HealthAlert prema stanju od 5. listopada 2026. Zbog heterogenosti izvora nisu provedene metaanaliza ni formalna PRISMA procjena rizika od pristranosti.

Epidemiološki dokazi za Sjevernu Makedoniju

Nacionalni dokazi o WNV-u obuhvaćaju humane laboratorijske i prijavne podatke, serološka istraživanja ptica i konja, entomološke nalaze te pasivni nadzor uginuća divljih ptica. Zbog različitih razdoblja, ciljnih populacija i metoda nalazi se ne mogu neposredno zbrajati, ali njihovo zajedničko tumačenje omogućuje procjenu kontinuiteta i intenziteta transmisije. Ključni nalazi i ograničenja njihova tumačenja sažeti su u Tablici 1.

Serološka dijagnostika WNV-a metodom ELISA uvedena je 2010. godine. Do 2016. ispitano je 214 bolesnika s neurološkim simptomima, od kojih su 53 bila IgM-pozitivna (Failloux i sur., 2017). U nacionalnoj procjeni rizika za 2011. – 2017. evidentirana su 22 slučaja u ljudi, većinom bez podatka o putovanju, uz tri smrtna ishoda (Meshterovikj i sur., 2018). Razlika između laboratorijskih nalaza i prijavljenih slučajeva odražava različita razdoblja, kriterije i razine potvrde.

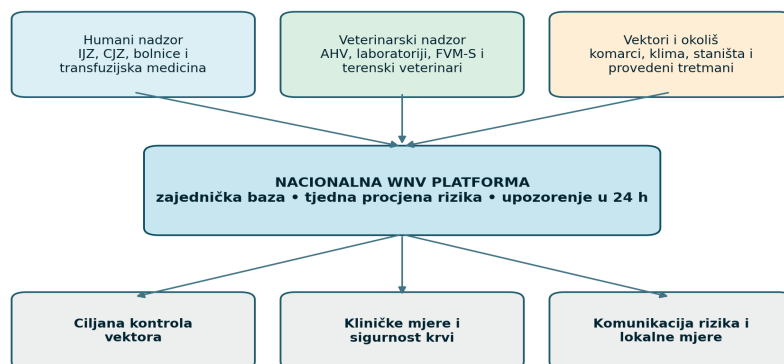
Zaključno sa 6. listopada 2026. prijavljen je 71 slučaj: 66 potvrđenih i pet vjerojatnih; 70 infekcija procijenjeno je autohtonima, 69 bolesnika imalo

je neuroinvazivni oblik, a deset ih je umrlo. Među oboljelima su bila 52 muškarca i 19 žena, a 58 osoba bilo je starije od 60 godina. Prema prebivalištu, 63 oboljela bila su iz Skoplja, tri s područja Velesa, dva iz Kavadaraca, a po jedan iz Kumanova, Svetog Nikole i Tetova. Najviše procijenjenih izlaganja povezano je s općinama Kisela Voda, Gazi Baba, Butel, Aerodrom i Ilinden (IJZ, 2026).

Aktivni serološki nadzor 2011. – 2012. utvrdio je IgG protutijela u 5,6 % od 1293 domaće ptice i 3,2 % od 316 konja (Meshterovikj i sur., 2018). Tijekom 2026. WNV je potvrđen u četiri uginula gavrana (*Corvus corax*), tri iz Skoplja i jednog iz Resena. Uzorci su analizirani u Laboratoriju za serologiju i molekularnu dijagnostiku Nacionalnog instituta za veterinarstvo i hranu (NIVH) na Fakultetu veterinarske medicine – Skoplje (FVM-S), u okviru aktivnosti AHV-a. Bez ukupnog broja ispitanih ptica, potpunih metodoloških podataka i genske karakterizacije nalazi ne omogućuju procjenu prevalencije.

Entomološka procjena iz 2017. potvrdila je prisutnost vrste *Culex pipiens*, ali ne i WNV RNA u prikupljenim komarcima (Meshterovikj i sur., 2018). *Aedes albopictus* potvrđen je u Skoplju (Cvetkovikj i sur., 2020), što je važno za opću pripravnost, ali ga ne treba predstavljati kao primarni vektor aktualne transmisije. Iako je nadzor komaraca bio predviđen za 2026., prema raspoloživim podacima nije proveden.

HealthAlert je 5. listopada sadržavao 82 zapisa o kontroli komaraca, 34 potencijalna legla, 21 zahvaćenu općinu i stopu od 3,9 slučajeva na 100 000 stanovnika. Zapisi prikazuju opseg mjera, ali bez standardiziranog praćenja prije i nakon tretmana ne dokazuju njihovu učinkovitost niti predstavljaju WNV-specifičan entomološki nadzor (HealthAlert, 2026).



Slika 1. Predložena shema integriranog nadzora nad virusom Zapadnog Nila u Sjevernoj Makedoniji prema konceptu Jedno zdravlje

Integrirani nadzor prema konceptu *Jedno zdravlje*

Integrirani nadzor pravodobno povezuje sektorske podatke u zajedničku procjenu rizika kako bi se cirkulacija prepoznala prije većeg broja neuroinvazivnih slučajeva. Nalaz WNV-a u komarcu ili ptici, sumnjiv ili potvrđen slučaj u konja ili grupiranje uginuća ptica treba odmah podijeliti s humanim sektorom; autohtoni humani slučaj treba pokrenuti ciljano veterinarsko i entomološko uzorkovanje. Predlaže se stalna Nacionalna koordinacijska skupina za WNV: Ministarstvo zdravstva, AHV, IJZ i centri za javno zdravlje (CJZ), NIVH pri FVM-S, Institut za transfuzijsku medicinu te službe za nadzor i kontrolu komaraca, uz druge nadležne institucije prema potrebi.

Nadležni CJZ do 1. veljače izrađuje općinski stručni elaborat; općina ili Grad Skoplje organizira i financira mjere, a IJZ prati epidemiološku situaciju, prikladnost sredstava i učinkovitost. Povezivanje s humanim slučajevima, veterinarskom dijagnostikom te nadzorom konja i komaraca prikazano je na Slici 1.

Tijekom sezone zajedničku procjenu treba provoditi najmanje tjedno, a potvrđeni signal razmijeniti unutar 24 sata. Minimalni skup podataka obuhvaća mjesto, datume, status nalaza, metodu i nazivnik. Za komarce treba bilježiti vrstu, klopa-noći, ulov, veličinu skupova i rezultat testiranja; za ptice broj testiranih i pozitivnih jedinki; a za konje klinički status, kretanje i status cijepljenja.

Ministarstvo zdravstva predstavilo je 26. kolovoza 2026. platformu HealthAlert s podacima o humanim slučajevima, rizičnim područjima, potencijalnim leglima i provedenim mjerama (Ministarstvo zdravstva Republike Sjeverne Makedonije, 2026). Za funkciju ranog upozoravanja platformu treba nadopuniti standardiziranim veterinarskim i entomološkim pokazateljima te zaštićenim stručnim slojem za povezivanje događaja.

Nadzor treba biti cjelogodišnji, a uspješnost mjerena vremenom reakcije, potpunosti i prostornom pokrivenošću podataka te standardiziranim ulovom prije i nakon tretmana.

Farmakološka kontrola vektora

Farmakološka kontrola vektora ovdje označava ksenointoksikaciju usmjerenu na domaćina: sistemski aktivnu tvar prima kralježnjački domaćin, a komarac je unosi tijekom krvnog obroka. Učinak ovisi o koncentraciji u krvi, trajanju izloženosti, prihvatanju hrane s dodatkom aktivne tvari i udjelu tretiranih vrsta u krvnim obrocima. Laboratorijska smrtnost nakon jednoga obroka zato ne dokazuje smanjenje transmisije u zajednici.

Ivermektin je u pokusima na pticama povećao smrtnost komaraca, a u dvorišnim jatima bio povezan s manjim udjelom serokonverzija i nižom paritetnom stopom, ali ne i sa smanjenjem brojnosti komaraca ili prevalencije WNV-a u vektorima (Nguyen i sur., 2019; Holcomb i sur., 2022; Savran i sur., 2026).

Fluralaner je pokazao moskitocidnu aktivnost u umjetnim krvnim obrocima i nakon hranjenja na tretiranim kokošima, ali bez terenskog WNV ishoda. Njegovo odobrenje za liječenje peradarskih grinja ne obuhvaća komarce, WNV ni slobodnoživuće ptice (Shah i sur., 2024; Knappe i sur., 2025; EMA, 2017).

Ivermektin ima izravnu povezanost s WNV-om, ali kratak prozor izloženosti, a fluralaner dulju perzistenciju, ali bez terenskog WNV ishoda. Ni za jednu tvar nije utvrđen validirani ciljni raspon za lokalni *Cx. pipiens* ni prihvatljiv omjer koristi i rizika u slobodnoživućih ptica. Ključni nalazi i ograničenja sažeti su u Tablici 2.

Obje tvari treba promatrati kao istraživačke kandidate. Farmakološki pristup mogao bi biti samo dopuna integriranom nadzoru i standardnoj kontroli vektora, nakon lokalne potvrde učinkovitosti, farmakokinetike, sigurnosti, okolišnog rizika i regulativne prihvatljivosti.

Rasprava

Raspoloživi podaci potvrđuju da WNV u Sjevernoj Makedoniji nije nov ni izoliran događaj. Raniji humani slučajevi, serološka izloženost pti-

Tablica 2. Kritička usporedba ivermektina i fluralanera kao host-targetiranih moskitocida

Izvor i tvar	Model	Glavni nalaz	Ključno ograničenje
Nguyen i sur., 2019 / ivermektin	Ptice; <i>Cx. tarsalis</i> ; medicirana hrana	Visoka smrtnost pri najvišoj koncentraciji; brz pad izloženosti	Mali terenski pokus; bez dokaza smanjenja WNV-pozitivnih skupova
Holcomb i sur., 2022 / ivermektin	Randomizirani pokus u osam dvorišnih jata	Manje serokonverzija i niža paritetna stopa	Bez značajne razlike u brojnosti komaraca ili WNV prevalenciji
Savran i sur., 2026 / ivermektin	Četiri vrste ptica; <i>Cx. tarsalis</i>	Visoka smrtnost komaraca u kontroliranim uvjetima	Nema lokalnog <i>Cx. pipiens</i> ni terenskog ishoda
Shah i sur., 2024 / fluralaner	Umjetni krvni obrok; tri vrste komaraca	Moskitocidni i subletalni učinci	Bez domaćina, farmakokinetike i procjene sigurnosti u ptica
Knape i sur., 2025 / fluralaner	Tretirane kokoši; <i>Cx. quinquefasciatus</i>	Povećana smrtnost 3. i 7. dana	Bez značajnog učinka kasnije i bez terenskog WNV ishoda
EMA / Exzolt / fluralaner	Odobrena uporaba u domaćih kokoši protiv grinja	Dostupni regulatorni podaci o farmakokinetici i ostacima	Ne obuhvaća komarce, WNV ni slobodno živuće ptice

ca i konja te prisutnost vrste *Cx. pipiens* pokazuju dugotrajan rizik, dok se 2026. razlikuje po naglom porastu slučajeva, koncentraciji u Skoplju, visokom udjelu neuroinvazivnih oblika i potvrdi virusa u uginulim gavranima. Istodobna aktivnost u susjednim zemljama potvrđuje regionalni karakter rizika. Iako je genetska linija 2 dominantna u srednjoj i jugoistočnoj Europi, bez sekvenciranja nacionalnih uzoraka aktualni nalazi ne mogu joj se automatski pripisati (Šolaja i sur., 2024).

Središnji nedostatak odgovora nije izostanak aktivnosti, nego njihova vremenska i institucionalna nepovezanost. Zakonska shema omogućuje godišnje planiranje dezinfekcije, a HealthAlert povećava transparentnost, ali 82 evidentirane aktivnosti ne dokazuju smanjenje brojnosti ili zaraženosti vektora ni humane incidencije. Za vrednovanje su potrebni standardizirani ulov prije i nakon tretmana, podaci o vremenu, području i sredstvu te rezultati testiranja komaraca. Dezinfekcija je mjera kontrole, a ne zamjena za WNV-specifičan entomološki nadzor.

Farmakološka kontrola vektora ostaje istraživačka mogućnost. Ivermektin ima izravniji dokazni lanac povezan s WNV-om, ali kratak prozor izloženosti, a fluralaner dulju perzistenciju, ali bez terenskog dokaza smanjenja transmisije. Sistemski endektocidi ne mogu zamijeniti upravljanje leglima, larvicidne i ciljane adulticidne mjere, nadzor rezistencije, osobnu zaštitu i komunikaciju rizika.

Ograničenja pregleda uključuju heterogenost izvora, razlike u definicijama i metodama te nedostatak nazivnika, standardiziranih entomoloških pokazatelja i virusnih sekvencija. Neposredni prioritet zato nije izbor između ivermektina i fluralanera, nego sustav koji može pravodobno prepoznati i vrednovati rizik te stvoriti osnovu za buduća kontrolirana istraživanja.

Zaključak

Epidemiološka situacija tijekom 2026. potvrđuje intenzivnu, pretežno autohtonu transmisiju WNV-a u Sjevernoj Makedoniji, uz velik udio neuroinvazivnih oblika, deset smrtnih ishoda i cirkulaciju virusa u divljih ptica. Prioriteti su WNV-specifičan entomološki nadzor, objavljivanje nazivnika za testiranje životinja, molekularna karakterizacija virusa te pravodobno objedinjavanje humanih, veterinarskih, entomoloških i okolišnih podataka.

Aktivnosti dezinfekcije dokumentiraju znatan operativni angažman, ali njihov broj nije dokaz učinkovitosti bez standardiziranog praćenja populacije komaraca. Ivermektin i fluralaner pokazuju eksperimentalni moskitocidni potencijal, no ne postoje dokazi koji opravdavaju njihovu neposrednu primjenu u slobodnoživućih ptica. Mogu se razmatrati samo kao moguća dopuna integriranoj kontroli vektora, nakon lokalne procjene učinkovitosti, sigurnosti, okolišnog rizika i regulativne prihvatljivosti.

Literatura

- AGENCIJA ZA HRANU I VETERINARSTVO (2026): Potvrđeni tri pozitivni slučaj na virusot na zapadnonilskata treska kaj uginati gavrani. Službeno priopćenje, 4. rujna 2026.
- CVETKOVIKJ, A., I. DJADJOVSKI, K. KRSTEVSKI, Z. POPOVA, L.J. RASHIKJ, K. ATANASOVA, I. CVETKOVIKJ, J. STEFANOVSKA (2020): New records of the Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in North Macedonia. *Macedonian Veterinary Review* 43, 125–129.
- European Centre for Disease Prevention and Control (2026): Seasonal surveillance of West Nile virus infections in humans in Europe, weekly report, week 39.
- European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority (2023): Surveillance, prevention and control of West Nile virus and Usutu virus infections in the EU/EEA. ECDC, Stockholm.

- European Medicines Agency (2017): Fluralaner (poultry): European public maximum residue limit assessment report.
- FAILLOUX, A.-B. i sur. (2017): Surveillance of arthropod-borne viruses and their vectors in the Mediterranean and Black Sea regions within the MediLab-Secure Network. Current Tropical Medicine Reports 4, 27–39.
- HEALTHALERT (2026): Nacionalna interaktivna platforma za praćenje groznice Zapadnog Nila, potencijalnih legla komaraca i provedenih aktivnosti kontrole. Stanje podataka 5. listopada 2026.
- HOLCOMB, K. M., C. NGUYEN, B. D. FOY i sur. (2022): Effects of ivermectin treatment of backyard chickens on mosquito dynamics and West Nile virus transmission. PLoS Neglected Tropical Diseases 16, e0010260.
- Institut za javno zdravlje Republike S. Makedonije (2026): Tjedno epidemiološko izvješće o groznici Zapadnog Nila u Makedoniji u 2026. godini, zaključno sa 6. listopada 2026.
- KNAPE, K., Y. TIAN, C. DURDEN i sur. (2025): Fluralaner treatment of chickens kills the southern house mosquito, *Culex quinquefasciatus*. Medical and Veterinary Entomology 39, 385–392.
- MESHTEROVIKJ, S., P. PASQUALI, J. STEFANOVSKA i sur. (2018): First comprehensive study on West Nile in Former Yugoslav Republic of Macedonia (FYROM). EFSA Conference 2018 – Science, Food, Society, Book of Abstracts, abstract 150, p. 149.
- MINISTARSTVO ZDRAVSTVA Republike S. Makedonije (2026): Stranica na MZ i IJZ so podatoci za zapadnonilskata treska. Službeno priopćenje, 26. kolovoza 2026.
- NGUYEN, C., M. GRAY, T. A. BURTON i sur. (2019): Evaluation of a novel West Nile virus transmission control strategy that targets *Culex tarsalis* with endectocide-containing blood meals. PLoS Neglected Tropical Diseases 13, e0007210.
- SAVRAN, M. J., K. COFFIN, C. M. STEWART i sur. (2026): Evaluation of the safety and insecticidal efficacy of ivermectin-treated bird feed formulations in different avian species. Parasites & Vectors 19, 202.
- SHAH, H. K. i sur. (2024): Evaluation of the mosquitoicidal efficacy of fluralaner, a potential candidate for drug-based vector control. Scientific Reports 14, 5628.
- ŠOLAJA, S., Š. GOLETIĆ, LJ. VELJOVIĆ, D. GLIŠIĆ (2024): Complex patterns of WNV evolution: a focus on the Western Balkans and Central Europe. Frontiers in Veterinary Science 11, 1494746.
- World Health Organization Regional Office for Europe (2024): West Nile Virus – questions and answers.
- Zakon o zaštiti stanovništva od zaraznih bolesti: redakcijski pročišćeni tekst, Službeni vjesnik RM br. 66/04, 139/08, 99/09, 149/14, 150/15 i 37/16, osobito čl. 9., 10., 12., 14., 42. i 43.

WEST NILE FEVER IN NORTH MACEDONIA: CURRENT EPIDEMIOLOGICAL SITUATION, INTEGRATED ONE HEALTH SURVEILLANCE AND PERSPECTIVES ON PHARMACOLOGICAL APPROACHES TO VECTOR CONTROL

Abstract

The 2026 WNV season in North Macedonia showed that sector-specific data and measures do not ensure timely early warning when human, veterinary and entomological surveillance remain disconnected. This review compared the current situation with previous periods, identified key system gaps and considered improvements through the One Health approach, including pharmacological vector control. Scientific publications, official reports, legislation and HealthAlert data were reviewed. By 6 October 2026, 71 human cases had been reported (66 confirmed and five probable); 70 were considered autochthonous, 69 were neuroinvasive and ten were fatal. WNV was confirmed in four dead common ravens (*Corvus corax*). Although *Culex pipiens* confirms local vector capacity, WNV-specific entomological surveillance linking human and veterinary findings with mosquito abundance and infection was not implemented. Mosquito-control records document the response but cannot demonstrate effectiveness without standardised indicators. Ivermectin and fluralaner show experimental mosquitoicidal potential but remain research candidates. Priority should be given to an integrated early-warning system linking human, animal, vector, environmental and intervention data.

Key words: West Nile virus, One Health, integrated surveillance, mosquitoes, vector control

USTROJ MOBILNE VETERINARSKE JEDINICE – PRAVNA OSNOVA, PLANIRANJE, POSTUPANJE I NAČIN RADA

Hana Meško

Državni inspektorat, Šubićeva 29., 10000 Zagreb

Sažetak

Odjel za mobilne veterinarske jedinice započeo je s radom u Državnom inspektoratu u rujnu 2025. godine. U okviru početka rada Odjela osigurano je posebno vozilo namijenjeno provedbi poslova veterinarskog inspekcijskog nadzora tijekom prijevoza. Ustrojstvo mobilne jedinice unutar Državnog inspektorata uređeno je člankom 29., stavkom 1. Zakona o državnom inspektoratu (*Narodne novine*, br. 115/18, 117/21, 67/23, 155/23) te člancima 46., 47. i 49. Uredbe o unutarnjem ustrojstvu Državnog inspektorata (*Narodne novine*, br. 11/25). Cilj ovog rada jest prikazati djelokrug poslova mobilne veterinarske jedinice te opremu vozila koja se upotrebljava pri provedbi veterinarskih inspekcijskih nadzora u cestovnom prometu. Poseban je naglasak stavljen na prikaz najčešćih nesukladnosti utvrđenih tijekom provedbe inspekcijskog nadzora. Odjel za mobilne veterinarske jedinice u skladu s člankom 55., stavkom 1. Zakona o veterinarstvu (*Narodne novine*, br. 82/13, 148/13, 115/18, 52/21, 83/22, 152/22, 18/23) obavlja veterinarske preglede tijekom prijevoza. Mobilne veterinarske jedinice ovlaštene su zaustavljati vozila kojima se prevoze životinje, proizvodi i nusproizvodi životinjskog podrijetla te hrana za životinje. Način i postupci provedbe veterinarskih pregleda, postupanje prilikom zaustavljanja vozila, osposobljavanje članova mobilnih jedinica, kao i oprema i oznake mobilnih jedinica i njihovih vozila propisani su Pravilnikom o opremi službenih vozila te postupanju mobilne jedinice veterinarske inspekcije (*Narodne novine*, br. 109/25), čije je donošenje propisano člankom 55. stavkom 3. Zakona o veterinarstvu (*Narodne novine*, br. 82/13, 148/13, 115/18, 52/21, 83/22, 152/22, 18/23). Ovaj rad daje pregled aktualnih izazova s kojima se veterinarski inspektori susreću tijekom provedbe službenih kontrola i veterinarskih inspekcijskih nadzora u cestovnom prijevozu, u okviru svojeg djelokruga rada. Poseban je naglasak stavljen na najčešće nesukladnosti utvrđene tijekom inspekcijskih nadzora prijevoznika. Izlaganjem se nastoji pridonijeti podizanju razine svijesti i odgovornosti svih sudionika uključenih u provedbu službenih postupaka, osobito veterinaru koji izdaju potrebnu dokumentaciju prijevoznicima za obavljanje prometa iz nadležnosti veterinarske inspekcije, i na području Republike Hrvatske i u prijevozu prema državama članicama Europske unije i trećim zemljama.

Ključne riječi: mobilne veterinarske jedinice, veterinarski pregledi, oprema vozila, cestovni prijevoz, službene kontrole

ESTABLISHMENT AND ORGANISATION OF A MOBILE VETERINARY UNIT - LEGAL BASIS, PLANNING, PROCEDURES AND OPERATIONS

Abstract

The Department of Mobile Veterinary Units was established within the State Inspectorate in September 2025. Following its establishment, a dedicated official vehicle was provided to facilitate the performance of veterinary inspection activities during transport. The organisational structure and responsibilities of the Mobile Veterinary Unit within the State Inspectorate are defined by Article 29(1) of the State Inspectorate Law ("Official Gazette", No. 115/18, 117/21, 67/23, 155/23) and Articles 46., 47. and 49. of the Regulation on the Internal Organisation of the State Inspectorate ("Official Gazette", No. 11/25). The aim of this paper is to present the scope of activities performed by the Mobile Veterinary Unit, and to describe the equipment available in the official vehicle used for veterinary inspections in road transport. Particular attention is given to the most frequently identified cases of non-compliance observed during veterinary inspections. Pursuant to Article 55(1) of the Veterinary Law ("Official Gazette", No. 82/13, 148/13, 115/18, 52/21, 83/22, 152/22, 18/23), the Department of Mobile Veterinary Units is responsible for carrying out veterinary inspections during transport. Mobile Veterinary Units are authorized to stop vehicles transporting animals, products and by-products of animal origin, as well as feed. The procedures for conducting veterinary inspections and stopping vehicles, the training requirements for members of Mobile Veterinary Units, and the equipment and identification markings of the units and their vehicles, are laid down in the Ordinance on the Equipment of Official Vehicles and Procedures of the Mobile Veterinary Inspection Unit ("Official Gazette", No. 109/25). The adoption of this Ordinance is provided for under Article 55(3) of the Veterinary Law ("Official Gazette", No. 82/13, 148/13, 115/18, 52/21, 83/22, 152/22, 18/23). This paper provides an overview of the current challenges encountered by veterinary inspectors in the performance of their official duties, with particular emphasis on veterinary inspections carried out in road transport. The focus is placed on the most common cases of non-compliance identified during inspections of transport operators. The presentation also aims to contribute to raising awareness

and promoting greater responsibility among all stakeholders involved in the implementation of official procedures, particularly veterinarians responsible for issuing the documentation required by transport operators for the lawful movement of consignments falling within the scope of veterinary inspection. Those procedures are relevant both within the Republic of Croatia and to consignments transported to other European Union Member States and third countries.

Key words: Mobile Veterinary Units; veterinary inspection; equipment of vehicle; road transport; official controls



VETERINARSKI DANI

znanstveno stručni skup s
međunarodnim sudjelovanjem

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria

ORGANIZATORI:
HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT



VELIKA PRAKSA – FARMSKE ŽIVOTINJE

USPJEŠNA DIJAGNOSTIKA ZARAZNIH BOLESTI DIŠNOG SUSTAVA – KAKO UPOZNATI NEPRIJATELJA

Clarissa Jung

LABOKLIN – Odjel za PCR dijagnostiku

Sažetak

Infekcije dišnog sustava u konja mogu uzrokovati različiti uzročnici, među kojima se *Streptococcus equi* subsp. *equi*, virusi influence konja i herpesvirusi konja ubrajaju najvažnije uzročnike u medicini konja. *Streptococcus equi* subsp. *equi* uzročnik je bolesti nazvane ždrebećak, bolesti s visokom stopom morbiditeta koja ponajprije pogađa mlađe konje, u dobi do pet godina. Nakon početnog vezivanja za stanice kripti gornjih dišnih puteva dolazi do brze translokacije bakterije u regionalne limfne čvorove. Zbog toga je bakteriju teško detektirati u ranoj fazi bolesti, nakon što nestane s površine sluznice. Stvaranje apscesa u limfnim čvorovima započinje 3 – 5 dana nakon infekcije, a do pucanja apscesa u pravilu dolazi 1 – 4 tjedna nakon infekcije. Zaraženi konji mogu izlučivati bakteriju dulje od šest tjedana, pri čemu izlučivanje počinje 1 – 2 dana nakon pojave povišene tjelesne temperature. Uobičajeni su klinički simptomi ždrebećaka mukopurulentni iscjedak iz nosa, povišena tjelesna temperatura, oticanje limfnih čvorova, stvaranje apscesa, kašalj, letargija i gubitak apetita, a moguć je i respiratorni distres. Kada bakterija dospje u zračni mjehur, može doći do razvoja empijema i stvaranja hondroida, pri čemu konj može postati kliconoša. Takve životinje, koje dugo izlučuju uzročnike, znatno pridonose visokoj stopi morbiditeta ždrebećaka. Moguć je i blaži tijek bolesti („atipični“ ždrebećak) te komplikacije (metastatski oblik („putujući“ ždrebećak), *purpura haemorrhagica* i miopatije. Najbolja strategija i vrsta uzorka za dijagnosticiranje bakterije *Streptococcus equi* subsp. *equi* ovisi o stadiju bolesti (Tablica 1).

Konji se mogu zaraziti s pet različitih herpesvirusa koji uzrokuju doživotne latentne infekcije. Konjski herpesvirusi 1 i 4 (EHV-1 i EHV-4) važne su diferencijalne dijagnoze za konjski rinopneumonitis. Do infekcije dolazi izravnim kontaktom ili putem vektora. Osobito se EHV-1 može proširiti unutar tijela konja. Nakon faze viremije, virus zahvaća endotelne stanice, a posljedični vaskulitis i mikrotrombi dovode do ishemijskog oštećenja tkiva. To rezultira teškim kliničkim oblicima bolesti, poput mijeloencefalopatije uzrokovane konjskim herpesvirusom, epidemijskih pobačaja i uginuća ždrebad ubrzo nakon porođaja. Najveća koncentracija virusa u brisovima iz nosa uočava se u početnoj fazi infekcije, nakon čega slijedi smanjenje izlučivanja putem nosnog sekreta. Tijekom viremije (približno između 4. i 10. dana nakon infekcije), EDTA krv je adekvatan uzorak s visokom koncentracijom virusa. EHV se može dijagnosticirati PCR metodom. U kliničkoj praksi preporučuju se i bris nosa i pretraga EDTA krvi kako bi se povećala vjerojatnost otkrivanja EHV-1. Zbog antigenske varijabilnosti virusa influence konja, kontrola bolesti može biti komplicirana jer ne postoji križna imunost između različitih podtipova ili kladova. Osim toga, virus se širi na velike udaljenosti, a širenje počinje čak i prije pojave kliničkih simptoma. Uništavanje cilijarnih epitelnih stanica gornjih i donjih dišnih puteva dovodi do smanjene stope uklanjanja i povećana rizika od sekundarnih bakterijskih infekcija. Vrućica, letargija, malaksalost, anoreksija, bol i slabost u mišićima, suhi kašalj, blaga limfadenopatija i serozni iscjedak iz nosa uobičajeni su klinički simptomi. Dijagnoza se može postaviti PCR-om, a brisevi nazofarinksa bolji su izbor u usporedbi s brisovima nosa.

Ključne riječi: konji, zarazne bolesti dišnog sustava, ždrebećak, herpesvirusi konja, influenza konja, PCR dijagnostika, odabir uzoraka

Tablica 1. Dijagnostika ždrebećaka u različitim stadijima infekcije

Dijagnoza	Akutna infekcija	Perzistentna infekcija	Purpura haemorrhagica / „putujući ždrebećak“
Metoda	PCR (kultura)	PCR (kultura)	test na antitijela
Uzorak	ovisno o simptomima: <ul style="list-style-type: none"> • aspirat/bris limfnih čvorova s apscesom • bris nazofarinksa u slučaju prisutnosti mukopurulentnog iscjetka • ispirak nosa/ždrijela prije pojave apscesa ili iscjetka iz nosa 	ispirak zračnog mjehura (4 tjedna nakon prestanka simptoma)	serum
Napomena	mogući su lažno negativni rezultati tijekom rane faze bolesti ili povremenog izlučivanja uzročnika	lažno negativni rezultati ako još nije došlo do puknuća limfnih čvorova	interpretacija ovisna o razini titra

SUCCESSFUL DIAGNOSIS OF INFECTIOUS RESPIRATORY DISEASES – GETTING TO KNOW THE ENEMY

Abstract

Infections of the equine respiratory tract can be caused by a variety of different pathogens. *Streptococcus equi* subsp. *equi*, equine influenza viruses and equine herpesviruses belong to the most important pathogens in equine medicine.

Streptococcus equi subsp. *equi* is the causative agent of strangles, a disease with high morbidity rates that mainly affects younger horses up to five years. After the initial attachment to the crypt cells of the upper respiratory tract, there is a rapid translocation to regional lymph nodes. Consequently, it can be difficult to detect the bacterium in the early stage of disease, as soon as it disappeared of the mucous membranes. Lymph node abscessation starts 3 - 5 days and abscess rupture usually starts 1 - 4 weeks post infection. Infected horses can shed the bacterium for over 6 weeks, with shedding starting 1 - 2 days after the onset of pyrexia. Common clinical symptoms of strangles are mucopurulent nasal discharge, pyrexia, glandular swelling, abscess formation, coughing, lethargy and inappetence, respiratory distress is also possible. When the bacterium reaches the guttural pouches, guttural empyema and the formation of chondroids can occur and the horse can enter the carrier state. These long-time shedders contribute significantly to the high morbidity rates of strangles. Also, milder courses ("atypical" strangles) and complications of the disease (metastatic strangles, purpura haemorrhagica and myopathies) are possible. The best strategy and sample material to diagnose *Streptococcus equi* subsp. *equi* depends on the stadium of disease (Table 1).

Equines can be infected by five different herpesviruses, causing lifelong latent infections.

Equine Herpes Virus (EHV) 1 and EHV 4 are important differential diagnoses for Equine Rhino-

pneumonitis. Infection occurs via close contact or vectors. Especially EHV 1 can spread into the body of the horse. After a viraemic phase, the virus affects endothelial cells and subsequent vasculitis and microthrombi lead to ischemic tissue damage. Consequently, dramatic clinical courses like Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy, epidemic abortion and neonatal foal death occur. The highest viral loads in nasal swabs could be observed in the initial phase of the infection, followed by a reduction of nasal shedding. During viremia (app. between day 4 – 10 p.i.), EDTA blood is a good sample material with high viral loads. EHV can be diagnosed by PCR. In clinical practice, it is advisable to examine both, a nasal swab and EDTA-blood, to maximize the chances of EHV 1 detection.

Due to the antigenetic variability of equine influenza viruses, disease control can be complicated, since no cross immunity between different subtypes or clades exists. Additionally, the virus spreads over large distances and shedding starts even before the onset of clinical symptoms. Destruction of ciliated epithelial cells of the upper and lower respiratory tract leads to reduced clearance rates and increased risk of secondary bacterial infections. Fever, lethargy, malaise, anorexia, muscle pain/weakness, dry cough, mild lymphadenopathy and serous nasal discharge are common clinical symptoms. Diagnostics can be made via PCR and nasopharyngeal swabs seem to be superior, compared to nasal swabs.

Key words: horses, infectious respiratory diseases, strangles, equine herpesviruses, equine influenza, PCR diagnostics, sample selection

Table 1: Diagnostics of strangles in the different stages of the infection.

Diagnosis of	Acute infection	Persistent infection	Purpura haemorrhagica/metastatic strangles
Method	PCR (culture)	PCR (culture)	Antibody test
Sample material	Dependent on symptoms: <ul style="list-style-type: none"> Aspirate/swab of abscessing lnn. Nasopharyngeal swab in presence of mucopurulent discharge Nasal/pharyngeal flush before abscessation/nasal discharge occur 	Flush of guttural pouches (4 weeks after cessation of symptoms)	Serum
Remarks	False negative results possible during early disease/intermittent shedding	False negatives, if lnn. are not ruptured yet	Interpretation depending on titer levels



ULOGA *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* U ŽDREBADI S PROLJEVOM

Clarissa Jung

LABOKLIN – Odjel za PCR dijagnostiku

Sažetak

Klostridije su gram-pozitivni štapićasti mikroorganizmi koji stvaraju spore i obligatni su anaerobi. Te su bakterije sveprisutne u okolišu i čine dio komenzalne mikroflore probavnog sustava. Klostridije, koje proizvode toksine, mogu uzrokovati histotoksične, neurotoksične, enterične i enterotoksične infekcije kod različitih životinjskih vrsta i ljudi. *Clostridium perfringens* može proizvesti više od dvadeset različitih toksina i enzima te se prema glavnim toksinima razvrstava u sedam toksikoloških tipova. Tipovi A, B i C povezuju se s gastrointestinalnim simptomima u konja. *Clostridium perfringens* tipa A proizvodi alfa-toksin (CPA), a patogenost ovog soja u prošlosti nije bila jasna. Taj tip toksina može biti otkriven i u klinički zdravih konja i u jedinki s teškim proljevom. Otkriće novog toksina, toksina nekrotičnog enteritisa F (netF), 2015. godine pružilo je nova saznanja. NetF povezuje se s nekrotizirajućim enterokolitisom u ždrebad, a zdrava ga ždrebad u pravilu ne izlučuje. Razmatraju se sinergijski učinci toksina netE i enterotoksina bakterije *Clostridium perfringens* enterotoxin (CPE). U pravilu se opažaju perakutni klinički tijekovi bolesti, praćeni anoreksijom, vrućicom, kolikama, hemoragijskim proljevom i visokom stopom smrtnosti. Toksin koji stvara pore osjetljiv je na tripsin. Zbog inhibicijskog učinka kolostroma na tripsin, novorođena ždrebad (mlađa od 14 dana) čini dobnu skupinu osjetljivu na infekcije sojevima bakterije *Clostridium perfringens* tipa A koji proizvode netF. Infekcije bakterijom *Clostridium perfringens* tipa B i C očituju se na vrlo sličan način. Infekcije tipom B, koji proizvodi CPA, beta-toksin (CPB) i epsilon-toksin (ETX), vrlo su rijetke. Glavni toksini koje proizvodi *Clostridium perfringens* tipa C jesu CPA, CPB te, u nekim slučajevima, CPE. CPB također stvara pore i osjetljiv je na tripsin. Posljedično, najčešće obolijeva novorođena ždrebad. Infekcije su tipično perakutnog do akutnog tijeka s visokom stopom smrtnosti, a povremeno mogu biti subakutne do kronične. Simptomi često uključuju hemoragični proljev, kolike, dehidraciju i depresiju. Što se tiče dijagnostike, važno je imati na umu da je *Clostridium perfringens* sveprisutan u okolišu te se redovito može dokazati u fecesu zdravih konja. To znači da samo dokazivanje prisutnosti bakterije *Clostridium perfringens* nije dovoljno. Klinička uloga te bakterije može se procijeniti tek pomoću specifičnijih dijagnostičkih metoda. Dokazivanje toksina (npr. metodom ELISA) ili gena koji kodiraju toksine (metodom PCR) uvijek treba biti dio

dijagnostičke obrade. Osim toga, preporučuje se isključivanje diferencijalnih dijagnoza.

Ključne riječi: *Clostridium perfringens*, ždrebad, nekrotizirajući enterokolitis, toksin NetF, beta-toksin, hemoragijski proljev, dokazivanje toksina

THE ROLE OF *CLOSTRIDIUM* *PERFRINGENS* IN DIARRHOEIC FOALS

Abstract

Clostridia are gram-positive, obligate anaerobic, spore-forming rods. The bacteria are ubiquitous in the environment and commensals of the gastrointestinal tract. Toxin producing Clostridia can cause histotoxic, neurotoxic, enteric and enterotoxic infections in a variety of different animal species and humans. *Clostridium perfringens* is able to produce over twenty different toxins and enzymes and can be classified into seven toxinotypes according to majortoxins. Type A, B and C are associated with gastrointestinal symptoms in horses.

Clostridium perfringens type A produces alpha-toxin (CPA) and pathogenicity of this strain was unclear in the past. The toxinotype could be detected in clinical healthy horses, as well as in animals with severe diarrhoea. In 2015, the discovery of a new toxin, necrotizing enteritis toxin F (netF), yielded new insights. NetF has been associated with necrotizing enterocolitis in foals, whereas the toxin does not appear to be normally shed by healthy foals. Synergistic effects of netE and *Clostridium perfringens* enterotoxin (CPE) are discussed. Normally peracute clinical courses are observed with anorexia, fever, colic, haemorrhagic diarrhoea and high mortality rates. The pore forming toxin is trypsin sensitive. Due to the trypsin inhibitory effects of colostrum, neonatal foals (< 14 days old) are the age group susceptible to infections with netF-producing *Clostridium perfringens* type A.

Infections with *Clostridium perfringens* type B and C manifest in very similar ways. There are only rare cases of infections with *Clostridium perfringens* type B, producing CPA, betatoxin (CPB) and epsilon toxin (ETX). The majortoxins produced by *Clostridium perfringens* type C are CPA, CPB and in some cases CPE. CPB is also pore forming and trypsin sensitive. Consequently, preliminary neonatal foals are affected. Infections are typically peracute - acute with high mortality rates, occasionally subacute - chronic. Symptoms are often haemorrhagic diarrhoea, colic, dehydration and depression.

Regarding diagnostics, it is important to remember, that *Clostridium perfringens* is ubiquitous in the environment and can be regularly detected in the faeces of healthy horses. This means, that a simple detection of *Clostridium perfringens* is not sufficient. The clinical role of the bacterium

can only be estimated by more specific diagnostics. The detection of toxins e.g. by ELISA or toxin encoding genes by PCR should always be part of the work up. Additionally, it is recommended to exclude differential diagnoses.

Key words: *Clostridium perfringens*, foals, necrotizing enterocolitis, NetF toxin, beta-toxin, hemorrhagic diarrhea, toxin detection

PREVENTIVNA STOMATOLOGIJA KONJA KROZ ŽIVOTNI VIJEK: KLINIČKA KRONOLOGIJA, PROFILI RIZIKA I PREVENTIVNE STRATEGIJE

Sara Lolić

MANZCVS (*Equine dentistry*), Vets4science d.o.o.,
Kukovčeva ulica 2, 3000 Celje, Slovenija

Sažetak

Redoviti stomatološki pregledi važan su dio preventivne zdravstvene skrbi konja, pri čemu se učestalost i sadržaj pregleda trebaju prilagoditi dobi, stupnju razvoja zubala i individualnim potrebama životinje. Temelj svakog pregleda čini sustavna klinička procjena glave i usne šupljine, uz vizualni i manualni pregled te sedaciju, primjenu punog oralnog spekulumu i jakog svjetla kako bi se omogućila potpuna procjena usne šupljine. Posebnu važnost ima rano prepoznavanje razvojnih anomalija, poremećaja okluzije zbog nepravilnog trošenja zuba, zaostalih mliječnih zuba, prisutnosti neoplazija i bolesti temporomandibularnog zgloba te drugih promjena koje mogu utjecati na funkciju žvakanja i uzrokovati bol ili nelagodu. Prvi stomatološki pregled preporučuje se provesti u neonatalnom razdoblju, pri čemu je naglasak na prepoznavanju kongenitalnih anomalija usne šupljine, poremećaja funkcije jezika i ranih malokluzija. Od prve godine života nadalje, stomatološki pregledi temelje se na sustavnom praćenju razvoja i stanja zubala te korekciji utvrđenih nepravilnosti. Tijekom prve godine života procjenjuju se razvoj i nicanje zuba, njihov broj, međusobni odnos te prisutnost oštih rubova cakline i traumatskih lezija oralne sluznice. Razdoblje između druge i pete godine posebno je važno zbog intenzivne izmjene mliječnih i trajnih zuba, tijekom kojega se procjenjuju prisutnost i položaj vučjih zuba, zaostali mliječni zub („kapica“), simetrija nicanja kontralateralnih zuba te moguće ozljede povezane s upotrebom žvale. Nakon uspostave trajne denticije fokus se usmjerava na održavanje pravilne okluzije, kontrolu abnormalnih obrazaca trošenja, prisutnost kuka i oštih rubova cakline te procjenu lateralnog pomaka mandibule i pravilnost razvoja mišića glave. Preventivni pristup omogućuje pravodobnu korekciju promjena prije razvoja izraženijih funkcionalnih i patoloških posljedica. Posebno je važan stomatološki pregled i eventualne korektivne zahvate provesti prije početka treninga, odnosno uvođenja žvale, kako bi se smanjila mogućnost nastanka oralne boli i problema povezanih s prihvatom žvale. U zrelijoj dobi pojavljuju se promjene povezane s trošenjem zuba i smanjenjem preostale zubne krune, uključujući senilne dijasteme, parodontnu bolest, glatke zube i valovitu okluzalnu površinu, zbog čega je uz stomatološku korekci-

ju potrebno prilagoditi i prehranu. Redoviti stomatološki pregledi i edukacija vlasnika i trenera važni su za pravodobno prepoznavanje problema i očuvanje oralnog zdravlja konja.

Ključne riječi: konj, preventivna stomatologija kopitara, dentalni pregled, denticija, malokluzija

EQUINE PREVENTIVE DENTISTRY ACROSS THE LIFESPAN: CLINICAL CHRONOLOGY, RISK PROFILES AND PREVENTIVE STRATEGIES

Abstract

Regular dental examinations are an important component of preventive health care in horses. The frequency and scope of examinations should be adapted to the horse's age, stage of dental development, and individual needs. Each examination should include a systematic clinical assessment of the head and oral cavity, with visual and manual examination, as well as sedation and the use of a full-mouth speculum and bright light to allow thorough evaluation of the oral cavity. Early recognition of developmental abnormalities, occlusal disorders caused by uneven tooth wear, retained deciduous teeth, neoplasms, temporomandibular joint disorders and other changes that may impair mastication or cause pain and discomfort is particularly important. The first dental examination is recommended during the neonatal period, with particular attention to congenital abnormalities of the oral cavity, impaired tongue function, and early malocclusions. From the age of one year onward, dental examinations focus on systematically monitoring dental development and condition, as well as correcting any abnormalities identified. During the first year of life, tooth development and eruption, tooth number and alignment, sharp enamel edges, and traumatic lesions of the oral mucosa are assessed. The period between two and five years of age is particularly important because of the intensive replacement of deciduous teeth by permanent teeth. Examinations during this period focus on the presence and position of wolf teeth, retained deciduous teeth ("caps"), the symmetry of eruption of contralateral teeth, and possible injuries associated with bit use. Once permanent dentition is established, the focus shifts to maintaining proper occlusion, monitoring abnormal wear patterns, identifying hooks and sharp enamel edges, and assessing lateral mandibular excursion and the proper development of the head muscles. A preventive approach allows abnormalities to be corrected before more pronounced functional and pathological consequences develop. Dental examinations and any necessary corrective

procedures should ideally be performed before training begins or a bit is introduced, helping reduce the risk of oral pain and problems associated with bit acceptance. In older horses, changes related to tooth wear and a reduction in the remaining clinical crown occur, including senile diastemata, periodontal disease, smooth teeth, and a wavy occlusal surface. In these cases, dietary adjustments are also necessary alongside dental correction.

Regular dental examinations and the education of owners and trainers are important for the early detection of dental problems and the preservation of equine oral health.

Key words: horse; preventive equine dentistry; dental examination; dentition; malocclusion

KIRURŠKO LIJEČENJE UBODNE RANE ABDOMINALNE MUSKULATURE S FRAKTUROM CRIJEVNE KOSTI – PRIKAZ SLUČAJA

Lea Šperanda¹, Katarina Miljak², Jelena Gotić³,
Darko Grden³, Petra Bratić³, Nika Brkljača
Bottegaro²

¹studentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu;
²Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju,
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ³Klinika za
unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u
Zagrebu

Sažetak

Ubodne rane nastaju traumom oštrim ili šiljastim predmetom, pri čemu oštećenje i nekroza tkiva te razvoj infekcije mogu otežati cijeljenje i dovesti do nastanka fistuloznog procesa. Fistula označava abnormalnu povezanost između dviju anatomskih struktura. U ovom radu prikazan je slučaj godinu dana starog pastuha arapske pasmine konja koji je zaprimljen s ubodnom ranom u području lijeve bočne kvrge posljedično traumi prije šest tjedana. Konj je zaprimljen na kliniku živahan i zainteresiran za okolinu s fiziološkim vrijednostima trijasa. U području lijeve bočne kvrge prisutna je rana je promjera 1 cm s kanalom kaudoventralnog smjera prema crijevnoj kosti u duljini 12 cm. Rendgenskom pretragom u dorzomedijalno-ventrolateralnoj kosoj projekciji ustanovljena je nepravilna kontura kompakte na kranijalnom rubu lijeve bočne kvrge. Ultrazvučnom pretragom ustanovljen je drugi fistularni kanal ventralnog smjera duljine 15 cm koji se protezao unutar trbušne stijenke neposredno do slezene. Mikrobiološkom pretragom dokazana je prisutnost *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, višestruke osjetljivosti. Učinjen je kirurški zahvat u općoj inhalacijskoj anesteziji u desnom bočnom položaju. Eksciziji fistule pristupilo se pod vodstvom ultrazvuka. Na dnu oba fistularna kanala nalazili su se nekrotični koštani fragmenti veličina 5 × 2 cm i 1,5 × 1 cm. Nakon uklanjanja koštanih fragmenata učinjen je opsežan debridman fistularnih kanala. Postoperacijska skrb uključivala je parenteralnu antibiotsku terapiju prema antibiogramu (trimetoprim sulfadiazin 25 mg/kg) tijekom tri tjedna te toaletu rana koje su djelomično ostavljene da sekundarno cijele. Sekrecija se postupno smanjivala te je konj nakon tri tjedna otpušten na kućnu njegu. Pet mjeseci nakon operacijskog zahvata konj je i dalje bez kliničkih znakova bolesti, uz minimalan kozmetički defekt abdominalne muskulature na mjestu kirurškog reza. Uspješno liječenje ubodnih rana abdominalne muskulature zahtijeva prepoznavanje i uklanjanje koštanih sekvstara koji ometaju cijeljenje. Intraoperacijski ultrazvuk može pomo-

ći u identifikaciji i lokalizaciji koštanih sekvstara te olakšati njihovo uklanjanje.

Ključne riječi: ubodna rana, fistula, konj, bočna kvrge

SURGICAL MANAGEMENT OF A PENETRATING ABDOMINAL MUSCLE WOUND WITH A FRACTURE OF THE ILIUM: A CASE REPORT

Abstract

Puncture wounds result from trauma caused by sharp or pointed objects; tissue damage, necrosis, and infection can impede healing and lead to the formation of a fistula. A fistula is defined as an abnormal connection between two anatomical structures. This paper presents the case of a one-year-old Arabian stallion admitted with a puncture wound in the region of the left tuber coxae, sustained six weeks prior. Upon admission, the horse was alert and responsive to its surroundings, with physiological vital signs. A 1 cm diameter wound was present in the left tuber coxae region featuring a 12 cm in a caudoventrally toward the ilium. Radiographic examination in a dorsomedial-ventrolateral oblique projection revealed an irregular cortical contour on the cranial margin of the left tuber coxae. Ultrasound examination identified a second, 15 cm long fistulous tract extending ventrally through the abdominal wall musculature, reaching the immediate vicinity of the spleen. Microbiological analysis confirmed the presence of *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, with a broad susceptibility profile. Surgical intervention was performed under general inhalation anesthesia with the horse in right lateral recumbency. Fistula excision was guided by ultrasound. Necrotic bone fragments measuring 5 × 2 cm and 1,5 × 1 cm were found at the base of both fistulous tracts. Following the removal of bone fragments, extensive debridement of the fistulous tracts was performed. Postoperative care included parenteral antibiotic therapy based on susceptibility testing (trimethoprim-sulfadiazine 25 mg/kg) for three weeks, along with wound management; the wounds were left to heal partially by secondary intention. Discharge decreased gradually, and the horse was discharged for home care after three weeks. Five months post-surgery, the horse remained free of clinical signs of disease, presenting only a minimal cosmetic defect in the abdominal musculature at the incision site. Successful treatment of penetrating wounds involving the abdominal musculature requires the identification and removal of bone sequestra that impede healing. Intraoperative ultrasound can assist in identifying

and localizing bone sequestra, thereby facilitating their removal.

Key words: puncture wound; fistula; colt; tuberculae coxae

DEHELMINTIZACIJSKI PROTOKOLI RASPLODNIH KOBILA I ŽDREBADI

Nika Konstantinović¹, Iva Čustović², Helena Đukić²,
Valentina Marić², Dora Višal², Ana Marija Kovač³

¹Zavod za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom
Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu;

²Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ³Katedra za
Zootehniku, Veleučilište u Križevcima

Sažetak

Konji su cijelog života izloženi parazitskim invazijama. Imunosni sustav zdravih, odraslih konja populaciju parazita drži pod kontrolom. Zbog nedovoljno razvijenog ili oslabljenog imunosnog sustava ždrebadi i rasplodne kobile smatraju se rizičnim skupinama s povećanom mogućnošću razvoja parazitoza. Najvažniji parazit ždrebadi jest konjska glista, dok su u kobila najvažniji mali strongilidi i trakavice. Zbog globalnog razvoja rezistencije parazita na antiparazitike nužno je zaštititi zdravlje životinja kontroliranim davanjem antiparazitika prema nalazu koprološke pretrage, provođenjem karantene novopridošlih životinja te održavanjem higijene pašnjaka.

Ključne riječi: parazitologija konja, ždrebadi, rasplodne kobile, parazitološka koprološka pretraga

Uvod

Pašne životinje cijelog su života izložene parazitskim invazijama. Danas je poznato da imunosni sustav zdravih, odraslih konja drži populaciju parazita pod kontrolom. Zbog slabijeg imunosnog sustava ždrebadi te hormonskih promjena tijekom ždrebosti i laktacije rasplodnih kobila, te su dvije kategorije u povećanom riziku od razvoja parazitoza koje mogu ozbiljno ugroziti zdravlje životinje (Ullah i sur., 2025.). Zato je ključno razviti program dehelmintizacije i parazitološkog monitoringa kako bi se prevenirali mogući problemi i očuvalo zdravlje životinja (Tyrenenopoulou i sur., 2021.).

Najvažniji paraziti u rasplodnih kobila

Najvažniji paraziti u rasplodnih kobila većinom su isti kao i u odraslih konja. Unatoč tome, zbog promjena tijekom gravidnosti i laktacije te mogućeg slabljenja imunosnog sustava, mogućnost negativnog učinka parazita na zdravlje kobila je veća (Tyrenenopoulou i sur., 2021.). Mali strongilidi (potporodica Cyathostominae) najrašireniji su i najpatogeniji paraziti današnjice. U odraslih, zdravih konja najčešće ne uzrokuju probleme, no u mladima konja, zbog još nedovoljno razvijenog imunosnog sustava, može doći do razvoja larvalne cijatostominoze. Ova parazitoza

nastaje zbog masovnog izlaska ličinki iz stijenke crijeva u lumen te posljedičnog razvoja enteropatije s gubitkom proteina. Zbog svoje dobi i mogućeg pada imunosti tijekom gravidnosti i laktacije, mlade, rasplodne kobile u većem su riziku od razvoja ove parazitoze (Bodecek i sur., 2010.).

Dvije vrste trakavica parazitiraju u konja – *Anoplocephala magna* i *Anoplocephala perfoliata*. Proširene su u cijelom svijetu zahvaljujući posredniku, slobodnoživućoj grinji iz porodice Oribatidae. Vrsta *A. perfoliata* smatra se patogenijom jer može uzrokovati kolike i gastrointestinalne poremećaje (Veronessi i sur., 2009., i sur., 2021.). Moderna dijagnostika trakavica konja temelji se na primjeni seroloških testova. Ako se testom pokaže visoka opterećenost trakavicama konja u krdu starijih od godine dana, preporučljivo ih je dehelmintizirati, kao i one mlađe od šest mjeseci (Adamasky i sur., 2026.).

Osim nematoda i trakavica, postoji još nekoliko vrsta parazita, iako mnogo rjeđe dijagnosticiranih, koji mogu ugroziti zdravlje kobila u gravidnosti i novorođenčadi. Poznato je da dvije vrste kokcidija – *Neospora caninum* i *Neospora hughesi* – uzrokuju pobačaje i druge reproduktivne probleme, primjerice živčanu i visceralnu neosporozu neonatalne ždrebadi (Dubey i Porterfield, 1986.; Lindsay i sur., 1996.). Katkad se ti uzročnici pogrešno dijagnosticiraju kao njihov bliski srodnik, kokcidija *Toxoplasma gondii*. Unatoč tome što se konji smatraju vrstom relativno otpornom na patogeno djelovanje ovog uzročnika, mogući su pobačaji (Tassi, 2007.). Opisani su i slučajevi nekrotizirajućeg placentitisa i pobačaja uzrokovani mikrosporidijom *Encephalitozoon cuniculi* (Patterson-Kane i sur., 2003.).

Protokoli dehelmintizacije rasplodnih kobila

Za uspješnu kontrolu populacije parazita rasplodnih kobila ključno je planiranje. Uputno je barem dva puta godišnje, u mladima kobila i tri puta, učiniti parazitološku koprološku pretragu izmeta kako bi se znalo kojoj kategoriji izlučivanja parazitskih jajašaca kobila pripada. Prema nalazu pretrage i dobi kobila zatim se odredi program dehelmintizacije i parazitološkog monitoringa. Paraziti od interesa jesu mali strongilidi te trakavice (Rendle i sur., 2024.).

Istraživano je djelovanje ivermektina na populaciju malih strongilida u kobila i posljedično njihove ždrebadi odmah nakon poroda, no učinak se pokazao samo u slučaju istodobnog izmještanja kobila i ždrebadi na pašnjake slobodne od parazita (Ludwig i sur., 1984.). Unatoč tome, novija istraživanja, temeljena na parazitološkim koprološkim pretragama izmeta kobila i ždrebadi te mjerenja koncentracije ivermektina u plazmi ždrebadi, upućuju na suboptimalnu razinu ivermektina u krvi ždrebadi i zanemariv utjecaj na nalaz njihove koprološke pretrage (Serreau i sur., 2021.). Ti rezultati upućuju na to ždrijebe neće biti „zaštićeno“ davanjem antihelmintika majci.

Važniji paraziti u ždrebadi

Nematod *Strongyloides westeri* prvi je parazit koji invadira ždrebac. Najvažniji izvor invazije jest majčino mlijeko. Invazivne ličinke pod utjecajem hormonskih promjena tijekom gravidnosti migriraju iz tkiva kobile u mliječnu žlijezdu. Ždrijebe se može invadirati i peroralno, ali i transkutano ličinkama iz okoliša. Razvoj završava otprilike dva tjedna nakon unosa. Parazit se smatra niskopatogenim i u većini su slučajeva invazije asimptomatske. Rijetko se može pojaviti proljev (Lyons i Tolliver, 2015.). Nema utjecaja u ostalim dobnim skupinama te se razvojem imunskog sustava životinje, koji se zbiva u dobi od oko 4 mjeseca, njegov razvoj spontano prekida (Reinemeyer i Nielsen, 2017.).

U rod *Parascaris* ubrajaju se dvije vrste konjskih glista – *Parascaris equorum* i rašireniji *Parascaris univalens*. Ti valjkasti, bijeli nematodi mogu dosegnuti i pola metra duljine, pa se konjska glista s pravom smatra najopasnijim parazitom u ždrebadi i mladih konja. Razvojni ciklus traje oko 70 dana i uključuje hepatopulmonalnu migraciju. Jajašca su askaridnog tipa, debele ovojnice, otporna u vanjskoj sredini. U tlu mogu ostati invazivna i više od deset godina, pa kada ovi paraziti jednom budu uneseni na gospodarstvo, teško ih se, pa i nemoguće riješiti (Scala i sur., 2021.). Kod težih invazija moguća je opstrukcija crijeva i posljedična pojava jake kolike koja može završiti smrću životinje. Konjska je glista parazit koji uzrokuje jedan od najjačih imunskih odgovora u konja, zbog čega se smatra da životinjama starijima od jedne godine ovaj parazit više nije prijetnja. Zato se nakon te dobi fokus programa dehelmintizacije usmjerava prema malim strongilidima i trakavicama (Fabiani i sur, 2016.; Tyden i sur., 2026.).

Programi dehelmintizacije ždrebadi

Fokus programa dehelmintizacije ždrebadi jest konjska glista, *Parascaris* spp. Razvojni ciklus



Slika 1. Impakcija crijeva ždrebeta nematodima *Parascaris* spp. (autor: N. Konstantinović)



Slika 2. Ždrebac je izložen parazitskim invazijama odmah po porodu (autor: A. M. Kovač)

traje oko 2,5 – 3 mjeseca, a antihelmintici imaju ograničeno djelovanje na ličinke u hepatopulmonalnoj migraciji. Zato je za provedbu prve dehelmintizacije nužno pričekati da ždrijebe navrši barem 2,5 mjeseca. Tada ličinke počinju migrirati natrag u crijeva i razvijati se u odrasle oblike na koje antihelmintik uspješno djeluje. Za prvu je dehelmintizaciju preporučljivo primijeniti fenbendazol jer ivermektin, zbog paralitičkog djelovanja na gliste, može dovesti do začepa, rupture crijeva, pa i smrti životinje (Lauš i sur., 2015.; Tyden i sur., 2026.). U ždrebadi najčešće ne dolazi do inkapsulacije ličinki malih strongilida, zbog čega moksidektin nije potreban, a važno je naglasiti i da nije registriran za ždrebac do 6 mjeseci starosti (Nielsen i Lyons, 2017.).

Rasprava

U svrhu smanjenja pojave rezistencije parazita na antiparazitike, već se dulje vrijeme ne preporučuje davanje preparata napamet, nego prema nalazu parazitološke koprološke pretrage izmeta. Pretraga se temelji na određivanju broja parazita na gram izmeta te na selektivnom davanju antiparazitika konjima za koje se dokaže da izlučuju velik broj jajašca parazita. Unatoč tome, ždrebac i mladi konji izuzeti su iz tog programa zbog još nedovoljno razvijenog imunskog sustava te povećanog rizika od razvoja parazitoza (Lester i sur., 2018.; Nielsen i sur., 2014.). Zabrinjava i činjenica da je rezistencija parazita zabilježena na sve trenutačno dostupne skupine antiparazitika. Razvoja novih proizvoda namijenjenih konjima za sada nema. Zbog toga je u svrhu zaštite zdravlja životinja, posebice onih u rizičnim kategorijama, iznimno važno antiparazitike primjenjivati racionalno i prema nalazu parazitološke koprološke pretrage izmeta. Osim parazitološke koprološke pretrage novonabavljenih životinja, važno je provoditi i karantenu te održavati higijenu pašnjaka uklanjanjem izmeta s površina barem jedanput tjedno. Preporučuje se i napasanje zajedno ili izmjenično s preživačima te upotreba pregonjskih pašnjaka (Matthews, 2026.; Nielsen, 2022.).

Zaključak

Mladi konji se s parazitološkog stajališta ubrajaju u rizičnu skupinu zbog još nedovoljno razvijenog imunosnog sustava koji im omogućuje uspostavu ravnoteže između populacije parazita i nosioca. U rasplodnih kobila može doći do slabljenja imunosnog sustava i povećane osjetljivosti za razvoj parazitoza. Ključno je planiranje te razvoj programa dehelmintizacije i parazitološkog monitoringa kobila prije pripusta.

