

# SELEKTIVNO ZASUŠIVANJE MLIJEČNIH KRAVA

---

**Bačić, Iva**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*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:178:416056>

*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

Iva Bačić

**SELEKTIVNO ZASUŠIVANJE MLIJEČNIH  
KRAVA**

Diplomski rad

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnik klinike: prof. dr. sc. Marko Samardžija

Mentori: izv. prof. dr. sc. Nino Maćešić

prof. dr. sc. Tugomir Karadjole

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Martina Lojkić
2. Prof. dr. sc. Tugomir Karadjole
3. Izv. prof. dr. sc. Nino Maćešić
4. Doc. dr. sc. Ivan Folnožić (zamjena)

## ZAHVALA

Veliko hvala mojim mentorima izv. prof. dr. sc. Ninu Maćešiću i prof. dr. sc. Tugomiru Karadjoli u pomaganju izrade diplomskog rada te potpori tijekom cijelog studija. Hvala što ste mi omogućili najljepši završetak moga studija koji sam mogla zamisliti.

Zahvaljujem i svim djelatnicima Fakulteta i ostalim stručnjacima koji su sudjelovali u mojem obrazovanju od početka mog studija prepoznavši moju zainteresiranost i potencijal te mi omogućili dodatni napredak u stručnom usavršavanju.

Posebno se zahvaljujem djelatnicima Klinike za porodništvo i reprodukciju što su mi omogućili volontiranje i time pomogli da steknem dodatno znanje i praktične vještine.

Puno hvala i mojim prijateljima koji su mi pomogli tokom studija te uljepšali ovih šest godina i učinili ih nezaboravnima.

Najveću zahvalu želim iskazati svojoj obitelji bez koje ne bih bila tu gdje jesam. Hvala vam što ste uvijek uz mene, ne dopuštate mi da odustanem i proživljavate sa mnom dobre i loše trenutke. Vi mi dajete snagu da idem naprijed i nema nikoga s kim bih više voljela podijeliti svoj uspjeh.

## **POPIS SLIKA I TABLICA**

Slika 1. Shematski prikaz građe vimena

Slika 2. Shematski prikaz građe četvrti

Slika 3. Shema transformacije hranjivih tvari u komponente mlijeka

Slika 4. Set za Zagrebački mastitis test

Slika 5. „Krpice“ u mlijeku

Slika 6. Vanjski znakovi upale vimena

Slika 7. Poremećaj općeg stanja

Slika 8. Higijenski loše održavanje okoliša krave

Slika 9. Pribor za higijenski ispravnu mužnju

Slika 10. Dezinfekcija sisa

Slika 11. Higijenski loše održavanje muzne opreme

Slika 12. Prikaz rizika infekcije tijekom suhostaja

Slika 13. Razvoj rezistentnih bakterija

Slika 14. Prijenos antimikrobne rezistencije kroz hranidbeni lanac

Slika 15. Aplikacija antibiotika za zasušenje

Slika 16. a) injektor s kratkim nastavkom, b) injektor s dugim nastavkom

Slika 17. Vanjski sisni zatvarač

Slika 18. Unutarnji sisni zatvarač

Tablica 1. Karakteristike uvjetovanih i kontagioznih mastitisa

Tablica 2. Prikaz radova antimikrobne rezistencije

Tablica 3. Prikaz radova za kriterije odabira krava pri selektivnom zasušivanju

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. FIZIOLOGIJA MLIJEČNE ŽLIJEZDE .....	2
2.1. Laktacija .....	3
2.2. Suhostaj .....	4
3. MASTITIS .....	6
3.1. Podjela mastitisa.....	6
3.2. Uzročnici .....	8
3.3. Preventivne mjere.....	10
4. ANTIMIKROBNA REZISTENCIJA .....	13
4.1. Razvoj rezistencije .....	13
4.2. Utjecaj na veterinarsku i humanu medicinu .....	15
4.3. Oprezno korištenje antimikrobnih sredstava .....	17
5. POSTUPAK ZASUŠENJA PRIMJENOM ANTIBIOTIKA.....	19
6. SELEKTIVNO ZASUŠIVANJE .....	22
6.1. Upotreba antibiotika .....	22
6.2. Kriterij za odabir krava .....	23
6.3. Ekonomska isplativost.....	25
6.4. Stav veterinara i stočara prema selektivnom zasušenju .....	26
6.5. Negativni učinak modela selektivnog zasušivanja vimena .....	27
7. RASPRAVA.....	30
8. ZAKLJUČAK .....	35
9. LITERATURA.....	36
10. SAŽETAK.....	40
11. SUMMARY .....	41
12. ŽIVOTOPIS .....	42

## 1. UVOD

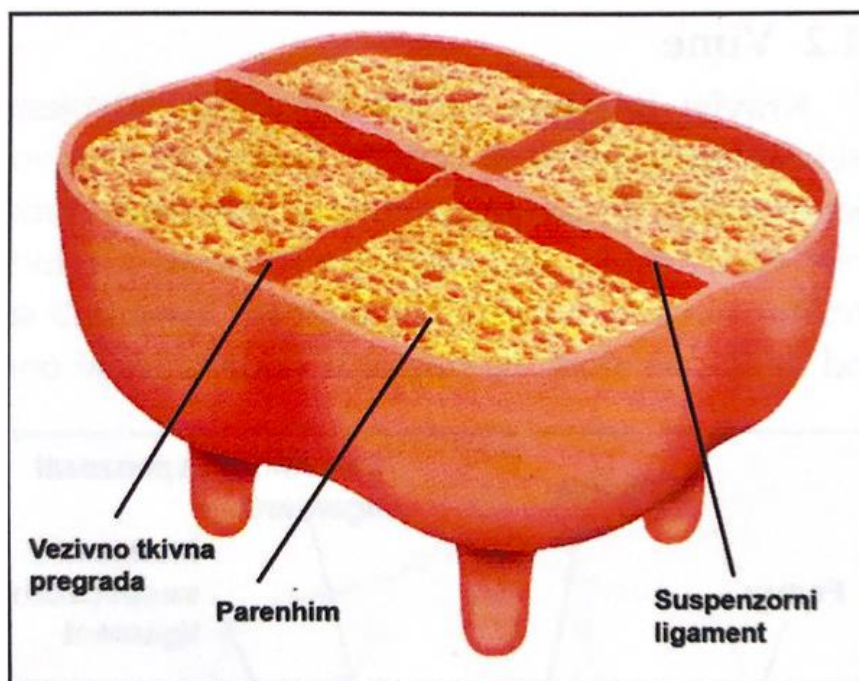
Mastitis je jedna od najčešćih bolesti na farmama mliječnih krava i bolest za koju se koristi najveća količina antibiotika, ne samo u svrhu liječenja, nego i u preventivne svrhe. Učestala upotreba antimikrobnih sredstava (u daljnjem tekstu AMS), osobito ukoliko je neispravna ili nepotrebna, predstavlja veliku prijetnju ubrzanom razvoju antimikrobne rezistencije (u daljnjem tekstu AMR). AMR ima veliki utjecaj, kako na veterinarsku, tako i na humanu medicinu uzrokujući smanjenu učinkovitost antimikrobnih sredstava i povećanje broja neizlječivih bolest. S obzirom da je prijenos antimikrobno rezistentnih patogena moguć preko hranidbenog lanca, tako i preko mlijeka i mliječnih proizvoda, propisane su smjernice za opreznu upotrebu antimikrobnih sredstava u veterinarskoj medicini koje potiču njihovu opreznu uporabu i smanjeno korištenje. U mliječnoj industriji najviše antibiotika se koristi za zasušivanje krava pomoću čega se provodi prevencija nastanka mastitisa. U isto vrijeme dolazi do uporabe AMS kod životinja kod kojih nije potrebna njihova uporaba. Iz tog razloga sve više zemalja prelazi na model selektivnog zasušivanja krava prilikom kojeg se antibioticima zasušuju samo četvrti ili vimeni krava koje imaju upalu ili povećan rizik za nastanak upale. Jedan od većih problema prilikom uvođenja selektivnog zasušivanja je odabir kriterija po kojem će se odabrati krave koje se zasušuju s antibiotikom. Ostali problemi za uspješno uvođenje protokola predstavljaju stavovi veterinara i farmera prema ovakvim promjenama, te ekonomska isplativost i potencijalne negativne posljedice koje uvelike utječu na stavove istih.

Cilj rada je prikazati važnost suhostaja u mliječnih krava, pojavu mastitisa i razvoj antimikrobne rezistencije kao i predstaviti prednosti i nedostatke selektivnog zasušivanja.

## 2. FIZIOLOGIJA MLIJEČNE ŽLIJEZDE

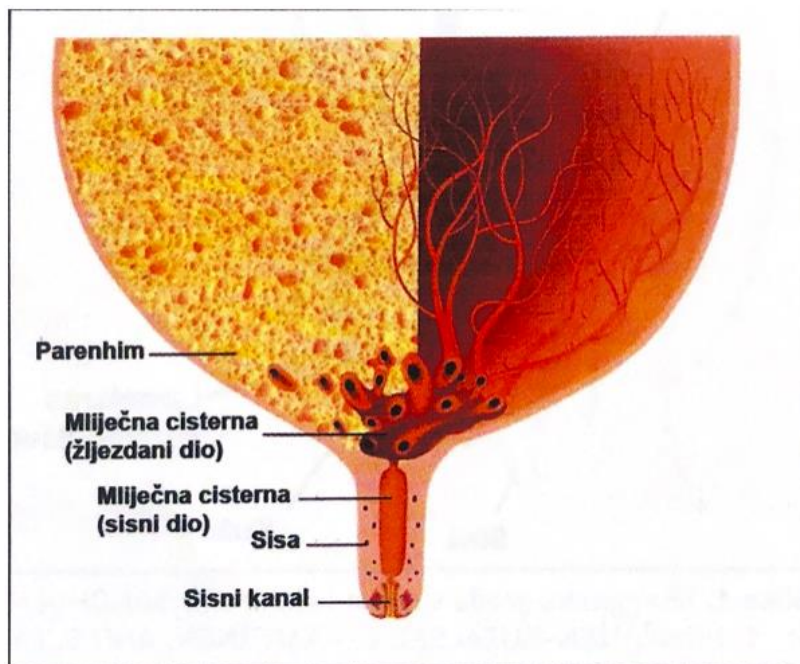
Kravlje vime sastoji se od 4 zasebne sekretorne žlijezde odvojene vezivnim tkivom. Suspenzorni ligament odvaja vime medijalno na dvije polovice, dok vezivno – tkivna opna dijeli svaku polovicu na prednju i stražnju četvrt. Svaka četvrt sastoji se od sise, mliječne cisterne (sisnog i žljezdanog dijela), mliječnih kanalića te sekretornog tkiva (BAČIĆ, 2009.). Mliječna žlijezda krave ima, s evolucijskog stajališta, najnapredniji oblik sekrecije mlijeka svih sisavaca (PANDEY i sur., 2018.). Razvoj mliječne žlijezde započinje u stadiju fetusa. U ploda starog šest mjeseci vime je gotovo u potpunosti razvijeno, međutim razvoj sekretornog dijela vimena odvija se u periodu od puberteta do telenja (DELAVAL, 2011.). Intenzitet rasta povećava se u pubertetu, znatno ubrzava tijekom gravidnosti te dostiže svoj maksimalni razvoj tijekom laktacije nakon koje dolazi do involucije žlijezde (PANDEY i sur., 2018.). U vimenu dolazi do povećanja broja i veličine sekretornih stanica tijekom prvih pet laktacija, posljedično povećavajući proizvodnju mlijeka.

Krave tijekom života prolaze brojne tranzicijske periode i prilagodbe. Biološki i fiziološki gledano, laktacija i suhostaj predstavljaju pravilno izmjenjivanje perioda intenzivnog rada i nužnog odmora (BAČIĆ, 2009.).



Slika 1. Shematski prikaz građe vimena (BAČIĆ, 2009.)



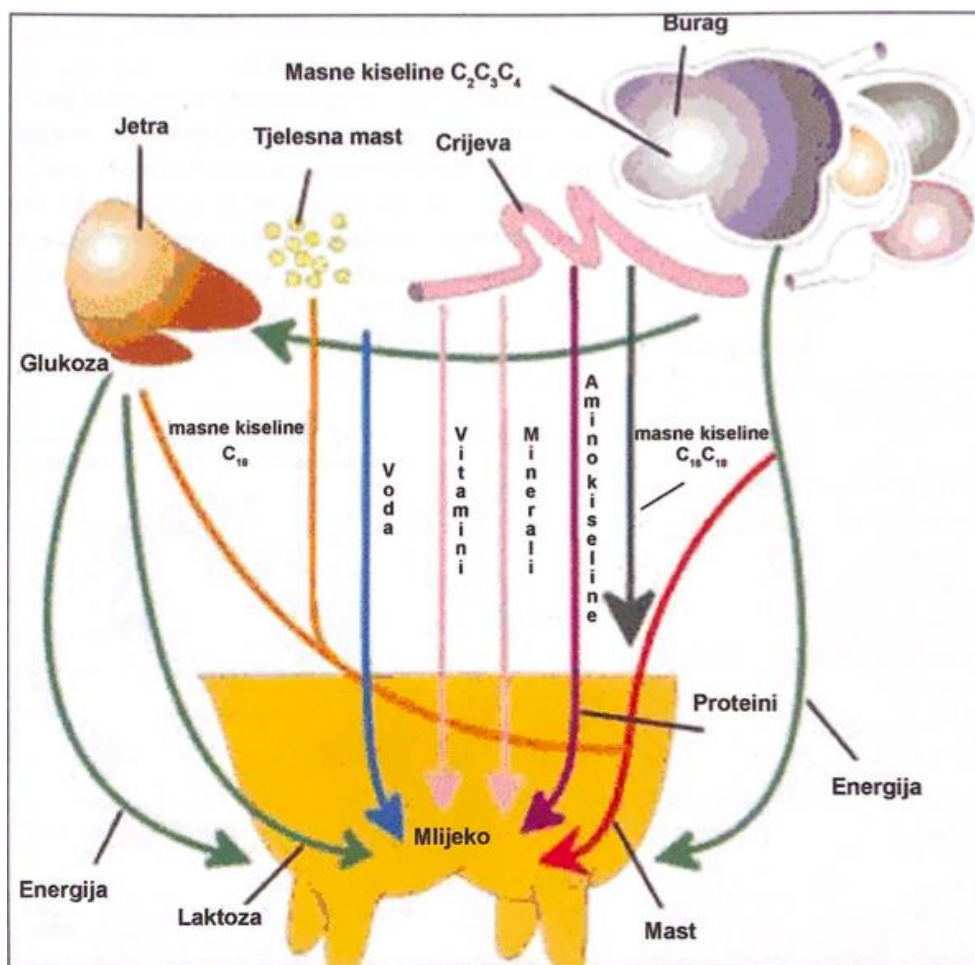


**Slika 2.** Shematski prikaz građe četvrti (BAČIĆ, 2009.)

## 2.1. Laktacija

Sekretorni dio vimena funkcionalni je dio te se sastoji od velikog broja alveola koje proizvode mlijeko (BAČIĆ, 2009.). Broj alveola u mliječnoj žlijezdi korelira s proizvodnjom mlijeka (DŽIDIĆ, 1999.). U periodu laktacije epitelne stanice koje oblažu unutrašnjost mliječnih alveola, pretvaraju tvari pristigle krvlju u sastojke mlijeka (BAČIĆ, 2009.). Sekrecija mlijeka djelomično ovisi o količini prekursora koji krvlju dolaze u mliječnu žlijezdu, odnosno o protoku krvi kroz žlijezdu i mogućnosti iskorištavanja i apsorpciji istih iz krvotoka (DŽIDIĆ, 1999.). Visokoproduktivne krave izložene su velikim zahtjevima proizvodnje što dokazuje činjenica da je za 1 litru mlijeka potreban protok 500 litara krvi kroz žlijezdu kako bi se sekretorne stanice oko alveola opskrbile dovoljnom količinom nutrijenata za proizvodnju mlijeka (DELAVAL, 2011.).

