

# Ostaci antibiotika u hrani animalnog podrijetla i mogući toksični učinci

---

**Konsuo, Marina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:276838>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Marina Konsuo**

6439/N

**OSTACI ANTIBIOTIKA U HRANI ANIMALNOG  
PODRIJETLA I MOGUĆI TOKSIČNI UČINCI**  
**ZAVRŠNI RAD**

**Modul: Osnove toksikologije**

**Mentor: Izv. prof. dr. sc. Ivana Kmetič**

**Zagreb, 2016.**

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Nutricionizam  
Zavod za kemiju i biokemiju  
Laboratorij za toksikologiju

### OSTACI ANTIBIOTIKA U HRANI ANIMALNOG PODRIJETLA I MOGUĆI TOKSIČNI UČINCI Marina Konsuo, 6439/N

**Sažetak:** Antibiotici su specifični proizvodi metabolizma koji posjeduju visoku fiziološku aktivnost prema određenim grupama organizama kao što su virusi, bakterije, plijesni, protozoe ili zloćudni tumori, zadržavajući njihov rast ili uništavajući ih. Najčešće skupine antibiotika koje se koriste u veterinarskoj medicini su tetraciklini,  $\beta$ -laktami, sulfonamidi, aminoglikozidi, fluorokinoloni, oksazolidinoni i fenikoli. Analitičke metode koje se koriste za određivanje ostataka antibiotika u hrani su orijentacijske i potvrdne metode. Termička obrada utječe na stabilnost i degradaciju ostataka antibiotika u hrani. Glavni problemi povezani s ostacima antibiotika u hrani su potencijalna selekcija i širenje antibiotski rezistentnih gena među bakterijama koje se prenose hranom, narušavanje homeostaze crijevne mikroflore ljudi te moguće alergijske reakcije. Trenutne spoznaje o utjecaju ostataka antibiotika u hrani na čovjeka nisu dovoljne da bi se sa sigurnošću moglo potvrditi na koje načine ti ostaci mogu utjecati na zdravlje ljudi.

**Ključne riječi:** ostaci antibiotika u hrani, termička obrada, toksični učinci

**Rad sadrži:** 27 stranica, 2 slike, 34 literaturna navoda, 1 prilog

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:**

Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Ivana Kmetič

**Pomoć pri izradi:** Marina Miletić, mag. ing., asistent

**Rad predan:** srpnja 2016.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Undergraduate studies Nutrition**  
**Department of Chemistry and Biochemistry**  
**Laboratory for Toxicology**

### **ANTIBIOTIC RESIDUES IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN AND POSSIBLE TOXIC EFFECTS**

**Marina Konsuo, 6439/N**

**Abstract:** Antibiotics are specific metabolic products that have high physiological activity towards the specific groups of organisms such as viruses, bacteria, fungi, protozoa and malignant tumours, while inhibiting their growth or destroying them. The most common groups of antibiotics that are used in veterinary medicine are tetracyclines,  $\beta$ -lactams, sulfonamides, aminoglycosides, fluoroquinolones, oxazolidinones and phenicols. Screening and confirmation methods are used for determination of antibiotic residues. Thermal treatment can affect the stability and degradation of antibiotics in food. The main concerns related to antibiotic residues in food are potential selection and spreading of antibiotic resistant genes among bacteria that are transmitted by food, disruption of intestinal homeostasis of human microflora, and possible allergic reactions. Current knowledge about the impact of antibiotic residues in food on humans is not sufficient to confirm with certainty in which ways these residues may affect human health.