Literatura

- ADAMASKY, K. L., K. DROZDEWSKA, P. SCHMITZ, N. PECZAK, K. L. LIGHTBODY, J. B. MATTHEWS, H. GEHLEN (2026): Tapeworm testing: Coprological and antibody-based approaches across colic types in a German equine hospital population. *Equine Vet. Ed.* 6, 135-140.
- BODECEK, S., P. O. JAHN, E. DOBESOVA, E. VAVROUCHOVA (2010): Equine cyathostomosis. *Vet. Med.* 55 (4), 187-193.
- DUBEY, J.P., M. L. PORTERFIELD (1986): Toxoplasma-like sporozoa in an aborted equine fetus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 1312-1313.
- FABIANI, J. V., E. T. LYONS, E. T., M. K. NIELSEN (2016): Dynamics of *Parascaris* and *Strongylus* spp. parasites in untreated juvenile horses. *Vet. Parasitol.* 230, 62-66.
- LAUŠ, S., L. SPASOJEVIĆ-KOSIĆ, D. TRAILOVIĆ (2015): Small intestine obstruction with ascarididae in foals after dehelmintisation with ivermectin: Case report. *Vet. glasnik*, 69(3-4), 293-301.
- LESTER, H. E., E. R. MORGAN, J. E. HODGKINSON, J. B. MATTHEWS (2018): Analysis of strongyle egg shedding consistency in horses and factors that affect it. *J. Equine Vet. Sci.* 60, 113-119.
- LINDSAY, D. S., H. STEINBERG, R. R. DUBIELZIG, S. D. SEMRAD, D. M. KONKLE, P. E. MILLER, B. L. BLAGBURN (1996): Central nervous system neosporosis in a foal. *J. Vet. Diagn. Investig.* 8, 507-510.
- LUDWIG, K. G., T. M. CRAIG, J. M. BOWEN (1984): Control of cyathostome infections in mares treated at parturition with ivermectin. *Vet. Parasitol.* 15(3-4), 285-292.
- LYONS, E. T., S. C. TOLLIVER (2015): Review of some features of the biology of *Strongyloides westeri* with emphasis on the life cycle. *Helminthologia* 52(1), 3-5.
- MATTHEWS, J. (2026): Managing equine parasites in the face of anthelmintic resistance. *In Practice* 48(7), 383-390.
- NIELSEN, M. K. (2022): Anthelmintic resistance in equine nematodes: current status and emerging trends. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Res.* 20, 76-88.
- NIELSEN, M. K., E. T. LYONS (2017): Encysted cyathostomin larvae in foals—progression of stages and the effect of seasonality. *Vet. Parasitol.* 236, 108-112.
- NIELSEN, M.K., K. PFISTER, G. VON SAMSON-HIMMELSTJERNA (2014): Selective therapy in equine parasite control—Application and limitations. *Vet. Parasitol.* 202, 95-103.
- PATTERSON-KANE, J. C., P. CAPLAZI, F. RURANGIRWA, R. R. TRAMONTIN, K. WOLFSDORF (2003): Encephalitozoon cuniculi placentitis and abortion in a quarterhorse mare. *J. Vet. Diagn. Investig.* 15, 57-59.
- REINEMEYER, C. R., M. K. NIELSEN (2017): Control of helminth parasites in juvenile horses. *Equine Vet. Educ.* 29(4), 225-232.
- RENDLE, D., K. HUGHES, M. BOWEN, K. BULL, I. CAMERON, T. FURTADO, J. HODGKINSON (2024): BEVA primary care clinical guidelines: Equine parasite control. *Equine Vet. J.* 56(3), 392-423.
- SCALA, A., C. TAMPONI, G. SANNA, G. PREDIERI, L. MELONI, S. KNOLL, A. VARCASIA (2021): *Parascaris* spp. eggs in horses of Italy: a large-scale epidemiological analysis of the egg excretion and conditioning factors. *Parasit. Vectors* 14(1), 1-8.
- SERREAU, D., A. GESBERT, F. REIGNER, J. SUTRA, J. F. LESPINE, G. SALLÉ (2021): Ivermectin treatment in lactating mares results in suboptimal ivermectin exposure in their suckling foals. *Vet. Parasitol.* 296, 109-111.
- SLATER, R., A. FRAU, J. HODGKINSON, D. ARCHER, C. PROBERT (2021): A comparison of the colonic microbiome and volatile organic compound metabolome of *Anoplocephala perfoliata* infected and non-infected horses: A pilot study. *Animals* 11(3), 755.
- ULLAH, A., M. GENG, W. CHEN, Q. ZHU, L. SHI, X. ZHANG, M. Z. KHAN (2025): Effect of Parasitic Infections on Hematological Profile, Reproductive and Productive Performance in Equines. *Animals* 15(22), 3294.
- VERONESSI, F., M. DIADFERIA, D. PIERGILI FIORETTI (2009): *Anoplocephala perfoliata* infestation and colics in horses. *Vet. Res. Commun.* 33(1), 161-163.
- TASSI, P. (2007): *Toxoplasma gondii* infection in horses. A review. *Parassitologia* 49, 7-15.
- TYDÉN, E., I. R. HELLINGS, K. TOFT NIELSEN, A. BERGREN, I. HOLMGREN, S. ATTIN, Y. HEDBERG ALM (2026): *Parascaris* spp. induced surgical colic in juvenile horses—A Scandinavian perspective. *Equine Vet. J.* 58-61.
- TYRNENOPOULOU, P., P. T. BOUFIS, G. C. FTHENAKIS, E. PAPADOPOULOS (2021): Interactions between parasitic infections and reproductive efficiency in horses. *Parasitologia* 1(3), 148-157.

DEWORMING PROTOCOLS OF FOALS AND BROODMARES

Abstract

Horses are exposed to parasitic infections throughout their lives. The immune system of healthy adult horses keeps parasites population under control. Because of an underdeveloped or weakened immune system, foals and breeding mares are at higher risk of developing clinical parasitosis. The most significant parasite affecting foals is the roundworm (*Parascaris* spp.), while small strongyles and tapeworms are the primary concerns for mares. Given the global emergence of parasite resistance to antiparasitic drugs, it is essential to protect animal health through the targeted administration of antiparasitics based on coprological test results, the implementation of quarantine for newly arrived animals, and the maintenance of pasture hygiene.

Key words: equine parasitology, foals, broodmares, coprological exam

PRIMJENA NAČELA HORSEMANSHIPA U VETERINARSKOJ PRAKSI KONJA: UTJECAJ NA SURADLJIVOST KONJA I SIGURNOST VETERINARA

Sara Lolić

MANZCVS (*Equine dentistry*), Vets4science d.o.o.,
Kukovčeva ulica 2, 3000 Celje, Slovenija

Sažetak

Horsemanship se u suvremenom kontekstu može definirati kao primjena najboljih praksi u interakciji čovjeka i konja, temeljena na razumijevanju ponašanja konja, njegovih reakcija na okoliš te načina na koji učenje i iskustvo oblikuju njegovo ponašanje. U veterinarskoj praksi ne predstavlja specifičnu metodu treninga niti pripada određenoj školi rada s konjima, već praktičan okvir za sigurniju i učinkovitiju komunikaciju između veterinara i pacijenta. Veterinarski pregled i dijagnostičko-terapijski postupci mogu za konja biti nepoznato, neugodno ili bolno iskustvo. Strah, bol, prethodna negativna iskustva, ograničavanje mogućnosti bijega te prisutnost nepoznatih ljudi ili podražaja mogu potaknuti reakcije izbjegavanja i obrambeno ponašanje, čime se povećava rizik od ozljeda konja i veterinarskog osoblja. Važno je prepoznati znakove straha i nelagode te prema njima prilagoditi način pristupa konju. Istraživanja pokazuju da nekonfrontacijski načini rukovanja mogu smanjiti znakove stresa i ponašanja izbjegavanja kod konja tijekom veterinarskih postupaka te pridonijeti sigurnosti konja i rukovatelja.

Ključne riječi: konj, *horsemanship*, ponašanje konja, nekonfrontacijsko rukovanje, sigurnost veterinara

APPLICATION OF HORSEMANSHIP PRINCIPLES IN EQUINE VETERINARY PRACTICE: EFFECTS ON PATIENT COMPLIANCE AND VETERINARY SAFETY

Abstract

In contemporary practice, horsemanship can be defined as the application of best practices in human-horse interactions, based on an understanding of equine behaviour, horses' responses to their environment, and the ways in which learning and experience shape their behaviour. In veterinary practice, it is not a specific training method or an approach associated with a particular school of horsemanship, but rather a practical framework for safer and more effective communication between the veterinarian and the patient.

Veterinary examinations and diagnostic and therapeutic procedures may be unfamiliar, unpleasant, or painful experiences for horses. Fear, pain, previous negative experiences, restricted opportunities to escape, and the presence of unfamiliar people or stimuli may trigger avoidance responses and defensive behaviour, increasing the risk of injury to both horses and veterinary personnel. It is important to recognise signs of fear and discomfort and adapt the approach accordingly. Research indicates that non-confrontational handling techniques can reduce signs of stress and avoidance behaviour in horses during veterinary procedures and contribute to the safety of both horses and handlers.

Key words: horse; horsemanship; equine behaviour; non-confrontational handling; veterinary safety

HRANIDBA KOBILA TIJEKOM GRAVIDNOSTI I LAKTACIJE

Ana-Marija Kovač¹, Goran Mikec¹, Nika Konstantinović²

¹Veleučilište u Križevcima, Milislava Demerca 1, 48260 Križevci, Hrvatska; ²Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Hranidba rasplodnih kobila tijekom gravidnosti i laktacije ima važnu ulogu u održavanju optimalne tjelesne kondicije, reproduktivne učinkovitosti te osiguravanju odgovarajućih uvjeta za razvoj fetusa i rast ždrebadi. Hranidbene potrebe mijenjaju se ovisno o fiziološkom stadiju, pri čemu se potrebe za energijom, bjelančevinama i pojedinim vitaminima i mineralima postupno povećavaju tijekom gravidnosti, osobito u njezinoj posljednjoj trećini, dok je rana laktacija nutritivno najzahtjevnije razdoblje reproduktivnog ciklusa. Osnovu obroka trebaju činiti kvalitetna voluminozna krmiva, uz dodatak koncentriranih krmiva i vitaminsko-mineralnih dodataka u skladu s hranidbenim potrebama, kvalitetom dostupnih krmiva i tjelesnom kondicijom kobile. Redovita procjena tjelesne kondicije omogućuje pravodobnu prilagodbu hranidbe, čime se smanjuje rizik od nepovoljnih učinaka pothranjenosti i pretilosti na reproduktivnu učinkovitost. U skladu s navedenim, hranidba rasplodnih kobila treba se temeljiti na uravnoteženom obroku, redovitim praćenju tjelesne kondicije i prilagodbi unosa hranjivih tvari u pojedinim fazama gravidnosti i laktacije.

Ključne riječi: rasplodne kobile, gravidnost, laktacija, hranidbene potrebe, tjelesna kondicija

Uvod

Pravilna hranidba jedan je od ključnih čimbenika uspješne reprodukcije kobila jer pridonosi očuvanju zdravlja i odgovarajuće tjelesne kondicije te optimalne reproduktivne funkcije kobila, razvoju fetusa i proizvodnji mlijeka. Potrebe za energijom i hranjivim tvarima mijenjaju se tijekom reproduktivnog ciklusa, zbog čega hranidbu treba kontinuirano prilagođavati fiziološkom stadiju, kvaliteti dostupne voluminozne hrane i individualnom stanju životinje (Morgan i Shepherd, 2023). U ranoj gravidnosti potrebe su uglavnom slične uzdržnim potrebama, dok se u kasnijim mjesecima postupno povećavaju zbog intenzivnijeg rasta fetusa, placente i maternice te razvoja mliječne žlijezde. Potrebe za hranjivim tvarima naglo rastu nakon ždrijebljenja, pa je rana laktacija nutritivno najzahtjevnije razdoblje reproduktivnog ciklusa kobile (NRC, 2007).

Važan pokazatelj odgovarajuće hranidbe jest ocjena tjelesne kondicije kobile (engl. *Body Condi-*

tion Score, BCS), koju je potrebno pratiti zajedno s tjelesnom masom kobile. Promjene tjelesne mase tijekom gravidnosti ne odražavaju nužno promjene energetske rezerve kobile. Stoga redovita procjena tjelesne kondicije omogućuje pravodobno prepoznavanje nedovoljnog ili prekomjernog energetskeg unosa (Morgan i Shepherd, 2023).

Cilj hranidbe rasplodnih kobila nije samo osigurati dostatnu količinu hrane nego i uravnotežen obrok koji se temelji na kvalitetnim voluminoznim krmivima te, prema potrebi, odgovarajućem dodatku energije, bjelančevina, minerala i vitamina. Takvim pristupom nastoji se održati primjerena tjelesna masa i kondicija kobile te zadovoljiti promjenjive hranidbene potrebe tijekom cijelog reproduktivnog ciklusa (NRC, 2007; Morgan i Shepherd, 2023).

Hranidbene potrebe tijekom reproduktivnog ciklusa

Hranidbene potrebe rasplodne kobile mijenjaju se ovisno o fiziološkom stadiju, zbog čega hranidbu treba prilagođavati razdoblju uzdržnih potreba, gravidnosti i laktacije. Gravidnost kod kobila prosječno traje 340 dana, uz raspon od približno 310 do 370 dana. U svrhu određivanja hranidbenih potreba gravidnost se dijeli na ranu (0. – 4. mjesec), srednju (5. – 8. mjesec) i kasnu gravidnost (9. – 11. mjesec) (NRC, 2007). Tijekom gravidnosti očekuje se povećanje tjelesne mase kobile za približno 12 – 16 % u odnosu na početnu tjelesnu masu, ponajprije zbog rasta fetusa, maternice i placente (Morgan i Shepherd, 2023).

Nakon ždrijebljenja započinje laktacija, koja je nutritivno vrlo zahtjevno razdoblje za kobilu, a prema promjenama hranidbenih potreba dijeli se na ranu laktaciju, koja obuhvaća prva dva mjeseca, i kasnu laktaciju, od 3. do 6. mjeseca. Proizvodnja mlijeka najveća je tijekom prvih mjeseci laktacije te doseže vrhunac približno 30 – 60 dana nakon ždrijebljenja (Reiter i Reed, 2023). U kontroliranim uvjetima uzgoja ždrebad se najčešće odbija u dobi između 4. i 7. mjeseca života (Henry i sur., 2020).

Ocjena tjelesne kondicije rasplodnih kobila

Ocjena tjelesne kondicije (engl. *Body Condition Score*, BCS) praktična je metoda procjene količine potkožnog masnog tkiva inspekcijom i palpacijom karakterističnih anatomskeg područja. Za konje se najčešće primjenjuje sustav koji su razvili Henneke i sur. (1983), kojim se tjelesna kondicija ocjenjuje na ljestvici od 1 do 9. Iako je BCS subjektivna metoda te rezultat može ovisiti o iskustvu procjenitelja, koristan je pokazatelj promjena tjelesnih rezervi nastalih kao posljedica hranidbe (Henneke i sur., 1983; Morley i Murray, 2014).

Kod rasplodnih kobila palpacija je osobito važna, osobito u području rebra, korijena repa i kralježnice, jer gusta zimska dlaka te povećan opseg abdomena u kasnoj gravidnosti otežavaju



Slika 1. Kobile loše tjelesne kondicije (BCS 2–3) i ždrebad na ispustu (izvorna fotografija)



Slika 2. Ždrebnica kobila optimalne tjelesne kondicije (BCS 5) te njezino ovogodišnje i prošlogodišnje ždrijebe (izvorna fotografija)

inspekciju i mogu pridonijeti pogrešnoj procjeni BCS-a. Početnu procjenu tjelesne kondicije trebalo bi provesti najmanje tri mjeseca prije početka rasplodne sezone. To razdoblje omogućuje postupne promjene obroka, čime se smanjuje rizik od probavnih poremećaja. Kasna jesen i zima povećavaju potrebe za energijom zbog termoregulacije, pa je u tom razdoblju lakše postići smanjenje tjelesne mase bez izrazitog ograničavanja količine hrane, ali je istodobno teže postići njezino povećanje. Ako je potrebno povećati tjelesnu masu kobila, primjerenija su razdoblja kasno ljeto i rana jesen, kada su klimatski uvjeti povoljniji (Lawrence, 2013; Morgan i Shepherd, 2023).

Za rasplodne kobile preporučuje se održavanje umjerene tjelesne kondicije, odnosno BCS 5–6/9 (Henneke i sur., 1984; Morley i Murray, 2014). Energetski status izravno je povezan s reproduktivnom učinkovitošću. Pothranjenost ($BCS \leq 4$) može uzrokovati produljeno anovulacijsko razdoblje, veći broj ciklusa potrebnih za koncepciju te nižu stopu koncepcije (Henneke i sur., 1983; NRC, 2007). Kobile kojima je BCS niži od idealnog ili kod kojih postoje znakovi gubitka mišićne mase ne bi trebalo pripuštati dok se njihovo stanje ne korigira.

Za povećanje BCS-a za jednu ocjenu kod koja s uzdržnim potrebama u pravilu je potrebno povećanje tjelesne mase za 16 – 20 kg, pri čemu je za svaki kilogram potrebno približno 18 – 24 Mcal probavljive energije (PE) iznad uzdržnih potreba (NRC, 2007). Kod gravidne kobile tjelesne mase 500 kg koja je u kasnoj laktaciji, za povećanje BCS-a za jednu ocjenu potrebno je dnevno dodati 2 – 3 kg koncentriranog krmiva koje sadržava 3 – 3,5 Mcal PE/kg suhe tvari tijekom jednog do dva mjeseca (Morgan i Shepherd, 2023).

Kobile s BCS-om 6/9 – 7/9 mogu ovulirati slično kobilama idealne tjelesne kondicije, dok je izrazito visoka tjelesna kondicija ($BCS > 7/9$) u pojedinim istraživanjima povezana sa smanjenom reproduktivnom učinkovitošću (Henneke i sur., 1984; Fradinho i sur., 2014). Pretilost je ta-

kođer povezana s metaboličkim promjenama koje mogu utjecati na funkciju jajnika i oocita, iako njihovi učinci na reprodukciju kobila još nisu u potpunosti razjašnjeni (Sessions-Bresnahan i Carnevale, 2014; Morgan i Shepherd, 2023). Također, kod pretilih kobila postoji rizik od razvoja hiperlipidemije tijekom razdoblja negativne energetske bilance, koja se pojavljuje tijekom rane laktacije, kada su energetske zahtjevi iznimno visoki, a unos energije nedostatan (McKenzie, 2011). Ako kobila ima prekomjernu tjelesnu kondiciju, preporučuje se obrok temeljen na voluminoznim krmivima manje energetske vrijednosti (1,0 – 1,5 Mcal/kg suhe tvari) uz odgovarajući vitaminsko-mineralni dodatak (Morgan i Shepherd, 2023). Preporučena brzina smanjenja tjelesne kondicije iznosi 0,5 – 1 ocjenu mjesečno. Primjerice, kobili s BCS-om 8/9 potrebno je približno 3 – 6 mjeseci kako bi se BCS smanjio na 5/9.

U skladu s navedenim, tjelesnu kondiciju poželjno je procijeniti dovoljno rano prije početka rasplodne sezone kako bi se potrebne korekcije hranidbe i energetskog unosa mogle provoditi postupno.

Hranidba rasplodnih kobila tijekom gravidnosti

Tijekom gravidnosti dnevni unos suhe tvari iznosi približno 1,5 – 2,0 % tjelesne mase (Powell i sur., 1989). Osnovu hranidbe gravidnih kobila čine voluminozna krmiva. Pri sastavljanju obroka potrebno je voditi računa o kvaliteti voluminoznih krmiva te njihovoj mogućnosti da zadovolje potrebe kobila za energijom, bjelančevinama, mineralima i vitaminima. Tijekom rane i srednje gravidnosti potrebe kobila za energijom i bjelančevinama uglavnom se mogu zadovoljiti kvalitetnim voluminoznim krmivima, uz odgovarajući vitaminsko-mineralni dodatak (Robles i sur., 2021). Analiza krmiva omogućuje preciznije sastavljanje obroka i određivanje potrebe za dopunskim krmivima (Morgan i Shepherd, 2023).

Tablica 1. Preporučeni dnevni unos hranjivih tvari za gravidne kobile na 100 kg tjelesne mase^a

Hranjiva tvar	Jedinica	< 5. mj.	5. mj.	6. mj.	7. mj.	8. mj.	9. mj.	10. mj.	11. mj.
Probavljiva energija	Mcal	3,34 ^b	3,42	3,48	3,58	3,7	3,84	4,04	4,28
Sirove bjelančevine	g	126	137	141	146	152	159	168	179
Lizin	g	5,4	5,9	6,1	6,3	6,5	6,9	7,2	7,7
Kalcij	g	4,0	4,0	4,0	5,6	5,6	7,2	7,2	7,2
Fosfor	g	2,8	2,8	2,8	4,0	4,0	5,3	5,3	5,3
Magnezij	g	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Kalij	g	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,2	5,2	5,2
Natrij	g	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,2	2,2	2,2
Klorid	g	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	8,2	8,2
Sumpor	g	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Bakar	mg	20	20	20	20	20	25	25	25
Željezo	mg	80	80	80	80	80	100	100	100
Mangan	mg	80	80	80	80	80	80	80	80
Cink	mg	80	80	80	80	80	80	80	80
Kobalt	mg	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Jod	mg	0,7	0,7	0,7	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8
Selen	mg	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Vitamin A	KIU	6	6	6	6	6	6	6	6
Vitamin D	IU	660	660	660	660	660	660	660	660
Vitamin E	IU	160	160	160	160	160	160	160	160
Tiamin	mg	6	6	6	6	6	6	6	6
Riboflavin	mg	4	4	4	4	4	4	4	4

^a Izračunato na temelju tjelesne mase prije gravidnosti.

^b Primjer: kobila tjelesne mase 435 kg prije petog mjeseca gravidnosti treba $3,34 \times 4,35 = 14,53$ Mcal PE dnevno.

Izvor: Prilagođeno prema: Morgan i Shepherd (2023), na temelju NRC (2007), tablica 16-3; potrebe konja odrasle tjelesne mase 500 kg, BCS 4–6/9, uz unos hrane od 2 % tjelesne mase.

Potrebe gravidnih kobila za bjelančevinama tijekom prva četiri mjeseca uglavnom odgovaraju uzdržnim potrebama, dok se od petog mjeseca povećavaju usporedno s rastom ploda. Tijekom laktacije najveće su u prva dva mjeseca, kada je proizvodnja mlijeka najintenzivnija, pri čemu je uz ukupan sadržaj sirovih bjelančevina važna i odgovarajuća opskrba esencijalnim aminokiselinama, osobito lizinom (NRC, 2007). Voluminozna krmiva s većim udjelom teško probavljivih vlakana mogu smanjiti probavljivost obroka i ograničiti njegovu energetska vrijednost (Lamanna i sur., 2026). Koncentrirana i dopunska krmiva potrebno je uključivati u obrok prema stvarnim potrebama kobile i sastavu voluminoznih krmiva (Lawrence, 2013; Morgan i Shepherd, 2023). Odgovarajuća dopunska hranidba tijekom kasne gravidnosti povezana je s boljom kvalitetom kolostruma i manjom učestalošću nedostatnog pasivnog prijenosa imunosti u ždrebadi (Stone-

ham i sur., 2025). Prilikom dodatka koncentriranih krmiva potrebno je voditi računa o njihovoj količini i sastavu jer veći udio lakoprobavljivih ugljikohidrata može nepovoljno utjecati na mikrobnu populaciju debelog crijeva te povećati rizik od nastanka kolika (Tinker i sur., 1997; Julliand i Grimm, 2017). Stoga je preporuka ograničiti dnevni unos škroba i šećera na manje od 200 g na 100 kg tjelesne mase te koncentrirana krmiva rasporediti u više manjih obroka, s maksimalno 100 g škroba i šećera na 100 kg tjelesne mase po obroku (Harris i Shepherd, 2021).

Primjerena energetska opskrba važna je za održavanje tjelesne kondicije kobile, ali povećan unos energije ne znači nužno i intenzivniji rast fetusa. Tijekom prvih pet mjeseci gravidnosti potrebe za probavljivom energijom iznose približno 3,34 Mcal na 100 kg tjelesne mase dnevno, a postupno se povećavaju na približno 4,28 Mcal

na 100 kg tjelesne mase u kasnoj gravidnosti (Tablica 1). Nakon ždrijebljenja energetske potrebe dodatno rastu zbog proizvodnje mlijeka te mogu dosegnuti približno 6,34 Mcal na 100 kg tjelesne mase dnevno (Tablica 2) (NRC, 2007).

Prekomjeran unos energije u kasnoj gravidnosti povećava tjelesnu masu i kondiciju kobile, ali ne rezultira većom porođajnom masom ždrebeta (Thorson i sur., 2010; Chavatte-Palmer i sur., 2023). S druge strane, umjereno ograničavanje unosa energije ne mora utjecati na porođajnu masu ždriebeta (Banach i Evans, 1981; Thorson i sur., 2010), ali može biti povezano s produljenjem gravidnosti (Hines i sur., 1987). Zbog toga je hranidbu potrebno prilagođavati stvarnim potrebama kobile, uz izbjegavanje izrazitih odstupanja u unosu energije. Iznimno je važna postupna promjena sastava obroka tijekom prelaska iz razdoblja gravidnosti u početnu fazu laktacije (Lamanna i sur., 2026).

Posebnu pozornost potrebno je posvetiti dostatnoj količini vitamina i minerala. Preporučeni unos vitamina A i E tijekom cijele gravidnosti veći je od uzdržanih potreba, dok se potrebe za kalcijem i fosforom povećavaju od 7. mjeseca gravidnosti. U posljednjoj trećini gravidnosti povećavaju se i potrebe za bakrom i jodom (NRC, 2007). Li i sur. (2026) utvrdili su da dodatak L-selenometionina u hranidbi gravidnih kobilica povećava probavljivost sirovih bjelančevina i neutralnih detergentnih vlakana te poboljšava antioksidacijski status povećanjem aktivnosti glutation-peroksidaze i katalaze.

Potrebe za vodom tijekom gravidnosti uglavnom se ne razlikuju znatno od uzdržanih potreba, međutim, procjenjuje se da su potrebe za vodom tijekom laktacije približno 37 – 74 % veće, zbog čega je neograničen pristup svježoj vodi iznimno važan (NRC, 2007).

Hranidba rasplodnih kobilica tijekom laktacije

Početkom laktacije znatno se povećavaju potrebe rasplodnih kobilica za energijom, bjelančevinama, mineralima i vitaminima. Ukupne potrebe mogu se povećati za više od 50 % u odnosu na razdoblje prije laktacije. Naglo uvođenje većih količina koncentriranih krmiva može povećati rizik od probavnih poremećaja, pa se preporučuje tranzicijski period tijekom jednoga do dva tjedna (Morgan i Shepherd, 2023).

Tijekom rane laktacije dnevni unos suhe tvari iznosi približno 2,0 – 3,0 % tjelesne mase, dok se u kasnoj laktaciji smanjuje na 2,0 – 2,5 %. Osnovu obroka trebaju činiti visokokvalitetna voluminozna krmiva, a koncentrirana i dopunska krmiva uključuju se kada osnovni obrok ne osigurava dovoljne količine energije, bjelančevina i ostalih hranjivih tvari (NRC, 2007; Morgan i Shepherd, 2023).

Kobilje mlijeko sadržava približno 500 kcal energije po kilogramu, 2 % sirovih bjelančevina, 0,12 % kalcija i 0,075 % fosfora, uz promjene ovisno o stadiju laktacije. Budući da se količina

proizvedenog mlijeka mijenja tijekom laktacije, mijenjaju se i dnevne potrebe za energijom, bjelančevinama i mineralnim tvarima (NRC, 2007). Sastav obroka može utjecati na količinu i sastav kobiljeg mlijeka. Kobile hranjene obrokom s većim udjelom koncentriranih krmiva proizvode više mlijeka s većom količinom laktoze, dok je obrok s većim udjelom voluminoznih krmiva povezan s većim koncentracijama mliječne masti i bjelančevina (Pyles i sur., 2025). Način hranidbe i stadij laktacije utječu na masnokiselinski sastav kobiljeg mlijeka. Stadij laktacije značajno je povezan s udjelima masnih kiselina, dok mlijeko kobilica držanih pretežno na pašnjacima sadržava veći udio višestruko nezasićenih masnih kiselina (n-3) (Blanco-Doval i sur., 2024).

Ako obrokom nisu zadovoljene potrebe, kobilica može mobilizirati vlastite tjelesne rezerve radi održavanja proizvodnje mlijeka. Iako takva prilagodba može privremeno omogućiti odgovarajući rast ždrebeta, dugotrajan energetska deficit i gubitak tjelesne mase mogu nepovoljno djelovati na kasniju reproduktivnu učinkovitost kobile (Henneke i sur., 1984; Lawrence, 2013).

Zbog proizvodnje mlijeka povećavaju se i potrebe kobile za vodom, budući da mlijeko sadržava približno 90 % vode. Tijekom cijelog razdoblja laktacije potrebno je osigurati neograničen pristup vodi te dodatak soli kako bi se omogućila nadoznada vode i natrija (Morgan i Shepherd, 2023).

Kako laktacija napreduje, proizvodnja mlijeka postupno se smanjuje, a time se smanjuju i potrebe za energijom i ostalim hranjivim tvarima. Obrok se i dalje treba temeljiti na kvalitetnim voluminoznim krmivima, dok se količina koncentriranih krmiva prilagođava smanjenim potrebama, kvaliteti dostupnih krmiva i tjelesnoj kondiciji kobile.

Nakon odbića hranidbu je potrebno prilagoditi tjelesnoj kondiciji i reproduktivnom statusu kobile, uz osiguravanje dovoljnog unosa hranjivih tvari za obnovu tjelesne kondicije prije sljedećeg reproduktivnog ciklusa (Morgan i Shepherd, 2023).

Zaključak

Pravilna hranidba rasplodnih kobilica tijekom gravidnosti i laktacije ključna je za održavanje odgovarajuće tjelesne kondicije, reproduktivne učinkovitosti te pravilan razvoj fetusa i rast ždrebadi. Budući da se hranidbene potrebe znatno mijenjaju tijekom reproduktivnog ciklusa, sastav obroka potrebno je prilagođavati fiziološkom stadiju, kvaliteti dostupnih krmiva i individualnim potrebama kobile. Osnovu hranidbe trebaju činiti kvalitetna voluminozna krmiva, uz odgovarajući dodatak koncentriranih krmiva te vitaminsko-mineralnog dodatka, osobito tijekom kasne gravidnosti i rane laktacije. Redovito praćenje tjelesne kondicije i pravodobna prilagodba hranidbe važni su za očuvanje zdravlja kobilica i postizanje zadovoljavajućih reproduktivnih rezultata.



Tablica 2. Preporučeni dnevni unos hranjivih tvari za kobile u laktaciji na 100 kg tjelesne mase

Hranjiva tvar	Jedinica	Mjesec laktacije							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	4,04	4,28
Probavljiva energija	Mcal	6,34 ^a	6,34	6,12	5,88	5,66	5,44	168	179
Sirove bjelančevine	g	307	306	293,6	279,6	266	253	7,2	7,7
Lizin	g	17,0	16,9	16,1	15,1	14,2	13,4	7,2	7,2
Kalcij	g	11,8	11,8	11,2	8,3	7,9	7,5	5,3	5,3
Fosfor	g	7,7	7,6	7,2	5,2	4,9	4,6	1,5	1,5
Magnezij	g	2,2	2,2	2,2	2,1	2,0	1,7	5,2	5,2
Kalij	g	9,6	9,5	9,2	7,2	7,0	6,7	2,2	2,2
Natrij	g	2,6	2,6	2,5	2,4	2,3	2,3	8,2	8,2
Klorid	g	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	3,0	3,0
Sumpor	g	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	25	25
Bakar	mg	25	25	25	25	25	25	100	100
Željezo	mg	125	125	125	125	125	125	80	80
Mangan	mg	100	100	100	100	100	100	80	80
Cink	mg	100	100	100	100	100	100	0,1	0,1
Kobalt	mg	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,8	0,8
Jod	mg	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,2	0,2
Selen	mg	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	6	6
Vitamin A	KIU	6	6	6	6	6	6	660	660
Vitamin D	IU	660	660	660	660	660	660	160	160
Vitamin E	IU	200	200	200	200	200	200	6	6
Tiamin	mg	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	4	4
Riboflavin	mg	5	5	5	5	5	5		

^a Primjer: kobila tjelesne mase 435 kg u prvom mjesecu laktacije treba $6,34 \times 4,35 = 27,6$ Mcal PE dnevno.

Izvor: Prilagođeno prema: Morgan i Shepherd (2023), na temelju NRC (2007), tablica 16-3; vrijednosti za odraslog konja tjelesne mase 500 kg, ocjene tjelesne kondicije 4–6/9 i unosa hrane od 2,5 % tjelesne mase.

Literatura

- BANACH, M. A., J. W. EVANS (1981): Effects of inadequate energy during gestation and lactation on the estrous cycle and conception rates of mares and on their foal weights. U: Proceedings of the 7th Equine Nutrition and Physiology Symposium, Equine Nutrition and Physiology Society, pp. 97–100.
- BLANCO-DOVAL, A., L. J. R. BARRON, J. K. G. KRAMER, N. ALDAI (2024): Complete characterization of the fatty acid profile of mare milk from commercial semi-extensive farms during lactation. Journal of Food Composition and Analysis 134, 106495. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106495>
- CHAVATTE-PALMER, P., M. ROBLES, D. ROUSSEAU-RALLIARD, C. DUBOIS, E. NOUVEAU, M. DAHIREL, L. WIMEL, A. COUTURIER-TARRADE (2023): Obesity during pregnancy in the horse: Effect on term placental structure and gene expression, as well as colostrum and milk fatty acid concentrations. Journal of Equine Veterinary Science 125, 104801. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104801>
- FRADINHO, M. J., M. J. CORREIA, V. GRÁCIO, M. BLIEBERNICHT, A. FARRIM, L. MATEUS, W. MARTIN-ROSSET, R. J. B. BESSA, R. M. CALDEIRA, G. FERREIRA-DIAS (2014): Effects of body condition and leptin on the reproductive performance of Lusitano mares on extensive systems. Theriogenology 81, 1214–1222. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.042>
- HARRIS, P., M. SHEPHERD (2021): What would be good for all veterinarians to know about equine nutrition. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 37, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2020.11.001>
- HENNEKE, D. R., G. D. POTTER, J. L. KREIDER, B. F. YEATES (1983): Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. Equine Veterinary Journal 15, 371–372. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x>
- HENNEKE, D. R., G. D. POTTER, J. L. KREIDER (1984):

- Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology* 21, 897–909. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90383-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90383-2)
- HINES, K. K., S. L. HODGE, J. L. KREIDER, G. D. POTTER, P. G. HARMS (1987): Relationship between body condition and levels of serum luteinizing hormone in postpartum mares. *Theriogenology* 28, 815–825. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90033-1)
 - JULLIAND, V., P. GRIMM (2017): The impact of diet on the hindgut microbiome. *Journal of Equine Veterinary Science* 52, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.03.002>
 - LAMANNA, M., J. MARIELLA, F. FRECCERO, A. LANCI, R. COLLELUORI, F. GHIACCIO, G. BUONAIUTO, E. VALLE, F. RASPA, C. CASTAGNETTI, D. CAVALLINI (2026): Physiological and nutritional adaptation of broodmares during the transition from late pregnancy to early lactation: Digestibility changes and the role of uNDF as an internal marker. *Veterinary Research Communications* 50, 258. <https://doi.org/10.1007/s11259-026-11194-4>
 - LAWRENCE, L. M. (2013): Feeding stallions and broodmares. U: *Equine Applied and Clinical Nutrition: Health, Welfare and Performance* (Geor, R. J., P. A. Harris, M. Coenen, ur.). Saunders Elsevier, pp. 231–242. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-3422-0.00011-0>
 - LI, M., J. LIN, C. MA, G. WEI, Q. HU, X. LI (2026): Effects of L-selenomethionine supplementation on nutrient digestibility and metabolism, antioxidant capacity, hormone levels, and fecal microbiota diversity in pregnant Yili mares during mid- to late gestation. *BMC Veterinary Research* 22, 181. <https://doi.org/10.1186/s12917-026-05366-2>
 - MCKENZIE, H. C. (2011): Equine hyperlipidemias. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 27, 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.008>
 - MORGAN, S. K., M. SHEPHERD (2023): Feeding broodmares. U: *Equine Clinical Nutrition*, 2nd ed. (Remillard, R. L., ur.). John Wiley & Sons, pp. 364–380.
 - MORLEY, S. A., J.-A. MURRAY (2014): Effects of body condition score on the reproductive physiology of the broodmare: A review. *Journal of Equine Veterinary Science* 34, 842–853. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2014.04.001>
 - NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2007): *Nutrient Requirements of Horses*. 6th revised ed. National Academies Press, Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/11653>
 - POWELL, D. M., L. M. LAWRENCE, D. F. PARRETT, J. DIPIETRO, L. R. MOSER, M. G. FISHER, K. D. BUMP (1989): Body composition changes in broodmares. U: *Proceedings of the 11th Equine Nutrition and Physiology Society Symposium*, Equine Nutrition and Physiology Society, Stillwater, Oklahoma, pp. 91–94.
 - PYLES, M. B., A. L. FOWLER, A. D. CRUM, S. H. HAYES, R. R. SCHENDEL, L. M. LAWRENCE (2025): Dietary nonstructural carbohydrates influence synthesis of mare milk carbohydrates and yield. *Journal of Animal Science* 103, skaf213. <https://doi.org/10.1093/jas/skaf213>
 - REITER, A. S., S. A. REED (2023): Lactation in horses. *Animal Frontiers* 13, 103–107. <https://doi.org/10.1093/af/vfad003>
 - ROBLES, M., C. HAMMER, B. STANIAR, P. CHAVATTE-PALMER (2021): Nutrition of broodmares. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 37, 177–205. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.01.001>
 - SESSIONS-BRESNAHAN, D. R., E. M. CARNEVALE (2014): The effect of equine metabolic syndrome on the ovarian follicular environment. *Journal of Animal Science* 92, 1485–1494. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7275>
 - STONEHAM, S. J., N. TYLER, M. A. HOLMES, D. C. ARCHER (2025): Does dietary supplementation of pregnant mares with a commercial stud feed balancer improve the transfer of passive immunity in their foals? A controlled field trial. *Journal of Equine Veterinary Science* 145, 105346. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2025.105346>
 - THORSON, J. F., B. J. KARREN, M. L. BAUER, C. A. CAVINDER, J. A. COVERDALE, C. J. HAMMER (2010): Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals: Foaling data. *Journal of Animal Science* 88, 982–990. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1646>
 - TINKER, M. K., N. A. WHITE, P. LESSARD, C. D. THATCHER, K. D. PELZER, B. DAVIS, D. K. CARMEL (1997): Prospective study of equine colic risk factors. *Equine Veterinary Journal* 29, 454–458. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1997.tb03158.x>

NUTRITION OF BROODMARES DURING GESTATION AND LACTATION

Abstract

Broodmare nutrition during gestation and lactation plays an important role in maintaining optimal body condition and reproductive efficiency and in providing suitable conditions for fetal development and foal growth. Nutritional requirements vary by physiological stage: energy, protein, and certain vitamins and minerals gradually increase throughout gestation, particularly in the final trimester, whereas early lactation is the most nutritionally demanding period of the reproductive cycle. The diet should be based on high-quality forage, supplemented with concentrates and vitamin–mineral supplements as needed, depending on nutritional requirements, forage quality, and the mare's body condition. Regular assessment of body condition enables timely dietary adjustments, thereby reducing the risk of adverse effects associated with inadequate nutrition and obesity on reproductive performance. Therefore, broodmare nutrition should focus on providing a balanced diet, regularly monitoring body condition, and adjusting nutrient intake to meet the changing nutritional requirements throughout gestation and lactation.

Key words: broodmares, gestation, lactation, nutritional requirements, body condition.



ANALIZA UTJECAJA KOLOSTRUMA PRVOTELKI I VIŠETELKI NA IMUNOSNI STATUS NEONATALNE TELADI

*Amina Kadribašić, Ivona Alilović,
Ivana Dragosavac, Tomas Augustin Gadze*

Sažetak

Novorođena telad ovisi o kolostrumu kao izvoru pasivne imunosti. Cilj ovog rada bio je usporediti kvalitetu kolostruma prvotelki i višetelki te Brix-vrijednosti seruma i pojavu proljeva u teladi napojene njihovim kolostrumom. U istraživanje je uključeno 35 teladi holštajn-frizijske pasmine s jednog hrvatskog mliječnog gospodarstva. Jedanaest teladi napojeno je kolostrumom prvotelki, a 24 kolostrumom višetelki. Izmjerene su Brix-vrijednosti kolostruma i seruma teladi tijekom prvih pet dana života, a zdravstveno stanje praćeno je do 17. dana. Razlike između skupina analizirane su Mann-Whitneyjevim U-testom i Fisherovim egzaktnim testom. Brix-vrijednosti kolostruma kretale su se od 22 do 29 %. Prosječna Brix-vrijednost kolostruma prvotelki iznosila je $26,7 \pm 1,8$ %, a kolostruma višetelki $26,9 \pm 1,7$ %. Prosječna Brix-vrijednost seruma teladi napojene kolostrumom prvotelki iznosila je $9,6 \pm 0,7$ %, a teladi napojene kolostrumom višetelki $9,8 \pm 0,8$ %. Razlike u Brix-vrijednostima kolostruma i seruma između skupina nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$). Proljev je zabilježen u 20 od 35 teladi (57,1 %), između 7. i 17. dana života, s medijanom pojave 11. dana. Pojavio se u sedam od 11 teladi iz skupine prvotelki (63,6 %) i 13 od 24 teladi iz skupine višetelki (54,2 %), bez statistički značajne razlike ($p = 0,721$). Između skupina prvotelki i višetelki nije utvrđena statistički značajna razlika u kvaliteti kolostruma, Brix-vrijednostima seruma teladi ni učestalosti proljeva. U uvjetima ovog istraživanja nije utvrđeno da kolostrum prvotelki i višetelki različito utječe na prijenos pasivne imunosti.

Ključne riječi: kolostrum, paritet, prijenos pasivne imunosti, Brix seruma, telad

ANALYSIS OF THE EFFECT OF COLOSTRUM FROM PRIMIPAROUS AND MULTIPAROUS COWS ON THE IMMUNE STATUS OF NEONATAL CALVES

Abstract

Newborn calves depend on colostrum as a source of passive immunity. The aim of this study was to compare colostrum quality, calf serum Brix values, and diarrhea occurrence between calves receiving colostrum from primiparous and multiparous cows. The study included 35 Holstein-Friesian calves from one Croatian dairy farm. Eleven calves received colostrum from primiparous cows and 24 received colostrum from multiparous cows. Colostrum and calf serum Brix values were measured during the first five days of life, and calf health was monitored until 17 days of age. Differences between groups were analyzed using the Mann-Whitney U test and Fisher's exact test. Colostrum Brix values ranged from 22 to 29%. The mean Brix value was 26.7 ± 1.8 % for colostrum from primiparous cows and 26.9 ± 1.7 % for colostrum from multiparous cows. The mean serum Brix value was 9.6 ± 0.7 % in calves receiving colostrum from primiparous cows and 9.8 ± 0.8 % in calves receiving colostrum from multiparous cows. The differences in colostrum and serum Brix values between the groups were not statistically significant ($p > 0.05$). Diarrhea was recorded in 20 of 35 calves (57.1%) between 7 and 17 days of age, with a median onset on day 11. It occurred in seven of 11 calves in the primiparous group (63.6%) and 13 of 24 calves in the multiparous group (54.2%), with no statistically significant difference ($p = 0.721$). No statistically significant differences between the primiparous and multiparous groups were found in colostrum quality, calf serum Brix values, or diarrhea frequency. Under the conditions of this study, colostrum source by parity was not associated with differences in passive immunity transfer.

Key words: colostrum, parity, passive immunity transfer, serum Brix, calves

DETEKCIJA NEOČEKIVANOG VIRUSA U KRAVLJEM MLIJEKU: NOVA PERSPEKTIVA METAGENOMIKE U ZDRAVLJU VIMENA

Dinko Novosel¹, Šimun Naletilić¹, Sanja Duvnjak¹,
Maja Ferenčaković², Zvonimir Mijadžiković²,
Vlatka Čubrić Čurik², Boris Lukić³, Ino Čurik²

¹Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb; ²Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb; ³Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 31000 Osijek

Sažetak

Metagenomskim sekvenciranjem analizirali smo 40 uzoraka kravljeg mlijeka, 20 s visokim ($659-12.682 \times 10^3/\text{mL}$) i 20 s niskim brojem somatskih stanica (SCC; $13-26 \times 10^3/\text{mL}$). Nakon delecije goveđe DNA očitavanja su klasificirana alatom Kraken2, a *de novo* asemblirani kontigi pretraženi su BLAST-om. Dio očitavanja koja prolaze deleciju BLAST pripisuje sobu, losu i zebuu; riječ je o goveđoj satelitnoj DNA koja nedostaje u referentnom genomu ARS-UCD1.2. Streptokokni uzročnici mastitisa (*Streptococcus uberis*, *S. dysgalactiae*) utvrđeni su u 7 od 20 uzoraka s visokim SCC i ni u jednom s niskim ($p = 0,008$), iako su uzorci s niskim SCC sadržavali oko 65 puta više mikrobne sekvence. Mikrobiotom su dominirale psihrotrofne bakterije kvarenja, ponajprije *Pseudomonas*, a većina pogodaka bakteriofaga potječe od profaga ugrađenih u bakterijske genome. Neočekivano, goveđi gamaherpessvirus 6 (BoHV-6) potvrđen je u uzorku s visokim SCC i nalazom *S. uberis*, na dva kontiga s 99–100 % identiteta, a u jednom uzorku s niskim SCC nađen je fragment divergentnog goveđeg papilomavirusa. U 11 od 20 uzoraka s visokim SCC uzročnik nije identificiran, djelomično zbog niske osjetljivosti. Kraken2 se pokazao nepouzdanim za nalaze niskog intenziteta; asemblacija s pretragom BLAST-om pouzdaniji je pristup, a pojedinačne nalaze treba potvrditi mapiranjem na referentni genom i ciljanim PCR-om.

Ključne riječi: mastitis, metagenomika, mlijeko, broj somatskih stanica, BoHV-6, *Streptococcus uberis*

Uvod

Mastitis je najčešća i gospodarski najznačajnija bolest mliječnih krava, a broj somatskih stanica (SCC) njegov je glavni pokazatelj na razini stada i pojedine životinje (Schukken i sur., 2003.). Povišen SCC označava upalni odgovor vimena, ali ne i njegov uzrok.

Rutinska dijagnostika uzročnika temelji se na kultivaciji. Značajan udio uzoraka iz upaljenih četvrti ostaje bakteriološki negativan, a kultivacija

ne obuhvaća viruse, mikoplazme ni teško uzgojive organizme (Kuehn i sur., 2013.). Virusi se kao uzročnici ili sudionici mastitisa spominju rijetko i rijetko se ciljano traže (Wellenberg i sur., 2002.).

Metagenomsko sekvenciranje cijele DNA ne ovisi o uzgoju ni o unaprijed odabranom panelu. U mlijeku je, međutim, zahtjevno iz dva razloga: većina DNA potječe od domaćina, osobito pri visokom SCC, a mlijeko nakon mužnje brzo naseljavaju psihrotrofne bakterije koje mogu prikriti stvarne uzročnike (Quigley i sur., 2013.; Hoque i sur., 2019.).

Cilj ovog rada bio je usporediti metagenomski profil mlijeka krava s visokim i niskim SCC, utvrditi mogu li se metagenomikom otkriti uzročnici mastitisa uključujući i viruse, te opisati metodološke zamke takve analize.

Materijal i metode

Uzorci

Iz veće kohorte sekvenciranih krava odabrano je 40 uzoraka mlijeka 40 različitih životinja: 20 s visokim SCC ($659-12.682 \times 10^3/\text{mL}$) i 20 s niskim SCC ($13-26 \times 10^3/\text{mL}$). Skupine su uravnotežene po datumu uzorkovanja: 25. 9. 2024. (1 + 1), 22. 10. 2024. (7 + 7) i 12. 2. 2025. (12 + 12).

Sekvenciranje i delecija domaćina. Ukupna DNA sekvencirana je na platformi Illumina NovaSeq X (2×150 bp; Neogen), uz 9,4–15,6 milijuna sirovih parova očitavanja po uzorku. Očitavanja su filtrirana alatom fastp 1.0.1 (Q20, najmanja duljina 30 bp; Chen i sur., 2018.) i poravnata algoritmom BWA-MEM (BWA 0.7.19; Li, 2013.) na goveđu referencu ARS-UCD1.2 s Y-kromosomom i mitogenomom (Rosen i sur., 2020.), a neporavnati parovi izdvojeni su alatom samtools 1.22.1 (Danecek i sur., 2021.).

Klasifikacija i asemblacija

Ne-goveđa očitavanja klasificirana su alatom Kraken2 (Wood i sur., 2019.); za pet uzoraka analiza je provedena na platformi Galaxy. Svaki je uzorak zasebno asembliran alatom metaSPAdes (Bankevich i sur., 2012.; Nurk i sur., 2017.) sa zadanim parametrima, a zadržani su svi kontigi bez praga najmanje duljine, jer je probni prag od 1,5 kb uklanjao gotovo cijeli bakterijski signal. Kontigi su pretraženi alatom megablast (BLAST+; Camacho i sur., 2009.) prema bazi core_nt (e-vrijednost $\leq 10^{-10}$). Svakom kontigu dodijeljen je pogodak s najvećim bitscoreom, a kontigi s pogotkom na kralježnjake pribrojeni su domaćinu.

Virusna križna provjera

Kontigi su dodatno pretraženi alatom dc-megablast prema bazi ref_viruses_rep_genomes (e-vrijednost $\leq 10^{-5}$). Eukariotski virus prihvaćen je samo ako je i najbolji pogodak istog kontiga u core_nt bio taj virus, a ne bakterija, bakteriofag ili endogeni retroelement.



Kriteriji i statistika

Streptokoknim uzročnikom smatran je *S. uberis*, *S. dysgalactiae* ili *S. agalactiae* s najmanje 1 kb asemblirane sekvence ili najmanje 10 Kraken2 očitavanja na razini vrste, *Histophilus somni* uz najmanje 1 kb, a *Mycoplasma bovis* uz najmanje 10 očitavanja. Skupine su uspoređene Fisherovim egzaktnim i Mann-Whitneyjevim U-testom, a odnos SCC-a i mikrobne sekvence Spearmanovim koeficijentom korelacije (scipy; razina značajnosti $p < 0,05$).

Rezultati

Sekvence domaćina nakon delecije

Unatoč deleciji, u svih 40 uzoraka ostalo je 5.497 kontiga s najboljim pogotkom na sob (*Rangifer tarandus*) i los (*Alces alces*), uz medijan identiteta 92 %. Riječ je o goveđoj ponavljajućoj (satelitnoj) DNA koje nema u referenci ARS-UCD1.2: pogoci se gomilaju na kromosomu 17 soba i kromosomu 19 losa, 19 % tih kontiga poravnava se s istim subjektom u više tandemskih odsječaka, a sekundarni pogoci uključuju centromernu satelitnu DNA jelena (*Odocoileus hemionus*). I kontigi s pogotkom na govedo i zebu (medijan identiteta 99,6 %) padaju na ponavljajuće sekvence, najčešće na goveđu regiju D6Z1 i predviđene transkripte gena MAD2A s ponavljajućim elementom.

Poznati uzročnici mastitisa

Streptokokni uzročnici utvrđeni su u 7 od 20 uzoraka s visokim SCC i ni u jednom s niskim ($p = 0,008$; samo prema asembliranoj sekvenci 6 od 20, $p = 0,020$). Uključe li se *H. somni* i granični nalaz *M. bovis*, omjer je 9 : 0 ($p = 0,001$; Slika 1, Tablica 1). U skupini s niskim SCC najviše je bilo 447 bp asemblirane sekvence i 3 Kraken2 očitavanja streptokoknih uzročnika, iako je ta skupina imala više mikrobne sekvence. *Staphylococcus aureus* nije prelazio razinu tragova (najviše 1,1 kb), *Prototheca* spp. nije nađena, a *Listeria mo-*

nocytogenes pojavila se samo na četiri kratka kontiga (209–386 bp) u uzorcima s niskim SCC. Koagulaza-negativni stafilokoki nisu bili povezani s visokim SCC; njihov je udio bio veći kod niskog SCC ($p = 0,018$).

Bakterije kvarenja mlijeka

Pseudomonas je bio dominantan rod u 35 od 40 uzoraka (medijan udjela 84 % kod visokog i 66 % kod niskog SCC; $p = 0,38$), a najzastupljenija vrsta bila je *P. lactis* (38 % sekvence roda). Slijede *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter* i *Delftia*. Količina mikrobne sekvence obrnuto je razmjerna SCC-u (Spearman $\rho = -0,75$; $p < 0,001$), s medijanom od 6,6 Mb kod niskog i 0,10 Mb kod visokog SCC. Kod visokog SCC nakon delecije preostaje svega 0,04–1,15 % očitavanja (u 19 od 20 uzoraka $\leq 0,24$ %), a kod niskog do 74 %. Udio roda *Pseudomonas* nije povezan sa SCC-om ($p = 0,12$; $p = 0,45$), dok su *Psychrobacter* ($\rho = -0,55$; $p < 0,001$) i *Acinetobacter* ($\rho = -0,44$; $p = 0,004$) zastupljeniji pri niskom SCC. Uzorci iz listopada 2024. imali su u obje skupine više mikrobne sekvence od uzoraka iz veljače 2025. *E. coli* je bila dio okolišne pozadine u većini uzoraka s niskim SCC (najviše 469 kb u uzorku 169F), a *Bifidobacterium pseudolongum* i DNA kukuruza i pšenice, pokazatelji fekalno-okolišnog unosa, nađeni su u obje skupine.

Bakteriofagi

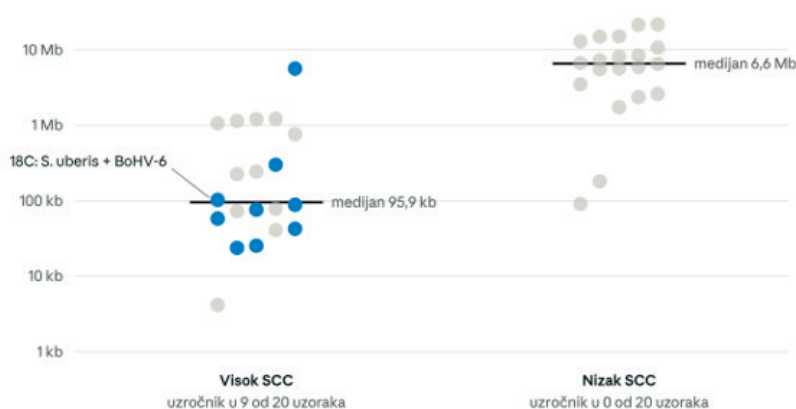
U 18 uzoraka s cjelovitom virusnom pretragom 4.973 kontiga imalo je pogodak na bakteriofag u bazi virusnih genoma. Za 75 % njih najbolji pogodak u punoj bazi bio je bakterijski genom, dakle profag ugrađen u kromosom bakterije; samo 9 % imalo je i u punoj bazi najbolji pogodak na fag, a 16 % nije imalo pogodak izvan virusne baze. Broj fagnih kontiga pratio je količinu bakterijske DNA: 1.573 potječe iz skupine s niskim, a 103 iz skupine s visokim SCC.

Tablica 1. Uzorci s visokim SCC u kojima je utvrđen potencijalni uzročnik mastitisa

Uzorak	SCC ($\times 10^3$ / mL)	Uzročnik	Asemblirano (kb)	Kraken2 očitavanja	Maksimum
128D	12.682	<i>S. dysgalactiae</i>	1,2	16	17,10
28D	6.689	<i>M. bovis</i> (granično)	0,6	17	16,63
102F	5.262	<i>S. uberis</i>	7,5	170	42
18C	4.433	<i>S. uberis</i> ; BoHV-6	11,0	194	27
106F	2.819	<i>S. dysgalactiae</i> ; <i>S. uberis</i>	3,1; 1,2	20; 13	92
128F	2.197	<i>S. dysgalactiae</i>	1,8	11	20
112D	2.163	<i>S. dysgalactiae</i>	20,3	172	6,2
77F	1.408	<i>H. somni</i>	5,3	101	361
29F	919	<i>S. uberis</i> ; BoHV-6 (1 očitavanje)	—	12	37,8

Uzročnici samo kod visokog SCC, unatoč manje mikrobne DNA

Mikrobna sekvenca po uzorku (log. ljestvica) - plavo = utvrđen uzročnik - crta = medijan skupine



Slika 1. Količina mikrobne sekvence po uzorku (logaritamska ljestvica) u skupinama s visokim i niskim SCC. Plavo – uzorci s utvrđenim uzročnikom; crta – medijan skupine.

Neočekivani nalazi

U uzorku 18C (visok SCC, *S. uberis*) goveđi gamaherpesvirus 6 (BoHV-6) potvrđen je na dva kontiga od 267 i 239 bp, s 99,25 % i 100 % identiteta prema izolatu Pennsylvania 47. Oba su bila najbolji pogodak i u punoj bazi, a Kraken2 je istom uzorku dodijelio osam očitavanja BoHV-6. Po jedno Kraken2 očitavanje dodijeljeno je BoHV-6 u uzorku 29F (visok SCC, *S. uberis*), sekvenciranom u istoj traci kao 18C, i BoHV-4 u uzorku 31D (nizak SCC); ni jedno nije potvrđeno asemblacijom. U uzorku 64D (nizak SCC) kontig od 269 bp imao je 88,2 % identiteta prema goveđem papilomavirusu tipa 28 i 82,6 % prema tipu 29. Ostali virusni pogoci bili su bakteriofagi, ljudski endogeni retrovirusi ili retroelementi biljaka. Od bakterija, *Histophilus somni* utvrđen je u uzorku 77F (5,3 kb, 101 očitavanje), a *Mycoplasmopsis bovis* u uzorku 28D na granici detekcije (582 bp, 17 očitavanja). U uzorku 156F (nizak SCC) umjesto pseudomonada dominirao je rod *Paracoccus* (48 % mikrobne sekvence).

Rasprava

Pogoci na sob, los i zebu nisu kontaminacija drugim vrstama, nego posljedica nepotpunosti referentnog genoma. ARS-UCD1.2 ne sadrži ili sažima velik dio ponavljajuće i centromerne satelitne DNA goveda, pa očitavanja iz tih regija prolaze depleciju, a BLAST ih pripisuje vrstama čije novije asemblacije, dobivene dugim očitavanjima, te regije sadrže. Kraken2, čija baza od kralježnjaka sadrži samo čovjeka, dio tih očitavanja pripisuje čovjeku, pa ni ljudska očitavanja u Kraken2 izvještajima ne treba tumačiti kao kontaminaciju. Potpunija referenca ili dodatak goveđih ponavljajućih sekvenci u depleciju uklonili bi taj artefakt.

Jedini nalaz koji jasno razlikuje mlijeko s visokim i niskim SCC jest prisutnost *S. uberis* i *S. dysgalactiae*. Rezultat je otporan na razlike u

osjetljivosti: skupina s niskim SCC imala je više mikrobne sekvence, pa bi u njoj streptokoke bilo lakše otkriti, a ipak ih nije bilo. Spektar se ipak tek djelomično poklapa s bakteriološkim studijama. Okolišni streptokoki i ondje su među najčešćim izolatima, ali kod kliničkog mastitisa bez porasta ostaje 10–40 % uzoraka (Kuehn i sur., 2013.), a u našim uzorcima s visokim SCC uzročnik nije utvrđen u 55 % (11/20). Dio tih uzoraka vjerojatno ima uzročnik ispod granice detekcije, jer je nakon deplecije ostalo svega nekoliko tisuća mikrobni očitavanja. Odstupa i izostanak *S. aureus*, jednog od najčešćih uzročnika u hrvatskim stadima uz streptokoke, *Trueperella pyogenes* i *Corynebacterium bovis* (Cvetnić i sur., 2016.), što može odražavati malen broj uzoraka i povremeno izlučivanje *S. aureus* u malom broju.

Dominacija pseudomonada u obje skupine, s vrstom *P. lactis* opisanom upravo iz sirovog mlijeka (von Neubeck i sur., 2017.), odgovara rastu psihrotrofa nakon mužnje i tijekom hlađenja, a ne upali vimena (Quigley i sur., 2013.). Obrnuta povezanost količine mikrobne sekvence i SCC-a prvenstveno je metodološka: što je više somatskih stanica, to je veći udio goveđe DNA, pa za bakterije ostaje manje očitavanja. Za procjenu stvarnog broja bakterija potrebna je apsolutna kvantifikacija, primjerice qPCR ili dodatak poznate količine vanjske DNA.

Fagovski pogoci uglavnom nisu dokaz slobodnih virusnih čestica, nego profaga u bakterijskim genomima. Naziv faga u bazi odražava bakteriju na kojoj je izoliran, pa ni pogodak na mikobakteriofag ne dokazuje mikobakterije: u našim su podacima takvi kontigi u punoj bazi pripadali rodovima *Bifidobacterium*, *Psychrobacter* i *Enterobacter*. Fagovska frakcija stoga prati bakterijsku i ne nosi zasebnu dijagnostičku informaciju.

BoHV-6 je limfotropni gamaherpesvirus goveda, čest i kod zdravih životinja, čija patogenost nije jasno utvrđena (Rovnak i sur., 1998.). Nalaz

u uzorku 18C potvrđen je i očitajima i asembli-ranim sekvencama, ali uz vrlo nisko opterećenje (ukupno 506 bp, pokrivenost oko 1×). Budući da se nalazi uz *S. uberis*, ne može se zaključiti je li virus sudjelovao u upali ili potječe iz limfocita prisutnih u mlijeku s visokim SCC. Uzorak 29F sekvenciran je na istoj protočnoj ćeliji i u istoj traci kao 18C (NovaSeq X, traka 3), pa jedno očitajanje BoHV-6 u njemu može biti posljedica prelaska indeksa (*index hopping*) i treba ga smatrati nepotvrđenim do provjere PCR-om. Fragment papilomavirusa u uzorku 64D, sa samo 82–88 % identiteta prema poznatim tipovima, mogao bi pripadati dosad neopisanom tipu, ali je na 269 bp tek kandidat za potvrdu. *H. somni* se obično povezuje s respiratornim, reproduktivnim i sistemskim bolestima goveda, a ne s mastitisom, pa nalaz na 5,3 kb zaslužuje ciljanu potvrdu, kao i granični nalaz kontagioznog *M. bovis*.

