

# Mastitis u goveda - novi pristupi u kontroli i liječenju

---

**Bačina, Igor**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:136647>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-24**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Igor Bačina

Mastitis u goveda – novi pristupi u kontroli i  
liječenju

Diplomski rad

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Odjelu za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Predstojnik: Prof. dr. sc. Tugomir Karadjole

Mentori: Prof. dr. sc. Nino Maćešić

Doc. dr. sc. Mislav Kovačić

Članovi povjerenstva:

1. Izv. prof. dr. sc. Ivan Folnožić
2. Prof. dr. sc. Nino Maćešić
3. Doc. dr. sc. Mislav Kovačić
4. Prof. dr. sc. Marko Samardžija (zamjena)

## Zahvala

*Zahvaljujem se svojim mentorima, prof. dr. sc. Nini Maćešiću i doc. dr. sc. Mislavu Kovačić na pruženoj pomoći i savjetima tijekom izrade diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se svojim roditeljima koji su mi bili potpora tijekom studiranja i bez kojih ovo ne bi bilo moguće.*

*Zahvaljujem se prijateljima i kolegama uz koje su i oni teži trenutci lakše prošli.*

## **POPIS KRATICA**

APT - eng. Acoustic pulse therapy; terapija zvučnim valovima

BSS – broj somatskih stanica

IMI – intramamarna infekcija

PRHM – eng. phyto-biotic rich herbal mixture; biljna mješavina bogata fitobiotičima

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

PCR – eng. polymerase chain reaction; lančana reakcija polimerazom

RT-PCR – eng. reverse transcription polymerase chain reaction; reverzna transkriptaza lančana reakcija polimerazom

MAPK – mitogenom-aktivirane protein kinaze

IRT – Infracrvena termografija

VEGF - eng. vascular endothelial growth factor; vaskularni endotelni čimbenik rasta

# SADRŽAJ

1.	UVOD .....	1
2.	UZROČNICI MASTITISA.....	2
2.1.	OKOLIŠNI UZROČNICI .....	2
2.2.	ZARAZNI UZROČNICI .....	3
3.	PODJELA MASTITISA .....	6
3.1.	SUBKLINIČKI MASTITIS .....	6
3.2.	KLINIČKI MASTITIS.....	6
4.	PATOGENEZA MASTITISA.....	8
5.	DIJAGNOSTIKA MASTITISA .....	9
5.1.	BROJ SOMATSKIH STANICA.....	9
5.2.	MASTITIS TEST.....	11
5.3.	BAKTERIOLOŠKA PRETRAGA MLIJEKA .....	11
5.4.	TEST PROVODLJIVOSTI MLIJEKA .....	12
5.5.	NOVE METODE DIJAGNOSTIKE.....	13
6.	PREVENCIJA I LIJEČENJE MASTITISA .....	15
6.1.	PREVENCIJA MASTITISA .....	15
6.1.1.	UTJECAJ HRANIDBE NA POJAVNOST MASTITISA .....	15
6.2.	LIJEČENJE MASTITISA U LAKTACIJI.....	16
6.3.	LIJEČENJE MASTITISA U SUHOSTAJU.....	17
6.4.	ALTERNATIVNE METODE LIJEČENJA.....	19
6.4.1.	PRIPRAVCI BILJNOG PODRIJETLA .....	19
6.4.2.	PRIPRAVCI ŽIVOTINJSKOG PODRIJETLA .....	21
6.4.3.	OSTALI PRIPRAVCI I METODE LIJEČENJA .....	22
7.	RASPRAVA .....	25
8.	ZAKLJUČCI.....	27
9.	POPIS LITERATURE .....	28
10.	SAŽETAK .....	35
11.	SUMMARY .....	36
12.	ŽIVOTOPIS .....	37

## 1. UVOD

Mastitis je upala mliječne žlijezde koja nastaje kao posljedica traume ili infekcije mikroorganizmima, a smatra se jednim od glavnih uzroka ekonomskih gubitaka u mliječnoj industriji. Ukupni gubitci se mogu podijeliti na gubitke uzrokovane smanjenom proizvodnjom, kvalitetom mlijeka te gubitke zbog oštećenja sekretornog dijela tkiva (BAČIĆ, 2009.). Sekretorno tkivo vimena zahvaćeno upalnim procesom pokazuje značajne gubitke u lumenu alveolarnog epitela što kasnije dovodi do veće izloženosti vimena patogenima, odnosno do oslabljenog odgovora imunološkog sustava (NICKERSON i sur., 1995.). Mastitis uzrokuje preko 150 različitih vrsta mikroorganizama (bakterije, mikoplazme, kvasci, plijesni ili gljivice). Ipak, klinički najznačajniji uzročnici dolaze iz skupine bakterija, odnosno stafilokoka i streptokoka. Mastitis se manifestira u subkliničkom i kliničkom obliku (BAČIĆ, 2009.). U novije vrijeme se sve više napora ulaže u razvoj ranih metoda detekcije ove bolesti kako bi se smanjilo vrijeme od pojave početnog odgovora imunološkog sustava do potpunog ozdravljenja životinje. Budući da je mastitis uzrokovan mikroorganizmima, glavni pristup liječenju je primjena antibiotika, no u novije vrijeme zbog učestalog razvoja rezistentnih sojeva mikroorganizama počele su se razvijati alternativne metode liječenja i kontrole mastitisa mliječnih goveda. Cilj diplomskog rada je prikazati novije pristupe u kontroli i liječenju mastitisa krava.

## 2. UZROČNICI MASTITISA

### 2.1. OKOLIŠNI UZROČNICI

Okolišni, odnosno uvjetno patogeni uzročnici mastitisa su mikroorganizmi koji se nalaze u okolini životinje te ih možemo najbolje opisati kao oportunističkim patogenima. Do infekcije ovim mikroorganizmima najčešće dolazi zbog greški prilikom mužnje ili kod životinja koje imaju oslabljeni imunitet pa posljedično tome dolazi do ulaska i umnožavanja patogenih mikroorganizama. Do ove vrste mastitisa najčešće dolazi u intenzivnim uzgojima ili slabo održavanim stajama. Broj slučajeva raste tijekom toplog i vlažnog vremena jer se stvaraju povoljni uvjeti za rast i razvoj mikroorganizama u okolišu. Glavni uvjetovani uzročnici mastitisa dolaze iz porodice *Streptococcusa* (npr. *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*), koliformnih mikroorganizama (npr. *Echerichia coli*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.) te mikroorganizmi poput *Pseudomonas* spp (BAČIĆ, 2009.).

Bakterija *Streptococcus uberis* se nalazi u stajama u iskorištenoj slamnatoj stelji ili u silaži. Za razliku od ostalih streptokoka nema sposobnost vezanja na stanice domaćina. Najčešće *Streptococcus uberis* povezujemo s ljetnim mastitisima koji se javljaju u krava u suhostaju i junicama u ljetnim mjesecima. Uobičajen postupak prevencije mastitisa uranjanjem sisa u dezinficijens te liječenje antibioticima tijekom suhostaja ne daju željene rezultate. Učinkovitost antibiotika prema *Streptococcus uberis* je bolja u usporedbi s *Staphylococcus aureusom*, ali lošija u usporedbi s bakterijama *Streptococcus agalactiae* i *Streptococcus dysgalactiae*. Neka istraživanja su pokazala da  $\alpha$ -kazein i  $\beta$ -kazein potiču stvaranje biofilma koji štiti *Streptococcus uberis* prilikom antibiotske terapije (GOMES i HENRIQUES, 2016.)

Bakterija *Streptococcus dysgalactiae* uzrokuje uglavnom akutne mastitise na početku laktacije, ali i za vrijeme suhostaja što pokazuje da se širenje uzročnika može razvijati neovisno o mužnji. Uzročnik se obično nalazi u tonzilama i rodnici zaražene životinje. Mastitisi uzrokovani ovim uzročnikom često se javljaju zbog greške u muznoj opremi (loše podešeni pulzatori ili previsoki vakum) na način da uzrokuju ozljede samog vimena ili nadraženost sisnog kanala i okolnog tkiva (NAGLIĆ i sur., 2005.)



Bakterija *Escherichia coli* spada pod gram negativne štapićaste bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae* (uz *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., i *Aerobacter* spp.). Fiziološki se nalaze u probavnom sustavu ljudi i životinja kao sastavni dio mikroflore. Nalazimo ih i u okolini životinja bilo u vodi, hrani, kontaminiranoj stelji ili fecesu. Infekcija ovim uzročnikom češća je kod životinja koje se drže na vezu (SMITH i HOGAN, 1993.). Ostali pogodovni čimbenici su ozljede sisa, povećana vlaga, niska razina vitamina E i selena te niska razina laktoferina kao i povišena razina citrata u mlijeku (u ranoj laktaciji ili prije poroda). Iako se stanje obično manifestira blagim simptomima (groznica, anoreksija, depresija) može doći do brzog umnažanja bakterija za vrijeme puerperija što dovodi do jakog upalnog odgovora. Svi sojevi *Escherichie coli* u stijenki sadrže polisaharide koji se oslobađaju prilikom raspada bakterijske stanice. Polisaharidi oslobođeni prilikom raspada (lipid A) djeluju na organizam kao endotoksini. Lipid A i polisaharidni lanci neutraliziraju djelovanje pojedinih komponenata sustava komplementa te oštećuju endotel i uzrokuju nastajanje intravaskularnih ugrušaka te pojavu znakova šoka. Primjena antibiotika ne daje željene rezultate, odnosno ne djeluje na uzročnika (NAGLIĆ i sur., 2005.).

## 2.2. ZARAZNI UZROČNICI

Zarazni, odnosno kontagiozni uzročnici mastitisa se mogu prenositi sa životinje na životinju, pogotovo tijekom mužnje. Tu spadaju mikroorganizmi koji obitavaju na vimenu životinje te se umnažaju i ulaze u sisni kanal za vrijeme mužnje. Glavni uzročnici kontagioznog mastitisa su *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* te u manjoj mjeri mikoplazme (*Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma californicum*, *Mycoplasma bovis genitalium*) i *Corynebacterium bovis* (SCHREINER i RUEGG, 2002.). Kontagiozni uzročnici mastitisa najčešće uzrokuju subklinički oblik mastitisa koji se može pratiti određivanjem broja somatskih stanica u mlijeku (BSS). Klinički oblik mastitisa može se razviti u 40% slučajeva, ali se najčešće manifestira sa blagim simptomima. Kontagiozni uzročnici se mogu kontrolirati odvajanjem zdravih od inficiranih životinja, provođenjem

dezinfekcije prije i nakon mužnje te čišćenjem i održavanjem opreme za mužnju (SMITH i HOGAN, 1993.).