Oksitocin potiče otpuštanje mlijeka iz alveola prilikom mužnje ili sisanja teleta. Hormon rasta dominantni je hormon koji utječe na stvaranje mlijeka kod preživača, a graviditet utječe na postojanost proizvodnje mlijeka tijekom laktacije. Vrijeme smanjenja proizvodnje mlijeka uglavnom se podudara s periodom porasta koncentracije placentarnog estrogena, koji ima utjecaj na prijelaznu fazu mliječne žlijezde, iz stadija laktacije u stadij involucije, tj. odmora mliječne žlijezde (BAČIĆ, 2009.).



**Slika 3.** Shema transformacije hranjivih tvari u komponente mlijeka (BAČIĆ, 2009.)

## 2.2. Suhostaj

Suhostaj je važan za optimizaciju proizvodnje mlijeka i zdravlja krave u sljedećoj laktaciji. U periodu suhostaja dolazi do anatomskih i fizioloških promjena u organizmu krave, ponajviše u mliječnoj žlijezdi.

S obzirom na fiziološke promjene suhostaj dijelimo u 3 perioda; regresiju ili aktivnu involuciju, pasivnu involuciju te regeneraciju ili kolostrogenezu i laktogenezu.

**Aktivna involucija** započinje prekidom proizvodnje mlijeka i traje oko 30 dana. U početku ovog perioda mlijeko se akumulira u alveolama da bi se kasnije ponovno apsorbiralo u sekretorne stanice. Sekretorno tkivo prolazi fazu regresije sve dok se vime potpuno ne isprazni.

**Pasivna involucija** predstavlja period tijekom kojeg je mliječna žlijezda u stanju potpune involucije, odnosno u fazi odmora. Nema određenog vremenskog trajanja ovog perioda.

**Regeneracija** započinje nakon odmora, te se tijekom ovog perioda stvaraju nove mliječne sekretorne stanice, započinje proizvodnja kolostruma. Proces započinje oko 2 tjedna prije termina poroda.

Za optimalnu sljedeću laktaciju preporuča se trajanje suhostaja oko 60 dana (minimalno 45 dana). Ukoliko je suhostaj prekratak, neće doći do optimalne regeneracije sekretornih mliječnih stanica. Ukoliko je predug, godišnja proizvodnja mlijeka bit će smanjena (BAČIĆ, 2009.).

### 3. MASTITIS

Mastitis je upala vimena uzrokovana najčešće bakterijama koje ulaze kroz sisni kanal u mliječnu žlijezdu. Najskuplja je bolest na mliječnim farmama zbog utjecaja na proizvodnju koja je izvor prihoda (SAINI i sur., 2012.; SCHERPENZEEL, 2017.). Najčešća je bolest mliječnih krava i najčešći razlog korištenja antibiotika u mliječnoj industriji (MINST i sur., 2012., SAINI i sur., 2012). Razvoj mastitisa posljedica je borbe između bakterija, koje se žele naseliti unutar vimena, i obrambenog sustava krave, koji ih želi eliminirati. Mastitis je reakcija organizma na infekciju sekretornog dijela vimena, dok intramamarna infekcija (IMI) ne zahvaća sekretorni dio, tj. alveole (BAČIĆ, 2009.). IMI obično prethodi pojavi mastitisa te se javlja, kako u laktaciji, tako i u suhostaju (SCHERPENZEEL, 2017.).

#### 3.1. Podjela mastitisa

Mastitis se može podijeliti na osnovu kliničkih znakova te obzirom na etiologiju i epidemiologiju razvoja infekcije. Promatrajući jačinu kliničke slike razlikujemo subklinički i klinički mastitis.

**Subklinički mastitis** uzrokuje blagu upalu mliječne žlijezde uz izostanak vanjskih vidljivih znakova te se ne može otkriti bez dijagnostičkih testova. Može proći spontano, prijeći u klinički oblik kroz nekoliko sati ili prijeći u kronični oblik i potrajati nekoliko mjeseci ukoliko se ne dijagnosticira nekim od jednostavnih i brzih testova (Zagrebački mastitis test). Javlja se 2 do 20 puta češće nego klinički oblik. Ukoliko se ne otkrije na vrijeme može se lako širiti stadom uzrokujući velike ekonomske štete u proizvodnji.

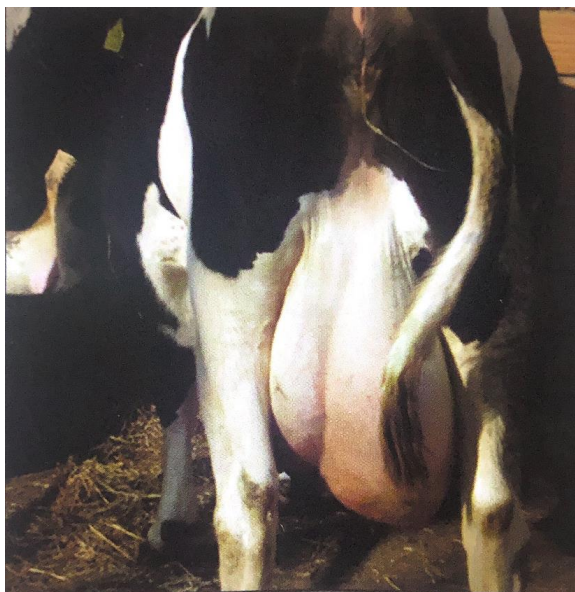


**Slika 4.** Set za Zagrebački mastitis test (Izvor: <https://veterina.com.hr/?p=51047>)

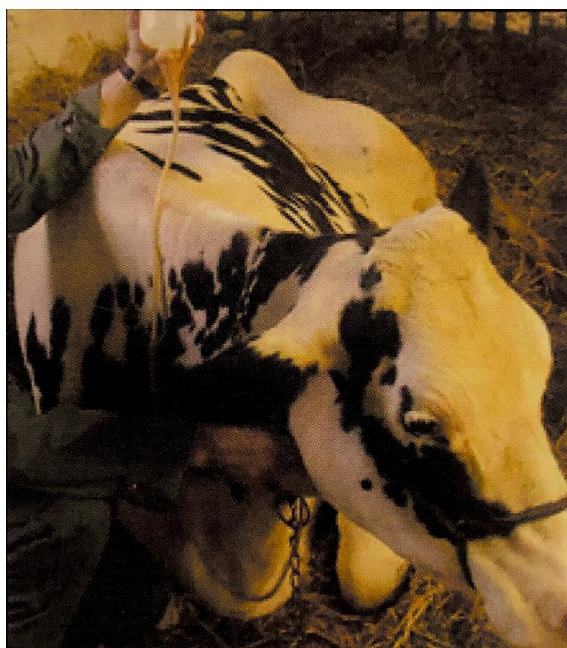
**Klinički mastitis** ima vidljive znakove te nije potrebno provoditi testove za postavljanje dijagnoze. Krava može imati normalno vime, ali uvijek su prisutne promjene u konzistenciji mlijeka. Prema jačini simptoma može se podijeliti na blagi, umjereni i jaki oblik. Kod blagog oblika nema vanjskih znakova na vimenu već su prisutne "grudice" ili "krpice" u mlijeku. Umjereni oblik, uz promjene u mlijeku, ima i vidljive znakove upale vimena. Ono je crveno, tvrdo, povećano, temperirano i/ili bolno. Jaki oblik popraćen je dodatno i znakovima poremećaja općeg stanja životinje. Zbog jake upale i oštećenja alveola može se javiti krvavo, vodenasto ili sluzavo mlijeko. Laktacija je izrazito smanjena, a može i u potpunosti prestati. S obzirom da je ovakvo stanje uzrokovano endotoksinima, koje proizvode bakterije, ovakav oblik naziva se i toksični mastitis ili endotoksični šok (BAČIĆ, 2009.). Klinički mastitis može nastati izravno iz intramamrne infekcije (IMI) ili nakon pogoršanja subkliničkog mastitisa (SCHERPENZEEL, 2017.). Pet je mogućih ishoda kliničkog mastitisa: potpuni oporavak, razvoj kroničnog mastitisa, gubitak četvrti, razvoj gangrenoznog mastitisa i smrt krave (BAČIĆ, 2009.).



**Slika 5.** „Krpice“ u mlijeku (BAČIĆ, 2009.)



**Slika 6.** Vanjski znakovi upale vimena (BAČIĆ, 2009.)



**Slika 7.** Poremećaj općeg stanja krave (BAČIĆ, 2009.)

### **3.2. Uzročnici**

Mastitis najčešće uzrokuju mikroorganizmi. Obzirom na etiologiju uzročnika, mastitise dijelimo na kontagiozne i uvjetovane.

**Uvjetovani mastitis** uzrokovan je bakterijama koje se nalaze u okolišu. Većina uzročnika pripada koliformnim bakterijama i streptokokima osim *Streptococcus (Strep.) agalactiae*. Česti okolišni uzročnici su *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* i *Streptococcus bovis*

te koagulaza negativni stafilokoki (CNS). Loša higijena štale, prenapučenost, loša higijena mužnje te funkcionalno i tehnički neispravni muzni uređaj neki su od čimbenika koji pogoduju povećanoj prisutnosti ovih mikroorganizama. Uvjetovane infekcije češće su krajem suhostaja i početkom laktacije kada je imunološki sustav životinje narušen uobičajenom pojavom negativne energetske bilance (NEB) u ovom periodu. Većinom se javljaju tijekom toplog i vlažnog vremena kada je okoliš pogodan za preživljavanje patogena. Uzročnici uvjetovanih mastitisa su ubikvitarni te preživljavaju u okolišu i uzrokuju bolest kada im se za to pruži prilika. Često uzrokuju kliničke, ali kratkotrajne oblike mastitisa,.

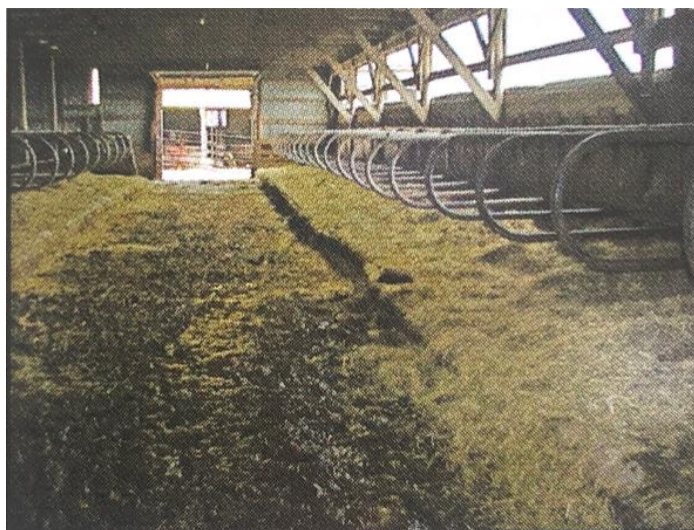
**Kontagiozni mastitis** uzrokovan je bakterijama *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, i *Corynebacterium bovis* te mikoplazmom *Mycoplasma bovis*. To su zarazni uzročnici koji se najčešće nalaze u samom vimenu ili na koži sisa inficiranih krava te se prenose tijekom mužnje lošom higijenom mužnje. Češće uzrokuju dugotrajne infekcije i kronične mastitise te su najčešći uzročnici subkliničkih mastitisa. Nove infekcije nastaju tijekom cijele laktacije, a njihova stopa raste od poroda do zasušenja. Mnoge krave u stadu su istovremeno zaražene zbog dugotrajne infekcije i nepravovremenog otkrivanja (BAČIĆ, 2009.).

**Tablica 1.** Karakteristike uvjetovanih i kontagioznih mastitisa. Modificirano prema (BAČIĆ, 2009.)

UVJETOVANI MASTITIS	KONTAGIOZNI MASTITIS
koliformne bakterije, <i>Strep. uberis</i> , <i>Strep. dysgalactiae</i> i <i>Strep. bovis</i> , koagulaza negativni stafilokoki (CNS)	<i>Strep. agalactiae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycoplasma bovis</i> i <i>Corynebacterium bovis</i>
Infekcije češće krajem suhostaja i početkom laktacije	Nove infekcije nastaju tijekom cijele laktacije
Preživljavaju u okolišu i uzrokuju bolest kada im se za to pruži prilika	Nalaze se u vimenu i prenose tijekom mužnje lošom higijenom mužnje
Uzrokuju kratkotrajne kliničke oblike mastitisa	Uzrokuju dugotrajne infekcije i kronične mastitise te su najčešći uzročnici subkliničkih mastitisa

### 3.3. Preventivne mjere

Unatoč mnogim programima prevencije mastitis je bolest koja se ne može iskorijeniti (SCHERPENZEEL, 2017.). Prevencija pojave i širenja mastitisa provodi se na više nivoa. Glavne mjere kontrole za sprječavanje nastanka uvjetovanih mastitisa su dobra higijena okoliša krave, dezinfekcija nakon mužnje, suhe i čiste sise, održavanje i higijena muzne opreme i liječenje u suhostaju. Za kontrolu kontagioznih mastitisa najvažnija je dezinfekcija prije mužnje, redosljed krava u mužnji (inficirane zadnje), izlučenje inficiranih krava koje nije moguće izliječiti, održavanje i higijena muzne opreme te liječenje, kako u suhostaju, tako i u laktaciji (BAČIĆ, 2009.).