Kraken2 se pokazao kao najslabija karika analize. Očitajanja klasificira egzaktnim podudaranjem kratkih k-mera, bez poravnanja, pa ne daje ni identitet ni pokrivenost, a rezultat ovisi isključivo o sadržaju baze. Vrste kojih nema u bazi pripisuju se najbližem srodniku, a dvosmislena očitajanja algoritam najnižeg zajedničkog pretka zadržava na razini roda ili porodice. Pojedinačna očitajanja, poput BoHV-6 u 29F i BoHV-4 u 31D, ne mogu se razlikovati od lažno pozitivnog podudaranja, kontaminacije ili prelaska indeksa, a k-mer klasifikatori pri niskom broju očitajanja općenito daju mnogo lažno pozitivnih vrsta (Ye i sur., 2019.).

Asemblacija i pretraga kontiga BLAST-om prema punoj bazi pouzdaniji je pristup, jer daje identitet, pokrivenost i usporedbu s drugim kandidatima. Upravo je ta usporedba pokazala da su svi navodni herpesvirusni pogoci izvan uzorka 18C, dobiveni pretragom samo virusne baze, zapravo bakteriofagi ili bakterijski geni. Ni BLAST ipak nije konačan dokaz, jer najbolji pogodak ovisi o sadržaju baze. Kandidat stoga treba potvrditi mapiranjem očitajanja na referentni genom (npr. BoHV-6, NC_024303), gdje se pravi nalaz raspoređuje po većem dijelu genoma, a lažni se nakuplja na nekoliko kratkih lokusa, te ciljanim PCR-om. Nalaz samog Kraken2 vrlo je ograničen i ne bi smio biti osnova za dijagnostički zaključak.

Uzorci nisu usporedno bakteriološki kultivirani, pa se nalazi ne mogu usporediti sa zlatnim standardom. U radu nije bilo negativnih kontrola, a *Cutibacterium acnes* upućuje na kontaminaciju pri rukovanju ili iz reagensa (Salter i sur., 2014.). Kriteriji za nalaz uzročnika postavljeni su nakon pregleda podataka i treba ih potvrditi na neovisnom skupu.

Zaključci

Velik dio očitajanja koja preostaju nakon delecije goveda je satelitna DNA koja nedostaje u referenci ARS-UCD1.2, pa je BLAST pripisuje sobu, losu i zebuu, a Kraken2 dijelom čovjeku. Streptokokni uzročnici mastitisa utvrđeni su isključivo

u mlijeku s visokim SCC (7 od 20), no spektar se tek djelomično poklapa s bakteriološkim nalazima jer *S. aureus* nije utvrđen. Mikrobiotom bez obzira na SCC dominiraju psihrotrofne bakterije kvarenja, a većina fagovskih pogodaka potječe od profaga. BoHV-6 je potvrđen u jednom uzorku s visokim SCC, a u jednom uzorku s niskim SCC nađen je mogući novi tip govedeg papilomavirusa; oba nalaza zahtijevaju ciljanu potvrdu. Kraken2 sam nije dovoljan za pouzdan nalaz: za pouzdanu interpretaciju nužni su asemblacija s pretragom BLAST-om, križna provjera u punoj bazi, mapiranje na referentni genom, negativne kontrole te dublje sekvenciranje kod visokog SCC.

Zahvala

Rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost u okviru projekta IP-2022-10-6914.

Literatura

- BANKEVICH, A., S. NURK, D. ANTIPOV i sur. (2012): SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 19, 455–477.
- CAMACHO, C., G. COULOURIS, V. AVAGYAN i sur. (2009): BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10, 421.
- CHEN, S., Y. ZHOU, Y. CHEN, J. GU (2018): fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34, i884–i890.
- CVETNIC, L., M. SAMARDŽIJA, B. HABRUN, G. KOMPES, M. BENIĆ (2016): Microbiological monitoring of mastitis pathogens in the control of udder health in dairy cows. *Slov. Vet. Res.* 53, doi:10.26873/svr-24719-2016.
- DANECEK, P., J. K. BONFIELD, J. LIDDLE i sur. (2021): Twelve years of SAMtools and BCftools. *GigaScience* 10, giab008.
- HOQUE, M. N., A. ISTIAQ, R. A. CLEMENT i sur. (2019): Metagenomic deep sequencing reveals association of microbiome signature with functional biases in bovine mastitis. *Sci. Rep.* 9, 13536.
- KUEHN, J. S., P. J. GORDEN, D. MUNRO i sur. (2013): Bacterial community profiling of milk samples as a means to understand culture-negative bovine clinical mastitis. *PLoS ONE* 8, e61959.
- LI, H. (2013): Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv*:1303.3997.
- NURK, S., D. MELESHKO, A. KOROBENNIKOV, P. A. PEVZNER (2017): metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome Res.* 27, 824–834.
- QUIGLEY, L., O. O'SULLIVAN, C. STANTON i sur. (2013): The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 664–698.
- ROSEN, B. D., D. M. BICKHART, R. D. SCHNABEL i sur. (2020): De novo assembly of the cattle reference genome with single-molecule sequencing. *GigaScience* 9, giaa021.
- ROVNAK, J., S. L. QUACKENBUSH, R. A. REYES i sur. (1998): Detection of a novel bovine lymphotropic herpesvirus. *J. Virol.* 72, 4237–4242.
- SALTER, S. J., M. J. COX, E. M. TUREK i sur. (2014): Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biol.* 12, 87.

- SCHUKKEN, Y. H., J. WILSON, F. WELCOME i sur. (2003): Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.* 34, 579–596.
- VON NEUBECK, M., C. HUPTAS, C. GLÜCK i sur. (2017): *Pseudomonas lactis* sp. nov. and *Pseudomonas paralactis* sp. nov., isolated from bovine raw milk. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67, 1656–1664.
- WELLENBERG, G. J., W. H. M. VAN DER POEL, J. T. VAN OIRSCHOT (2002): Viral infections and bovine mastitis: a review. *Vet. Microbiol.* 88, 27–45.
- WOOD, D. E., J. LU, B. LANGMEAD (2019): Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.* 20, 257.
- YE, S. H., K. J. SIDDLE, D. J. PARK, P. C. SABETI (2019): Benchmarking metagenomics tools for taxonomic classification. *Cell* 178, 779–794.

UNEXPECTED VIRUS DETECTION IN BOVINE MILK: A NEW METAGENOMIC PERSPECTIVE ON UDDER HEALTH

Abstract

We used shotgun metagenomics to analyse 40 bovine milk samples, 20 with high ($659\text{--}12,682 \times 10^3/\text{mL}$) and 20 with low somatic cell count (SCC; $13\text{--}26 \times 10^3/\text{mL}$). After depletion of bovine DNA, reads were classified with Kraken2, and *de novo* assembled contigs were searched with BLAST. Part of the reads that escaped depletion were assigned by BLAST to reindeer, moose and zebu; these are bovine satellite DNA sequences missing from the ARS-UCD1.2 reference genome. Streptococcal mastitis pathogens (*Streptococcus uberis*, *S. dysgalactiae*) were detected in 7 of 20 high-SCC samples and in none of the low-SCC samples ($p = 0.008$), although low-SCC samples contained about 65 times more microbial sequence. The microbiota was dominated by psychrotrophic spoilage bacteria, chiefly *Pseudomonas*, and most bacteriophage hits derived from prophages integrated in bacterial genomes. Unexpectedly, bovine gammaherpesvirus 6 (BoHV-6) was confirmed on two contigs (99–100% identity) in a high-SCC sample that also carried *S. uberis*, and a fragment of a divergent bovine papillomavirus was found in one low-SCC sample. No pathogen was identified in 11 of 20 high-SCC samples, partly because of low sensitivity. Kraken2 proved unreliable for low-level findings; assembly followed by BLAST is the more reliable approach, and single findings should be confirmed by mapping to a reference genome and by targeted PCR.

Key words: mastitis, metagenomics, milk, somatic cell count, BoHV-6, *Streptococcus uberis*

IMAJU LI ORALNI I NAZALNI SEKRETI UTJECAJ NA EPIDEMIOLOGIJU ROTAVIRUSA A U GOVEDA?

Dragan Brnić¹, Vjekoslava Kostanić¹, Sara Špoljar¹, Valentina Kunić¹, Marina Prišlin Šimac¹,
Tomislav Sukalić², Marica Lolić³

¹Hrvatski veterinarski institut, 10000 Zagreb, Hrvatska; ²Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, 48260 Križevci, Hrvatska; ³Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Vinkovci, 32100 Vinkovci, Hrvatska

Sažetak

Rotavirusi su najvažniji uzročnici gastroenteritisa u životinja i ljudi, a rasprostranjenost im je globalna. Smatraju se, uz koronavirus, uzročnikom većine enteričnih oboljenja u goveda, posebno mlađih dobnih kategorija. Iako ih se najčešće povezuje isključivo s gastroenteritisom, rotavirusi su dokazani u različitim organskim sustavima, pa možemo reći da imaju potencijal za sistemsku proširenost. Nedavno saznanje da se rotavirusi, norovirusi i astrovirusi mogu prenositi slineom tijekom kašlja, kihanja, razgovora ili poljupca promijenilo je razumijevanje epidemiologije enteričnih infekcija za koje se do tada smatralo da se šire isključivo fekalno-oralnim putem. Također, rotavirusi se povezuju i s izlučivanjem rotavirusa u nazalnom sekretu te orofarinksu, ali su te spoznaje pojedinačne i nedovoljno istražene. Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi imaju li oralni i nazalni sekreti utjecaj na epizootologiju rotavirusa A (RVA) u goveda. Istraživanje je obuhvatilo dvije županije, Koprivničko-križevačku i Osječko-baranjsku i ukupno 23 uzgoja goveda, od kojih je većina uzorkovana dva puta tijekom dvije godine (2024. – 2025.). Ukupno je uzorkovano 241 tele, a od svake su jedinke prikupljeni oralni i nazalni brisevi te uzorak fecesa. Većina životinja (76,8 %) u trenutku uzorkovanja nije pokazivala znakove gastroenteritisa ni drugih bolesti te su potjecala od majki koje nisu bile cijepljene protiv rotavirusa. Svi su uzorci pretraženi na prisutnost genoma RVA primjenom metode RT-qPCR za dokazivanje VP2 segmenta te je utvrđen broj kopija genoma RVA u pozitivnim uzorcima. Dobiveni rezultati obrađeni su prikladnim statističkim metodama koristeći softver GraphPad Prism. Rotavirus A dokazan je u većini uzoraka oralnih i nazalnih briseva (99,2 %) te 81,3 % uzoraka fecesa. Kada se promatra prisutnost RVA u zdrave teladi i teladi sa simptomima gastroenteritisa, nisu utvrđene značajne razlike u prevalenciji. Medijan broja kopija genoma RVA bio je značajno viši u uzorcima oralnih i nazalnih sekreta u usporedbi s fecesom. U teladi koja je imala feces pozitivan na RVA dokazane su značajno više koncentracije genoma RVA u oralnim i nazalnim sekretima u usporedbi s teladi čiji feces je bio negativan. Sumirajući navede-

no, dobiveni rezultati upućuju na važnost oralnih i nazalnih sekreta u epizootologiji rotavirusnih infekcija u goveda, čiji bi broj mogao biti i veći u odnosu na tradicionalan fekalno-oralni prijenos. To je posebno važno u intenzivnom uzgoju gdje se veći broj životinja drži na manjem prostoru, što znatno otežava upravljanje zdravljem stada te pridonosi enzootskoj prisutnosti RVA u uzgojima goveda. Aerosolizirani oralni i nazalni sekreti, osim što olakšavaju prijenos RVA između jedinki iste vrste, dodatno potenciraju i međuvrtni prijenos, koji uz prepoznat zoonotski potencijal RVA ima javnozdravstvenu važnost.

Ključne riječi: rotavirus A, govedo, epizootologija, nazalni sekreti, oralni sekreti, feces

DO ORAL AND NASAL SECRETIONS INFLUENCE THE EPIDEMIOLOGY OF ROTAVIRUS A IN CATTLE?

Abstract

Rotaviruses are the most important causes of gastroenteritis in animals and humans, and they are globally distributed. Together with coronaviruses, they are considered responsible for most enteric diseases in cattle, particularly in younger age categories. Although they are most commonly associated exclusively with gastroenteritis, rotaviruses have been detected in different organ systems, suggesting that they have the potential for systemic spread. The recent finding that rotaviruses, noroviruses, and astroviruses can be transmitted through saliva during coughing, sneezing, talking, or kissing has changed the understanding of the epidemiology of enteric infections, which were previously considered to spread exclusively via the faecal-oral route. Rotaviruses have also been associated with their shedding in nasal secretions and the oropharynx, but these findings are limited and insufficiently investigated. Therefore, the aim of this study was to determine whether oral and nasal secretions influence the epidemiology of Rotavirus A (RVA) in cattle. The study included two counties, Koprivnica-Križevci and Osijek-Baranja, and a total of 23 cattle farms, most of which were sampled twice over a two-year period (2024–2025). A total of 241 calves were sampled, and oral and nasal swabs and a faecal sample were collected from each animal. Most animals (76.8%) showed no signs of gastroenteritis or other diseases at the time of sampling and were born to dams that had not been vaccinated against rotavirus. All samples were tested for the presence of the RVA genome using RT-qPCR targeting the VP2 segment, and the number of RVA genome copies was determined in positive samples. The results obtained were analysed using appropriate statisti-

cal methods with GraphPad Prism software. Rotavirus A was detected in most oral and nasal swab samples (99.2%) and in 81.3% of faecal samples. When the presence of RVA in healthy calves and calves with signs of gastroenteritis was compared, no significant differences in prevalence were found. The median number of RVA genome copies was significantly higher in oral and nasal secretion samples than in faecal samples. Calves with RVA-positive faecal sample had significantly higher concentrations of the RVA genome in oral and nasal secretions than calves whose faecal sample was negative. In summary, the results obtained indicate the importance of oral and nasal secretions in the epidemiology of rotavirus infections in cattle, which may be greater than that of the traditional faecal-oral route of transmission. This is particularly important in intensive farming systems, where a larger number of animals are kept in a smaller space, which significantly complicates herd health management and contributes to the enzootic presence of RVA on cattle farms. Aerosolised oral and nasal secretions not only facilitate the transmission of RVA between individuals of the same species but also promote interspecies transmission, which, together with the recognised zoonotic potential of RVA, is of public health importance.

Key words: Rotavirus A; cattle; epidemiology; nasal secretions; oral secretions; faeces

JE LI PARATUBERKULOZA U KOZA SAMO TEORIJA ILI REALNOST?

Irena Reil, Šimun Naletilić, Sanja Duvnjak, Maja Zdelar-Tuk, Maja Dopuđ, Silvio Špičić

Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb

Sažetak

Paratuberkuloza je kronična zarazna bolest preživača uzrokovana bakterijom *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), koja se najčešće očituje dugotrajnim tijekom bolesti, progresivnim mršavljenjem, kaheksijom, proljevom i postupnim narušavanjem općeg zdravstvenog stanja životinja. Iako se u praksi najčešće povezuje s govedima, bolest se može pojaviti i u malih preživača, gdje zbog nespecifične kliničke slike često ostaje neprepoznata. U ovom je radu prikazan klinički slučaj paratuberkuloze u stadu koza u Hrvatskoj. Sumnja na bolest postavljena je nakon pojave kroničnog mršavljenja, proljeva, slabosti i loše kondicije u odrasle životinje, uz progresivan tijek bolesti i nepovoljan ishod. Patomorfološki i patohistološki nalazi upućivali su na kroničnu granulomatoznu upalu probavnog sustava, a etiolška potvrda provedena je primjenom kombiniranog dijagnostičkog pristupa. Nakon potvrde prvog slučaja provedena je laboratorijska obrada stada, koja je uključivala mikroskopsku pretragu razmaza obojenih prema Ziehl-Neelsenu, molekularnu detekciju ciljnih sekvencija MAP-a, bakteriološku kultivaciju na specijalnim hranilištima te serološku pretragu. Dobiveni rezultati pokazali su da se nije radilo o izoliranom kliničkom slučaju, nego o infekciji prisutnoj na razini stada. Djelomično preklapanje rezultata pojedinih dijagnostičkih metoda dodatno je potvrdilo važnost kombinirane dijagnostike u otkrivanju i interpretaciji MAP infekcije u koza. Prikazani slučaj naglašava da paratuberkuloza u koza nije samo teorijska mogućnost, nego realan dijagnostički i zdravstveni problem. Kronično mršavljenje, kaheksija i proljev u koza trebali bi potaknuti uključivanje MAP infekcije u diferencijalnu dijagnostiku. Pravodobno prepoznavanje bolesti i primjena više komplementarnih dijagnostičkih metoda ključni su za procjenu statusa stada i donošenje daljnjih mjera kontrole.

Ključne riječi: paratuberkuloza, koze, *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*, MAP, dijagnostika, kronično mršavljenje

IS PARATUBERCULOSIS IN GOATS ONLY A THEORY OR A REALITY?

Abstract

Paratuberculosis is a chronic infectious disease of ruminants caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). It is usually characterized by a long disease course, progressive weight loss, cachexia, diarrhoea and gradual deterioration of the general health status of affected animals. Although in veterinary practice it is most commonly associated with cattle, the disease may also occur in small ruminants, where it can remain underrecognized because of its nonspecific clinical presentation. This report presents a clinical case of paratuberculosis in a goat herd in Croatia. Suspicion of the disease was raised following the occurrence of chronic weight loss, diarrhoea, weakness and poor body condition in an adult animal, with a progressive course and unfavourable outcome. Gross pathological and histopathological findings were suggestive of chronic granulomatous inflammation of the gastrointestinal tract, and etiological confirmation was obtained using a combined diagnostic approach. Following confirmation of the initial case, laboratory investigation of the herd was performed, including microscopic examination of Ziehl-Neelsen-stained smears, molecular detection of MAP target sequences, bacteriological culture on selective media and serological testing. The results indicated that the infection was not limited to a single clinical case but was present at the herd level. Partial overlap between the results of individual diagnostic methods further emphasized the importance of combined diagnostics for the detection and interpretation of MAP infection in goats. This case highlights that paratuberculosis in goats is not merely a theoretical possibility, but a real diagnostic and herd-health problem. Chronic weight loss, cachexia and diarrhoea in goats should prompt consideration of MAP infection in the differential diagnosis. Timely recognition of the disease and the use of complementary diagnostic methods are essential for assessing herd status and implementing appropriate control measures.

Key words: paratuberculosis; goats; *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*; MAP; diagnostics; chronic weight loss

USPOREDBA RUČNOG I AUTOMATIZIRANOG ODREĐIVANJA ODABRANIH HEMATOLOŠKIH POKAZATELJA U ISTARSKIH KOZA

Stefani Fruk Šimunec¹, Ivona Žura Žaja¹, Ana Shek
Vugrovečki¹, Antun Kostelić², Monica Darrer²,
Gordan Šubara³, Jadranka Pejaković Hlede¹, Sven
Menčik⁴, Marinko Vilić¹, Dražen Đuričić^{1*}

¹Zavod za fiziologiju i radiobiologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ²Zavod za stočarstvo, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ³Agencija za ruralni razvoj Istre; ⁴Zavod za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Dopisni autor: Dražen Đuričić; e-adresa: drazen.djuricic@vef.unizg.hr

Sažetak

Hematološka pretraga važan je dijagnostički postupak i neizostavan alat za procjenu zdravstvenog stanja životinja. Referentne vrijednosti hematoloških pokazatelja ovise o dobi, spolu, zdravstvenom statusu, pasmini i primijenjenoj analitičkoj metodi. Istarska koza ugrožena je i zaštićena hrvatska izvorna pasmina, čiji hematološki pokazatelji do sada nisu dovoljno istraženi. Cilj ovoga istraživanja bio je usporediti vrijednosti broja eritrocita i hematokrita (HCT) određene ručnom i automatiziranom metodom te prikazati ostale hematološke pokazatelje dobivene automatiziranom analizom. Uzorci krvi prikupljeni su venepunkcijom jugularne vene od 20 klinički zdravih odraslih koza u dobi od 1,5 do 10 godina. Analize su provedene na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu primjenom standardiziranih laboratorijskih postupaka. Automatiziranim hematološkim analizatorom *Abacus Junior Vet* (Diatron, Mađarska) određeni su broj eritrocita, hematokrit (HCT), koncentracija hemoglobina (HGB), srednji volumen eritrocita (MCV), prosječna količina hemoglobina u eritrocitu (MCH), prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC), širina raspodjele eritrocita (RDW), broj leukocita (WBC), limfocita (LYM), granulocita (GRA) te skupina srednje velikih leukocita (MID; monociti, eozinofili i bazofili). Srednje vrijednosti ($\pm$ SEM) iznosile su: HGB $75,61 \pm 9,09$ g/L, MCV $16,35 \pm 1,17$ fL, MCH $5,43 \pm 0,28$ pg, MCHC $331,21 \pm 10,36$ g/L, RDW $33,67$ %, WBC $14,73 \pm 2,50 \times 10^9$ /L, LYM $7,01 \pm 1,01 \times 10^9$ /L, MID $0,15 \pm 0,05 \times 10^9$ /L te GRA $7,60 \pm 1,51 \times 10^9$ /L. Sve utvrđene vrijednosti nalazile su se unutar fiziološkog raspona za koze. Ručnom metodom utvrđen je statistički značajno niži broj eritrocita, dok su vrijednosti hematokrita bile statistički značajno više ($p < 0,05$) u odnosu na rezultate dobivene automatiziranom metodom ($11,41 \pm 1,88 \times 10^{12}$ /L prema $13,99 \pm 1,81 \times 10^{12}$ /L; $29,9$ % prema $22,5$ %). Dobiveni rezultati upućuju na to da je ručno određi-

vanje hematokrita pouzdanije u koza, s obzirom na to da izrazito male dimenzije eritrocita mogu utjecati na točnost mjerenja automatiziranim hematološkim analizatorima.

Ključne riječi: istarska koza, hematokrit, hemoglobin, eritrociti, leukociti.

Uvod

Hematološka analiza jedan je od najvažnijih laboratorijskih dijagnostičkih postupaka u veterinarskoj medicini jer omogućuje objektivnu procjenu zdravstvenog statusa životinja te rano otkrivanje brojnih fizioloških i patoloških promjena (Jain, 1993.; Weiss i Wardrop, 2010.). Broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, hematokrit te leukocitna slika među najčešće su primjenjivanim pokazateljima u procjeni općeg zdravstvenog stanja, nutritivnog statusa, prisutnosti upalnih procesa, parazitarne invazije te metaboličkih poremećaja (Thrall i sur., 2012.; Latimer, 2022.). Hematološke pretrage imaju važnu ulogu i u praćenju reproduktivnog statusa, prilagodbi na uvjete okoliša te procjeni dobrobiti domaćih životinja (Weiss i Wardrop, 2010.; Latimer, 2022.). Referentne vrijednosti hematoloških pokazatelja ovise o brojnim čimbenicima, uključujući dob, spol, pasminu, fiziološko stanje, reproduksijski ciklus, način držanja, hranidbu, klimatske uvjete te primijenjenu laboratorijsku metodu (Jain, 1993.; Thrall i sur., 2012.). Zbog navedenih čimbenika univerzalne referentne vrijednosti često nisu primjenjive na sve populacije životinja, osobito kod izvornih pasmina koje su prilagođene specifičnim uzgojnim uvjetima (Weiss i Wardrop, 2010.; Antunović i sur., 2020.).

Posljednjih su desetljeća automatizirani hematološki analizatori gotovo u potpunosti zamijenili ručne metode određivanja krvne slike zbog brzine, jednostavnosti rada i mogućnosti istodobnog određivanja velikog broja hematoloških pokazatelja (Latimer, 2022.). Većina suvremenih analizatora temelji se na električnoj impedanciji ili protočnoj citometriji, pri čemu se krvne stanice razlikuju prema veličini i električnim svojstvima (Thrall i sur., 2012.). Iako su navedene metode vrlo pouzdane u većine domaćih životinja, određene su vrste poseban analitički izazov. Eritrociti koza najmanji su među domaćim preživačima, s prosječnim volumenom od približno $16 - 25$ fL, zbog čega ih pojedini analizatori mogu pogrešno prepoznavati ili ih svrstati u druge stanične populacije (Jain, 1993.; Pugh i Baird, 2012.; Latimer, 2022.). Posljedica toga mogu biti netočno određene vrijednosti broja eritrocita, hematokrita i izvedenih eritrocitnih indeksa (Thrall i sur., 2012.). Ručno određivanje hematokrita metodom mikrohematokrita i brojenje eritrocita u hemocitometru još se uvijek smatraju referentnim metodama u slučajevima kada postoji sumnja u pouzdanost automatizirane analize (Westgard, 2019.). Brojna istraživanja pokazala su da razlike između



ručnih i automatiziranih metoda mogu biti izraženije upravo kod koza nego kod ostalih vrsta domaćih životinja zbog specifične morfologije eritrocita (Mbassa i Poulsen, 1991.; Thrall i sur., 2012.). Stoga je potrebno validirati automatizirane hematološke analizatore za pojedine vrste i pasmine životinja (Westgard, 2019.).

Istarska koza jedna je od hrvatskih izvornih pasmina koja je posljednjih desetljeća gotovo nestala, ali se zahvaljujući programima očuvanja populacija postupno povećava (Ivanković i sur., 2014.; Vlahek i sur., 2023.). Pasma je dobro prilagođena ekstenzivnom uzgoju na krškim područjima Istre, odlikuje se dobrom otpornošću na nepovoljne uvjete okoliša i vrijedan je dio hrvatske genetske baštine (Mioč i sur., 2013.; Ivanković i sur., 2018.). Dosadašnja istraživanja istarske koze uglavnom su bila usmjerena na njezina fenotipska, proizvodna i genetska obilježja (Novaković, 2017.; Ivanković i sur., 2018.), dok je objavljeno vrlo malo podataka o hematološkim karakteristikama ove pasmine. Jedno od rijetkih istraživanja koje uključuje laboratorijske pokazatelje opisalo je metabolički profil i acido-bazni status istarskih koza različite dobi, pri čemu su prikazane i osnovne hematološke vrijednosti (Antunović i sur., 2020.). Međutim, još uvijek nedostaju istraživanja koja uspoređuju rezultate dobivene ručnim i automatiziranim metodama određivanja krvne slike.

Cilj ovoga istraživanja bio je usporediti vrijednosti broja eritrocita i hematokrita određene ručnom i automatiziranom metodom u odraslih istarskih koza te prikazati ostale hematološke pokazatelje dobivene automatiziranim hematološkim analizatorom kako bi se procijenila primjenjivost automatizirane hematološke analize u ovoj izvornoj hrvatskoj pasmini.

Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na ukupno 26 klinički zdravih odraslih istarskih koza (*Capra hircus*) uzgojenih u ekstenzivnom sustavu držanja na području Istarske županije. Životinje su bile uključene u program očuvanja izvorne hrvatske pasmine, a tijekom istraživanja nisu pokazivale kliničke znakove bolesti. Dob životinja kretala se od 1,5 do 10 godina, pri čemu je u istraživanje bilo uključeno 25 ženki i jedan mužjak. Sve životinje bile su podvrgnute kliničkom pregledu neposredno prije uzorkovanja krvi. U istraživanje su uključene isključivo životinje urednoga općeg zdravstvenog stanja, normalne tjelesne kondicije, bez znakova akutnih ili kroničnih bolesti te bez vidljivih znakova parazitarne invazije ili drugih zdravstvenih poremećaja. Životinje su tijekom cijele godine držane u ekstenzivnom sustavu uzgoja karakterističnom za istarsko krško područje, uz slobodnu ispašu prirodne vegetacije te slobodan pristup vodi i mineralnim dodacima. Uzorci krvi prikupljeni su punkcijom jugularne vene putem sterilnih vakuumskih sustava za jed-

nokratnu uporabu. Krv je sakupljana u epruvete koje su sadržavale K3-EDTA kao antikoagulans radi očuvanja morfologije krvnih stanica. Nakon uzorkovanja epruvete su nekoliko puta lagano invertirane kako bi se osiguralo potpuno miješanje krvi s antikoagulansom. Uzorci su transportirani u rashladnim uvjetima na Zavod za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, gdje su analizirani unutar nekoliko sati od uzorkovanja kako bi se izbjegle promjene hematoloških pokazatelja zbog skladištenja.

Ručno određivanje hematoloških pokazatelja

Broj eritrocita određen je ručnom metodom pomoću Neubauerove hemocitometarske komore nakon odgovarajućeg razrjeđenja krvi otopinom za brojenje eritrocita. Brojenje je provedeno prema standardnim laboratorijskim postupcima, a konačan broj eritrocita izražen je u $\times 10^{12}/L$. Vrijednost hematokrita određena je metodom mikrohematokrita. Kapilare su napunjene punom krvi, zatvorene specijalnim kitom te centrifugirane u mikrohematokritnoj centrifugi pri preporučenim uvjetima centrifugiranja. Nakon centrifugiranja očitana je vrijednost hematokrita pomoću standardne hematokritne ljestvice te izražena u postocima. Ručne metode smatraju se referentnim laboratorijskim postupcima za određivanje navedenih hematoloških pokazatelja te omogućuju usporedbu s rezultatima dobivenima automatiziranom analizom.

Automatizirana hematološka analiza

Automatizirana hematološka analiza provedena je uporabom hematološkog analizatora Abacus Junior Vet (Diatron, Budimpešta, Mađarska), validiranog za analizu krvi domaćih životinja. Za svakog ispitanika analizirana su dva uzastopna mjerenja, a za statističku obradu korištena je srednja vrijednost dobivenih rezultata. Analizator je odredio sljedeće hematološke pokazatelje: broj eritrocita (RBC; $\times 10^{12}/L$), hematokrit (HCT; %), koncentraciju hemoglobina (HGB; g/L), srednji volumen eritrocita (MCV; fL), prosječnu količinu hemoglobina u eritrocitu (MCH; pg), prosječnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitu (MCHC; g/L), širinu raspodjele volumena eritrocita (RDW; %), ukupan broj leukocita (WBC; $\times 10^9/L$), broj limfocita (LYM; $\times 10^9/L$), broj granulocita (GRA; $\times 10^9/L$) i skupinu srednje velikih leukocita (MID; $\times 10^9/L$), koja uključuje monocite, eozinofile i bazofile. Načelo rada analizatora temelji se na metodi električne impedancije za brojenje krvnih stanica te na fotometrijskom određivanju koncentracije hemoglobina nakon hemolize eritrocita.

Statistička obrada podataka provedena je programskim paketom IBM SPSS Statistics (IBM Corp., Armonk, NY, SAD). Za sve varijable izračunate su aritmetička sredina (Mean), standardna devijacija (SD), standardna pogreška sredine (SEM), minimalna i maksimalna vrijednost. Normalnost

raspodjele podataka provjerena je Shapiro-Wilkovim testom. Budući da su ručna i automatizirana mjerenja provedena na istim životinjama, razlike između metoda određivanja broja eritrocita i hematokrita analizirane su Studentovim t-testom za zavisne uzorke. Razina statističke značajnosti postavljena je na $p < 0,05$. Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija (SD), dok je u tablicama dodatno prikazana i standardna pogreška sredine (SEM).

Uzorkovanje krvi provedeno je u skladu s odredbama Zakona o zaštiti životinja Republike Hrvatske te smjernicama Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za rad sa životinjama u znanstvenim istraživanjima. Uzorkovanje je provedeno tijekom redovitih veterinarskih pregleda uz minimalno opterećenje životinja.

Rezultati

Hematološka analiza provedena je na uzorcima krvi 26 klinički zdravih odraslih istarskih koza. Ručnom metodom određeni su broj eritrocita i hematokrit, dok su automatiziranim hematološkim analizatorom određeni broj eritrocita, hematokrit te ostali eritrocitni i leukocitni pokazatelji. Za automatsku analizu svaka je pretraga provedena dvaput, a dobivene vrijednosti pokazale su vrlo malu međusobnu varijabilnost. Prosječan broj eritrocita određen ručnom metodom iznosio je $11,41 \pm 2,43 \times 10^{12}/L$, dok je automatiziranim analizatorom utvrđena prosječna vrijednost od $13,99 \pm 2,45 \times 10^{12}/L$. Automatizirana metoda dala je statistički značajno veće vrijednosti broja eritrocita u odnosu na ručno određivanje ($p < 0,05$). Suprotno tome, vrijednosti hematokrita bile su veće pri ručnom određivanju. Prosječna vrijednost hematokrita određena metodom mikrohmatokrita iznosila je $29,9 \pm 8,0$ %, dok je automatiziranim analizatorom izmjerena prosječna vrijednost od $22,6 \pm 3,0$ %, pri čemu je razlika između metoda također bila statistički značajna ($p < 0,05$). Automatiziranom hemato-

loškom analizom određeni su i ostali eritrocitni pokazatelji. Prosječna koncentracija hemoglobina iznosila je $75,62 \pm 11,76$ g/L, srednji volumen eritrocita (MCV) $16,35 \pm 1,53$ fL, prosječna količina hemoglobina u eritrocitu (MCH) $5,43 \pm 0,34$ pg, a prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC) $331,21 \pm 14,29$ g/L. Širina raspodjele volumena eritrocita (RDW) iznosila je $33,67 \pm 1,88$ %. Vrijednosti svih analiziranih hematoloških pokazatelja nalazile su se unutar referentnih fizioloških granica za odrasle koze. Tablica 1 prikazuje usporedbu ručno i automatizirano određenih vrijednosti broja eritrocita i hematokrita te ostalih eritrocitnih pokazatelja.

Automatizirani analizator pokazao je vrlo dobru ponovljivost mjerenja. Razlike između prvog i drugog mjerenja bile su minimalne za sve analizirane pokazatelje. Prosječne vrijednosti broja eritrocita pri prvom i drugom automatskom mjerenju iznosile su $13,99 \pm 2,45 \times 10^{12}/L$ i $13,99 \pm 2,39 \times 10^{12}/L$, dok su odgovarajuće vrijednosti hematokrita bile $22,57 \pm 2,98$ % i $22,61 \pm 2,99$ %. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između dvaju uzastopnih automatskih mjerenja ($p > 0,05$). Automatiziranim analizatorom određeni su i ukupni broj leukocita te diferencijalna leukocitna slika. Prosječan broj leukocita iznosio je $14,73 \times 10^9/L$, pri čemu su limfociti činili najveći udio leukocitne populacije ($7,01 \times 10^9/L$), slijedili su granulociti ($7,60 \times 10^9/L$), dok je skupina MID stanica (monociti, eozinofili i bazofili) iznosila $0,15 \times 10^9/L$. Dobivene vrijednosti odgovarale su fiziološkim rasponima navedenim za zdrave odrasle koze te nisu upućivale na prisutnost upalnih ili hematoloških poremećaja. Usporedba dviju metoda pokazala je dva karakteristična obrasca: automatizirana metoda dala je veće vrijednosti broja eritrocita nego ručna metoda, dok je ručna metoda dala veće vrijednosti hematokrita nego automatizirana analiza. Razlike između metoda bile su statistički značajne ($p < 0,05$). Najveće pojedinačne razlike uočene su kod životinja s manjim brojem eritrocita, dok je kod životinja s

Tablica 1. Eritrocitni hematološki pokazatelji istarskih koza

Pokazatelj	Srednja vrijednost	SD	SEM	Minimum	Maksimum
Eritrociti (ručno) ($\times 10^{12}/L$)	11,41	2,43	1,88	5,51	17,10
Eritrociti (automatski) ($\times 10^{12}/L$)	13,99	2,45	1,81	7,64	16,63
Hematokrit ručno (%)	29,92	8,0	5,0	22	42
Hematokrit automatski (%)	22,57	3,0	2,0	15	27
Hemoglobin (g/L)	75,62	11,76	9,62	47	92
MCV (fL)	16,35	1,53	1,18	13	20
MCH (pg)	5,43	0,34	0,27	4,8	6,2
MCHC (g/L)	331,21	14,29	10,79	296	361
RDW (%)	33,67	1,88	1,31	28,4	37,8



većim vrijednostima odstupanje između metoda bilo manje izraženo.

Rasprava

Hematološka analiza jedna je od temeljnih laboratorijskih metoda u procjeni zdravstvenog statusa domaćih životinja te omogućuje rano otkrivanje brojnih fizioloških i patoloških promjena (Jain, 1993.; Weiss i Wardrop, 2010.). Rezultati ovoga istraživanja pokazali su da je broj eritrocita određen automatiziranim hematološkim analizatorom bio statistički značajno veći od vrijednosti dobivenih ručnim brojenjem, dok je ručno određen hematokrit bio značajno viši od vrijednosti dobivenih automatiziranim analizom. Slične razlike između ručnih i automatiziranih metoda opisane su i kod drugih pasmina koza te malih preživača (Mbassa i Poulsen, 1991.; Latimer, 2022.). Jedan od glavnih razloga za navedene razlike jest izrazito mali volumen eritrocita koza. Eritrociti koza najmanji su među domaćim preživačima, a njihov srednji volumen najčešće iznosi između 16 i 25 fL (Jain, 1993.; Weiss i Wardrop, 2010.). Budući da se većina automatskih hematoloških analizatora temelji na načelu električne impedancije, eritrociti vrlo maloga promjera mogu biti pogrešno klasificirani ili djelomično preklapati populaciju trombocita, što rezultira sustavnom pogreškom u određivanju broja eritrocita i hematokrita (Thrall i sur., 2012.; Latimer, 2022.).

Prosječna vrijednost MCV-a utvrđena u ovom istraživanju ($16,35 \pm 1,53$ fL) gotovo je identična vrijednostima koje su opisali Pugh i Baird (2012.) za zdrave odrasle koze drugih pasmina. Dobivene vrijednosti hemoglobina, MCH-a i MCHC-a također su bile unutar fizioloških raspona navedenih u veterinarskim hematološkim priručnicima (Merck Veterinary Manual, 2024.; Latimer, 2022.).

Dobiveni rezultati potvrđuju kako analizator pokazuje vrlo dobru preciznost, s obzirom na to da između dvaju uzastopnih mjerenja nije bilo značajnih razlika. Međutim, dobra preciznost ne podrazumijeva nužno i visoku točnost. Takva se pojava često opisuje pri validaciji laboratorijskih metoda, kada uređaj reproducibilno daje rezultate koji sustavno odstupaju od referentne metode (Westgard, 2019.). Klinički gledano, podcjenjivanje hematokrita može dovesti do pogrešne procjene stupnja anemije, dok precijenjen broj eritrocita može prikriti stvarni pad eritrocitne mase. Zbog toga brojni autori preporučuju potvrdu automatiziranih nalaza metodom mikrohematokrita kada postoji nesklad između laboratorijskog nalaza i kliničke slike (Thrall i sur., 2012.; Latimer, 2022.).

Posebna vrijednost ovoga istraživanja proizlazi iz činjenice da se odnosi na istarsku kozu, hrvatsku izvornu i ugroženu pasminu za koju su objavljeni hematološki i biokemijski podaci još uvijek vrlo ograničeni (Antunović i sur., 2020.). Istarska koza jedna je od najugroženijih hrvat-

skih izvornih pasmina, a njezina dugoročna zaštita i očuvanje genetske raznolikosti predmet su brojnih istraživanja (Ivanković i sur., 2014.; Ivanković i sur., 2018.; Vlahek i sur., 2023.). Dosadašnja istraživanja uglavnom su bila usmjerena na opis fenotipskih i eksterijernih obilježja te genetiku karakterizaciju pasmine (Mioč i sur., 2013.; Novaković, 2017.; Ivanković i sur., 2018.), dok su hematološki pokazatelji znatno slabije istraženi. Stoga dobiveni rezultati mogu poslužiti kao temelj za uspostavu referentnih hematoloških vrijednosti te za daljnja istraživanja fizioloških i patoloških promjena u ovoj pasmini, ali i kao doprinos njezinoj uspješnoj zdravstvenoj kontroli i programu očuvanja (Antunović i sur., 2020.; Vlahek i sur., 2023.).

Literatura

- ANTUNOVIĆ, Z., K. NOVAKOVIĆ, Ž. KLIR, V. ŠERIĆ, B. MIOČ, M. ŠPERANDA, M. RONTA, AND J. NOVOSELEC (2020): Blood metabolic profile and acid-base status of Istrian goats - a critically endangered Croatian goat - in relation to age. *Veterinarski arhiv* 90 (1), 27-38, 2020 DOI: 10.24099/vet.arhiv.0780
- IVANKOVIĆ, A., B. MIOČ, J. RAMLJAK, I. ŠIRIĆ (2014): Istrian goat - story about forgotten breed. *Proceedings of 25th DAGENE annual meeting*. Debrecen, Hungary, 122.
- IVANKOVIĆ, A. B. MIOČ, G. ŠUBARA, P. DOVČ, I. ŠIRIĆ, J. RAMLJAK (2018): Genetic characterisation of Istrian goat: the key-point for a long-term conservation. *Mljekarstvo* 68: 85-97. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0202>
- JAIN, N. C. (1993): *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- LATIMER, K. S. (2022): *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 6th ed. Wiley Blackwell, Ames.
- MBASSA, G. K., J. S. D. POULSEN (1991): Reference ranges for clinical chemical values in Landrace goats. *Small Ruminant Research* 6, 91-98.
- MERCK VETERINARY MANUAL (2024): *Hematologic Reference Ranges*. Merck & Co., Rahway.
- MIOČ, B., A. IVANKOVIĆ, I. ŠIRIĆ, V. DRŽAIĆ (2013): Exterior characteristics of Istrian goat (in Croatian with english summary). *Proceedings of 48th Croatian and 8th International Symposium on Agriculture*. Dubrovnik, Croatia, 765-769.
- NOVAKOVIĆ, K. (2017): Fenotipske odlike istarske koze. *Diplomski rad*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet. Osijek
- PUGH, D. G., A. N. BAIRD (2012): *Sheep and Goat Medicine*. 2nd ed. Elsevier Saunders, St. Louis.
- THRALL, M. A., G. WEISER, R. W. ALLISON, T. W. CAMPBELL (2012): *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2nd ed. Wiley-Blackwell, Ames.
- VLAHEK I., V. SUŠIĆ, S. MENČIK, A. IVANKOVIĆ, A. PIPLICA, G. ŠUBARA, E. ŠURAN (2023): Current status and future strategy for Istrian goat protection, conservation, and promotion. *Danubian Animal Genetic Resources* 2, 59-63. <https://doi.org/10.59913/dagr.2023.12357>
- WEISS, D. J., K. J. WARDROP (2010): *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell, Ames.
- WESTGARD, J. O. (2019): *Basic Method Validation*. 4th ed. Westgard QC Inc., Madison.

A COMPARATIVE STUDY OF MANUAL AND AUTOMATED DETERMINATION OF SELECTED HEMATOLOGIC PARAMETERS IN ISTRIAN GOATS

Abstract

Hematological profiling is an essential diagnostic and health monitoring tool, yet reference values may vary according to age, sex, health status, breed, and analytical methods. The Istrian goat is an endangered and protected indigenous Croatian breed that has not been extensively studied. This study aimed to compare erythrocyte count and hematocrit (HCT) values in Istrian goats obtained by manual and automated methods, and to report other hematological parameters measured automatically. Blood samples were collected by jugular puncture from 26 clinically healthy adult Istrian does aged 1.5 to 10 years. Analyses were performed at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, using standardized laboratory protocols. The automated hematology analyser (Abacus Junior Vet hematology analyzer (Diatron, Hungary)) measured erythrocyte count, HCT, hemoglobin concentration (HGB), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), red blood cell distribution width (RDW), white blood cells (WBC), lymphocytes (LYM), granulocytes (GRA), and mid-sized cells (MID: monocytes, eosinophils, basophils). Mean values ($\pm$ SEM) were: HGB 75.61 ± 9.09 g/L, MCV 16.35 ± 1.17 fL, MCH 5.43 ± 0.28 pg, MCHC 331.21 ± 10.36 g/L, RDW 33.67%, WBC $14.73 \pm 2.50 \times 10^9$ /L, LYM $7.01 \pm 1.01 \times 10^9$ /L, MID $0.15 \pm 0.05 \times 10^9$ /L, and GRA $7.60 \pm 1.51 \times 10^9$ /L. All parameters were within physiological ranges for goats. Manually determined erythrocyte counts were lower, while HCT values were higher ($p < 0.05$) compared to automated results ($11.41 \pm 1.88 \times 10^{12}$ /L vs. $13.99 \pm 1.81 \times 10^{12}$ /L; 29.9% vs. 22.5%). The findings suggest that manual HCT determination is more reliable in goats, as their exceptionally small erythrocytes can lead to inaccuracies in automated measurements.

Key words: haematocrit; haemoglobin; Istrian goat; red blood cells; white blood cells

DIJELE LI DOMAĆE I DIVLJE SVINJE U HRVATSKOJ ISTE SOJEVE ROTAVIRUSA C? MOLEKULARNO-EPIDEMIOLOŠKI UVID U POTENCIJAL MEĐUVRSNOG PRIJENOSA

Vjekoslava Kostanić, Sara Špoljar, Valentina Kunić, Dragan Brnić

Hrvatski veterinarski institut, Odjel za virologiju, Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Rotavirus C (RVC) jedan je od slabije istraženih uzročnika gastroenteritisa u različitim životinjskih vrsta i ljudi, pri čemu su svinje jedan od njegovih najvažnijih domaćina. Unatoč širokoj rasprostranjenosti, podaci o prevalenciji i genskoj raznolikosti RVC-a u Europi, osobito u populacijama divljih svinja, izrazito su ograničeni. Cilj istraživanja bio je utvrditi prisutnost i prevalenciju RVC-a u domaćih i divljih svinja u Hrvatskoj, opisati njegovu genotipsku raznolikost te procijeniti moguću epidemiološku povezanost tih populacija. Istraživanjem je obuhvaćeno 400 arhivskih uzoraka fecesa i rektalnih brisova domaćih i divljih svinja, po 200 uzoraka iz svake populacije, prikupljenih tijekom 2018. – 2020. godine. Prisutnost RVC-a određena je metodom RT-qPCR u stvarnom vremenu usmjerenom na segment VP6, dok su pozitivni uzorci genotipizirani za segmente VP7 i VP4 konvencionalnim RT-PCR-om i Sanger sekvenciranjem. Dobivene sekvencije uređene su u programu Chromas (v.2.6.6.), poravnate u programu MEGA 11 (v.11.0.13) te filogenetski analizirane metodom najveće vjerojatnosti primjenom programa IQ-TREE (v.3.1.2), uz prikaz u programu iTOL (v.7.6). Statističke analize provedene su u programu GraphPad Prism (v.11.0.2). RVC je utvrđen u 30 % domaćih (60/200) i 12 % divljih svinja (24/200), uz značajno veću prevalenciju u domaćih svinja ($p < 0,0001$). Medijan koncentracije genoma RVC-a iznosio je $7,14 \times 10^3$ gc/mL u uzorcima domaćih svinja i $3,25 \times 10^5$ gc/mL u uzorcima divljih svinja. U domaćih svinja identificirani su VP7 genotipovi G1, G3, G6, G7, G10 i G17 te VP4 genotipovi P[1], P[6], P[21], P[34] i P[35], dok su kod divljih svinja utvrđeni G1, G6, G7 i G13 te P[1], P[6] i P[14]. Genotipovi G1, G6, G7, P[1] i P[6], kao i G/P kombinacije G1P[1], G7P[1] i G7P[6], bili su zajednički objema populacijama. Filogenetska analiza pokazala je grupiranje sekvencija domaćih i divljih svinja unutar zajedničkih klastera, bez jasno odvojenih linija specifičnih za domaće ili divlje svinje. Ovo je istraživanje prvi dokaz RVC-a u domaćih i divljih svinja u Hrvatskoj, pri čemu su veća prevalencija i veća genotipska raznolikost utvrđene u domaćih svinja. Zajednički genotipovi i filogenetska povezanost upućuju na moguću epidemiološku povezanost populacija, odnosno na mogućnost među-

vrsnog prijenosa RVC-a između domaćih i divljih svinja. Ovi rezultati naglašavaju potrebu za daljnjim istraživanjima uloge domaćih i divljih svinja u cirkulaciji i širenju RVC-a u okolišu.

Cljučne riječi: rotavirus C, domaće svinje, divlje svinje, prevalencija, molekularna epidemiologija, međuvrtni prijenos

DO DOMESTIC PIGS AND WILD BOARS IN CROATIA SHARE THE SAME ROTAVIRUS C STRAINS? A MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL INSIGHT INTO THE POTENTIAL FOR INTERSPECIES TRANSMISSION

Abstract

Rotavirus C (RVC) is one of the less extensively studied causes of gastroenteritis in various animal species and humans, with pigs representing one of its most important hosts. Despite its widespread distribution, data on the prevalence and genetic diversity of RVC in Europe, particularly in wild boar populations, remain very limited. The aim of this study was to determine the presence and prevalence of RVC in domestic pigs and wild boars in Croatia, characterize its genotype diversity, and assess the potential epidemiological link between these populations. The study included 400 archival fecal samples and rectal swabs from domestic pigs and wild boars, with 200 samples from each population, collected between 2018 and 2020. The presence of RVC was determined using real-time RT-qPCR targeting the VP6 segment, while positive samples were genotyped for the VP7 and VP4 segments using conventional RT-PCR and Sanger sequencing. Obtained sequences were edited in Chromas (v.2.6.6.), aligned in MEGA 11 (v.11.0.13), and phylogenetically analysed using the maximum-likelihood method in IQ-TREE (v.3.1.2), with visualization in iTOL (v.7.6). Statistical analyses were performed using GraphPad Prism (v.11.0.2). RVC was detected in 30.0% of domestic pigs (60/200) and 12.0% of wild boars (24/200), with a significantly higher prevalence in domestic pigs ($p < 0.0001$). The median RVC genome concentration was 7.14×10^3 gc/mL in domestic pigs and 3.25×10^5 gc/mL in wild boars. In domestic pigs, the VP7 genotypes G1, G3, G6, G7, G10, and G17 and the VP4 genotypes P[1], P[6], P[21], P[34], and P[35] were identified, whereas G1, G6, G7, and G13 and P[1], P[6], and P[14] were detected in wild boars. The genotypes G1, G6, G7, P[1], and P[6], as well as the G/P combinations G1P[1], G7P[1], and G7P[6], were shared by both populations. Phylogenetic analysis showed clustering of sequences from domestic pigs and wild boars within shared

clusters, without clearly separated domestic pig- or wild-boar-specific lineages. This study provides the first evidence of RVC in domestic pigs and wild boars in Croatia, with higher prevalence and greater genotype diversity observed in domestic pigs. Shared genotypes and phylogenetic relatedness suggest a potential epidemiological link between the populations and the possibility of RVC transmission between domestic pigs and wild boars. These findings highlight the need for further investigation into the role of domestic pigs and wild boars in the circulation and spread of RVC in the environment.

Key words: rotavirus C; domestic pigs; wild boars; prevalence; genotyping, molecular epidemiology, interspecies transmission

SEROPREVALENCIJA KRPELJNOG MENINGOENCEFALITISA U DIVLJIH SVINJA U HRVATSKOJ

Margarita Božiković¹, Jelena Prpić¹, Magda
Kamber Taslaman¹, Gorana Miletić², Vladimir
Stevanović², Lorena Jemeršić¹

¹Laboratorij za dijagnostiku klasične svinjske kuge,
molekularnu virologiju i genetiku, Odjel za virologiju,
Hrvatski veterinarski institut, 10000 Zagreb, Hrvatska;

²Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom,
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 10000
Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Krpeljni meningoencefalitis (KME) važna je virusna zoonoza s kontinuiranim porastom incidencije slučajeva obolijevanja ljudi u Europi. Uzročnik je RNK virus iz porodice *Flaviviridae* (rod *Ortho-flavivirus*), čiji su primarni vektori krpelji roda *Ixodes*. Unatoč dobro dokumentiranom utjecaju na humanu populaciju, podaci o ulozi divljih svinja kao sentinela u prirodnom žarišnom ciklusu virusa i dalje su ograničeni. Cilj istraživanja bio je utvrditi prisutnost virusne RNK i specifičnih protutijela na virus KME-a u populaciji divljih svinja na području županija s endemijskom pojavnosću KME-a u ljudi i susjednih županija Republike Hrvatske te procijeniti njihovu primjenjivost kao sentinela u epidemiološkom nadzoru. Istraživanje je provedeno u sklopu institucionalnog projekta mladih istraživača *Krpeljni meningoencefalitis u populaciji divljih svinja endemskih područja Hrvatske* (KME-DIVE). Detekcija specifičnih protutijela i virusne RNK provedena je serološkim metodama (ELISA i potvrdni test neutralizacije virusa, VN) te molekularnom metodom kvantitativne lančane reakcije polimerazom uz prethodnu reverznu transkripciju (RT-qPCR). Rezultati potvrđuju cirkulaciju virusa KME-a u Koprivničko-križevačkoj i Sisačko-moslavačkoj županiji koje su prirodna žarišta. Lovišta u kojima su utvrđene seropozitivne divlje svinje naglašavaju njihovu važnost kao pouzdanih sentinela u kontinuiranom epidemiološkom nadzoru i procjeni zoonotskog rizika na područjima preklapanja staništa ljudi i divljih svinja. Dobiveni rezultati omogućuju preciznije definiranje uloge divljih svinja u dinamici kruženja virusa. Osim znanstvenog doprinosa, rezultati projekta imaju važnu praktičnu primjenu u javnom zdravstvu i veterinarskoj medicini u okviru koncepta *Jedno zdravlje* (engl. *One Health*), izravno pridonoseći procjeni rizika i razvoju mjera prevencije, te uspostavi učinkovitijeg sustava nadzora nad KME-om i drugim emergentnim zoonozama u Hrvatskoj.

Ključne riječi: krpeljni meningoencefalitis, divlje svinje, Republika Hrvatska, seroprevalencija

SEROPREVALENC OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN CROATIAN WILD BOARS

Abstract

Tick-borne meningoencephalitis (TBE) is a significant endemic viral zoonosis with a continuous increase in incidence in Europe including the Republic of Croatia. The causative agent is a RNA virus from the family *Flaviviridae* (genus *Ortho-flavivirus*), whose primary vectors are ticks of the genus *Ixodes*. Despite the well-documented impact on the public health, data on the role of wild animals as sentinels in the natural focal cycle of the virus remain limited. The research included samples from seven northern counties of Croatia, and was carried out as part of the institutional project of young researchers "Tick-borne meningoencephalitis in the wild boar population of endemic areas of Croatia (KME-DIVE)". The detection of specific antibodies and viral RNA was carried out by serological methods (ELISA and confirmatory virus neutralization test, VN) and by the molecular method of quantitative polymerase chain reaction with prior reverse transcription (RT-qPCR). Positive serological findings, alongside negative RT-qPCR results, indicate prior exposure to the virus and the development of specific humoral immunity, with the absence of viral RNA consistent with the short-lived viremic phase in these hosts. The results confirm the circulation of the TBE virus within Koprivnica-Križevci and Sisak-Moslavina Counties as natural foci's. The identified seropositive hunting grounds highlight the importance of wild boars as reliable sentinels for continuous epidemiological surveillance and risk assessment for humans in overlapping habitats. These results allow for a more precise definition of the role of wild boars in viral maintenance and circulation dynamics. Beyond their scientific contribution, the project results have significant practical applications in public health and veterinary medicine within the "One Health" framework, directly contributing to risk assessment, the development of prevention measures, and the establishment of a more effective surveillance system for TBE and other emerging zoonoses in Croatia.

Key words: tick-borne encephalitis; wild boars; Croatia; seroprevalence

FASCILOZA DIVLJIH SVINJA (*SUS SCROFA* L.)

Miljenko Bujanić¹, Relja Beck², Krešimir Severin¹,
Krešimir Krapinec³, Nika Konstantinović¹, Ana
Šikić¹, Matija Jandrilović⁴, Dean Konjević¹

¹Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska; ²Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb, Hrvatska; ³Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska cesta 23, 10000 Zagreb, Hrvatska; ⁴Veterinarska stanica Bjelovar, Slavonska cesta 4, 43000 Bjelovar, Hrvatska

Sažetak

Veliki jetreni metilj *Fasciola hepatica* zavičajna je vrsta parazita u Hrvatskoj. Za svoj se razvoj *F. hepatica* koristi posrednikom, od kojih je najčešći puž barnjak (*Galba truncatula*). Nakon što nositelj (ponajprije preživlač) pojede metacercariju, u crijevima se oslobađa mladi metilj koji putuje do jetre te se u konačnici smješta u većim žučovodima gdje može preživjeti i do deset godina. Fascioloza uzrokuje smanjenu proizvodnost invadiranih životinja, oštećenje jetre, a moguće i sekundarne infekcije tijekom migracijske faze. Ipak, pojavom velikog američkog metilja (*Fascioloides magna*) nalaz metilja *F. hepatica* postao je razmjerno rijedak u divljači, posebice jelena običnoga. Cilj ovoga preliminarnog istraživanja bio je utvrditi prisutnost metilja *F. hepatica* u divljih svinja (*Sus scrofa*) na području lovišta III/28 – "POSAVSKE ŠUME", gdje je ovaj metilj i prije utvrđen. Ukupno je tijekom redovitih lovnih zahvata u sezoni 2025./2026. prikupljeno 28 jetara divljih svinja. U prvom koraku jetre su makroskopski pregledane na izgled kapsule, veličinu, eventualne nepravilnosti površine, fibrinske naslage i pigment željezo-porfirin. Nakon toga jetre su pregledane standardnom metodom zarezivanjem na oko 2 cm te su isječki detaljno pregledani s obje strane na prisutnost metilja, izgled žučovoda, prisutnost pseudocista, migratornih kanala mladih metilja i pigmenta željezo-porfirina. Od ukupno 28 jetara njih 18 bilo je negativno (64,28%). Znakovi invazije metiljem *F. magna* utvrđeni su u 8 jetara (28,57%), pri čemu su metilji utvrđeni u 6 jetara. Zadebljani žučovodi i metilj *F. hepatica* utvrđeni su u svega dvije jetre (7,14%). Prema utvrđenim preliminarnim nalazima vjerojatnost nalaza metilja *F. magna* pet je puta veća od nalaza metilja *F. hepatica* na navedenom području (OR = 5,200, CI 95% 0,9931 do 27,2269). Ovaj nalaz nije statistički znakovit. Za metilja *F. magna* divlja svinja predstavlja nositelja tipa slijepa ulica, a prema dostupnim podacima u lovištu obitava manja populacija jelena običnoga kao tipičnog nositelja ovoga metilja. U dosadašnjim istraživanjima u Hrvatskoj metilj *F. hepatica* uglavnom nije utvrđen u jelena, dok je u divljih svinja za-

bilježen rijetko i samo na pojedinim područjima, što upućuje na moguće promjene u parazitofauni Republike Hrvatske.

Ključne riječi: divlja svinja, *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna*, Posavske šume

Zahvala: Rad je financiran sredstvima projekta HrZZ IP-2024-05-8056: *Fasciola hepatica* vs. *Fascioloides magna*: potencijalni utjecaj nezavičajne vrste parazita na bioraznolikost

WILD BOAR (*SUS SCROFA* L.) FASCIOSIS

Abstract

The large liver fluke *Fasciola hepatica* is a native parasite species in Croatia. *F. hepatica* requires an intermediate host for its development, the most common being the mud snail (*Galba truncatula*). After the host (primarily a ruminant) ingests the metacercaria, the young fluke is released in the intestine, migrates to the liver, and ultimately settles in the larger bile ducts, where it can survive for up to ten years. Fasciolosis causes reduced productivity in infected animals and liver damage, and may lead to secondary infections during the migratory phase. However, following the emergence of the large American liver fluke (*Fascioloides magna*), findings of *F. hepatica* have become relatively rare in game animals, particularly red deer. The aim of this preliminary study was to determine the presence of *F. hepatica* in wild boar (*Sus scrofa*) within the hunting ground III/28 – "POSAVSKE ŠUME," where the fluke had previously been identified. A total of 28 wild boar livers were collected during regular hunting activities in the 2025/2026 season. Initially, the livers underwent macroscopic examination to assess the appearance of the capsule, liver size, potential surface irregularities, fibrin deposits, and presence of iron-porphyrin pigment. Subsequently, the livers were examined using a standard slicing method (slices approximately 2 cm thick), and the sections were thoroughly inspected on both sides for the presence of flukes, the appearance of bile ducts, and the presence of pseudocysts, migratory tracts of young flukes, and iron-porphyrin pigment. Out of a total of 28 livers, 18 tested negative (64.28%). Signs of *F. magna* infection were observed in 8 livers (28.57%), with the flukes being identified in 6 of them. Thickened bile ducts and *F. hepatica* flukes were found in only two livers (7.14%). Preliminary findings indicate that the likelihood of detecting *F. magna* is five times higher than that of detecting *F. hepatica* in the studied area (OR = 5.200; 95% CI: 0.9931–27.2269). This finding is not statistically significant. For *F. magna*, the wild



boar acts as a “dead-end” host, whereas available data indicate that only a small population of red deer, a typical host for this fluke, is present in the hunting ground. Furthermore, red deer are generally more frequently infected with *F. hepatica* than wild boars, which typically serve as accidental hosts. The fact that red deer in other Croatian studies generally are negative for *F. hepatica*, and that the parasite rarely appears in wild boars and only in specific regions, suggests potential changes in the parasite fauna of the Republic of Croatia.