Bakterija *Staphylococcus aureus* je gram pozitivna bakterija koja se uobičajeno nalazi kod ljudi i životinja na koži i u nosu. Većina mastitisa je uzrokovana ovim uzročnikom (VASUDEVAN i sur.,2003). *Staphylococcus aureus* dovodi do značajnih ekonomskih gubitaka budući da oštećuje parenhim vimena pa se proizvodnja mlijeka u inficiranoj četvrti smanjuje i do 50%. Uzročnik se može naći na mliječnoj žlijezdi kronično inficiranih životinja, sisnom kanalu te na lezijama vimena. Može se naći i na rukama mužača zbog ne provođenja svih preventivnih mjera pa dolazi do prijenosa uzročnika sa životinje na životinju. *Staphylococcus aureus* može prodrijeti dublje u parenhim vimena vezan za mliječnu mast. Uz intracelularni smještaj *Staphylococcus aureus* izbjegava prepoznavanje od strane imunološkog sustava i posljedičnu fagocitozu stvaranjem polisaharida. Tijekom infekcije nastaju i mali apscesi u parenhimu vimena koji su obavijeni vezivnim tkivom. Vezivno tkivo predstavlja dodatnu barijeru između uzročnika i imunološkog sustava domaćina. S vremenom se mali apscesi mogu spojiti u veće, okom vidljive kvрге (preporuča se takve životinje izlučiti iz proizvodnje). Poput *Escherichiae coli* i *Staphylococcus aureus* stvara i otpušta endotoksine od kojih je najznačajniji alfa-hemolizin. Konzumacija svježeg, nepasteriziranog, zaraženog mlijeka može uzrokovati pojavu simptoma i u ljudi (BAČIĆ, 2009.).

Bakterija *Streptococcus agalactiae* je gram negativna bakterija koja spada u skupinu hemolitičkih streptokoka. Uzročnik se uglavnom nalazi na vimenu inficirane životinje te se prenosi sa životinje na životinju tijekom mužnje ili putem kontaminirane vode (JORGENSEN i sur., 2016.). Infekcije, iako pokazuju blage kliničke simptome, zbog trajanja mogu uzrokovati oštećenja žljezdanog dijela vimena te njegovu zamjenu sa vezivnim tkivom. Karakterizira ju otpornost na vanjske uvjete, tako da može perzistirati na koži (ali i dlaci) do tri tjedna i predstavljati potencijalni izvor zaraze za druge zdrave životinje. Jednom kada uđe u sisni kanal ona se veže za parenhim, te se najčešće nalazi na površini mukoze i u mliječnim kanalićima (KIBEBEW, 2017.).

Mastitisi uzrokovani mikoplazmama su rjeđi od onih nastalih infekcijama *Staphylococcus aureus* ili *Streptococcus agalactiae*. Često uzrokuju teške kliničke

simptome te oštećenja sekretornog tkiva. Infekcija je karakterizirana naglom promjenom konzistencije mlijeka te padom mliječnosti. U svježe izmuzenom mlijeku možemo naći krpice te obilan talog iznad kojega nalazimo vodenasti sadržaj. Mlijeko životinja često se ne testira na mikoplazme što im pogoduje u daljnjem širenju. Mikoplazme su otporne na uobičajenu antibiotsku terapiju. Najbolji način sprječavanja širenja uzročnika je pravilno provođenje higijenskih mjera, redovna kontrola mlijeka te izlučivanje zaraženih životinja zbog pada proizvodnje, ali i mogućeg širenja na zdrave životinje (BAČIĆ, 2009.).

Bakterija *Corynebacterium bovis* je gram pozitivna, štapičasta bakterija koja ima karakteristike uvjetno patogenih i kontagioznih uzročnika mastitisa. Uglavnom ju nalazimo na mliječnoj žlijezdi i sisnom kanalu zaražene životinje, ali se može naći i u okolišu. Unatoč visokoj kontagioznosti mastitisi uzrokovani ovim uzročnikom često prolaze neopaženo ili sa blagim simptomima. Najčešće se širi unutar stada zbog ne provođenja dezinfekcije prije i nakon mužnje (NAGLIĆ i sur., 2005.). Izostankom ovog koraka može doći do infekcije 50% četvrti unutar stada. Za suzbijanje i sprječavanje pojave ovog uzročnika je najvažnije pravilno provođenje higijene mužnje. Tijekom šezdesetih godina prošlog stoljeća uveden je tzv. „*The five point plan*“ koji se sadrži od dezinfekcije vimena prije i nakon mužnje, liječenje svih krava antibioticima za vrijeme suhostaja, liječenje životinja koje pokazuju kliničke znakove tijekom laktacije, pravilno održavanje muzne opreme te izlučivanje problematičnih životinja iz proizvodnje (BREEN, 2019.).

### 3. PODJELA MASTITISA

#### 3.1. SUBKLINIČKI MASTITIS

Subklinički mastitis karakterizira blaga upala mliječne žlijezde koju zbog nedostatka vanjskih vidljivih znakova ne možemo utvrditi vanjskom inspekcijom vimena. Subklinički mastitis uzrokovan je gram pozitivnim bakterijama (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*). Povećani broj somatskih stanica jedini je znak infekcije. Kod ovog oblika mastitisa još nije došlo do pojave klinički vidljivih simptoma bolesti (BAČIĆ, 2009.). Subklinički mastitis često prolazi neopaženo od strane radnika i veterinarara. Iako mogu biti vidljivi blagi znakovi upale oni često prolaze neopaženo pogotovo kod strojne mužnje. Mlijeko inficiranih životinja je naizgled bez promjena te nalikuje na mlijeko zdrave životinje. Ova faza bolesti ima promjenjivo vrijeme trajanja koje se može razlikovati od životinje do životinje unutar istog stada. Može varirati od nekoliko dana pa sve do nekoliko mjeseci. Dva moguća ishoda su razvoj kliničkih simptoma i prelazak u klinički mastitis ili spontano ozdravljenje životinje. Subklinički mastitis se u praksi javlja 2-20 puta češće od kliničkog. Njegovo pravovremeno otkrivanje je važan čimbenik u prevenciji nastanka i širenja mastitisa. Jednostavan način otkrivanja subkliničkog mastitisa je provođenje mastitis testa te praćenje broja somatskih stanica (ABEBE i sur., 2016.). Sa svakim udvostručenjem broja somatskih stanica mliječnost pada za 2%. Osim pada mliječnosti dolazi i do pada kvalitete mlijeka zbog povećane propustljivosti krvnih žila. Porastom količine krvnih proteina, količina kazeina i mliječne masti se smanjuje.

#### 3.2. KLINIČKI MASTITIS

Klinički mastitis je oblik bolesti u kojoj su se počeli pokazivati vidljivi znakovi bolesti. To je dijagnostički jednostavniji oblik bolesti jer su simptomi vidljivi i bez provođenja testiranja. Klinički znakovi vidljivi su na samom vimenu ili preko promjena u kvaliteti i konzistenciji mlijeka. Mlijeko bolesne životinje je prožeto vidljivim krpicama ili vlaknastim

tvorbama (mješavina leukocita, bjelančevina te odumrlog epitela) te je vodenasto. Klinički mastitis najčešće dovodimo u vezu sa infekcijom i razmnožavanjem *Streptococcus uberis*, *Escherichie coli*, *Klebsielle* spp. te *Pseudomonasa* spp. Prema jačini simptoma klinički mastitis možemo podijeliti na blagi, umjereni te teški oblik mastitisa (PETERSON-WOLFE, 2010.).

Blagi oblik kliničkog mastitisa je najčešći na farmama koje ne provode redovne kontrole. Često prođe neopažen te dođe do samoizlječenja. Blagi oblik mastitisa ima nekih sličnosti sa subkliničkim mastitisom. Simptomi bolesti su često vrlo blagi i na prvi pogled nisu uočljivi. Provođenjem mastitis testa na životinji koja ima blagi oblik kliničkog mastitisa možemo uočiti krpice čak i prije dodavanja reagensa (BAČIĆ, 2009.) .

Kod umjerenog oblika kliničkog mastitisa osim promjena na mlijeku dolazi i do razvoja promjena na samoj mliječnoj žlijezdi. Zbog nakupljanja krpica unutar vimena dolazi do blokiranja mliječnih kanalića te posljedičnog nakupljanja mlijeka unutar vimena. To dovodi do povećanja njegovog obujma. Do povećanja obujma dolazi i zbog odgovora tkiva na upalni proces koji se događa. Dolazi do stvaranja upalnog edema koji je prisutan neovisno o nakupljanju mlijeka. Uslijed svih ovih faktora zahvaćena četvrt postaje povećana, tvrda, promijenjene boje (crvenija od okolnog tkiva) te moguće i temperirana i bolna na dodir (KIBEBEW, 2017.).

Teški oblik kliničkog mastitisa je praćen poremećajem općeg stanja životinje. Životinja je u ovoj fazi mastitisa letargična, vidno potištena, pokazuje znakove opće slabosti, dolazi do gubitka apetita te do razvoja drhtavica te povišenja tjelesne temperature. Ostali klinički znakovi su povišene vrijednosti bila i disanja, smanjene kontrakcije buraga, veliki pad mliječnosti te mogući razvoj hipokalcemije (mliječna groznica). Zbog jakih upalnih procesa dolazi do oštećenja alveola te moguće produkcije krvavog, vodenastog ili sluzavog mlijeka. Pogoršanja općeg stanja životinje posljedica je stvaranju endotoksina od strane mikroorganizama koje su kolonizirale i umnažaju se u vimenu. Endotoksini putem krvi putuju kroz cijeli organizam pa se ovaj oblik mastitisa često naziva i toksični mastitis (BAČIĆ, 2009.).