**Slika 8.** Higijenski loše održavanje okoliša krave (BAČIĆ, 2009.)

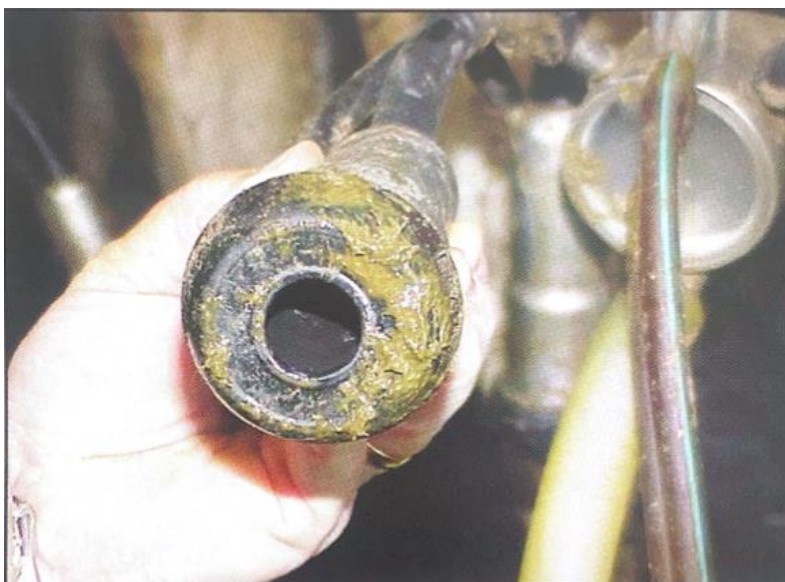


**Slika 9.** Pribor za higijenski ispravnu mužnju (BAČIĆ, 2009.)





**Slika 10.** Dezinfekcija sisa (BAČIĆ, 2009.)



**Slika 11.** Higijenski loše održavanje muzne opreme (BAČIĆ, 2009.)

Uz dobro provođenje biosigurnosnih mjera za prevenciju kontagioznih mastitisa i poboljšanje zoohigijenskih uvjeta smještaja krava radi prevencije pojave uvjetovanih mastitisa, te održanje higijene mužnje i muzne opreme smanjuje se pojava mastitisa tijekom laktacije. Međutim stopa infekcije uzrokovana ovim vrstama mikroorganizama vrlo je visoka u prva dva tjedna suhostaja. Razlog tome je prestanak redovite mužnje, čime prisutni mikroorganizmi ostaju unutar mliječne žlijezde. Također prestaje dezinfekcija sisa, kojom se inače smanjuje broj prisutnih mikroorganizama koji žive na koži i ulaze u sisni kanal. Zbog povećanog tlaka u vimenu posljedično stvaranju mlijeka, dolazi do otvaranja sisnog kanala i omogućavanja ulaska

patogena u mliječnu žlijezdu. Do istog dolazi i na kraju suhostaja kod ponovnog započinjanja laktacije. U isto vrijeme dolazi i do pojave NEB koja dodatno oslabljuje imunološki sustav (BAČIĆ, 2009.). Smatra se kako je 50% kliničkih mastitisa, koji se javljaju u prvih 100 dana laktacije, zapravo posljedica IMI koje su nastale za vrijeme suhostaja. To ukazuje na povećanu incidenciju novih IMI tijekom toga razdoblja (SCHERPENZEEL, 2017.). SMITH i sur. (1985.) dokazali su da je incidencija novih IMI u suhostaju uzrokovanih okolišnim čimbenicima 10 puta veća nego tijekom laktacije. Prevencija novih IMI u suhostaju važna je i za slijedeću laktaciju i provodi se aplikacijom intramamarnih antibiotika prilikom zasušivanja krava (SCHERPENZEEL, 2017.). Zasušivanje krava s intramamarnom aplikacijom antibiotika dio je programa za prevenciju mastitisa od 5 točaka. Cilj je izliječiti već postojeće IMI i spriječiti nastanak novih infekcija tijekom suhostaja (NEAVE i sur., 1969.). Međutim, ovim pristupom antibiotici se koriste i onda kada to nije neophodno potrebno te dolazi do razvoja rezistencije bakterija na antibiotike kod nepotrebno liječenih neinficiranih krava (BAČIĆ, 2009.).



**Slika 12.** Prikaz rizika infekcije tijekom suhostaja (BAČIĆ, 2009.)

## 4. ANTIMIKROBNA REZISTENCIJA

Posljednjih je godina antimikrobna rezistencija (AMR) učestala pojava na globalnoj razini (CHRISTAKI i sur., 2020.). Pojava AMR pojedinih sojeva bakterija zabrinjava podjednako stručnjake u području humane i veterinarske medicine. Bakterijska rezistencija smanjuje stopu bakterijskog izlječenja antibioticima u laktaciji i suhostaju. Kako bi se spriječio nastanak rezistencije važno je smanjiti uporabu antibiotika i odgovorno ih koristiti (BAČIĆ, 2009.). AMR nastaje kada se bakterije prilagode i počinju se razmnožavati u prisustvu antibiotika (BENNANI i sur., 2020.).

### 4.1. Razvoj rezistencije

Rezistencija na antibiotike nastaje kada bakterija posjeduje ili razvija mehanizam kojim može izbjeći djelovanje antibiotika. Bolesti uzrokovane rezistentnim uzročnicima teže se liječe, uzrokuju veći morbiditet i smrtnost. Nastanak rezistencije povezuje se s nepotrebnim i nepravilnim korištenjem antibiotika u humanoj medicini, poljoprivredi i stočarstvu (CHRISTAKI i sur., 2020.). Antimikrobna sredstva ključna su za zdravstvenu zaštitu ljudi i životinja, ali svaka njihova uporaba može dovesti do razvoja AMR. Rizik od pojave rezistencije povećava se ukoliko se antimikrobna tvar nepravilno koristi (bez izoliranog uzročnika, u neodgovarajućim dozama ili neprimjerenim razdobljima) (EK, 2015.).

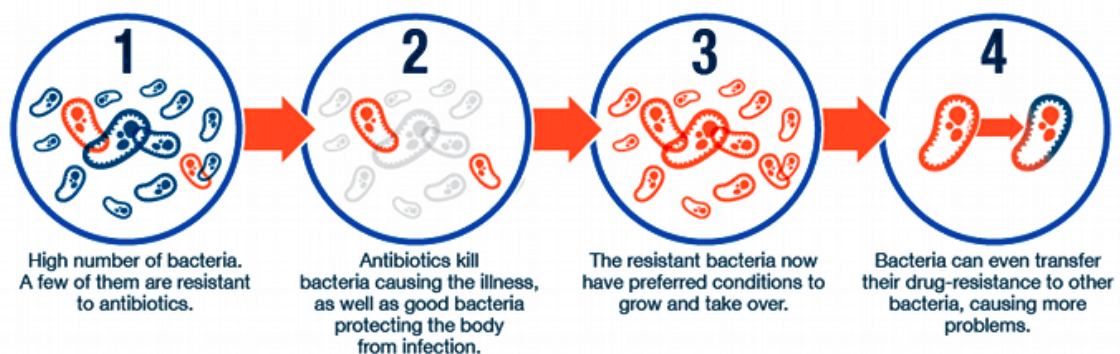
Rezistencija može nastati mutacijom postojećeg ili stečenog gena te horizontalnim prijenosom gena pri čemu bakterija stječe novi gen druge bakterije (BENNANI i sur., 2020.; CHRISTAKI i sur., 2020.). Horizontalni prijenos gena je glavni način nastanka rezistencije na antimikrobne tvari. AMR prirodna je pojava, međutim povećana i nepravilna uporaba antimikrobnih tvari povećava selekciju otpornih bakterija i mobilizaciju gena između bakterija (BENNANI i sur., 2020.). AMR koju bakterija pokazuje može biti urođena, stečena ili adaptivna.

Urođena rezistencija je ona koju bakterija ima prema svojim svojstvima, npr. građa membrane G - bakterija. Stečena rezistencija nastaje kada bakterija koja je prije bila osjetljiva na antibiotike stekne mehanizam otpornosti mutacijom, odnosno primanjem novog genetskog materijala iz egzogenog izvora (horizontalni prijenos) (CHRISTAKI i sur., 2020.). Patogeni mogu razmjenjivati, kako patogene i virulentne elemente, tako i elemente same rezistencije. Prijenos konjugacijom događa se intenzivno u prirodi, ali i u domaćinu (SOMMER i sur.,

2010.). Horizontalni prijenos gena događa se putem plazmida, koji imaju ključnu ulogu u širenju rezistencije među sojevima (DAVIES i DAVIES, 2010.). Adaptivna rezistencija definira se kao rezistencija na jedan ili više antibiotika, a nastaje djelovanjem okolišnih čimbenika poput stresa, pH ili premale doze antibiotika. Smatra se da je ovakav oblik prolazan i da nestaje kada se uklone pogodni čimbenici. Posljedica je genske modulacije zbog odgovora na promjenu u okolini (CHRISTAKI i sur., 2020.).

Rezistencija je posljedica mehanizama uništavanja ili modificiranja antibiotika, promjene ciljanog gena. Promjene gena se događaju mutacijom, zamjenom, povećanom proizvodnjom ili njegovom zaštitom, te smanjenog nakupljanja antibiotika zbog poremećaja propustljivosti bakterijske membrane ili povećanog izbacivanja antibiotika iz bakterije. Bakterije koje posjeduju  $\beta$  - laktamaze primjer su bakterija koje za rezistenciju imaju mehanizam uništavanja molekule antibiotika razgradnjom  $\beta$  - laktamskog prstena. Rezistencija na aminoglikozide primjer je enzimskog modificiranja antibiotika prilikom kojeg isti postaje manje učinkovit. Mehanizmom rekombinacije gena nastala je  $\beta$  - laktamski rezistentna bakterija *Streptococcus pneumoniae*, zamjenivši penicilin – vezujući protein s DNA iz  $\beta$  - laktamski rezistentnog streptokoka. Mutacije i rekombinacije gena onemogućavaju vezanje antibiotika i povećavaju minimalnu inhibicijsku koncentraciju. S druge strane rezistencija može biti rezultat adaptacije bakterijske stanice, tj. promjene u regulaciji rada cijele stanice, a ne samo jednog njenog dijela. Jedna bakterijska stanica može imati i više mutacija. Pokazalo se kako izlaganje malim dozama antibiotika dovodi do visoke razine rezistencije akumuliranjem više manjih djelotvornih mutacija (CHRISTAKI i sur., 2020.).

## How does antibiotic resistance occur?



Slika 13. Razvoj rezistentnih bakterija

(Izvor: [https://2019.igem.org/Team:CSU\\_Fort\\_Collins/Description](https://2019.igem.org/Team:CSU_Fort_Collins/Description))

Selekcija genetskih događaja povećava se u prisustvu antibiotika. Pri inhibitornim ili premalim koncentracijama preživjet će samo otporne bakterije (DAVIES i DAVIES, 2010.). Također, neki antibiotici mogu modulirati ekspresiju virulentnih faktora i regulirati gene zaslužne za odgovor i potencijalno pridonijeti učestalim mutacijama (SENGUPTA i sur., 2013.). Nedovoljna uporaba i nekontrolirana uporaba antimikrobnih tvari u humanoj i veterinarskoj medicini te poljoprivredi ugrožava učinak istih i potiče razvoj i povećanje rezistencije (AMANN i sur., 2019.).

#### **4.2. Utjecaj na veterinarsku i humanu medicinu**

AMR smatra se razlogom niske stope bakterijskog izlječenja te je prijetnja javnom zdravlju. Primjena antimikrobnih tvari potencijalno je važan čimbenik za razvoj rezistencije. S obzirom da se antibiotici u mliječnoj industriji primjenjuju u kontroli i u prevenciji mastitisa, nadzor AMR važan je za javno zdravlje (SAINI i sur., 2012.). Smatra se da je primjena cloxacilina kao pripravka kod zasušivanja krava povezana s razvojem multirezistentne bakterije *Staph. aureus* izolirane iz uzoraka mlijeka (VANDERHAEGHEN i sur., 2010.). Ceftiofur se često koristi za liječenje koliformnih mastitisa pa su u uzorcima mlijeka nađeni rezistentni oblici *E. Coli* i *Klebsiella* spp. (HAMMAD i sur., 2008.). Isto tako izolirani su iz mliječnih filtera na farmama (DOLEJSKA i sur., 2011.).

MINST i sur. (2012.) istraživali su rezistenciju *Streptococcus* spp. izoliranih iz mlijeka, kao jednih od češćih uzročnika mastitisa. Dokazali su kako se među vrstama najčešće razvija rezistencija na tetracikline, eritromicin, pirlimicin i gentamicin. Nadalje, navode kako je rezistencija *Strep. uberis* znatno veća od *Strep. dysgalactiae* i *Strep. agalactiae*. Otkrili su i određeni broj multirezistentnih uzročnika. Nadalje, SAINI i sur. (2012.) u svom su istraživanju pratili rezistenciju najčešćih uzročnika mastitisa na mliječnim farmama u Kanadi. Najčešće se uočava rezistencija *Staph. aureus* na penicilin, dok se kod *E. Coli* i *Klebsiella* spp. javlja rezistencija na tetracikline. Kod sve tri vrste dokazani su multirezistentni sojevi. Iako je dokazan porast minimalne inhibicijske koncentracije  $\beta$  - laktamskih antibiotika za streptokokne vrste (MINST i sur., 2012.) te uočena pojava blage rezistencije *Staph. aureus* na cefalosporine 3. generacije, koji se koriste za liječenje kliničkih oblika bolesti (SAINI i sur., 2012.), zbog svoje učinkovitosti  $\beta$  - laktamski antibiotici i dalje ostaju prvi izbor u liječenju mastitisa.

Antimikrobne tvari koriste se u liječenju infekcija u ljudi i životinja, međutim kod životinja se koriste i u profilaktičke i metafilaktičke svrhe. U određenim dijelovima svijeta

koriste se i kao promotori rasta. Velika uporaba antimikrobnih tvari u animalnoj proizvodnji dovodi do razvoja AMR u životinjskoj populaciji (BENNANI i sur., 2020.).