Key words: wild boar; *Fasciola hepatica*; *Fascioloides magna*; Posavske šume

Acknowledgement: Fully financed by Croatian Science Foundation grant IP-2024-05-8056: *Fasciola hepatica* vs. *Fascioloides magna*: potential impact of allochthonous parasite on biodiversity



VETERINARSKI DANI

znanstveno stručni skup s
međunarodnim sudjelovanjem

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria

ORGANIZATORI:
HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT



MALA PRAKSA

ŠTETNI DOGAĐAJI POVEZANI S PRIMJENOM ANTIPARAZITIKA U MAČAKA: UTJECAJ PUTA PRIMJENE I DJELATNE TVARI

*Dominika Fajdić, Irena Žarković, Anja Vujnović,
Iva Badovinac, Ksenija Šandor*

*Odsjek za veterinarske lijekove i veterinarske medicinske
proizvode, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta
143, 10 000 Zagreb*

Sažetak

Cilj je rada deskriptivno analizirati štetne događaje navedene u sažecima opisa svojstava proizvoda (engl. *Summary of Product Characteristics*, SPC) i uputama o veterinarskom lijeku za antiparazitike odobrene za primjenu u mačaka te opisati njihovu povezanost s farmaceutskim oblikom, načinom primjene i djelatnom tvari, odnosno kombinacijom djelatnih tvari. U istraživanje je uključen 41 veterinarski lijek odobren u Republici Hrvatskoj. Među analiziranim proizvodima najzastupljenije su bile otopine za nakapavanje, koje su činile 56,1 % analiziranih proizvoda, dok su ostali farmaceutski oblici uključivali tablete, sprejeve i lijekovite ovratnike. Analizom štetnih događaja navedenih u SPC-ima i uputama o veterinarskom lijeku utvrđeno je da su najčešće zastupljeni povraćanje (82,9 %), pojačano slinjenje (80,5 %), gubitak dlake na mjestu primjene (63,4 %), svrbež (56,1 %) i crvenilo na mjestu primjene (46,3 %). Analizom štetnih događaja prema farmaceutskom obliku utvrđena je različita zastupljenost pojedinih vrsta štetnih događaja. U skupini otopina za nakapavanje najčešće su navedeni pojačano slinjenje, reakcije na mjestu primjene i proljev, dok su kod tableta prevladavali povraćanje te neurološki poremećaji, uključujući ataksiju i drhtanje mišića. Kod sprejeva i lijekovitih ovratnika također su zastupljene reakcije na mjestu primjene i štetni događaji povezani s probavnim sustavom. Analizom štetnih događaja prema djelatnim tvarima utvrđeni su određeni obrasci njihove zastupljenosti unutar pojedinih skupina proizvoda. Kod svih analiziranih proizvoda koji sadržavaju fipronil kao jedinu djelatnu tvar navedeni su povraćanje, pojačano slinjenje i promjene na mjestu primjene, dok su kod svih analiziranih proizvoda koji sadržavaju selamektin navedene reakcije na mjestu primjene i poremećaji živčanog sustava. U uputama svih proizvoda koji sadržavaju kombinaciju milbemicinoksima i prazikvantela navedeni su povraćanje, proljev, ataksija, drhtanje mišića i reakcije preosjetljivosti. Nadalje, u slučaju kombinacija pirantelembonata i prazikvantela te imidakloprida i moksidektina u uputama svih proizvoda navedeni su pojedini štetni događaji povezani s probavnim sustavom i reakcije na mjestu primje-

ne. Deskriptivnom analizom uočene su razlike u zastupljenosti i strukturi navedenih štetnih događaja među pojedinim farmaceutskim oblicima antiparazitika. Kod otopina za nakapavanje i drugih veterinarskih lijekova za vanjsku primjenu ističu se lokalne reakcije na mjestu primjene, dok su kod tableta među najzastupljenijim štetnim događajima simptomi probavnog i živčanog sustava. Međutim, s obzirom na malen i neujednačen broj analiziranih proizvoda unutar pojedinih skupina, navedene razlike treba tumačiti isključivo opisno, bez zaključivanja o njihovoj statističkoj značajnosti. Dobiveni rezultati mogu poslužiti kao osnova za bolje razumijevanje profila štetnih događaja navedenih u uputama o veterinarskom lijeku za antiparazitike namijenjene mačkama.

Ključne riječi: farmakovigilancija, štetni događaji, antiparazitici, farmaceutski oblik, put primjene, mačke

ADVERSE EVENTS ASSOCIATED WITH THE USE OF ANTIPARASITIC DRUGS IN CATS: INFLUENCE OF ROUTE OF ADMINISTRATION AND ACTIVE SUBSTANCE

Abstract

The aim of this study was to descriptively analyse the adverse events listed in the Summaries of Product Characteristics (SPCs) and package leaflets of veterinary antiparasitic medicinal products authorised for use in cats, and to describe their association with pharmaceutical form, route of administration, and active substance or combination of active substances. The study included 41 veterinary medicinal products authorised in the Republic of Croatia. Among the analysed products, spot-on solutions were the most prevalent pharmaceutical form, accounting for 56.1% of the products, while the remaining pharmaceutical forms were tablets, sprays, and medicated collars. Analysis of the adverse events listed in the SPCs and package leaflets showed that the most frequently reported events were vomiting (82.9%), increased salivation (80.5%), hair loss at the application site (63.4%), pruritus (56.1%), and erythema at the application site (46.3%). Analysis of adverse events by pharmaceutical form revealed differences in the distribution of individual types of adverse events. In the group of spot-on solutions, increased salivation, application-site reactions, and diarrhoea were the most frequently reported events, whereas vomiting and neurological disorders, including ataxia and muscle tremors, predominated among tablets. Application-site reactions and adverse events involving the gastrointestinal system were

also reported for sprays and medicated collars. Analysis of adverse events by active substance revealed certain patterns in their distribution within individual product groups. Vomiting, increased salivation, and application-site changes were listed for all analysed products containing fipronil as the sole active substance, whereas application-site reactions and nervous system disorders were listed for all analysed products containing selamectin. The package leaflets of all products containing the combination of milbemycin oxime and praziquantel listed vomiting, diarrhoea, ataxia, muscle tremors, and hypersensitivity reactions. Furthermore, for combinations of pyrantel embonate and praziquantel, as well as imidacloprid and moxidectin, the package leaflets of all products listed gastrointestinal adverse events and application-site reactions. The descriptive analysis revealed differences in the frequency and profile of reported adverse events among the various pharmaceutical forms of antiparasitic medicinal products. Local application-site reactions were particularly prominent among spot-on solutions and other veterinary medicinal products for external use, whereas gastrointestinal and nervous system symptoms were among the most frequently reported adverse events associated with tablets. However, given the small and uneven number of products analysed within individual groups, these differences should be interpreted only descriptively, without drawing conclusions regarding their statistical significance. The findings may serve as a basis for a better understanding of the adverse event profiles listed in the package leaflets of antiparasitic veterinary medicinal products intended for cats.

Key words: pharmacovigilance; adverse events; antiparasitics; pharmaceutical form; route of administration; cats

ŠTO SE KRIJE U HRANI ZA PSE I MAČKE? SALMONELA, ENTEROBAKTERIJE I SIGURNOST

Mislav Unger¹, Matija Harča², Barbara Boljkovac Begić³, Karmela Nina Barać³, Mirela Sablić³, Dijana Mišetić Ostojić³, Kristina Krvrgić³, Natalija Džafić³, Mateja Šmic¹, Manuela Zadravec¹

¹Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb; ²Hrvatski veterinarski institut – Veterinarski zavod Križevci, I. Z. Dijankovečkog 10, 48260 Križevci; ³Hrvatski veterinarski institut, podružnica Veterinarski zavod Rijeka, Podmurvice 29, 51000 Rijeka

Sažetak

Mikrobiološki sigurna hrana za pse i mačke iznimno je važna u kontekstu koncepta *Jedno zdravlje* (*One Health*). Povećan broj enterobakterija i prisutnost patogenih bakterija roda *Salmonella* nose rizik za životinje, ali i za ljude koji su u doticaju s hranom ili životinjama koje konzumiraju kontaminiranu hranu. Posebno osjetljivu skupinu čine djeca, a opisani su i slučajevi salmoneloza povezanih s izloženošću kontaminiranim proizvodima za kućne ljubimce. Psi mogu biti asimptomatski nositelji i izlučivati bakterije, dok se klinički znakovi, poput gastroenteritisa, proljeva i povraćanja, rjeđe pojavljuju. Mačke mogu razviti izraženije kliničke znakove, a opisani su i slučajevi uginuća povezani s konzumacijom kontaminirane sirove hrane. Hrvatska je, kao članica Europske unije, uključena u Sustav brzog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje (*Rapid Alert System for Food and Feed*, RASFF). U tridesetomjesečnom razdoblju, od početka 2024. do sredine 2026. godine, u sustavu RASFF zabilježeno je 49 obavijesti iz 16 država u kategoriji hrane za kućne ljubimce povezanih s mikrobiološkim rizicima. Najveći broj obavijesti odnosio se na poslastice (17) i sirovu hranu (15). U istom je razdoblju u Republici Hrvatskoj pretraženo ukupno 57 uzoraka hrane za pse i mačke u sklopu Plana monitoringa hrane za životinje. Od 16 pretraženih uzoraka sirove hrane, sedam je bilo nesukladno zbog nalaza enterobakterija i/ili bakterija roda *Salmonella*. U kategoriji poslastica analizirana su 34 uzorka, pri čemu je u jednom uzorku utvrđena *Salmonella Infantis*. Međutim, kategorija poslastica obuhvaća heterogenu skupinu proizvoda različita sastava, oblika i načina proizvodnje, uključujući sušene poslastice, žvakalice i druge proizvode. Stoga se mali broj nesukladnih uzoraka unutar ove kategorije ne može izravno tumačiti kao pokazatelj mikrobiološke sigurnosti svih vrsta poslastica. Preliminarnim ispitivanjem četiriju vrsta sušenih poslastica za pse – bikovih žila, svinjskih ušiju, bikovih testisa i pačjih vratova – pri čemu je svaka kategorija bila zastupljena jednim uzorkom, bakterije roda *Salmonella* otkrivene su u sva če-

tiri ispitana uzorka. Iako ovi rezultati zbog ograničenog broja uzoraka ne omogućuju procjenu učestalosti kontaminacije na tržištu, upućuju na potrebu za dodatnim istraživanjem i ciljanijim uzorkovanjem unutar kategorije poslastica, osobito sušenih proizvoda kod kojih tehnološki postupak obrade ne mora nužno osigurati dostatnu redukciju patogenih mikroorganizama.

Ključne riječi: salmonela, enterobakterije, hrana za kućne ljubimce, monitoring, koncept jednog zdravlja

WHAT IS HIDDEN IN PET FOOD? SALMONELLA, ENTEROBACTERIACEAE, AND MICROBIOLOGICAL SAFETY

Abstract

Microbiologically safe food for dogs and cats is of particular importance in the context of the One Health concept. Elevated levels of Enterobacteriaceae and the presence of pathogenic bacteria of the genus *Salmonella* pose a risk to animals as well as to humans who come into contact with the food or with animals consuming contaminated food. Children are considered a particularly vulnerable group, and cases of salmonellosis associated with exposure to contaminated pet products have been reported. Dogs may act as asymptomatic carriers and shed bacteria, while clinical signs such as gastroenteritis, diarrhea and vomiting occur less frequently. Cats may develop more severe clinical signs, and fatal cases associated with the consumption of contaminated raw food have also been reported. As a member of the European Union, Croatia participates in the Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). During the 30-month period from the beginning of 2024 to mid-2026, a total of 49 notifications from 16 countries related to microbiological hazards in the category of pet food were recorded in the RASFF. The highest number of notifications concerned treats (17) and raw food (15). During the same period, a total of 57 samples of dog and cat food were tested in Croatia as part of the Feed Monitoring Plan. Of the 16 raw food samples tested, seven were non-compliant due to the detection of Enterobacteriaceae and/or bacteria of the genus *Salmonella*. In the treats category, 34 samples were analysed, with *Salmonella Infantis* detected in one sample. However, the category of treats comprises a heterogeneous group of products differing in composition, form and manufacturing processes, including dried treats, chew products and other types of treats. Therefore, the low number of non-compliant samples within this category cannot be directly interpreted as an indicator of the microbiological safety of all types of treats. In a preliminary examination of four

types of dried dog treats—bull pizzle, pig ears, bull testicles, and duck necks, with each category represented by one sample—bacteria of the genus *Salmonella* were detected in all four samples tested. Although these results, due to the limited number of samples, do not allow an assessment of the prevalence of contamination on the market, they indicate the need for further investigation and more targeted sampling within the treat category, particularly of dried products for which the processing method may not necessarily ensure sufficient reduction of pathogenic microorganisms.

Key words: *Salmonella*; Enterobacteriaceae; pet food; monitoring; One Health

DIGITALNIM PUTEM DO NOVOG DOMA: ANALIZA POVEZANOSTI FACEBOOK AKTIVNOSTI I UDOMLJAVANJA

Mirna Brkljačić¹, Tihana Brkljačić², Tatjana Zajec³, Ivana Iroš³, Gabrijela Jurkić Krsteska¹

¹Klinika za unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ²Institut društvenih znanosti Ivo Pilar; ³Sklonište za nezbrinute životinje Grada Zagreba Dumovec

Sažetak

Cilj istraživanja bio je analizirati sadržaj Facebook oglasa za udomljavanje pasa i mačaka te ispitati povezanost obilježja oglasa i angažmana korisnika s ishodom i vremenom do udomljavanja. Analizirana su 154 oglasa Skloništa za nezbrinute životinje Grada Zagreba Dumovec, objavljena od siječnja do lipnja 2026. godine, koja su obuhvatila 171 jedinstvenu životinju. Sadržaj oglasa kodiran je prema 16 obilježja životinja, a kao pokazatelji angažmana analizirani su broj reakcija, komentara i dijeljenja. Podaci o udomljavanju dopunjeni su iz evidencije skloništa, a ishod je praćen do 20. rujna 2026. godine. Oglasi su dominantno sadržavali pozitivne opise životinja, osobito opise životinje kao drage, dobre, divne ili simpatične (60,4%) te druželjubive (58,4%). Pojedina obilježja životinja uglavnom nisu bila povezana s angažmanom korisnika nakon korekcije za višestruka testiranja. Također, broj reakcija, komentara i dijeljenja nije bio povezan ni s ishodom udomljavanja ni s vremenom od objave oglasa do udomljenja. Udomljeno je svih deset životinja iz oglasa s najvećim brojem reakcija, ali i 84,6% životinja iz skupine oglasa s najmanjim brojem reakcija, pri čemu je medijan vremena od objave do udomljenja bio vrlo sličan (38 odnosno 42 dana). Rezultati pokazuju da vidljiv angažman korisnika na društvenim mrežama nije pouzdan pokazatelj uspješnosti udomljavanja te da učinkovitost promocije treba procjenjivati ponajprije prema stvarnim ishodima udomljavanja.

Ključne riječi: udomljavanje životinja, skloništa za životinje, društvene mreže, Facebook, angažman korisnika

Uvod

Jedan od najvažnijih zadataka skloništa za napuštene životinje jest pronalaženje odgovarajućih trajnih domova za životinje o kojima skrbe. Uspješnost udomljavanja pritom ne ovisi samo o obilježjima životinja nego i o načinu na koji su one predstavljene potencijalnim udomiteljima. Promocija udomljavanja stoga je važan dio aktivnosti skloništa, a razvoj interneta i društvenih mreža omogućio je da informacije o životinjama

dostupnima za udomljavanje dopru do znatno šire publike. Za razliku od tradicionalnih oblika oglašavanja, društvene mreže omogućuju korisnicima da na objave reagiraju, komentiraju ih i dijele, čime i sami sudjeluju u promociji udomljavanja.

Društvene mreže imaju važnu ulogu i u promociji udomljavanja u hrvatskim skloništima. Brkljačić i sur. (2025.) utvrdili su da hrvatska skloništa dominantno promoviraju životinje putem društvenih mreža, među kojima prednjači Facebook, dok se u manjoj mjeri koriste vlastite internetske stranice, mediji, promotivni materijali i različita događanja.

Istraživanja pokazuju da način predstavljanja životinja može utjecati na interes potencijalnih udomitelja. Nakamura i sur. (2020.) analizirali su fotografije 8332 psa oglašena na australskoj platformi za udomljavanje te utvrdili povezanost pojedinih vizualnih obilježja fotografija s vremenom potrebnim za udomljavanje. Međutim, rezultati istraživanja nisu uvijek jednoznačni. Lamb i sur. (2021.) eksperimentalno su ispitali utjecaj različitih pozadina fotografija pasa na procjenu njihove druželjubivosti i interes potencijalnih udomitelja. Suprotno očekivanjima, vrsta pozadine nije značajno utjecala ni na procjenu druželjubivosti ni na učestalost otvaranja profila životinje. Osim fotografija, važnu ulogu mogu imati i tekstualni opisi. Istraživanja pokazuju da informacije o osobini i ponašanju životinje mogu utjecati na potencijalnog udomitelja. U eksperimentalnom istraživanju utvrđeno je da su pozitivni opisi osobnosti pasa, poput privrženosti, smirenosti i druželjubivosti, povećavali procijenjenu mogućnost udomljavanja, dok su određene oznake pasmine imale suprotan učinak (Archer i sur., 2025.). Takvi nalazi sugeriraju da sadržaj oglasa može biti važan element promocije udomljavanja, neovisno o fizičkim obilježjima životinje.

Ipak, razmjerno je malo istraživanja usmjereno upravo na učinkovitost oglašavanja životinja putem društvenih mreža. Morrison i sur. (2024.) analizirali su 592 Facebook objave iz 13 američkih skloništa te utvrdile da su vrsta oglašavane životinje i okruženje u kojemu je prikazana povezani s brojem reakcija i dijeljenja. Primjerice, oglasi za mačke imali su manje oznaka sviđanja i dijeljenja od oglasa za pse. Autorice pritom naglašavaju da angažman korisnika društvenih mreža ne mora nužno odražavati stvarnu uspješnost udomljavanja. Naime, velik broj reakcija ili dijeljenja pokazuje da je oglas privukao pozornost, ali ne govori izravno o tome je li životinja pronašla novi dom.

Upravo je odnos između sadržaja oglasa, angažmana korisnika i stvarnog ishoda udomljavanja još uvijek nedovoljno istražen. Većina dosadašnjih istraživanja usmjerena je na pojedine elemente predstavljanja životinja ili na pokazatelje interesa potencijalnih udomitelja, dok su istraživanja koja istodobno uključuju sadržaj oglasa, reakcije korisnika i podatke o stvarnom udomljavanju znatno rjeđa.

Opći je cilj ovog istraživanja bio ispitati obilježja Facebook oglasa za udomljavanje pasa i mačaka Skloništa za nezbrinute životinje Grada Zagreba Dumovec te njihovu povezanost s angažmanom korisnika i uspješnošću udomljavanja.

Specifični ciljevi istraživanja bili su:

- analizirati sadržaj Facebook oglasa za udomljavanje i utvrditi koja se obilježja životinja u njima najčešće navode
- ispitati povezanost u oglasu navedenih obilježja životinja s različitim pokazateljima angažmana korisnika Facebooka (reakcijama, komentarima i dijeljenjima)
- ispitati povezanost u oglasu navedenih obilježja životinja i angažmana korisnika s ishodom udomljavanja i vremenom potrebnim za udomljavanje

Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na oglasima za udomljavanje životinja objavljenima na Facebook stranici Skloništa za nezbrinute životinje Grada Zagreba Dumovec. Analizirane su sve objave objavljene u razdoblju od 1. siječnja do 30. lipnja 2026. godine koje su se odnosile na oglašavanje životinja za udomljavanje. Ostale objave na Facebook stranici skloništa nisu uključene u istraživanje. U promatranom razdoblju svi oglasi za udomljavanje odnosili su se na pse i mačke.

Prikupljanje i analiza Facebook objava provedeni su tijekom kolovoza 2026. godine. Za svaki oglas zabilježeni su podaci o oglašavanoj životinji, sadržaju oglasa te pokazateljima angažmana ko-

risnika Facebooka. Podaci o životinjama koji nisu bili dostupni iz samih objava, uključujući datume primitka u sklonište i udomljavanja, dopunjeni su na temelju evidencije skloništa. Ishod udomljavanja praćen je do 20. rujna 2026. godine.

Ukupno je evidentirano 166 oglasa (Tablica 1). Dvanaest oglasa odnosilo se na pomoć pri udomljavanju životinja koje nisu bile smještene u sklonište te su isključeni iz daljnjih analiza.

Konačni uzorak obuhvatio je 154 oglasa, od kojih se 140 odnosilo na pse, a 14 na mačke. Pojedine životinje bile su oglašavane više puta, a neki su oglasi istodobno uključivali više životinja. Stoga je u analizama sadržaja oglasa i angažmana korisnika Facebooka jedinica analize bio pojedinačni oglas, pri čemu su ponovljeni oglasi za istu životinju tretirani kao zasebni oglasi.

Budući da su pojedine životinje bile oglašavane više puta, 154 analizirana oglasa sadržavala su ukupno 214 pojavljivanja životinja, ali 171 jedinstvenu životinju, od kojih su 153 bila psa, a 18 mačke (Tablica 2).

Do završetka praćenja udomljeno je 130 od 171 životinje (76,0 %), dok 41 životinja (24,0 %) nije bila udomljena. Udomljeno je 115 od 153 pasa (75,2 %) i 15 od 18 mačaka (83,3 %).

U analizama povezanosti obilježja oglasa i angažmana s ishodom udomljavanja jedinica analize bila je pojedinačna životinja. U tim su analizama isključeni skupni oglasi, a kod životinja koje su bile oglašavane više puta korišten je njihov posljednji pojedinačni oglas.

Za svaki oglas zabilježeni su broj komentara i dijeljenja te ukupan broj reakcija. Pojedinačno su

Tablica 1. Struktura oglasa za udomljavanje prema vrsti životinje i vrsti oglasa.

	Psi		Mačke		Ukupno
	pojedinačni	grupni	pojedinačni	grupni	
Ukupno oglasa	120	28	13	5	166
Pomoć pri udomljavanju	5	3	1	3	12
Oglasi u analizi	115	25	12	2	154
Ponovljeni oglasi	24 (20,9 %)	7 (28 %)	2 (16,7 %)	0	33

Tablica 2. Broj oglašavanih životinja i ishodi udomljavanja prema vrsti životinje

	Psi	Mačke	Ukupno
Ukupno oglašanih životinja	194	20	214
Od toga ponovljeno oglašavanje iste životinje	41	2	43
Jedinstvene životinje	153	18	171
Udomljene jedinstvene životinje	115 (75,2 %)	15 (83,3 %)	130 (76 %)
Ponovljeni oglasi	24 (20,9 %)	7 (28 %)	2 (16,7 %)

zabilježene i vrste reakcija „like”, „heart”, „care” i „sad”. Svi su pokazatelji angažmana zabilježeni tijekom kolovoza 2026. godine. Kako bi se provjerilo mijenjaju li se vrijednosti nakon proteka vremena od objavljivanja oglasa, tijekom rujna ponovno su pregledani pokazatelji angažmana za 20 oglasa objavljenih tijekom lipnja te je ustanovljeno da nije došlo gotovo ni do kakvih promjena.

Sadržaj oglasa kodiran je prema unaprijed definiranim kategorijama koje su obuhvaćale obilježja životinje i informacije relevantne za njezino udomljavanje. Kodirano je ukupno 16 obilježja: veselje/razigranost; opis životinje kao drage ili dobre, energičnost/aktivnost; mirnoća/smirenost; poslušnost; umiljatost/privrženost; traženje ili uživanje u pažnji; pamet/trening/suradljivost; druželjubivost; pozitivan odnos prema drugim životinjama; plašljivost/plahost; trauma; psihološki oporavak tijekom boravka u skloništu; naznaka da životinji ne odgovara boravak u skloništu; zdravstveni problemi te problemi u ponašanju ili osobinama. Svako je obilježje kodirano binarno, ovisno o tome je li bilo prisutno u sadržaju oglasa.

Kodiranje sadržaja neovisno su provela tri koderi. Slaganje koderi provjereno je na manjem poduzorku oglasa i iznosilo je 90 %. Eventualne nejasnoće i neslaganja u kodiranju zajednički su razmotreni, a konačna je odluka donesena konsenzusom.

Za procjenu uspješnosti udomljavanja bilježeno je je li životinja udomljena do završetka razdoblja praćenja te vrijeme proteklo od primitka životinje u sklonište do udomljenja i od objavljivanja oglasa do udomljenja. Svako evidentirano udomljenje tretirano je kao uspješno udomljenje, uključujući slučajeve u kojima je životinja naknadno vraćena u sklonište. U nekoliko slučajeva u kojima je oglas objavljen nakon evidentiranog datuma udomljenja, takav je slučaj uključen u analizu ishoda udomljavanja, ali je isključen iz analize vremena od objave oglasa do udomljenja.

Statistička obrada

Podaci su analizirani deskriptivnim i inferencijalnim statističkim postupcima. Za opis uzorka i sadržaja oglasa izračunate su frekvencije i postoci, a za kontinuirane varijable aritmetičke sredine, standardne devijacije, medijani, interkvartilni rasponi i rasponi vrijednosti, ovisno o distribuciji podataka.

Budući da su distribucije pokazatelja angažmana na Facebooku bile izrazito asimetrične, u inferencijalnim analizama primijenjeni su neparametrijski statistički postupci. Povezanost broja reakcija, komentara i dijeljenja ispitana je Spearmanovim koeficijentom korelacije. Razlike u broju reakcija, komentara i dijeljenja između oglasa koji su sadržavali pojedino kodirano obilježje životinje i oglasa u kojima ono nije bilo navedeno ispitane su Mann-Whitneyjevim U-testom. Uz rezultate testa izračunata je i veličina učinka kao

rank-biserijalna korelacija. Zbog većeg broja istodobnih usporedbi provedena je korekcija razine značajnosti Benjamini-Hochbergovim postupkom kontrole stope lažnih otkrića (engl. *false discovery rate*, FDR).

Povezanost obilježja oglasa s konačnim ishodom udomljavanja analizirana je na razini pojedinačnog oglasa, uz korištenje posljednjeg pojedinačnog oglasa za životinje koje su bile oglašavane više puta. Analizirana je i povezanost pokazatelja angažmana s ishodom udomljavanja te s vremenom potrebnim za udomljavanje. Zbog asimetričnih distribucija za usporedbe udomljenih i neudomljenih životinja primijenjen je Mann-Whitneyjev U-test, dok je povezanost pokazatelja angažmana s vremenom do udomljavanja ispitana Spearmanovim koeficijentom korelacije.

Kao dodatna deskriptivna analiza uspoređeni su oglasi s ekstremno visokim i niskim brojem reakcija. Uključeno je deset oglasa s najvećim brojem reakcija te 13 oglasa s najmanjim brojem reakcija. U drugoj je skupini uključeno 13 oglasa zbog jednakog broja reakcija na granici odabira, kako se oglasi s jednakim brojem reakcija ne bi proizvoljno razdvajali. Ova je analiza primijenjena isključivo u deskriptivne svrhe.

Statističke analize provedene su u programu IBM SPSS Statistics. Razina statističke značajnosti postavljena je na $p < 0,05$.

Rezultati

Kako bi se utvrdilo koja se obilježja životinja najčešće ističu u oglasima za udomljavanje, najprije je analizirana učestalost pojedinih kategorija sadržaja (Tablica 3).

Analiza sadržaja 154 oglasa pokazala je da su u opisima životinja najčešće isticani pozitivni aspekti njihovih osobina i odnosa prema ljudima. Najčešće su životinje opisivane kao drage, dobre, divne ili simpatične (60,4 %) te druželjubive (58,4 %). Nešto više od trećine oglasa sadržavalo je opis životinje kao nježne, umiljate ili sklone maženju (37,7 %), dok su veselje i razigranost spomenuti u trećini oglasa (33,1 %). Potreba ili želja za ljudskom pažnjom navedena je u 27,9 % oglasa, a energičnost ili aktivnost u 26,0 %. Pamet, mogućnost treninga ili suradljivost spomenuti su u 20,8 % oglasa, a pozitivan odnos prema drugim životinjama u 19,5 %.

Negativna iskustva i potencijalne poteškoće spominjani su znatno rjeđe. Trauma ili teško prethodno iskustvo navedeni su u 14,9 % oglasa, plašljivost ili plahost u 11,7 %, a psihički oporavak životinje tijekom boravka u skloništu također u 11,7 % oglasa. Zdravstveni problemi spomenuti su u 8,4 %, a problemi u osobinama ili ponašanju u 5,8 % oglasa. Tek je u 1,9 % oglasa izričito navedeno da životinji ne odgovara boravak u skloništu.

Rezultati upućuju na izrazito pozitivno usmjeren način predstavljanja životinja u oglasima

Tablica 3. Učestalost obilježja životinja navedenih u oglasima za udomljavanje.

Sadržaj oglasa	n	%
Drag/dobar/divan/simpatičan	93	60,4
Druželjubivost	90	58,4
Maženje/nježnost/umiljatost/privrženost	58	37,7
Veselje/razigranost	51	33,1
Voli pažnju	43	27,9
Energičnost/aktivnost	40	26,0
Pamet/trening/suradljivost	32	20,8
Društvo životinja – pozitivno	30	19,5
Mirnoća/smirenost	26	16,9
Poslušnost	23	14,9
Trauma/teško prethodno iskustvo	23	14,9
Plašljivost/plahost	18	11,7
Oporavljen u skloništu (psih.)	18	11,7
Zdravstveni problemi	13	8,4
Problemi osobina/ponašanja	9	5,8
Ne odgovara mu sklonište	3	1,9

za udomljavanje. Oglasi naglašavaju prije svega osobine koje životinju mogu učiniti privlačnom potencijalnim udomiteljima, osobito njezin pozitivan odnos prema ljudima, dok se zdravstveni problemi, problemi ponašanja i poteškoće povezane s boravkom u skloništu navode znatno rjeđe.

Sljedeći je korak bio opisati razinu i strukturu angažmana korisnika Facebooka na oglasima za udomljavanje (Tablica 4).

Oglasi za udomljavanje izazvali su relativno visok angažman korisnika Facebooka (Tablica 4). Svi analizirani oglas imali su barem jednu reakciju i jedno dijeljenje, a gotovo svi i barem jedan komentar. Medijan ukupnog broja reakcija iznosio

je 41, dijeljenja 18, a komentara 4. Među vrstama reakcija najčešći su bili „like”, „care” i „heart”, dok je reakcija „sad” zabilježena u 30,5 % oglasa.

Distribucije pokazatelja angažmana bile su izrazito asimetrične, uz nekoliko oglasa s vrlo visokim vrijednostima. Najviše reakcija imao je oglas za šest štenaca (1094), zatim oglas za mačica (1000) i jednogodišnjeg psa (773). Visok angažman nije, međutim, bio ograničen samo na vrlo mlade životinje; među zapaženijim oglasima bili su i oni za psa u dobi od 6,5 godina (198) te petogodišnju mačku s ozbiljnim zdravstvenim problemima (175).

Reakcije, dijeljenja i komentari bili su međusobno umjereno pozitivno povezani ($p = 0,482 - 0,548$; svi $p < 0,001$), ali veličina povezanosti pokazuje da se radi o različitim oblicima angažmana te su u daljnjim analizama promatrani zasebno.

Od 16 analiziranih osobina životinja jedino je spominjanje druželjubivosti bilo značajno povezano s ukupnim brojem reakcija nakon korekcije za višestruka testiranja. Oglasi u kojima je životinja opisana kao druželjubiva imali su manje reakcija od ostalih oglasa (medijan 37 prema 53,5; $p_FDR = 0,003$). Nekorigirane razlike utvrđene su i za neke druge pozitivne opise, ali nisu ostale značajne nakon FDR korekcije.

Budući da je distribuciju reakcija obilježavao manji broj oglasa s izrazito visokim vrijednostima, provedena je analiza osjetljivosti. Standardnim kriterijem $Q3 + 1,5 \times IQR$ izdvojeno je 16 oglasa s više od 125,375 reakcija. Nakon njihova isključivanja povezanost druželjubivosti s brojem reakcija oslabila je i više nije bila značajna nakon FDR korekcije. Ni jedna od analiziranih osobina nije bila značajno povezana ni s brojem dijeljenja ni s brojem komentara nakon korekcije za višestruka testiranja.

Rezultati stoga ne pružaju pouzdane dokaze da je navođenje pojedinačnih osobina životinje povezano s većim angažmanom korisnika. Jedini korigirano značajan nalaz u početnoj analizi – manji broj reakcija uz spominjanje druželjubivosti, pokazao se osjetljivim na prisutnost oglasa s ekstremno visokim angažmanom.

Tablica 4. Deskriptivni pokazatelji angažmana korisnika Facebooka na oglasima za udomljavanje.

Pokazatelj	n (%) oglasa s ≥ 1	Min-Max	M $\pm$ SD	C (IQR)
Komentari	153 (99,4 %)	0–195	7,51 $\pm$ 17,52	4 (2–7)
Dijeljenja	154 (100 %)	2–205	30,24 $\pm$ 33,55	18 (12–31,75)
Ukupne reakcije	154 (100 %)	17–1094	74,13 $\pm$ 132,83	41 (31–68,75)
Like	154 (100 %)	6–688	34,88 $\pm$ 72,27	19 (13,25–32)
Heart	148 (96,1 %)	0–246	13,00 $\pm$ 30,45	7 (4–12)
Care	153 (99,4 %)	0–334	24,21 $\pm$ 34,54	15 (11–24,5)
Sad	47 (30,5 %)	0–53	2,06 $\pm$ 6,68	0 (0–1)

Tablica 5. Povezanost angažmana korisnika Facebooka s ishodom i vremenom do udomljavanja.

Angažman	Udomljeni, medijan (IQR)	Neudomljeni, medijan (IQR)	p	Sp. ρ	p
Reakcije	37 (30,25–60,75)	40,5 (34,25–69,75)	.395	.124	.307
Dijeljenja	18,5 (11,25–32,75)	18,5 (12,25–32)	.815	.070	.565
Komentari	3,5 (2–7)	3,5 (2,25–6)	.795	.188	.118

Nadalje, ispitano je odražava li se angažman korisnika Facebooka u stvarnim ishodima udomljavanja i vremenu potrebnom za udomljavanje (Tablica 5).

Povezanost 16 osobina životinja navedenih u oglasima s ishodom udomljavanja analizirana je na razini pojedinačnih životinja, pri čemu je za životinje oglašavane više puta zadržan samo posljednji oglas. Od 108 životinja uključenih u analizu, do završetka praćenja udomljeno je 78 (72,2 %).

Ni jedan od analiziranih angažmana nije bio statistički značajno povezan s ishodom udomljavanja nakon korekcije za višestruka testiranja. Najizraženija razlika utvrđena je za opis životinje kao drage, dobre, divne ili simpatične. Udomljeno je 79,4 % životinja kod kojih je takav opis bio naveden, u usporedbi sa 60,0 % životinja kod kojih nije bio naveden ($OR = 2,57$; $p = 0,044$). Međutim, ta razlika nije ostala statistički značajna nakon Benjamini-Hochbergove FDR korekcije ($p_{FDR} = 0,711$). Za ostale pozitivne osobine, poput društljivosti, razigranosti, privrženosti, poslušnosti, suradljivosti ili pozitivnog odnosa prema drugim životinjama, kao ni za plašljivost, traumu, zdravstvene probleme i probleme ponašanja, nisu utvrđene značajne razlike u udjelu udomljenih životinja.

Među udomljenim životinjama dodatno je ispitana povezanost navedenih osobina s vremenom od objave oglasa do udomljenja. Medijan vremena do udomljenja iznosio je 37 dana ($IQR = 13,25 - 60,75$). Nijedna od 16 analiziranih osobina nije bila statistički značajno povezana s vremenom do udomljenja. Uočene su određene tendencije, primjerice kraće vrijeme do udomljenja kod životinja za koje je naveden pozitivan odnos prema drugim životinjama ($C = 19$ nasuprot 40 dana) te dulje vrijeme kod životinja opisanih kao plašljive ili plahovite ($C = 47$ nasuprot 35 dana), ali te razlike nisu dosegnule statističku značajnost.

Broj reakcija, dijeljenja i komentara na oglasima nije bio značajno povezan s ishodom udomljavanja. Medijan ukupnog broja reakcija iznosio je 37 među oglasima udomljenih i 40,5 među oglasima neudomljenih životinja ($p = 0,395$). Medijan broja dijeljenja bio je jednak u objema skupinama ($C = 18,5$; $p = 0,815$), kao i medijan broja komentara ($C = 3,5$; $p = 0,795$).

Među udomljenim životinjama nije utvrđena ni značajna povezanost intenziteta angažmana korisnika s brojem dana od objave oglasa do udomljenja. Spearmanove korelacije iznosile su p

$= 0,124$ za ukupan broj reakcija ($p = 0,307$), $\rho = 0,070$ za broj dijeljenja ($p = 0,565$) i $\rho = 0,188$ za broj komentara ($p = 0,118$).

Rezultati stoga pokazuju da veći angažman korisnika na Facebooku nije bio povezan ni s većom vjerojatnošću udomljavanja ni s kraćim vremenom do udomljenja. Drugim riječima, količina pažnje koju je oglas privukao na društvenoj mreži nije se pokazala pokazateljem njegova konačnog ishoda udomljavanja.

Kako bi se dodatno ilustrirao odnos između angažmana korisnika Facebooka i ishoda udomljavanja, zasebno su pregledani oglasi s najvećim i najmanjim brojem reakcija. U analizu je uključeno deset oglasa s najvećim brojem reakcija te 13 oglasa s najmanjim brojem reakcija (Tablica 6). U potonjoj skupini uključeno je 13 umjesto deset oglasa zbog jednakog broja reakcija na granici odabira, kako se oglas s istim brojem reakcija ne bi proizvoljno razdvajali.

U skupini deset oglasa s najvećim brojem reakcija sve su oglašene životinje bile udomljene, dok je među 13 oglasa s najmanjim brojem reakcija udomljeno 11 životinja (84,6 %). Skupine su se razlikovale i prema nekim osnovnim obilježjima oglasa i oglašavanih životinja. Među deset oglasa s najvećim brojem reakcija dva su bila skupna, a dva su se odnosila na mačke. Među osam pojedinačnih oglasa bilo je pet mužjaka i tri ženke, dok su oba skupna oglasa uključivala životinje oba spola. Pet od deset oglasa (50,0 %) odnosilo se na štence ili mačiće mlađe od godinu dana, dok je najstarija oglašena životinja imala 6,5 godina. Nasuprot tome, svih 13 oglasa s najmanjim brojem reakcija odnosilo se na pojedinačno oglašene pse, među kojima je bilo 10 mužjaka i 3 ženke. Samo tri od 13 oglasa (23,1 %) odnosila su se na štence mlađe od godinu dana, dok su se tri oglasa (23,1 %) odnosila na pse u dobi od sedam ili više godina. Najstariji pas imao je devet godina. Životinje iz oglasa s najvećim brojem reakcija bile su u prosjeku mlađe ($M = 1,91$ godina) od životinja iz oglasa s najmanjim brojem reakcija ($M = 3,16$ godina). Zanimljiva razlika uočena je i u načinu opisivanja životinja. Druželjubivost je bila navedena u samo 2 od 10 oglasa s najvećim brojem reakcija, u usporedbi s 11 od 13 oglasa s najmanjim brojem reakcija. Slično tome, opis životinje kao drage, dobre, divne ili simpatične pojavio se u 4 od 10 najpopularnijih, ali u 10 od 13 najmanje popularnih oglasa. Iako je riječ o malim skupinama i deskriptivnoj usporedbi, ovaj obrazac dodatno pokazuje da često korišteni pozitivni opisi

Tablica 6. Usporedba oglasa s najvećim i najmanjim brojem reakcija.

Obilježje	10 najpopularnijih	13 najmanje popularnih
Udomljeni	10/10 (100 %)	11/13 (84,6 %)
Skupni oglasi	2/10 (20,0 %)	0/13 (0 %)
Oglasi za mačke	2/10 (20,0 %)	0/13 (0 %)
Oglasi za štence/mačiće < 1 god.	5/10 (50,0 %)	3/13 (23,1 %)
Psi ≥ 7 godina	0/10	3/13 (23,1 %)
Najstarija životinja	6,5 god.	9 god.
Prosječna dob	1,91 god.	3,16 god.
Mužjaci među pojedinačnim oglasima	5/8	10/13
Ženke među pojedinačnim oglasima	3/8	3/13
Ponovljeni oglas	0/10	2/13
Medijan primitak → udomljenje	44 dana	73 dana
Medijan oglas → udomljenje	38 dana	42 dana
Druželjubivost	2/10 (20,0 %)	11/13 (84,6 %)
Drag/dobar/divan/simpatičan	4/10 (40,0 %)	10/13 (76,9 %)

životinje sami po sebi nisu bili povezani s većim angažmanom korisnika.

Medijan vremena od primitka u sklonište do udomljenja iznosio je 44 dana (IQR = 31,5 – 65,75) među oglasima s najvećim brojem reakcija, a 73 dana (IQR = 60 – 138) među oglasima s najmanjim brojem reakcija. Međutim, kada se promatra vrijeme od objave oglasa do udomljenja, razlika između skupina bila je znatno manja: medijan je iznosio 38 dana (IQR = 15 – 41) među oglasima s najvećim i 42 dana (IQR = 21,5 – 59,75) među oglasima s najmanjim brojem reakcija. Drugim riječima, iako su životinje iz najpopularnijih oglasa provele manje vremena čekajući udomljenje od primitka u sklonište, nakon same objave oglasa njihovo vrijeme do udomljenja bilo je vrlo slično vremenu zabilježenom u skupini najmanje popularnih oglasa.

Rasprava

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se životinje u Facebook oglasima za udomljavanje dominantno predstavljaju putem pozitivnih osobina, osobito druželjubivosti, privrženosti i općenito pozitivnog karaktera, dok se zdravstveni problemi i problemi ponašanja navode znatno rjeđe. Takav je način predstavljanja očekivan s obzirom na promotivnu funkciju oglasa i u skladu je s pretpostavkom da način predstavljanja životinje može oblikovati percepciju potencijalnih udomitelja. Slične rezultate dobili su Morrison i sur. (2024.), koji su također utvrdili da u Facebook objavama američkih skloništa prevladavaju pozitivni i neutralni opisi životinja, dok su negativni opisi razmjerno rijetki. Archer i sur. (2025.) po-

kazali su da pozitivni opisi osobnosti mogu povećati procijenjenu mogućnost udomljavanja, dok su Nakamura i sur. (2020.) i Lamb i sur. (2021.) pokazali da na interes potencijalnih udomitelja mogu utjecati i vizualni elementi predstavljanja životinje, premda učinci pojedinih elemenata nisu uvijek jednoznačni.

Rezultati ovog istraživanja, međutim, pokazuju da pozitivno opisivanje životinje samo po sebi nije povezano s većim angažmanom korisnika Facebooka. Posebno je zanimljiv nalaz da su oglasi u kojima je životinja opisana kao druželjubiva imali manje reakcija, komentara i dijeljenja. Nakon korekcije za višestruka testiranja značajnom je ostala samo razlika u broju reakcija, a i ona je nestala nakon isključivanja oglasa s ekstremno velikim brojem reakcija. Stoga ovaj rezultat ne treba tumačiti kao negativan učinak navođenja druželjubivosti, nego prije kao pokazatelj da angažman na društvenim mrežama vjerojatno ovisi o kombinaciji različitih obilježja životinje i samog oglasa. To je vidljivo i u usporedbi ekstremnih skupina: među oglasima s najvećim brojem reakcija bilo je više oglasa za vrlo mlade životinje, skupnih oglasa i oglasa za mačke, dok su oglasi s najmanjim brojem reakcija bili gotovo isključivo oglasi za pojedinačne pse, uključujući veći udio starijih životinja.

Najvažniji nalaz istraživanja jest da intenzitet angažmana korisnika Facebooka nije bio povezan s konačnim ishodom udomljavanja. Broj reakcija, komentara i dijeljenja nije razlikovao udomljene od neudomljenih životinja niti je bio povezan s vremenom od objave oglasa do udomljenja. Ovaj je nalaz posebno važan jer se angažman na društvenim mrežama lako može interpretirati kao pokaza-

telj uspješnosti promocije. Morrison i sur. (2024.) pokazali su da obilježja životinje i objave mogu biti povezana s količinom angažmana na Facebooku, ali su upozorile da takav angažman ne mora nužno odražavati stvarni ishod udomljavanja.

I usporedba oglasa s ekstremno visokim i niskim brojem reakcija dodatno ilustrira takvo razlikovanje. Iako su sve životinje iz deset oglasa s najvećim brojem reakcija bile udomljene, udomljeno je i 11 od 13 životinja (84,6 %) iz oglasa s najmanjim brojem reakcija. Posebno je zanimljiv nalaz da je razlika između ekstremnih skupina bila izražena kada se promatralo vrijeme od primitka životinje u sklonište do udomljenja (medijan 44 prema 73 dana), ali gotovo nije postojala kada se vrijeme računalo od objave oglasa do udomljenja (38 prema 42 dana). To pokazuje da su životinje iz oglasa s najmanjim brojem reakcija dulje boravile u skloništu prije nego što su oglašene, dok je nakon objave oglasa vrijeme potrebno za njihovo udomljavanje bilo vrlo slično onome životinja iz najpopularnijih oglasa. Moguće je da su obilježja povezana sa slabijim angažmanom korisnika, poput starije dobi životinje, istodobno povezana i s općenito težim udomljavanjem. S druge strane, činjenica da su i životinje iz najmanje popularnih oglasa nakon objave udomljavane podjednako brzo otvara mogućnost da oglašavanje na društvenim mrežama može imati vrijednost i kada ne izazove velik broj vidljivih reakcija korisnika. Budući da istraživanje nije uključivalo usporedivu skupinu životinja koje nisu oglašavane, na temelju ovih podataka nije moguće utvrditi je li sama objava oglasa skratila vrijeme do udomljenja.

No skupine su se istodobno razlikovale prema drugim obilježjima: među najpopularnijim oglasima bilo je više oglasa za vrlo mlade životinje, dva skupna oglasa i dva oglasa za mačke, dok su svi najmanje popularni oglasi bili pojedinačni oglasi za pse, a gotovo četvrtina odnosila se na pse u dobi od sedam ili više godina. Zanimljivo je da su se dva oglasa za mačke našla među deset oglasa s najvećim brojem reakcija, iako su mačke činile samo mali dio ukupnog uzorka, dok su Morrison i sur. (2024.) utvrdili manji angažman korisnika uz objave o mačkama nego uz objave o psima.

Ovi nalazi zajedno pokazuju da količina pažnje koju oglas privuče na društvenoj mreži nije jednostavan pokazatelj njegove uspješnosti u poticanju udomljavanja. Oglas može izazvati iznimno velik angažman, ali to ne znači nužno brže udomljavanje, kao što ni relativno malen broj reakcija ne znači da životinja neće biti uspješno i relativno brzo udomljena.

Prednost ovog istraživanja upravo je povezivanje sadržaja stvarnih Facebook oglasa i objektivno zabilježenih pokazatelja angažmana s podacima o stvarnom ishodu udomljavanja iz evidencije skloništa. Dodatna je vrijednost praćenje životinja i nakon završetka razdoblja objavljivanja oglasa te neovisno kodiranje sadržaja oglasa od

strane triju kodera. Istraživanje, međutim, ima i nekoliko ograničenja. Provedeno je na oglasima jednog skloništa i tijekom šestomjesečnog razdoblja, zbog čega rezultate nije moguće bez dodatnih istraživanja generalizirati na druga skloništa. Broj oglasa za mačke bio je malen, a pojedine su životinje oglašavane više puta ili u skupnim oglasima, što je zahtijevalo različite jedinice analize ovisno o istraživačkom pitanju. Osim toga, analiziran je tekstualni sadržaj oglasa, ali nisu sustavno kodirana obilježja fotografija, videozapisa, duljina teksta, vrijeme objave ili način pripovijedanja, koji također mogu utjecati na angažman korisnika.

Rezultati imaju i praktične implikacije za promociju udomljavanja. Broj reakcija, komentara i dijeljenja može biti koristan pokazatelj dosega i interesa publike, ali ne bi ga trebalo koristiti kao zamjenski pokazatelj uspješnosti udomljavanja. Učinkovitost promocije trebalo bi procjenjivati prije svega prema stvarnim ishodima, poput udjela udomljenih životinja i vremena potrebnog za udomljavanje. Buduća istraživanja trebala bi uključiti veći broj skloništa te istodobno analizirati tekstualne, vizualne i druge karakteristike objava kako bi se utvrdilo koji elementi doista pridonose uspješnom udomljavanju. Za skloništa bi posebno korisno bilo identificirati načine predstavljanja kojima se može povećati vidljivost životinja koje se tradicionalno teže udomljavaju, poput starijih životinja ili onih sa zdravstvenim i bihevioralnim poteškoćama.

Zaključak

Rezultati pokazuju da angažman korisnika Facebooka, izražen brojem reakcija, komentara i dijeljenja, nije pouzdan pokazatelj uspješnosti udomljavanja. Iako se oglasi znatno razlikuju prema količini pažnje koju privlače, veći angažman nije bio povezan ni s većom vjerojatnošću ni s kraćim vremenom do udomljenja. Uspješnost promocije životinja na društvenim mrežama stoga je potrebno procjenjivati prema stvarnim ishodima udomljavanja, a ne samo prema vidljivom angažmanu korisnika.

Literatura

- ARCHER, C., N. J. HALL, A. ANDRUKONIS (2025): The role of breed and personality descriptions in influencing perceptions of shelter dog adoptability. *Anim. Welf.* 34, e75. DOI: 10.1017/awf.2025.10043
- BRKLJAČIĆ, M., G. JURKIĆ KRSTESKA, I. KIŠ, A. KLOBUČAR, K. ŠAROTAR, V. BAŠIĆ, S. PAVLOVIĆ, T. BRKLJAČIĆ (2025): Pasja posla: između brojeva i prakse u hrvatskim skloništim. Zbornik radova Veterinarski dani 2025., 7.-9. studenoga, Podstrana, Hrvatska, str. 89-95.
- LAMB, F., A. ANDRUKONIS, A. PROTOPOPOVA (2021): The role of artificial photo backgrounds of shelter dogs on pet profile clicking and the perception of sociability. *PLoS One* 16, e0255551. DOI: 10.1371/journal.pone.0255551

- MORRISON, R., M. MAUST-MOHL, T. FERRY (2024): Exploring factors that influence public engagement of adoptable pets on Facebook. *Animals* 14, 3217. DOI: 10.3390/ani14223217
- NAKAMURA, M., N. DHAND, B. J. WILSON, M. J. STARLING, P. D. MCGREEVY (2020): Picture perfect pups: How do attributes of photographs of dogs in online rescue profiles affect adoption speed? *Animals* 10, 152. DOI: 10.3390/ani10010152

FROM DIGITAL ENGAGEMENT TO A NEW HOME: AN ANALYSIS OF THE RELATIONSHIP BETWEEN FACEBOOK ACTIVITY AND ANIMAL ADOPTION

Abstract

The aim of this study was to analyse the content of Facebook advertisements for the adoption of dogs and cats and to examine the associations between advertisement characteristics, user engagement, and adoption outcomes and time to adoption. A total of 154 advertisements published by the City of Zagreb Animal Shelter Dumovec between January and June 2026 were analysed, covering 171 unique animals. Advertisement content was coded according to 16 animal characteristics, while the numbers of reactions, comments, and shares were analysed as indicators of user engagement. Adoption data were supplemented using shelter records, and outcomes were followed until September 20, 2026. Advertisements predominantly contained positive descriptions of animals, particularly descriptions of animals as sweet, good, wonderful, or cute (60.4%) and sociable (58.4%). Individual animal characteristics were generally not associated with user engagement after correction for multiple testing. Furthermore, the numbers of reactions, comments, and shares were associated neither with adoption outcomes nor with the time from advertisement publication to adoption. All ten animals featured in advertisements with the highest numbers of reactions were adopted, but so were 84.6% of the animals in the group of advertisements with the lowest numbers of reactions, with very similar median times from publication to adoption (38 and 42 days, respectively). The results indicate that visible user engagement on social media is not a reliable indicator of adoption success and that the effectiveness of promotion should be evaluated primarily based on actual adoption outcomes.

Key words: animal adoption; animal shelters; social media; Facebook; user engagement

OD POSLASTICE DO PROBLEMA: ZAJEDNO DO RJEŠENJA

Maja Loborec¹, Ivana Sabolek², Petra Ricijaš³,
Elizabeta Pongrac⁴, Hrvoje Valpotić¹

¹Zavod za prehranu i dijetetiku životinja, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ²Zavod za higijenu, ponašanje i dobrobit životinja, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ³Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ⁴Klinika za unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

Pretilost je jedan od najčešćih nutritivnih poremećaja u pasa i mačaka, koji nastaje zbog kronične pozitivne energijske bilance, odnosno kada je unos energije dugotrajno veći od njezine potrošnje. Riječ je o patološkom stanju koje obilježava prekomjerno nakupljanje masnog tkiva, što narušava zdravlje, smanjuje kvalitetu života i skraćuje životni vijek životinje. Na razvoj pretilosti utječu brojni međusobno povezani čimbenici, uključujući dob, spol, kastraciju, genetsku i pasminsku predispoziciju, razinu tjelesne aktivnosti, prehrambene navike, ponašanje životinje, te postupci i stavovi vlasnika. Pretilost je povezana s brojnim bolestima i poremećajima, među kojima se ističu šećerna bolest, osteoartritis i drugi mišićno-koštani poremećaji, bolesti mokraćnog sustava, dermatološki i metabolički poremećaji, kardiomiopatije te povećan anesteziološki rizik. Upravljanje tjelesnom masom provodi se individualiziranim pristupom koji uključuje kontrolu energijskog unosa, odgovarajuću prehranu, tjelesnu aktivnost i obogaćivanje okoliša. Prehrana treba sadržavati dovoljno bjelancevina i vlakana radi očuvanja mišićne mase i postizanja sitosti. Mršavljenje treba biti postupno, 0,5 – 2 % tjelesne mase tjedno. Program uključuje procjenu BCS-a i mišićne kondicije, izračun dnevnih energijskih potreba, određivanje količine hrane i poslastica te redovito praćenje tjelesne mase. Kontrole se preporučuju svaka 2 – 4 tjedna, a plan se prema rezultatima prilagođava sve do postizanja ciljane tjelesne mase, nakon čega slijedi plan održavanja.

Ključne riječi: pretilost, čimbenici rizika, komorbiditeti, upravljanje tjelesnom masom

FROM A SMALL TREAT TO A BIG PROBLEM: SOLVING OBESITY TOGETHER

Abstract

Obesity is one of the most common nutritional disorders in dogs and cats. It primarily develops as a result of chronic positive energy balance. It is a pathological condition characterized by excessive adipose tissue accumulation that impairs health, reduces quality of life, and shortens the animal's lifespan. The development of obesity is influenced by numerous risk factors, including age, sex, neutering status, genetic and breed predisposition, level of physical activity, dietary habits, animal's behavior, and owners' practices and attitudes. Obesity is associated with numerous comorbidities, including diabetes mellitus, osteoarthritis and other musculoskeletal disorders, urinary tract diseases, dermatological and metabolic disorders, cardiomyopathies, as well as an increased anesthetic risk. Weight management requires an individualized approach that includes control of energy intake, appropriate diet, adequate physical activity, and environmental enrichment. The diet should contain sufficient protein and fiber to preserve muscle mass and secure satiety. Weight loss should be gradual, at a rate of 0.5-2% of body weight per week. The program includes evaluating the body condition score (BCS) and muscle condition, calculation of daily energy requirements, determining precise food and treat allowances, and regular monitoring of body weight. Re-evaluations are recommended every 2-4 weeks, with dietary adjustments according to the animal's progress until the target body weight is achieved, followed by a long-term weight maintenance program.

Key words: obesity; risk factors; comorbidities; weight management

OD SLUČAJA DO DIJAGNOZE – INTERAKTIVNA INTERPRETACIJA ULTRAZVUČNIH NALAZA

Maša Efendić, Ivan Tomić

Sažetak

Ultrazvučna dijagnostika jedna je od najvažnijih neinvazivnih dijagnostičkih metoda u svakodnevnoj veterinarskoj kliničkoj praksi. Omogućuje procjenu morfologije i strukture unutarnjih organa, prepoznavanje patoloških promjena te usmjeravanje daljnjih dijagnostičkih i terapijskih postupaka. Međutim, kvaliteta ultrazvučne dijagnostike ne ovisi isključivo o tehničkim mogućnostima uređaja nego i o poznavanju ultrazvučne fizike, pravilnom odabiru sonde i postavki uređaja, razumijevanju normalne ultrazvučne anatomije te sposobnosti sustavne i kritičke interpretacije dobivenih nalaza. Pritom je važno razlikovati normalne anatomske varijacije od patoloških promjena, prepoznati njihova ključna obilježja i povezati ih s anamnezom, kliničkim pregledom i ostalim dostupnim dijagnostičkim informacijama. Cilj je radionice približiti veterinarima praktične osnove ultrazvučne dijagnostike pasa te razviti strukturiran pristup pregledu i interpretaciji ultrazvučnih nalaza. Poseban naglasak staviti će se na prepoznavanje anatomske strukture, procjenu ehogenosti i ehogene strukture tkiva, prepoznavanje fokalnih i difuznih promjena te procjenu veličine, oblika i granica pojedinih organa. Sudionici će se upoznati s osnovnim načelima sustavnog ultrazvučnog pregleda, načinima opisivanja uočenih promjena i važnosti razlikovanja objektivnog ultrazvučnog opisa od interpretacije nalaza i postavljanja dijagnoze. Cilj nije samo prepoznati da je određena struktura promijenjena, nego razumjeti što uočena promjena može značiti, koje dijagnostičke mogućnosti dolaze u obzir i koje bi informacije mogle biti potrebne za donošenje pouzdanijeg zaključka. Radionica će se temeljiti na prikazu stvarnih kliničkih slučajeva i ultrazvučnih slika, uz aktivno sudjelovanje polaznika u njihovu tumačenje. Svaki će slučaj biti predstavljen kroz relevantne anamnestičke podatke i kliničke nalaze, nakon čega će sudionici zajednički analizirati ultrazvučni prikaz, prepoznavati ključne promjene i oblikovati diferencijalne dijagnoze. U vođenoj raspravi nastojat će se potaknuti logičko povezivanje pojedinih ultrazvučnih obilježja s mogućim patološkim procesima, procjena dijagnostičke važnosti nalaza te razmatranje daljnjih koraka potrebnih za potvrdu dijagnoze. Interaktivni pristup omogućit će razmjenu iskustava, raspravu o različitim mogućnostima interpretacije i prepoznavanje najčešćih izazova s kojima se veterinari susreću pri svakodnevnom radu s ultrazvučnim uređajem. Očekuje se da će sudionici nakon završetka radionice unaprijediti sposobnost sustavnog pristupa ultrazvučnom pregledu, sigurnije

prepoznavati normalne anatomske strukture i najvažnije patološke promjene te preciznije opisivati i interpretirati ultrazvučne nalaze. Dodatni je cilj razviti kritički pristup dijagnostičkom procesu, prepoznati ograničenja ultrazvučne metode i razumjeti kada su potrebne dodatne dijagnostičke pretrage. Konačna je svrha radionice unaprijediti praktične vještine sudionika, potaknuti samostalno kliničko razmišljanje i pokazati kako se sustavnom analizom ultrazvučnog nalaza, u kombinaciji s ostalim kliničkim informacijama, može doći do kvalitetnije diferencijalne dijagnoze i pouzdanijeg dijagnostičkog zaključka.





VETERINARSKI DANI

znanstveno stručni skup s
međunarodnim sudjelovanjem

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria

ORGANIZATORI:
HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT



VETERINARSKO JAVNO ZDRAVSTVO

FENOTIPSKA ANTIMIKROBNA REZISTENCIJA SOJEVA BAKTERIJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* PODRIJETLOM IZ HRANE U REPUBLICI HRVATSKOJ

Lucija Hlebić, Gordan Kompes, Antonela Bagarić,
Dora Tomašković, Lovran Peinović, Andrea
Humski, Maja Dopuđ, Sanja Duvnjak

Hrvatski veterinarski institut, Odjel za veterinarsko javno zdravstvo, Laboratorij za mikrobiologiju hrane; Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Laboratorij za opću bakteriologiju i mikologiju; Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Laboratorij za bakterijske zoonoze i molekularnu dijagnostiku bolesti, Savska cesta 143, 10000 Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) znan je javnozdravstveni problem zbog svoje sposobnosti preživljavanja u različitim uvjetima okoliša i pojave rezistencije na širok spektar antimikrobnih lijekova. Unatoč rastućoj zabrinutosti zbog antimikrobne rezistencije (AMR), podaci o rezistenciji izolata iz hrane još su uvijek ograničeni. U ovom je istraživanju ispitana osjetljivost 80 izolata *L. monocytogenes*, od kojih je 78 izolirano iz različitih vrsta mesa i mesnih proizvoda te jedan iz ribe i jedan iz okoliša, iz objekta za prerađu mesa. Određivanje minimalnih inhibicijskih koncentracija (MIC) provedeno je metodom mikrodilucije u bujonu primjenom GPN3F mikropločica namijenjenih ispitivanju gram-pozitivnih bakterija. Antimikrobna osjetljivost određena je usporedbom dobivenih MIC vrijednosti s EUCAST graničnim vrijednostima za *L. monocytogenes*, odnosno s graničnim vrijednostima za *Staphylococcus aureus* kada specifične granične vrijednosti za *L. monocytogenes* nisu bile dostupne. Rezistencija na najmanje jedan antimikrobni lijek utvrđena je kod 73 od 80 izolata (91,2 %), dok je sedam izolata (8,8 %) bilo osjetljivo na sve ispitivane antibiotike. Najveća je učestalost rezistencije utvrđena na klindamicin (85,0 %), zatim na levofloksacin (56,3 %) i oksacilin (53,8 %). Rezistencija na ceftriakson zabilježena je kod 22,5 % izolata, dok je rezistencija na tetraciklin utvrđena samo kod jednog izolata (1,3 %). Dobiveni rezultati pridonose boljem razumijevanju antimikrobne rezistencije izolata *L. monocytogenes* iz hrane te su važna osnova za daljnje praćenje rezistencije i procjenu rizika za javno zdravlje.

Ključne riječi: *Listeria monocytogenes*, antimikrobnarezistencija, hrana, EUCAST

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* ISOLATED FROM FOOD PRESENT IN CROATIA

Abstract

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) is a significant public health concern due to its ability to survive under diverse environmental conditions and its increasing resistance to a wide range of antimicrobial agents. Despite growing concerns regarding antimicrobial resistance (AMR), data on resistance patterns in food-derived isolates remain limited. This study investigated the antimicrobial susceptibility of 80 *L. monocytogenes* isolates: 78 recovered from various meat and meat products, one from fish, and one environmental isolate obtained from a meat-processing facility. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined using the broth microdilution method with GPN3F microplates designed for Gram-positive bacteria. Antimicrobial susceptibility was interpreted according to EUCAST breakpoints for *L. monocytogenes* and, where specific breakpoints were unavailable, those established for *Staphylococcus aureus*. Resistance to at least one antimicrobial agent was detected in 73 of 80 isolates (91.2%), while seven isolates (8.8%) were susceptible to all tested antibiotics. The highest resistance rates were observed for clindamycin (85.0%), followed by levofloxacin (56.3%) and oxacillin (53.8%). Resistance to ceftriaxone was detected in 22.5% of isolates, whereas resistance to tetracycline was rare, observed in only one isolate (1.3%). These findings enhance our understanding of antimicrobial resistance in foodborne *L. monocytogenes* and provide valuable baseline data for future surveillance and public health risk assessment.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; antimicrobial resistance; food; EUCAST

OD FARME DO STOLA I NATRAG: TKO JE KOME PRENIO SALMONELU?