**Keywords:** antibiotic residues in food, thermal treatment, toxic effects

**Thesis contains:** 27 pages, 2 figures, 34 references, 1 supplement

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic version is deposited in:**

Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** PhD. Ivana Kmetič, Associate Professor

**Technical support and assistance:** BSc. Marina Miletić, Assistant

**Thesis delivered:** July 2016

## SAŽETAK

|   |    |
|---|----|
| <b>1. UVOD</b> .....  | 1  |
| <b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....   | 2  |
| 2.1. ANTIBIOTICI.....   | 2  |
| 2.1.1. Klasifikacija antibiotika .....  | 2  |
| 2.1.2. Mehanizmi djelovanja antibiotika .....   | 3  |
| 2.1.3. Zakonski propisi koji se odnose na ostatke antibiotika u hrani.....                                | 5  |
| 2.2. GLAVNE SKUPINE ANTIBIOTIKA KOJE SE KORISTE KAO VETERINARSKI<br>LJEEKOVI I SVRHA NJIHOVE UPORABE..... | 6  |
| 2.2.1. Maksimalne dopuštene količine ostataka antibiotika u hrani animalnog podrijetla                    | 7  |
| 2.3. METODE ODREĐIVANJA OSTATAKA ANTIBIOTIKA U HRANI .....  | 8  |
| 2.3.1. Orijentacijske metode.....   | 8  |
| 2.3.2. Potvrdne metode.....   | 10 |
| 2.4. UTJECAJ TERMIČKE OBRADJE NA OSTATKE ANTIBIOTIKA U HRANI.....   | 11 |
| 2.4.1. Tetraciklini .....   | 12 |
| 2.4.2. β-laktami.....   | 13 |
| 2.4.3. Makrolidi .....  | 14 |
| 2.4.4. Nitrofurani .....  | 14 |
| 2.4.5. Kinoloni.....  | 15 |
| 2.4.6. Amfenikoli .....   | 15 |
| 2.4.7. Sulfonamidi .....  | 16 |
| 2.5. UTJECAJ OSTATAKA ANTIBIOTIKA NA KVALITETU MLJEKA I<br>MLIJEČNIH PROIZVODA.....                       | 16 |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.6. MOGUĆI TOKSIČNI UČINCI OSTATAKA ANTIBIOTIKA U HRANI NA<br>ČOVJEKA.....     | 18        |
| 2.6.1. Način djelovanja antibiotika i stvaranje otpornosti.....                 | 18        |
| 2.6.2. Antibiotička rezistencija.....   | 19        |
| 2.6.3. Utjecaj ostataka antibiotika na crijevnu mikrofloru ljudi.....           | 20        |
| 2.6.4. Mogućnost alergijske reakcije izazvane ostacima antibiotika u hrani..... | 22        |
| <b>3. ZAKLJUČAK.....</b>  | <b>23</b> |
| <b>4. POPIS LITERATURE.....</b>   | <b>24</b> |
| <b>5. PRILOG.....</b>   |           |

# 1. UVOD

Antibiotici imaju značajnu ulogu u liječenju i u prevenciji pojave različitih bolesti domaćih životinja. Naročito se koriste kod intenzivnog uzgoja peradi, svinja i goveda, kako bi se smanjio rizik obolijevanja životinja, a povećao njihov prirast. Primjena antibakterijskih lijekova na životinjama koje se koriste kao hrana može rezultirati ostacima tih lijekova u hrani, osobito ako se pri liječenju ne slijedi uputstvo za doziranje lijeka i trajanje terapije (Mulalić i sur., 2005).

U svrhu zaštite potrošača, nužno je utvrđivanje razine rezidua antibiotika u hrani animalnog podrijetla u čiju svrhu se koriste orijentacijske te potvrdne metode, a važno područje istraživanja odnosi se i na stabilnost rezidua antibakterijskih lijekova tijekom različitih metoda termičke obrade, gdje su vrijeme i temperatura glavni čimbenici koji utječu na njihovu stabilnost i konačnu koncentraciju u hrani.

Ostaci antibiotika u hrani predstavljaju rastuću javnozdravstvenu zabrinutost u pogledu pojave i širenja antibiotički rezistentnih mikroorganizama, mogućih alergijskih reakcija koje mogu izazvati u preosjetljivoj populaciji te utjecaja na sastav crijevne mikroflore ljudi.