#### 4. PATOGENEZA MASTITISA

Nastanak mastitisa najčešće je posljedica kolonizacije i umnažanja mikroorganizama unutar mliječne žlijezde. Mastitis može nastati ulaskom mikroorganizama kroz sisni kanal (galaktogena infekcija), preko ozljeda na koži mliječne žlijezde (limfogena infekcija) ili nešto rjeđe putem krvi (hematogena infekcija). Zbog umnažanja patogenih mikroorganizama na mjestu infekcije dolazi do imunološkog odgovora organizma domaćina. Zahvaćeno tkivo reagira na način da dolazi do stvaranja i otpuštanja medijatora upale unutar zahvaćenog tkiva. Medijatori upale potiču migraciju leukocita iz krvi na mjesto upale. Dolaskom na mjesto upale leukociti okružuju mikroorganizme te dolazi do fagocitoze (BAČIĆ, 2009.). Brzina infiltracije mikroorganizama te njihovo umnažanje na okolno tkivo ovisit će o uzročniku, broju mikroorganizama, veličini zahvaćenog tkiva te najviše o stanju imunološkog sustava zahvaćene životinje (RUEGG, 2003.). Mlijeko sadrži komponente koje imaju baktericidno djelovanje u obliku lizosoma, laktoferina te peroksidaza. Isto tako, važnu ulogu u obrani organizma životinje ima i imunosni sustav putem stanične i humoralne imunosti koje štite životinju od daljnjeg širenja uzročnika (EZZAT ALNAKIP i sur, 2014.). Površina sisnog kanala je obložena tankim slojem keratinina koji se uklanja prilikom strojne mužnje. U slučaju prekomjerne tvorbe keratinina (hiperkeratoza) koža sisnog kanala postaje hrapava što omogućava lakše naseljavanje mikroorganizama. Zbog hrapave površine sisnog kanala otežana je dezinfekcija prilikom mužnje (BAČIĆ, 2009.). Pogodovni čimbenici za razvoj mastitisa su oštećenje kože vimena, higijena nastambi i muznih strojeva, dob životinje te pasminska predispozicija životinje. Prilikom nepravilne strojne mužnje, mužnje na prazno ili prekomjerne mužnje može doći do oštećenja kože vimena. Isto tako, mastitisima su podložnije stražnje četvrti zbog izloženosti ozljedama i nepovoljnim higijenskim uvjetima. Ozljede kože vimena su rjeđe kod visoko postavljenog i plitkog vimena. Anatomija četvrti također igra ulogu u razvoju mastitisa, njezina udaljenost od tla te stanje sisnog kanala pogoduju kolonizaciji mikroorganizama te razvoju subkliničkog ili kliničkog mastitisa. Mastitis će se češće razviti u starijih jedinki, jedinki držanih u nepovoljnim higijenskim uvjetima te kod onih jedinki koje su imali povećani broj somatskih stanica u posljednjoj laktaciji.

## 5. DIJAGNOSTIKA MASTITISA

Dijagnostikom mastitisa otkrivamo inficirane krave i uzročnike koji su izazvali infekciju. Idealan način otkrivanja mastitisa ne postoji, stoga se koriste razne metode koje se prilagođavaju uvjetima na farmi. Metoda dijagnostike mastitisa treba biti jeftina, brza, pouzdana i primjenjiva na farmi. Otkrivanje mastitisa u ranijoj fazi omogućava brže djelovanje i određivanje liječenja (BAČIĆ, 2009.). Dijagnostika se uglavnom temelji na određivanju BSS u mlijeku, bakteriološkoj pretrazi te mastitis testu. U kliničkom stadiju bolesti testiranje nije potrebno jer se kliničkim pregledom mogu uočiti promjene na vimenu. Mikrobiološko testiranje je poželjno kako bi se mogla provesti što učinkovitija terapija. u slučajevima subkliničkog mastitisa životinje ne pokazuju kliničke znakove i nema uočenih promjena u sastavu mlijeka te je bolest potrebno dijagnosticirati različitim metodama. Subklinički mastitis pogađa oko 25 do 50% mliječnih krava, pa je ekonomski utjecaj subkliničkog mastitisa znatno veći od utjecaja uzrokovanog kliničkim mastitisom (ARGAW, 2016., BENIĆ i sur., 2018.). Do danas su razvijene brojne metode za otkrivanje infekcije mliječnih žlijezda.

Konvencionalne metode dijagnostike mastitisa uglavnom su kvalitativne sa niskom razinom osjetljivosti i temelje se na određivanju BSS i mastitis testu. U novije vrijeme s razvojem tehnologije uvode se molekularne metode koje su kvantitativne i visoko specifične temeljene na genotipizaciji i fenotipizaciji. Ove visoko specifične metode predstavljaju važan napredak u pogledu što učinkovitijeg liječenja, odnosno odabira antibiotika ovisno o uzročniku mastitisa (ili neke druge metode liječenja) (GURJAR i sur., 2012, BENIĆ i sur., 2018.).

### 5.1. BROJ SOMATSKIH STANICA

Mlijeko je proizvod epitelnih stanica mliječne žlijezde. Epitelne stanice su obložene krvnim žilama i iz krvi uzimaju prekursore mlijeka. Somatske stanice čine epitelne stanice i leukociti, tj. neutrofil, makrofagi, limfociti i eritrociti. Epitelne stanice se luče u mlijeko iz

žljezdane sluznice, a leukociti ulaze u mliječnu žlijezdu kao odgovor na infekciju ili ozljedu (SHARMA i sur., 2011., DILLON, 2012.). Epitelne stanice u mlijeku se mogu podijeliti na vakuolirane i nevakuolirane. Vakuolirane i ne vakuolirane epitelne stanice imaju velike jezgre sferičnog, eliptičnog ili nepravilnog oblika. Citoplazma nevakuoliranih epitelnih stanica nije granulirana i ne sadrži masne kapljice. Kod vakuoliranih se količina citoplazme mijenja, a sadrži različit broj masnih vakuola u jezgri ili im je jezgra razgrađena u više manjih granula u citoplazmi (DOBRANIĆ, 2006.). U zdravom mlijeku leukociti čine oko 25% somatskih stanica. Uloga im je fagocitoza patogenih mikroorganizama i pokretanje odgovarajućeg imunološkog odgovora. Na početku infekcije epitelne stanice mliječne žlijezde i makrofagi sintetiziraju i oslobađaju različite protuupalne citokine. Protuupalni citokini stimuliraju kemotaksiju neutrofila iz okolnih krvnih žila. Limfociti koordiniraju imunološkim odgovorom dok neutrofil i makrofagi fagocitiraju i uništavaju bakterije. Broj somatskih stanica desetljećima se koristi kao zlatni standard u dijagnostici subkliničkog mastitisa. Može se izmjeriti izravnim ili neizravnim metodama. Uzorke mlijeka za mjerenje BSS treba uzeti neposredno prije mužnje, nakon odbacivanja prva tri mlaza mlijeka (LAM, 2009., DILLON, 2012.). BSS se određuje u jednom ml mlijeka. Mlijeko iz neinficirane četvrti obično ima vrijednost BSS-a ispod 100 000/ml mlijeka. U Europi i Sjevernoj Americi granična vrijednost BSS-a iznosi 200 000/ml mlijeka, iako je u SAD-u zakonski postavljena granica na 400 000/ml. U Australiji i Novom Zelandu zakonski je određena granica vrijednosti BSS-a od 250 000/ml, zbog većinski pašnog načina držanja krava tijekom cijele godine (KNEŽEVIĆ i sur., 2021.). U Hrvatskoj se mjesečna analiza mlijeka provodi prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka. Mjesečni izvještaj omogućuje kontinuirano praćenje zdravlja vimena pojedine krave i praćenje subkliničkih mastitisa. U većini zapadnoeuropskih zemalja kontrola somatskih stanica provodi se prilikom svakog odvoza mlijeka s farme. Nepisano pravilo je da svako povećanje od 100,000 somatskih stanica u skupnom uzorku ukazuje da je 10% više inficiranih krava u stadu (BAČIĆ, 2009.).



## 5.2. MASTITIS TEST

Mastitis test je neizravna, jednostavna, orijentacijska metoda dijagnostike subkliničkog mastitisa čija je glavna namjena orijentacijski izmjeriti BSS procjenom količine DNK u mlijeku. Mastitis test može se provesti primjenom Zagrebačkog, California ili Wisconsin mastitis reagensa. Za provedbu testa koristi se vodena otopina površinski aktivne tvari i indikatora pH. Zagrebački mastitis reagens reagira sa mlijekom na način da zbog povećane površinske napetosti dovodi do razaranja stanične membrane leukocita. Razaranjem stanične membrane dolazi do oslobađanja DNK sadržane unutar leukocita koji polimerizira i tvori gel. Zdravlje mliječne žlijezde se procjenjuje na osnovu konzistencije mješavine mlijeka i reagensa te promjeni boje indikatora uzrokovane promjenom pH. Što je infekcija jača u mlijeku je prisutno više leukocita i formira se veća i gušća količina mase slične gelu. Ova vrsta testiranja se obično ne provodi na životinjama koje su nedavno zasušene, koje su u suhostaju ili koje su se nedavno porodile jer je u tim slučajevima fiziološki povišena razina leukocita (MAĆEŠIĆ i sur., 2016.). Mastitis test nije precizan poput individualnog BSS-a, ali rezultati su dostupni odmah i očitavaju se za svaku četvrt posebno.

## 5.3. BAKTERIOLOŠKA PRETRAGA MLIJEKA

Bakteriološka pretraga mlijeka se smatra zlatnim standardom za dijagnostiku mastitisa kod krava. Ona pomaže prilagoditi liječenje oboljelih životinja te prilikom dugotrajnog bilježenja rezultata omogućava bolje praćenje i razumijevanje najčešćih problema pojedinog stada. Uvijek je preporučljivo uzimati uzorak mlijeka iz svake pojedine četvrti ili skupnog uzorka svih četvrti. Radi identifikacije uzročnika uzorci se šalju u laboratorij gdje se mlijeko nasađuje i inkubira na posebnim hranjivim podlogama. Negativna strana ove pretrage je cijena i vrijeme potrebno za dobivanje rezultata (ponekad i do tjedan dana). Bakteriološka pretraga se preporuča u slučajevima uvođenja nova junice ili krave u stado, prije liječenja kliničkog mastitisa, kada postoji sumnja na subklinički mastitis, rutinski nakon poroda, za rješavanje određenih problema kod kontagioznih uzročnika (*Staphylococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*,

mikoplazme) i za rješavanje određenih problema kod uvjetovanih mikroorganizama (učestali mastitisi tijekom suhostaja i rane laktacije). Bakteriološko testiranje kod sumnje na subklinički mastitis se provodi kod svih krava čiji je pojedinačni BSS prešao 200,000/mL ili ako se BSS učetverostručio u usporedbi s prošlim rezultatom. Prilikom uzimanja uzoraka za bakteriološku pretragu treba se strogo pridržavati načela asepsa. Uzorke treba uzeti prije redovite mužnje ili najmanje 4 sata nakon mužnje (BAČIĆ, 2009.).