Sanja Duvnjak¹, Maja Dopud^{1*}, Sandra Šuto²,
Dora Tomašković³, Lovran Peinović³, Lucija
Hlebić³, Irena Reil¹, Maja Zdelar-Tuk¹, Antonela
Bagarić⁴, Gordan Kompeš⁴, Luka Jurinović⁵,
Biljana Ječmenica⁵, Silvija Šoprek⁶, Bojan Papić⁷,
Jana Avberšek⁷, Andrea Humski³, Silvio Špičić¹

¹Laboratorij za bakterijske zoonoze i molekularnu dijagnostiku bakterijskih bolesti, Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Hrvatski veterinarski institut; ²Odjel za infekcije dišnog sustava te infekcije kože i mekog tkiva, Služba za kliničku mikrobiologiju, Nastavni zavod za javno zdravstvo Dr. Andrija Štampar; ³Laboratorij za mikrobiologiju hrane, Odjel za veterinarsko javno zdravstvo, Hrvatski veterinarski institut; ⁴Laboratorij za opću bakteriologiju i mikologiju, Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Hrvatski veterinarski institut; ⁵Laboratorij za bakteriologiju, Centar za peradarstvo, Hrvatski veterinarski institut; ⁶Odjel za parazitologiju, Zavod za kliničku mikrobiologiju, Klinika za infektivne bolesti Dr. Fran Mihaljević; ⁷Institut za mikrobiologiju i parazitologiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Ljubljani

Sažetak

Salmonele su i dalje među najčešćim uzročnicima alimentarnih infekcija u ljudi. Kad se isti serovar pronađe na farmi, u hrani i u bolesnika, klasična serotipizacija ne može reći je li riječ o istoj salmoneli niti odakle je krenula. Zato smo sekvencirali cijeli genom (WGS) 637 izolata prikupljenih u Hrvatskoj od 2020. do 2023. godine: 237 sa životinja, 224 iz hrane i 176 od ljudi. Izolati sa životinja i iz hrane potječu iz dvaju odvojenih programa kontrole, humani iz jedne bolnice, a svi su odabrani nasumično, razmjerno zastupljenosti pojedinih serovara. Serovar smo odredili iz genoma (SISTR), a srodnost metodom cgMLST, koja uspoređuje 3002 gena zajednička svim salmonelama. Isole koji se razlikuju u najviše pet od tih gena smatrali smo blisko srodnima, prema kriteriju koji ECDC i EFSA primjenjuju pri istraživanju epidemija. Najčešći serovari bili su Infantis, Enteritidis, monofazna Typhimurium i Typhimurium. Dvije trećine izolata (68 %) imale su barem jednog bliskog srodnika, a više od polovice skupina srodnih izolata (46 od 85 klastera) povezivalo je dva ili sva tri izvora. Za više od trećine humanih izolata (65 od 176) pronašli smo blisko srodan izolat sa životinja ili iz hrane, a 30 ih je s njim bilo genetski identično. Najviše takvih poveznica imao je serovar Enteritidis (38 od 87 humanih izolata). U 48 od tih 65 slučajeva srodni izolat sa životinja ili iz hrane izdvojen je iste ili ranije godine nego humani, što govori u prilog prijenosu sa životinja i iz hrane na ljude. Serovar Infantis prevladavao je na farmama i u hrani, gdje je više od

polovice izolata iz hrane bilo blisko srodno onima sa životinja, ali je od ljudi izdvojen samo tri puta. Petnaest klastera održalo se tri do četiri godine. Isti sojevi salmonela, dakle, kruže između farmi, hrane i ljudi, a na farmama se zadržavaju godinama. Zajednička baza genoma iz veterinarskog i humanog nadzora omogućuje da se izvor zaraze otkrije na vrijeme, a mjere biosigurnosti usmjere ondje gdje lanac prijenosa počinje.

Ključne riječi: *Salmonella*, cgMLST, sekvenciranje cijeloga genoma, Jedno zdravlje, izvor zaraze

Napomena: Ovo je istraživanje financirano sredstvima Europske unije NextGenerationEU, uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i mladih Republike Hrvatske, putem projekta Hrvatskog veterinarskog instituta NPOO-2: *Epidemiološko tipiziranje bakterija Salmonella spp. u Republici Hrvatskoj kroz pristup Jedno zdravlje – SalmoSAFE*.

FROM FARM TO FORK, AND BACK: WHO PASSED SALMONELLA TO WHOM?

Abstract

Salmonella remains one of the most common causes of foodborne infection in humans. When the same serovar turns up on a farm, in food and in a patient, classical serotyping cannot tell whether it is the same *Salmonella* or where it started. We therefore sequenced the whole genomes (WGS) of 637 isolates collected in Croatia in 2020–2023: 237 from animals, 224 from food and 176 from humans. Animal and food isolates came from two separate control programmes and human isolates from one hospital, and all were selected at random, in proportion to how common each serovar was. Serovars were predicted from the genomes (SISTR), and relatedness was assessed by cgMLST, which compares 3,002 genes shared by all *Salmonella* strains. Isolates differing in no more than five of these genes were considered closely related, the criterion ECDC and EFSA use in outbreak investigations. The most common serovars were Infantis, Enteritidis, monophasic Typhimurium and Typhimurium. Two thirds of the isolates (68%) had at least one close relative, and more than half of the clusters of related isolates (46 of 85) linked two or all three sources. For more than a third of human isolates (65 of 176) we found a closely related isolate from animals or food, and 30 of them were genetically identical to it. Such links were most frequent for serovar Enteritidis (38 of 87 human isolates). In 48 of these 65 cases, the related animal or food isolate was obtained in the same year as the human isolate or earlier, which supports transmission from animals and food to people. Serovar Infantis domi-



nated on farms and in food, where more than half of the food isolates were closely related to animal ones, yet it was isolated from humans only three times. Fifteen clusters persisted for three to four years. The same *Salmonella* strains thus circulate between farms, food and people, and persist on farms for years. A shared genome database linking veterinary and human surveillance makes it possible to identify sources in time and to target biosecurity measures where the transmission chain begins.

Key words: *Salmonella*; cgMLST; whole-genome sequencing; One Health; source attribution

Note: This research was funded by the European Union's NextGenerationEU initiative and supported by the Ministry of Science, Education, and Youth of the Republic of Croatia through the Croatian Veterinary Institute project NPOO-2: "Epidemiological typing of bacteria *Salmonella* spp. in the Republic of Croatia through the 'One Health' approach—SalmoSAFE".

ANTIMIKRONA REZISTENCIJA KOD SALMONELA: IMAMO LI ŠANSE?

Maja Dopud¹, Irena Reil¹, Sandra Šuto², Dora Tomašković³, Lovran Peinović³, Lucija Hlebić³,
Maja Zdelar-Tuk¹, Silvio Špičić¹, Antonela Bagarić⁴, Eva Postružin⁴, Gordan Kompeš⁴, Luka Jurinović⁵, Biljana Ječmenica⁵, Silvija Šoprek⁶,
Bojan Papić⁷, Jana Avberšek⁷, Andrea Humski³,
Sanja Duvnjak¹

¹Laboratorij za bakterijske zoonoze i molekularnu dijagnostiku bakterijskih bolesti, Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Hrvatski veterinarski institut; ²Odjel za infekcije dišnog sustava te infekcije kože i mekoga tkiva, Služba za kliničku mikrobiologiju, Nastavni zavod za javno zdravstvo Dr. Andrija Štampar; ³Laboratorij za mikrobiologiju hrane, Odjel za veterinarsko javno zdravstvo, Hrvatski veterinarski institut; ⁴Laboratorij za opću bakteriologiju i mikologiju, Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Hrvatski veterinarski institut; ⁵Laboratorij za bakteriologiju, Centar za peradarstvo, Hrvatski veterinarski institut; ⁶Odjel za parazitologiju, Zavod za kliničku mikrobiologiju, Klinika za infektivne bolesti Dr. Fran Mihaljević; ⁷Institut za mikrobiologiju i parazitologiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Ljubljani

Sažetak

Salmonella enterica i dalje je jedan od najvažnijih zoonotskih patogena koji se prenose hranom, a sve učestalija pojava antimikrobne rezistencije (AMR) dodatno otežava njezinu kontrolu. U terenskoj veterinarskoj praksi pozitivan nalaz *Salmonella* potvrđuje prisutnost uzročnika, ali pruža ograničene informacije o njegovu profilu antimikrobne rezistencije. Kako bismo istražili AMR među salmonelama koje cirkuliraju u Hrvatskoj, analizirali smo 637 izolata prikupljenih između 2020. i 2023. godine, uključujući 237 izolata podrijetlom od životinja, 224 iz hrane i 176 od ljudi. Sekvenciranje cijeloga genoma (WGS) primijenjeno je za utvrđivanje gena antimikrobne rezistencije i mutacija povezanih s rezistencijom, dok je fenotipska osjetljivost na antimikrobne lijekove određena metodom mikrodilucije u bujonu. Genotipski i fenotipski rezultati potom su uspoređeni kako bi se utvrdio stupanj njihova podudaranja. Prevladavali su serovari *S. Infantis*, *S. Enteritidis*, monofazna *S. Typhimurium* i *S. Typhimurium*. Geni rezistencije pronađeni su u izolatima iz svih triju izvora, ponajprije oni povezani s rezistencijom na aminoglikozide, β -laktame, tetracikline, sulfonamide, kinolone i fluorokinolone. Prema genomu, više od četvrtine izolata (28 %) bilo je multirezistentno, odnosno nosilo je gene rezistencije na tri ili više skupina antimikrobnih lijekova. Najveća zastupljenost predviđene multirezistencije utvrđena je kod monofazne *S. Typhimurium*. Osim toga, u dijelu izolata utvrđena je

prisutnost gena povezanih sa smanjenom osjetljivošću na kvartarne amonijeve spojeve, koji se često upotrebljavaju kao dezinfekcijska sredstva. Za terensku praksu ovi rezultati naglašavaju važnost ispitivanja osjetljivosti na antimikrobne lijekove i njihovu odgovornu primjenu. Prisutnost antimikrobne rezistencije među izolatima *Salmonella* podrijetlom od životinja, iz hrane i od ljudi dodatno upućuje na potrebu za kontinuiranim praćenjem AMR-a. Povezivanje genomskih i fenotipskih podataka u okviru pristupa *Jedno zdravlje* moglo bi omogućiti bolje prepoznavanje rezistentnih linija te pridonijeti ciljanim mjerama prevencije i kontrole.

Ključne riječi: *Salmonella enterica*, antimikrobna rezistencija, sekvenciranje cijeloga genoma, MDR, *Jedno zdravlje*

Napomena: Ovo je istraživanje financirano je sredstvima Europske unije NextGenerationEU, uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i mladih Republike Hrvatske, putem projekta Hrvatskog veterinarskog instituta NPOO-2: *Epidemiološko tipiziranje bakterija Salmonella spp. u Republici Hrvatskoj kroz pristup Jedno zdravlje – SalmoSAFE*.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN SALMONELLA: WHAT ARE OUR CHANCES?

Abstract

Salmonella enterica remains one of the most important foodborne zoonotic pathogens, while the increasing occurrence of antimicrobial resistance (AMR) further complicates its control. In field veterinary practice, a positive *Salmonella* finding confirms the presence of the pathogen but provides limited information on its antimicrobial resistance profile. To investigate AMR among *Salmonella* circulating in Croatia, we analysed 637 isolates collected between 2020 and 2023, including 237 isolates from animals, 224 from food and 176 from humans. Whole-genome sequencing (WGS) was used to identify antimicrobial resistance genes and resistance-associated mutations, while phenotypic antimicrobial susceptibility was determined by broth microdilution. Genotypic and phenotypic results were subsequently compared to observe their level of agreement. The dominant serovars were *S. Infantis*, *S. Enteritidis*, monophasic *S. Typhimurium* and *S. Typhimurium*. Resistance genes were found in isolates from all three sources, mainly against aminoglycosides, β -lactams, tetracyclines, sulfonamides, and quinolones and fluoroquinolones. Based on their genomes, more than a quarter of the isolates (28%) were multidrug-resistant, carrying resistance genes to three or more anti-



microbial classes. Monophasic *S. Typhimurium* showed the highest burden of predicted MDR. In addition, genes associated with reduced susceptibility to quaternary ammonium compounds, commonly used in disinfectants, were identified in a subset of isolates. For field veterinary practice, these findings underline the importance of antimicrobial susceptibility testing and responsible antimicrobial use. The presence of antimicrobial resistance in *Salmonella* from animals, food and humans also highlights the need for continuous AMR surveillance. Combining genomic and phenotypic data within a One Health framework could improve the detection of resistant lineages and support more targeted prevention and control measures.

Key words: *Salmonella enterica*; antimicrobial resistance; whole-genome sequencing; MDR; One Health

Note: This research was funded by the European Union's NextGenerationEU initiative and supported by the Ministry of Science, Education, and Youth of the Republic of Croatia through the Croatian Veterinary Institute project NPOO-2: "Epidemiological typing of bacteria *Salmonella* spp. in the Republic of Croatia through the 'One Health' approach—SalmoSAFE".

PREVALENCE OF *CAMPYLOBACTER* SPP. IN CAECAL SAMPLES FROM CROATIAN POULTRY FLOCKS

Viktor Mašović, Biljana Ječmenica, Fani Krstulović, Luka Jurinović

Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Zagreb, Croatia

Abstract

Campylobacter spp. are bacteria commonly found in the gastrointestinal tract of poultry and pose a potential risk to public health through undercooked meat. *C. jejuni* and *C. coli* are among the most frequently identified *Campylobacter* species in cases of human campylobacteriosis. In 2022 and 2024, a total of 922 broiler and turkey caecal samples were tested for the presence of *Campylobacter* spp., of which 554 samples were positive (60.09 %). 35.03% of all samples were identified as *C. jejuni*, 23.75% as *C. coli*, 1.30% as *C. jejuni* + *C. coli*, and 39.92% of samples were negative. No *C. lari* was detected in these two years. The prevalence of *Campylobacter* spp. remained stable between the two years, but the distribution of specific species shifted, with *C. coli* being the most dominant in 2022 and *C. jejuni* the most dominant species in 2024.

Key words: poultry; campylobacteriosis; monitoring

Introduction

Campylobacter spp. are Gram-negative, spiral-shaped, microaerophilic bacteria and are one of the leading causes of bacterial foodborne and waterborne infections worldwide (Igwaran and Okoh 2019; Zhang et al. 2023). They are found in the gastrointestinal tract of vertebrates such as pigs (Rath et al. 2026), sheep (Nobi et al. 2024), cattle (Wysok et al. 2024), and dogs (Frank et al. 2025). Poultry, particularly chickens and turkeys, represents an important reservoir of *Campylobacter* spp., with *C. jejuni* and *C. coli* as the most common species connected with poultry production and human campylobacteriosis (Al Hakeem et al. 2022; Khairullah et al. 2024). *Campylobacter jejuni* and *C. coli* accounted for 99.40% of reported cases of human campylobacteriosis in which the *Campylobacter* species was identified in the European Union, while *C. fetus*, *C. upsaliensis*, and *C. lari* caused the remaining cases. In 2024, there were more than 160,000 reported cases of human campylobacteriosis, which represents an increase of 11.90% compared with 2023 (Efsa and Ecdc, 2025). Although campylobacteriosis in humans is usually limited to gastroenteritis and diarrhoea (Guo et al. 2023), in rare cases it can

lead to severe clinical disease, including spontaneous abortion and Guillain-Barré syndrome (Smith, 2002). People usually become infected with *Campylobacter* through the consumption of undercooked poultry or red meat, contaminated water, or milk (Newell et al. 2017; Omole et al. 2024). In Croatia, poultry farming represents a major part of livestock production, with an estimated 10.75 million birds in 2024 (Croatian Bureau of Statistics, 2024), with broilers comprising approximately 70% of the total population. The aim of this study was to analyse and discuss the overall prevalence of *Campylobacter* spp. isolated from the caecal contents of broilers and turkeys across different Croatian counties and to analyse possible differences in the prevalence of different *Campylobacter* spp. based on data collected in 2022 and 2024.

Materials and methods

Caecal sampling

Caecal samples from broilers and turkeys were collected after slaughter in every registered slaughterhouse in Croatia in 2022 and 2024. Collection was carried out in accordance with the programme "Regulation on measures to protect animal health from infectious and parasitic diseases and their financing" by the Croatian Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Veterinary and Food Safety Directorate. After the samples were collected, they were sent to the national referent laboratory for *Campylobacter* (Laboratory for bacteriology, Poultry Centre, Croatian Veterinary Institute) starting in July 2022 and again in April 2024.

Primary isolation of *Campylobacter* spp.

The isolation of *Campylobacter* spp. has been carried out following the procedure described in method EN ISO 10272-1:2017 (procedure C). For this procedure, two selective agar plates were used. Initially, samples were inoculated on mC-CDA (Modified charcoal cefoperazone deoxycholate, Oxoid, United Kingdom) and on CFA (Campy-Food agar, bioMérieux, France) and placed in a microaerophilic environment at 41.5 °C for 44 ± 4 hours. After the incubation period, characteristic colonies of *Campylobacter* spp. were reinoculated onto Columbia agar (bioMérieux, France) with 5% defibrinated sheep blood (Biognost, Croatia) and incubated again in the same microaerophilic environment at 41.5 °C for 44 ± 4 hours.

PCR identification of *Campylobacter* spp.

After incubation of characteristic colonies of *Campylobacter* spp. on Columbia blood agar, a final identification of *Campylobacter* spp. was carried out using multiplex PCR. It was set up with four pairs of primers designed by (Ferrari et al. 2023) to identify different *Campylobacter* spp.



Table 1: Distribution of samples by poultry category, sampling year and by corresponding PCR results (n (%))

Poultry category and PCR result	2022	2024	TOTAL
Broilers (n)	170	513	683
<i>C. jejuni</i>	81 (47.65)	215 (41.91)	296 (43.34)
<i>C. coli</i>	46 (27.06)	85 (16.57)	131 (19.18)
<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>	2 (1.18)	6 (1.17)	8 (1.17)
<i>C. lari</i>	0	0	0
Negative	41 (24.11)	207 (40.35)	248 (36.31)
Turkeys (n)	159	80	239
<i>C. jejuni</i>	13 (8.18)	14 (17.50)	27 (11.30)
<i>C. coli</i>	53 (33.33)	35 (43.75)	88 (36.82)
<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>	3	1 (1.25)	4 (1.67)
<i>C. lari</i>	0	0	0
Negative	90 (56.60)	30 (37.50)	120 (50.21)

Specific primers were used to simultaneously identify *Campylobacter* spp., *C. jejuni*, *C. coli*, and *C. lari*. Characteristic *Campylobacter* spp. colonies from the Columbia blood agar were suspended in 100 µL of PCR-grade water, boiled for 20 min at 95°C, and then centrifuged at 14,000 rpm for 60 s to extract DNA. For the visualisation of PCR products, electrophoresis was carried out on a 2% agarose gel.

Statistical analysis

The data were compiled and analysed using jamovi (version 2.7) with addition of Chi² Tools module. Chi-square test (χ^2) was used to compare the structure of the sampled poultry population and the overall prevalence of *Campylobacter* spp. between 2022 and 2024, and the prevalence of *Campylobacter* spp. (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) between 2022 and 2024. To compare the connection between sampling year and overall prevalence of *Campylobacter* spp. with county as stratifying variable the Mantel-Haenszel test was used. Also, to compare the connection between sampling and species distribution (*C. jejuni* vs. *C. coli*) with county as stratifying variable, the Mantel-Haenszel test was also used. The Breslow-Day-Tarone test was used to assess whether the odds ratios differed significantly between counties. A *p*-value < 0.05 was set as statistically significant.

Results

In 2022, 329 caecal samples were tested for the presence of *Campylobacter* spp. Of these, 198 samples were positive (60.18%), while in 2024, 593 caecal samples collected were investigated, of which 356 (60.03%) were positive. In

total, 323 (35.03%) of all investigated samples through 2022 and 2024 was identified as *C. jejuni*. *C. coli* was the second most prevalent with 219 (23.75%) samples. Both *C. jejuni* and *C. coli* was present in 12 (1.30%), while 368 (39.91%) was negative. No *C. lari* was detected. The number of sampled poultry population for each sampling year and its corresponding PCR results are shown in Table 1. Table 2 presents the overall prevalence of *Campylobacter* spp. by county for the 2022 sampling year, while Table 3 presents the data for 2024. First, the chi-square test (χ^2) showed a statistically significant difference ($p < 0.001$) in the composition of the sampled poultry population when comparing 2022 and 2024. The other chi-square test (χ^2) showed no statistically significant difference in overall *Campylobacter* prevalence (including *C. jejuni* + *C. coli*; excluding *C. lari* due to its absence) between 2022 and 2024 ($p = 0.965$). The chi-square (χ^2) test results for species-specific *Campylobacter* prevalence (*C. jejuni* vs. *C. coli*) at the national level across sampling years (2022 vs. 2024) showed a statistically significant difference ($p < 0.001$). For the two Mantel-Haenszel tests, counties that were sampled in only one sampling year were excluded. Thus, Grad Zagreb, Bjelovarsko-bilogorska and Zadarska county, which were sampled only in 2022, and Virovitičko-podravska and Vukovarsko-srijemska county, which were sampled only in 2024, were excluded from this statistical analysis. Coinfections (*C. jejuni* + *C. coli*) due to its low number and *C. lari*, due to its absence, were also excluded. In the end, results from total of 10 counties were included in Mantel-Haenszel tests. The result of the first Mantel-Haenszel test, in which the association between sampling year and overall *Campylobacter* spp. prevalence with

Table 2: Prevalence of *Campylobacter* spp. across counties in 2022 (n (%))

County	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	Negative	Total
Bjelovarsko-bilogorska	5 (50)	3 (30)	0	0	2 (20)	10
Brodsko-posavska	15 (16.48)	38 (41.76)	1 (1.10)	0	37 (40.66)	91
Grad Zagreb	16 (48.48)	7 (21.21)	0	0	10 (30.30)	33
Istarska	5 (22.73)	4 (18.18)	0	0	13 (59.09)	22
Koprivničko-križevačka	1 (25)	0	1 (25)	0	2 (50)	4
Krapinsko-zagorska	8 (42.11)	4 (21.05)	0	0	7 (36.84)	19
Međimurska	17 (33.33)	15 (29.41)	1 (1.96)	0	18 (35.29)	51
Osječko-baranjska	1 (25)	0	0	0	3 (75)	4
Sisačko-moslavačka	0	1 (100)	0	0	0	1
Splitsko-dalmatinska	6 (24)	8 (32)	1 (4)	0	10 (40)	25
Varaždinska	10 (35.71)	4 (14.29)	0	0	14 (50)	28
Zadarska	3 (21.43)	8 (57.14)	1 (7.14)	0	2 (14.29)	14
Zagrebačka	7 (25.93)	7 (25.93)	0	0	13 (48.15)	27
Total	94 (28.57)	99 (30.09)	5 (1.52)	0	131 (39.82)	329

Table 3: Prevalence of *Campylobacter* spp. across counties in 2024 (n (%))

County	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	Negative	Total
Brodsko-posavska	28 (27.72)	35 (34.65)	1 (0.99)	0	37 (36.63)	101
Istarska	21 (58.33)	1 (2.78)	0	0	14 (38.89)	36
Koprivničko-križevačka	6 (31.58)	3 (15.79)	1 (5.26)	0	9 (47.37)	19
Krapinsko-zagorska	13 (32.5)	2 (5)	1 (2.5)	0	24 (60)	40
Međimurska	63 (39.87)	16 (10.13)	1 (0.63)	0	78 (49.37)	158
Osječko-baranjska	15 (34.88)	12 (27.91)	1 (2.33)	0	15 (34.88)	43
Sisačko-moslavačka	2 (66.67)	0	0	0	1 (33.33)	3
Splitsko-dalmatinska	3 (15)	12 (60)	0	0	5 (25)	20
Varaždinska	68 (46.58)	34 (23.29)	2 (1.37)	0	42 (28.77)	146
Virovitičko-podravska	2 (33.33)	1 (16.67)	0	0	3 (50)	6
Vukovarsko-srijemska	2 (66.67)	0	0	0	1 (33.33)	3
Zagrebačka	6 (33.33)	4 (22.22)	0	0	8 (44.44)	18
Total	229 (38.62)	120 (20.23)	7 (1.18)	0	237 (39.97)	593

county as the stratifying variable was analysed, showed no statistically significant association ($p = 0.464$; common OR = 0.893, 95% CI = 0.657–1.21). The Breslow–Day–Tarone test ($p = 0.054$) indicates no statistical evidence of heterogeneity in odds ratios across counties. The second Mantel–Haenszel test showed a statistically significant association between sampling year and species distribution (*C. jejuni* vs. *C. coli*), with county

as the stratifying variable ($p = 0.004$; common OR = 0.538, 95% CI = 0.351–0.827). With 2022 as the reference year and *C. jejuni* as the category of interest, this result shows that the odds of *C. jejuni* relative to *C. coli* were 0.538 times the odds in 2024. In other words, the odds of *C. jejuni* relative to *C. coli* were 46.2% lower in 2022 than in 2024. However, the Breslow–Day–Tarone test ($p = 0.046$) indicates statistical evidence of

heterogeneity in odds ratios across counties, and therefore the association between sampling year and *Campylobacter* species distribution was not consistent across all counties. In two counties, Međimurska (OR = 0.2878, 95% CI = 0.11880–0.697) and Istarska (OR = 0.0595, 95% CI = 0.00541–0.655), the association was statistically significant.

Discussion

The overall prevalence of *Campylobacter* spp. remained almost unchanged between 2022 (60.18%) and 2024 (60.03%) in caecal samples from chickens and turkeys. This result indicates that *Campylobacter* spp. is widespread in sampled poultry flocks in Croatia, and highlighting the potential risk to public health. Compared with previous findings from a 5-year study in Croatia (2017–2021) which included only broiler caecal samples, where overall *Campylobacter* spp. prevalence declined from 66.94% in 2017 to 42.90% in 2021 (Ječmenica et al. 2022), our results present a higher overall prevalence with 60.18% in 2022 and 60.03% in 2024. When comparing our findings with other reports, they are lower than those reported in Romania (85.2%) (Popa et al. 2022), in Israel (89.1%) (Wiseman et al. 2017) and in the United Kingdom (75.8%) (Powell et al. 2012). In contrast, Berrang et al. (2017.) reported a lower prevalence of *Campylobacter* spp. of 55%. Furthermore, the composition of the sampled poultry population changed significantly between 2022 and 2024. Most notably, the number of broilers caecal samples increased from 170 in 2022 to 513 in 2024, while the number of turkeys caecal samples dropped from 159 to 80 (Table 1). Despite this change in the composition of the sampled poultry population, the overall prevalence remained stable, indicating that the change in sampled poultry population did not result in a change in the overall *Campylobacter* spp. prevalence. In contrast to the stable overall prevalence of *Campylobacter* spp., a statistically significant difference was detected in the species-specific distribution (*C. jejuni* vs. *C. coli*) between the two years. The Mantel–Haenszel test confirmed a statistically significant association at national level between sampling year and the distribution of *C. jejuni* vs. *C. coli*, with county as the stratifying variable. The Breslow–Day–Tarone test indicates that odds ratios are not homogeneous across all counties. Statistically significant county-specific connection was observed in Međimurska and in Istarska county. In this two counties, prevalence rate of *C. jejuni* increased from 33.33% in 2022 to 39.87% for 2024 in Međimurska county, while in Istarska county the increase was even bigger from 22.73% in 2022 to 58.33% in 2024. The prevalence rate of *C. coli* dropped from 18.18% to 2.78% in Istarska, and from 29.41% to 10.13% in Međimurska county. The results for the sampled poultry population, overall prevalence and species-specific distribution indicate that, despite

the change in the poultry population and stable overall prevalence, there was a change in species-specific distribution, primarily in the two previously mentioned counties. These results show a change in the relative distribution of *C. jejuni* vs. *C. coli* between the sampling years. Our results are in correlation with results reported by other authors, where similar temporal variation of the relative prevalence of these two *Campylobacter* species has been described (Lawes et al. 2012; Lopez-Chavarrias et al. 2021; Wang et al. 2016). A change in overall prevalence rates reported in previously mentioned studies may be due to seasonal patterns. *Campylobacter* spp. is influenced by seasonal patterns, with the highest prevalence in summer and autumn (Efsa, 2010; Jorgensen et al. 2011). Moreover, data from Ječmenica et al. (2022.) describes a seasonal peak in the detection of *C. coli* in summer, while *C. jejuni* was most often detected in spring and autumn. Also, a report from the United Kingdom (Powell et al. 2012) identifies different risk factors for the occurrence of *Campylobacter* spp., one of which is slaughtering in the summer months. In our research, sampling started in July 2022 and in April 2024, meaning that the sampling periods were not the same, which may have contributed to the higher prevalence of *Campylobacter* observed in 2022 and 2024 compared with previous findings from Ječmenica et al. (2022.). However, this comparison with findings from Ječmenica et al. (2022.) should be interpreted with caution, as it only included broiler caecal samples. Also, the variations in the number of samples taken from each county by year should also be taken into consideration when analysing prevalence at county level by year. In both 2022 and 2024, the highest numbers of caecal samples were collected in three counties (Brodsko-posavska, Međimurska and Varaždinska), reflecting the geographical distribution of sampling in our study in Croatia. In contrast, in some counties there was a small sample size ($N < 5$), which could represent a limiting factor, therefore, interpretation and comparison of all this results for counties between sampling years should be approached with caution. In our study, no *C. lari* was detected. This fact could be related due to fact that *C. lari* is usually found in seabirds such as gulls (Jurinović et al. 2023), shellfish (Endtz et al. 1997), and in environmental samples (Bolton et al. 1985; Fricker and Park 1989). Nevertheless, the prevalence of *Campylobacter* spp. about 60% in two years indicates that *Campylobacter* spp. is widespread in commercial poultry flocks in Croatia.

Conclusion

This report demonstrates that *Campylobacter* spp. has a consistently high prevalence in poultry flocks in Croatia. Our data show a higher prevalence rate compared with previous findings. In terms of county distribution, a statistically significant change in the overall prevalence of

Campylobacter spp. was observed in one county. In addition, the specific distribution of *C. jejuni* and *C. coli* was identified, with *C. jejuni* becoming the most prevalent species in 2024 and being the most prevalent in two counties.

Acknowledgments

The detection of *C. jejuni* and *C. coli* was supported by the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of the Republic of Croatia. Additionally, financial funding for the detection of *C. lari* was funded by European Union NextGenerationEU and supported by the Ministry of Science and Education of the Republic of Croatia through the project No. NPOO 11 of Croatian Veterinary Institute titled „Occurrence and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in marine habitat in Croatia “(Campy-C).

References

- AL HAKEEM, W. G., S. FATHIMA, R. SHANMUGASUNDARAM, R. K. SELVARAJ (2022): *Campylobacter jejuni* in Poultry: Pathogenesis and Control Strategies. *Microorganisms* 10(11):2134.
- BERRANG, M. E., R. J. MEINERSMANN, S. R. LADELY, N. A. COX (2017): *Campylobacter* detection in broiler ceca at processing: A three-year, 211-flock survey. *Journal of Applied Poultry Research* 26, 154–158.
- BOLTON, F. J., A. V. HOLT, D. N. HUTCHINSON (1985): Urease-positive thermophilic campylobacters. *The Lancet*, 325(8439), 1217–1218.
- CROATIAN BUREAU OF STATISTICS (2025): Live-stock and poultry numbers – As of November 1, 2024. First Release, Year: LXII, No: POLJ-2025-3-2, Croatian Bureau of Statistics, Zagreb.
- ENDTZ, H. P., J. S. Vliegenthart, P. VANDAMME, H. W. WEVERINK, N. P. VAN DEN BRAAK, H. A. VERBRUGH, A. VAN BELKUM (1997): Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in The Netherlands. *Int. J. Food Microbiol* 34(1):79–88.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2010): Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. *EFSA Journal* 8(8):1522.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA), EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC) (2025): The European Union One Health 2024 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 23.
- FERRARI, S., Á. ÁSTVALDSSON, T. JERNBERG, K. STINGL, U. MESSELHÄUSER, H. SKARIN (2023): Validation of PCR methods for confirmation and species identification of thermotolerant *Campylobacter* as part of EN ISO 10272 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 388, 110064.
- FRANK, C. A., M. D. GONI, N. F. KAMARUZZAMAN, H. A. AFOLABI, M. S. GADDAFI, A. YAKUBU, S. I. SAEED (2025): Prevalence, Antimicrobial Resistance Profiles, and Risk Factors Analysis of *Campylobacter* spp. from Dogs in Kelantan, Malaysia. *Bacteria* 4(3), 41.
- FRICKER C.R., R.W. PARK (1989): A two-year study of the distribution of ‘thermophilic’ campylobacters in human, environmental and food samples from the Reading area with particular reference to toxin production and heat-stable serotype. *J Appl Bacteriol* 66(6):477–90.
- GUO, Y. T., C. A. HSIUNG, F. T. WU, H. CHI, Y. C. HUANG, C. C. LIU, Y. C. HUANG, H. C. LIN, S. M. SHIH, C. Y. HUANG, L. Y. CHANG, Y. H. HO, C. Y. LU, L. M. HUANG (2023): Clinical manifestations and risk factors of *Campylobacter gastroenteritis* in children in Taiwan. *Biomed. J.* 46(6).
- IGWARAN, A., A. I. OKOH (2019): Human campylobacteriosis: A public health concern of global importance. *Heliyon* 5(11): e02814.
- JEČMENICA, B., B. ŠIMPRAGA, F. KRSTULOVIĆ, T. AMŠEL-ZELENIKA, A. HUMSKI, L. JURINOVIĆ (2022): The prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Croatian broilers in a five-year period (2017 – 2021). XIV. SIMPOZIJ PERADARSKI DANI 2022. s međunarodnim sudjelovanjem. Zagreb: Hrvatski veterinarski institut; Centar za peradarstvo, 2022. 97–101.
- JORGENSEN, F., J. ELLIS-IVERSEN, S. RUSHTON, S. A. BULL, S. A. HARRIS, S. J. BRYAN, A. GONZALEZ, T. J. HUMPHREY (2011): Influence of season and geography on *Campylobacter jejuni* and *C. coli* subtypes in housed broiler flocks reared in Great Britain. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 3741–3748.
- JURINOVIĆ, L., S. DUVNJAK, A. HUMSKI, B. JEČMENICA, L. T. TAYLOR, B. ŠIMPRAGA, F. KRSTULOVIĆ, T. A. ZELENIKA, G. KOMPES (2023): Genetic Diversity and Resistome Analysis of *Campylobacter lari* Isolated from Gulls in Croatia. *Antibiotics* 12 (8).
- KHAIRULLAH, A. R., S. M. YANESTRIA, M. H. EFFENDI, I. B. MOSES, M. K. J. KUSALA, K. A. FAUZIA, S. R. AYUTI, I. FAUZIAH, O. S. M. SILAEN, K. H. P. RIWU, S. ARYALOKA, F. N. A. E. P. DAMEANTI, R. RAISSA, A. HASIB, A. H. FURQONI (2024): *Campylobacteriosis*: A rising threat in foodborne illnesses. *Open Vet. J.* 18(11): 3409–3419.
- LAWES, J. R., A. VIDAL, F. A. CLIFTON-HADLEY, R. SAYERS, J. RODGERS, L. SNOW, S. J. EVANS, L. F. POWELL (2012): Investigation of prevalence and risk factors for *Campylobacter* in broiler flocks at slaughter: Results from a UK survey. *Epidemiol. Infect.* 140, 1725–1737.
- LOPEZ-CHAVARRIAS, V., M. UGARTE-RUIZ, C. BARCENA, A. OLARRA, M. GARCIA, J. L. SAEZ, C. DE FRUTOS, T. SERRANO, I. PEREZ, M. A. MORENO, L. DOMINGUEZ, J. ALVAREZ (2021): Monitoring of Antimicrobial Resistance to Aminoglycosides and Macrolides in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* From Healthy Livestock in Spain (2002–2018). *Front. Microbiol.* 12:689262.
- NEWELL, D. G., L. MUGHINI-GRAS, R. S. KALUPAHANA, J. A. WAGENAAR (2017): *Campylobacter* epidemiology—sources and routes of transmission for human infection. *Campylobacter: Features, Detection, and Prevention of Foodborne Disease*, 85–110.
- NOBI, M. A., A. K. M. Z. HAQUE, M. R. ISLAM, S. S. ISLAM, M. ARIF, M. H. SIKDER, S. M. L. KABIR (2024): Detection of *Campylobacter* spp. in farmed sheep in Mymensingh division of Bangladesh: Prevalence, risk factors, and antimicrobial susceptibility status. *Vet. World.* 17(2):245–254.
- OMOLE, Z., N. DORRELL, A. ELMI, F. NASHER, O. GUNDOGDU, B. W. WREN (2024): Pathogenicity and virulence of *Campylobacter jejuni*: What do we really know? *Virulence* 15 (1): 243606.
- POWELL, L. F., J. R. LAWES, F. A. CLIFTON-HADLEY, J. RODGERS, K. HARRIS, S. J. EVANS (2012): The prevalence of *Campylobacter* spp. in broiler flocks and on



broiler carcasses, and therisks associated with highly contaminated carcasses. *Epidemiol. Infect.* 140, 2233–2246.

- POWELL, L. F., J. R. LAWES, F. A. CLIFTON-HADLEY, J. RODGERS, K. HARRIS, S. J. EVANS (2012): The prevalence of *Campylobacter* spp. in broiler flocks and on broiler carcasses, and the risks associated with highly contaminated carcasses. *Epidemiol. Infect.* 140, 2233–2246.
- RATH, A., S. RAUTENSCHLEIN, J. RZEZNITZECK, M. LALK, K. METHLING, D. KARASOVA, I. RYCHLIK, K. H. WALDMANN, A. VON ALTROCK (2026): Consequences of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Colonisation of Piglets on Gut Microbiota and Microbial Metabolites. *Microorganisms* 14(5), 945.
- SMITH, J. L. (2002): *Campylobacter jejuni* infection during pregnancy: long-term consequences of associated bacteremia, Guillain-Barré syndrome, and reactive arthritis. *Journal of Food Protection* 65 (4), 696-708.
- WANG, Y., Y. DONG, F. DENG, D. LIU, H. YAO, Q. ZHANG, J. SHEN, Z. LIU, Y. GAO, C. WU, Z. SHEN (2016): Species shift and multidrug resistance of *Campylobacter* from chicken and swine, China, 2008-14. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71 (3):666-9.
- WISEMAN, A., E. BERMAN, O. PIRAK (2017): Baseline Survey on the Prevalence of *Campylobacter* in Broiler Intestines and on Broiler Carcasses in Israel. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 72 (3).
- WYSOK, B., M. RUDOWSKA, A. WISZNIEWSKA-ŁASZCZYCH (2024): The Transmission of *Campylobacter* Strains in Dairy Herds in Different Housing Systems. *Pathogens* 13 (4):317.
- ZHANG, Q., A. F. BEYL, Y. YIN (2023): Zoonotic and antibiotic-resistant *Campylobacter*: a view through the One Health lens. *One Health Advances* 1 (4).

PREVALENCIJA BAKTERIJA RODA *CAMPYLOBACTER* U UZORCIMA CEKUMA IZ JATA PERADI U REPUBLICI HRVATSKOJ

Sažetak

Campylobacter spp. su bakterije koje obitavaju u probavnom sustavu peradi i nose mogući rizik za javnozdravstvo putem termički nedovoljno obrađenog mesa. *C. jejuni* i *C. coli* među najčešćim su izoliranim vrstama kampilobaktera u slučajevima humane kampilobakterioze. U 2022. i 2024. godini ukupno su pretražena 922 uzoraka cekuma tovnih pilića i pura na prisutnost *Campylobacter* spp., od kojih je 554 uzoraka bilo pozitivno (60,09 %). U 35,03 % svih uzoraka detektiran je *C. jejuni*, u 23,75 % uzoraka detektiran je *C. coli*, u 1,30 % uzoraka *C. jejuni* + *C. coli*, a 39,92 % uzoraka bilo je negativno. *C. lari* nije pronađen u te dvije godine. Prevalencija *Campylobacter* spp. ostala je stabilna između dvije godine, no dogodio se pomak u prevladavanju vrsta, s *C. coli* kao najčešće pronađenom vrstom u 2022. godini na *C. jejuni* kao najčešću pronađenu vrstu u 2024. godini.

Ključne riječi: peradarstvo, kampilobakterioza, monitoring

SLUŽBENO CERTIFICIRANJE INTRA-EMERGENCY CERTIFIKATA U SLUČAJU POJAVE BOLESTI KATEGORIJE „A“

Manuela Zubčić

Državni inspektorat Republike Hrvatske

Sažetak

Stupanjem na snagu Zakona o zdravlju životinja (NN 152/22, 154/22), uređena su pravila u području zdravlja životinje te o sprečavanju i kontroli bolesti životinja koje su prenosive na životinje ili ljude kako je određeno Uredbom (EU) 2016/429 Europskog parlamenta i Vijeća od 9. ožujka 2016. o prenosivim bolestima te o izmjeni i stavljanju izvan snage određenih akata u području zdravlja životinja. U slučaju izbijanja bolesti s popisa kategorije A koje imaju visoki rizik za zdravlje životinja ili ljudi, države članice moraju osigurati poduzimanje hitnih mjera za suzbijanje bolesti. S toga, nadležno tijelo kao mjeru sprečavanja širenja bolesti uspostavljanje zone ograničenja, u kojima vrijede stroga pravila zabrana premještanja živih životinja, zametnih proizvoda, nusproizvoda životinjskog podrijetla, svježeg mesa i proizvoda od mesa, svježeg mlijeka, jaja, nusproizvoda, gnoja i ostalog, kako bi se bolest što prije iskorijenila. Ograničenja premještanja životinja i proizvoda koji mogu prenositi bolest su ključan faktor u sprečavanju širenja bolesti. Međutim, ograničenje premještanja životinja i proizvoda može imati težak gospodarski utjecaj i može ometati funkcioniranje unutarnjeg tržišta. Delegirana uredba (EU) 2020/687 od 17. prosinca 2019. o dopuni Uredbe (EU) 2016/429 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu pravila za sprečavanje i kontrolu određenih bolesti s popisa, (koja uređuje mjere kontrole za bolesti kategorije A), određuje opće uvjete za odobravanje odstupanja od zabrana u zoni zaštite (članak 28.) ili u zoni nadziranja (članka 43.) vezano za premještanje životinja i proizvoda. Također, u člancima 29 do 53. navedene Uredbe, određeni su posebni uvjeti za premještanje živih životinja na klanicu radi hitnog klanja, posebnih uvjeta za premještanje svježeg mesa i sirovog mlijeka, posebnih uvjeta za premještanje nusproizvoda životinjskog podrijetla, stajskog gnoja, stelje i prerađenih proizvoda. Provedbenom Uredbom Komisije (EU) 2020/2235 od 16. prosinca 2020 o utvrđivanju pravila za primjenu uredbi (EU) 2016/429 i (EU) 2017/625 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu predložaka certifikata o zdravlju životinja, predložaka službenih certifikata i predložaka certifikata o zdravlju životinja/službenih certifikata za ulazak u Uniju i premještanja unutar Unije pošiljaka određenih kategorija životinja i robe i u pogledu službenog certificiranja u vezi s takvim certifikatima te o stavljanju izvan snage Uredbe (EZ) br. 599/2004, provedbenih uredbi

(EU) br. 636/2014 i (EU) 2019/628, Direktive 98/68/EZ i odluka 2000/572/EZ, 2003/779/EZ i 2007/240/EZ, određeni su predlošci certifikata za premještanja unutar Unije robe iz zona ograničenja namijenjene prehrani ljudi. Člankom 7. navedene Uredbe određen je predložak certifikata za premještanje unutar Unije proizvoda životinjskog podrijetla koji se smiju premještati iz zone ograničenja koja podliježe hitnim mjerama ili mjerama kontrole bolesti ili koji potječu od životinja vrsta koje podliježu tim mjerama odgovara predlošku INTRA-EMERGENCY. Stoga, samo poštivanjem i provođenjem svih propisanih mjera vezanih za kontrolu bolesti u zonama ograničenja moguća je provedba funkcioniranja unutarnjeg tržišta, osposobljavanja sirovine i sigurna otprema proizvoda i na tržište EU.

Ključne riječi: Zakon o zdravlju životinja (NN 152/22, 154/22), Uredba (EU) 2016/429 EP i Vijeća o prenosivim bolestima životinja, zone ograničenja, INTRA-EMERGENCY

OFFICIAL CERTIFICATION OF INTRA-EMERGENCY CERTIFICATES IN THE EVENT OF CATEGORY A DISEASES

Abstract

With the entry into force of the Animal Health Act (Official Gazette 152/22, 154/22), rules have been established regarding animal health and the prevention and control of animal diseases transmissible to animals or humans, as set out in Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council of 9 March 2016 on transmissible animal diseases and amending and repealing certain acts in the area of animal health. In the event of an outbreak of a category A disease posing a high risk to animal or human health, Member States must ensure that urgent disease control measures are taken. Consequently, the competent authority establishes restricted zones to prevent the spread of the disease. Within these zones, strict rules apply prohibiting the movement of live animals, germinal products, animal by-products, fresh meat and meat products, fresh milk, eggs, manure, and other items, with the aim of eradicating the disease as quickly as possible. Restrictions on the movement of animals and products capable of transmitting the disease are a key factor in preventing its spread. However, restrictions on the movement of animals and products can have a severe economic impact and may disrupt the functioning of the internal market. Commission Delegated Regulation (EU) 2020/687 of 17 December 2019 supplementing Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council as regards rules for the prevention and control of certain listed diseases



(which governs control measures for category A diseases) sets out general conditions for granting derogations from prohibitions within the protection zone (Article 28) or the surveillance zone (Article 43) regarding the movement of animals and products. Furthermore, Articles 29 to 53 of the said Regulation specify conditions for the movement of live animals to a slaughterhouse for emergency slaughter, as well as conditions for the movement of fresh meat and raw milk, and for the movement of animal by-products, manure, bedding, and processed products. Commission Implementing Regulation (EU) 2020/2235 of 16 December 2020 laying down rules for the application of Regulations (EU) 2016/429 and (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council as regards model animal health certificates, model official certificates and model animal health/official certificates, for the entry into the Union and movements within the Union of shipments of certain categories of animals and goods, and official certification regarding such certificates, and repealing Regulation (EC) No 599/2004, Implementing Regulations (EU) No 636/2014 and (EU) 2019/628, Directive 98/68/EC and Decisions 2000/572/EC, 2003/779/EC and 2007/240/EC, establishes certificate models for the movement within the Union of goods from restricted zones intended for human consumption. Article 7 of that Regulation specifies that the certificate model for the movement within the Union of products of animal origin—which are permitted to be moved from a restricted zone subject to emergency measures or disease control measures, or which originate from animals of species subject to such measures—corresponds to the INTRA-EMERGENCY model. Therefore, the functioning of the internal market, the processing of raw materials, and the safe dispatch of products—including to the EU market—are possible only through compliance with and implementation of all prescribed disease control measures within restricted zones.

Key words: Animal Health Act (Official Gazette 152/22, 154/22), Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council on transmissible animal diseases, restricted zones, INTRA-EMERGENCY

UVJETI KOJIMA MORAJU UDOVOLJITI SUBJEKTI U POSLOVANJU S HRANOM RADI SMANJENJA RIZIKA OD AFRIČKE SVINJSKE KUGE – PRILAGODBA POSLOVANJA SUBJEKATA U POSLOVANJU S HRANOM

Dragutin Premzl

Državni inspektorat, Šubićeva 29, 10000 Zagreb

Sažetak

Afrička svinjska kuga (ASK) i kuga malih preživača visokozarazne su virusne bolesti svinja, divljih svinja te ovaca i koza, koje podliježu obveznom prijavljivanju i uzrokuju znatne ekonomske gubitke u sektoru proizvodnje mesa. Budući da za ove bolesti ne postoji učinkovito liječenje ili cijepljenje, mjere prevencije i kontrole temelje se na strogo provedenim biosigurnosnim postupcima, nadzoru nad prometom životinja te pravilnom postupanju s proizvodima životinjskog podrijetla iz područja zona ograničenja. Širenje ASK-a dodatno je povezano s čimbenicima trgovine, transporta, repopulacije uzgoja svinja te distribucije mesa i mesnih proizvoda u unutarnjem prometu i trgovini s državama članicama EU-a. Cilj je rada prikazati sveobuhvatan pregled uvjeta kojima moraju udovoljiti subjekti u poslovanju s hranom (SPH) radi smanjenja rizika od afričke svinjske kuge i kuge malih preživača, s naglaskom na prilagodbu poslovanja objekata koji posluju s mesom svinja, divljih svinja te ovaca i koza podrijetlom iz zona ograničenja. U radu se detaljno opisuju obveze SPH u pogledu dokumentiranih uputa i postupaka u skladu s člankom 45. i člankom 46. Uredbe (EU) 2023/594, postupak određivanja objekata za smanjenje rizika, infrastrukturni i organizacijski zahtjevi te uvjeti za odvojeni prihvati, klanje, rasijecanje, preradu i skladištenje mesa iz zona ograničenja. Posebna je pažnja posvećena sustavu označavanja hrane životinjskog podrijetla prema Pravilniku o oznakama zdravstvene ispravnosti, identifikacijskim oznakama i posebnim oznakama hrane životinjskog podrijetla (NN 76/2023), kao i postupcima osposobljavanja mesa i ovitaka propisanim Prilogom VII. Delegirane uredbe (EU) 2020/687. Ti postupci, uključujući toplinsku obradu, fermentaciju, dozrijevanje i soljenje, osiguravaju inaktivaciju uzročnika bolesti i omogućuju sigurno stavljanje proizvoda na tržište Republike Hrvatske i Europske unije. U radu se dodatno obrađuju zahtjevi za certificiranje u TRACES NT sustavu, uvjeti za unutarnji promet svinja iz zona ograničenja I, II i III, te postupanje s mesom divljih svinja, uključujući obvezne laboratorijske pretrage, ograničenja u prometu i tijekom kretanja mesa kroz određene objekte za obradu i preradu divljači. Nadalje, prikazani su uvjeti koje moraju ispuniti klaonice ovaca i koza u kontekstu kuge malih preživača,

uključujući odvojeni prihvati i klanje životinja iz zona ograničenja, obveznu sanitaciju prostora, označavanje trupova posebnom oznakom te toplinsku obradu mesa prema Prilogu VII. U radu se daje pregled aktualnih izazova upravljanja rizicima, trendova u kretanju ASK-a na globalnoj razini te zahtjeva koje sustav kontrole bolesti nameće veterinarskoj struci i industriji mesa. Naglasak je na praktičnim, provedivim mjerama koje SPH mora implementirati kako bi se osigurala zdravstvena ispravnost proizvoda životinjskog podrijetla, spriječilo širenje bolesti i omogućila sigurna distribucija mesa u unutarnjem prometu i trgovini s državama članicama EU-a.

Ključne riječi: afrička svinjska kuga, kuga malih preživača, TRACES NT, zone ograničenja, biosigurnost, posebne oznake, Prilog VII.

CONDITIONS THAT MUST BE MET BY FOOD BUSINESS OPERATORS IN ORDER TO REDUCE THE RISK OF AFRICAN SWINE FEVER - ADJUSTMENT OF FBOS IN THE FOOD BUSINESS

Abstract

African swine fever (ASF) and peste des petits ruminants (PPR) are highly contagious viral diseases affecting domestic pigs, wild boars, sheep and goats, both of which are subject to compulsory notification and cause substantial economic losses within the meat production sector. As no effective treatment or vaccination is currently available, prevention and control rely on strictly implemented biosecurity measures, surveillance of animal movements, and appropriate handling of products of animal origin originating from restricted zones. The spread of ASF is further associated with factors related to trade, transport, repopulation of pig farms, and the distribution of pig meat and meat products within the internal market and trade with other EU Member States. The aim of this paper is to provide a comprehensive overview of the conditions that food business operators (FBOs) must meet in order to reduce the risk of ASF and PPR, with particular emphasis on the operational adjustments required in facilities handling meat from domestic pigs, wild boars, sheep and goats originating from restricted zones. The paper describes in detail the obligations of FBOs regarding documented instructions and procedures in accordance with Article 45 and Article 46 of Regulation (EU) 2023/594, the procedure for designating facilities for risk reduction, infrastructural and organisational requirements, and the conditions for the separate reception, slaughter, cutting, processing and storage of meat originating from restricted



zones. Special attention is given to the system of marking food of animal origin as prescribed by the Ordinance on Health Marks, Identification Marks and Special Marks of Food of Animal Origin (Official Gazette No. 76/2023), as well as the processing requirements for meat and casings laid down in Annex VII of Delegated Regulation (EU) 2020/687. These procedures including heat treatment, fermentation, curing and salting ensure the inactivation of disease agents and enable the safe placing on the market of products within the Republic of Croatia and the European Union. The paper further addresses certification requirements within the TRACES NT system, conditions for the internal movement of pigs from restricted zones I, II and III, and the handling of wild boar meat, including mandatory laboratory testing, movement restrictions and the flow of meat through designated game-handling and processing establishments. Additionally, the paper outlines the requirements that sheep and goat slaughterhouses must meet in the context of PPR, including separate reception and slaughter of animals from restricted zones, mandatory sanitation of facilities, marking of carcasses with special health marks, and heat treatment of meat in accordance with Annex VII. The presentation provides an overview of current challenges in risk management, global trends in ASF spread, and the regulatory demands placed on the veterinary profession and the meat industry. Emphasis is placed on practical, implementable measures that FBOs must adopt to ensure the health safety of products of animal origin, prevent disease transmission, and enable the safe distribution of meat within the internal market and trade with EU Member States.

Key words: African swine fever; peste des petits ruminants; TRACES NT; restricted zones; biosecurity; special health marks; Annex VII.

DOBROBIT ŽIVOTINJA - PRIJAVA NESUKLADNOSTI U APLIKACIJU IRASFF

Alen Petričević, Andrea Mihaljević

*Državni inspektorat Republike Hrvatske, Šubićeva 29,
Zagreb*

Sažetak

Uspostavom RASFF sustava i uvođenjem aplikacije iRASFF, Europska unija odlučila je proširiti opseg izvješćivanja o incidentima uključivanjem slučajeva nesukladnosti koji ne predstavljaju rizik za zdravlje ljudi ili životinja te nemaju negativan utjecaj na okoliš. Za prijavu takvih incidenata uspostavljen je AAC sustav koji se sastoji od triju podsustava koji obuhvaćaju prijearne radnje (FF), dobrobit životinja (AW) i kućne ljubimce (PAN). Sustav dobrobit životinja obuhvaća nadzor nad dobrobiti životinja tijekom prijevoza od farme do klaonice.

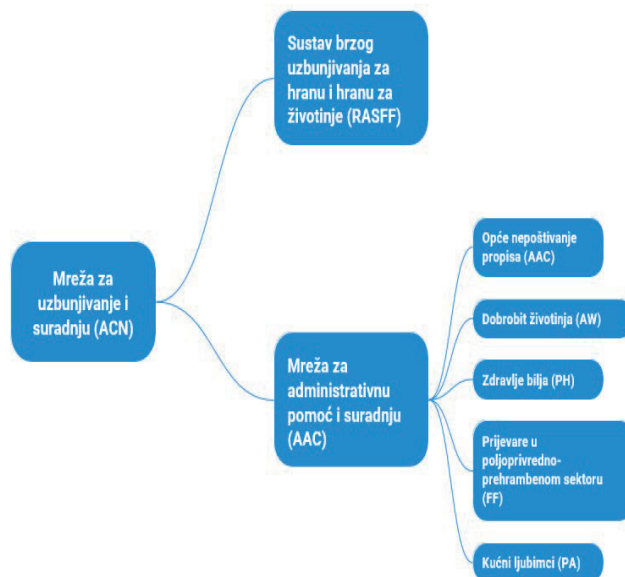
Ključne riječi: iRASFF, RASFF, FF, AW, PAN

Uvod

Sustav brzog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje osmišljen je još 1979. godine s ciljem razmjene informacija o incidentima koji nose rizik za zdravlje ljudi i životinja te negativan utjecaj na okoliš. Razvojem tehnologije i općenito informatizacije društva obavijesti među članicama mreže počele su se dijeliti putem aplikacije iRASFF koja je jedna od aplikacija veće platforme IMSOC. Također, među zemljama članicama pokazala se potreba za razmjenom informacija o incidentima koji nemaju navedeni rizik, što je rezultiralo razvojem nove mreže naziva Administrativna pomoć i suradnja (*Administrative Assistance and Cooperation Network*, AAC). Mreža AAC kao potporom se također počela koristiti aplikacijom iRASFF.

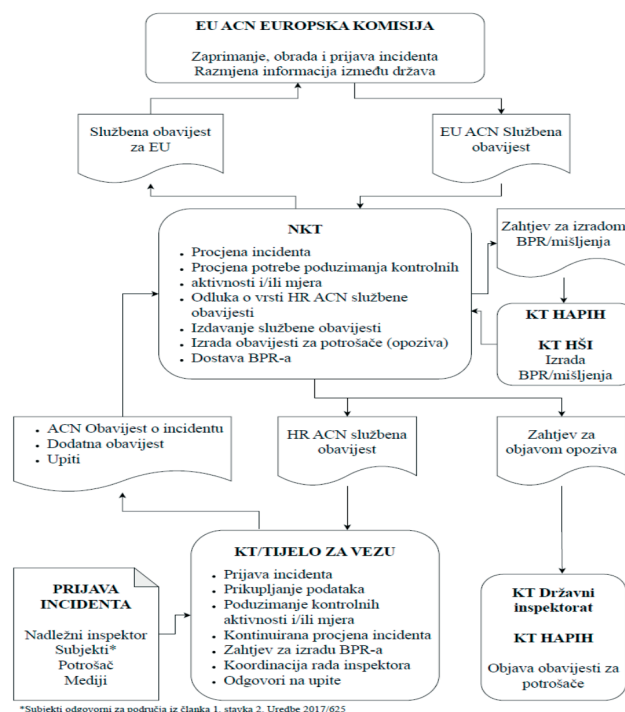
S obzirom na to da se oba sustava služe istom aplikacijom, postalo je prirodno da se objedine u Mrežu za uzbunu i suradnju (*Alert and Cooperation Network*, ACN) koja uvelike olakšava razmjenu administrativnih informacija i suradnju među državama članicama u pogledu službenih kontrola u poljoprivredno-prehrambenom lancu. Kako bi se pojednostavio rad unutar same mreže ACN, u sustavu AAC izdvojene su nove podaplikacije kao što su Sustav za prijearne radnje, Sustav za kućne ljubimce i Sustav za dobrobit životinja.

Sustavom za dobrobit životinja razmjenjuju se informacije vezane za incidente vezane uz dobrobit životinja tijekom utovara, prijevoza i istovara od farme, prijevoznog sredstva i istovara na farmi ili klaonici, kao i radi razmjene iskustva i planova za nepredviđene situacije koje se bave pitanjima dobrobiti životinja. Te obavijesti olak-



Slika 1. Pregled sustava ACN

šavaju suradnju među državama članicama EU-a, osiguravajući dosljednu provedbu zakonodavstva EU-a o dobrobiti životinja i humano postupanje sa životinjama tijekom njihova životnog vijeka. Državni inspektorat Republike Hrvatske jest Nacionalna kontaktna točka za navedene sustave, pri čemu koordinira aktivnosti između KT nadležne inspekcije i delegiranih tijela s Komisijom i obrnuto.



Slika 2. Dijagram tijeka komunikacije unutar sustava ACN

Postupak prijave

Ovlašteni veterinar delegiranog tijela (u iznimnim slučajevima nadležni inspektor) prilikom istovara **životinja** uz provjeru dokumentacije vezane za pošiljku, osim provjere identifikacije životinja, mora provjeriti i dobrobit životinja. Naime, sve nesukladnosti moraju se označiti u Prilogu III INTRA certifikata i o tome obavijestiti nadležnog inspektora koji će o tome obavijestiti kontaktnu točku veterinarske inspekcije. Nadležna inspekcija (mobilna jedinica) može i tijekom samog prijevoza **životinja zaustaviti vozila** i provjeriti dobrobit **životinja** te u slučaju nesukladnosti o tome obavijestiti kontaktnu točku veterinarske inspekcije koja će informaciju proslijediti nacionalnoj kontaktnoj točki. Nacionalna kontaktna točka obavještava se u slučajevima kada pošiljka potječe iz druge zemlje članice ili treće zemlje ili se zatekne u provozu na području Republike Hrvatske kako bi o nesukladnosti bila obaviještena zemlja podrijetla pošiljke životinja ili prijevoznika.

EUROPSKA UNIJA		INTRA	
III.2. Referentni broj u sustavu IMSOC INTRA/EU/2025/00000000			
Controls	III.3. Documentary check	Da ☒ Ne ☐	III.4. Identity check
	EU Standard	zadovoljavajući ☒ Ne zadovoljavajući ☐	zadovoljavajući ☒ Ne zadovoljavajući ☐
	National measures	zadovoljavajući ☒ Ne zadovoljavajući ☐	
	III.5. Documentary check	Da ☒ Ne ☐	III.6. Identity check
	EU Standard	zadovoljavajući ☒ Ne zadovoljavajući ☐	zadovoljavajući ☒ Ne zadovoljavajući ☐
	National measures	zadovoljavajući ☒ Ne zadovoljavajući ☐	
	III.5. Physical check	Da ☒ Ne ☐	
	Total number of animals checked	5900	
	III.6. Laboratory tests	Da ☐ Ne ☒	
	Test	Nasumično ☐ Sumnja ☐	
Rezultati	Na čekanje ☐ zadržavanje ☐ Ne zadovoljavajući ☐		
III.7. Welfare check	Da ☒ Ne ☐		
III.8. Non-compliance with welfare legislation	Fitness for transport ☐ Space allowances ☐	III.9. Non-compliance with health legislation	
III.10. Impact of the transport on animals	Broj mrtvih životinja 1020 units (Accurate) Broj neprimjerenih životinja 77 units (Accurate) Broj ožoga ili pobačaja 0	III.11. Corrective actions	
III.12. Follow-up of quarantine or isolation		III.13. Place of official controls	
		Approved establishment	

Slika 3. Prilog III INTRA certifikata

Prilikom prijave incidenta potrebno je utvrditi sljedivost pošiljke (mjesto otpreme, pošiljatelja, prijevoznika, primatelja pošiljke, mjesto odredišta), identificirati životinje, izuzeti dokumentaciju i dostaviti slike.