Cilj ovog rada je dati pregled glavnih skupina antibiotika koji se koriste kao veterinarski lijekovi, a čije rezidue zaostaju u hrani i kroničnim unosom predstavljaju rizik po zdravlje potrošača. Također, objasnit će se mogući učinci termičkog procesiranja na pojedine skupine antibiotika te će se dati osvrt na neželjene i štetne učinke antibiotika na zdravstveni status čovjeka.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. ANTIBIOTICI

Antibiotici su specifični proizvodi metabolizma koji posjeduju visoku fiziološku aktivnost prema određenim grupama organizama kao što su virusi, bakterije, plijesni, protozoe ili zloćudni tumori, zadržavajući njihov rast ili uništavajući ih. Osim prirodnih, dobivenih mikrobnom biosintezom, postoje sintetski i polusintetski antibiotici odnosno kemijski spojevi nastali kemijskom modifikacijom, mikrobnom biosintezom proizvedenih antibiotika. Antibiotike proizvode mnogi organizmi kao što su bakterije, gljive, alge, lišaji, biljke i životinje, a industrijski se proizvode pomoću mikroorganizama te ih je u upotrebi oko 200 različitih vrsta (Makovec i sur., 2014). Antibiotici se razlikuju od općih bioloških toksina (fenoli, alkoholi, organske kiseline) s dvije osnovne značajke kao što su selektivno odnosno specifično djelovanje i visoka fiziološka aktivnost što znači da djeluju na osjetljive mikroorganizme u vrlo niskim koncentracijama ( $10^{-4}$  do  $10^{-6}$  g/mL) (Matošić i Šušković, 1999).

#### 2.1.1. Klasifikacija antibiotika

Antibiotici se mogu klasificirati na nekoliko načina. Možemo ih podijeliti prema mikroorganizmu koji ih proizvodi, načinu i spektru djelovanja, prekursoru iz kojeg se sintetiziraju, metaboličkom putu biosinteze te prema njihovoj kemijskoj strukturi. Upravo je podjela prema kemijskoj strukturi najčešći način klasificiranja antibiotika jer antibiotici iste ili slične kemijske strukture pokazuju sličnost i u antibakterijskoj aktivnosti, učinkovitosti, toksičnosti i alergijskom potencijalu (Matošić i Šušković, 1999).

Antibiotici koji se koriste u veterinarskoj medicini pripadaju sljedećim osnovnim skupinama (Makovec i sur., 2014):

- $\beta$ -laktamski antibiotici koji predstavljaju grupu najčešće primjenjivanih antibiotika u tretiranju bakterijskih infekcija životinja na farmama te obuhvaćaju dvije glavne skupine antibiotika: peniciline i cefalosporine;
- aminoglikozidni antibiotici koji se koriste u liječenju animalnih i humanih bolesti čiji su najpoznatiji predstavnici gentamicin, linkomicin, neomicin, streptomycin, kanamicin, amikacin i apramicin;



- makrolidni antibiotici su grupa antibiotika koja se u veterinarskoj praksi koristi za tretiranje respiratornih bolesti, a najpoznatiji predstavnici su acetilsovaleriltilvalozin, eritromicin, spiramicin, tilmikozin, tilozin i tulatromicin;
- peptidni antibiotici s najčešćom primjenom u liječenju upalnih procesa urinarnog trakta čiji su najpoznatiji predstavnici cink-bacitracin, efrotomicin i virginijamicin;
- tetraciklinski antibiotici su često primjenjivana grupa antibiotika zbog širokog spektra djelovanja, a najpoznatiji predstavnici su klortetraciklin, oksitetraciklin, tetraciklin i doksiciklin;
- kinoloni odnosno sintetički antimikrobni agensi širokog spektra djelovanja koji se upotrebljavaju u stočarstvu i za akvakulture, a najpoznatiji predstavnici su sarafloksacin i difloksacin.