#### 5.4. TEST PROVODLJIVOSTI MLIJEKA

Test električne provodljivosti je indirektan test za otkrivanje mastitisa. Električna provodljivost mlijeka raste prije pojave kliničkih znakova mastitisa kada dolazi do porasta količine soli (klorida) u mlijeku. Ne postoji direktna povezanost između električne provodljivosti i broja somatskih stanica. Električna provodljivost ovisit će o stadiju laktacije, količini masti, intervalu između mužnji te pasminskim svojstvima. Dvije krave mogu imati sličnu električnu provodljivost istodobno imajući različiti BSS (NORBERG i sur., 2004.). Stoga je korisnije uspoređivati rezultate električne provodljivosti s rezultatima prethodnih dana ili s ostalim četvrtima nego postavljanje graničnih vrijednosti. Postoje dva oblika testa električne provodljivosti, test na kravi i test u muznom sistemu. Test na kravi se provodi prijenosnim ručnim sistemom. Pouzdanost ovog sistema je niža od mastitis testa. Test u muznom sistemu provodi se pomoću senzora za električnu provodljivost postavljenima u mjerač protoka količine mlijeka koji mjeri prosječnu provodljivost svih četvrti. Električna provodljivost pojedinih četvrti se može mjeriti sensorima postavljenima u muzne čaške ili male cjevčice koje vode mlijeko iz svake četvrti. Ako su senzori povezani sa centralnim sustavom mogu javiti svako povećanje električne provodljivosti u odnosu na prošle mužnje. To je osobito korisno kod farmi koje ne provode probnu mužnju. Promjena u električnoj provodljivosti može otkriti novu infekciju jednu do pet mužnji ranije nego probna mužnja (BAČIĆ, 2009.).

## 5.5. NOVE METODE DIJAGNOSTIKE

Postojeće dijagnostičke metode mastitisa, broj somatskih stanica i mastitis test, i bakteriološka pretraga i dalje daju zadovoljavajuće rezultate. Kako bi se smanjili mogući ekonomski gubitci uzrokovani subkliničkim mastitisom provode se nova istraživanja i razvoj novih metoda ranijeg i preciznijeg otkrivanja mastitisa. Ove nove metode su više orijentirane prema kvantitativnoj dijagnostici, odnosno preciznijem i ranijem otkrivanju točnog uzročnika mastitisa.

U nove metode točne i specifične identifikacije uzročnika možemo svrstati „VITEK“ kartice koje mogu identificirati bakterije, plijesni i kvasce. Test se sastoji od plitice koja se sastoji od 64 jažice koje uz pomoć specijaliziranog uređaja mogu odrediti točnog uzročnika u roku od 2 sata (HARJANTI i sur., 2018.). Genotipizacija predstavlja specifične oblike testiranja temeljenih na PCR-u i njegovim varijantama (npr RT-PCR), LAMP metoda (*Loop-mediated isothermal amplification* ili izotermalna amplifikacija nukleinskih kiselina), NGS (*next generation sequencing*) i MALDI-TOF MS (*matrixassisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*) (BARREIRO i sur., 2017.).

Infracrvena termografija (IRT) je nova metoda dijagnostike temeljenja na razlici temperature između kože i površine vimena. Do razlike u temperaturi dolazi zbog umnažanja patogenih mikroorganizama i nastanka upalne reakcije koja oslobađa toplinu (egzotermna reakcija). To je jednostavna, učinkovita i neinvazivna dijagnostička metoda (ZANINELLI i sur., 2018.). IRT ubrajamo pod fenotipske dijagnostičke metode. Fenotipske dijagnostičke metode ukazuju na općenite promjene koje mogu biti vidljive ili ne vidljive golim okom i koje nisu specifične za određeni patogen. Dokazano je da postoji razlika u temperaturi između subkliničkog i kliničkog oblika mastitisa (SATHIYABARATHI i sur. 2016.). Kod kliničkog oblika mastitisa IRT je zabilježio veću razliku temperature između kože i površine vimena. Vrlo osjetljiva toplinska kamera koja se koristi kod IRT-a može otkriti i manje promjene u temperaturi i omogućiti brže postavljanje dijagnoze i početak liječenja.

Novija istraživanja su usmjerena prema biomarkerima koji mogu biti odličan indikator ranog obrambenog odgovora organizma. Haptoglobin kao biomarker se često koristi u procjeni mastitisa. Predstavlja upalni protein koji se javlja kao rani odgovor organizma na upalu te može biti koristan za rano otkrivanje subkliničkog mastitisa. On se ubraja u proteine akutne faze uz serum amiloid A, fibrinogen te ceruloplazmin. Oni se oslobađaju od strane imunološkog sustava kao odgovor na stresne podražaje iz okoliša. Ti okolišni stresori (trauma, neoplazija, stres, upala) dovode do poremećaja u homeostazi organizma zahvaćene životinje (KALMUS i sur., 2013.). Oslobađanje proteina akutne faze dovodi do homeostaze organizma te zaštite od razvoja patoloških procesa. Još jedan od biomarkera koji pokazuje pozitivne rezultate kao rani indikator je vitronektin (TURK i sur., 2012.). TURK i sur., (2012) utvrdili su da dolazi do porasta koncentracije biomarkera vitronektina u slučajevima subkliničkog i kliničkog mastitisa. Istraživanjem je dokazano i da kod životinja kod kojih se razvio subklinički i klinički mastitis došlo do oslobađanja oksidativnih medijatora kao odgovor organizma na oksidativni stres. Kod mliječnih krava sa subkliničkim i kliničkim mastitisom došlo je do snižavanja razine paraoksonaze-1 (KOVAČIĆ i sur., 2019.) kao odgovora organizma na razvoj oksidativnog stresa i razvoja mastitisa. Ova istraživanja otvaraju mogućnost razvoja brzih testova prikladnih za uporabu u terenskim uvjetima.

## 6. PREVENCIJA I LIJEČENJE MASTITISA

### 6.1. PREVENCIJA MASTITISA

Prevenција mastitisa provodi se na više razina. Glavne mjere kontrole za sprječavanje nastanka uvjetovanih mastitisa su, povoljna higijena okoliša, dezinfekcija sisa nakon mužnje, čiste i suhe sise, održavanje i higijena muzne opreme kao i liječenje u suhostaju. Za kontrolu zaraznih mastitisa osobito je važna dezinfekcija sisa prije mužnje, izlučenje kronično inficiranih, održavanje i higijena muzne opreme te liječenje u laktaciji i suhostaju (BAČIĆ, 2009.). Provedba biosigurnosnih mjera za prevenciju zaraznih mastitisa i poboljšanje uvjeta smještaja te higijene muzne opreme smanjuje pojavnost mastitisa u laktaciji (TURK i sur., 2017.). Udio infekcije zaraznim i uvjetovanim patogenima je u prva dva tjedna suhostaja visok. Uzrok je prestanak mužnje i dezinfekcije sisa, a povećani tlak u mliječnoj žlijezdi zbog zaostalog mlijeka dovodi do otvaranja sisnog kanala i ulaska mikroorganizama u vime. Rizik od infekcije se smanjuje nekoliko tjedana od zasušenja da bi se ponovo povećao približavanjem poroda. Prije poroda povećava se rizik od infekcije uvjetno patogenih mikroorganizama (MAĆEŠIĆ i sur., 2022.). Više od 50% kliničkih mastitisa koji se javljaju u ranoj laktaciji, posljedica je infekcije vimena koje su nastale u vrijeme suhostaja (BUROVIĆ, 2020).

Prevenција novih infekcija mliječne žlijezde tijekom suhostaja važna je za slijedeću laktaciju te se provodi primjenom intramamarnih antibiotika za zasušivanje, a sastavni je dio programa kontrole mastitisa u pet točaka. Britanski istraživači su tijekom 60-ih godina 20 stoljeća razvili program od 5 točaka i njegove mjere odnosile su se na sprječavanje širenja kontagioznih uzročnika (BREEN, 2019.).

#### 6.1.1. UTJECAJ HRANIDBE NA POJAVNOST MASTITISA

Prehrana ima važan utjecaj na imunost krava i na pojavu mastitisa kod mliječnih krava. Dodaci prehrani kao što su vitamini i minerali koriste se za poboljšavanje imunosti te

sprječavanje pojave mastitisa. Na prevenciju i liječenje mastitisa izravan utjecaj imaju dodatci prehrani poput cinka, mangana, bakra i vitamina C (GANDA i sur. 2016.). Važnu ulogu u optimizaciji odgovora imunskog sustava imaju selen i vitamini E koji imaju antioksidativna svojstva. Selen ima dobra protuupalna svojstva. Njegovo protuupalno djelovanje se temelji na inhibiciji aktivacije NALP3 proteina i NF- $\kappa$ B aktivacijskog puta (MA i sur., 2019.). Cink je značajan za nespecifičnu urođenu liniju imunskog obrane, a sudjeluje u izgradnji epitelnih stanica kože i sluznici. Nedostatak cinka dovodi do smanjenog staničnog imunskog odgovora. Aplikacija vitamina poput A, D3, E i H može pomoći pri bržem oporavku kod subkliničkog mastitisa. Vitamin D potiče brži odgovor monocita i uspostavlja normalnu oksidativnu ravnotežu. Povećana tvorba oksidativnih spojeva u odnosu na antioksidans može dovesti do oštećenja stanica i tkiva (MERRIMAN i sur., 2018.). Vitamin E potiče fagocitnu aktivnost i time smanjuje rizik od nastanka mastitisa. Dokazano je i da vitamin E poboljšava imunološki odgovor životinje i dovodi do smanjenja BSS-a. Svježa trava, ali i travna silaža sadrže velike količine vitamina E. Hranidba visoko koncentriranim obrocima povezuje se smanjenim brojem imunskih stanica što ukazuje na važnost količine koncentrata u obroku (MA i sur., 2019.).

## 6.2. LIJEČENJE MASTITISA U LAKTACIJI

Terapija mastitisa uglavnom se temelji na intramamarnoj primjeni penicilina, ampicilina, cefalosporina i tetraciklina (HOSSAIN i sur., 2017.). Penicilin djeluje na gram pozitivne bakterije dok je ampicilin antibiotik proširenog spektra djelovanja. Cefalosporini se dijele na četiri skupine (generacije) ovisno o širini spektra djelovanja. Svi cefalosporini od prve do četvrte generacije dobro djeluju na gram pozitivne bakterije dok su samo cefalosporini 3. i 4. generacije djelotvorni protiv gram negativnih bakterija. Tetraciklin je antibiotik širokog spektra koji dobro djeluje na *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* te *Corynebacterium sp.* Nešto slabiji učinak ima na gram negativne bakterije (*Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia sp.*). BUROVIĆ (2020) je utvrdio visoku razinu antimikrobne rezistencije kod benzipenicilina i oksitetraciklina. Rana dijagnostika i početak liječenja kliničkog mastitisa će pridonijeti blažim kliničkim znakovima te će biti kraće trajanje

infekcije. Mastitise uzrokovane bakterijom *Streptococcus agalactiae* treba liječiti penicilinima za intramamarnu primjenu u laktaciji. Mastitisi uzrokovani bakterijom *Staphylococcus aureus* imaju nisku stopu izlječenja intramamarnim antibioticima u laktaciji. Učinkovitost liječenja može biti do 50% ako se liječenje započne u vrlo ranoj fazi infekcije. Liječenje mikoplazme, gljivica te kvasaca najčešće nije učinkovito u njihovu uklanjanju iz organizma. Dodatna potporna terapija koristi ublažavanju kliničkih simptoma, odnosno bržeg i lakšeg oporavka krave. Potrebno je dati 20 – 60 litara tekućine oralno u prvom danu liječenja. Bolesnoj kravi se može dati i fiziološka otopina intravenozno, ali ovaj oblik tekućinske terapije zahtjeva znatno veći utrošak vremena. Često izmuzivanje uobičajena je preporuka kod liječenja teških oblika kliničkih mastitisa uzrokovanih koliformnim mikroorganizmima. Čestim izmuzivanjem smanjuje se upala, uklanjaju toksini te smanjuje broj mikroorganizama u vimenu (BAČIĆ, 2009.).