Najčešće zaprimljene prijave iz aplikacije iRASFF vezane uz dobrobit **životinja** jesu:

- prijevoz životinja na preniskim ili previsokim temperaturama
- prekoračenje predviđenog vremena putovanja
- dokumentacija puta (dnevnik puta ili dio iz

dnevnika puta, ispis navigacije i sl.) nije vraćena na mjesto otpreme)

- nepoštovanje odmora životinja / vrijeme odmora
- nedostatna količina hrane, vode tijekom putovanja ili odmora
- neprimjerena ili nedostatna oprema za hranjenje/napajanje životinja
- prijevoz bolesnih, gravidnih životinja, životinja različitih kategorija
- uginuća
- nedostaci kod vozila (dimenzije prostora, količina stelje)

Zaključak

Informatički pristup prijave nesukladnosti vezanih uz dobrobit životinja pridonosi brzom protoku informacija među zemljama članicama kao i poduzimanju odgovarajućih mjera prema kršiteljima propisa. Svi postupci u konačnici vode do povećanja razine dobrobiti prema životinjama kao i osvješćivanju prijevoznika i drugih sudionika u prometu životinja.

Literatura

- Uredba Vijeća (EZ) br. 1/2005 o zaštiti životinja tijekom prijevoza i s prijevozom povezanih postupaka donose se pravila o prijevozu životinja u gospodarske svrhe
- Uredba (EU) 2017/625 Europskog parlamenta i Vijeća o službenim kontrolama i drugim službenim aktivnostima kojima se osigurava primjena propisa o hrani i hrani za životinje, pravila o zdravlju i dobrobiti životinja, zdravlju bilja i sredstvima za zaštitu bilja (u daljnjem tekstu Uredba o službenim kontrolama) – Glava IV, Administrativna pomoć i suradnja, čl.102-108
- Provedbena uredba komisije (EU) 2019/1715 o utvrđivanju pravila za funkcioniranje sustava za upravljanje informacijama za službene kontrole i njegovih sistemskih komponenata (Uredba o IM-SOC-u) čl. 15-16.
- Zakon o službenim kontrolama i drugim službenim aktivnostima koje se provode sukladno propisima o hrani, hrani za životinje, o zdravlju i dobrobiti životinja, zdravlju bilja i sredstvima za zaštitu bilja (Narodne novine, broj 2/2021)

ANIMAL WELFARE - REPORT OF NON-COMPLIANCE IN THE IRASFF APPLICATION

Abstract

By the establishment of the RASFF system and the implementation of the iRASFF application, the European Union decided to expand the scope of incident reporting with including the non-compliances which do not pose a risk to human or animal health and have no negative impact on the environment. To report such incidents, the AAC system was established, consisting of three subsystems covering fraudulent practices (FF), animal welfare (AW), and pets (PAN). The animal welfare subsystem covers the monitoring of animal welfare during transport from farm to slaughterhouse.

Key words: iRASFF; RASFF; FF; AW; PAN

UTJECAJ STRESA NA KVALITETU I FUNKCIONALNE POKAZATELJE U MESU GOVEDA

Mladenka Vukšić^{1*}, Janja Preložnjak², Aneta Piplica³, Marta Kiš¹, Tomislav Mikuš¹

¹Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb;

²Apsolventica Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb; ³Zavod za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb; *Dopisna autorica: mvuksic@vef.hr

Sažetak

Kvaliteta i sigurnost goveđeg mesa određene su brojnim čimbenicima tijekom uzgoja i prije klanja, među kojima važnu ulogu ima stresno opterećenje životinja. Dugotrajan stres može dovesti do iscrpljivanja mišićnih zaliha glikogena i nedovoljnog snižavanja pH-vrijednosti nakon klanja, što pogoduje razvoju tvrdog, čvrstog i suhog (TČS) mesa. Takvo meso obilježavaju povišena konačna pH-vrijednost, tamnija boja, smanjena sočnost i veći rizik od mikrobiološkog kvarenja, čime se narušavaju njegova senzorička, tehnološka i tržišna svojstva. Na kvalitetu mesa osim toga utječu hranidba, sustav držanja, toplinski uvjeti, transport i postupanje sa životinjama prije klanja. Osiguravanje odgovarajućih uvjeta uzgoja, hranidbe, transporta i postupanja sa životinjama može pridonijeti očuvanju poželjnih fizikalno-kemijskih i senzoričkih svojstava mesa, ali i njegovoj mikrobiološkoj stabilnosti i održivosti. Iako je razvoj tvrdog, čvrstog i suhog mesa relativno dobro istražen, utjecaj kroničnog stresa na širi raspon nutritivnih, kvalitativnih i sigurnosnih pokazatelja goveđeg mesa još nije u potpunosti razjašnjen. Upravo je bolje razumijevanje tih odnosa jedna od motivacija za projekt *GeSt Beef*, usmjeren na istraživanje utjecaja kroničnog stresa na nutritivnu kvalitetu, fizikalno-kemijska i senzorička svojstva te sigurnost goveđeg mesa.

Ključne riječi: kvaliteta mesa, stres, funkcionalni pokazatelji, govedina

Uvod

Stresnim odgovorom nazivamo fiziološke i ponašajne promjene nastale zbog izloženosti fizičkim i psihološkim podražajima koji narušavaju homeostazu, a takve podražaje nazivamo stresorima (Chu i sur., 2024.). Podjela stresa na eustres i distres, kao pozitivni i negativni stres, ne govori toliko o samom stresoru koliko o reakciji organizma na stres i posljedičnoj prilagodbi na stres koja je pod utjecajem svih okolišnih i genetskih čimbenika kojima je organizam izložen (Biernotova-Vasku i sur., 2020.). Podjela na akutni i kro-

nični stres pak govori više o samim stresorima, odnosno o njihovu trajanju. Najbolje istražene promjene kvalitete mesa uzrokovane stresom vezane su uz metabolizam glikogena u mišićima. U goveda tipično dugotrajan stres povremeno uzrokuje tvrdo, čvrsto, suho (TČS) meso (Ijaz i sur., 2020.), dok u svinja i brojlera, te rjeđe u goveda (uglavnom kod mladih bikova), akutni stres dovodi do blijedog, mekanog i vodnjikavog (BMV) mesa (Monin i Santé-Lhoutellier 2023.).

Tvrdo, čvrsto, suho meso

Do pojave TČS mesa dolazi kada životinja potroši rezerve glikogena i ne uspije ih nadoknaditi prije klanja. Do praznjenja rezervi glikogena obično dolazi tijekom produljenog transporta, miješanja skupina i drugih dugotrajnih stresnih čimbenika koji iscrpe energetske rezervu mišića prije klanja. Dulji transport prije klanja dovodi do statistički značajno većih koncentracija kortizola i laktata u krvi, dok dulje čekanje u stočnom depou povećava koncentraciju kreatin-kinaze (Sullivan i sur., 2023.). Duljina transporta prije klanja povećava krajnji pH mesa, te rezultira tamnijim mesom smanjene sočnosti (Chulayo i Muchenje 2017.). Godišnje doba također djeluje na razinu laktata u krvi, smanjenje mobilnosti i vjerojatnost pojave modrica na trupovima, a za sve su navedene faktore pogodniji ishodi nađeni u zimskom periodu u odnosu na ljetni (Sullivan i sur., 2023.). Dugotrajni stresni čimbenici dovode do oslobađanja kortizola koji djeluje na mobilizaciju energetske rezervi, depleciju zaliha glikogena, posljedičnog nedostatka supstrata za anaerobnu glikolizu te izostanka proizvodnje mliječne kiseline koji dovodi do konačnog pH većeg od 5,8 (Gallo i sur., 2003.). Visoke koncentracije kortizola u plazmi tijekom eksangvinacije povezane su s tamnijom bojom i pH-vrijednostima većima od 5,8, tipičnim odlikama TČS mesa, ali i s učestalošću modrica na trupovima (Carrasco-García i sur., 2020.). Tipična karakteristika za TČS jest tamnija boja. Na boju utječe metmioglobin čija se produkcija povećava pri većem pH, dok NADH ima važnu ulogu u stabilnosti mioglobina, te je njegova produkcija inhibirana pri visokom pH zbog smanjenje produkcije laktata koja dovodi do njegove regeneracije (Bekhit, Faustman 2005.). Jedno od objašnjenja za povećan kapacitet vezanja vode TČS mesa jest da proteini mišića pri pH većem od 5,8 imaju izraženiji neto naboj te zbog odbijanja ostavljaju veći prostor između vlakana u kojima se zadržava voda. Povećano vezanje vode dovodi do mesa čija površina izgleda suho i tamno zbog smanjenje refleksije svjetla, a takvo je meso i senzorički suho, odnosno ima smanjenu sočnost (Ijaz i sur., 2020.). Takvo meso osim toga često pokazuje veću žilavost, odnosno veću vrijednost Warner-Bratzler *shear force* (WBSF), zbog smanjene razgradnje miofibrilarnih proteina u odnosu na normalno meso, koja je posredovana vezanjem malih proteina toplinskog šoka za miofibrilarne proteine pri pH između 5,7

i 6,3 (Pulford i sur., 2009.). Statistički značajne promjene u fosforilaciji proteina nađene su između kontrole i TČS mesa za brzi skeletni miozinski laki lanac 2, troponin T, F-aktin-prekrivajući protein i male proteine toplinskog šoka (Mato i sur., 2019.). pH bliži neutralnom odgovara rastu većine bakterija, pogotovo bakterija koje su sposobne metabolizirati aminokiseline koje sadržavaju sumpor, te proizvesti H_2S . Nedostatak ugljikohidrata u takvom mesu također potiče bakterijsku razgradnju aminokiselina koja dovodi do pojave ranog kvarenja popraćenog neugodnim mirisom na sumporovodik (Monin i Santé-Lhoutellier 2023.). Tamnija boja, smanjena sočnost i mekoća uz povećan rizik od kvarenja svježeg mesa dovode do smanjene prihvatljivosti takvog mesa (Liu i sur., 2022.).

Osim tipičnog TČS mesa, zabilježena je i pojava atipičnog TČS mesa koje unatoč pH vrijednostima manjima od onih tipično nađenih u TČS mesu, $5,70 < pH \leq 6,09$, pokazuje senzoričke odlike TČS mesa kao što su smanjena mekoća i tamnija boja, bez smanjena glikolitičkog potencijala (IJAZ i sur., 2020.).

Utjecaj akutnog stresa na kvalitetu govedeg mesa

Tri najvažnije odlike senzorske prihvatljivosti govedeg mesa jesu mekoća, boja i sočnost. Akutni stres prije klanja uzrokuje smanjenu mekoću govedeg mesa (Warner i sur., 2007.; Zhao i sur., 2012.). Warner i sur. (2007) uočili su povezanost između akutnog stresa, smanjene mekoće mesa i povećanog kapaciteta vezanja vode neovisnog o pH i temperaturnim promjenama mesa, dok statistički značajna razlika nije uočena u $L^*a^*b^*$ parametrima boje između testne i kontrolne skupine (Warner i sur., 2007.). Kod temperamentnijih goveda zabilježene su veće koncentracije kortizola u serumu te veće vrijednosti WBSF-a, odnosno smanjena mekoća mesa, te smanjena mekoća mesa nakon zrenja od 21 dana (King i sur., 2006.). U istraživanju Llonch i sur., (2016.) pokazalo se da goveda mirnijeg temperamenta imaju veći unos hrane, veći rast i odlaganje masti od onih ekstremnog temperamenta. Životinje s manjim stresnim odgovorom, praćenim preko koncentracije kortizola u plazmi bile su povezane s manjom emisijom CH_4 iskazanom kao proporcija unosa suhe tvari (Llonch i sur., 2016.). Janiszewski i sur., (2025.) u svom su istraživanju demonstrirali utjecaj dizajna klaonice na stres pri klanju, koristeći se prototipom novih manipulacijskih puteva za istovar i upućivanje stoke prema boksu za omamljivanje izrađenom od prešanog kartona. U odnosu na postojeći dizajn klaonice, goveda koja su se kretala novim putem imala su manje padova, zastajanja i nije bilo potrebe za upotrebom električnih palica. Također su pokazala niže razine indikatora stresa, kortizola i beta-endorfina, upućujući na poboljšane ishode dobrobiti (Janiszewski i sur., 2025.). Utjecaj akutnog stresa prije klanja na kvalitetu mesa jest

pojava loše istražena u preživača, osobito goveda (Ferguson, Warner 2008.). Muižniece i Kairiša (2020.) kod bikova su pronašli pojavnost $pH \leq 5,3$ kod 1 % bikova i tek 0,4 % junica. Učestalost $pH \geq 5,9$ u ovoj je studiji također bila mnogo veća, 35%, u bikova u odnosu na junice, 13%, što autori pripisuju većem kapacitetu adaptacije na stres junica u odnosu na bikove (Muižniece, Kairiša 2020.). Pojavnost BMV mesa u bikova tek se povremeno spominje kao zanimljivost u literaturi bez većeg broja istraživanja o stvarnoj prevalenciji (Monin i Santé-Lhoutellier 2023.).

Utjecaj kroničnog stresa na govede meso

Kronični toplinski stres u teladi mesne pasmine Hanwoo pokazao je drukčije učinke od kratkotrajnog toplinskog stresa. Telad izložena dugotrajnom toplinskom stresu pokazala je manji unos suhe tvari, manju koncentraciju glukoze te veću koncentraciju kortizola u krvi. Nakon kontinuirane izloženosti toplinskom stresu vrijednosti glukoze i kortizola vratile su se u normalne granice nakon 3 – 16 dana, pokazujući mogućnost adaptacije na kontinuirani toplinski stres (Kim i sur., 2021.).

Utjecaj hranidbe, ali i sustava držanja goveda na kvalitetu mesa i dobrobit životinja je neupitan. Koncentracije kortizola u krvi pokazuju da su goveda hranjena pašom manje izložena stresu od goveda hranjenih žitaricama. Goveda hranjena pašom proizvode meko meso niže ukupne masnoće s većim omjerom omega 3 i omega 6 od goveda hranjenih žitaricama (Carrillo i sur., 2016.; Holló i sur., 2007.). Koncentracije metala u govedem mesu utječu ne samo na nutritivnu vrijednost mesa nego i na njegovu kvalitetu. Sadržaj kalcija može utjecati na kvalitetu mesa zbog svoje nužnosti u funkciji proteolitičkog sustava kalpain i kalpastatina, koji znatno utječu na *post mortem* omekšavanje mišića, dok je za koncentraciju kalija u mišićima nađen obrnuto proporcionalan odnos s mekoćom mesa, odnosno proporcionalan odnos s vrijednostima WBSF (Tizito i sur., 2014.) Mineralni sadržaj govedeg mesa ovisan je o genotipu, ali i o vrsti mišića, te je odličan izvor K, P, Na, Mg i znatan izvor Zn i Fe (Somogyi i sur., 2015.). Različite vrijednosti minerala nađene su uz različite vrijednosti masnih kiselina i aminokiselina u goveda držanih ekstenzivno i hranjenih pašno naspram onih držanih intenzivno i hranjenih koncentriranom krmom (Holló i sur., 2007.).

Rasprava

Kronični stres jedan je od važnih čimbenika koji može negativno djelovati na kvalitetu govedeg mesa, pri čemu intenzitet njegova utjecaja ovisi o jačini i trajanju stresnog opterećenja, kao i o međudjelovanju različitih čimbenika tijekom uzgoja i razdoblja prije klanja. Dugotrajna izloženost stresu, zajedno s transportom, uskraćivanjem hrane, nepovoljnim klimatskim uvjetima i neadekvatnim postupanjem sa životinjama, može



uzrokovati iscrpljivanje zaliha glikogena u mišićima. Kao posljedica toga, nakon klanja može izostati dovoljno izraženo snižavanje pH-vrijednosti mesa, što je jedan od glavnih preduvjeta za razvoj tvrdog, suhog i tamnog mesa (Ijaz i sur., 2020.; Gallo i sur., 2003.; Carrasco-García i sur., 2020.). TČS meso jedna je od najvažnijih posljedica stresnog opterećenja kada je riječ o kakvoći i tržišnoj prihvatljivosti govedine. Takvo meso obilježavaju viša konačna pH-vrijednost, tamnija boja, čvršća tekstura te suh i neeksudativan izgled. U usporedbi s mesom normalne kvalitete, TČS meso može pokazivati nepovoljnija svojstva u pogledu boje, mekoće i senzorske prihvatljivosti. Međutim, intenzitet i smjer tih promjena nisu jednaki u svim mišićima, a povezanost između pH-vrijednosti, sposobnosti zadržavanja vode, mekoće i sočnosti nije uvijek jednoznačna. Posebnu važnost ima promjena boje jer TČS meso nakon kontakta s kisikom slabije poprima poželjnu svjetlocrvenu boju, već zadržava tamnocrvenu do tamnoljubičastu nijansu, što može nepovoljno utjecati na prihvaćanje takvog proizvoda među potrošačima (Ijaz i sur., 2020.; Pulford i sur., 2009.; Liu i sur., 2022.).

Povećana konačna pH-vrijednost TČS mesa također utječe na njegovu tehnološku kvalitetu i mikrobiološku stabilnost. Premda veća sposobnost zadržavanja vode u određenim postupcima prerade može biti tehnološka prednost, istodobno veća pH-vrijednost stvara povoljnije uvjete za brži rast mikroorganizama i razvoj znakova kvarenja. Zbog toga TČS meso može imati kraći rok održivosti i manju ukupnu uporabnu vrijednost u usporedbi s mesom normalne kvalitete. Nadalje, promjene pH-vrijednosti i strukture mišićnog tkiva mogu utjecati na ponašanje mesa tijekom prerade i toplinske obrade. Primjena odgovarajućih metoda pakiranja i postupaka kojima se kontrolira mikrobiološki rast može pridonijeti produljenju održivosti mesa, no takve mjere ne mogu nadomjestiti prevenciju nastanka TČS mesa koja se temelji na pravilnom upravljanju životinjama i odgovarajućim postupcima prije klanja (Monin i Santé-Lhoutellier, 2023.; Ijaz i sur., 2020.).

Smanjivanje kroničnog i pretklaoničkog stresnog opterećenja važna je mjera za očuvanje kvalitete govedeg mesa i smanjenje učestalosti pojave TČS mesa. Primjeri uvjeti držanja i hranidbe, pravodobno otkrivanje i liječenje bolesti, smanjivanje nepotrebnog fizičkog i psihičkog opterećenja, osiguravanje odgovarajućih uvjeta tijekom transporta te mirno i stručno postupanje sa životinjama prije klanja mogu znatno pridonijeti očuvanju poželjnih karakteristika mesa. Takav način postupanja istodobno pridonosi dobrobiti životinja te očuvanju fizikalno-kemijskih, senzorskih, tehnoloških i tržišnih svojstava govedeg mesa, a time se mogu smanjiti i gospodarski gubici koji nastaju zbog pojave mesa nezadovoljavajuće kakvoće (Sullivan i sur., 2023.; Gallo i sur., 2003.; Janiszewski i sur., 2025.).

Zaključak

Unatoč relativno dobro istraženom utjecaju stresa na razvoj TČS mesa, utjecaj akutnog stresa na razvoj BMV govedeg mesa malo je istražen i zahtijeva daljnja istraživanja prevalencije i utvrđivanje je li ona uistinu iznimno niska ili tek loše dokumentirana. Utjecaj kroničnog stresa na kvalitetu mesa teže je dokaziv i sporadično dokumentiran za neke vrste stresa, kao što je toplinski stres.

Upravo su ovi nedostaci u istraženosti utjecaja kroničnog stresa na kvalitetu govedeg mesa osnovna motivacija za projekt *GeSt Beef*, koji će svojim rezultatima pridonijeti dubljim spoznajama i novim podacima o utjecaju kroničnog stresa na široku lepezu nutritivnih, kvalitativnih i sigurnosnih pokazatelja govedeg mesa.

Napomena

Ovaj rad je izvadak iz diplomskog rada Preloznjak J. (2026): Utjecaj kroničnog stresa na kvalitetu mesa goveda, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom *Genetski čimbenici i uzgojni stres kao determinante kvalitete i funkcionalnih pokazatelja mesa junadi* – GeSt Beef [HRZZ- UIP-2025-02-8811].

Literatura

- BEKHIT, A. E. D., C. FAUSTMAN (2005.): Metmyoglobin reducing activity. *Meat Sci.* 71, 407–439. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.04.032.
- BIENERTOVA-VASKU, J., P. LENART, M. SCHERINGER (2020.): Eustress and Distress: Neither Good Nor Bad, but Rather the Same? *BioEssays* 42, 1900238. DOI: 10.1002/BIES.201900238.
- CARRASCO-GARCÍA, A. A., V. T. PARDÍO-SEDAS, G. G. LEÓN-BANDA, C. AHUJA-AGUIRRE, P. PAREDES-RAMOS, B. C. HERNÁNDEZ-CRUZ, V. V. MURILLO (2020.): Effect of stress during slaughter on carcass characteristics and meat quality in tropical beef cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 33, 1656. DOI: 10.5713/AJAS.19.0804.
- CARRILLO, J. A., Y. HE, Y. LI, J. LIU, R. A. ERDMAN, T. S. SONSTEGARD, J. SONG (2016.): Integrated metabolomic and transcriptome analyses reveal finishing forage affects metabolic pathways related to beef quality and animal welfare. *Sci. Rep.* 6, 25948. DOI: 10.1038/srep25948.
- CHU, B., K. MARWAHA, T. SANVICTORES, A. O. AWOSIKA, D. AYERS (2024.): Physiology, Stress Reaction. *StatPearls*.
- CHULAYO, A. Y., V. MUCHENJE (2017.): Activities of some stress enzymes as indicators of slaughter cattle welfare and their relationship with physico-chemical characteristics of beef. *animal* 11, 1645–1652. DOI: 10.1017/S1751731117000222.
- FERGUSON, D. M., R. D. WARNER (2008.): Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? *Meat Sci.* 80, 12–19. DOI: 10.1016/J.MEATSCI.2008.05.004.
- GALLO, C., G. LIZONDO, T. G. KNOWLES (2003.): Effects of journey and lairage time on steers trans-

- ported to slaughter in Chile. *Veterinary Record* 152, 361–364. DOI: 10.1136/VR.152.12.361.
- HOLLÓ, G., K. NUERNBERG, I. HOLLÓ, J. CSAPÓ, J. SEREGI, I. REPA, K. ENDER (2007.): Effect of feeding on the composition of longissimus muscle of Hungarian Grey and Holstein Friesian bulls. – III. Amino acid composition and mineral content. *Arch. Anim. Breed.* 50, 575–586. DOI: 10.5194/AAB-50-575-2007.
 - IJAZ, M., X. LI, D. ZHANG, Z. HUSSAIN, C. REN, Y. BAI, X. ZHENG (2020.): Association between meat color of DFD beef and other quality attributes. *Meat Sci.* 161, 107954. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.107954.
 - JANISZEWSKI, P., M. MISURACA, E. COSTANZI, B. C. GOGA (2025.): Ensuring ethical production of beef: A comprehensive risk assessment of animal welfare during transportation and slaughter processes. *EFSA Journal* 23, DOI: 10.2903/j.efsa.2025.e231116.
 - KIM, W. S., D. Q. PENG, Y. H. JO, J. G. NEJAD, H. G. LEE (2021.): Responses of beef calves to long-term heat stress exposure by evaluating growth performance, physiological, blood and behavioral parameters. *J. Therm. Biol.* 100, 103033. DOI: 10.1016/J.JTHERBIO.2021.103033.
 - KING, D. A., C. E. SCHUEHLE PFEIFFER, R. D. RANDEL, T. H. WELSH, R. A. OLIPHINT, B. E. BAIRD, K. O. CURLEY, R. C. VANN, D. S. HALE, J. W. SAVELL (2006.): Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. *Meat Sci.* 74, 546–556. DOI: 10.1016/J.MEATSCI.2006.05.004.
 - LIU, J., M.-P. ELLIES-OURY, T. STOYANCHEV, J.-F. HOCQUETTE (2022.): Consumer Perception of Beef Quality and How to Control, Improve and Predict It? Focus on Eating Quality. *Foods* 11, 1732. DOI: 10.3390/foods11121732.
 - LLONCH, P., M. SOMARRIBA, C.-A. DUTHIE, M. J. HASKELL, J. A. ROOKE, S. TROY, R. ROEHE, S. P. TURNER (2016.): Association of Temperament and Acute Stress Responsiveness with Productivity, Feed Efficiency, and Methane Emissions in Beef Cattle: An Observational Study. *Front. Vet. Sci.* 3, 198067. DOI: 10.3389/fvets.2016.00043.
 - MATO, A., R. RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, M. LÓPEZ-PE-DROUSO, S. BRAVO, D. FRANCO, C. ZAPATA (2019.): The first evidence of global meat phosphoproteome changes in response to pre-slaughter stress. *BMC Genomics* 20, 590. DOI: 10.1186/S12864-019-5943-3.
 - MONIN, G., V. SANTÉ-LHOUELIER (2023.): Color and texture deviations. *Encyclopedia of Meat Sciences*, Third Edition: Three Volume Set 1–3, Vol3:429–Vol3:437. DOI: 10.1016/B978-0-323-85125-1.00190-3.
 - MUIŽNIECE, I., D. KAIRIŠA (2020.): EFFECT OF SEX AND AGE ON BEEF CATTLE MEAT pH. *Agricultural Science and Practice* 7, 55–60.
 - PULFORD, D. J., P. DOBBIE, S. FRAGA VAZQUEZ, E. FRASER-SMITH, D. A. FROST, C. A. MORRIS (2009.): Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. *Meat Sci.* 83, 1–9. DOI: 10.1016/j.meatsci.2008.11.008.
 - SOMOGYI, T., I. HOLLÓ, J. CSAPÓ, I. ANTON, G. HOLLÓ (2015.): Mineral content of three several muscles from six cattle genotypes. *Acta Aliment.* 44, 51–59. DOI: 10.1556/AAlim.44.2015.1.4.
 - SULLIVAN, P. A., M. DAVIS, M. NAIR, A. HESS, D. MOONEY, L. N. EDWARDS-CALLAWAY (2023.): PSX-24 Pre-Slaughter Factors Affecting Mobility, Blood Parameters, Bruising, and Muscle Ph of Finished Beef Cattle in the United States. *J. Anim. Sci.* 101, 499–500. DOI: 10.1093/jas/skad281.589.
 - TIZIOTO, P. C., C. F. GROMBONI, A. R. DE ARAUJO NOGUEIRA, M. M. DE SOUZA, M. DE ALVARENGA MUDADU, P. THOLON, A. Ô. do N. ROSA, R. R. TULLIO, S. R. MEDEIROS, R. T. NASSU, L. C. DE ALMEIDA REGITANO (2014.): Calcium and potassium content in beef: Influences on tenderness and associations with molecular markers in Nellore cattle. *Meat Sci.* 96, 436–440. DOI: 10.1016/J.MEATSCI.2013.08.001.
 - WARNER, R. D., D. M. FERGUSON, J. J. COTTRELL, B. W. KNEE (2007.): Acute stress induced by the pre-slaughter use of electric prodders causes tougher beef meat. *Aust. J. Exp. Agric.* 47, 782–788. DOI: 10.1071/EA05155.
 - ZHAO, C., F. TIAN, Y. YU, J. LUO, A. MITRA, F. ZHAN, Y. HOU, G. LIU, L. ZAN, M. S. UPDIKE, J. SONG (2012.): Functional Genomic Analysis of Variation on Beef Tenderness Induced by Acute Stress in Angus Cattle. *Int. J. Genomics* 2012, 756284. DOI: 10.1155/2012/756284.

THE INFLUENCE OF STRESS ON QUALITY AND FUNCTIONAL INDICATORS IN BEEF

Abstract

The quality and safety of beef are determined by numerous factors during animal rearing and the pre-slaughter period, among which animal stress plays an important role. Prolonged stress can lead to depletion of muscle glycogen reserves and insufficient decline in pH after slaughter, thereby promoting the development of dark, firm, and dry (DFD) meat. Such meat is characterized by a higher ultimate pH, darker color, reduced tenderness and juiciness, and an increased risk of microbial spoilage, thereby compromising its sensory, technological, and market properties. Meat quality is additionally influenced by feeding, housing system, thermal conditions, transportation, and handling of animals before slaughter. Providing appropriate rearing, feeding, transportation, and animal handling conditions can contribute to maintaining desirable physicochemical and sensory properties of meat, as well as its microbiological stability and shelf life. Although the development of DFD meat has been relatively well studied, the effects of chronic stress on a broader range of nutritional, quality, and safety indicators of beef have not yet been fully elucidated. A better understanding of these relationships is one of the motivations for the GeSt Beef project, which focuses on investigating the effects of chronic stress on the nutritional quality, physicochemical and sensory properties, and safety of beef.

Key words: meat quality; stress; functional indicators; beef

SKRIVENA RAZNOLIKOST PIROPLAZMI U HRVATSKOJ – NOVA OTKRIĆA I NJIHOVA VAŽNOST ZA VETERINARSKU MEDICINU I JAVNO ZDRAVSTVO

Relja Beck^{1*}, Ema Gagović¹, Daria Jurković Žilić¹

¹Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb

Sažetak

Piroplazme rodova *Babesia* i *Theileria* krpeljima su prenosivi protozojski paraziti koji mogu uzrokovati bolesti domaćih i divljih životinja, dok pojedine vrste imaju i zoonotski potencijal. Iako su u Hrvatskoj tradicionalno istraživane prije svega klinički važne vrste, primjena molekularnih metoda posljednjih je godina otkrila znatno veću raznolikost piroplazmi. Molekularnim pretraživanjem krpelja prikupljenih s domaćih životinja potvrđena je prisutnost vrsta *Theileria equi*, *T. orientalis*, *T. ovis*, *Babesia caballi*, *B. ovis* i *B. occultans* te piroplazme označene kao *Babesia* sp. „tavsan“. Uz ranije potvrđene vrste *B. divergens* i *T. orientalis*, prvi molekularni dokaz vrste *B. occultans* dodatno proširuje popis piroplazmi goveda u Hrvatskoj. Iako se *B. occultans* smatra slabo patogenom, sporadično je povezana s kliničkom babezozom praćenom vrućicom, anemijom i hematološkim poremećajima. Njezin nalaz u krpeljima *Hyalomma marginatum* prikupljenima s goveda i konja opravdava daljnje istraživanje rasprostranjenosti, prijenosa i mogućeg utjecaja na zdravlje životinja. U krpelju *H. marginatum* potvrđena je i *Babesia* sp. „tavsan“, nedovoljno istražena piroplazma povezana s malim preživačima. Ovaj nalaz, zajedno s ranijim dokazima vrsta *T. ovis* i *Babesia motasi*, upućuje na postojanje raznolikog i još uvijek nedovoljno istraženog kompleksa piroplazmi malih preživača. Dodatnu javnozdravstvenu važnost imaju nalazi zoonotskih vrsta *Babesia microti* i *B. venatorum* u krpeljima *Ixodes ricinus* prikupljenima iz okoliša. Njihova prisutnost potvrđuje postojanje prirodnih ciklusa piroplazmi sposobnih uzrokovati infekcije ljudi, iako humane babezioze u Hrvatskoj vjerojatno ostaju nedovoljno prepoznate. Dobiveni rezultati pokazuju da je raznolikost piroplazmi u Hrvatskoj znatno veća nego što se ranije pretpostavljalo. Sustavno molekularno praćenje krpelja te domaćih i divljih životinja potrebno je radi pravodobnog prepoznavanja novih uzročnika, procjene njihova patogenog i zoonotskog potencijala te boljeg razumijevanja promjena u epidemiologiji infekcija prenosivih krpeljima.

Ključne riječi: piroplazme, *Babesia occultans*, *Babesia* sp. „tavsan“, zoonotske babezije, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes ricinus*, molekularni nadzor

HIDDEN DIVERSITY OF PIROPLASMS IN CROATIA – NEW FINDINGS AND THEIR SIGNIFICANCE FOR VETERINARY MEDICINE AND PUBLIC HEALTH

Abstract

Tick-borne protozoan parasites of the genera *Babesia* and *Theileria* can cause disease in domestic and wild animals, while some species also have zoonotic potential. Although research in Croatia has traditionally focused primarily on clinically important species, the application of molecular methods has revealed a considerably greater diversity of piroplasms in recent years. Molecular screening of ticks collected from domestic animals confirmed the presence of *Theileria equi*, *T. orientalis*, *T. ovis*, *Babesia caballi*, *B. ovis* and *B. occultans*, as well as a piroplasm designated *Babesia* sp. „tavsan“. Together with the previously confirmed *B. divergens* and *T. orientalis*, the first molecular detection of *B. occultans* further expands the list of bovine piroplasms present in Croatia. Although *B. occultans* is generally considered to have low pathogenicity, it has occasionally been associated with clinical babesiosis accompanied by fever, anaemia and haematological abnormalities. Its detection in *Hyalomma marginatum* ticks collected from cattle and horses warrants further investigation of its distribution, transmission and potential impact on animal health. *Babesia* sp. „tavsan“, a poorly investigated piroplasm associated with small ruminants, was also confirmed in *H. marginatum*. This finding, together with previous detections of *T. ovis* and *Babesia motasi*, indicates the presence of a diverse and still insufficiently investigated complex of piroplasms infecting small ruminants. The detection of the zoonotic species *Babesia microti* and *B. venatorum* in questing *Ixodes ricinus* ticks is of additional public health importance. Their presence confirms the existence of natural transmission cycles involving piroplasms capable of causing human infection, although human babesiosis is probably underrecognised in Croatia. These findings demonstrate that the diversity of piroplasms in Croatia is considerably greater than previously assumed. Systematic molecular surveillance of ticks and domestic and wild animals is needed to enable the timely detection of emerging pathogens, assess their pathogenic and zoonotic potential, and improve our understanding of changes in the epidemiology of tick-borne infections.

Key words: piroplasms; *Babesia occultans*; *Babesia* sp. „tavsan“; zoonotic *Babesia*; *Hyalomma marginatum*; *Ixodes ricinus*; molecular surveillance

GROZNICA RIFTSKE DOLINE – PREGLED ZOONOZE OD GLOBALNE VAŽNOSTI I USPOSTAVA NACIONALNOG REFERENTNOG LABORATORIJA ZA NADZOR BOLESTI

Magda Kamber Taslaman, Jelena Prpić,
Margarita Božiković, Lorena Jemeršić

Laboratorij za dijagnostiku klasične svinjske kuge,
molekularnu virologiju i genetiku, Hrvatski veterinarski
institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb

Sažetak

Groznicu Riftske doline (engl. *Rift Valley fever*, RVF) virusna je zoonoza od velike gospodarske i epidemiološke važnosti, ponajprije zbog visokih stopa pobačaja i uginuća mladih preživača te istodobne pojave infekcija u ljudi. Uzročnik je RNV virus koji pripada rodu *Phlebovirus* unutar porodice *Phenuiviridae*, a prvi je put dokazan tijekom istraživanja epizootije među ovcama u dolini Rift u Keniji 1931. godine. U ovaca, koza i goveda infekcija se očituje groznicom, pobačajima te visokom perinatalnom i neonatalnom smrtnošću. U ljudi je infekcija najčešće asimptomatska ili praćena blagim febrilnim stanjem, dok se u manjem dijelu oboljelih mogu razviti teški klinički simptomi, uključujući hemoragijsku groznicu, meningoencefalitis i očne komplikacije. Prijenos se zbiva ponajprije putem hematofagnih vektora, osobito komaraca, dok se čovjek može zaraziti i izravnim ili neizravnim dodiranjem s krvlju, tkivima i drugim biološkim materijalom zaraženih životinja. Održivi interhumani prijenos dosad nije potvrđen. Iako je RNV primarno prisutan u Africi, 2000. godine prvi je put potvrđen izvan afričkog kontinenta, u Saudijskoj Arabiji i Jemenu, čime je potvrđeno da vektorski prijenos, uz povoljne okolišne i klimatske uvjete, omogućuje širenje virusa izvan područja njegove endemijske pojavnosti. U Europi dosad nije potvrđena autohtona transmisija RNV-a, no mogućnost unosa virusa relevantan je epidemiološki rizik zbog kretanja životinja i ljudi, trgovine, okolišnih i klimatskih čimbenika te prisutnosti potencijalnih vektora. Stoga je održavanje odgovarajuće laboratorijske pripravnosti važan element ranog otkrivanja eventualnog unosa virusa u populacije prijemljivih životinja. S obzirom na to, u travnju 2026. godine rješenjem Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i ribarstva uspostavljen je Nacionalni referentni laboratorij (NRL) za molekularnu dijagnostiku RNV-a metodom RT-qPCR u Laboratoriju za dijagnostiku klasične svinjske kuge, molekularnu virologiju i genetiku Hrvatskoga veterinarskog instituta. Uspostava NRL-a važan je korak u izgradnji nacionalnog dijagnostičkog kapaciteta i laboratorijske pripravnosti. NRL od 2024. godine sudjeluje u međulaboratorijskom usporednom ispitivanju

s Europskim referentnim laboratorijem (EURL) u Teramu, Italija, u okviru kojega se procjenjuje dijagnostička kompetentnost za dokazivanje RNV virusa RNV-a metodom RT-qPCR u serumima preživača, ali i imunoenzimnim testom za dokazivanje specifičnih protutijela na virus. Osim toga, projektom *Uspostava koordiniranog sustava nadzora bolesti u Hrvatskoj u skladu s One Health (OH) pristupom* (CROOH), provodi se ciljano testiranje uzoraka domaćih i divljih preživača primjenom molekularnih i seroloških metoda. Iako NRL u ovoj fazi ne zaprima uzorke iz rutinske veterinarske dijagnostike, navedene aktivnosti omogućuju održavanje metodološke kompetentnosti i dijagnostičke spremnosti te su istodobno temelj za uključivanje laboratorija kao potvrdnog u slučaju sumnje na RNV. Time NRL postaje važan element nacionalne pripravnosti za rano otkrivanje eventualne prisutnosti RNV-a u Hrvatskoj i odgovor na pojavu ove zoonoze u skladu s pristupom *One Health*.

Ključne riječi: groznica Riftske doline, RNV, zoonoza, RT-qPCR, nacionalni referentni laboratorij

RIFT VALLEY FEVER - OVERVIEW OF A ZOONOSIS OF GLOBAL IMPORTANCE AND ESTABLISHMENT OF A NATIONAL REFERENCE LABORATORY FOR DISEASE SURVEILLANCE

Abstract

Rift Valley fever (RVF) is a viral zoonosis of major economic and epidemiological importance, primarily due to high abortion rates and high mortality among young ruminants, as well as concurrent human infections. The causative agent is an RNA virus belonging to the genus *Phlebovirus* within the family *Phenuiviridae*. It was first identified during investigations of an epizootic among sheep in the Rift Valley of Kenya in 1931. In sheep, goats and cattle, infection is characterized by fever, abortions and high perinatal and neonatal mortality. In humans, infection is most often asymptomatic or associated with a mild febrile illness, while a small proportion of infected individuals may develop severe clinical manifestations, including hemorrhagic fever, meningoencephalitis and ocular complications. Transmission occurs primarily through hematophagous vectors, particularly mosquitoes, while humans may also become infected through direct or indirect contact with the blood, tissues and other biological materials of infected animals. Sustained human-to-human transmission has not been confirmed to date. Although RVF is primarily present in Africa, in 2000 it was confirmed for the first time outside the African continent, in Saudi Ara-



bia and Yemen, demonstrating that vector-borne transmission, under favorable environmental and climatic conditions, can facilitate the spread of the virus beyond its endemic range. To date, no autochthonous transmission of RVF has been confirmed in Europe; however, the potential introduction of the virus represents a relevant epidemiological risk due to the movement of animals and people, trade, environmental and climatic factors and the presence of potential vectors. Therefore, maintaining adequate laboratory preparedness is an important component of the early detection of potential virus introduction into susceptible animal populations. In this context, in April 2026, a National Reference Laboratory (NRL) for the molecular diagnosis of RVF by RT-qPCR was established by decision of the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries within the Laboratory for Classical Swine Fever Diagnostics, Molecular Virology and Genetics at the Croatian Veterinary Institute. Establishing the NRL represents an important step toward strengthening national diagnostic capacity and laboratory preparedness. Since 2024, the NRL has participated in interlaboratory comparison testing with the European Union Reference Laboratory (EURL) in Teramo, Italy, assessing diagnostic competence for the detection of RVF viral RNA by RT-qPCR in ruminant sera, as well as by an enzyme immunoassay for the detection of virus-specific antibodies. In addition, within the project "Establishment of a Coordinated Disease Surveillance System in Croatia in Accordance with the One Health (OH) Approach" (CROOH), targeted testing of samples from domestic and wild ruminants is being conducted using molecular and serological methods. Although the NRL does not yet receive samples from routine veterinary diagnostics, these activities enable the maintenance of methodological competence and diagnostic readiness while also providing a basis for the laboratory to assume a confirmatory role in the event of suspected RVF. Thus, the NRL is an important component of national preparedness for the early detection of potential RVF virus presence in Croatia and for responding to the occurrence of this zoonosis in accordance with the One Health approach.

Key words: Rift Valley fever; RVF; zoonosis; RT-qPCR; national reference laboratory

UVID U PRAKSE PROPISIVANJA VETERINARSKIH LIJEKOVA IZVAN UVJETA ODOBRENJA ZA STAVLJANJE U PROMET U REPUBLICI HRVATSKOJ

Nikola Čudina¹, Ena Oster¹, Darija Vratarić²,
Hrvoje Pavasović¹

¹Zavod za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; ²Uprava za veterinarstvo, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ribarstva

Sažetak

Uporaba veterinarskog lijeka pri kojoj dolazi prije svega do prilagodbe doze, programa doziranja ili puta primjene u odnosu na uputu o veterinarskom lijeku, uključujući i druga odstupanja, naziva se uporabom izvan uvjeta odobrenja ili *off-label* uporabom. Takvu je uporabu nužno razlikovati od europskom legislativom uređene uporabe veterinarskih lijekova prema sustavu „kaskade“, odnosno korištenja veterinarskog lijeka za neodobrene životinjske vrste ili indikacije. S obzirom na to da je uporaba veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja anegdotalno redovita i raširena pojava, dobivanje uvida u okolnosti i prakse takvog propisivanja preduvjet je za odgovarajuće zakonodavno uređenje u budućnosti. Ovaj rad prikazuje rezultate preliminarnog anketnog istraživanja o okolnostima takve uporabe veterinarskih lijekova u Republici Hrvatskoj. Oko dvije trećine veterinarâ ispitanika uvijek ili uglavnom čita uputu o veterinarskom lijeku, dok se izvan uvjeta odobrenja najčešće koriste veterinarski antimikrobni lijekovi, antiparazitici, anestetici i sedativi. Većina odstupanja opisanih u anketi odnosi se na promjenu doze lijeka, a razlog takvoj odluci najčešće je pripisana neučinkovitosti propisane doze ili odudaranju od doza opisanih u stranoj stručnoj literaturi. Kao posebnost uporabe veterinarskih antiparazitika izvan uvjeta odobrenja ističe se uporaba s promijenjenom učestalosti ili duljinom trajanja preventivne primjene.

Ključne riječi: veterinarski lijekovi, uvjeti odobrenja, *off-label*, sustav kaskade, antimikrobni lijekovi, antiparazitici

Uvod

Veterinarski lijekovi su tvari ili mješavine tvari koje prepoznaju, liječe ili sprječavaju bolesti i/ili obnavljaju, ispravljaju ili mijenjaju fiziološke funkcije farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem te tvari koje se koriste za eutanaziranje životinja. Tvari od kojih se izrađuju veterinarski lijekovi mogu biti ljudskog, životinjskog, biljnog ili kemijskog podrijetla te se dijele na djelatne i pomoćne tvari. Djelatne tvari su one koje su nositelji farmakološkog, imunološkog ili

metaboličkog djelovanja veterinarskog lijeka, a koje u kombinaciji s pomoćnim tvarima čine njegov konačni i primjenjivi oblik, lijekoviti pripravak. Iako se iste djelatne i pomoćne tvari često pojavljuju u veterinarskim lijekovima odobrenima za različite životinjske vrste, odobrenje veterinarskog lijeka moguće je donijeti isključivo za predodređene životinjske vrste i indikacije. Odobrenje veterinarskog lijeka donosi se na temelju ispunjavanja triju uvjeta, odnosno kriterija:

- a) kakvoće (kvalitete glede sastava i načina pripreme,
- a) neškodljivosti (za predviđenu životinjsku vrstu),
- b) učinkovitosti (za predviđenu indikaciju ili namjenu),

a oni su uglavnom dokazani opsežnim pretkliničkim i kliničkim istraživanjima ili postojećim literaturnim podacima (Uredba EU 2019/6, 2022; Zakon o veterinarskim lijekovima i veterinarsko medicinskim proizvodima, NN 69/2026, 2026). Klinička istraživanja tako podrazumijevaju istraživanje veterinarskog lijeka na ciljanoj životinjskoj vrsti i za ciljanu namjenu, odnosno indikaciju, u predviđenoj dozi i putu primjene. U slučaju veterinarskog lijeka namijenjenog uporabi kod životinja koje se koriste za proizvodnju hrane, u svrhu odobrenja nužno je odrediti karenciju, odnosno vrijeme koje mora proći od posljednje primjene lijeka do sigurne uporabe životinjskih proizvoda za prehranu ljudi.

Korištenje veterinarskog lijeka u skladu s uputom o veterinarskom lijeku podrazumijeva korištenje za odobrenu životinjsku vrstu i indikaciju, u propisanoj dozi, programu doziranja i putu primjene, kako je navedeno u uputi o veterinarskom lijeku. Bilo kakvo odstupanje od upute u navedenim aspektima podrazumijeva uporabu veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja. U europskom zakonodavnom okviru nužno je razlikovati dva vida takve uporabe: uporabu veterinarskog lijeka u „sustavu kaskada“ i ostalu „off-label uporabu“.

U prvom slučaju – u slučaju nemogućnosti dolaska do veterinarskog lijeka odobrenog za potrebnu životinjsku vrstu i/ili indikaciju – javlja se potreba za uporabom veterinarskog lijeka u „sustavu kaskada“, odnosno uporabom veterinarskog lijeka koji je odobren za neku drugu životinjsku vrstu ili indikaciju. Razlozi tomu su razni i razlikuju se prostorno i vremenski, a najčešće uključuju: složenost i globalizaciju opskrbnih lanaca, ekonomske i tržišne pritiske, regulatorne i logističke izazove, svjetske događaje poput geopolitičke nestabilnosti, ekstremne vremenske uvjete i pandemije. Neovisno o uzroku, nemogućnost dolaska do lijeka se prema Federaciji veterinarâ Europe (FVE) može svrstati u jedan od triju općih oblika (Čudina i sur., 2026) (Tablica 1.).

U takvim situacijama veterinar ima izravnu osobnu odgovornost te, radi izbjegavanja neprihvatljive patnje životinje, mogućnost korištenja

Tablica 1 Kategorizacija mogućih problema s dostupnosti veterinarskih lijekova uz pripadajuće izvore definicija i primjere (Čudina i sur., 2026; EMA, 2025b; Europska komisija, 2024; HMA, 2024)

Kategorija	Odobren	Tržišten	Raspoloživ	Primjer uzroka
Nestašica Temeljeno na HMA smjernicama za dobru praksu za komunikaciju s javnošću o pitanjima dostupnosti lijekova	☑	☑	✗	Događa se kada ponuda ne zadovoljava potražnju. Obično je privremeno. Uglavnom zbog poremećaja u opskrbnom lancu (npr. zbog problema s kvalitetom, proizvodnjom, neočekivanog povećanja potražnje).
Nedostatak dostupnosti Na temelju EU Vodiča za provedbu (Vet EU IG) o podacima o proizvodima veterinarskih lijekova u Union Product Database	☑	✗	✗	VMP je odobren, ali nije dostupan na tržištu niti dostupan u određenoj regiji (zemlja, regija, razina EU itd.). Obično zbog odluke nositelja odobrenja za stavljanje u promet (MAH)
Neispunjena potreba Na temelju obavijesti Komisije: Smjernice za podnositelje zahtjeva - Veterinarski medicinski proizvodi (C/2024/1443)	✗	✗	✗	Postoji klinička potreba, ali se ne razvija niti odobrava odobreni lijek za ciljane vrstu ili indikaciju, na nacionalnoj ili EU razini

veterinarskog lijeka koji je odobren za drugu životinjsku vrstu i indikaciju od one potrebne. Takva se uporaba kolokvijalno naziva uporabom u „sustavu kaskada“. Uporaba u „sustavu kaskada“ propisana je Uredbom (EU) 2019/6 Europskog parlamenta i Vijeća o veterinarsko-medicinskim proizvodima te Zakonom o veterinarskim lijekovima i veterinarskim medicinskim proizvodima (NN 69/2026). Uvjeti za uporabu opisani su člancima 112. – 114. spomenute Uredbe, dok članak 115. propisuje minimalnu karenciju pri ovakvoj uporabi kod životinjskih vrsta koje se koriste za proizvodnju hrane. Ako je ujedno nedostupan adekvatan veterinarski lijek za druge životinjske vrste i indikacije, tek tada postoji opravdana mogućnost uporabe humanih, a konačno i magistralnih pripravaka. Nužno je spomenuti da je „kaskadna uporaba“ opravdana isključivo u navedenim primjerima nemogućnosti dolaska do odgovarajućeg odobrenog lijeka za specifičnu vrstu ili indikaciju te se ekonomski razlozi poput cijene veterinarskog lijeka, te praktičnost manjih pakiranja, ne smatraju opravdanim razlogom.

U drugom slučaju propisivanja veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja riječ je o svim odstupanjima, izuzev prethodno opisanih za ciljnu životinjsku vrstu i/ili indikaciju u „sustavu kaskada“, a takva se uglavnom susreću u vidu odstupanja od odobrene doze te programa doziranja i puta primjene. Članak 106. Uredbe 2019/6 nalaže da se veterinarski lijekovi isključivo primjenjuju u skladu s uvjetima odobrenja za stavljanje u promet te kao izuzetak od tog članka eksplicitno navodi prethodno opisano odstupanje u vidu „kaskadne uporabe“, što implicira da ovaj drugi vid odstupanja nema jasno opisan okvir prihvatljivog odstupanja i vrednovanja. Primjena veterinarskog lijeka u „sustavu kaskada“ predviđena je kao izvanredno rješenje za situacije nepostojanja ili nedostupnosti odobrenog veterinarskog lijeka, ali nije zamišljena kao konačno rješenje za pro-

bleme poput izostanka učinka ili neškodljivosti već odobrenih i dostupnih veterinarskih lijekova.

Unatoč tome, u svakodnevnom radu veterinaru očita je pojava i situacijska opravdanost odstupanja i u ostalim segmentima odobrenja. Razlozi za to mogu biti nedostatak učinkovitosti, upitna neškodljivost za pojedinačnog pacijenta, nužnost puta primjene koji nije predviđen odobrenjem, nepoklapanje državnih propisanih rasporeda cijepljenja s rasporedom unutar odobrenja itd. Od iznimnog javnozdravstvenog značaja je i situacija u kojoj je službeno dostupan odgovarajući veterinarski antimikrobni lijek s djelatnom tvari iz B ili C kategorije prema Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group (AMEG) klasifikaciji, ali istodobno ne postoji dostupna alternativa iz D kategorije, odnosno kategorije antimikrobnih lijekova prvog izbora (EMA, 2025a), što veterinaru stavlja u poziciju u kojoj nije u mogućnosti poštovati načela razborite uporabe antimikrobnih lijekova i borbe protiv antimikrobne rezistencije.

Svjesna navedenih specifičnosti, stručna skupina Europske komisije 2026. godine objavila je preporuke kojima naglašava da je, pri medicinskoj procjeni i stručnoj odgovornosti, opravdano u određenim uvjetima primijeniti veterinarski lijek – izuzev antimikrobnih lijekova – prema „sustavu kaskada“ i kada odobreni veterinarski lijek postoji, budući da uvjeti odobrenja uglavnom ne pokrivaju sve moguće scenarije s kojima se susreću veterinari u kliničkom radu (Europska komisija, 2026).

Na tragu preporuka Europske komisije, FVE je objavio službenu izjavu kojom se zahtijeva proširenje istih preporuka i na antimikrobne lijekove kako bi se veterinarima omogućilo poštivanje nacionalnih i europskih preporuka za razboritu uporabu antimikrobnih lijekova (FVE, 2026). FVE ističe važnost te mogućnosti za veterinare upravo u tekućem razdoblju usklađivanja sažetaka opisa svojstava (eng. Summary of Product Characteri-

stics, SPC) veterinarskih lijekova na razini EU, a koje se provodi radi iskustveno utvrđenih nepo- klapanja između odobrenja istih veterinarskih li- jekova u različitim državama članicama.

Budući da je prepoznat preduvjet usklađiva- nju SPC-ova popisivanje učestalih odstupanja od uputa o veterinarskom lijeku, cilj ovog rada jest pružiti preliminarni uvid u prakse propisivanja veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja u Republici Hrvatskoj.

Materijali i metode

U razdoblju od 10. 05. 2026. do 10. 06. 2026. provedeno je anonimno anketno istraživanje u organizaciji Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i ribarstva te Hrvatske veterinarske komore, s ciljem identifikacije veterinarskih lijekova kod kojih su veterinarski kliničari u Republici Hrvatskoj primorani odstupiti od upute o veterinarskom li- jeku u vidu prilagodbe doze, programa doziranja ili puta primjene. Anketa je provedena uz pomoć internetskoga softvera Typeform, a poveznica na anketu distribuirana je putem komunikacijskih kanala Hrvatske veterinarske komore te druš- tvenih mreža Veterinarskoga fakulteta, uključu- jući Facebook, Instagram i WhatsApp. Korištena je metoda uzorkovanja snježne grude, pri kojoj sudionici istraživanja regrutiraju nove sudionike iz svojih društvenih krugova. Anketa se sastojala od kombinacije pitanja s višestrukim ponuđenim

odgovorima i pitanja otvorenoga tipa. Ispitanici su imali mogućnost prekinuti anketu u bilo kojem trenutku. Anketa je sadržavala uvodno pitanje i tri para pitanja podijeljenih po kategorijama lije- kova: veterinarski antimikrobni lijekovi, veteri- narski antiparazitici te ostali veterinarski lijeko- vi. Nijedno pitanje nije bilo označeno kao obve- zno za odgovor. Uz svako pitanje ispitanicima su navedeni učestali primjeri odstupanja od upute o veterinarskom lijeku za tu skupinu lijekova, a prema podacima sličnih neobjavljenih istraživa- nja u drugim europskim državama. Pristup nave- denim podacima autorima je omogućen putem Federacije veterinaru Europe (FVE).

Rezultati

Anketu je u razdoblju prikupljanja podataka ispunilo ukupno 99 ispitanika. Na prvo pitanje o navikama čitanja upute o veterinarskom lijeku is- pitanici su većinom odgovorili da je čitaju uvijek (41/99, 41,4%) ili uglavnom da (36/99, 36,4%). Ovisno o lijeku uputu o veterinarskom lijeku čita 17,2% ispitanika (17/99), dok je uglavnom ne čita ili je nikada ne čita 5% ispitanika (5/99).

Drugi par pitanja ticao se uporabe veterinar- skih antimikrobnih lijekova izvan uvjeta odobre- nja. Većina ispitanika odgovorila je da veterinar- ske antimikrobne lijekove koriste odstupajući od upute o veterinarskom lijeku kada je to klinički opravdano (36/99, 36,4%), ili da ih koriste is- ključivo u skladu s uputom o veterinarskom li-

Tablica 2. Djelatne tvari, način i razlog odstupanja od upute o veterinarskom lijeku te literaturni izvor za prilagodbu kod korištenja veterinarskih antimikrobnih lijekova, prema podacima pruženi- ma sa strane ispitanika.

Lijek	Način odstupanja	Razlog odstupanja	Literaturni izvor za prilagodbu
Amoksisilin + klavulanska kiselina	Promjena doze → 22 mg/kg BID	Doza iz upute (12,5 mg/kg) neučinkovita, nema kliničkog poboljšanja	Knjige iz područja farmakologije i podaci na internetu
	Povećana doza	/	Stručna literatura
	Promjena doze → 22 mg/kg	Doze iz upute o lijeku se ne slažu s dozama propisanim u stranoj literaturi	Plumb's veterinary handbook
Amoksisilin	/	/	/
	/	/	/
Enrofloksacin	Promjena doze → 10 mg/kg ili više.	Doze iz upute o lijeku se ne slažu s dozama propisanim u stranoj literaturi	Plumb's veterinary handbook
Marbofloksacin	Promjena doze → doza do 5 mg/kg	Doze iz upute o lijeku se ne slažu s dozama propisanim u stranoj literaturi	Plumb's veterinary handbook
Nespecificiran lijek	Nespecificirana promjena doze	Različiti PK/PD lijeka kod nekih vrsta	Plumb's veterinary handbook
		/	Stručna literatura
	Promjena puta aplikacije → subkutana primjena lijeka koji je namijenjen za intravensku uporabu	Jednostavnost aplikacije, u slučajevima kada nije otvoren venski put	/

Tablica 3. Djelatne tvari, način i razlog odstupanja od upute o veterinarskom lijeku te literaturni izvor za prilagodbu kod korištenja veterinarskih antiparazitika, prema podacima pruženima sa strane ispitanika.

Lijek	Način odstupanja	Razlog odstupanja	Literaturni izvor za prilagodbu
Fenbendazol	Kod liječenja infekcije <i>Giardia duodenalis</i> → trajanje terapije minimalno 5, najčešće 7 dana. Nakon pauze, ponavljanje terapije u trajanju 7 dana. Doza ostaje ista kao u uputi.	Trajanje terapije prema uputi (3 dana) neučinkovito	Iskustvo, savjeti kolega, internet
Nespecificirani ektoparazitocidi	Smanjivanje frekvencije primjene lijeka	Ektoparazitocidi pružaju zaštitu dužu od 6 tjedana	Iskustvo
	Učestalija primjena lijeka kod nekih infestacija (npr. šugarci)	U slučaju terapijskog, a ne preventivnog davanja lijeka	/
Nespecificirani endoparazitocidi	Učestalija primjena lijeka	Ako vlasnici nisu sigurni koliko je vremena prošlo od posljednje primjene antiparazitika, ili nisu sigurni koji je lijek korišten	/
Fenbendazol + pirantelembonat + prazikvantel	Smanjivanje frekvencije doziranja -> ne daje se lijek svaka 3 mjeseca već se preporuča koprološka pretraga 2x godišnje, pa terapija sukladno rezultatima	/	/
Febantel + pirantelembonat + prazikvantel	Smanjivanje frekvencije doziranja -> ne daje se lijek svaka 3 mjeseca već se preporuča koprološka pretraga 2x godišnje, pa terapija sukladno rezultatima	/	/
Nespecificiran lijek	Kombiniranje lijekova	Nedostupnost lijeka	/

jeku (33/99, 33,3%). Četvrtina ispitanika na ovo pitanje nije pružila odgovor (25/99, 25,3%), dok se nekolicina izjasnila kao nesigurna u odgovor (5/99, 5%).

Treći par pitanja odnosio se na korištenje veterinarskih antiparazitika izvan uvjeta odobrenja. Skoro polovica ispitanika odgovorila je da antiparazitike daju isključivo u skladu s uputom o veterinarskom lijeku (48/99, 48,5%). Sličan broj ispitanika (41/99, 41,4%) izjavio je da od upute o veterinarskom lijeku odstupa pri uporabi antiparazitika kada je to klinički opravdano. Manji broj ispitanika izjasnio se nesigurnim u odgovor (5/99, 5%) ili nije ponudio odgovor (6/99, 6,1%).

Posljednji par pitanja odnosio se na uporabu ostalih veterinarskih lijekova. Polovina ispitanika (49/99, 49,5%) izjavila je da ostale veterinarske lijekove koristi u skladu s uputom o veterinarskom lijeku. Drugi je najčešći odgovor bio da ostale lijekove koriste odstupajući od upute o veterinarskom lijeku kada je to klinički opravdano (34/99, 34,3%). Preostali ispitanici u jednakom su se broju izjasnili kao nesigurni u odgovor na pitanje (8/99, 8,1%) ili ga nisu ponudili (8/99, 8,1%).

Ispitanici su u svakom paru pitanja imali mogućnost navesti o kojim se lijekovima unutar navedenih skupina radi te opisati odstupanje od upute o veterinarskom lijeku. Za antimikrobne li-

jekove traženi je opis pružilo 8, za antiparazitike 7, a za ostale veterinarske lijekove 8 ispitanika. U tablicama 2, 3 i 4 prikazane su spomenute djelatne tvari, opis odstupanja, razlog odstupanja te izvor informacije za prilagodbu primjene.

Kod ukupno 26 specificiranih veterinarskih lijekova ili skupina, pri određivanju izvora informiranja za donošenje odluke o odstupanju od upute o veterinarskom lijeku većina ispitanika je izostavila odgovor (10/26, 38,5%). Od ukupnog broja navedenih izvora informiranja pri uporabi veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja najčešće je spominjana stručna literatura (9/26, 34,6%).