### **2.1.2. Mehanizmi djelovanja antibiotika**

Poznavanje mehanizma djelovanja pojedine skupine antibiotika važno je kako bi se mogao izabrati najučinkovitiji antibiotik, ali i kako bi se mogla planirati pravilna terapija. S obzirom na intracelularna mjesta djelovanja u različitim mikroorganizmima, antibiotike možemo podijeliti u četiri glavne skupine (Makovec i sur., 2014; Bedenić, 2009):

#### **1) antibiotici inhibitori biosinteze stanične stijenke**

U njih ubrajamo peniciline, cefalosporine, cikloserine i bacitracine, a onemogućuju umrežavanje peptidoglikanskog sloja stanične stijenke bakterija što onda dovodi do lize stanice. Bakterije imaju čvrsti stanični zid koji održava njihov oblik i veličinu, te ih ujedno štiti od mehaničkih i osmotskih oštećenja. Stanični zid bakterija sadržava polimer koji se naziva peptidoglikan, a čvrstoća tog peptidoglikana postiže se poprečnim umrežavanjem polipeptidnih lanaca koje nastaje kao rezultat transpeptidacijske reakcije koju kataliziraju različiti enzimi. Ovi antibiotici se vežu na receptore koji se nalaze na citoplazmatskoj membrani bakterija te dolazi do inhibicije transpeptidacijske reakcije i do prestanka sinteze peptidoglikana.

## **2) antibiotici inhibitori biosinteze proteina**

To su antibiotici širokog spektra djelovanja kao što su tetraciklini, streptomycin i kloramfenikol koji onemogućuju proces očitavanja aminokiselina i sintezu peptida s mRNA u ribosomima. Ovi antibiotici djeluju tako što se vežu na receptore na podjedinici ribosoma i sprečavaju vezanje glasničke RNA (mRNA) na ribosom i stvaranje inicijacijskog kompleksa te time inhibiraju sintezu proteina.

## **3) antibiotici inhibitori funkcije DNA**

To su tzv. antitumorni antibiotici u koje ubrajamo aktinomycin, bleomicin i daunomicin koji onemogućuju sintezu nukleozida, replikaciju DNA i transkripciju mRNA na DNA kalupu. Ova skupina antibiotika može djelovati tako da degradira DNA i RNA molekule, ili se veže na enzime koji upravljaju replikacijom DNA, kao što je DNA polimeraza.

## **4) antibiotici koji se vežu na citoplazmatsku membranu**

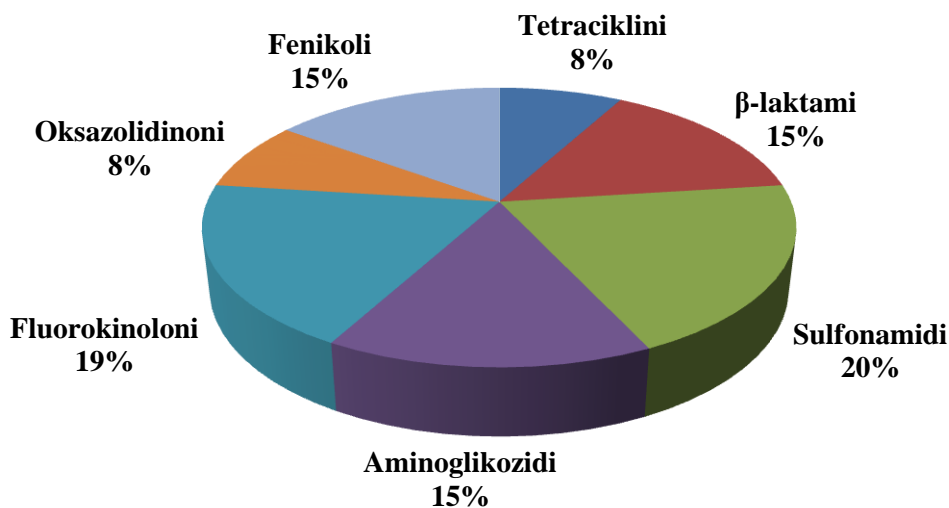
To su polipeptidni antibiotici u koje ubrajamo bacitracin, gramicidin, polimiksin te nisin koji dovode do disfunkcije citoplazmatske membrane i do nekontroliranog prolaza otopljenih molekula u stanicu i iz stanice. Citoplazma bakterija je okružena citoplazmatskom membranom koja služi kao selektivna permeabilna barijera, vrši aktivni transport i kontrolira unutarnji sastav bakterijske stanice. Ukoliko se poremeti funkcionalni integritet citoplazmatske membrane, makromolekule i ioni će izlaziti iz bakterijske stanice i uslijedit će oštećenje ili smrt bakterije.