### 6.3. LIJEČENJE MASTITISA U SUHOSTAJU

Najučinkovitijom se pokazala preventivna terapija antibioticima za vrijeme suhostaja. Suhostaj je razdoblje visokog rizika tijekom kojega mogu nastati nove infekcije koje uzrokuju pojavu mastitisa u ranoj laktaciji. Mastitis u suhostaju može nastati zbog prestanka mužnje. Tijekom redovite mužnje (2-3 puta dnevno) dolazi do evakuacije mikroorganizama iz vimena. Tijekom suhostaja se ne čini dezinfekcija sise koja pomaže pri smanjivanju broja mikroorganizama na koži sise i ulazu u sisni kanal. Na početku i na kraju suhostaja dolazi do povišenog pritiska unutar vimena. Dolazi do širenja sisnog kanala što omogućava lakši ulazak mikroorganizmima. Suhostaj možemo podijeliti s obzirom na fiziološke promjene u mliječnoj žlijezdi na tri perioda, period aktivne involucije, period pasivne involucije i period regeneracije. Period aktivne involucije započinje prekidom proizvodnje mlijeka i traje do tridesetog dana suhostaja. Tijekom ovog perioda dolazi do akumulacije mlijeka u alveolama i ponovne apsorpcije u sekretorne stanice. Period pasivne involucije predstavlja period u kojem je mliječna žlijezda u fazi odmora tj potpune involuiranosti. Period regeneracije započinje nakon perioda odmora. U ovom periodu dolazi do stvaranje novih mliječnih sekretornih stanica i početka proizvodnje

kolostruma (BAČIĆ, 2009.). Svaki mastitis koji se razvije u ovom periodu će imati izravan učinak na mliječnost i kvalitetu mlijeka u idućem laktacijskom ciklusu. Antibiotik produženog djelovanja se može aplicirati u sve četvrti vimena ili selektivno samo u zahvaćenu četvrt. U većini zemalja se preporuča liječenje svih četvrti svake krave. Na farmama s odličnim uvjetima držanja u suhostaju te koje su riješile probleme infekcija kontagioznim uzročnicima (*S.aureus*, *S.agalactiae*) moguće je provoditi selektivno liječenje. Odmah nakon toga aplicira se sredstvo za zatvaranje sisnog kanala kako bi se spriječila mogućnost daljnjeg ulaska uzročnika i razvoj intramamarne infekcije (IMI). To sredstvo oponaša prirodni keratinski čep koji se fiziološki razvije za vrijeme suhostaja i predstavlja prirodnu barijeru okoliša i sisnog kanala (BHUTTO i sur., 2012.). Sredstva za zatvaranje sisnog kanala se mogu podijeliti u vanjske sisne zatvarače i unutarnje sisne zatvarače. Vanjski sisni zatvarači stvaraju vanjski omotač na koži sise dok unutarnji ispunjavaju donji dio sisne cisterne te tako sprječavaju ulazak mikroorganizama.



## 6.4. ALTERNATIVNE METODE LIJEČENJA

### 6.4.1. PRIPRAVCI BILJNOG PODRIJETLA

Lijekovi na biljnoj bazi su najstariji oblik liječenja. Zbog manje koncentracije djelatne tvari potrebno je duže vrijeme da se postigne željeni učinak. Prednost im je što ih ne karakteriziraju nedostaci povezani sa antibiotskom terapijom. Za razliku od antibiotske terapije biljni pripravci ne potiču stvaranje rezistentnih sojeva. Rizik od predoziranja je mali zbog niske razine toksičnosti (PASCA i sur., 2017.). Dokazano je antimikrobno i protuupalno djelovanje brojnih biljaka. Oni uglavnom djeluju na način da inaktiviraju NF- $\kappa$ B puteve aktivacije.

Baikalein je spoj biljnog podrijetla čija se upotreba u liječenju mastitisa istražuje. Ubrajamo ga u fitokemijske spojeve. To su bioaktivni spojevi koje proizvodi biljka kako bi se zaštitila od plijesni, bakterija i virusnih infekcija. Dobiven je iz korijena *Scutellaria baicalensis* i *Scutellaria lateriflora*. ZHAO i sur. (2018.) su utvrdili da baikalein ima inhibitorno djelovanje na rast kolonija *Escherichia coli in vitro*. Iako je antimikrobni učinak slab, baikalein djeluje na *Escherichia coli* na način da povećava njegovu osjetljivost na djelovanje antibiotika. Baikalein djeluje na staničnu stijenku *Escherichie coli* i time povećava permeabilnost. Zbog povećane propustljivosti stanične stijenke dolazi do prodiranja antimikrobnih pripravaka unutar *Escherichie coli* (HE i sur., 2015.). U istraživanju provedenom na miševima koji su imali mastitis uzrokovan *Staphylococcus aureusom* utvrđeno je da baikalein ima protuupalno djelovanje, odnosno smanjuje ekspresiju proupalnih citokina (YANG i sur., 2016.).

Timol je prirodni spoj iz grupe monoterpenskih fenola. Ovi fenoli su dobiveni iz ekstrakta majčine dušice, iz kore mandarine i origana. Djelovanje timola je višestruko. U humanoj medicini se koristi za topikalno liječenje kožnih oboljenja, inhalaciju kod respiratornih poremećaja te za dentalnu njegu. Utvrđeno je antiseptičko, spazmolitičko i antihelmitičko djelovanje timola. Točan mehanizam antihelmitičkog djelovanja nije poznat, ali se pretpostavlja da djeluje na GABA-R receptore (SANCHEZ i sur., 2004.). Timol se brzo resorbira s mjesta aplikacije te brzo metabolizira i izlučuje iz organizma. Pokazuje

protuupalne karakteristike u istraživanjima provedenim na miševima, ali isti ovisi o dozi koja se primjenjuje. Smanjuje ekspresiju proupalnih citokina (TNF- $\alpha$  i IL-6) i upalom posredovanih proteina (COX-2) te smanjuje broj kolonija *Staphylococcus aureus*. Većina ovih djelovanja je povezana sa djelovanjem timola na NF- $\kappa$ B proteinski faktor koji ima značajnu ulogu u transkripciji gena (WEI i sur., 2014.).

Resveratrol je stilbenoid koji pripada skupini polifenola čija upotreba za liječenje mastitisa nije dovoljno istražena. Prisutan je u vinovoj lozi, bobičastom voću i kikirikiju. Resveratrol je spoj koji luče biljke kao prirodni odgovor na ozljedu ili neka druga stresna stanja. Značaj resveratrola je u njegovom antioksidativnom djelovanju i sposobnosti da ukloni slobodne radikale. On štiti MAC-T stanice od oksidativnog stresa prouzrokovanog djelovanjem hidrogen peroksida. Mehanizam zaštite stanica od mitohondrijske apoptoze se sastoji od inhibiciji ekspresije BCL-2 sličnih proteina i poticanja ekspresije BCL-2 proteina (JIN i sur., 2016.). Moguće terapijsko djelovanje resveratrola je dokazano tijekom istraživanja na miševima (ZHANG i sur., 2017.). Prilikom tog istraživanja se pokazalo da je resveratrol suzbio nastanak mastitisa induciranog gram negativnim bakterijama inhibirajući MAPK i NF- $\kappa$ B signalne puteve. Iako je resveratrol snažan antioksidans njegova bioraspoloživost je relativno niska.

Kurkumin je glavni aktivni sastojak kurkume (*Curcuma longa*). Posljednjih desetljeća provedena su brojna istraživanja kurkumina. Utvrđeno je da ima učinak na razne transkripcijske faktore, citokine, faktore rasta, kinaze i ostale enzime. Kurkumin pokazuje najbolje rezultate i najveći potencijal kao mogući lijek za mastitise. Istraživanja na miševima (FU i sur., 2014.) su pokazala potencijalno djelovanje na mijeloperoksidazu i nakupljanje neutrofila u mliječnoj žlijezdi. Kurkumin inhibira proupalne citokine (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1) smanjujući ekspresiju TLR-4 proteina i fosforilaciju I $\kappa$ B $\alpha$  i NF- $\kappa$ B. Nanoformulacija kurkumina dovodi do slabljenja upalnog odgovora prouzrokovanog djelovanjem *Staphylococcus aureusom*. Konzumacija svježe kurkume neće imati značajan učinak na mastitise zbog male bioraspoloživosti. Njegova primjena u mješavinama biljaka pospješuje učinak. Primjenom kurkume u biljnim mješavinama bogatim fitobioticima (PRHM – *phytobiotic rich herbal mixture*) došlo je do snižavanja

broja somatskih stanica te većeg iskorištavanja hrane što može imati dugoročne pozitivne učinke na povećanu mliječnost životinja tretiranih sa PRHM-om (FU i sur., 2014.).

Protuupalno i antimikrobno djelovanje eteričnih ulja je dugo poznato u humanoj medicini. FRATINI i sur., 2014. istraživali su učinak komercijalnih eteričnih ulja na patogene koji uzrokuju mastitise (*S. aureus*, *S. warneri*, *S. siuri*, *S. chromogenes*, *S. xylosus* i *E. coli*). Zaključili su da tri eterična ulja imaju učinak na rast patogenih mikroorganizama (*Satureja montana* L., *Timol* i *Origanum majorana* L.). Daljnjim istraživanjima dokazano je da su mješavine ovih eteričnih ulja i njihovih osnovnih komponenti imala daleko bolji učinak na supresiju rasta mikroorganizama (sinergično djelovanje ulja). Dokazano je da eterično ulje dobiveno od origana pokazuje pozitivan učinak na stanje vimena. Primjenom eteričnog ulja origana je došlo do znatnog snižavanja broja somatskih stanica te leukocita kod tretiranih životinja. Iako pokazuje potencijal da zamjeni antibiotike u liječenju subkliničkih oblika mastitisa, ali zbog svog izrazitog mirisa doveo do promjene organoleptičkih svojstava mlijeka (promjena mirisa i okusa) kod tretiranih krava (LEJONKLEV i sur., 2016.).