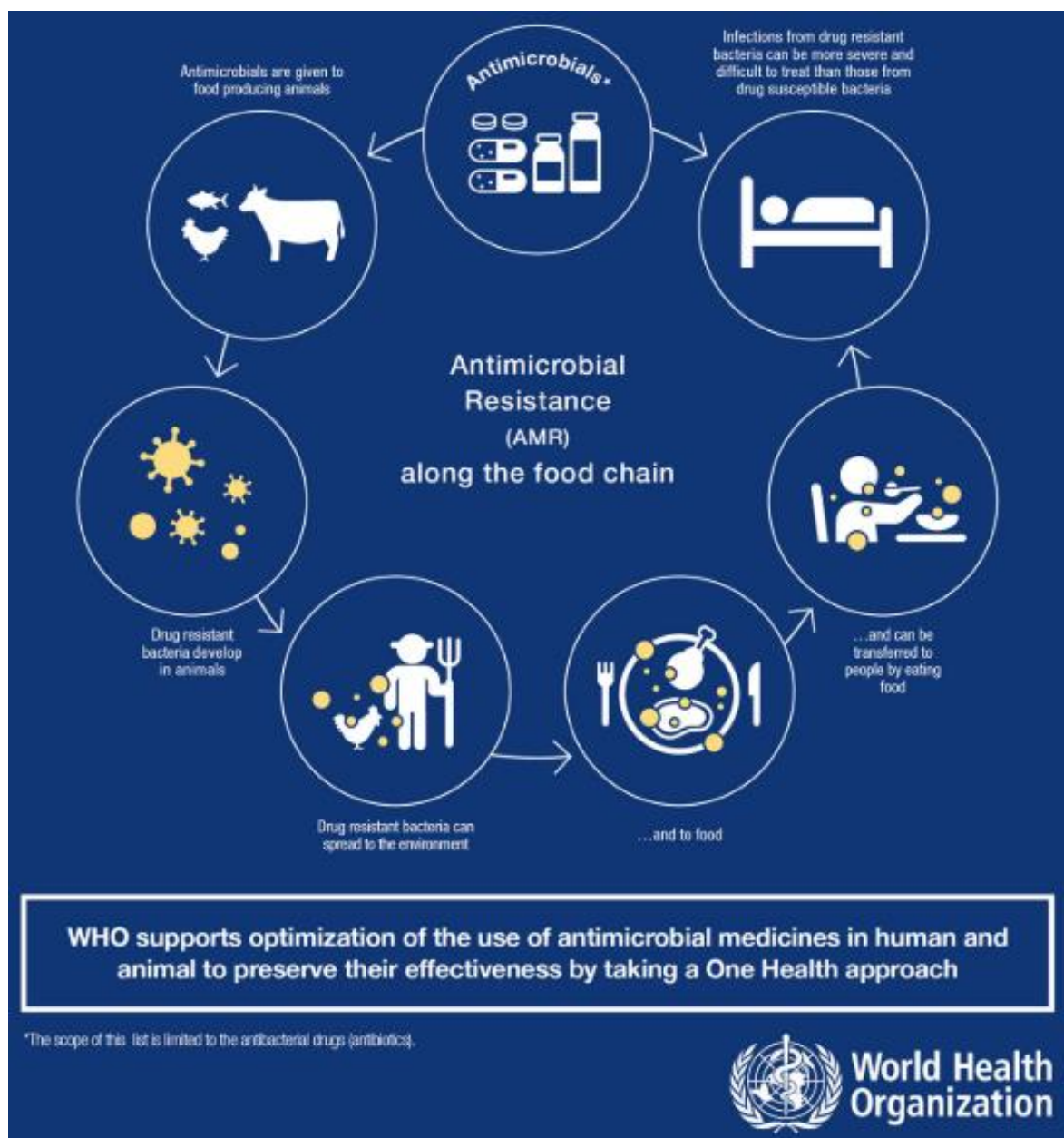
CHRISTAKI i sur. (2020.) u svom radu o AMR navode kako geni rezistencije mogu prelaziti iz vrste u vrstu te da su slični geni nađeni u ljudi i životinja. Bakterije koje nose rezistentne gene mogu se direktno prenijeti sa životinje na ljude kroz hranidbeni lanac, konzumacijom nedovoljno prerađene ili sirove hrane, križnom kontaminacijom druge hrane ili indirektno kroz okoliš. Isto tako mogu se prenijeti direktno na farmi (BENNANI i sur., 2020.), konzumacijom nepasteriziranog mlijeka i prodajom svježeg sira od nepasteriziranog mlijeka (SAINI i sur., 2012.).

AMR ne utječe samo na zdravlje životinja i gospodarstvo, nego je i javnozdravstveni problem zbog prijenosa rezistentnih bakterija kroz hranidbeni lanac i prijenos rezistencije sa animalnih na humane patogene (BENNANI i sur., 2020; EK, 2015).

AMANN i sur. (2019.) navode kako postoje čvrsti dokazi da se uporabom antimikrobnih tvari u agrokulturi i akvakulturi inducira AMR kod humanih patogena. Isto tako autori navode kako je konzumacija antibiotika kod životinja u EU najmanje dvostruko veća nego kod ljudi ako promatramo utrošak aktivne tvari. Učestala primjena antimikrobnih sredstava u veterinarskoj i humanoj medicini znatno je ubrzala pojavu i širenje otpornosti mikroorganizama (EK, 2015.). Razvoj i povećanje rezistencije stavlja pacijente sa smrtnim bolestima u rizik od nedjelotvornosti, tj. nedovoljne efikasnosti terapije (AMANN i sur., 2019.). O ozbiljnosti posljedica govore i podatci iz kojih se procjenjuje da infekcije otporne na lijekove svake godine uzrokuju najmanje 25.000 smrtnih slučajeva u Europskoj uniji (EK, 2015.).

BENNANI i sur. (2020.) navode da ta brojka doseže i do 700.000 smrti godišnje u svijetu, te se procjenjuje da će dostići 10 milijuna godišnje do 2050. ukoliko se nastavi ovakav trend korištenja antimikrobnih tvari. Isto tako AMR povećava cijenu liječenja i smanjuje dostupnu radnu snagu zbog produženog liječenja. Procjenjuje se da AMR stvara dodatni trošak u zdravstvu i gubitak u proizvodnji od 1.5 milijardi Eura godišnje u Europskoj uniji.

Najveća briga odnosi se na pojavu rezistentnih G - bakterija koje su značajan rizik za javno-zdravstvo zbog zabilježenih slučajeva rezistencije na karbapeneme i kolistin, koji su posljednji izbor za liječenje multirezistentnih bakterija zbog manjka novih antimikrobnih tvari kojima se mogu zamijeniti postojeći pripravci (BENNANI i sur., 2020.). Naime, dosadašnja istraživanja pokazuju da je rezistencija na antimikrobne tvari koje su od velikog značaja za humanu medicinu rijetka kod patogena koji se povezuju s mastitisima, kao što su cefalosporini 3. generacije, inhibitori  $\beta$  - laktamaze i fluorokinoloni. Isto tako nizak je rizik za prijenos AMR bakterija iz mlijeka i mliječnih proizvoda na ljudsku populaciju (SAINI i sur., 2012.).



Slika 14. Prijenos AMR kroz hranidbeni lanac (CHANDLER, 2020.)

### 4.3. Oprezno korištenje antimikrobnih sredstava

Bolesti farmskih životinja povezuju se s prevelikom uporabom antibiotika, generacijom rezistentnih bakterija i prelaskom istih u prehrambeni lanac. Visoka proizvodnja i loše upravljanje dovode do visoke stope izlučivanja životinja, smanjenja životnog vijeka, česte pojave bolesti i povećanog korištenja lijekova. Mliječne farme nisu iznimka, te je trend dugogodišnjeg povećanja proizvodnje mlijeka dovelo do učestalijih bolesti u proizvodnji i reprodukciji (TREVISI i sur., 2014.).

Oprezna primjena antimikrobnih sredstava trebala bi dovesti do racionalne i ciljane primjene antibiotika, čime bi se povećao terapijski učinak i smanjio nastanak rezistencije. Svaka uporaba antimikrobne tvari povećava pojavu rezistencije. U konačnici bi oprezna uporaba trebala sveukupno smanjiti korištenje antimikrobnih sredstava, odnosno ograničiti ju samo na neophodno. Isto tako bi u takvim situacijama trebalo odabrati liječenje na temelju rezultata mikrobiološke osjetljivosti i upotrebljavati antimikrobna sredstva što užeg spektra djelovanja (EK, 2015.). Liječenje mastitisa obično se započinje prije bakteriološke pretrage, ali zbog povećanja rezistentnih patogena identifikacija uzročnika treba biti osnova za početak antibiotske terapije (MINST i sur., 2012.). Bitno je naglasiti kako se liječenje uvijek treba provesti do kraja, prema uputama proizvođača, iako su klinički znakovi bolesti nestali kako ne bi došlo do razvoja rezistencije uzrokovane premalim dozama lijeka. (BAČIĆ, 2009.). U slučajevima dugotrajnih, kroničnih mastitisa važno je učiniti procjenu učinkovitosti i isplativosti antimikrobne terapije. Kod takvih slučajeva moguće je značajno smanjenje primjene antibiotika. Stres u prijelaznom razdoblju dovodi do imunosupresije organizma krave što povećava osjetljivost na pojavu svih bolesnih stanja pa tako i mastitisa. Primjena imunomodulatora u prijelaznom periodu može povećati otpornost životinje, spriječiti ili kontrolirati pojavu IMI i primjenu antibiotika. (TREVISI i sur., 2014.).

Mliječne krave većinom se neselektivno zasušuju intramamarnom aplikacijom antibiotika u sve četvrti neovisno o prisustvu infekcije. Ovakvom primjenom antibiotika povećava se pojava otpornih bakterija i razvija njihova rezistencija. Povezanost između nastanka rezistencije bakterija, uzročnika mastitisa i uporabe antibiotika nije posve objašnjena, ali postoji potencijal za razvoj rezistencije. Stoga je važna racionalna primjena antimikrobnih lijekova u svrhu prevencije. U skladu s navedenim, prilikom neselektivnog zasušenja antibioticima se tretiraju i krave koje nisu inficirane te je važno razvijati modele koji bi uključivali racionalnu i selektivnu primjenu antibiotika. (C. SCHERPENZEEL, 2017.). U smjernicama Europske komisije za oprezno korištenje antimikrobnih tvari u veterinarskoj medicini navodi se kako je potrebno izbjegavati profilaktičko liječenje krava u suhostaju te da je potrebno razmotriti i provesti alternativne mjere za svaki slučaj posebno (EK, 2015.).



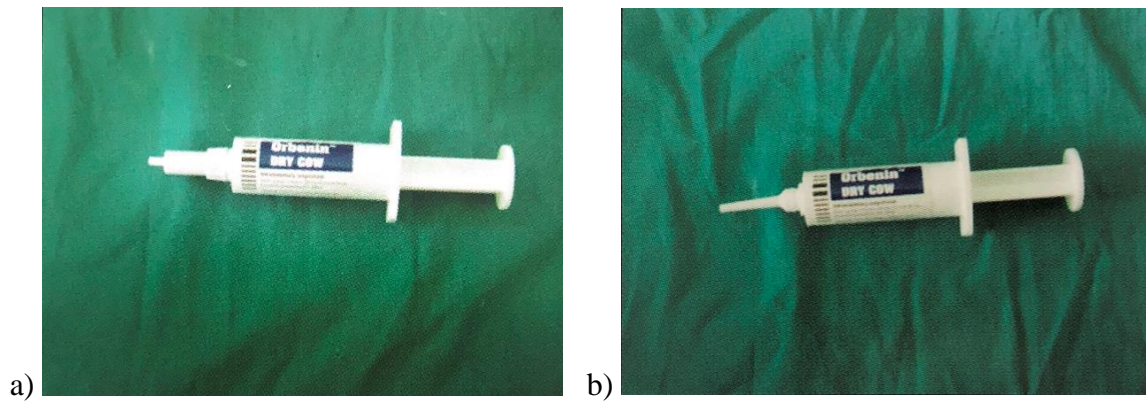
## 5. POSTUPAK ZASUŠENJA PRIMJENOM ANTIBIOTIKA

Godinama se preporučavalo naglo zasušivanje krava primjenom antibiotika za zasušivanje. Ovakav postupak stočari uspješno provode i na mliječnim kravama koje imaju visoku proizvodnju na kraju mužnje. Prije samog zasušivanja preporuča se smanjiti proizvodnju kravama kako bi involucija mliječne žlijezde bila što brža i kako bi se smanjio rizik od nastanka infekcije. Smanjenje proizvodnje može se postići prilagodbom hranidbe, odnosno postupnim prelaskom (tjedan do dva prije zasušenja) s hrane bogate energijom za krave u laktaciji na energetske siromašniju hranu za krave u suhostaju.

Prilikom zadnje mužnje, prije stavljanja intramamarnih antibiotika, potrebno je kravu u potpunosti izmesti. Nakon završetka mužnje provodi se dezinfekcija sisa, naročito sisnog otvora, te se u svaku četvrt zasebno aplicira antibiotik za zasušivanje. Po završetku aplikacije antibiotika poželjno je ponoviti dezinfekciju sisa. Preporuča se korištenje aplikatora s kratkim nastavcima. Od velike je važnosti sve krave koje su zasušene odvojiti od krava u laktaciji kako ne bi došlo do slučajne ponovne mužnje i kako bi im se smanjio refleks mužnje koji potiče proizvodnju mlijeka.