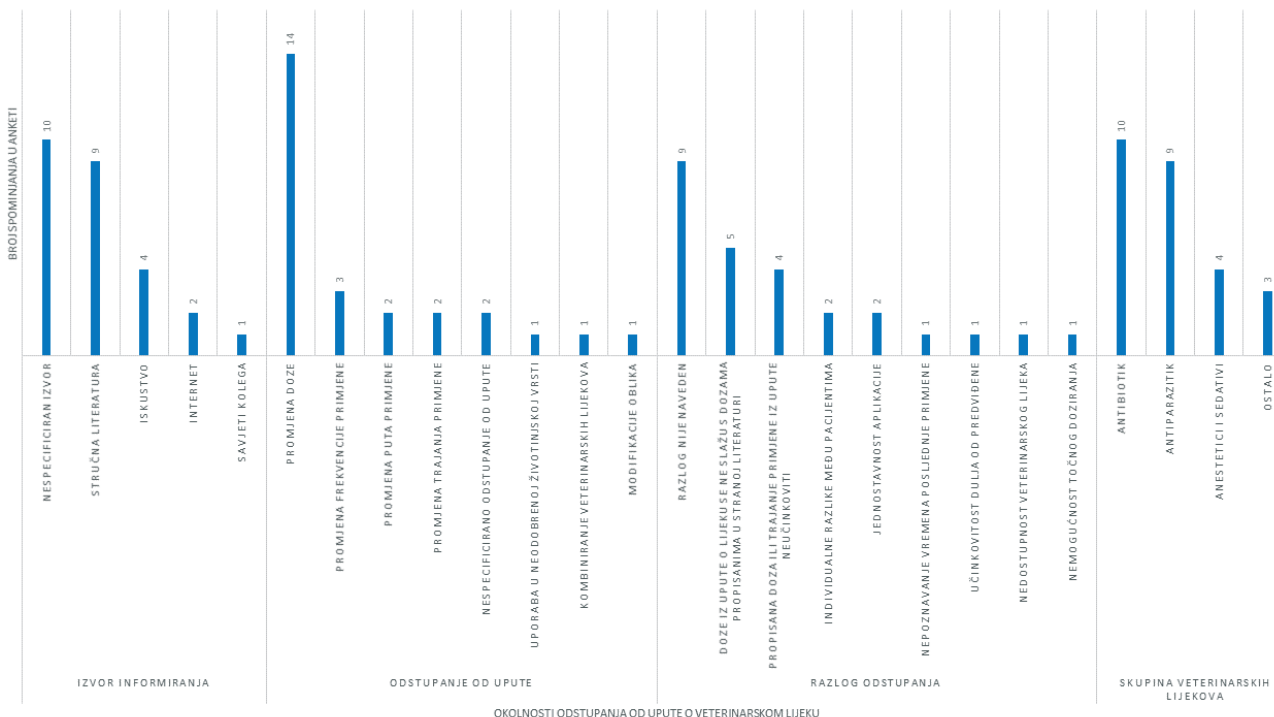
Kao način odstupanja od upute o veterinarskom lijeku u više od polovice odgovora spominjala se promjena doze (14/26, 53,8%), dok se razlog odstupanja najčešće nije navodio (9/26, 34,6%) ili je bio povezan s nepoklapanjem upute s važećim smjernicama u literaturi (5/26, 19,2%) te neučinkovitošću doze propisane u uputi o veterinarskom lijeku (4/26, 15,4%).

Po kategorijama lijekova najviše su se spominjali veterinarski lijekovi iz skupine antimikrobnih lijekova (n = 10/26, 38,5%) i antiparazitika (9/26, 34,6%).

Učestalost ostalih opisanih okolnosti pri uporabi veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja prikazana je na grafikonu 1.

Tablica 4. Djelatne tvari, način i razlog odstupanja od upute o veterinarskom lijeku te literaturni izvor za prilagodbu kod korištenja ostalih veterinarskih lijekova, prema podacima pruženima sa strane ispitanika.

Lijek	Način odstupanja	Razlog odstupanja	Literaturni izvor za prilagodbu
Ksilazin	Promjena doze → davanje do učinka	/	/
Ketamin	Promjena doze → davanje do učinka	/	/
Maropitant	Promjena puta primjene → davanje subkutano	Ako je životinja klinički u redu i ako nije postavljen venski put, ili ako pas nije suradljiv	/
Enilkonazol	Uporaba u neodobrenoj životinjskoj vrsti	/	/
Meloksikam	Promjena doza → povećana doza kod kunića;	/	/
Promjena puta primjene → peroralna primjena	/	/	/
Nespecificirani protuupalni lijekovi	Promjena doze	Individualna prilagodba potrebama i statusu pacijenta	Smjernice iz literature
Nespecificirani anestetici	Promjena doze	Individualna prilagodba potrebama i statusu pacijenta	Smjernice iz literature
Nespecificirani sedativi	Promjena doze → povećanje doze	Ako doza navedena u uputi ne dovede do sedacije pacijenta	/



Grafikon 1. Učestalost spominjanja različitih okolnosti pri odstupanju od upute o veterinarskom lijeku sa strane pristupnika ankete

Rasprava

Ovaj je rad, prema saznanjima autora, prvi koji ispituje prakse propisivanja veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja za stavljanje na tržište u Republici Hrvatskoj u vidu prilagodbe doze, programa doziranja ili puta primjene, što je u skladu s primjedbom Europske agencije za lijekove (EMA) o ograničenosti službenih podataka o „off-label“ uporabi veterinarskih lijekova u Europskoj uniji (EMA, 2017). Visok udio ispitanika u ovom istraživanju koji čitaju uputu o veterinarskom lijeku indikativan je njihove osvijestivosti o eventualnom odstupanju od iste. Rezultati istraživanja idu u prilog stavovima FVE o nužnosti uređivanja uvjeta „off-label“ uporabe antibiotika (FVE, 2026), budući da se svega trećina ispitanika izjasnila da antimikrobne lijekove daje u skladu s uputom o veterinarskom lijeku, dok pri uporabi antiparazitika i ostalih veterinarskih lijekova taj udio čini otprilike polovinu ispitanika. Iako je udio ispitanika koji je odlučio pružiti detaljniji uvid u okolnosti primjene veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja nedovoljan za izvlačenje općih zaključaka, na dostupnom uzorku nazire se učestalost upravo antibiotika i antiparazitika kao veterinarskih lijekova koje veterinari u Republici Hrvatskoj koriste izvan uvjeta odobrenja. Pritom se u više navrata spominje amoksicilin u samostalnom obliku, ali i u kombinaciji s klavulanskom kiselinom, što je u skladu s trendom propisivanja amoksicilina u višim dozama zabilježenim u sličnom istraživanju provedenom u Njemačkoj (Tarillion i sur., 2025) veterinary medicinal products (VMPs). U kategoriji ostalih veterinarskih lijekova prepoznata je promjena doze anestetika i sedativa u nespecificiranim vrijednostima, odnosno po individualnim potrebama pacijenata, što naglašava potrebu za užitim istraživanjem njihove primjene.

Promjena doze kao prevladavajući oblik odstupanja od upute o veterinarskom lijeku također je u skladu s prijašnjim sličnim istraživanjima (EMA, 2017; Tarillion i sur., 2025) veterinary medicinal products (VMPs). Razlog promjeni doze podjednako je pripisan empirijski primijećenom nedostatku učinkovitosti odobrenih doza te njihovoj nesukladnosti s dozama navedenima u aktualnoj stranoj stručnoj literaturi. Takva pojava naglašava nužnost prijavljivanja izostanka učinkovitosti lijekova pri odobrenim dozama putem sustava farmakovigilancije radi identifikacije istinske neprikladnosti doze i/ili programa doziranja navedenim u uputi o veterinarskom lijeku.

Iako je u anketi stručna literatura prijavljena kao najčešći izvor informiranja za medicinsku opravdanost odstupanja od upute o veterinarskom lijeku pri uporabi antimikrobnih i ostalih veterinarskih lijekova, u skupini opisanih odstupanja pri primjeni veterinarskih antiparazitika kao izvor informiranja gotovo se isključivo navodi osobno iskustvo i iskustvo kolega. Za razliku od promjena individualnih doza kod antimikrobnih i neuroloških lijekova, opisana odstupanja pri uporabi antiparazitika gotovo se isključivo tiču

promjene frekvencije i trajanja terapije. Promjena frekvencije i trajanja prijavljena je u vidu duže i češće, ali i kraće i rjeđe primjene lijeka. Takva je razlika potencijalni indikator potrebe za diferenciranim pristupom pri daljnjim istraživanjima, ovisno o kategoriji veterinarskih lijekova o kojima se provodi farmakoepidemiološko istraživanje. Uz očekivani i u literaturi zabilježeni izostanak učinkovitosti kurativne primjene antiparazitika – kao u slučaju terapije infekcije *Giardia duodenalis* (Kaufmann i sur., 2022) u anketi je dodatno istaknuta i dimenzija profilaktičke uporabe antiparazitika naspram kurativne, što predstavlja drugačiji vid procjene učinkovitosti i prilagodbe primjene u odnosu na antimikrobne lijekove kod kojih je profilaktička uporaba ograničena na iznimno opravdane slučajeve.

Zaključak

Ovo anketno istraživanje pružilo je osnovni uvid u prakse propisivanja veterinarskih lijekova izvan uvjeta odobrenja za stavljanje u promet u Republici Hrvatskoj prije svega u vidu prilagodbe doze, programa doziranja ili puta primjene. Iako je zbog rijetkosti sličnih istraživanja u Europskoj uniji te malog uzorka opisanih odstupanja nemoguće izvoditi opće zaključke, ono, na tragu postojećeg diskursa o nužnoj mogućnosti „off-label“ primjene veterinarskih lijekova u iznimnim situacijama, postavlja polazište za određivanje okolnosti u kojima su takva odstupanja opravdana.

Literatura

- Čudina, N., Marić, M., Chambers, L., Vidalinc, M., Aagaard, A. K., Balado, J., Bratić, P., Ganter, M., Grønberg, A. H., Şenyüz, H. H., Spezzigu, A., Pazarakioti, A., Phythian, C., Helden, R. V., Katsoulos, P. D., Anadón, A., Baduel, L., Demay, F., Dobbenburgh, R. V., ... Jansen, W. (2026). Development of the European Veterinary Medicines Gaps and Needs Compass for Sheep and Goats Based on Online Survey and Expert Knowledge Elicitation. *Veterinary Sciences*, 13(3), 297. <https://doi.org/10.3390/vetsci13030297>
- EMA. (2017). *European Medicines Agency (EMA). Reflection paper on off-label use of antimicrobials in 4 veterinary medicine in the European Union.*
- EMA. (2025a). *European Medicines Agency (EMA). Categorisation of antibiotics in the European Union. 2025.*
- EMA. (2025b). *European Medicines Agency (EMA). The EU Implementation Guide (Vet EU IG) on veterinary medicines product data in the Union Product Database. 2025.*
- Europska komisija. (2024). *European Commission. Commission Notice. Guidance to Applicants—Veterinary Medicinal Products. 2024.*
- Europska komisija. (2026). *Expert group meeting, 24 april 2026 recommendations.*
- FVE. (2026). *Federation of Veterinarians of Europe (FVE) Statement on Evidence-led Veterinary Prescription and Responsible Use of Antimicrobials under Regulation (EU) 2019/6.*
- HMA. (2024). *Heads of Medicines Agencies (HMA) and the European Medicines Agency (EMA). Good Practice Guidance for Communication to the Public*

on Medicines' Availability Issues. 2024.

- Kaufmann, H., Zenner, L., Benabed, S., Poirel, M.-T., & Bourgoin, G. (2022). Lack of efficacy of fenbendazole against *Giardia duodenalis* in a naturally infected population of dogs in France. *Parasite*, 29, 49. <https://doi.org/10.1051/parasite/2022048>
- Tarillion, M., Hertzsch, R., & Richter, A. (2025). Off-Label Use of Antibiotics in Small Animal Medicine—A Germany-Wide Anonymous Online Survey. *Antibiotics*, 14(4), 419. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14040419>
- Uredba EU 2019/6. (2022). *Uredba (EU) 2019/6 Europskog parlamenta i Vijeća od 11. Prosinca 2018. O veterinarskim lijekovima i stavljanju izvan snage Direktive 2001/82/EZ (Tekst značajan za EGP).*
- Zakon o veterinarskim lijekovima i veterinarsko medicinskim proizvodima, NN 69/2026. (2026). *Narodne novine (2026): Zakon o veterinarskim lijekovima i veterinarskim medicinskim proizvodima, Narodne novine, no. 69/2026, Zagreb, Croatia, Narodne novine d.d.*

doses described in foreign professional literature. A particular feature of the use of veterinary antiparasitic drugs outside the terms of the marketing authorisation is their use with a modified frequency or duration of preventive administration.

Key words: veterinary medicinal products, terms of the marketing authorization; “off-label” use; “cascade system”; antimicrobial medicines; antiparasitic medicines

INSIGHT INTO THE PRACTICE OF PRESCRIBING VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS OUTSIDE THE TERMS OF THEIR MARKETING AUTHORISATION IN THE REPUBLIC OF CROATIA

Abstract

The use of a veterinary medicinal product involving an adjustment of the dose, duration, frequency, or route of administration in relation to the information provided in the product information is referred to as use outside the terms of the marketing authorisation, or “off-label” use. Such use must be distinguished from the use of veterinary medicinal products under the “cascade” system regulated by European legislation, i.e. the use of a veterinary medicinal product in non-authorised animal species or for non-authorised indications. Given that the use of veterinary medicinal products outside the terms of the marketing authorisation is anecdotally a regular and widespread practice, gaining insight into the circumstances and practices surrounding such prescribing is a prerequisite for appropriate legislative regulation in the future. This paper presents the results of a preliminary survey investigating the circumstances of such use of veterinary medicinal products in the Republic of Croatia. Approximately two-thirds of the veterinarians surveyed always or usually read the product information, while veterinary antimicrobial medicinal products, antiparasitic drugs, anaesthetics, and sedatives are most commonly used outside the terms of the marketing authorisation. The majority of deviations described in the survey involved a change in the drug dose, with the reason for such a decision most commonly attributed to the ineffectiveness of the prescribed dose or to discrepancies from

PROFESIONALNA IZLOŽENOST VETERINARSKIM LIJEKOVIMA: ZDRAVSTVENI RIZICI I PREVENTIVNE MJERE

*Sonja Sinković, Miroslav Andrišić, Eleonora Perak
Junaković, Mirta Pehnec, Ksenija Šandor*

*Odsjek za veterinarske lijekove i veterinarske medicinske
proizvode, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta
143, 10 000 Zagreb*

Sažetak

Procjena sigurnosti za korisnika (engl. *User Safety Risk Assessment*, URA) sastavni je dio postupka ispitivanja neškodljivosti veterinarskog lijeka. Obuhvaća procjenu mogućih štetnih učinaka utvrđenih ispitivanjima neškodljivosti djelatne tvari i gotove formulacije te njihovo povezivanje s vrstom i opsegom izloženosti osoba koje primjenjuju veterinarski lijek i osoba koje mogu doći u kontakt s njim. U procjenu se uključuju različite skupine potencijalno izloženih osoba, među kojima su veterinari, vlasnici i posjednici životinja te djeca. Ako se procjenom utvrdi postojanje rizika, definiraju se odgovarajuća upozorenja i mjere za njegovo smanjenje. Navedene se mjere potom uključuju u sažetak opisa svojstava proizvoda i uputu o veterinarskom lijeku, čime se pridonosi sigurnoj primjeni veterinarskog lijeka. Cilj je ovoga rada prikazati najvažnije zdravstvene rizike povezane s profesionalnom izloženosti veterinaru pri primjeni i rukovanju različitim skupinama veterinarskih lijekova te istaknuti preventivne mjere usmjerene na sprječavanje ili smanjenje tih rizika. Poseban je naglasak stavljen na zdravstvene rizike povezane s rukovanjem veterinarskim lijekovima koji pripadaju sljedećim farmakoterapijskim skupinama: antibiotici, anestetici, antiparazitici, nesteroidni protuupalni lijekovi (NSPUL) i hormonski pripravci. Osim toga, rukovanje cjepivima zahtijeva poseban oprez zbog mogućih neželjenih učinaka pojedinih adjuvansa te potencijalnog zoonotskog potencijala pojedinih živih cjepiva. Profesionalna izloženost veterinarskim lijekovima moguća je u svim fazama njihova rukovanja, uključujući skladištenje i pripremu lijeka, primjerice tijekom miješanja i otapanja, samu primjenu te aktivnosti nakon primjene veterinarskog lijeka, poput kontakta s liječenom životinjom, čišćenja opreme korištene pri primjeni ili neškodljivog uklanjanja ostataka veterinarskog lijeka. Ovisno o vrsti i svojstvima veterinarskog lijeka, te načinu i trajanju izloženosti, nepravilno rukovanje može rezultirati toksičnim, iritirajućim ili senzibilizirajućim i alergijskim učincima. Stoga se uz veterinarski lijek obvezno prilaže uputa o veterinarskom lijeku, koja sadržava preporuke za njegovo sigurno rukovanje, uključujući pravilno skladištenje, pripremu i primjenu lijeka

te primjenu odgovarajućih mjera osobne zaštite radi smanjenja rizika od štetnih učinaka povezanih s izloženosti lijeku. Primjenom odgovarajućih preventivnih mjera navedenih u uputi o veterinarskom lijeku moguće je znatno smanjiti rizik od štetnih učinaka profesionalne izloženosti veterinarskim lijekovima.

Ključne riječi: veterinarski lijekovi, sigurnost korisnika, veterinar, profesionalna izloženost, zdravstveni rizici

PROFESSIONAL EXPOSURE TO VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS: HEALTH RISKS AND PREVENTIVE MEASURES

Abstract

User Safety Risk Assessment (URA) is an integral part of the safety assessment of a veterinary medicinal product. It involves evaluating of potential adverse effects identified in safety studies of the active substance and the finished product, and their correlating them with the nature and extent of exposure of persons administering the veterinary medicinal product and those who may come into contact with it. The assessment considers various groups of potentially exposed persons, including veterinarians, animal owners and keepers, and children. Where a risk is identified, appropriate warnings and risk mitigation measures are defined. These measures are subsequently incorporated into the Summary of Product Characteristics and the package leaflet, thereby contributing to the safe use of the veterinary medicinal product. The aim of this paper is to present the main health risks associated with the professional exposure of veterinarians during the administration and handling of different classes of veterinary medicinal products, and to highlight preventive measures aimed at preventing or minimising these risks. Particular emphasis is placed on health risks associated with the handling of veterinary medicinal products belonging to the following pharmacotherapeutic groups: antibiotics, anaesthetics, antiparasitic agents, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), and hormonal preparations. In addition, the handling of vaccines requires particular caution due to the potential adverse effects of certain adjuvants and the potential zoonotic risk associated with certain live vaccines. Professional exposure to veterinary medicinal products may occur during all stages of handling, including storage and preparation, for example during mixing and reconstitution, administration, and post-administration activities, such as contact with treated animals, cleaning equipment used for admini-

stration, or the safe disposal of any remaining veterinary medicinal product. Depending on the type and properties of the veterinary medicinal product, as well as the route and duration of exposure, improper handling may result in toxic, irritant, sensitising, or allergic effects. Therefore, a package leaflet must accompany the veterinary medicinal product and provide recommendations for its safe handling, including appropriate storage, preparation and administration, as well as the use of suitable personal protective measures to reduce the risk of adverse effects associated with exposure to the product. Implementation of the preventive measures described in the package leaflet can significantly reduce the risk of adverse health effects resulting from occupational exposure to veterinary medicinal products.

Key words: veterinary medicinal products; user safety; veterinarian; professional exposure; health risks

UTJECAJ VETERINARSKIH LIJEKOVA NA OKOLIŠ I VAŽNOST PROCJENE RIZIKA ZA OKOLIŠ

Laura Skukan, Ana Mikelić, Lucija Mandić, Irena Čaleta, Đenana Vrban, Ksenija Šandor

Odsjek za veterinarske lijekove i veterinarske medicinske proizvode, Hrvatski veterinarski institut

Sažetak

Procjena rizika za okoliš (engl. *Environmental Risk Assessment*, ERA) jest sustavan postupak utvrđivanja i karakterizacije potencijalnih rizika povezanih s prisutnošću određene tvari ili proizvoda u okolišu i njihovim mogućim utjecajem na organizme i ekosustave. U okviru regulativne procjene veterinarskih lijekova, u skladu s Uredbom (EU) 2019/6 Europskog parlamenta i Vijeća od 11. prosinca 2018. o veterinarskim lijekovima i stavljanju izvan snage Direktive 2001/82/EZ, ERA je sastavni i obavezan dio dokumentacije u postupcima odobravanja za stavljanje veterinarskog lijeka u promet. Provodi se u dvije faze, u skladu sa smjernicama Međunarodne suradnje za usklađivanje tehničkih zahtjeva za registraciju veterinarskih lijekova (engl. *Veterinary International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products*, VICH), odnosno smjernicama VICH GL6 i VICH GL38. U fazi I procjenjuje se potencijalna izloženost okoliša veterinarskom lijeku određivanjem predviđene koncentracije djelatne, odnosno pomoćne tvari u tlu. Predviđena koncentracija djelatne ili pomoćne tvari u tlu niža od 100 µg/kg omogućuje završetak procjene u fazi I, dok vrijednosti iznad navedenog praga zahtijevaju nastavak ekotoksikološke procjene u fazi II. U fazi II, rizik se određuje usporedbom predviđene koncentracije djelatne tvari u okolišu s koncentracijom pri kojoj se ne očekuju štetni učinci na organizme. Na temelju procijenjenog rizika utvrđuje se njegova prihvatljivost, dok se u slučaju neprihvatljivog rizika određuju odgovarajuće mjere za njegovo smanjenje na prihvatljivu razinu. Među odobrenim veterinarskim lijekovima u Republici Hrvatskoj, za više od 83 % njih procjena rizika za okoliš završena je u fazi I, dok je za preostale provedena daljnja ekotoksikološka procjena u fazi II. Iako se za većinu veterinarskih lijekova procjena rizika završava u fazi I zbog procijenjene niske razine izloženosti okoliša, daljnje praćenje i unapređenje pristupa procjene rizika važni su za učinkovito prepoznavanje i upravljanje potencijalnim štetnim učincima koji su povezani s primjenom veterinarskih lijekova. Pritom je osobito pozornost potrebno usmjeriti na djelatne tvari koje dopijevaju u okoliš u nepromijenjenom ili biološki aktivnom obliku, tvarima koje su postojane u okolišu te tvarima koje

mogu štetno djelovati na neciljane organizme pri dugotrajnoj ili ponavljanoj izloženosti.

Ključne riječi: procjena rizika za okoliš, veterinarski lijekovi, regulativni zahtjevi

THE ENVIRONMENTAL IMPACT OF VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS AND THE IMPORTANCE OF ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT

Abstract

Environmental Risk Assessment (ERA) is a systematic process for identifying and characterising potential risks associated with the presence of a substance or product in the environment and its potential effects on organisms and ecosystems. Within the regulatory assessment of veterinary medicinal products, ERA is an integral and mandatory part of the documentation required for marketing authorisation, in accordance with Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the Council of 11 December 2018 on veterinary medicinal products and repealing Directive 2001/82/EC. ERA is conducted in two phases, in accordance with the guidelines of the International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH), namely VICH GL6 and VICH GL38. In Phase I, the potential environmental exposure to a veterinary medicinal product is evaluated based on the predicted concentration of the active substance or excipient in soil. A predicted concentration of the active substance or excipient in soil below 100 µg/kg allows the assessment to be concluded at Phase I, whereas concentrations exceeding this threshold require further ecotoxicological assessment in Phase II. In Phase II, risk characterisation involves comparing the predicted environmental concentration of the active substance with the concentration at which adverse effects on organisms are not expected. The estimated risk is evaluated to determine its acceptability, and where it is considered unacceptable, appropriate risk mitigation measures are implemented to reduce it to an acceptable level. Among the veterinary medicinal products authorised in the Republic of Croatia, the environmental risk assessment has been concluded at Phase I for more than 83% of products, while the remaining products have undergone further ecotoxicological assessment in Phase II. Although the assessment of most veterinary medicinal products is concluded at Phase I due to the estimated low level of environmental exposure, continued monitoring and the refinement of risk assessment approaches remain important for the effective identification and management

of potential adverse effects associated with the use of veterinary medicinal products. Particular attention should be paid to active substances that enter the environment in an unchanged or biologically active form, substances that are persistent in the environment, and substances that may adversely affect non-target organisms following prolonged or repeated exposure.

Key words: Environmental Risk Assessment; veterinary medicinal products; regulatory requirements

LJEKOVITA HRANA ZA ŽIVOTINJE: AKTUALNI IZAZOVI, KONTROLE I REZULTATI AUDITA

Helena Šokić

*Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ribarstva,
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane, Planinska 2a,
10000 Zagreb*

Sažetak

Klimatske promjene, osobito porast temperature mora u mediteranskom području, znatno utječu na akvakulturu te pridonose povećanoj pojavnosti bolesti kod uzgajanih organizama, pri čemu povišene temperature pogoduju razvoju patogena i smanjuju otpornost riba. U takvim je uvjetima primjena lijekovite hrane za životinje važan alat u kontroli bolesti, no u Republici Hrvatskoj ne postoji objekt odobren za njezinu proizvodnju, zbog čega se lijekovita hrana za ribe osigurava unosom iz drugih država članica Europske unije. Postupak njezine primjene temelji se na izdavanju veterinarskog recepta u skladu s Uredbom (EU) 2019/4, uz prethodno provedene bakteriološke pretrage i antibiogram, dok nadležno tijelo vodi evidenciju i izdaje rješenja o unosu i uporabi. S ciljem procjene usklađenosti sustava s pravnom stečevinom Europske unije, u lipnju 2025. godine proveden je audit u području hrane za životinje, uključujući lijekovitu hranu za životinje. Utvrđeno je da su organizacijski i administrativni kapaciteti, uključujući sustav registracije i odobravanja subjekata te osposobljavanje osoblja, uspostavljeni na zadovoljavajućoj razini i omogućuju provedbu službenih kontrola. Međutim, identificirani su i određeni nedostaci, osobito u području homogenosti miješanja i kontrole križne kontaminacije, gdje pojedini testovi nisu bili u potpunosti usklađeni s propisanim zahtjevima, a ranije utvrđene neusklađenosti nisu bile adekvatno adresirane. Također su uočene nepravilnosti u tumačenju rezultata uzorkovanja, osobito u slučajevima prijenosa kokcidiostatika u neciljanu hranu za životinje. Rezultati audita upućuju na potrebu daljnjeg unapređenja provedbe službenih kontrola, s naglaskom na dosljednu primjenu propisa, jačanje nadzora nad proizvodnim procesima te preciznije tumačenje rezultata ispitivanja. Sustavno unapređenje ovih elemenata ključno je za osiguranje sigurnosti hrane za životinje i učinkovitu primjenu lijekovite hrane u uvjetima rastućih izazova u akvakulturi.

Ključne riječi: lijekovita hrana za životinje, akvakultura, audit, službene kontrole, homogenost, križna kontaminacija

MEDICATED FEED FOR ANIMALS: CURRENT CHALLENGES, CONTROLS AND AUDIT RESULTS

Abstract

Climate change, particularly the increase in sea temperature in the Mediterranean region, has a significant impact on aquaculture and contributes to a higher incidence of diseases in farmed organisms, as elevated temperatures promote pathogen development and reduce fish resistance. Under such conditions, medicated feed represents an important tool for disease control; however, in the Republic of Croatia there are no approved establishments for its production, and medicated feed for fish is therefore supplied through intra-EU trade. Its use is based on a veterinary prescription in accordance with Regulation (EU) 2019/4, following bacteriological testing and antimicrobial susceptibility testing, while the competent authority maintains records and issues authorisations for its entry and use. In order to assess compliance with the European Union acquis, an audit in the field of feed, including medicated feed, was conducted in June 2025. The findings indicate that organisational and administrative arrangements, including the system for registration and approval of feed business operators and staff training, are established at a satisfactory level and support the implementation of official controls. However, certain deficiencies were identified, particularly in relation to mixing homogeneity and cross-contamination control, where some tests were not fully compliant with regulatory requirements and previously identified non-compliances were not adequately addressed. In addition, inconsistencies were observed in the interpretation of sampling results, especially in cases involving the carry-over of coccidiostats into non-target feed. The audit results point to the need for further improvement of official control systems, with emphasis on consistent application of legislation, strengthened supervision of production processes, and more accurate interpretation of analytical results. Systematic enhancement of these elements is essential for ensuring feed safety and the effective use of medicated feed under increasingly challenging conditions in aquaculture.

Key words: medicated feed; aquaculture; audit; official controls; homogeneity; cross-contamination

MIKROPLASTIKA KAO NOVI KONTAMINANT STOČNE HRANE: REZULTATI MONITORINGA I ANALITIČKI IZAZOVI

*Marcela Šperanda, Mislav Đidara, Zvonko
Antunović, Darko Kerovec, Daria Petrović*

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira
Preloga 1, 31000 Osijek*

Sažetak

Mikroplastika (MP) obuhvaća heterogenu skupinu plastičnih čestica veličine manje od 5 mm koje su posljednjih godina prepoznate kao novi i sveprisutni kontaminanti okoliša, ali i stočne hrane. Unos mikroplastike putem hrane predstavlja kontinuiranu i kumulativnu izloženost. Cilj rada bio je odrediti broj i masu čestica mikroplastike, distribuciju polimera čestica mikroplastike u uzorcima hrane za životinje i izračunati ponderirani hazard indeks. Mikroplastika je određena u ukupno 17 uzoraka stočne hrane. Homogenizirani uzorci razoreni su primjenom višefaznog protokola (alkalnom digestijom i oksidacijskom razgradnjom organske tvari). Identifikacija mikroplastike provedena je FTIR mikroskopijom (Lumos II; Bruker), opremljenom FPA detektorom. Utvrđen je medijan broja čestica mikroplastike u hrani za: svinje 74; goveda 232,4; janjad 34,5; koze 19; krmiva 97,5. Najveći prosječni ukupni broj čestica mikroplastike utvrđen je u smjesama za goveda (232,3) i svinje (200,6), dok je najveća masa mikroplastike izmjerena u smjesama za svinje (22,6 µg). Nazastupljeniji polimer (prema broju čestica) u hrani za svinje, goveda, janjad i u krmivima jest polietilen, a nitrilna guma u hrani za koze. Prema Xu i sur. (2018) hrana za svinje, goveda, janjad i silaža imaju umjeren indeks opasnosti od čestica mikroplastike (kategorija II), ponderiran na broj čestica mikroplastike, a prema masi čestica nizak indeks opasnosti (kategorija I). Analitički su izazovi ograničena detekcija vrlo malih čestica, moguća interferencija ostataka organske tvari, preklapanje spektralnih signala te potreba za pouzdanom identifikacijom polimera i smanjenjem rizika od kontaminacije uzoraka.

Ključne riječi: mikroplastika, stočna hrana, FTIR mikroskopija, indeks opasnosti

MICROPLASTICS AS AN EMERGING CONTAMINANT IN ANIMAL FEED: MONITORING RESULTS AND ANALYTICAL CHALLENGES

Abstract

Microplastics (MPs) are a heterogeneous group of plastic particles smaller than 5 mm that have recently been recognized as emerging contaminants in the animal feed. MP intake through feed can lead to continuous and cumulative exposure, particularly in intensive production systems. The aim of this study was to determine the number and mass of microplastic (MP) particles, characterize the polymer distribution of MPs in animal feed samples, and calculate the weighted hazard index. MP content was determined in a total of 17 animal feed samples. Homogenized samples were processed using a multi-stage protocol involving alkaline digestion and oxidative degradation of organic matter. MP identification was performed using FTIR microscopy (Lumos II; Bruker) equipped with an FPA detector. The median number of MP particles was 74 in pig feed, 232.4 in cattle feed, 34.5 in lamb feed, 19 in goat feed, and 97.5 in feed ingredients. The highest mean total number of MP particles was found in cattle feed (232.3) and pig feed (200.6), whereas the highest MP mass was measured in pig feed (22.6 µg). Polyethylene was the most prevalent polymer, based on particle count, in feed for pigs, cattle, and lambs, as well as in feed ingredients, whereas nitrile rubber was the most prevalent polymer in goat feed. According to Xu et al. (2018), feed for pigs, cattle, and lambs, as well as silage, exhibited a moderate hazard index (Category II) when weighted by microplastic particle count, but a low hazard index (Category I) when weighted by particle mass. The main analytical challenges include potential interference from residual organic matter, overlapping spectral signals, the need for reliable polymer identification, and the risk of sample contamination.

Key words: microplastic; feed; FTIR microscopy; hazard index

OKOLIŠNA DNK KAO ALAT ZA DETEKCIJU I KVANTIFIKACIJU BAKTERIJE *VIBRIO HARVEYI* U AKVAKULTURI

Dora Grbin¹, Matea Alfier¹, Ivana Giovanna Zupčić¹,
Dražen Oraić¹, Matea Kolega², Snježana Zrnčić¹

¹Laboratorij za bolesti akvatičnih životinja, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; ²Cromaris d.d., Zadar, Hrvatska

Sažetak

Vibrio harveyi prirodno je prisutan u morskim ekosustavima i dio je uobičajene crijevne mikrobiote brojnih morskih organizama, ali je posljednjih desetljeća postao važan bakterijski patogen u marikulturi. Pojavnost infekcija u mediteranskoj akvakulturi raste kao posljedica promjenjivih uvjeta okoliša i klimatskih promjena u morskom okolišu. Cilj je istraživanja bio procijeniti primjenjivost okolišne DNK (eDNK) za rano otkrivanje i kvantitativno praćenje bakterije *V. harveyi* na komercijalnom uzgajalištu lubina (*Dicentrarchus labrax*). Uzorci morske vode (1 L) prikupljeni su na približno 20 cm i 2 m dubine te filtrirani kroz nitrocelulozne membrane pora 0,45 µm. Biofilm je uzorkovan brisom površine kavezne cijevi (10 × 2 cm), a obraštaj struganjem na razini vodene linije. Uzorkovane su i škrge i probavne žlijezde mediteranske dagnje (*Mytilus galloprovincialis*) pričvršćene uz konstrukciju kaveza te bubreg, jetra, slezena, škrge i srce lubina s kliničkim znakovima vibrioze. DNK je izdvojena komercijalnim kompletima, a za apsolutnu kvantifikaciju razvijen je vrstno specifičan kvantitativni PCR u stvarnom vremenu (qPCR). DNK bakterije *V. harveyi* utvrđena je u morskoj vodi, biofilmu, dagnjama i tkivima klinički oboljelih lubina, dok u uzorku obraštaja nije zabilježena amplifikacija. Najveće je bakterijsko opterećenje utvrđeno u tkivima riba, osobito u škragama, s vrijednostima do $2,3 \times 10^7$ kopija g⁻¹. U morskoj vodi na obje dubine utvrđeno je približno $2 - 3 \times 10^3$ kopija L⁻¹, a u biofilmu s kaveznih cijevi 30 - 190 kopija cm⁻². Dagnje su također bile pozitivne, pri čemu je veće opterećenje utvrđeno u škragama nego u probavnim žlijezdama. Kvantitativno praćenje *V. harveyi* u uzorcima iz okoliša, uz analizu tkiva riba i mogućih rezervoara, može omogućiti rano prepoznavanje povećane prisutnosti uzročnika bolesti u okolišu morskog uzgajališta riba i potaknuti pravodobnu provedbu preventivnih mjera prije pojave kliničke bolesti.

Ključne riječi: *Vibrio harveyi*, okolišna DNK, qPCR, lubin, marikultura, kvantifikacija

Zahvala: Istraživanje je financirala Europska unija - NextGenerationEU, uz potporu Ministarstva znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske, putem projekta Hrvatskog veterinarskog instituta NPOO 8 *Doprinos razumijevanju prisustva i patogenosti bakterije Vibrio harveyi u marikulturi - ViHMar*.

ENVIRONMENTAL DNA AS A TOOL FOR THE DETECTION AND QUANTIFICATION OF *VIBRIO HARVEYI* IN AQUACULTURE

Abstract

Vibrio harveyi is naturally present in marine ecosystems and forms part of the normal intestinal microbiota of many marine organisms, but over recent decades it has become an important bacterial pathogen in mariculture. The prevalence of *V. harveyi* infections in Mediterranean aquaculture has increased, likely due to changing environmental conditions and climate change. This study aimed to assess the applicability of environmental DNA (eDNA) for early detection and quantitative monitoring of *V. harveyi* at a commercial European seabass (*Dicentrarchus labrax*) farm. Seawater samples (1 L) were collected at approximately 20 cm and 2 m depth and filtered through 0.45 µm nitrocellulose membranes. Biofilm was sampled by swabbing a 10 × 2 cm area of cage pipe, while fouling was scraped from the waterline. Gills and digestive glands were sampled from Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) attached to cage pipes, and kidney, liver, spleen, gills and heart were collected from European seabass showing clinical signs of vibriosis. DNA was extracted using commercial kits, and a species-specific quantitative real-time PCR (qPCR) assay was developed for absolute quantification. *Vibrio harveyi* DNA was detected in seawater, cage biofilm, mussels and tissues of clinically affected seabass, whereas no amplification was obtained from the fouling sample. The highest bacterial loads were found in fish tissues, particularly the gills, reaching 2.3×10^7 copies g⁻¹. Seawater collected at both depths contained approximately $2-3 \times 10^3$ copies L⁻¹, while cage-pipe biofilm contained 30-190 copies cm⁻². Mussels were also positive, with higher bacterial loads in the gills than in the digestive glands. Quantitative monitoring of *V. harveyi* in environmental samples, supported by analysis of fish tissues and potential reservoirs, may enable early detection of increased pathogen abundance in mariculture systems and timely implementation of preventive measures before the onset of clinical disease.

Key words: *Vibrio harveyi*; environmental DNA; qPCR; European seabass; mariculture; quantification

Acknowledgment: This study was funded by the European Union - NextGenerationEU and supported by the Ministry of Science and Education of the Republic of Croatia through project No. NPOO 8 of the Croatian Veterinary Institute, "Advancing the Understanding of the Presence and Pathogenicity of *Vibrio harveyi* in Mariculture - ViHMar".

IMUNOHISTOKEMIJSKI PRISTUP DOKAZIVANJU PATOGENOSTI BAKTERIJE *VIBRIO HARVEYI* U EUROPSKOG LUBINA (*DICENTRARCHUS LABRAX*)

Ivana Kolačko, Dinko Novosel, Dunja Vlahović,
Karmen Branović Čakanić, Snježana Zrnčić,
Dražen Oraić

Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Bakterija *Vibrio harveyi* jedna je od najvažnijih emergentnih patogena u sredozemnoj marikulturi, uzrokujući visoku smrtnost, usporen rast i znatne ekonomske gubitke u uzgoju europskog lubina (*Dicentrarchus labrax*). Kako bi se razjasnili mehanizmi njezine patogeneze i definirala uloga bakterijskih stanica u odnosu na njihove ekstracelularne produkte (ECP), u sklopu projekta VihMar i pripadajućeg doktorskog istraživanja provedeno je istraživanje dvaju izolata različita podrijetla – izolata A27 izdvojenog iz crijevnog mikrobioma klinički zdrave ribe te izolata 94/17 dobivenog iz klinički oboljelog lubina – te je razvijen i primijenjen specifični imunohistokemijski (IHC) pristup. Eksperimentalni modeli infekcije obuhvatili su tri različita puta ulaska patogena u organizam – intraperitonealnu infekciju (bakterijske suspenzije i ekstracelularni produkt), kupku i kohabitaciju – čime su stimulirani prirodni uvjeti infekcije i praćene razlike u tkivnom odgovoru. Za osjetljivost i specifičan prikaz uzročnika u tkivima proizvedena su tri tipa poliklonskih protutijela u kunićima: na intaktne bakterijske stanice, na proteine supernatanta stanične kulture (ECP) te na odabrane proteinske frakcije izrezane s SDS-PAGE gela u rasponu od 20 do 60 kDa. Histološki uzorci fiksirani su u formalinu, dekalificirani komercijalnim agensom te uklopljeni u parafin. Preliminarnim pokušajima optimiziran IHC protokol uključio je demaskiranje antigena (citrati pufer/proteinaza K), blokiranje endogene peroksidaze i nespecifičnog vezivanja te primjenu polimernog detekcijskog sustava s DAB kromogenom. Imunohistokemijskom analizom tkiva ribe A27, primjenom poliklonskih protutijela dobivenih imunizacijom kunića cijelom bakterijskom stanicom izolata 94/17 te uz primjenu citratnog pufera (10 minuta) za demaskiranje antigena, uočen je pozitivan imunohistokemijski signal. Pozitivna reakcija očituje se kao lokalizirano smeđe obojenje u obliku sitnih, nepravilno raspoređenih struktura, prisutnih u potkožnom vezivnom tkivu uz rub mišićnog tkiva. Dobiveni preliminarni rezultati potvrđuju primjenjivost razvijenog IHC protokola te pruža temelj za daljnju evaluaciju distribucije patogena u tkivima europskog lubina ovisno o primijenjenom modelu infekcije.

Ključne riječi: *Vibrio harveyi*, europski lubin, imunohistokemija, poliklonska protutijela

IMMUNOHISTOCHEMICAL APPROACH TO DEMONSTRATING THE PATHOGENICITY OF THE BACTERIUM *VIBRIO HARVEYI* IN EUROPEAN SEA BASS (*DICENTRARCHUS LABRAX*)

Abstract

The bacterium *Vibrio harveyi* is one of the most significant emerging pathogens in Mediterranean mariculture, causing high mortality, growth retardation and substantial economic losses in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) farming. To elucidate the mechanisms of its pathogenesis and define the roles of bacterial cells and their extracellular products (ECP), the VihMar project and associated doctoral research investigated two isolates of different origin – isolate A27, obtained from the intestinal microbiome of a clinically healthy fish, and isolate 94/17, obtained from a clinically diseased sea bass – and developed and applied a specific immunohistochemical (IHC) approach. Experimental infection models encompassed three distinct routes of pathogen entry into the organism – intraperitoneal infection (bacterial suspensions and extracellular product), immersion and cohabitation – thereby simulating natural infection conditions and allowing monitoring of differences in tissue response. For sensitive and specific visualization of the pathogen in tissues, three types of polyclonal antibodies were produced in rabbits: against intact bacterial cells, against cell culture supernatant proteins (ECP), and against selected protein fractions excised from an SDS-PAGE gel in the range of 20 to 60 kDa. Histological samples were fixed in formalin, decalcified using a commercial agent and embedded in paraffin. Optimized through preliminary trials, the IHC protocol included antigen retrieval (citrate buffer/proteinase K), blocking of endogenous peroxidase and non-specific binding, and the application of a polymeric detection system with DAB chromogen. Immunohistochemical analysis of the tissues of fish infected with isolate A27, using polyclonal antibodies obtained by rabbit immunization with the whole bacterial cell of isolate 94/17 and citrate buffer (10 minutes) for antigen retrieval, revealed a positive immunohistochemical signal. The positive reaction was manifested as localized brown staining in the form of small, irregularly distributed structures present in the subcutaneous connective tissue along the edge of the muscle tissue. These preliminary results confirm the applicability of the developed IHC protocol and provide a foundation for further evaluation of pathogen distribution in European sea bass tissues depending on the applied infection model.

Key words: *Vibrio harveyi*, European sea bass, immunohistochemistry, polyclonal antibodies



OD LIČINKE VELIKOG VOSKOVA MOLJCA DO LUBINA: PUT PREMA ETIČNIJIM ISTRAŽIVANJIMA U SKLADU S NAČELOM 3R

Matea Alfier¹, Dora Grbin¹, Snježana Zrnčić¹, Dražen Oraić¹, Karmen Branović Čakanić², Ivana Kolačko², Ivana Giovanna Zupčić¹

¹Laboratorij za bolesti akvatičnih životinja, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, Zagreb; ²Laboratorij za transmisivne spongiformne encefalopatije, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, Zagreb

Sažetak

Uporaba životinja u eksperimentalnim istraživanjima važna je za razumijevanje složenih bioloških procesa i interakcija domaćin – patogen, no uporaba životinja, a posebice kralježnjaka, zahtijeva odgovoran i etički pristup. Načelo 3R – *Replacement, Reduction, Refinement* usmjereno je na zamjenu životinja alternativnim modelima, smanjenje njihova broja i unapređenje postupaka radi smanjenja patnje. U akvakulturi se tradicionalno upotrebljavaju modeli poput zebrića, no zbog zahtjevnosti, troškova i ograničene tolerancije na salinitet one nisu prikladne za proučavanje halofilnih morskih patogena. Ličinke velikog voskova moljca (*Galleria mellonella*) jednostavan su i pouzdan alternativni model koji ne zahtijeva akvarijsku infrastrukturu i ima urođeni imunosni sustav sličan ribljemu. U istraživanju je procijenjena prikladnost voskova moljca za proučavanje virulentnosti bakterije *Vibrio harveyi*, važnog patogena mediteranske akvakulture koji uzrokuje veliki mortalitet i gospodarske gubitke, osobito u uzgoju lubina (*Dicentrarchus labrax*). U patogenezi *V. harveyi* važnu ulogu imaju izvanstanični produkti (engl. *extracellular products*, ECP), uključujući enzime i toksine koji oštećuju stanice i tkiva domaćina. Virulentnost dvaju izolata, 94/17, izdvojenog iz klinički bolesne ribe, i A27, izdvojenog iz crijeva klinički zdrave ribe, ispitana je na ličinkama voskova moljca te paralelno na lubinu kako bi se utvrdila podudarnost rezultata. Ličinke su inokulirane bakterijskim suspenzijama u koncentracijama 10^5 – 10^8 CFU/mL, bakterijskim supernatantima i toplinski inaktiviranim bakterijskim stanicama. Oba su izolata uzrokovala infekciju i dozno ovisnu smrtnost ličinki. Primjena bakterijskih supernatanta rezultirala je 53,3 %-tnom smrtnošću za izolat 94/17 i 56,7 %-tnom za izolat A27, što potvrđuje toksičnost ekstracelularnih produkata. Sličan obrazac mortaliteta utvrđen je i u lubina, uz brza uginuća nakon primjene visokih doza i dozno ovisno preživljavanje pri nižim inokulumima. LD₅₀ za oba izolata iznosio je približno 10^5 CFU/mL u ličinki i ribi. Rezultati pokazuju da *G. mellonella*

može biti pouzdan komplementarni *in vivo* model za proučavanje virulentnosti *V. harveyi* te pridonijeti smanjenju uporabe kralježnjaka i primjeni načela 3R u istraživanjima u akvakulturi.

Ključne riječi: alternativni model, načelo 3R, *Vibrio harveyi*, *Galleria mellonella*, *Dicentrarchus labrax*

FROM GREATER WAX MOTH LARVAE TO EUROPEAN SEABASS: ADVANCING ETHICAL RESEARCH THROUGH THE 3RS PRINCIPLE

Abstract

The use of animals in experimental research is important for understanding complex biological processes and host-pathogen interactions; however, the use of animals, particularly vertebrates, requires a responsible and ethical approach. The 3Rs principle – Replacement, Reduction, and Refinement – aims to replace animals with alternative models, reduce the number of animals used, and refine procedures to minimize suffering. In aquaculture, models such as zebrafish are traditionally used; however, due to their experimental requirements, cost, and limited salinity tolerance, they are not suitable for studying halophilic marine pathogens. Larvae of the greater wax moth (*Galleria mellonella*) represent a simple and reliable alternative model that does not require aquarium infrastructure and possesses an innate immune system comparable to that of fish. This study evaluated the suitability of *G. mellonella* for investigating the virulence of *Vibrio harveyi*, an important pathogen in Mediterranean aquaculture that causes high mortality and economic losses, particularly in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) farming. Extracellular products (ECP), including enzymes and toxins that damage host cells and tissues, play an important role in the pathogenesis of *V. harveyi*. The virulence of two isolates, 94/17, recovered from a clinically diseased fish, and A27, recovered from the intestine of a clinically healthy fish, was evaluated in *G. mellonella* larvae and with a parallel experiment conducted in European seabass to determine whether comparable results could be observed in fish. Larvae were inoculated with bacterial suspensions at concentrations of 10^5 – 10^8 CFU/mL, bacterial supernatants, and heat-inactivated bacterial cells. Both isolates successfully caused infection and dose-dependent mortality in the larvae. Application of bacterial supernatants resulted in 53.3% mortality for isolate 94/17 and 56.7% for isolate A27, confirming the toxicity of the extracellular products. A similar mortality pattern was observed in European seabass,

with rapid mortality following administration of high doses and dose-dependent survival at lower inocula. The LD₅₀ for both isolates was approximately 10⁵ CFU/mL in both larvae and fish. These results indicate that *G. mellonella* can serve as a reliable complementary in vivo model for studying the virulence of *V. harveyi* and may contribute to reducing vertebrate use and promoting the application of the 3Rs principle in aquaculture research.

Key words: alternative model; 3Rs principle; *Vibrio harveyi*; *Galleria mellonella*; *Dicentrarchus labrax*



VETERINARSKI DANI

znanstveno stručni skup s
međunarodnim sudjelovanjem

22.-25.10.2026.

PULA
Park Plaza Histria

ORGANIZATORI:
HRVATSKA VETERINARSKA KOMORA
VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT



POSTER SEKCIJA

VIŠE OD VETERINARSKE MEDICINE: DOPRINOS DRUŠTVENO-HUMANISTIČKIH DJELATNOSTI DOBROBITI, OTPORNOSTI I POVEZANOSTI VETERINARSKE ZAJEDNICE

Iva Lehunšek Panić^{1*}, Hrvoje Capak², Jovana Ivanić³

¹Ured za razvoj karijere, akademsko i psihološko savjetovanje, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb, Hrvatska; ²Zavod za rendgenologiju, ultrazvučnu dijagnostiku i fizikalnu terapiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb, Hrvatska; ³Središnja knjižnica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Suvremena se veterinarska profesija suočava s izazovima koji nadilaze područje biomedicinskih znanosti, zbog čega je u razdoblju od 2023. do 2026. godine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu razvijen niz interdisciplinarnih aktivnosti usmjerenih jačanju dobrobiti, osobnih i profesionalnih kompetencija studenata i zaposlenika. Djelovanjem Ureda za razvoj karijere, akademsko i psihološko savjetovanje (URKAPS) i Središnje knjižnice provedene su radionice o upravljanju stresom, samoregulaciji, komunikacijskim vještinama, kriznom komuniciranju i karijernom razvoju te aktivnosti povezane s internacionalizacijom i Erasmus+ programima, s posebnim naglaskom na mentalno zdravlje i profesionalnu otpornost. Istodobno su organizirani brojni kulturni i društveni sadržaji, uključujući čitateljski klub, književne rasprave, planinarska druženja, programe za djecu zaposlenika te fotografske izložbe koje su povezale veterinarsku struku, umjetnost i knjižničarsku djelatnost, među kojima se ističu izložbe *Godina čitanja kroz objektiv knjižničara* i *Esencija konja*. Suradnja s lokalnom zajednicom ostvarena je putem posjeta djece predškolske dobi Fakultetu te projekte provedene u partnerstvu s organizacijama civilnog društva i udrugama, uključujući radionicu u okviru projekta SAMESEA financiranog putem programa Interreg IPA ADRION. Doprinos interdisciplinarnom dijalogu potvrđen je i održavanjem okruglog stola *Društvene i humanističke znanosti u visokom veterinarskom obrazovanju*, na kojemu je naglašena potreba integracije humanističkih sadržaja u obrazovanje budućih doktora veterinarske medicine. Navedene aktivnosti potvrđuju važnu ulogu psihologa, pedagoga, knjižničara, stručnjaka za karijerni razvoj, komunikaciju, kulturu i obrazovanje u razvoju emocionalne otpornosti, komunikacijskih i socijalnih kompetencija, profesionalnog identiteta i kvalitete radnog okruženja te doprinose stvaranju uključive, podržavajuće i održive veterinarske akademske zajednice.

Ključne riječi: dobrobit veterinarske zajednice, interdisciplinarnost, društvene i humanističke znanosti, mentalno zdravlje, profesionalni razvoj, veterinarsko obrazovanje, organizacije civilnog društva

BEYOND VETERINARY MEDICINE: THE CONTRIBUTION OF SOCIAL SCIENCES AND HUMANITIES TO THE WELL-BEING, RESILIENCE, AND CONNECTEDNESS OF THE VETERINARY COMMUNITY

Abstract

The contemporary veterinary profession faces challenges that extend beyond the scope of biomedical sciences. In response, a range of interdisciplinary activities aimed at strengthening the well-being and personal and professional competencies of students and staff were developed at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, between 2023 and 2026. Through the activities of the Career Development, Academic and Psychological Counselling Office (URKAPS) and the Central Library, workshops were organized on stress management, self-regulation, communication skills, crisis communication, and career development, alongside initiatives related to internationalization and Erasmus+ programmes, with a particular emphasis on mental health and professional resilience. At the same time, numerous cultural and social activities were organized, including a book club, literary discussions, hiking events, programmes for employees' children, and photography exhibitions that connected veterinary medicine, art, and librarianship. Notable examples include the exhibitions *"The Year of Reading Through a Librarian's Lens"* and *"The Essence of Horses."* Collaboration with the local community was fostered through visits of preschool children to the Faculty and projects implemented in partnership with civil society organizations and associations, including a workshop within the SAMESEA project funded by the Interreg IPA ADRION Programme. The importance of interdisciplinary dialogue was further highlighted through the roundtable discussion *"Social Sciences and Humanities in Higher Veterinary Education,"* which emphasized the need to integrate humanities-related content into the education of future veterinarians. These activities demonstrate the significant contribution of psychologists, pedagogues, librarians, career development specialists, communication experts, cultural professionals, and educators to the development of emotional resilience, communication and social competencies, professional identity, and the quality of the working environment. Ultimately, they contribute to the creation of an inclusive, supportive, and sustainable veterinary academic community.

Key words: veterinary community well-being; interdisciplinarity; social sciences and humanities; mental health; professional development; veterinary education; civil society organizations

OD BAŠTINE VETERINARSKOG FAKULTETA DO NACIONALNOG SIMBOLA U SLUŽBI BIOSIGURNOSTI ŽIVOTINJA

Maja Popović Nikolić Džolan¹, Branimira Špoljarić¹ Sanja Berić², Matea Gale¹, Silvijo Vince¹, Goran Kiš³, Željana Klječanin Franić⁴, Lidija Kozačinski¹, Amina Hrković⁵, Daniel Špoljarić

¹Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska; ²Sveučilišna bolnica "Sveti Duh", Zagreb, Hrvatska; ³Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska; ⁴Medicinska naklada d. o. o., Zagreb, Hrvatska; ⁵Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Sažetak

Iris croatica, poznata kao hrvatska perunika, duboko je ukorijenjena u hrvatskom identitetu i često se ističe kao simbol prirodne ljepote zemlje. Njezin se prepoznatljiv izgled često nalazi na raznim promotivnim materijalima, suvenirima i logotipima, čime se naglašava važnost očuvanja prirodne baštine Hrvatske. Ovu je biljku prvi opisao prof. dr. sc. Ivo Horvat tijekom svojega rada na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, čime je ostavio trag u znanstvenoj i stručnoj zajednici Republike Hrvatske. Njezin prepoznatljiv izgled i važnost u očuvanju prirode čine je simbolom hrvatske prirodne baštine. Osim što je estetski vrlo atraktivna, *Iris croatica* ima i važnu ulogu u održavanju zdravih staništa te podržci lokalnim ekosustavima. Zbog svoje je endemičnost i ugroženosti hrvatska perunika strogo zaštićena vrsta prema zakonima Republike Hrvatske, a njezina zaštita zahtijeva aktivne mjere – od očuvanja prirodnih staništa do edukacije javnosti i promicanja odgovornog odnosa prema prirodi. *Iris croatica*, uz estetsku i ekološku vrijednost, posjeduje istodobno i toksični potencijal za preživače. Radi prevencije trovanja i zaštite zdravlja životinja važna je uspostava složenog sustava koji povezuje kontrolu kvalitete pašnjaka, upravljanje pašnjacima i edukaciju stočara. Redovite inspekcije i praćenje prisutnosti opasnih biljaka, uz primjenu modernih tehnologija za nadzor vegetacije, omogućuju pravodobnu reakciju i smanjuju rizik od konzumacije toksičnih dijelova *Iris croatica*. Upravljanje pašnjacima uključuje planiranje ispaše, postavljanje fizičkih prepreka te pravilno razmještanje životinja kako bi se spriječio pristup opasnim područjima. Edukacija stočara i vlasnika zemljišta, s naglaskom na prepoznavanje biljke i razumijevanje opasnosti, ključna je za pravodobno djelovanje i poduzimanje preventivnih mjera, poput označavanja sumnjivih područja ili čišćenja staništa. Te mjere, koje uključuju zaštitu prirode, edukaciju i kontrolu kvalitete upravljanja pašnjacima, osiguravaju dugoročno očuvanje ove rijetke i vrijedne biljke, istodobno štiteći zdravlje

životinja i očuvanje ekosustava. Takav integrirani sustav omogućuje održivi razvoj i odgovorno upravljanje prirodnim resursima Hrvatske za buduće generacije. Bottom of FormOvaj rad prikazuje poveznicu između povijesne znanstvene baštine Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i suvremenih biosigurnosnih protokola u stočarstvu.

Ključne riječi: hrvatska perunika, baština, nacionalni simbol, biosigurnost

Uvod

Baština Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu predstavlja skup vrijednosti, znanja, tradicija i postignuća koja su se prenosila s generacije na generaciju unutar ove nastavne i znanstvene institucije. Tradicija učenja i primjene znanja, etička načela u radu sa životinjama i ljudima te specifični načini rada i suradnje s društvom čine sastavni dio baštine Veterinarskog fakulteta. Očuvanje i njegovanje te baštine ključni su za očuvanje njegova identiteta, budući da je ona temelj za budući razvoj, inovacije i doprinos zdravlju i dobrobiti životinja, ljudi i okoliša. Baština Veterinarskog fakulteta nije samo prošlost nego i snaga koja ga pokreće prema novim izazovima i mogućnostima. Doprinos prof. dr. sc. Ive Horvata kao botaničara dodatno obogaćuje baštinu Veterinarskog fakulteta jer njegov rad na području botanike i istraživanja biljnih svojti proširuje znanja i tradiciju očuvanja biološke raznolikosti (slika 1). U svojem radu prof. dr. sc. I. Horvat istaknuo važnost biljnog svijeta za očuvanje ekološke ravnoteže i zdravlja životinja, čime je dodatno osnažio baštinu Fakulteta kao instituci-



Slika 1. Prof. dr. sc. Ivo Horvat 1945. (izvor: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu)



Slika 2. Digitaliziran herbarij biljke *Iris croatica* iz 1960. godine (izvor: Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu).

je koja njeguje interdisciplinarni pristup znanju. Njegove istraživačke aktivnosti i pedagoški rad ostavili su traga u očuvanju i popularizaciji biljne raznolikosti, čime je njegov rad postao sastavni dio kulturne i znanstvene baštine Veterinarskog fakulteta, simbol predanosti očuvanju prirode i zdravlju, u skladu s njegovom misijom (Vlahović i sur., 2021.).

Prof. dr. sc. Ivo Horvat (Čazma, 7. listopada 1897. – Zagreb, 23. travnja 1963.) bio je jedan od najznačajnijih hrvatskih botaničara i prirodoslovaca svojega vremena. Svojim je istraživanjima ostavio važan trag u proučavanju biljnog svijeta Jugoslavije i Balkanskoga poluotoka (Bertović, 1963.). Tijekom četrdesetak godina znanstvenoga rada osobito se istaknuo u fitocenologiji, odnosno proučavanju biljnih zajednica, a njegova su istraživanja bila utemeljena na načelima Braun-Blanquetove škole. Važan dio Horvatove karijere odvijao se na Zavodu za botaniku Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, gdje je radio od 11. lipnja 1947. do svoje smrti. Ondje je, uz suradnju supruge Marije, detaljno opisao hrvatsku peruniku (*Iris croatica*) (Horvatić, 1963.). Horvatova znanstvena djelatnost obuhvaćala je niz područja. Proučavao je sistematiku i filogeniju paprati, mahovine te floru i vegetaciju, a bavio se i kartiranjem biljnih zajednica. Posebno je istraživao šumske, livadne i druge biljne zajednice planinskih i pretplaninskih područja. Terenski

rad često ga je vodio u udaljene i teško pristupačne krajeve Hrvatske i drugih balkanskih zemalja. Na temelju svojih istraživanja oblikovao je nove poglede na sastav i rasprostranjenost vegetacije te njezinu raspodjelu u različitim visinskim pojasevima Balkana. Horvatov rad odlikovali su široko znanje, istraživačka upornost i sposobnost osmišljavanja i organiziranja različitih znanstvenih projekata. Objavio je 80 znanstvenih radova, pet zasebnih djela, približno 90 stručnih članaka, publikacija i recenzija te dvadesetak znanstveno-popularnih tekstova (Bertović, 1963.). Osim brojnih publikacija, iza prof. dr. sc. I. Horvata su ostale i vrijedne znanstvene zbirke. Karpološka zbirka nakon njegove smrti smještena je u prostorijama Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Essert i sur., 2021.). Herbarijski materijal koji je prikupio tijekom terenskih istraživanja njegova je supruga Marija, u skladu s njegovom oporukom, predala Farmaceutskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Herbarij Ive i Marije Horvat vrijedan je zbir prirodnih biljnih uzoraka koji svjedoči o bogatstvu biljne raznolikosti Hrvatske, osobito područja koje je obuhvaćala njihova zbirka. Među brojnim su biljkama osobito zastupljene različite vrste perunika (*Iris* spp.), koje imaju posebnu važnost zbog svoje ljepote, endemizma i simboličke (Vlahović i sur., 2021.) (slika 2).