#### 6.4.2. PRIPRAVCI ŽIVOTINJSKOG PODRIJETLA

Pripravci animalnog podrijetla od značaja za liječenje mastitisa su pčelinji otrov, propolis i med. Dokazano je protuupalno djelovanje pčelinjeg otrova njegovom primjenom na upaljeno područje. Mehanizam protuupalnog djelovanja pčelinjeg otrova sastoji se od djelovanja na slabljenje ekspresije COX-2 proteina te m-RNK ekspresije proupalnih citokina (JEONG i sur., 2017.). Druga tvar dobivena od pčela je propolis, smoli slična tvar koju proizvode pčele. Propolis se sastoji od 50% smole, 30% pčelinjeg voska, 5% peludi, 10% esencijalnih ulja te 5% organske tvari. Smatra se da esencijalna ulja i organska tvar daju propolisu biološki aktivna svojstva. Tijekom istraživanja (WANG i sur., 2016.) se pokazalo njegovo protuupalno, antimikrobno te antioksidativno djelovanje na stanice. Oksidativni stres je jedan od čimbenika koji pridonose nastanku subkliničkog mastitisa. Oksidativni stres je pomak ravnoteže u oksidativno redukcijским reakcijama sa prevelikom tvorbom reaktivnih kisikovih spojeva (ROS). To rezultira sa neuravnoteženom

tvorbom slobodnih radikala i oštećenjem stanica i tkiva. Uporabom propolisa je spriječeno smanjivanje vitalnosti stanica kao i smanjenje ekspresije proupalnih citokina te je istovremeno pojačana mRNK ekspresija antioksidativnih gena u promatranih životinja. Zadnji pčelinji proizvod koji je uzet u obzir kao moguća ljekovita tvar u liječenju mastitisa je med. Bakterije mliječne kiseline fiziološki su prisutne u medu i u pčelama za vrijeme prerade nektara u med. Osim što zreloom medu daju njegova antimikrobna svojstva štite i pčelu od mogućih patogenih uzročnika. Primjenom bakterija mliječne kiseline na vime životinja oboljelih od mastitisa je pokazalo antimikroban učinak (OMARA, 2017.).

#### 6.4.3. OSTALI PRIPRAVCI I METODE LIJEČENJA

Bakteriocini su peptidi, odnosno peptidni toksini koji nastaju kao proizvod bakterije. Bakterija ih proizvodi i luči kao vrstu obrambenog mehanizma protiv drugih bakterija koje se natječu za isto stanište. Nisin je proizvod bakterije *Lactococcus lactis*, veže se za stijenku stanice tvoreći kompleks koji inhibira biosintezu stanične stijenke. Nakon inhibicije biosinteze dolazi do daljnjeg podražaja kompleksa. Kompleks prodire u dublje slojeve bakterijske stijenke i stvara pore. Nisin je dostupan na tržištu u obliku antimikrobnih vlažnih maramica za njegu vimena (CAO i sur., 2007.). Zbog dokazane rezistencije *Staphylococcus* spp. provode se daljnja istraživanja o mogućoj kombiniranoj primjeni s drugim tvarima. Učinkovito se pokazala primjena nisina s drugim bakteriocinima (lizostafin) te drugim tvarima (dioktadecildimetilamonij bromid) (CASTELANI i sur., 2019.).

Bakteriofagi su virusi koji napadaju bakterijsku stanicu i služe se njome za daljnje razmnožavanje. Karakterizira ih prirodno svojstvo da napadaju samo druge bakterijske stanice dok stanice životinjskog i biljnog podrijetla ostaju netaknute. Istraživanjem učinka bakteriofaga na patogene bakterije koje uzrokuju mastitise (VARELA-ORTIZ i sur., 2018.) utvrđeno je da lizati dobiveni iz nepatogenog soja *Staphylococcus aureus* djeluju na patogene sojeve koji uzrokuju subklinički oblik mastitisa. Slično istraživanje je provedeno na *Escherichia coli* pri čemu su bakteriofagi izolirani iz goveda sa koliformnim mastitisom (PORTER i sur., 2016.). Utvrdila se djelotvornost usporediva sa primjenom ceftiofura u

koncentraciji do 10 µg/mL. Isto tako se zaključilo da su bakteriofagi pogodni za izradu cjepiva uz određene preinake vezano uz ciljne stanice.

Hitozan je prirodni polisaharid dobiven od hitina (većinom od ljuski račića) koji ima antifungalno i antibakterijsko djelovanje. Njegovo djelovanje je trostruko i temelji se na sprječavanju formacije biofilma oko bakterije, poticanju i amplifikacija prirodnog odgovora imunološkog sustava životinje te poticanju aktivnosti laktat dehidrogenaze što značajno umanjuje mogućnost nastanka novih intramamarnih infekcija tijekom suhostaja. Uloga biofilma je štititi stanicu od daljnjeg djelovanja imunološkog sustava, ali i djelovanja antibiotika. Daljnjim usitnjavanjem hitozana na nano čestice i njihovom primjenom dokazano je jače djelovanje na gljivice i bakterije (FELIPE i sur., 2019.)

Terapija zvučnim valovima (APT, *Acoustic pulse therapy*) je novi oblik liječenja mastitisa čija se učinkovitost još istražuje. Dokazano je da APT potiče mehanotransdukciju stvaranjem zvučnih valova niske frekvencije koji prodiru duboko u tkivo vimena. Mehanotransdukcija je proces koji pretvara mehaničke signale (zvučne valove) u biokemijske odgovore (migracija, proliferacija, diferencijacija, apoptoza) (LEITNER i sur., 2021.). Mehanotransdukcija potiče homeostazu i vitalnost stanica što dovodi do samocijeljenja tkiva i stvaranja protuupalnih citokina. APT potiče proizvodnju i otpuštanje vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF, vascular endothelial growth factor) i dušik-oksida sintaze (NOSs) što dovodi do angiogeneze. Angiogeneza ili neovaskularizacija je proces stvaranja novih krvnih žila. Nove krvne žile dovode više kisika i hranjivih tvari na zahvaćeno područje i ubrzavaju proces cijeljenja. LEITNER i sur. (2021.) su istražili učinkovitosti APT-a u liječenju subklinikog i kliničkog mastitisa. Učinkovitost terapije zvučnim valovima kod krava sa subklinikim i kliničkim mastitisom usporedili su sa skupinom krava koja nisu primile nikakvu terapiju, odnosno sa skupinom krava koje su primile antibiotsku terapiju. U skupini krava sa subklinikim mastitisom zabilježeno je 65.5% izlječenja, bez izlučenja i porastom proizvodnje za 2,74 l/krava/dan u odnosu na krave koje nisu primile terapiju gdje je zabilježeno 35.6% izlječenja i 5.1% izlučenja iz proizvodnje. U skupini krava sa kliničkim mastitisom zabilježeno je 67.8% izlječenja, 6.8% izlučivanja iz proizvodnje i povećanje mliječnosti za 3.9 L/ krava/ dan kod

APT-a u odnosu na 35.6% izlječenja i 32.2% izlučivanja iz proizvodnje kod krava koja su liječene antibioticima.

## 7. RASPRAVA

Pojava mastitisa u goveda dovodi do značajnih ekonomskih gubitaka, bilo izravno ili ne izravno. Najvažniji čimbenik u prevenciju mastitisa je provedba svih higijenskih mjera, osobito higijene mužnje, nastambe i osoblja koji su u doticaju sa životinjama.

Važnost navedenih postupaka se potvrdila primjenom „ *Five points plana*“ kod mliječnih krava u Ujedinjenom Kraljevstvu. Pravilnom primjenom dezinfekcijskih sredstava smanjuje se broj patogenih mikroorganizama ispod infekcijske doze (BREEN, 2019.). Imunološki sustav životinje je sposoban većinu tih mikroorganizama držati pod kontrolom i ne dolazi do razvoja mastitisa. U slučajevima oslabljenog imuniteta ili nekih drugih pogodovnih čimbenika poput otvorenog sisnog kanala, patogeni mikroorganizmi mogu dovesti do razvoja intramamarne infekcije i mastitisa.

Subklinički mastitis se javlja 2-20 puta češće od kliničkog oblika, teža je dijagnostika i zbog toga uzrokuje značajne ekonomske gubitke. U ovoj fazi bolesti najbitnije je rano otkrivanje i liječenje životinja kako bi se smanjile kratkoročne i dugoročne posljedice mastitisa (ABEBE i sur., 2016.). Mliječne krave uvode se u suhostaj intramamarnom primjenom antibiotika. Ovaj postupak se provodi u svrhu liječenja postojećih infekcija i prevencije nastanka novih u suhostaju. U novije vrijeme zbog podizanja svijesti populacije o rezistenciji antibiotika počele su se razvijati alternativne metode liječenja i prevencije.

Osim razvoja novih pripravaka za liječenje mastitisa provode se istraživanja i na novim dijagnostičkim metodama u svrhu ranog otkrivanja upalnih procesa. Spojevi koji su pokazali najviše potencijala su biomarkeri koji nastaju kao fiziološki odgovor organizma na upalni proces. Neki od biomarkera koji nastaju zajedno s ranim odgovorom obrambenog sustava životinje su haptoglobin i vitronektin. Iako ovaj način ranog otkrivanja ima puno potencijala treba imati na umu da se ovi biomarkeri mogu pojaviti kod bilo koje upale, kao odgovor na traumu ili kao odgovor na stres (TURK i sur., 2012.).

Nove spoznaje u terapiji mastitisa u goveda se razvijaju u tri smjera. Terapija temeljena na spojevima biljnog podrijetla, terapija temeljena na spojevima životinjskog

podrijetla te nekim fiziološkim procesima koje možemo iskoristiti kao antimikrobnu terapiju. Neki od spojevi biljnog i životinjskog podrijetla se već dugo koriste u tradicionalnoj humanoj medicini te se dokazala njihova učinkovitost i ne toksičnost za organizam. Iako puno ovih spojeva pokazuje antimikrobni učinak (kurkumin, propolis) njihova učinkovitost protiv patogenih organizama nije na razini antibiotika te su potrebna dodatna istraživanja kako bi se poboljšao njihov učinak.



## 8. ZAKLJUČCI

Mastitis je upala mliječne žlijezde koja nastaje kao posljedica traume ili infekcije mikroorganizmima, a smatra se jednim od glavnih uzroka ekonomskih gubitaka u mliječnoj industriji.

Redovita dezinfekcija sisa vimena prije i poslije mužnje, klinički pregled vimena te povoljni zoohigijenski uvjeti držanja imaju pozitivan učinak na ukupan broj somatskih stanica u mlijeku krava.

Određivanje broja somatskih stanica, mastitis test, i bakteriološka pretraga učinkovite su dijagnostičke metode mastitisa.

Infracrvena termografija omogućuje brže postavljanje dijagnoze i početak liječenja.