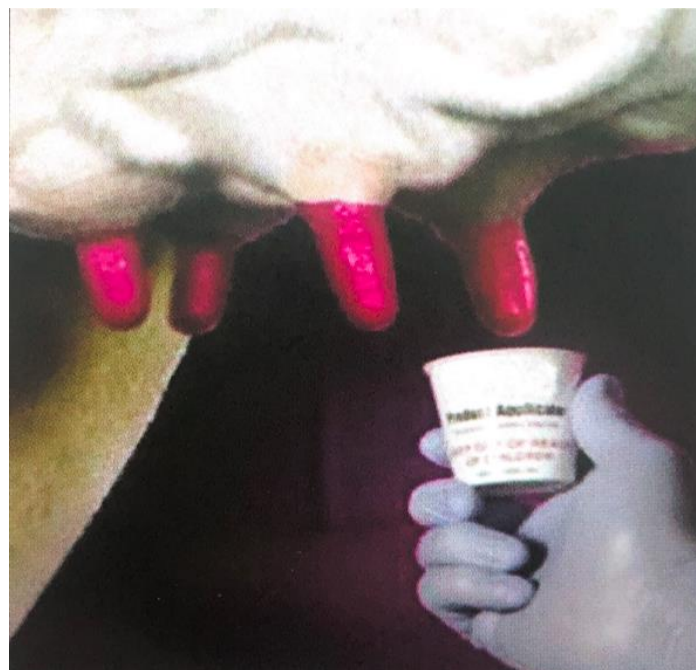


**Slika 15.** Aplikacija antibiotika za zasušenje (BAČIĆ, 2009.)

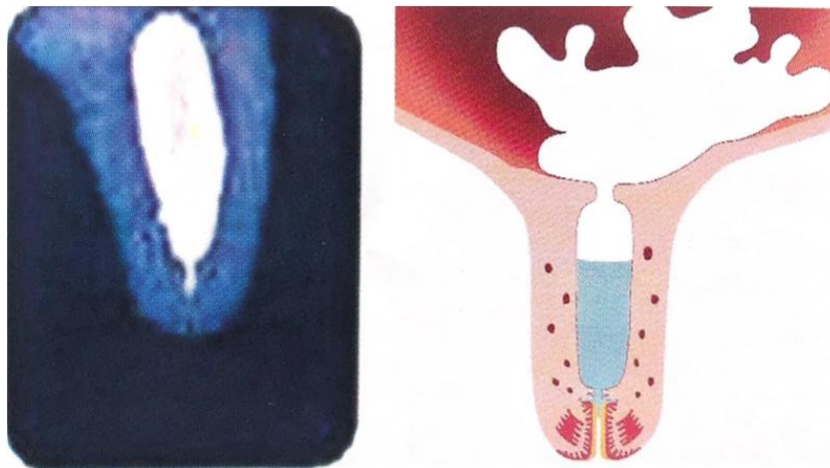


**Slika 16.** a) injektor s kratkim nastavkom, b) injektor s dugim nastavkom (BAČIĆ, 2009.)

Prilikom zasušenja u sisnom kanalu se formira keratinski čep koji zatvara kanal i onemogućava ulazak mikroorganizama u vime. Međutim istraživanja su pokazala kako dosta sisa ostaje otvoreno više dana nakon zasušenja dok se neke nikada ne zatvore. Takve sise olakšavaju ulazak bakterijama te se preporuča korištenje sisnih zatvarača prilikom zasušenja. Postoje dvije vrste ovakvih preparata. Vanjski sisni zatvarači koji stvaraju omotač na koži sise i mogu trajati nešto duže od tjedan dana. Preporuča se ponoviti primjenu dva tjedna prije poroda. Unutarnji sisni zatvarač je gel koji ispunjava sisnu cisternu i radi prepreku mikroorganizmima tijekom cijelog suhostaja. Nakon poroda potrebno ga je ručno izmusti.



**Slika 17.** Vanjski sisni zatvarač (BAČIĆ, 2009.)



**Slika 18.** Unutarnji sisni zatvarač (BAČIĆ, 2009.)

Postoje mnogi preparati dostupni za zasušivanje te je svaki od njih pogodan za uporabu u određenim uvjetima i uz pravilno korištenje.

Antibiotik koji se koristi za zasušivanje trebao bi imati veliku sposobnost širenja po vimenu, dugotrajno održavati visoku koncentraciju djelatne tvari te široki spektar djelovanja. Karenca ovih proizvoda obično je oko 42 dana. Nužno je dobro odrediti i pratiti razdoblje karence u slučaju prijevremenih poroda (BAČIĆ, 2009.).

## 6. SELEKTIVNO ZASUŠIVANJE

Zasušivanje krava primjenom antibiotika ima velik utjecaj na zdravlje vimena, ali je dokazano da postoje drugi mehanizmi koji bi mogli preuzeti zaštitnu ulogu u slučaju da se antibiotici prestanu koristiti preventivno. Selektivna uporaba antibiotika kojom bi se tretirale samo inficirane četvrti, prihvatljiv je i efikasan način smanjenja uporabe antibiotika. Takav se pristup u skandinavskim zemljama provodi već godinama te je u Norveškoj smanjena pojava liječenja kliničkog mastitisa za 60%, smanjen je BSS u laktofrizu s 250.000 st/ml mlijeka na 114.000 st/ml mlijeka, te su smanjeni ukupni troškovi mastitisa s 9.2% na 1.7% cijene mlijeka (C. SCHERPENZEEL, 2017.).

### 6.1. Upotreba antibiotika

Antibiotici za zasušivanje se koriste kako bi se izliječile postojeće i spriječio nastanak novih infekcija s obzirom da su često mastitisi koji se pojavljuju na početku laktacije posljedica IMI nastalih u suhostaju. SCHERPENZEEL i sur. (2017.) proveli su istraživanje kako bi utvrdili djelovanje antibiotika kod krava s niskim BSS. U studiju su uključili krave koje su na posljednjoj mužnji prije zasušivanja imale manje od 150.000 st/ml mlijeka (primiparne) i 250.000 st/ml mlijeka (multiparne). Napravili su model u kojem su podijelili vime na dva dijela, pri čemu su kod svake krave dvije četvrti zasušene antibioticima, a druge dvije četvrti nisu tretirane. Četvrti koje su zasušene bez primjene antibiotika imale su veću incidenciju kliničkog mastitisa nakon teljenja, te su imale povećan BSS 1. i 14. dan laktacije. Autori su zaključili da veći BSS prije zasušivanja povećava rizik od pojave kliničkog mastitisa i povećanja BSS u slijedećoj laktaciji. Ovime su dokazali pozitivan učinak antibiotika pri zasušivanju krava i njegovu preventivnu ulogu. S druge strane, usprkos povećanoj potrebi korištenja antibiotika za liječenje novonastalih mastitisa, dokazali su mogućnost smanjenja ukupne upotrebe antibiotika u stadu za 85%.

BRADLEY i sur. (2015.) proučavali su nastanak IMI tijekom suhostaja kod krava zasušenih intramamarnim antibiotikom. Uzorke mlijeka uzimali su prilikom zasušivanja, dva i šest tjedana nakon zasušivanja i nakon teljenja. Izolirano je više od 50 različitih patogenih vrsta. Uglavnom su izolirani gram pozitivni patogeni, bez obzira što je *E. coli* jedan od najznačajnijih uzročnika mastitisa nakon teljenja. Autori su zaključili da je većinom bila riječ o novim infekcijama, stečenima tijekom suhostaja u četvrtima koje nisu bile inficirane u vrijeme

zasušivanja. Prisustvo gram pozitivnih i negativnih bakterija 6 tjedana nakon zasušenja povezuje se s povećanim rizikom za nastanak intramamarne infekcije u stadiju suhostaja, osobito na početku i na kraju. Broj krava zasušenih antibioticima, koje su tijekom suhostaja postale slobodne od patogena manjeg značaja, povećavao se prema kraju suhostaja. Broj krava zasušenih antibioticima, koje su tijekom suhostaja imale uzročnike od velikog značaja, kao što je *Strep. uberis* i *Staph. aureus*, bio je konstantan. Ovime su potvrdili preventivnu ulogu antibiotika tijekom zasušenja, ali i ulogu u izlječenju postojećih infekcija. (BRADLEY i sur., 2015.).

Dok većina istraživanja prati učinkovitost zasušivanja antibiotikom na razini krave NIEMI i sur. (2021.) proučavali su učinak selektivnog zasušivanja za razini stada uspoređujući podatke stada koja su koristila različite načine zasušivanja. Stada koja su zasušena antibiotikom imala su manji BSS na početku mužnje i manju incidenciju kliničkih mastitisa u laktaciji. Time su dokazali učinkovitost zasušivanja antibiotikom.

## **6.2. Kriterij za odabir krava**

Učinkovitost selektivnog zasušivanja ovisi o kriteriju odabira krava za zasušenje pomoću intramamarnih antibiotika. Protokoli za odabir krava trebaju biti dovoljno precizni, jednostavni za interpretaciju, jeftini, sigurni, certificirani i dostupni za uporabu. Kriterij za odabir krava može se temeljiti na mikrobiološkoj pretrazi i određivanju BSS prilikom zasušivanja. (ZECCONI i sur., 2019.).

Mikrobiološka pretraga je najobjektivniji način odabira krava (SCHERPENZEEL, 2017.). Studija provedena u SAD koristila je brze testove za određivanje rasta bakterija te su tretirane samo one četvrti krava kod kojih je utvrđen rast bakterija. Ostale četvrti nisu tretirane i zasušene su primjenom unutarnjih sisnih zatvarača. Postigli su smanjenje uporabe antibiotika za 48% uz neznatne razlike za rizik nastanka infekcije poslije telenja (PATEL i sur., 2017.). Primjena antibiotika može se smanjiti, bez negativnih posljedica na proizvodnju i kvalitetu mlijeka, koristeći testove za uzgoj bakterioloških kultura na farmi. Krave kod kojih se nije utvrdio porast bakterija nakon 24 sata zasušene su bez intramamarnih antibiotika uz primjenu unutarnjih sisnih zatvarača (CAMERON i sur., 2015.). Značajna smanjenja u primjeni antibiotika zabilježena su na farmama koje koriste testove za uzgoj bakterioloških kultura i u slučajevima kliničkog mastitisa. Pristupom koji se temelji na identifikaciji uzročnika prije početka liječenja mastitisa količina antibiotika smanjena je za više od 50%, osobito kada su liječeni samo mastitisi koji su uzrokovani gram pozitivnim patogenima (LAGO i sur., 2011.).

BSS se koristi kao najčešći kriterij za odabir krava sa subkliničkim mastitisom i time spadaju u skupinu pogodnu za zasušivanje intramamarnim antibioticima (C. SCHERPENZEEL, 2017.). BSS nije idealan pokazatelj reakcije vimena na IMI, ali je jeftin i praktičan način prognoze zdravlja mliječne žlijezde (SCHUKKEN i sur., 2003.). Ne postoji jedinstveni stav kod odabira granične vrijednosti BSS. Različite zemlje uzimaju različite vrijednosti kojima definiraju upalu vimena.

LIPKENS i sur. (2019.) određivali su BSS tri dana prije zasušivanja i usporedili podatke s bakteriološkom kulturom uzetom 5 dana prije zadnje mužnje. Autori su zaključili kako je pomoću BSS moguće precizno odrediti inficirane krave, ali da rezultat ovisi o prevalenciji subkliničkog mastitisa na razini stada, proizvodnji mlijeka i paritetu krava i da navedene parametre treba uzeti u obzir prilikom odabira granične vrijednosti BSS.

SCHERPENZEEL i sur. (2016.) procjenjivali su zdravlje vimena, uporabu antimikrobnih sredstava i ekonomsku isplativost s obzirom na različite kriterije pri zasušivanju krava. Krave su podijeljene u 8 skupina, od kojih se u kontrolnoj skupini koristila uobičajena intramamarna aplikacija antibiotika na zadnjoj mužnji, a u ostalim skupinama postavljene su različite granične vrijednosti BSS kao kriterij za zasušenje antibioticima. Došli su do zaključka da su mogući razni scenariji za odabir vrijednosti, ovisno o željenim posljedicama. Skupina krava gdje je granična vrijednost BSS postavljena na  $> 50.000$  st/ml mlijeka kao kriterij za zasušenje antibioticima imala je najnižu incidenciju kliničkog i subkliničkog mastitisa u odnosu na kontrolnu skupinu krava. Skupine krava koje su se otelile do dva puta s BSS  $> 150.000$  st/ml na posljednjoj mužnji i one koje su se telile više od dva puta s  $> 50.000$  st/ml na posljednjoj mužnji generirale su najmanje troškove odnosno ekonomski su bile najisplativije. Najveće smanjenje uporabe antibiotika (60%) postiglo se u skupini krava koje su se otelile do dva puta i sa  $> 150.000$  st/ml na posljednjoj mužnji i onih koje su se telile više od dva puta s  $> 250.000$  st/ml na posljednjoj mužnji. Istraživanje provedeno u Italiji pokazuje da je najbolja granična vrijednost BSS kao kriterij za odabir krava  $>100.000$  st/ml za prvotelke i  $>200.000$  st/ml za ostale krava (ZECCONI i sur., 2019.).

VANHOUDT i sur. (2018.) dokazali su da je moguća selekcija krava bez antimikrobne pretrage samo na temelju BSS pri zadnjoj mužnji bez značajnog utjecaja na zdravlje vimena za vrijednosti  $>150.000$  st/ml za prvotelke i  $>50.000$  st/ml za ostale krave. Studija provedena na švicarskim farmama mliječnih krava odredila je kao graničnu vrijednost BSS  $< 150.000$  i negativan mastitis test kao kriterij za zasušenje bez antibiotika uz aplikaciju unutarnjeg sisnog zatvarača. Ovakav kriterij doveo je do smanjenja uporabe antibiotika od 63% uz očuvanje zdravlja vimena (BUCHER i BLEUL, 2019.).

ROWE i sur. (2020.) pratili su i analizirali podatke na farmi tijekom laktacije kao kriterij odabira krava za selektivno zasušenje. Krave koje su tijekom laktacije imale do dva slučaja mastitisa i/ili u bilo kojem trenutku laktacije imale povećanje BSS iznad 200.000 st/ml zasušene su intramamarnom aplikacijom antibiotika. Ovakav kriterij pokazao je da nema negativan utjecaj na proizvodnju i zdravlje vimena. Slična studija provedena je na farmama u saveznoj državi New York gdje su analizirajući podatke na farmi odabrane krave koje su na zadnjoj mužnji imale BSS < 200.000 st/ml, prosječni BSS zadnje tri mužnje < 200.000 st/ml, bez znakova kliničkog mastitisa pri zasušivanju i koje su imale do jedan klinički slučaj mastitisa tijekom laktacije. Krave koje su udovoljavale ovim parametrima zasušene su bez intramamarne aplikacije antibiotika, te je uporaba antibiotika smanjena za 60% bez utjecaja na proizvodnju i zdravlje krave (VASQUEZ i sur., 2018.).

Električna provodljivost mlijeka kao način otkrivanja IMI i potencijalni kriterij za odabir krava za selektivno zasušivanje nije dovoljno precizna metoda za prosudbu zdravstvenog stanja mliječne žlijezde odnosno prisustva IMI (MANNING i sur., 2019.).

Brojne studije koriste različite kombinacije kriterija za odabir krava za selektivno zasušenje, ali to zahtjeva kvalitetno praćenje i analizu podataka na farmi kao što su slučajevi kliničkih mastitisa, redovito određivanje BSS, podatci o mliječnosti i dr. (SCHERPENZEEL i sur., 2016.).

Retrospektivna studija austrijskih farmi pokazuje da veterinari uspješno provode selektivno zasušivanje primjenjujući tri kriterija: proizvodnju mlijeka, BSS i prevalenciju mastitisa (WITTEK i sur., 2018.).