Perunika je u različitim kulturama od davnina bila povezana s vlašću, vjerom i božanskom

zaštitom. Tri dijela njezina cvijeta često su se tumačila kao simboli vjere, mudrosti i hrabrosti. U indijskoj i egipatskoj tradiciji cvijet se povezivao sa životom i ponovnim rođenjem, dok je u starom Egiptu označavao uzvišenost i moć. Perunika se, prema nekim tumačenjima, smatra i uzorom za oblik žezla. Faraon Tutmozis III. dao je njezin lik prikazati na zidovima svoje palače. Grčka mitologija peruniku povezuje s božicom Iris, odnosno Iridom, koja je preko duge prenosila poruke bogova ljudima. Predaja kaže da bi na mjestu gdje bi se duga spustila na zemlju niknuo cvijet, svaki put drukčije boje. Pojedine boje perunike dobile su i simbolična značenja: ljubičasta se povezuje s mudrošću i pozdravima, plava s nadom i vjerom, žuta sa strašću, a bijela s čistoćom i nevinošću. Jedna europska predaja pripovijeda o franačkom kralju Klodvigu I., koji je bježeći pred Alemanima stigao do rijeke. U vodi je ugledao žute perunike i zaključio da je ondje plicak. Prešavši rijeku na konju, uspio je izbjeći opasnost. Smatrao je da mu je cvijet pokazao put do spasa te ga je, prema predaji, odabrao kao znak svoje vladarske kuće. U srednjovjekovnoj heraldici perunika se s vremenom poistovjetila s ljiljanom (*Lilium*), iako je riječ o različitim biljkama. Pod nazivom „ljiljan“ njezin stilizirani oblik postao je čest ukras europskih grbova. Kao simbol se povezuje s francuskom vladarskom lozom Anžuvina, a preko dinastičkih veza našala se i u obilježjima hrvatsko-ugarskih Arpadovića te velikaških obitelji Vukčića-Hrvatinića i Kotromanića. Prikazi perunike mogu se pronaći i na brojnim stećcima iz 14. i 15. stoljeća. I u Hrvatskoj je ovaj cvijet poznat od davnina. Njegovo se ime povezuje sa slavenskom mitologijom, odnosno s bogom Perunom i njegovom ženom Perunikom. Prema narodnim predajama, ondje gdje bi Perunova munja pogodila tlo niknula bi perunika, i to u različitim bojama. U kajkavskim krajevima božica Perunika bila je poznata i kao Ljelja, pa se ondje za cvijet rabi naziv ljeljuja. Na dubrovačkom području poznat je naziv bo-

giša. Zabilježen je i običaj da se djeci oko vrata veže korijen perunike kao zaštita od uroka (Šarlija, 2014.). Perunika u Hrvatskoj ima i niz drugih narodnih imena, primjerice maćinac, sablja, sabljarka, strijelka, aleluja, lelija, koludrica, kavran, višća, cvit nebeski i nožan. U svakodnevnom govoru nazivi perunika i iris katkad se upotrebljavaju različito. Prema građi cvijeta, irisi se dijele na bradate (*Pogon iris*) i bezbrade (*Apogon iris*). U narodnom nazivlju bradate se vrste često nazivaju perunikama, a bezbrade irisima. Uz peruniku su vezana i brojna vjerovanja iz poljoprivredne tradicije. Naziv bogiša odražava vjerovanje da je cvijet dar bogova. Ljudi su ga sadili uz kuće jer su vjerovali da štiti dom i urod od groma, požara i drugih nevolja. Pri sadnji ili presađivanju izgovarali su blagoslove, nadajući se da će perunika donijeti blagostanje kući, staji i poljima (slika 3).

Prema starom vjerovanju, perunika može sačuvati bračnu vjernost. Žena koja sumnja da joj je suprug nevjeran trebala bi ubrati samoniklu peruniku i unijeti je u svoj dom. Vjerovalo se da je još djelotvornije ako je sama uzgoji, pa se perunika često sadila u vrtovima i okućnicama. Prema Florističkoj bazi Hrvatske (Nikolić, 2019.), u Hrvatskoj raste 12 samoniklih svojti perunika, a uzgajaju se i tri kultivirane vrste. Pojam svojta neutralan je botanički naziv koji obuhvaća bilo koju taksonomsku kategoriju. Ovih, ukupno 15 perunika hrvatske flore, poznate su pod sljedećim stručnim (latinskim) nazivima: *Iris croatica* Horvat et Horvat M.; *Iris sibirica* L. subsp. *erirrhiza* (Pospichal) Wraber; *Iris adriatica* Trinajstić ex Mitić; *Iris graminea* L.; *Iris illyrica* Tömm.; *Iris pseudoacorus* L.; *Iris × rotchildii* Degen; *Iris germanica* L. (incl. *I. florentina* L.); *Iris reichenbachii* Heuf.; *Iris sibirica* L. subsp. *Sibirica*; *Iris pallida* Lam.; *Iris pseudopallida* Trinajstić; *Iris pumila* L.; *Iris variegata* L.; *Iris × sambucina* L.. Samoborsko gorje i područje Nacionalnog parka Krka, Perun je nagradio obiljem gromova uslijed čega tamo rastu zakonom zaštićene endemske vrste poput:



Slika 3. Hrvatska perunika uz vinograd na području R. Hrvatske (izvor: Matea Gale)



Slika 4. Hrvatski vrt perunika u Donjoj Stubici (izvor: https://matis.hr/casopis_matica).



Slika 5. *Iris croatica* (izvor: Matea Gale)



Slika 6. Marka Hrvatske pošte iz 1994. godine (izvor: https://matis.hr/casopis_matica)

močvarna perunika (*Iris pseudacorus*), ilirska perunika (*Iris illyrica*), te hrvatska perunika (*Iris croatica*), i (Šarlija, 2014.). U Hrvatskome vrtu perunika u Donjoj Stubici zasađeno je svih 15 perunika hrvatske flore, i to na površini oblika hrvatske države (slika 4).

Za vrijeme svojega rada na Veterinarskom fakultetu, od 1961. do 1962. godine, po prvi je put prof. dr. sc. Ivo Horvat, uz pomoć supruge Marije, vrlo je detaljno opisao novu vrstu perunike koju je još 1953. godine nazvao *Iris croatica* (hrvatska perunika) (slika 5). Hrvatska perunika najraširenija je visoka perunika na našim prostorima koja najčešće cvate tijekom svibnja. Vrlo je dekorativna, ugrožena te se smatra rijetkom vrstom. Zeljasta je trajnica sa snažnim rizomom, odnosno podzemnom stabljikom. Visina njezine nadzemne stabljike je do 70 cm. Listovi *Iris croatica* su snažni i dugački i/ili duži od nadzemne stabiljke koja je razgranjena, te njezini ogranci nose jedan do dva cvijeta. U doba cvatnje ovojni listovi najčešće su zeleni, odnosno crvenoljubičasti u svojim gornjim dijelovima. Biljka ima velike jednobojne modroljubičaste cvjetove koji su prekriveni žućkastom „bradom“ u donjoj trećini. Plodnica biljke može biti trobridna do šesterobridna, plod joj je trobridni tobolac smeđe boje te ima 48 kromosoma (Šarlija, 2014.). Nalazi se na području Strahinjšćice, Samoborskog gorja i Medvednice, a može rasti i na dubokim, ali i plitkim vapnenačkim tlima (Essert i sur., 2021.).

Na prijedlog Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti *Iris croatica*, 2000. godine na Izložbi cvijeća Japan Flora predstavljena je kao nacionalni cvijet R. Hrvatske i to pod sloganom: „Cvijet u svakom kutku svijeta, cvijet shvaćen kao simbol mira među narodima“. Hrvatska perunika, znanstvenog naziva *Iris croatica*, endemska je biljka koja je svojstvena isključivo području Hrvatske. Ova prekrasna i karakteristična biljka simbol je prirodne ljepote i raznolikosti hrvatskog okoliša te je jedan od najprepoznatljivijih predstavnika

flore na Jadranu. Ljepota *Iris croatica* zabilježena je 1994. godine na poštanskoj marki Hrvatske pošte, i to s motivom ovog cvijeta koji je nacrtao akademski slikar Zlatko Keser (slika 6).

Iako je cijenjena zbog svoje estetske vrijednosti i ekološkog značenja, *Iris croatica* sadržava toksikološki aktivne spojeve koji mogu uzrokovati ozbiljne zdravstvene probleme u preživača (Aitkenova i sur., 2026.). Trovanje ovom biljkom predstavlja potencijalnu opasnost na pašnjacima na kojima dominira ili je ima u većim količinama. Iako ih životinje uglavnom izbjegavaju jesti zbog neugodna, oporog okusa, do trovanja dolazi kada su pašnjaci previše ispašeni ili u razdobljima nedostatka druge hrane. *Iris croatica* sadržava bioaktivne spojeve poput iridoida, saponina i flavonoida koji su većinski koncentrirani u rizomima (podzemnim podancima) i lukovicama, dok su u manjim udjelima dokazani i u listovima, stabiljci i mahuni sa sjemenkama. Iridoidi u biljci su irigenin, iridid i irisoid kojih je biološko djelovanje od protuupalnih do toksičnih. Iridoidi djelujući na sluznice probavnog sustava uzrokuju povraćanje, proljev i bolove u trbuhu. To je povezano s njihovom sposobnošću da djeluju na prostaglandinske i druge upalne medijatore, čime uzrokuju upalne procese u sluznicama (Guo i sur., 2025.). U većim dozama iridoidi mogu uzrokovati hepatotoksične i nefrotoksične učinke. Studije na laboratorijskim životinjama pokazale su da iridoidi mogu inducirati oksidacijski stres i upalne procese u stanicama jetre i bubrega. U *Iris croatica* saponini su zastupljeni u manjim količinama, ali njihovo sinergističko djelovanje s iridoidima pojačava njihov toksični učinak. Naime, saponini povećavaju permeabilnost staničnih membrana, uzrokuju iritaciju probavnog sustava i smanjuju apsorpciju hranjivih tvari. Flavonoidi kao neurotoksični čimbenici pri većim koncentracijama narušavaju funkcije središnjeg živčanog sustava preživača. Njihovo djelovanje uključuje modulaciju neurotransmitera, što može

uzrokovati neurološke simptome u životinja. Tako su najčešći simptomi otrovanja u preživača nakon konzumacije većih količina *Iris croatica* povraćanje, proljev, količni bolovi, slabost, letargija i poremećaj ravnoteže. U težim slučajevima mogu se pojaviti žutica, oštećenje jetre i bubrega, pa čak i smrt (Wang i sur., 2020.).

U prevenciji trovanja hrvatskom perunikom ključnu ulogu imaju održivi menadžment pašnjaka, edukacije stočara i vlasnika zemljišta te kontrola kvalitete pašnjaka. Kontrola kvalitete pašnjaka uključuje redovite inspekcije i analize biljnog pokrova, pri čemu se procjenjuje prisutnost i gustoća opasnih biljnih vrsta poput *Iris croatica*. Ova procjena omogućuje pravodobnu identifikaciju područja s visokim rizikom od toksičnosti te poduzimanje odgovarajućih mjera kontrole, kao što su uklanjanje ili preraspodjela stada na sigurne dijelove pašnjaka. Mehanizmi kontrole kvalitete također uključuju laboratorijske analize tla i biljnog materijala radi utvrđivanja prisutnosti toksičnih spojeva ili biljaka, kao i redovito praćenje simptoma u životinja radi ranog prepoznavanja problema. Osim toga, važno je uspostaviti sustav vođenja evidencije o stanju pašnjaka i uvjetima ispaše, što omogućuje dugoročno praćenje i planiranje menadžmenta. Održivi menadžment i sustavna kontrola kvalitete pašnjaka zajedno pridonose aktivnom i planskom upravljanju pašnjakom s ciljem zaštite životinja od trovanja, osiguravajući da se *Iris croatica* ne nalazi u područjima gdje životinje pasu ili se hrane, čime se uspostavlja ravnoteža između prirodnih resursa, sigurnosti životinja i zaštite prirodne baštine. Edukacijski programi trebali bi obuhvatiti informacije o identifikaciji biljke, pravilnom menadžmentu pašnjaka, te metodama uklanjanja ili kontrole prisutnosti *Iris croatica* na područjima na kojima se drže domaće životinje. Osim toga, važan je aspekt i promoviranje održivog korištenja prirodnih resursa te očuvanje zaštićenih biljnih vrsta, poput *Iris croatica*, koje imaju svoje mjesto u ekosustavu i dio su nacionalne baštine. Balansiranje između očuvanja prirode i zaštite zdravlja životinja zahtijeva koordinirani rad stručnjaka, vlasti i lokalnih zajednica.

Zaključak

Očuvanje hrvatske perunike (*Iris croatica*), vrijednog dijela prirodne i kulturne baštine Republike Hrvatske, zahtijeva usklađeno djelovanje u zaštiti ove vrste i sprječavanju mogućih trovanja stoke. Perunika je ujedno simbol i stručnog i povijesnog nasljeđa Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uspostavom održivog menadžmenta i sustavna kontrola kvalitete pašnjaka, odgovornim upravljanjem ispašom i edukacijom stočara moguće je smanjiti rizik za zdravlje životinja, a pritom pridonijeti očuvanju ove zaštićene biljke. Takav pristup potvrđuje opredijeljenost Hrvatske i Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za odgovorno gospodarenje prirodnim bogatstvima i očuvanje baštine za buduće naraštaje.

Literatura

- AILAZZAT A AITKENOVA, A. A., G. A. ATAZHANOVA, K. Z. BADEKOVA, A. V. SAMORODOV, S. BAKHMETOVA, M. Y. ISHMURATOVA, I. KARILKHAN, A. A. TAZHINA, A. Z. SYDYKOVA (2026): Assessment of the acute toxicity of ethanol extract from the rhizomes of *Iris scariosa* L. in mice. *Front. Pharmacol.* 16. DOI: 10.3389/fphar.2025.1701980.
- BERTOVIĆ, S. (1963): Prof. dr. Ivo Horvat. Životopis, znanstveni rad i ostavština. *Biološki glasnik*, 16 (3-4), 13-19.
- ESSERT, S., V. ŠEGOTA, I. GOD, N. MAS, D. ŠPOLJARIĆ, M. POPOVIĆ (2021): Forgotten carpological collection of Professor Ivo Horvat discovered and digitized. *Natura Croatica*, 30, 269-287.
- GUO, L., J. QIAO, J. HUO A, H. P. V. Rupasinghe (2025): Plant iridoids: Chemistry, dietary sources and potential health benefits. *Food Chem.* 23. DOI: 10.1016/j.fochx.2025.102491.
- HORVATIĆ, S. (1963): Ivan Horvat, *Acta Botanica Croatica* 57, 13-25.
- NIKOLIĆ, T. (ed.) (2019): *Flora Croatica Database. On-Line* (<http://hirc.botanic.hr/fcd>).
- VLAHOVIĆ, K., M. POPOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2021): Botaničar Ivo Horvat (1897. – 1963.), rad na Botaničkom Zavodu Veterinarskog Fakulteta Sveučilišta U Zagrebu. *Acta. Med. Hist. Adriat.* 19(1); 137-150. DOI:10.31952/amha.19.1.8.
- VLAHOVIĆ, K., M. POPOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, T. GOMERČIĆ, L. PAJURIN, I. TOPLIČANEC, J. KUSAK (2022): Jedinstveni dio parkovne arhitekture Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu – „Horvatom brijeg“. *Vet. stanica* 53, 347-355. DOI:10.46419/vs.53.3.6.
- ŠARLIJA, K. (2014): Uzgoj perunika (rod *Iris*). Završni rad prediplomskog studija smjera Hortikultura Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- WANG, C., X. GONG, A. BO, L. ZHANG, M. ZHANG, E. ZANG, C. ZHANG, M. LI (2020): Iridoids: Research Advances in Their Phytochemistry, Biological Activities, and Pharmacokinetics. *Molecules* 25. DOI: 10.3390/molecules25020287.

FROM THE HERITAGE OF THE FACULTY OF VETERINARY MEDICINE TO THE NATIONAL SYMBOL IN SERVICE OF ANIMAL BIOSAFETY

Abstract

Iris croatica, known as the Croatian iris, is deeply rooted in Croatian identity and is often used as a symbol of the natural beauty of our country. Its recognizable appearance is frequently featured in various promotional materials, souvenirs, and logos, highlighting the importance of preserving Croatia's natural heritage. This plant was first described by prof. dr. sc. Ivo Horvat during his work at the Faculty of Veterinary Medicine at the University of Zagreb, leaving a mark in the scientific and professional community of Croatia. Its distinctive look and significance in nature conservation make it a symbol of Croatian natural heritage. In addition to being aesthetically very attractive, *Iris croatica* also plays an important role in maintaining healthy habitats and supporting local ecosystems. Due to its rarity and endangerment, Croatian iris is a strictly protected species under Croatian law, and its protection requires active measures—from conserving natural habitats to educating the public and promoting responsible attitudes toward nature. Alongside its aesthetic and ecological value, *Iris croatica* also possesses toxic potential for herbivores. To prevent poisoning and protect animal health, it is important to establish a comprehensive system that connects quality control, pasture management, and education of livestock owners. Regular inspections and monitoring of the presence of dangerous plants, combined with modern vegetation monitoring technologies, enable timely responses and reduce the risk of consuming toxic parts of *Iris croatica*. Managing pastures involves planning grazing, installing physical barriers, and properly arranging animals to prevent access to hazardous areas. Educating livestock farmers and landowners—focusing on recognizing the plant and understanding the dangers—is crucial for timely action and implementing preventive measures, such as marking suspicious areas or clearing habitats. These measures, which include nature protection, education, and pasture quality control, ensure the long-term preservation of this rare and valuable plant, while also protecting animal health and conserving ecosystems. Such an integrated system facilitates sustainable development and responsible management of Croatia's natural resources for future generations. This work demonstrates the connection between the historical scientific heritage of the Faculty of Veterinary Medicine at the University of Zagreb and modern biosafety protocols in livestock farming.

Key words: Croatian iris; heritage; national symbol; biosecurity

PRELIMINARNO ISPITIVANJE ANTIBAKTERIJSKE AKTIVNOSTI MLIJEKA MAGARICE AGAR-DIFUZIJSKOM METODOM

Tomislav Sukalić¹, Matej Krištić¹, Matea Pek¹,
Marija Denžić Lugomer², Damir Pavliček²,
Miroslav Beni³, Luka Cvetnić³, Antonela Bagarić⁴,
Marija Sedak⁵, Bruno Čalopek⁵, Ana Končurat¹

¹ Laboratorij za dijagnostiku, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci; ² Laboratorij za mikrobiologiju i analitičku kemiju, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci; ³ Laboratorij za mastitise i kakvoću sirovog mlijeka, Hrvatski veterinarski institut Zagreb; ⁴ Laboratorij za opću bakteriologiju i mikologiju, Hrvatski veterinarski institut Zagreb; ⁵ Laboratorij za određivanje rezidua, Hrvatski veterinarski institut Zagreb

Sažetak

Mlijeko magarica sadržava bioaktivne sastojke, poput lizozima, laktoferina i proteina sirutke, koji se povezuju s potencijalnim antimikrobnim svojstvima. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati antibakterijsko djelovanje svježeg mlijeka magarice na referentne bakterijske sojeve metodom difuzije iz jažica u agaru. Antibakterijsko djelovanje mlijeka jedne magarice ispitano je metodom difuzije iz jažica u Mueller-Hintonovu agaru, uz primjenu referentnih sojeva *Escherichia coli* ATCC 8739 i *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bakterijske suspenzije standardizirane su na 0,5 McFarland. U prvom pokusu upotrijebljene su jažice promjera 4, 6 i 8 mm s 40, 60 odnosno 80 µL mlijeka, a u drugom jažice promjera 8 mm s 80 µL mlijeka. Isti uzorak između pokusa čuvan je 24 sata na +2 do +8 °C. Kao negativna kontrola upotrijebljena je sterilna destilirana voda, a kao pozitivne kontrole diskovi amoksicilina / klavulanske kiseline i enrofloksacina. Nakon inkubacije pri 37 °C tijekom 24 sata, promjeri zona izmjereni su digitalnim pomičnim mjerilom. U prvom pokusu nisu utvrđene jasno izražene zone inhibicije na agaru, već halo-zone promijenjena izgleda bakterijskog rasta. Njihovi promjeri povećavali su se s promjerom jažica i volumenom mlijeka, od 14,2 do 29,4 mm za *E. coli* te od 10,5 do 23,2 mm za *S. aureus*. U drugom je pokusu kod *E. coli* opažena zona moguće inhibicije rasta promjera 15,1 mm, okružena halo-zonom promjera 25,8 mm. Kod *S. aureus* nisu opažene ni inhibicija ni halo-zona. Negativne kontrole nisu pokazivale promjene, a pozitivne su pokazivale jasno izražene zone inhibicije. Rezultati upućuju na moguće antibakterijsko djelovanje mlijeka magarice, osobito prema *E. coli*, ali halo-zone nisu nedvojben dokaz inhibicije rasta. Razlike između pokusa i bakterijskih sojeva upućuju na potrebu za standardizacijom postupka. Potrebna su daljnja istraživanja na ve-

ćem broju uzoraka, uz primjenu dodatnih metoda za procjenu bakterijskog rasta.

Ključne riječi: mlijeko magarice, antibakterijsko djelovanje, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, agar-difuzija

PRELIMINARY EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DONKEY MILK USING THE AGAR WELL DIFFUSION METHOD

Abstract

Donkey milk contains bioactive components, such as lysozyme, lactoferrin, and whey proteins, which have been associated with antimicrobial properties. This study aimed to investigate the antibacterial activity of fresh donkey milk against reference bacterial strains using the agar well diffusion method. The antibacterial activity of milk from a single donkey was evaluated using the agar well diffusion method on Mueller-Hinton agar against *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bacterial suspensions were standardized to 0.5 McFarland. In the first experiment, wells of 4, 6, and 8 mm in diameter were filled with 40, 60, and 80 µL of milk, respectively. In the second experiment, 8-mm wells containing 80 µL of milk were used. The same milk sample was stored at 2–8 °C for 24 h between experiments. Sterile distilled water served as the negative control, while amoxicillin/clavulanic acid and enrofloxacin discs served as positive controls. Following incubation at 37 °C for 24 h, zone diameters were measured using a digital caliper. In the first experiment, no clearly defined inhibition zones were observed, but halo-like zones with altered bacterial growth appearance were detected. Their diameters increased with well diameter and milk volume, ranging from 14.2 to 29.4 mm for *E. coli* and from 10.5 to 23.2 mm for *S. aureus*. In the second experiment, a zone of possible growth inhibition measuring 15.1 mm, surrounded by a halo-like zone measuring 25.8 mm, was observed for *E. coli*. Neither inhibition nor halo-like zones were observed for *S. aureus*. Negative controls showed no visible changes, whereas positive controls produced clearly defined inhibition zones. The findings suggest possible antibacterial activity of donkey milk, particularly against *E. coli*; however, halo-like zones do not provide conclusive evidence of growth inhibition. Differences between experiments and bacterial strains highlight the need for methodological standardization. Further studies involving more milk samples and additional methods for assessing bacterial growth are required.

Key words: donkey milk; antibacterial activity; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; agar diffusion

HISTATERM – VIŠEJEZIČNA TERMINOLOŠKA BAZA HISTOLOŠKOG NAZIVLJA

Željana Klječanin Franić¹, Jovana Ivanić², Marko Poletto², Lucija Devčić², Nikolina Bujanić²,
Snježana Kužir²

¹Medicinska naklada d. o. o.; ²Veterinarski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

U veterinarskoj se medicini za isti histološki pojam često upotrebljavaju različiti nazivi ili pravopisne, tvorbeno i sintaktičke varijante istoga naziva. Neujednačeni prijevodni ekvivalenti u dostupnim izvorima i nastavnim materijalima te nedostatak terminoloških baza biomedicinskog područja stvaraju nesigurnost u odabiru naziva koji su usklađeni s hrvatskom standardnojezičnom normom i ujedno odgovaraju potrebama i zahtjevima struke. Kao odgovor na te izazove, na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, u okviru projekta *Digitalna platforma za histologiju: edukacija, istraživanje i otvoreni pristup* – VEF_HISTA+; NPOO 13, razvija se višejezična terminološka baza HistaTERM. Cilj je ovoga rada prikazati njezinu primjenjivost u veterinarskom obrazovanju, znanstvenom radu i stručnoj komunikaciji. Baza povezuje preporučene hrvatske histološke nazive i definicije pojmova s isto značnicama, izvedenicama te latinskim, engleskim, njemačkim i francuskim istovrijednicama. Stručne i jezične napomene korisnicima pružaju obrazloženja izbora naziva i smjernice za njihovu pravilnu upotrebu. Tako oblikovan terminološki zapis omogućuje ne samo pronalaženje odgovarajućeg naziva nego i razumijevanje pojma te prepoznavanje i vrednovanje različitih naziva i njihovih varijanti. Očekuje se da će baza HistaTERM studentima olakšati svladavanje histoloških pojmova i povezivanje znanja iz temeljnih i kliničkih predmeta. Višejezičnost baze pruža potporu hrvatskim studentima pri čitanju strane literature te usvajanju značenja latinskih i grčkih tvorbenih elemenata, a stranim studentima pri učenju i snalaženju u hrvatskoj stručnoj zajednici. Nastavnicima baza može olakšati terminološko usklađivanje predavanja, vježbi i ispitnih sadržaja, dok autorima, urednicima, lektorima i prevoditeljima pruža oslonac za dosljednu upotrebu nazivlja i odabir odgovarajućih prijevodnih istovrijednica. Baza HistaTERM zamišljena je kao otvoreno dostupan digitalni resurs koji povezuje stručno znanje i jezičnu normu. Njezin je očekivani doprinos smanjenje terminoloških nedoumica, unapređenje kvalitete obrazovnih i stručnih sadržaja te razvoj hrvatskoga histološkog nazivlja u višejezičnom znanstvenom okruženju. Model njezine izrade može poslužiti i kao polazište za

usustavljivanje nazivlja drugih područja veterinarske medicine.

Ovaj je rad financiran sredstvima Europske unije (NextGenerationEU) u sklopu Nacionalnog plana oporavka i otpornosti 2021–2026 (NPOO), putem institucionalnog projekta Sveučilišta u Zagrebu Veterinarskog fakulteta *Digitalna platforma za histologiju: edukacija, istraživanje i otvoreni pristup* – VEF_HISTA+; NPOO 13, odobrenog od Ministarstva znanosti, obrazovanja i mladih Republike Hrvatske (komponenta C3.2., izvor 581).

Ključne riječi: histološko nazivlje, terminološka baza, veterinarsko obrazovanje, višejezičnost, standardizacija nazivlja

HISTATERM – A MULTILINGUAL HISTOLOGICAL TERMINOLOGY DATABASE

Abstract

In veterinary medicine, the same histological concept is often designated by different terms or by different orthographic, word-formation, and syntactic variants of the same term. Inconsistent translation equivalents in available sources and teaching materials, together with the lack of biomedical terminology databases, create uncertainty when preparing teaching materials and writing biomedical texts about how to select terms that conform to standard Croatian language norms while also meeting the needs and requirements of the discipline. To address these challenges, the multilingual terminology database HistaTERM is being developed at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, within the project *Digital Platform for Histology: Education, Research and Open Access* – VEF_HISTA+; NPOO 13. This paper aims to present its applicability to veterinary education, research, and professional communication. The database links recommended Croatian histological terms and concept definitions with synonyms, derivatives, and Latin, English, German, and French equivalents. Subject-specific and linguistic notes explain the choice of terms and provide guidance on their correct use. A terminology entry structured in this way enables users not only to find an appropriate term but also to understand the concept and recognize and evaluate different terms and their variants in the literature. HistaTERM is expected to help students master histological concepts and integrate knowledge across basic science and clinical subjects. Its multilingual scope supports Croatian students in reading foreign-language literature and understanding the meanings of Latin and Greek word-formation elements, while helping international students learn

and participate in the Croatian professional community. For educators, the database can facilitate terminological consistency across lectures, practical classes, and assessment materials, while providing authors, editors, language editors, and translators with a reference for consistent terminology use and the selection of appropriate translation equivalents. HistaTERM is conceived as an openly accessible digital resource that brings together subject expertise and standard language norms. Its anticipated contribution includes reducing terminological uncertainty, improving the quality of educational and professional materials, and developing Croatian histological terminology within a multilingual scientific environment. The approach adopted in its development may also serve as a starting point for systematizing terminology in other fields of veterinary medicine.

This paper has been funded by the European Union (NextGenerationEU) under the National Recovery and Resilience Plan 2021 –2026 (NRRP), through the UNIZG Faculty of Veterinary Medicine institutional project *Digital Platform for Histology: Education, Research, and Open Access – VEF_HISTA+; NPOO 13*”, approved by the Republic of Croatia Ministry of Science, Education and Youth (component C3.2, source 581).

Key words: histological terminology, terminology database, veterinary education, multilingualism, terminology standardization

LIFE DINPIN BEAR – PROJEKT OČUVANJA DINARSKO-PINDSKE POPULACIJE SMEĐIH MEDVJEDA (KOJU DIJELI DEVET ZEMALJA)

Krešimir Severin, Marina Habazin Cingulin, Đuro Huber, Magdalena Palić, Nikola Serdar, Nikica Prvanović Babić, Lana Pađen, Jasna Aladrović, Slaven Reljić

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb

Sažetak

U Dinarsko-pindskoj regiji povećavaju se prijetnje očuvanju populacije smeđeg medvjeda. Neke zemlje u regiji nemaju odgovarajuće uređene strategije očuvanja i upravljanja velikim zvijerima, uključujući programe monitoringa, pravni okviri nisu usklađeni sa standardima Europske unije i međunarodnim standardima, a planovi upravljanja ne postoje ili se ne provode. Kao krovna vrsta, medvjedi žive u maloj gustoći populacije, trebaju velika područja obitavanja te su izrazito osjetljivi na fragmentaciju, degradaciju i gubitak staništa. Svaka je fragmentacija staništa i/ili populacije štetna jer smanjuje ili u potpunosti onemogućuje povezanost populacije i kretanje jedinki među staništima. Među neposrednim posljedicama fragmentacije jesu genetski otklon i učinak uskoga grla, što u konačnici dovodi do smanjenja populacije. Razina osviještenosti o smjernicama Europske unije za očuvanje i upravljanje populacijama na razini cijele populacije vrlo je niska u Dinarškoj regiji, kao i kapaciteti i kompetencije potrebni za njihovu provedbu. Tri države članice Europske unije u kojima je prisutna ova populacija (HR, SI i GR) nalaze se na rubnim dijelovima cjelokupnog areala rasprostranjenosti, stoga u velikoj mjeri ovise o očuvanju i stabilnosti cjelokupne populacije. Stoga su glavni ciljevi projekta *DinPin Bear*: utvrditi i smanjiti razinu fragmentacije staništa i gubitka populacije smeđeg medvjeda; smanjiti razinu sukoba između medvjeda i ljudskih aktivnosti te osigurati alate za suživot s lokalnim zajednicama; ojačati pravni i proceduralni okvir za praćenje i upravljanje populacijama medvjeda; unaprijediti i uskladiti transnacionalnu suradnju u području upravljanja populacijama medvjeda; osigurati potporu ključnih dionika radi dugoročnog očuvanja populacije medvjeda. Projekt vodi 20 partnera iz devet zemalja: Njemačke, Slovenije, Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Crne Gore, Srbije, Sjeverne Makedonije, Kosova, Albanije i Grčke.

Ključne riječi: smeđi medvjed, Dinarsko-pindsko regija, očuvanje populacije, projekt *DinPin Bear*

LIFE DINPIN BEAR – A CONSERVATION PROJECT FOR THE DINARIC-PINDUS BROWN BEAR POPULATION (SHARED BY NINE COUNTRIES)

Abstract

In the Dinaric-Pindus Region threats to Bear conservation are increasing. Some of the countries in the Region do not have properly regulated large carnivore conservation and management strategies, including monitoring programs, their legal frameworks are not aligned with EU and international standards and Management Plans do not exist or are not implemented. As an umbrella species, bears live in small densities, require large home ranges and are highly susceptible to habitat fragmentation, degradation and loss. Any fragmentation of the habitats and/or populations are harmful because it reduces or completely disables the connectivity of the population and movement of individuals across habitats. Some of the imminent results of the fragmentation are genetic drift and bottleneck effects, both resulting in population declines. The awareness of EU guidelines for population level conservation and management is very low in the Dinaric region, as is the capacity and competences to follow those guidelines. Three EU countries of the population (HR, SI and EL) are placed at the verge of the entire range and therefore are strongly dependent on the well-being of the entire population. Therefore, the main objectives of the *DinPin Bear* project will be: To identify and reduce the level of habitat fragmentation and bear population loss; to reduce the level of conflicts of bears with human activities and to provide tools for co-existence with local communities; to strengthen the legal and procedural basis for monitoring and management of bears; to enhance and align transnational cooperation on bear management; to gain the support of key stakeholders for assuring long-term bear conservation. Project is run by 20 partners from 9 countries: Slovenia, Croatia, Bosnia and Herzegovina, Montenegro, Serbia, Republic of North Macedonia, Kosovo, Albania and Greece.

Key words: Brown bear; Dinaric-Pindus region; Population conservation; *DinPin Bear* project

MODELI PRAĆENJA URBANE DIVLJAČI U GRADU ZAGREBU

Branimir Reindl¹, Vlasta Ranogajec², Robert Godrijan³, Marko Augustinović⁴, Snježana Lugarić², Krešimir Krapinec⁵, Miljenko Bujanić⁶, Ivan Madić⁷, Dean Konjević⁶

¹Wilderness Research and Management j.d.o.o., Novoselec; ²Grad Zagreb, Gradski ured za gospodarstvo, ekološku održivost i strategijsko planiranje, Sektor za poljoprivredu, šumarstvo i lovstvo, Zagreb; ³Helifoto d.o.o., Srebrnjak 7b, 10431 Sveta Nedjelja; ⁴Oikon d.o.o., Trg Senjskih uskoka 1-2, 10020 Zagreb; ⁵Sveučilište u Zagrebu, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Svetošimunska cesta 23, 10000 Zagreb; ⁶Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10000 Zagreb; ⁷ZOO vrt Grada Zagreba, Fakultetsko dobro 1, 10000 Zagreb

Sažetak

Velik broj gradova danas se susreće sa sve većom pojavom divljih životinja. To je s jedne strane posljedica rasta populacije ljudi, širenja gradova i sve većeg pritiska na prirodna staništa, dok je s druge strane posljedica porasta brojnosti divljih životinja i fragmentacije staništa. Različite vrste divljači različito se prilagođavaju uvjetima života u gradovima te ponekad čak i prosperiraju u njima. Jedna je od takvih vrsta i divlja svinja. Divlja svinja u gradovima izaziva podijeljene stavove stanovništva, od toga da je pojedinci ne žele u svojoj blizini do činjenice da drugi čak nude dodatnu hranu svinjama. S obzirom na to da divlje svinje mogu predstavljati ugrozu za usjeve, vinograde, voćnjake, vrtove, vozila u prometu, kućne ljubimce, a u krajnjem slučaju i ljude, pojedini gradovi odlučili su se na provedbu mjera kontrole populacije. Jedan od prvih koji je pokrenuo takav program u Hrvatskoj jest Zagreb. Pritom je primarna predradnja praćenje pojave i brojnosti divljih svinja. S tim u svezi Grad Zagreb osigurao je redovitu mogućnost prijave viđenja divljih svinja od strane građana (engl. *citizen science*) Zoološkom vrtu Grada Zagreba kao provoditelju Programa zaštite divljači. Na temelju tih dojava postavljaju se kamere s ciljem praćenja divljih svinja, a utvrdi li se da je riječ o više jedinki, postavlja se modularna hvataljka za izlučenje divljih svinja. Tijekom lovne sezone 2025. pomoću hvataljki je izlučeno 65 divljih svinja (svibanj = 1; lipanj – srpanj = 17, rujanj – studeni = 26, prosinac – veljača = 22). Iako je veličina ulova često upotrebljavana kao pokazatelj populacijskih trendova, danas je poznato da je ova metoda uvelike sklona pogrešci te varira ovisno o uloženom lovnom trudu i vremenskim prilikama u pojedinim godinama. Kako se ova metoda ne bi smjela primjenjivati sama, Grad je proveo i snimanje dronom primjenom kamere visoke rezolucije,

uključivši termalne, infracrvene i dnevne kamere (DJI Matrice 4T, Shenzhen, Guangdong, China). Provedena su 23 snimanja na primjernim ploham (ovisno o vegetaciji) tijekom travnja i početka svibnja te je prebrojeno 66 divljih svinja. Iz navedenoga je vidljivo da se na području Grada Zagreba danas preliminarno primjenjuju četiri metode u konačnoj procjeni brojnosti divljih svinja: (1) *citizen science*, (2) praćenje kamerama, (3) veličina ulova i (4) nadzor dronom. Kombiniranje metoda tijekom više sezona i različitih doba godine moglo bi dovesti do približno točne procjene broja divljih svinja koje obitavaju u Gradu Zagrebu u pojedino doba godine. Osim toga, s ciljem praćenja kretanja i utvrđivanja koridora divljih svinja u Gradu, obilježene su dvije svinje GPS ogrlicama (Oikon d.o.o., Zagreb, Hrvatska) te je njihovo kretanje praćeno do odbacivanja ogrlica.

Ključne riječi: Grad Zagreb, urbana divlja svinja, *citizen science*, ulov, snimanje dronom, procjena brojnosti

Zahvala

Potporom Programa kontrole i praćenja divljači u sklopu Programa zaštite divljači za Grad Zagreb.

MODELS OF URBAN WILDLIFE MONITORING IN ZAGREB CITY

Abstract

Many cities today are encountering an increasing presence of wild animals. This phenomenon stems partly from human population growth, urban expansion, and mounting pressure on natural habitats, and partly from increasing wildlife populations and habitat fragmentation. Different wildlife species adapt differently to urban environment, sometimes even thriving in these new habitats. The wild boar is one such species. Wild boars in cities elicit mixed reactions among the public, ranging from individuals who do not want them nearby, to others who even provide them with extra food. Given that wild boars can pose a threat to crops, vineyards, orchards, gardens, traffic, pets, and—in extreme cases—even humans, some cities have decided to implement population control measures. Zagreb was one of the first cities in Croatia to launch such a program. A primary prerequisite for this is monitoring the occurrence and population size of wild boars. To this end, the City of Zagreb has established a system allowing citizens to regularly report wild boar sightings—a form of “citizen science”—to the Zagreb Zoo, which is responsible for implementing the Game Protection Program. Based on these reports, photo traps are installed to monitor wild boars, and if the presence of multiple individuals is confirmed, a modular trap is set up



to remove them. During the 2025 hunting season, 65 wild boars were removed using these traps (May: 1; June–July: 17; September–November: 26; December–February: 22). Although hunting bag is frequently used as an indicator of population trends, it is now known that this method is highly prone to bias and varies depending on hunting effort and environmental conditions in specific years. As this method should not be used solely, the City also conducted drone surveys using high-resolution cameras, including thermal, infrared, and daylight cameras (DJI Matrice 4T, Shenzhen, Guangdong, China). Twenty-three recordings were conducted on selected transects (depending on vegetation) during April and early May, resulting in a count of 66 wild boars. It is evident from the above that four methods are currently being used preliminary to estimate the wild boar population in the City of Zagreb: i) citizen science, ii) camera monitoring, iii) harvest data, and iv) drone surveillance. Combining these methods across several years and different seasons could yield a reasonably accurate estimate of the wild boar population that inhabit the City of Zagreb at any given time. Furthermore, to monitor movements and identify wild boar corridors within the City and between City and suburban/rural areas, two boars were equipped with GPS collars (Oikon d.o.o., Zagreb, Croatia), and their movements were tracked until the collars were shed.

Key words: Zagreb City; urban wild boars; citizen science; hunting bag; drone recording; population size estimation

Acknowledgement

Supported by Program of control and monitoring of game species within Game Protection Program for Zagreb City.

UVID U MIKROBIOTU I ZDRAVSTVENU ISPRAVNOST SIROVOG MLIJEKA MAGARICA

Ana Končurat¹, Matej Krištić¹, Matea Pek¹, Marija Denžić Lugomer¹, Damir Pavliček¹, Miroslav Benić², Luka Cvetnić², Antonela Bagarić², Marija Sedak², Bruno Čalopek², Tomislav Sukalić¹

¹Hrvatski veterinarski institut – Veterinarski zavod Križevci; ²Hrvatski veterinarski institut Zagreb

Sažetak

Sirovo mlijeko magarica odlikuje se specifičnim nutritivnim sastavom i prisutnošću bioaktivnih sastojaka, zbog čega posljednjih godina privlači sve veću pozornost. Unatoč tome, podaci o njegovoj mikrobioti i mikrobiološkoj sigurnosti još su ograničeni. Cilj istraživanja bio je, u sklopu projekta BioLaktoMAG, utvrditi mikrobiotu sirovog mlijeka magarica primjenom metagenomske analize i rutinskih mikrobioloških metoda te procijeniti podudarnost rezultata dobivenih različitim pristupima i prisutnost odabranih mikroorganizama značajnih za sigurnost hrane. Uzorci sirovog mlijeka magarica prikupljeni su na dvije farme. Sastav bakterijske zajednice analiziran je metagenomskim pristupom na različitim taksonomskim razinama. Rutinskim mikrobiološkim metodama određivani su ukupan broj aerobnih bakterija, Enterobacteriaceae, koagulaza-pozitivni stafilocoki i sulfitreducirajuće klostridije te prisutnost *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*. Kultivabilni mikroorganizmi izdvojeni su na odgovarajućim hranjivim podlogama i identificirani do razine roda ili vrste. Metagenomska analiza pokazala je raznoliku bakterijsku zajednicu, s dominacijom koljena Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria i Bacteroidetes. Među detektiranim porodicama bile su Lactobacillaceae, Streptococcaceae, Staphylococcaceae, Enterococcaceae, Aerococcaceae, Micrococcaceae i Propionibacteriaceae. Rutinskom kultivacijom dobiveno je 50 izolata raspoređenih u 11 porodica, od kojih su najzastupljenije bile Lactobacillaceae (34 %), Streptococcaceae (22 %), Staphylococcaceae (16 %) i Enterococcaceae (10 %). Sedam od 11 porodica utvrđenih kultivacijom zabilježeno je i metagenomskom analizom, a tim je porodicama pripadalo 46/50 izolata (92 %). *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes* nisu detektirane, kao ni koagulaza-pozitivni stafilocoki i sulfitreducirajuće klostridije. Enterobacteriaceae su utvrđene samo u jednom uzorku. Rezultati pokazuju visoku podudarnost metagenomskog i kultivacijskog pristupa te zadovoljavajuću mikrobiološku kakvoću i zdravstvenu ispravnost analiziranog sirovog mlijeka magarica.

Ključne riječi: mlijeko magarica; mikrobiota; metagenomika; mikrobiološka kakvoća; sigurnost hrane.

INSIGHTS INTO THE MICROBIOTA AND MICROBIOLOGICAL SAFETY OF RAW DONKEY MILK

Abstract

Raw donkey milk is characterised by a distinctive nutritional composition and the presence of bioactive components, which have attracted increasing attention in recent years. Nevertheless, data on its microbiota and microbiological safety remain limited. The aim of this study, conducted within the BioLaktoMAG project, was to characterise the microbiota of raw donkey milk using metagenomic analysis and routine microbiological methods, and to assess the concordance between the two approaches and the presence of selected microorganisms relevant to food safety. Raw donkey milk samples were collected from two farms. The composition of the bacterial community was analysed using a metagenomic approach at different taxonomic levels. Routine microbiological methods were employed to determine the total aerobic bacterial count, Enterobacteriaceae, coagulase-positive staphylococci and sulphite-reducing clostridia, as well as the presence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. Cultivable microorganisms were isolated on appropriate culture media and identified to genus or species level. Metagenomic analysis revealed a diverse bacterial community dominated by the phyla Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria and Bacteroidetes. The bacterial families detected included Lactobacillaceae, Streptococcaceae, Staphylococcaceae, Enterococcaceae, Aerococcaceae, Micrococcaceae and Propionibacteriaceae. Routine cultivation yielded 50 isolates belonging to 11 bacterial families, of which Lactobacillaceae (34%), Streptococcaceae (22%), Staphylococcaceae (16%) and Enterococcaceae (10%) were the most abundant. Seven of the 11 families identified by cultivation were also detected by metagenomic analysis, and these families accounted for 46 of the 50 isolates (92%). *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* were not detected, and neither were coagulase-positive staphylococci or sulfite-reducing clostridia. Enterobacteriaceae were detected in only one sample. The results demonstrate a high level of agreement between the metagenomic and culture-based approaches, and indicate satisfactory microbiological quality and safety of the analysed raw donkey milk samples.

Key words: donkey milk; microbiota; metagenomics; microbiological quality; food safety.



PRILOG POZNAVANJU SLATKOVODNIH PUŽEVA I NJIHOVOJ ULOZI KAO POSREDNIKA FASCIOLIDOZE

Krešimir Severin¹, Magdalena Palić¹, Miljenko Bujanić¹, Nikola Serdar¹, Nikolina Škvorc¹, Ivan Jelić¹, Krešimir Krapinec², Luboš Beran³, Tomislav Jelić⁴, Dean Konjević¹

¹Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska; ²Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska; ³Nature Conservation Agency of the Czech Republic, Česká 149, CZ-276 01 Mělník, Czech Republic; ⁴Veterinarska stanica Županja d.o.o., Ambulanta Cerna, Strossmayerova ulica 2, Cerna, Hrvatska

Sažetak

Slatkovodni puževi često služe kao posrednici različitih vrsta parazita, uključujući i metilje. Kao posrednici metilja *Fascioloides magna* u Europi, spominju se prije svega *Galba truncatula*, a osim toga, kao manje prikladne vrste *Radix peregra* i *Radix labiata*. Pronalazak i identifikacija ovih puževa nije jednostavna, a morfološke razlike mogu biti razmjerno male. Također, u Hrvatskoj je populacija slatkovodnih puževa zastupljena s razmjerno velikim brojem vrsta. U okviru ovog istraživanja prikupljene su jedinke vodenih i higrofilnih puževa na području Posebnog ornitološkog rezervata Veliki Pažut, Parka prirode Lonjsko polje te šireg područja Zadra. Izolacija ukupne DNA provedena je iz homogenizata cijelih puževa, a taksonomska pripadnost determinirana je molekularnim barkodiranjem putem amplifikacije i sekvenciranja odsječka gena za citokrom c-oksidadu podjedinicu 1 (*cox1*), čime je potvrđena pripadnost vrstama *Viviparus contectus*, *Lymnaea stagnalis*, *Physella acuta*, *Galba truncatula* i *Oxyloma elegans*. Radi probira na prisutnost razvojnih stadija metilja, nasumično odabrani uzorci inicijalno su analizirani metodom lančane reakcije polimerazom uz primjenu univerzalnih početnica za 28S rDNK (~1200 – 1400 bp). Sekvenciranje dobivenih produkata uputilo je na izostanak specifičnosti zbog koamplifikacije nespecifične DNA mekušaca. Kako bi se to ograničenje prevladalo, uzorci su ciljano testirani univerzalnim ITS2 početnicama za rodove *Fasciola* i *Fascioloides* (358bp) te vrsno specifičnim PCR početnicama za umnažanje regije ITS2 vrsta *Fascioloides magna* (152 bp) i *Fasciola hepatica* (112 bp). PCR produkti prikazani su elektroforezom na agaroznom gelu pri čemu su kao pozitivne kontrole upotrijebljeni verificirani tkivni uzorci odraslih metilja *F. magna* i *F. hepatica*. Analizom je u jednoj jedinki vrste *Lymnaea stagnalis* s lokacije Veliki Pažut utvrđena prisutnost razvojnih stadija metilja *Fasciola hepatica*, dok u ostalim pretraže-

nim puževima s navedenih lokacija nije dokazana prisutnost larvalnih stadija fasciolida. Uspostavljeni dvorazinski molekularni pristup potvrdio je da vrsno specifični ITS2 PCR pruža visoku osjetljivost i selektivnost bez križnih reakcija s tkivom puževa, čime je određen pouzdan dijagnostički alat za kontinuirani epidemiološki nadzor u prirodnim staništima.

Ključne riječi: *Fascioloides magna*, slatkovodni puževi, posrednici, *Fasciola hepatica*, molekularno barkodiranje, *cox1*, 28S rDNK, ITS2, epidemiološki nadzor

Zahvala: Rad je financiran sredstvima projekta HrZZ IP-2024-05-8056: *Fasciola hepatica* vs. *Fascioloides magna*: potencijalni utjecaj nezavičajne vrste parazita na bioraznolikost.

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF FRESHWATER SNAILS AND THEIR ROLE AS INTERMEDIATE HOSTS OF FASCIOLIDOSIS

Abstract

Freshwater snails often serve as intermediate hosts for various types of parasites, including various trematodes. *Galba truncatula* is primarily cited as the intermediate host for the trematode *Fascioloides magna* in Europe, alongside *Radix peregra* and *Radix labiata*, which are considered as less suitable species. Locating and identifying these snails is challenging, as morphological differences can be relatively subtle. Furthermore, data indicate high diversity of freshwater snail species in Croatia. In this study, specimens of aquatic and hygrophilous snails were collected from the Veliki Pažut Special Ornithological Reserve, Lonjsko Polje Nature Park, and the broader Zadar area. Total DNA was isolated from whole-snail homogenates, and taxonomic identity was determined via molecular barcoding—specifically through the amplification and sequencing of a segment of the cytochrome c oxidase subunit 1 (*cox1*) gene—confirming the species *Viviparus contectus*, *Lymnaea stagnalis*, *Physella acuta*, *Galba truncatula*, and *Oxyloma elegans*. To screen for the presence of trematode developmental stages, randomly selected samples were initially analyzed using polymerase chain reaction (PCR) with universal primers targeting 28S rDNA (~1200–1400 bp). Sequencing of the resulting products revealed a lack of specificity caused by the co-amplification of non-specific mollusc DNA. To overcome the aforementioned limitation, samples were selectively tested using universal ITS2 primers for the genera *Fasciola* and *Fascioloides* (~350 bp) and species-specific PCR primers targeting the ITS2 region of *Fascioloides magna* (152

bp) and *Fasciola hepatica* (112 bp). PCR products were visualized via agarose gel electrophoresis, using verified tissue samples from adult *F. magna* and *F. hepatica* as positive controls. The analysis revealed the presence of *Fasciola hepatica* developmental stages in one *Lymnaea stagnalis* specimen from the Veliki Pažut location, while no larval stages of fasciolids were detected in the remaining examined snails from the sampled locations. The established two-tiered molecular approach confirmed that species-specific ITS2 PCR offers high sensitivity and selectivity without cross-reactivity with snail tissue, thereby establishing a reliable diagnostic tool for ongoing epidemiological surveillance in natural habitats.

Key words: *Fascioloides magna*; freshwater snails; intermediate hosts; *Fasciola hepatica*, molecular barcoding; *cox1*; 28S rDNA; ITS2; epidemiological surveillance

Acknowledgement: Fully financed by Croatian Science Foundation grant IP-2024-05-8056: *Fasciola hepatica* vs. *Fascioloides magna*: potential impact of allochthonous parasite on biodiversity

FASCIOLOZA DIVLJIH SVINJA (*SUS SCROFA* L.)

Miljenko Bujanić¹, Relja Beck², Krešimir Severin¹,
Krešimir Krapinec³, Nika Konstantinović¹, Ana
Šikić¹, Matija Jandrilović⁴, Dean Konjević¹

¹Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova
55, 10000 Zagreb, Hrvatska; ²Hrvatski veterinarski
institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb, Hrvatska;
³Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište
u Zagrebu, Svetošimunska cesta 23, 10000 Zagreb,
Hrvatska; ⁴Veterinarska stanica Bjelovar, Slavonska
cesta 4, 43000 Bjelovar, Hrvatska

Sažetak

Veliki jetreni metilj *Fasciola hepatica* zavičajna je vrsta parazita u Hrvatskoj. Za svoj se razvoj *F. hepatica* koristi posrednikom, od kojih je najčešći puž barnjak (*Galba truncatula*). Nakon što nositelj (ponajprije preživlač) pojede metacercariju, u crijevima se oslobađa mladi metilj koji putuje do jetre te se u konačnici smješta u većim žučovodima gdje može preživjeti i do deset godina. Fasciolozu uzrokuje smanjenu proizvodnost invadiranih životinja, oštećenje jetre, a moguće i sekundarne infekcije tijekom migracijske faze. Ipak, pojavom velikog američkog metilja (*Fascioloides magna*) nalaz metilja *F. hepatica* postao je razmjerno rijedak u divljači, posebice jelena običnoga. Cilj ovoga preliminarne istraživanja bio je utvrditi prisutnost metilja *F. hepatica* u divljih svinja (*Sus scrofa*) na području lovišta III/28 – "POSAVSKE ŠUME", gdje je ovaj metilj i prije utvrđen. Ukupno je tijekom redovitih lovnih zahvata u sezoni 2025./2026. prikupljeno 28 jetara divljih svinja. U prvom koraku jetre su makroskopski pregledane na izgled kapsule, veličinu, eventualne nepravilnosti površine, fibrinske naslage i pigment željezo-porfirin. Nakon toga jetre su pregledane standardnom metodom zarezivanjem na oko 2 cm te su isječki detaljno pregledani s obje strane na prisutnost metilja, izgled žučovoda, prisutnost pseudocista, migratornih kanala mladih metilja i pigmenta željezo-porfirina. Od ukupno 28 jetara njih 18 bilo je negativno (64,28%). Znakovi invazije metiljem *F. magna* utvrđeni su u 8 jetara (28,57%), pri čemu su metilji utvrđeni u 6 jetara. Zadebljani žučovodi i metilj *F. hepatica* utvrđeni su u svega dvije jetre (7,14%). Prema utvrđenim preliminarnim nalazima vjerojatnost nalaza metilja *F. magna* pet je puta veća od nalaza metilja *F. hepatica* na navedenom području (OR = 5,200, CI 95% 0,9931 do 27,2269). Ovaj nalaz nije statistički znakovit. Za metilja *F. magna* divlja svinja predstavlja nositelja tipa slijepa ulica, a prema dostupnim podacima u lovištu obitava manja populacija jelena običnoga kao tipičnog nositelja ovoga metilja. U dosadašnjim istraživanjima u Hrvatskoj metilj *F. hepatica* uglavnom nije utvrđen u jelenu, dok je u divljih svinja za-

bilježen rijetko i samo na pojedinim područjima, što upućuje na moguće promjene u parazitofauni Republike Hrvatske.

Ključne riječi: divlja svinja, *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna*, Posavske šume

Zahvala: Rad je financiran sredstvima projekta HrZZ IP-2024-05-8056: *Fasciola hepatica* vs. *Fascioloides magna*: potencijalni utjecaj nezavičajne vrste parazita na bioraznolikost

WILD BOAR (*SUS SCROFA* L.) FASCIOSIS

Abstract

The large liver fluke *Fasciola hepatica* is a native parasite species in Croatia. *F. hepatica* requires an intermediate host for its development, the most common being the mud snail (*Galba truncatula*). After the host (primarily a ruminant) ingests the metacercaria, the young fluke is released in the intestine, migrates to the liver, and ultimately settles in the larger bile ducts, where it can survive for up to ten years. Fasciolosis causes reduced productivity in infected animals and liver damage, and may lead to secondary infections during the migratory phase. However, following the emergence of the large American liver fluke (*Fascioloides magna*), findings of *F. hepatica* have become relatively rare in game animals, particularly red deer. The aim of this preliminary study was to determine the presence of *F. hepatica* in wild boar (*Sus scrofa*) within the hunting ground III/28 – "POSAVSKE ŠUME," where the fluke had previously been identified. A total of 28 wild boar livers were collected during regular hunting activities in the 2025/2026 season. Initially, the livers underwent macroscopic examination to assess the appearance of the capsule, liver size, potential surface irregularities, fibrin deposits, and presence of iron-porphyrin pigment. Subsequently, the livers were examined using a standard slicing method (slices approximately 2 cm thick), and the sections were thoroughly inspected on both sides for the presence of flukes, the appearance of bile ducts, and the presence of pseudocysts, migratory tracts of young flukes, and iron-porphyrin pigment. Out of a total of 28 livers, 18 tested negative (64.28%). Signs of *F. magna* infection were observed in 8 livers (28.57%), with the flukes being identified in 6 of them. Thickened bile ducts and *F. hepatica* flukes were found in only two livers (7.14%). Preliminary findings indicate that the likelihood of detecting *F. magna* is five times higher than that of detecting *F. hepatica* in the studied area (OR = 5.200; 95% CI: 0.9931–27.2269). This finding is not statistically significant. For *F. magna*, the wild

boar acts as a “dead-end” host, whereas available data indicate that only a small population of red deer, a typical host for this fluke, is present in the hunting ground. Furthermore, red deer are generally more frequently infected with *F. hepatica* than wild boars, which typically serve as accidental hosts. The fact that red deer in other Croatian studies generally are negative for *F. hepatica*, and that the parasite rarely appears in wild boars and only in specific regions, suggests potential changes in the parasite fauna of the Republic of Croatia.

Key words: wild boar; *Fasciola hepatica*; *Fascioloides magna*; Posavske šume

Acknowledgement: Fully financed by Croatian Science Foundation grant IP-2024-05-8056: *Fasciola hepatica* vs. *Fascioloides magna*: potential impact of allochthonous parasite on biodiversity

LEZIJE ŽELUCA DIVLJIH (*SUS SCROFA* L.) I DOMAĆIH SVINJA – PRELIMINARNI REZULTATI

Zuzana Krepelková¹, Jaroslav Novotný¹, Ján Čurlík¹, Katarína Bárdová¹, Ľubomír Čulka¹, Dean Konjević², Miljenko Bujanić², Ivana Sabolek²

¹Sveučilište veterinarske medicine i farmacije u Košicama, Komenského 68/73, 041 81 Košice, Slovačka;

²Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, Zagreb, Croatia

Sažetak

Divlja svinja (*Sus scrofa*) prirodni je predak domaće svinje, te je prikladan model za proučavanje utjecaja čimbenika okoliša i prehrane na cjelovitost želučane sluznice. Lezije na želucu, poglavito u području *pars oesophagea*, česte su u svinja u intenzivnom uzgoju i smatra se da su multikauzalnog podrijetla. Cilj je ovog istraživanja bio usporediti pojavnost makroskopskih lezija sluznice želuca u divljih svinja (n = 25; Slovačka: slobodnoživuće n = 9, Hrvatska: gaterski uzgoj n = 16) i svinja u završnoj fazi tova (n = 75; Slovačka), razvrstanih prema sadržaju želuca (prazan, tekući, pun; n = 25 po skupini). Makroskopska pretraga provedena je primjenom sustava bodovanja od 0 do 3 (parakeratoza = 1, erozije = 2, ulceracije = 3). Sadržaj želuca kategoriziran je kao prazan, tekući ili krut. U svinja u završnoj fazi tova najveća je prevalencija lezija zabilježena u životinja s praznim želucom, pri čemu su prevladavale erozije (64 %) i ulceracije (8 %), a samo 4 % želuca nije imalo lezije. U svinja s tekućim sadržajem želuca erozije su bile prisutne u 36 % slučajeva, dok ulceracije nisu otkrivene. U svinja s krutim sadržajem želuca lezije su bile rijetke, a 64 % želuca nije pokazivalo znakove oštećenja. U divljih su svinja svi želuci sadržavali hranu, uglavnom kukuruz, zob i bukvicu. Želučane lezije bile su rijetke i blage, s parakeratozom na području *pars oesophagea* uočeno u dvije životinje (8 %) i erozijama u fundusu želuca dokazanim u tri slučaja (12 %). Rezultati pokazuju snažnu povezanost između želučanog sadržaja i pojave lezija u tovnih svinja, pri čemu su prazni želuci glavni čimbenik rizika. Nasuprot tome, divlje svinje pokazale su vrlo nisku učestalost želučanih promjena. Ovi nalazi podupiru pretpostavku da prehrambeni i uzgojni čimbenici imaju ključnu ulogu u patogenezi želučanih lezija u domaćih svinja, dok prirodno prehrambeno ponašanje i sastav prehrane mogu imati zaštitan učinak. To je u skladu i s činjenicom da su gastritis i želučane lezije izravno povezani s dobrobiti životinja. Konačno, potrebna su dodatna istraživanja kako bi se razjasnila potencijalna uloga stresa u nastanku želučanih lezija i time identificirali alati za unapređenje dobrobiti u uzgoju divljih i domaćih svinja.

Ključne riječi: divlja svinja, domaća svinja lezije želuca, *pars oesophagea*, sadržaj želuca, makroskopski pregled, dobrobit

GASTRIC LESIONS IN WILD BOARS (*SUS SCROFA* L.) AND DOMESTIC PIGS – A PRELIMINARY RESULTS

Abstract

Wild boar (*Sus scrofa*), the natural ancestor of the domestic pig, represents a suitable model for studying the effects of environmental and nutritional factors on gastric mucosal integrity. Gastric lesions, particularly in the *pars oesophagea*, are common in intensively reared pigs and are considered to be of multifactorial origin. The aim of this study was to compare the occurrence of macroscopic gastric lesions in wild boars (n = 25; Slovakia: free-ranging n = 9, Croatia: captive n = 16) and finishing pigs (n = 75; Slovakia), classified according to gastric content (empty, liquid, full; n = 25 per group). Macroscopic examination was performed using a 0–3 scoring system (parakeratosis = 1, erosions = 2, ulcerations = 3). Gastric content was categorized as empty, liquid, or solid. In finishing pigs, the highest prevalence of lesions was observed in animals with empty stomachs, where erosions (64%) and ulcerations (8%) predominated, and only 4% of stomachs were lesion-free. In pigs with liquid gastric content, erosions were present in 36% of cases, with no ulcerations detected. In pigs with solid gastric content, lesions were rare, with 64% of stomachs showing no lesions. In wild boars, all stomachs contained ingesta, mainly maize, oats, and beech nuts. Gastric lesions were rare and mild, with parakeratosis on the *pars oesophagea* observed in two animals (8%) and erosions in the fundic region detected in three cases (12%). The results demonstrate a strong association between gastric content and the occurrence of gastric lesions in finishing pigs, with empty stomachs representing a major risk factor. In contrast, wild boars showed a very low incidence of gastric alterations. These findings support the hypothesis that nutritional and management factors play a key role in the pathogenesis of gastric lesions in domestic pigs, while natural feeding behaviour and diet composition may exert a protective effect. This is in accordance with a fact that gastritis and gastric lesions are directly related to animal welfare. Finally, additional studies are needed to clarify potential role of stress in formation of gastric lesions and by that to identify tools to improve welfare in wild boar and domestic pig breeding.

Key words: wild boar; domestic pig; gastric lesions; *pars oesophagea*; stomach content; macroscopic evaluation; welfare

Zlatni sponzor

Srebrni sponzor

Brončani sponzori



Sponzori