Nova istraživanja usmjerena su prema biomarkerima za dijagnostiku subkliničkih mastitisa i otvaraju mogućnost razvoja brzih testova za primjenu u terenskim uvjetima.

Terapija mastitisa uglavnom se temelji na intramamarnoj primjeni antibiotika, a osobito učinkovitom se pokazala terapija antibioticima za vrijeme suhostaja.

Povećanjem svijesti o antimikrobnoj rezistenciji sve češće se primjenjuje selektivna primjena antibiotika u shostaju kao i alternativne metode liječenja mastitisa u laktaciji.

## 9. POPIS LITERATURE

ABEBE R., H. HATIYA, M. ABERA, B. MEGERSA, K. ASMARE (2016.): Bovine mastitis-prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed. South Ethiopia, BMC Vet. Res. 12, 270.

ARGAW, A. (2016.): Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows. Food Sci. Qual. Manag. 52, 56-65.

BAČIĆ, G. (2009.): Dijagnostika i liječenje mastitisa u goveda. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb., 17-168.

BARREIRO, JR., J. L. GONCALVES, P. A. BRAGA, A. G. DIBBERN, M. N. EBERLIN, M. VEIGA DOS SANTOS (2017.): Non-culture-based identification of mastitis-causing bacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. J. Dairy Sci. 100, 2928–2934.

BENIĆ, M., N. MAĆEŠIĆ, L. CVETNIĆ, B. HABRUN, Ž. CVETNIĆ, R. TURK, D. ĐURIČIĆ, M. LOJKIĆ, V. DOBRANIĆ, H. VALPOTIĆ, J. GRIZELJ, D. GRAČNER, J. GRBAVAC, M. SAMARDŽIJA (2018.): Bovine mastitis: a persistent and evolving problem requiring novel approaches for its control – a review. Vet. arhiv 88 (4), 535-557.

BHUTTO, A., R. MURRAY, Z. WOLDEHIWET (2012.): California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. Res. Vet. Sci. 92, 7-13.

BREEN, J., (2019.): The importance of teat disinfection in mastitis control. Livestock. 24, 8-122.

BUROVIĆ, J. (2020.): Isolation of bovine clinical mastitis bacterial pathogens and their antimicrobial susceptibility in the Zenica region in 2017. Vet Stn. 51, 47-52.

CAO, L., J. WU, F. XIE, S. HU, Y. MO (2007.): Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 90, 3980-3985.

CASTELANI, L., J. R. P. ARCARO, J. E. P. BRAGA, A. S. BOSSO, Q. MOURA, F. ESPOSITO, I. P. SAUTER, M. CORTEZ, N. LINCOPAN (2019.): Activity of nisin, lipid

bilayer fragments and cationic nisin-lipid nanoparticles against multidrug-resistant *Staphylococcus* spp. isolated from bovine mastitis. *J. Dairy Sci.* 102, 678-683.

DILLON, D. (2012.): An Evaluation of traditional, novel and prospective cow-side tests in approach to mastitis diagnosis. Faculty of Veterinary Medicine, Szent Istvan University, Department of Animal Hygiene.

DOBRANIĆ, V. (2006): Nalaz i utjecaj gljivica na higijensku kakvoću kravljeg mlijeka. Doktorska disertacija, Veterinarski fakultet, Zagreb

EZZAT ALNAKIP, M., M. QUINTELA-BALUJA, K. BÖHME, I. FERNÁNDEZ-NO, S. CAAMAÑO-ANTELO, P. CALO-MATA, J. BARROS-VELÁZQUEZ (2014.): The immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. *J. Vet. Med.* 659801.

FELIPE, V., M. L. BRESER, L. P. BOHL, E. RODRIGUES da SILVA, C. A. MORGANTE, S. G. CORREA, C. PORPORATTO (2019.): Chitosan disrupts biofilm formation and promotes biofilm eradication in *Staphylococcus* species isolated from bovine mastitis. *Int. J. Biol. Macromol.* 126, 60-67.

FRATINI, F., S. CASELLA, M. LEONARDI, F. PISSERI, V.V. EBANI, L. PISTELLI, L. PISTELLI (2014.): Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis. *Fitoterapia.* 96, 1-7.

FU, Y., R. GAO, Y. CAO, M. GUO, Z. WEI, E. ZHOU, Y. LI, M. YAO, Z. YANG, N. ZHANG (2014.): Curcumin attenuates inflammatory responses by suppressing TLR4-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathway in lipopolysaccharide-induced mastitis in mice. *Int. Immunopharmacol.* 20, 54-58.

GANDA, E.K., R.S. BISINOTTO, A.K. VASQUEZ, A.G.V. TEIXEIRA, V.S. MACHADO, C. FODITSCH, M.BICALHO, F.S. LIMA, L. STEPHENS. M.S. GOMES, J.M. DIAS, R.C. BICALHO (2016.): . Effects of injectable trace mineral supplementation in lactating dairy cows with elevated somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 99, 7319-7329.

GOMES, F., M. HENRIQUES (2016.): Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. *Curr. Microbiol.* 72), 377- 382.

GURJAR, A., G. GIOIA, Y. SCHUKKEN, F. WELCOME, R. ZADOKS, P. MORONI (2012.): Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. *Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract.* 28, 565–576.

HARJANTI, D. W., R. CIPTANINGTYAS, F. WAHYONO, E.T . SETIATIN (2018.): Isolation and identification of bacterial pathogen from mastitis milk in Central Java Indonesia. *International Symposium on Food and Agro-Biodiversity (ISFA). IOP Conf Ser: Earth Environ. Sci.* 102, 012076. 10.1088/1755-1315/102/1/012076.

HE, X., Z. WEI, E. ZHOU, L. CHEN, J. KOU, J. WANG, Z. YANG (2015.): Baicalein attenuates inflammatory responses by suppressing TLR4 mediated NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways in LPS-induced mastitis in mice. *Int. Immunopharmacol.* 28, 470-476.

HOSSAIN, M., S. PAUL, M. HOSSAIN, M. ISLAM, M. ALAM (2017.): Bovine mastitis and its therapeutic strategy doing antibiotic sensitivity test. *Austin J. Vet. Sci. Anim. Husband.* 4, 1030.

JEONG, C.H., W. N. CHENG, H. BAE, K. W. LEE, S. M. HAN, M. C. PETRIELLO, H. G. LEE, H. G. SEO, S. G. HAN (2017.): Bee venom decreases LPS-induced inflammatory responses in bovine mammary epithelial cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1827-1836.

JIN, X., K. WANG, H. LIU, F. HU, F. ZHAO, J. LIU (2016.): Protection of bovine mammary epithelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative cell damage by resveratrol. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2572175. 10.1155/2016/2572175.

JØRGENSEN, H., A. B. NORDSTOGA, S. SVILAND, R. N. ZADAKS, L. SØLVERØD, B. KVITLÉ, T. MØRK (2016.): *Streptococcus agalactiae* in the environment of bovine dairy herds—rewriting the textbooks. *Vet. Microbiol.* 184, 64-72.

KALMUS, P., H. SIMOJOKI, S. PYÖRÄLÄ, S. TAPONEN, J. HOLOPAINEN, T. ORRO (2013.): Milk haptoglobin, milk amyloid A, and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activity in bovines with naturally occurring clinical mastitis diagnosed with a quantitative PCR test. *J. Dairy Sci.* 96, 3662–3670.

KIBEBEW, K. (2017.): Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. *J. Biol. Agric. Healthc.* 7, 1-14.

KNEŽEVIĆ, K., V. DOBRANIĆ, D. ĐURIČIĆ, M. SAMARDŽIJA, M. BENIĆ, I. GETZ, M. EFENDIĆ, L. CVETNIĆ, J. ŠAVORIĆ, I. BUTKOVIĆ, M. CVETNIĆ, M. MAZIĆ, N. MAĆEŠIĆ (2021.): Primjena broja somatskih stanica za dijagnostiku mastitisa i utjecaj na kakvoću mlijeka. *Vet. stn.* 52, 751-764. 10.46419/vs.52.6.11

KOVAČIĆ, M., M. SAMARDŽIJA, D. ĐURIČIĆ, S. VINCE, Z. FLEGAR-MEŠTRIĆ, S. PERKOV, D. GRAČNER, R. TURK (2019.): Paraoxonase-1 activity and lipid profile in dairy cows with subclinical and clinical mastitis. *J. Appl. Animal Res.* 47, 1–4.

LAM, T. J. G. M., R. G. OLDE RIEKERINK, O. C. SAMPIMON, H. SMITH (2009.): Mastitis diagnostics and performance monitoring. *Ir. Vet J.* 62, 34-39.

LEITNER, G., E. PAPIROV, D. GILAD, D. HARAN, O. ARKIN, A. ZUCKERMAN, Y. LAVON (2021.): New treatment option for clinical and subclinical mastitis in dairy cows using acoustic pulse technology (APT). *Dairy* 2, 256.-269.

LEJONKLEV, J., U. KIDMOSE, S. JENSEN, M. A. PETERSEN, A. L. F. HELWING, G. MORTENSEN, M. R. WEISBJERG, M. K. LARSEN (2016.): Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk. *J. Dairy Sci.* 99, 7898-7903.

MA, J., S. ZHU, Y. GUO, M. HAO, Y. CHEN, Y. WANG, M. YANG, J. CHEN, M. GUO (2019.): Selenium Attenuates *Staphylococcus aureus* Mastitis in Mice by Inhibiting the Activation of the NALP3 Inflammasome and NF- $\kappa$ B/MAPK pathway. *Biol Trace Elem Res.* 191, 159-166.

MAĆEŠIĆ, N., G. BAČIĆ, K. BOŽIČEVIĆ, M. BENIĆ, T. KARADJOLE, N. PRVANOVIĆ BABIĆ, M. LOJKIĆ, M. EFENDIĆ, I. BAČIĆ, M. PAVLAK (2016.): Assessment of the Zagreb mastitis test in diagnosis of subclinical mastitis in dairy cattle. *Vet. arhiv* 86, 475-485.

MAĆEŠIĆ, N., I. BAČIĆ, G. BAČIĆ, M. LOJKIĆ, M. SAMARDŽIJA, M. BENIĆ, N. PRVANOVIĆ BABIĆ, I. BUTKOVIĆ, J. ŠAVORIĆ, M. EFENDIĆ, T. KARADJOLE (2022.): Selektivno zasušivanje mliječnih krava. *Vet. stn* 53, 735-743.