Uspješnost odabira krava za selektivno zasušenje ovisi o više čimbenika. U prvom redu ovisi o osjetljivost testa i korištenju unutarnjih sisnih zatvarača, zatim o prevalenciji IMI u stadu u vrijeme zasušenja, odnosno da li se testira pojedinačna četvrt ili čitavo vime. Primjena indirektnih testova za identifikaciju IMI pokazuje da selektivno zasušivanje nije jednako učinkovito kao zasušivanje svih četvrti antibioticima bez obzira na prisutnost IMI (PATEL i sur., 2017.). Pravilan odabir krava za selektivno zasušenje ovisi o metodi identifikacije IMI prilikom zasušenja. (PATEL i sur., 2017., SCHERPENZEEL, 2017.).

### **6.3. Ekonomska isplativost**

Držanje mliječnih krava je proizvodni proces, pa uvođenje i primjena određenih protokola utječe na ekonomsku isplativost. Stočar uvođenje selektivnog zasušivanja ne promatra isključivo s aspekta dobrobiti životinja, već i kroz ekonomske gubitke koji će

generirati pad proizvodnje mlijeka i povećati troškove liječenja. Većina ekonomskih analiza pokazuje prednosti uobičajenog zasušivanja aplikacijom antibiotika u sve četvrti, međutim većina istih napravljena je na nesigurnim pretpostavkama (SCHERPENZEEL i sur., 2018.). HUIJIPS i HOGVEEEN (2007.) dokazali su da je selektivno zasušenje najekonomičnije, iako je i njihovo istraživanje imalo nejasne pretpostavke za odabir krava koje će biti zasušene intramamarnim antibioticima. Način zasušivanja ne temelji se isključivo na zdravlju vimena, već i na ekonomskoj isplativosti. Osim korištenja antibiotika prilikom zasušivanja, treba voditi računa i o troškovima liječenja zbog pojave kliničkog mastitisa, padu proizvodnje i smanjenju kvalitete mlijeka, ali i manjoj otkupnoj cijeni mlijeka. Uzevši u obzir sve navedene parametre, selektivno zasušivanje ekonomski je isplativo ukoliko se uspije zadržati nizak BSS i incidencija kliničkih mastitisa. Stoga ekonomska isplativost nije razlog zbog kojeg se selektivno zasušivanje ne bi uvelo na farmu (SCHERPENZEEL i sur., 2018.).

#### **6.4. Stav veterinaru i stočaru prema selektivnom zasušenju**

Provedba selektivnog zasušenja krava uvelike ovisi o stavu veterinaru i stočaru. Poželjno je da oboje imaju pozitivan stav na uvođenje ovakvog protokola. Ipak, uzevši u obzir zadnjih godina zagovaranje zasušivanja antibioticima svih četvrti, takav stav je upitan (SCHERPENZEEL, 2017.). Javlja se zabrinutost veterinaru i farmera o negativnim učincima uvođenja selektivnog zasušivanja, kao što je povećanje kliničkih i subkliničkih mastitisa te posljedice na dobrobit životinja i proizvodnju (VANHOUDT i sur., 2018.).

Izgledno je da je stav veterinaru važniji od stava stočaru, imajući na umu da stočari slušaju savjete svojih veterinaru. U idealnom modelu veterinaru bi trebali brinuti o zdravlju vimena i načinu zasušivanja krava. Stav veterinaru prema odabiru protokola uvelike ovisi i o njegovom iskustvu sa selektivnim zasušivanjem. Potrebno je podizati svijest veterinaru o nužnosti smanjenja potrošnje antibiotika u preventivne svrhe te ih informirati o mogućnosti smanjenja utroška antibiotika kroz odabir selektivnog zasušenja krava (SCHERPENZEEL, 2017.). Na odluku veterinaru o propisivanju antibiotika uvelike utječu rezultati dijagnostičkih testova, klinički znakovi te samo znanje o potencijalnim patogenima i spektru djelovanja antibiotika. Ukoliko veterinaru posjeduje znanje o navedenom lakše će se odlučiti na korištenje antibiotika. Lakoća aplikacije lijeka isto utječe na odabir antibiotika. Veterinaru će se prije odlučiti na liječenje ukoliko se radi o intramuskularnoj ili subkutanoj aplikaciji nego ukoliko se radi o intravenskoj primjeni. Isto tako na odluku o primjeni antibiotika kod veterinaru utječe ekonomska isplativost, odnosno zarada, vrijeme koje će morati potrošiti na vraćanje kod



vlasnika zbog višekratnog davanja antibiotika te sam odnos sa stočarom. Pokazalo se da je veterinar koji je u lošem odnosu sa stočarom manje sklon pripisivanje antibiotika za koje je potrebno višekratno doziranje kako bi izbjegao kontakt. (DE BRIYNE i sur., 2013.; GIBBONS i sur., 2013.)

HIGGINS i sur. (2017.) održavali su konzultacije sa veterinarima oko uvođenja selektivnog zasušivanja. Istraživanje pokazuje kako je odluka veterinara da uvede selektivno zasušivanje kompleksna te ovisi o farmi i velikom broju drugih čimbenika. Veterinari različite dobi i iskustva imaju različite prepreke kod uvođenja novih protokola. Veterinari, koji su tek završili obrazovanje, više brinu za stečeno znanje i poslovne mogućnosti i nije im bilo važno hoće li se provoditi selektivno zasušivanje. Veterinari koji rade kao asistenti, podupirali su uvođenje novih protokola, međutim brinuli su se da nemaju dovoljno povjerenja od stočara, a nisu bili skloni ići protiv mentora. Iskusniji veterinari, koji imaju dugogodišnje klijente i njihovo povjerenje mogli su lako implementirati protokol selektivnog zasušivanja te većina podupire takav protokol. Međutim na farmi je situacija drugačija. Veterinari, da bi zaštitili sebe, podupiru ostanak na modelu neselektivnog zasušivanja primjenom antibiotika i na taj način osiguravaju povjerenje stočara, smanjuju rizik i neizvjesnost kod primjene selektivnog zasušivanja.

Prelazak na model selektivnog zasušivanja uvelike ovisi i o stavu stočara. Bez pozitivnog stava farmera mala je vjerojatnost uspješnog uvođenja selektivnog zasušivanja. Studija provedena u Nizozemskoj ističe četiri čimbenika koju utječu na stav stočara prema modelu selektivnog zasušivanja. Prije svega to je ekonomske isplativost, zatim neizvjesnost pojave mastitisa na početku laktacije bez upotrebe antibiotika prilikom zasušivanja te uporaba sisnih zatvarača. Isto tako, ukoliko stočara nije bilo briga za potencijalne negativne posljedice selektivnog zasušivanja lakše se odlučio za takav model. Posljednjih desetljeća se preporučuje i uspješno provodi zasušivanje primjenom intramamarnih antibiotika. Stoga je potrebno provesti edukaciju, kampanje i praktične radionice o modelu selektivnog zasušivanja kako bi se promijenio stav stočara. Isto tako važno je stočarima pomoći da se snizi rizik za nastanak mastitisa kroz preventivne mjere i programe kontrole mastitisa na farmi (SCHERPENZEEL, 2017.).

## **6.5. Negativni učinak modela selektivnog zasušivanja vimena**

Prelazak na model selektivnog zasušivanja može dovesti do prolaznog povećanja incidencije kliničkog mastitisa i BSS uz istodobno smanjeno korištenje antibiotika. Odabir

kriterija selekcije krava za selektivno zasušenje važan je budući da o tome ovisi incidencija kliničkog i subkliničkog mastitisa, kvaliteta mlijeka, korištenje antibiotika, dobrobit životinja te sama izvedivost postupka (SCHERPENZEEL, 2017.).

Uvođenjem selektivnog zasušivanja mogu se javiti posljedice koje se odražavaju na zdravlje vimena, dobrobit životinja, proizvodnju mlijeka i korištenje antibiotika. Sve one su podjednako važne no teško ih je skupno zbrojiti i odjednom sagledati kao prednosti ili mane pri odabiru prelaska na selektivno zasušivanje. Potencijalno se sve posljedice mogu sagledati kroz ekonomsku dobit koja je glavna u industriji. Zdravlje vimena, posljedična kvaliteta mlijeka i njegova proizvodnja, te korištenje antibiotika može se gledati preko dobitaka i ulaganja te ukupnog profita. Iako se dobrobit životinja ne može gledati kroz ekonomsku dobit, ovakav način i dalje je efikasna pomoć pri odabiru načina zasušivanja (SCHERPENZEEL, 2017.). Ovakav pristup određivanja posljedica selektivnog zasušivanja koristili su i HUIJIPS i HOGVEEN (2007.) u svojoj studiji te su njome prikazali ekonomske prednosti korištenja selektivnog zasušivanja.

Studija koja je pratila provedbu implementacije modela selektivnog zasušivanja u Nizozemskoj u razdoblju od 2013. do 2017. nakon zabrane korištenja antibiotika u profilaktičke svrhe, analizom podataka s farmi o korištenju antimikrobne terapije (AMT), pojavi kliničkog mastitisa, kretanju BSS i drugih pokazatelja zdravlja vimena, zaključila je da je moguće smanjenje korištenja antibiotika za 63% bez značajnog utjecaja na zdravlje vimena (SANTMAN-BERENDS i sur., 2021.).

Meta–analiza istraživanja koja su pratile usporedbu selektivnog zasušivanja i zasušivanja antibioticima pokazala je kako selektivno zasušivanje povećava incidenciju IMI kod teljenja i mogući pozitivan učinak korištenja unutarnjih sisnih zatvarača (WINDER i sur., 2019.). I ostale studije naglašavaju važnost korištenja unutarnjih sisnih zatvarača za sprječavanje nastanka novih IMI tijekom suhostaja (FREU i sur., 2020.) uzrokovanih uvjetno patogenim mikroorganizmima, poput *Strep. uberis* koji sve više pokazuje znakove rezistencije na antibiotike (SAMSON i sur., 2016.).

Uspjeh selektivnog zasušivanja kao i negativni učinci ovise o kravi i zdravlju vimena. Implementacija selektivnog zasušenja na farmama s povoljnim uvjetima i dobrim upravljanjem ne predstavlja znatnije poteškoće i ne dovodi do većih negativni učinaka. (KLAWONN i sur., 2020.). Nadalje, povećanje BSS nakon uvođenja metode selektivnog zasušivanja češći je kod starijih krava čiji je prosječan BSS u prethodnoj laktaciji viši od prosjeka stada ili su proizvodile veliku količinu mlijeka u vrijeme zasušenja. Liječenje kliničkih mastitisa bilo je češće kod krava koje su imale povišen BSS kroz prethodnu laktaciju, vrlo visoku proizvodnju mlijeka u

prethodnoj laktaciji te su proizvodile veliku količinu mlijeka u vrijeme zasušenja (NIEMI i sur., 2021.).

Studija provedena u Finskoj pratila je napredak mliječnih stada kroz 4 godine od uvođenja selektivnog zasušivanja. Bez obzira na način provođenja zasušivanja proizvodnja mlijeka se povećala kroz godine. Prosječan BSS ostao je konstantan neovisno o načinu zasušivanja. Razlika u godišnjoj proizvodnji mlijeka i prosječnom BSS nije se značajno razlikovala između krava zasušenih sa i bez antibiotika (NIEMI i sur., 2020.). Istraživanja na Austrijskim farmama pokazala su da je kod krava koje su zasušene bez antibiotika proizvodnja mlijeka u sljedećoj laktaciji bila smanjena te da je BSS bio povećan na početku laktacije. Ista studija je dokazala i da nije bilo povećanja frekvencije pojave mastitisa u početku laktacije kod krava zasušenih bez antibiotika. Incidencija mastitisa bila je viša u krava zasušenih antibiotikom, kao i na kraju prethodne laktacije (WITTEK i sur., 2018.).

## 7. RASPRAVA

Krave tijekom života prolaze brojne tranzicijske periode i prilagodbe. Biološki i fiziološki gledano, laktacija i suhostaj predstavljaju pravilno izmjenjivanje perioda intenzivnog rada i nužnog odmora. Suhostaj je važan za optimizaciju proizvodnje mlijeka i zdravlja krave u sljedećoj laktaciji. (BAČIĆ, 2009.).

Mastitis je upala vimena uzrokovana najčešće bakterijama koje ulaze kroz sisni kanal u mliječnu žlijezdu. (SAINI i sur., 2012., SCHERPENZEEL, 2017.).

Najčešća je bolest mliječnih krava i najčešći razlog korištenja antibiotika u mliječnoj industriji (MINST i sur., 2012., SAINI i sur., 2012.).

Pojavi mastitisa obično prethodi IMI te se javlja, kako u laktaciji, tako i u suhostaju (SCHERPENZEEL, 2017.).

Stopa infekcije vrlo je visoka u prva dva tjedna suhostaja te na kraju suhostaja zbog otvorenog sisnog kanala uslijed povećanog tlaka u vimenu što olakšava ulazak patogena u vime (BAČIĆ, 2009.).

Smatra se da je 50% kliničkih mastitisa, koji se javljaju tijekom prvih 100 dana laktacije, zapravo posljedica IMI koje nastaju za vrijeme suhostaja. Usprkos mnogim programima prevencije mastitis je bolest koja se ne može iskorijeniti. Sprječavanje nastanka IMI za vrijeme suhostaja važno je i za slijedeću laktaciju. Prevencija se provodi aplikacijom intramamarnih antibiotika prilikom zasušivanja krave (SCHERPENZEEL, 2017.).

Zasušivanje krava s intramamarnom aplikacijom antibiotika sastavni je dio programa za kontrolu mastitisa od 5 točaka. Cilj je izliječiti već postojeće IMI i spriječiti nastanak novih infekcija tijekom suhostaja (NEAVE i sur., 1969.).

Međutim, ovim se načinom antibiotici koriste i onda kada to nije neophodno potrebno i dolazi do razvoja rezistencije bakterija na antibiotike kod nepotrebno liječenih neinficiranih krava (BAČIĆ, 2009.).

Rezistencija na antibiotike nastaje kada bakterija posjeduje ili razvija mehanizam kojim može izbjeći djelovanje antibiotika. Bolesti uzrokovane rezistentnim uzročnicima teže se liječe uzrokuju veći morbiditet i smrtnost. Nastanak rezistencije povezuje se s nepotrebnim i nepravilnim korištenjem antibiotika u humanoj medicini, poljoprivredi i stočarstvu (CHRISTAKI i sur., 2020.).

AMR smatra se razlogom niske stope bakterijskog izlječenja te je prijetnja javnom zdravstvu. Primjena antimikrobnih tvari potencijalno je važan čimbenik za razvoj rezistencije.

S obzirom da se antibiotici u mliječnoj industriji primjenjuju u kontroli i u prevenciji mastitisa, nadzor AMR važan je za javno zdravstvo (SAINI i sur., 2012.).

Mnoge provedene studije dokazale su pojavu rezistentnih bakterija ili povećanje minimalne inhibicijske koncentracije antibiotika za određene bakterije, koja prethodi rezistenciji (DOLEJSKA i sur., 2011., HAMMAD i sur., 2008., MINST i sur., 2012., SAINI i sur., 2012., VANDERHAEGHEN i sur., 2010.).

**Tablica 2.** Prikaz radova antimikrobne rezistencije

AUTOR	RAD	GODINA OBJAVE	ZAKLJUČAK
HAMMAD i sur.	First Characterization and Emergence of SHV-60 in Raw Milk of a Healthy Cow in Japan	2008.	Pojava oblika <i>E. Coli</i> i <i>Klebsiella</i> spp. rezistentnih na ceftiofur u mlijeku
VANDERHAEGHEN i sur.	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows	2010.	Primjena cloxacilina povezana s razvojem multirezistentne bakterije <i>Staph. aureus</i> izolirane iz mlijeka
DOLEJSKA i sur.	IncN plasmids carrying blaCTX-M-1 in <i>Escherichia coli</i> isolates on a dairy farm	2011.	Oblici <i>E. Coli</i> i <i>Klebsiella</i> spp. rezistentni na ceftiofur izolirani iz mliječnih filtera na farmi
MINST i sur.	Short communication: <i>Streptococcus</i> species isolated from mastitis milk samples in Germany and their resistance to antimicrobial agents	2012.	Rezistencija <i>Streptococcus</i> spp. na tetracikline, eritromicin, pirlimicin i gentamicin Porast minimalne inhibicijske koncentracije $\beta$ - laktamskih antibiotika za streptokokne vrste
SAINI i sur.	Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms	2012.	Rezistencija <i>Staph. aureus</i> na penicilin te <i>E. Coli</i> i <i>Klebsiella</i> spp. na tetracikline Pojava blage rezistencije <i>Staph. aureus</i> na cefalosporine 3. generacije

Najveća briga odnosi se na pojavu rezistentnih G-bakterija koje su značajan rizik za javno-zdravstvo zbog zabilježenih slučajeva rezistencije na karbapeneme i kolistin, koji su posljednji izbor za liječenje multirezistentnih bakterija zbog manjka novih antimikrobnih tvari kojima se mogu zamijeniti postojeći pripravci (BENNANI i sur., 2020.).

Ipak, dosadašnja istraživanja pokazuju da je rezistencija na antimikrobne tvari koje su od velikog značaja za humanu medicinu rijetka kod patogena koji se povezuju s mastitisima, kao što su cefalosporini 3. generacije, inhibitori  $\beta$  - laktamaze i fluorokinoloni, ali isto tako da je nizak rizik za prijenos AMR bakterija iz mlijeka i mliječnih proizvoda na ljudsku populaciju (SAINI i sur., 2012.).

Mliječne krave zasušuju se intramamarnom aplikacijom antibiotika u sve četvrti neovisno o prisustvu infekcije. Ovakvom primjenom antibiotika povećava se selekcija otpornih bakterija i razvija njihova rezistencija. Prilikom zasušenja tretiraju se antibioticima i krave koje nisu inficirane te je važno razvijati modele koji bi uključivali racionalnu i selektivnu primjenu antibiotika. (SCHERPENZEEL, 2017.).

U smjernicama Europske komisije za oprezno korištenje antimikrobnih tvari u veterinarskoj medicini navodi se kako je potrebno izbjegavati profilaktičko liječenje krava u suhostaju te da je potrebno razmotriti i provesti alternativne mjere za svaki slučaj posebno (EK, 2015.).

Selektivna uporaba antibiotika kojom se tretiraju samo inficirane četvrti, prihvatljiv je i efikasan način smanjenja njihove uporabe (SCHERPENZEEL, 2017.).

Učinkovitost selektivnog zasušivanja ovisi o kriteriju odabira krava za zasušenje pomoću intramamarnih antibiotika. Protokoli za odabir krava trebaju biti dovoljno precizni, jednostavni za interpretaciju, jeftini, sigurni, certificirani i dostupni za uporabu (ZECCONI i sur., 2019.).

Studije koje su istraživale kriterije bazirale su se na različitim podacima i dijagnostikama kao što su bakteriološke kulture mliječnih uzoraka na farmi (CAMERON i sur., 2015., PATEL i sur., 2017.), BSS (BUCHER i BLEUL, 2019., SCHERPENZEEL, 2017., VANHOUDT i sur., 2018., ZECCONI i sur., 2019.) te podatci skupljeni na farmi (ROWE i sur., 2020., VASQUEZ i sur., 2018.).

Uspješnost odabira krava za selektivno zasušenje ovisi o više čimbenika. U prvom redu ovisi o osjetljivosti testa i korištenju unutarnjih sisnih zatvarača, zatim o prevalenciji IMI u stadu u vrijeme zasušenja, odnosno da li se testira pojedinačna četvrt ili čitavo vime (PATEL i sur., 2017.).

Pravilan odabir krava za selektivno zasušenje ovisi o metodi identifikacije IMI prilikom zasušenja. (PATEL i sur., 2017., SCHERPENZEEL, 2017.).

Osim načina odabira krava za provedbu selektivnog zasušivanja, ono ovisi i o stavu veterinaru i stočaru. Poželjno je da oboje imaju pozitivan stav za uvođenje ovakvog protokola. Nažalost, uzevši u obzir zagovaranje zasušivanja svih četvrti antibioticima tijekom zadnjih godina, takav stav je upitan (SCHERPENZEEL, 2017.).

Javlja se zabrinutost veterinaru i farmera o negativnim učincima uvođenja selektivnog zasušivanja kao što su povećanje učestalosti kliničkih i subkliničkih mastitisa te posljedice na dobrobit životinja i proizvodnju (VANHOUDTE i sur., 2018.).

Držanje mliječnih krava je proizvodni proces, pa uvođenje i primjena određenih protokola utječe na ekonomsku isplativost. Stočar uvođenje selektivnog zasušivanja ne promatra isključivo s aspekta dobrobiti životinja, već uglavnom kroz ekonomske gubitke koji će generirati pad proizvodnje mlijeka i povećati troškove liječenja. Dokazano je da ekonomska isplativost nije razlog zbog kojeg se selektivno zasušivanje ne bi uvelo na farmu (SCHERPENZEEL i sur., 2018.).

Prelazak na model selektivnog zasušivanja može dovesti do prolaznog povećanja incidencije kliničkog mastitisa i BSS uz istodobno smanjeno korištenje antibiotika. Kriterij odabira krava za selektivno zasušenje važan je budući da o tome ovisi incidencija kliničkog i subkliničkog mastitisa, kvaliteta mlijeka, korištenje antibiotika, dobrobit životinja te sama izvedivost postupka (SCHERPENZEEL, 2017.).

Provedene studije dokazale su uspješno smanjenje korištenja antibiotika uz zanemarive posljedice na zdravlje vimena i proizvodnju te time dokazale uspješnu implementaciju protokola selektivnog zasušivanja (NIEMI i sur., 2021., ROWE i sur., 2020., SANTMAN-BERENDS i sur., 2021., VASQUEZ i sur., 2018.).

**Tablica 3.** Prikaz radova uvođenja selektivnog zasušivanja krava

AUTOR	RAD	GODINA OBJAVE	KRITERIJ ODABIRA	ZAKLJUČAK
CAMERON i sur.	Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation	2015.	Rast bakterioloških kultura na farmi nakon 24 sata	Smanjenje primjene antibiotika, bez negativnih posljedica na produkciju i kvalitetu mlijeka
PATEL i sur.	Pilot study: Impact of using a culture-guided selective dry cow therapy program targeting quarter-level treatment on udder health and antibiotic use	2017.	Rast bakterioloških kultura na farmi iz uzorka mlijeka uzetog 2 dana prije zasušivanja	Smanjenje uporabe antibiotika za 48% uz neznatne razlike za rizik nastanka infekcije poslije telenja
SCHERPENZEEL	Selective dry cow treatment in dairy cows	2017.	BSS pri zadnjoj mužnji 1. >50.000 st/ml 2. do dva telenja > 150.000 st/ml više od dva > 50.000 st/ml 3. do dva telenja > 150.000 st/ml više od dva > 250.000 st/ml	1. najnižu incidenciju kliničkog i subkliničkog mastitisa 2. ekonomski najisplativije 3. smanjenje uporabe antibiotika od 60%
VANHOUDT i sur.	Effects of reduced intramammary antimicrobial use during the dry period on udder health in Dutch dairy herds	2018.	BSS pri zadnjoj mužnji >150.000 st/ml za prvotelke >50.000 st/ml za ostale krave	Moguća selekcija krava samo na temelju BSS pri zadnjoj mužnji bez značajnog utjecaja na zdravlje vimena
VASQUEZ i sur.	Use of a culture-independent on-farm algorithm to guide the use of selective dry-cow antibiotic therapy	2018.	podatci na farmi 1. zadnja mužnja BSS < 200.000 st/ml 2. prosječni BSS zadnje tri mužnje < 200.000 st/ml + bez znakova kliničkog mastitisa pri zasušivanju 3. jedan klinički slučaj mastitisa tijekom laktacije	Uporaba antibiotika smanjena za 60% bez utjecaja na proizvodnju i zdravlje krave
BUCHER i BLEUL	The effect of selective dry cow treatment on the udder health in Swiss dairy farms	2019.	BSS < 150.000 i negativan mastitis test	Smanjenje uporabe antibiotika od 63% uz očuvanje zdravlja vimena
ZECCONI i sur.	Somatic cell count as a decision tool for selective dry cow therapy in Italy	2019.	BSS >100.000 st/ml za prvotelke >200.000 st/ml za ostale krava	Optimalna granica BSS za smanjenje uporabe antibiotika bez utjecaja na proizvodnju i kvalitetu mlijeka
ROWE i sur.	Randomized controlled trial investigating the effect of 2 selective dry-cow therapy protocols on udder health and performance in the subsequent lactation	2020.	podatci na farmi tijekom laktacije do dva slučaja mastitisa i/ili u bilo kojem trenutku laktacije povećanje BSS iznad 200.000 st/ml	Nema negativnog utjecaj na proizvodnju i zdravlje vimena



## 8. ZAKLJUČAK

1. Pravilno proveden suhostaj omogućava iskorištavanje punog potencijala mliječne žlijezde tijekom sljedeće laktacije, liječenje postojećih i prevenciju novih intramamarnih infekcija.
2. Preventivna primjena antibiotika za zasušivanje ima pozitivan učinak na proizvodnju i kvalitetu mlijeka, ali povećava rizik od razvoja rezistentnih bakterija i predstavlja prijetnju za javno zdravstvo.
3. Selektivno zasušivanje uz pravilan odabir kriterija ekonomski je isplativo i pozitivno utječe na smanjenje upotrebe antibiotika
4. Kriteriji za odabir krava za selektivno zasušivanje razlikuju se među zemljama. Svaka zemlja treba provesti vlastito istraživanje za odabir optimalnog kriterija za selekciju krava koji je učinkovit i isplativ stočarima i veterinarima.
5. Veterinare i stočare potrebno je educirati o pozitivnim i negativnim učincima selektivnog zasušenja u skladu sa smjericama Komisije Europske unije o smanjenju uporabe antibiotika u veterinarskoj medicini

## 9. LITERATURA

- AMANN, S., K. NEEF, S. KOHL (2019): Antimicrobial resistance (AMR). *Eur. J. Hosp. Pharm.* 26, 175–177.
- BAČIĆ, G. (2009): *Dijagnostika i liječenje mastitisa u goveda*. Zagreb: Veterinarski fakultet.
- BENNANI, H., A. MATEUS, N. MAYS, E. EASTMURE, K. D. C. STÄRK, B. HÄSLER (2020): Overview of evidence of antimicrobial use and antimicrobial resistance in the food chain. *Antibiotics* 9, 1–18.
- BRADLEY, A. J., S. DE VliegHER, M. J. GREEN, P. LARROSA, B. PAYNE, E. S. VAN DE LEEMPUT, O. SAMSON, D. VALCKENIER, T. VAN WERVEN, H. W. F. WALDECK, V. WHITE, L. GOBY (2015): An investigation of the dynamics of intramammary infections acquired during the dry period on European dairy farms. *J. Dairy Sci.* 98, 6029–6047.
- BUCHER, B., U. BLEUL (2019): The effect of selective dry cow treatment on the udder health in swiss dairy farms. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 161, 533–544.
- CAMERON, M., G. P. KEEFE, J. P. ROY, H. STRYHN, I. R. DOHOO, S. L. MCKENNA (2015): Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 98, 2427–2436.
- CHANDLER, C. I. R. (2020): Stabilisation , Individualisation and Antibiotics As Infrastructure. *Palgrave Commun.* 15–17.
- CHRISTAKI, E., M. MARCOU, A. TOFARIDES (2020): Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *J. Mol. Evol.* 88, 26–40.
- DAVIES, J., D. DAVIES (2010): Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 417–433.
- DE BRIYNE, N., J. ATKINSON, L. POKLUDOVÁ, S. P. BORRIELLO, S. PRICE (2013): Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. *Vet. Rec.* 173, 475.
- DELAVAL (2011): *Anatomy of the Mammary Gland*. Delaval1–7.
- DOLEJSKA, M., Z. JURCICKOVA, I. LITERAK, L. POKLUDOVA, J. BURES, A. HERA, L. KOHOUTOVA, J. SMOLA & A. CIZEK (2011): IncN plasmids carrying blaCTX-M-1 in *Escherichia coli* isolates on a dairy farm. *Vet. Microbiol.* 149, 513–516.
- DŽIDIĆ, A. (1999): Physiology of Lactation and Machine Milking. *Physiol. Lact. ... Mljekarstvo* 49, 163–174.