- MERRIMAN, K. E., J. L. POWELL, J. E. P. SANTOS, C. D. NELSON (2018.): Intramammary 25-hydroxyvitamin D3 treatment modulates innate immune responses to endotoxin-induced mastitis. *J Dairy Sci.* 101 (8), 7593-7607.
- NAGLIĆ, T., D. HAJSIG, J. MADIĆ, LJ. PINTER (2005.): Veterinarska mikrobiologija – specijalna bakteriologija i mikrobiologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, str. 59-220
- NICKERSON, S. C., W. E. OWENS, R. L. BODDIE (1995.): Mastitis in dairy heifers: initial studies on prevalence and control. *J Dairy Sci.* 78, 1607–1618.
- NORBERG, E., H. HOGEVEEN, I. R. KORSGAARD, N. C. FRIGGENS, K. H. M. N. SLOTH, P. LOVENDAHL (2004.): Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. *J Dairy Sci.* 87 (4), 1099-1107.
- OMARA, S. T. (2017.): MIC and MBC of honey and gold nanoparticles against methicillin-resistant (MRSA) and vancomycin-resistant (VRSA) coagulase-positive *S. aureus* isolated from contagious bovine clinical mastitis. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2017. (vol. 15), str. 219–230.
- PAȘCA, C., L. MĂRGHIȚAȘ, D. DEZMIREAN, O. BOBIȘ, V. BONTA, F. CHIRILA, I. MATEI, N. FIT (2017.): Medicinal plants based products tested on pathogens isolated from mastitis milk. *Molecules* 22, 1473.
- PETERSSON-WOLFE, C. S. (2010.): *Staphylococcus aureus* mastitis: cause, detection, and control. VCE Publications 404/404-229.
- PORTER, J., J. ANDERSON, L. CARTER, E. DONJACOUR, M. PAROS (2016.): In vitro evaluation of a novel bacteriophage cocktail as a preventative for bovine coliform mastitis. *J. Dairy Sci.* 99, 2053-2062.
- RUEGG, P. L. (2003.): Investigation of mastitis problems on farms. *Vet. Clin. Food Anim.* 19, 47-73.
- SANCHEZ, M. E., V. TURINA ADEL, D. A. GARCIA, M. V. NOLAN, M. A. PERILLO (2004.): Surface activity of thymol: implications for an eventual pharmacological activity. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* 34, 77-86.

SATHIYABARATHI M., S. JEYAKUMUR, A. MANIMARAN, H. A. PUSHPADASS, M. SIVARAM, K. P. RAMESHA, D. N. DAS, M. A. KATAKTALWARE, G. JAYAPRAKASH, T. K. PATBANDHA (2016.): Investigation of body and udder skin surface temperature differentials as an early indicator of mastitis in Holstein Friesian crossbred cows using digital infrared thermography technique. *Vet World*. 9 (12), 1386-1391.

SCHREINER, D., P. RUEGG (2002.): Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *J. Dairy Sci.* 85, 2503-2511.

SHARMA, N., N. K. SINGH, M. S. BHADWAL (2011.): Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 3, 429-438.

SMITH, K. L., J. S. HOGAN (1993.): Environmental mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9, 489-498.

TURK, R., C. PIRAS, M. KOVAČIĆ, M. SAMARDŽIJA, H. AHMED, M. DECANIO, A. URBANI, Z.F. MEŠTRIĆ, A. SOGGIU, L. BONIZZI, P. RONCADA (2012.): Proteomics of inflammatory and oxidative stress response in cows with subclinical and clinical mastitis. *J. Proteomics*. 75, 4412–4428.

TURK, R., M. KOLEDIĆ, N. MAĆEŠIĆ, M. BENIĆ, V. DOBRANIĆ, D. ĐURIČIĆ, L. CVETNIĆ, M. SAMARDŽIJA (2017): The role of oxidative stress and inflammatory response in the pathogenesis of mastitis in dairy cows. *Mljekarstvo* 67, 91-101.

VARELA-ORTIZ, D. F., J. E. BARBOZA-CORONA, J. GONZÁLEZ-MARRERO, M. F. LEON-GALVAN, M. VALENCIA-POSADAS, A. LECHUGA-ARANA, C. G. SANCHEZ-FELIPE, F. LEDEZMA-GARCIA, A.J. GUTIERREZ-CHAVEZ (2018.): Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis cases and in vitro efficacy of bacteriophage. *Vet. Res. Commun.* 42, 243-250.

VASUDEVAN, P., M. K. M. NAIR, T. ANNAMALAI, K. S. VENKITANARAYANAN (2003.): Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Vet. Microbiol.* 92, 179-185.

WANG, K., X. L. JIN, X.G. SHEN, L. P. SUN, L. M. WU, J. Q. WEI, M. C. MARCUCCI, F. L. HU, J. X. LIU (2016.): Effects of Chinese propolis in protecting bovine mammary

epithelial cells against mastitis pathogens-induced cell damage. *Mediators Inflamm.* 8028291.

WEI, Z., E. ZHOU, C. GUO, Y. FU, Y. YU, Y. LI, M. YAO, N. ZHANG, Z. YANG (2014.): Thymol inhibits *Staphylococcus aureus* internalization into bovine mammary epithelial cells by inhibiting NF- $\kappa$ B activation. *Microb. Pathog.* 71, 15-19.

YANG, W., H. LI, X. CONG, X. WANG, Z. JIANG, Q. ZHANG, X. QI, S. GAO, R. CAO, W. TIAN (2016.): Baicalin attenuates lipopolysaccharide induced inflammation and apoptosis of cow mammary epithelial cells by regulating NF-  $\kappa$ B and HSP72. *Int. Immunopharmacol* 40, 139-145.

ZANINELLI M., V. REDAELLI, F. LUZI, V. BRONZO, M. MITCHELL, V. DELLORTO, V. BONTEMPO, D. CATTANEO, G. SAVOINI (2018.): First evaluation of infrared thermography as a tool for the monitoring of udder health status in farms of dairy cows. *Sensors.* 18 (3), 862.

ZHANG, L., L. SUN, R. WEI, Q. GAO, T. HE, C. XU, X. LIU, R. WANG (2017.): Intracellular *Staphylococcus aureus* control by virulent bacteriophages within MAC-T bovine mammary epithelial cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61, 1990-2016.

ZHAO, Q., F. YUAN, T. LIANG, X.C. LIANG, Y.R. LUO, M. JIANG, S.Z. QING, W.M. ZHANG (2018.): Baicalin inhibits *Escherichia coli* isolates in bovine mastitic milk and reduces antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.* 101, 2415-2422.



## 10. SAŽETAK

### **BAČINA. I.: Mastitis u goveda – novi pristupi u kontroli i liječenju**

Mastitis je upala mliječne žlijezde koja nastaje najčešće kao posljedica infekcije mikroorganizmima. Najčešći uzročnici mastitisa su bakterije. Uzročnici mastitisa dijele se na okolišne i zarazne mikroorganizme. Okolišni mikroorganizmi se nalaze u okolišu krave, fecesu, stelji, a neki obitavaju na tijelu životinje. Rizik je veći što je okoliš prljaviji. Kontrolu provodimo poboljšanjem higijene okoliša krava, dezinfekcijom nakon mužnje, higijenom i liječenjem u suhostaju. Kontagiozni mikroorganizmi nalaze u vimenu inficiranih životinja, ali često i na koži vimena, i u sisnom kanalu. Najčešći je prijenos s inficirane četvrti na zdravu tijekom mužnje. Glavne mjere kontrole su dezinfekcija prije mužnje, redosljed mužnje, izlučenje inficiranih krava, održavanje muzne opreme, te liječenje u laktaciji i suhostaju. Mastitisi se mogu manifestirati kao klinički i subklinički oblik. Subklinički mastitisi su češći od kliničkih i ekonomski značajniji. Uobičajene metode dijagnostike primjenom mastitis testa, određivanja broja somatskih stanica te klasične bakteriološke pretrage se u novije vrijeme pokušavaju nadopuniti brzim mikrobiološkim testovima za identifikaciju uzročnika. Mastitisi se liječe antibioticima na osnovu antibiograma. U novije vrijeme zbog podizanja svijesti o antimikrobnoj rezistenciji nastoji se smanjiti upotreba antibiotika. Istražuje se učinkovitost proizvoda biljnog podrijetla (baikalein, timol, resveratrol, kurkumin te eterična ulja), životinjskog podrijetla (pčelinji otrov, propolis, med) te ostali prirodnih spojeva (Bakteriocini, bakteriofagi, hitozan).

Ključne riječi: biomarkeri, laktacija, mastitis, mliječna krava, suhostaj

## 11. SUMMARY

### **BAČINA, I.: Bovine mastitis – novel approach in mastitis prevention and treatment**

Mastitis is an inflammation of the mammary gland, and the most common causes are bacteria. According to the sources of the infection and the way of spread, we can divide the pathogens into two categories: contagious and environmental pathogens. Sometimes, some pathogens have the characteristics of both groups. Environmental microorganisms are found in the animal's environment, in the manure, on the bedding and on the animal's body. The dirtier the environment, the greater the risk. Mastitis control is achieved by improving hygiene in the cow's environment, disinfection after milking, hygiene, and treatment during the dry period. Contagious microorganisms are found in the udder of infected animals, on the udder skin and in the teat canal. The most frequent transmission from the infected quarter to the healthy quarter occurs during milking. The most important control measures are disinfection before milking, the order in which the cows are milked, the culling of infected cows and the maintenance of milking equipment, treatment in lactation and dry period. Mastitis can occur in two forms: clinical and subclinical. Subclinical mastitis is more common than clinical mastitis and is of greater economic importance. Conservative tests such as the mastitis test, somatic cell count and bacteriological examination have recently been supplemented by rapid bacterial tests to identify the pathogen. Mastitis is treated with antibiotics, which are determined on the basis of an antibiogram, but the milk must be discarded due to the prescribed withdrawal period. Recently, due to increasing awareness of antimicrobial resistance, efforts have been made to reduce the use of antibiotics. The efficacy of products of plant origin (baicalein, thymol, resveratrol, curcumin and essential oils), animal origin (bee venom, propolis, honey) and other natural substances (bacteriocins, bacteriophages, chitosan) is currently being investigated.

Key words: biomarkers; dairy cow; dry period; lactation; mastitis

## 12. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 7. svibnja 1993. godine u Virovitici. Nakon završene osnovne škole u Garešnici upisujem srednju školu "August Šenoa" u Garešnici koju sam završio sa odličnim uspjehom. Tijekom osnovne i srednje škole sam bio član atletskog kluba "Vihor" Garešnica gdje ostvarujem dobre rezultate na lokalnoj i državnoj razini. Godine 2012. upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 2012. I 2013. Godine sam izabran za dužnost predstavnika godine. Na petoj godini studiranja odabrao sam smjer javno zdravstvo, ali kroz volontiranje sam bio u kontaktu sa malom i velikom praksom. Tijekom studiranja sam volontirao na klinici za porodništvo i reprodukciju te u veterinarskoj ambulanti "Karaula".