- EK OBAVIJEST KOMISIJE - Smjernice za opreznu uporabu antimikrobnih sredstava u veterinarskoj medicini. (2015), Službeni list Europske unije 7–26.
- FREU, G., T. TOMAZI, C. P. MONTEIRO, M. M. BARCELOS, B. G. ALVES, M. V. DOS SANTOS (2020): Internal teat sealant administered at drying off reduces intramammary infections during the dry and early lactation periods of dairy cows. *Animals* 10, 1–16.
- GIBBONS, J. F., F. BOLAND, J. F. BUCKLEY, F. BUTLER, J. EGAN, S. FANNING, B. K. MARKEY, F. C. LEONARD (2013): Influences on antimicrobial prescribing behaviour of veterinary practitioners in cattle practice in Ireland. *Vet. Rec.* 172, 14.
- HAMMAD, A. M., A. M. AHMED, Y. ISHIDA, T. SHIMAMOTO (2008): First characterization and emergence of SHV-60 in raw milk of a healthy cow in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 70, 1269–1272.
- KLAWONN, W., A. HOELLER, R. LEMCKE, T. SCHEU, H. MENGEL, C. KOCH (2020): Selective dry cow treatment under field conditions – Impact on milk yield and somatic cell count of the dairy herd of the Ivav neumühle. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 133, 65–73.
- LAGO, A., S. M. GODDEN, R. BEY, P. L. RUEGG, K. LESLIE (2011): The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *J. Dairy Sci.* 94, 4441–4456.
- MANNING, A., G. LINDLEY, M. GREEN (2019): Assessment of milk electrical conductivity as an alternative test in the decision making process when advising on selective approaches to dry cow therapy. *CATTLE Pract.* 27, 41–44.
- MINST, K., E. MÄRTLBAUER, T. MILLER, C. MEYER (2012): Short communication: Streptococcus species isolated from mastitis milk samples in Germany and their resistance to antimicrobial agents. *J. Dairy Sci.* 95, 6957–6962.
- NEAVE, F. K., F. H. DODD, R. G. KINGWILL, D. R. WESTGARTH (1969): Control of Mastitis in the Dairy Herd by Hygiene and Management. *J. Dairy Sci.* 52, 696–707.
- NIEMI, R. E., M. HOVINEN, M. J. VILAR, H. SIMOJOKI, P. J. RAJALA-SCHULTZ (2021): Dry cow therapy and early lactation udder health problems—Associations and risk factors. *Prev. Vet. Med.* 188, .
- NIEMI, R. E., M. J. VILAR, I. R. DOHOO, M. HOVINEN, H. SIMOJOKI, P. J. RAJALA-SCHULTZ (2020): Antibiotic dry cow therapy, somatic cell count, and milk production: Retrospective analysis of the associations in dairy herd recording data using multilevel growth models. *Prev. Vet. Med.* 180, 105028.

- PANDEY, Y., J. S. TALUJA, R. VAISH, A. PANDEY, N. GUPTA, D. KUMAR (2018): Gross anatomical structure of the mammary gland in cow. *J. Entomol. Zool. Stud.* 6, 728–733.
- PATEL, K., S. M. GODDEN, E. E. ROYSTER, J. A. TIMMERMAN, B. A. CROOKER (2017): Pilot study : Impact of using a culture-guided selective dry cow therapy program targeting quarter-level treatment on udder health and antibiotic use. *Bov. Pract.* 51, 48–57.
- ROWE, S. M., S. M. GODDEN, D. V. NYDAM, P. J. GORDEN, A. LAGO, A. K. VASQUEZ, E. ROYSTER, J. TIMMERMAN, M. J. THOMAS (2020): Randomized controlled trial investigating the effect of 2 selective dry-cow therapy protocols on udder health and performance in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 103, 6493–6503.
- SAINI, V., J. T. MCCLURE, D. LÉGER, G. P. KEEFE, D. T. SCHOLL, D. W. MORCK, H. W. BARKEMA (2012): Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 95, 4319–4332.
- SAMSON, O., N. GAUDOUT, E. SCHMITT, Y. H. SCHUKKEN, R. ZADOKS (2016): Use of on-farm data to guide treatment and control mastitis caused by *Streptococcus uberis*. *J. Dairy Sci.* 99, 7690–7699.
- SANTMAN-BERENDS, I. M. G. A., K. W. H. VAN DEN HEUVEL, T. J. G. M. LAM, C. G. M. SCHERPENZEEL, G. VAN SCHAIK (2021): Monitoring udder health on routinely collected census data: Evaluating the short- to mid-term consequences of implementing selective dry cow treatment. *J. Dairy Sci.* 104, 2280–2289.
- SCHERPENZEEL, C. (2017): Selective dry cow treatment in dairy cows.
- SCHERPENZEEL, C. G. M., I. E. M. DEN UIJL, G. VAN SCHAIK, R. G. M. O. RIEKERINK, H. HOGEVEEN, T. J. G. M. LAM (2016): Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. *J. Dairy Sci.* 99, 3753–3764.
- SCHERPENZEEL, C. G. M., H. HOGEVEEN, L. MAAS, T. J. G. M. LAM (2018): Economic optimization of selective dry cow treatment. *J. Dairy Sci.* 101, 1530–1539.
- SCHUKKEN, Y. H., D. J. WILSON, F. WELCOME, L. GARRISON-TIKOFSKY, R. N. GONZALEZ (2003): Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.* 34, 579–596.
- SENGUPTA, S., M. K. CHATTOPADHYAY, H. P. GROSSART (2013): The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Front. Microbiol.* 4, 1–13.
- SOMMER, M. O. A., G. M. CHURCH, G. DANTAS (2010): The human microbiome harbors a diverse reservoir of antibiotic resistance genes. *Virulence* 1, 299–303.

- TREVISI, E., A. ZECCONI, S. COGROSSI, E. RAZZUOLI, P. GROSSI, M. AMADORI (2014): Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. *Res. Vet. Sci.* 96, 229–233.
- VANDERHAEGHEN, W., T. CERPENTIER, C. ADRIAENSEN, J. VICCA, K. HERMANS, P. BUTAYE (2010): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. *Vet. Microbiol.* 144, 166–171.
- VANHOUDT, A., K. VAN HEES-HUIJPS, A. T. M. VAN KNEGSEL, O. C. SAMPIMON, J. C. M. VERNOOIJ, M. NIELEN, T. VAN WERVEN (2018): Effects of reduced intramammary antimicrobial use during the dry period on udder health in Dutch dairy herds. *J. Dairy Sci.* 101, 3248–3260.
- VASQUEZ, A. K., D. V. NYDAM, C. FODITSCH, M. WIELAND, R. LYNCH, S. EICKER, P. D. VIRKLER (2018): Use of a culture-independent on-farm algorithm to guide the use of selective dry-cow antibiotic therapy. *J. Dairy Sci.* 101, 5345–5361.
- WINDER, C. B., J. M. SARGEANT, D. F. KELTON, S. J. LEBLANC, T. F. DUFFIELD, J. GLANVILLE, H. WOOD, K. J. CHURCHILL, J. DUNN, M. D. BERGEVIN, K. DAWKINS, S. MEADOWS, A. M. O’CONNOR (2019): Comparative efficacy of blanket versus selective dry-cow therapy: A systematic review and pairwise meta-analysis. *Anim. Heal. Res. Rev.* 20, 217–228.
- WITTEK, T., A. TICHY, B. GRASSAUER, C. EGGER-DANNER (2018): Retrospective analysis of Austrian health recording data of antibiotic or nonantibiotic dry-off treatment on milk yield, somatic cell count, and frequency of mastitis in subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 101, 1456–1463.
- ZECCONI, A., G. SESANA, D. VAIRANI, M. CIPOLLA, N. RIZZI, L. ZANINI (2019): Somatic cell count as a decision tool for selective dry cow therapy in Italy. *Ital. J. Anim. Sci.* 18, 435–440.

## 10. SAŽETAK

### Selektivno zasušivanje mliječnih krava

Zbog ubrzanog nastanka antimikrobne rezistencije i njenog značaja za javno zdravstvo potrebno je smanjiti uporabu antimikrobnih sredstava. S obzirom da postoje dokazi prijenosa antimikrobne rezistencije s patogena koji izazivaju bolesti životinja na patogene ljudi, potrebna je kontrola uporabe antimikrobnih tvari u veterini. Mastitis je bolest mliječnih krava koja je najčešća u proizvodnji te na nju otpada korištenje najviše antibiotika na liječenje i profilaksu. Najviše antibiotika se koristi prilikom zasušivanja krava, kako bi se izliječile postojeće infekcije, ali i spriječio nastanak novih. Godinama se poticalo zasušivanje svih četvrti antibioticima kao mjera prevencije nastanka mastitisa. Međutim na taj način antibioticima se tretiraju četvrti koje nisu inficirane te se potiče razvoj antimikrobne rezistencije. Sve veći broj zemalja uvodi na farme selektivno zasušivanje kako bi se smanjilo nepotrebno korištenje antibiotika i usporio nastanak rezistencije. Takvim protokolima antibioticima se zasušuju samo krave koje imaju intramamarnu infekciju i povećani rizik od nastanka mastitisa. Prvi problem implementacije ovakvih protokola je kriterij odabira krava koje će se zasušiti antibioticima. Studije prikazuju razne čimbenike kao što su bakteriološka pretraga mlijeka, broj somatskih stanica, proizvodnja mlijeka, pojavnost kliničkog mastitisa u prethodnoj laktaciji ili broj telenja, te njihove kombinacije, kao potencijalne kriterije za odabir inficiranih krava. Bakteriološka bi pretraga uzoraka mlijeka bila najpouzdanija, ali većina studija ipak zagovara određivanje prema broju somatskih stanica pri zadnjoj mužnji kao dovoljno precizan kriterij pomoću kojeg je na ekonomičan način moguće provesti selektivno zasušivanje bez značajnog utjecaja na zdravlje vimena. Osim kriterija za odabir krava, javlja se pitanje ekonomske isplativosti te posljedica koje mogu štetno utjecati na proizvodnju zbog izostanka preventivnog utjecaja antibiotika na pojavu mastitisa početkom laktacije. Ove nedoumice su u više radova prikazane kao zanemarive jer je dokazana uspješnost selektivnog zasušenja bez negativnih posljedica na proizvodnju uz ekonomsku isplativost ovakvih protokola. Nadalje, o samoj uspješnoj implementaciji uvelike ovisi stav veterinarima i farmera, koji bi trebao biti pozitivan. Međutim, farmeri nisu uvijek spremni riskirati svoju proizvodnju, pogotovo s obzirom na to da ni neki veterinari nisu za uvođenje novog protokola. Ovakav stav bi trebalo promijeniti dodatnim edukacijama i praktičnim radionicama.

Ključne riječi: selektivno zasušivanje krava, antimikrobna rezistencija, mastitis

## **11. SUMMARY**

### **Selective dry cow treatment in dairy cows**

Due to the accelerated development of antimicrobial resistance and its importance for public health, it is necessary to reduce the use of antimicrobial agents. Regarding that there is evidence of transmission of disease-causing antimicrobial resistance in animals to human pathogens, control of veterinary antimicrobial use is required. Mastitis is most common disease in dairy cows and the largest number of antibiotics is used for treatment and prevention. Most antibiotics are used for dry cow therapy, in order to cure existing infections, but also to prevent new intramammary infections. For years, blanket dry cow therapy was recommended for mastitis prevention. Antibiotics were administered in cows that are not infected causing increased antimicrobial resistance. Nowadays numerous countries are introducing selective dry cow therapy to reduce the unnecessary use of antibiotics and decrease antimicrobial resistance. With such protocols, only cows that have intramammary infection and increased risk of mastitis were dried off with antibiotics. The first problem of implementing new protocol is the criteria for selecting cows to be dried off with antibiotics. Studies show various factors such as bacteriological culture of milk, somatic cell count, milk yield, incidence of clinical mastitis in previous lactation, parity or any of their combinations, as potential criteria for infected cow selection. Bacteriological culture should be a “gold standard”, but most studies recommends somatic cell count at last milking as sufficiently accurate criteria by which selective dryoff cow treatment can be economically justified without significantly affecting udder health. In addition to the selection criteria, there is the question of economic sustainability and the consequences that may affect production due to the lack of preventive effect of antibiotics on the mastitis frequency at the beginning of lactation. Several studies show that these concerns are negligible due to successful implementation of protocol without negative effects on production and cost – effectiveness. Furthermore, the attitude of veterinarians and farmers, which should preferably be positive, largely depends on the successful implementation of selective dry cow therapy. However, farmers are not always willing to risk their production, especially given that some veterinarians are not in favor of introducing a new protocol. This attitude should be changed by additional education and practical workshops.

Key words: selective dry cow therapy, antimicrobial resistance, mastitis

## 12. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 24.06.1995. u Zagrebu. Od 2010. do 2014. godine pohađala sam V. Gimnaziju u Zagrebu. 2014. godine upisala sam Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Svih šest godina studija bila sam nagrađivana kao najbolji student generacije. 2018. godine primila sam Dekanovu nagradu za postignuća tijekom dotadašnjeg studija. Iste godine Genera d.o.o. odabrala me za svog stipendista. Tijekom studija bila sam demonstrator na Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju, te na Klinici za porodništvo i reprodukciju. Zadnje tri godine studija volontirala sam na Klinici za porodništvo i reprodukciju. 2016. godine provela sam 2 mjeseca na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta Cornell u sklopu Animal Health Diagnostic Center. 2019. godine boravila sam na Klinici za Porodiljstvo, Sterilnost i Umjetno osjemenjivanje Veterinarskog Fakulteta Sveučilišta u Beogradu. U rujnu 2019. godine boravila sam u Savinjskoj Veterinarskoj Postaji u Sloveniji kod prof. Podpečana na praksi iz farmskih životinja. Na petoj godini studija odabrala sam smjer Farmske životinje i konji. Stručnu praksu odradila sam u Veterinarskoj stanici Sesvete. U svrhu stručnog usavršavanja tijekom studija sudjelovala sam na mnogim domaćim i međunarodnim kongresima, skupovima i radionicama. Na 6. i 7. međunarodnim kongresu „Veterinarska znanost i struka“ održala sam prezentacije. Na 7. kongresu „Veterinarska znanost i struka“ dobila sam nagradu za najbolju studentsku prezentaciju. Na 6. Hrvatskom veterinarskom kongresu s međunarodnim sudjelovanjem u Opatiji održala sam prezentaciju postera. Volontirala sam i obavljala poslove stručnog vodiča na četiri edukacijske izložbe „Reptilomanija+“ od 2015 do 2018. godine. Dva puta sam sudjelovala u organizaciji „Noći muzeja“ na našem Fakultetu, te dva puta na „Festivalu znanosti“ u Tahničkom muzeju Nikola Tesla u Zagrebu. Sudjelovala sam u realizaciji europskog projekta „Intramamarna formulacija propolisa za prevenciju i liječenje mastitisa u mliječnih preživača“. Trenutno sudjelujem kao volonter na terenskom sakupljanju uzoraka mlijeka na europskom projektu „Razvoj inovativnog brzog testa za dijagnostiku subkliničkog mastitisa u mliječnih krava INOMILKO“. Autorica sam i koautorica 17 znanstvenih i stručnih radova i jednog poglavlja u knjizi „Emerging Concepts in Veterinary and Animal Science“.