### **2.1.3. Zakonski propisi koji se odnose na ostatke antibiotika u hrani**

Zbog snažnog utjecaja na sigurnost hrane namijenjene za prehranu ljudi kao i hrane za životinje, kontrola rezidua i kontaminanata u hrani unutar Europske Unije je strogo regulirana. S obzirom na sigurnost hrane, Uredba 178/2002 smatra se vrhovnim propisom o hrani unutar Europske Unije. Ovom Uredbom uspostavljeni su okviri zakona o hrani u EU, koji omogućuju slobodno kretanje hrane i hrane za životinje unutar EU, osiguravajući zdravlje ljudi, a istovremeno, stvarajući povjerenje među proizvođačima, potrošačima, i trgovačkim partnerima (Companyó i sur., 2009). Uredba (EZ) br 854/2004 Europskog parlamenta i Vijeća od 29. travnja 2004. godine, utvrđuje posebna pravila za organizaciju službenih kontrola proizvoda životinjskog podrijetla namijenjenih za prehranu ljudi (Companyó i sur., 2009). Uporaba veterinarskih lijekova u Europskoj uniji regulirana je pomoću Uredbe Vijeća (EEZ-a) br 2377/90 koja opisuje postupak za utvrđivanje maksimalne dopuštene količine ostataka (MDK) veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla, uključujući meso, ribu, mlijeko, jaja i med. Njezini dodatci se odnose na: tvari za koje su utvrđene MDK (Dodatak I.); tvari za koje se ne smatra nužnim uspostaviti MDK (Dodatak II); tvari s privremenim MDK (Dodatak III); i tvari koje nisu dopuštene za uporabu kod životinjskih vrsta koje služe za proizvodnju hrane (Dodatak IV) (McGlinchey i sur., 2008). U Europskoj Uniji kontrola ostataka veterinarskih lijekova provodi se u skladu s Uredbom Komisije 96/23/EC kojom su definirane mjere za monitoring određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Veterinarski ostaci su podijeljeni u dvije grupe u svrhu praćenja i definiranja propisa koji se odnose na njih. Prva skupina se odnosi na tvari koje imaju anabolički učinak te na nedopuštene tvari, a druga skupina se odnosi na veterinarske lijekove i kontaminante (McGlinchey i sur., 2008). Od 1. siječnja 2006. godine u skladu s Uredbom (EZ) br 1831/2003 zabranjena je uporaba antibiotika kao promotora rasta u hrani za životinje. Kako je od 01. srpnja 2013. godine Republika Hrvatska članica Europske Unije izravno su preuzete sve navedene Uredbe.

## 2.2. GLAVNE SKUPINE ANTIBIOTIKA KOJE SE KORISTE KAO VETERINARSKI LIJEKOVI I SVRHA NJIHOVE UPORABE

Na slici 1 prikazano je sedam glavnih skupina antibiotika te njihovi udjeli u korištenim veterinarskim lijekovima pri čemu najveći dio čine sulfonamidi i fluorokinoloni.



Slika 1. Distribucija najčešće korištenih skupina antibiotika koji se koriste kao veterinarski lijekovi, a detektirani su u hrani (Chàfer-Pericàs i sur., 2010).

Antibiotici se upotrebljavaju u mnogobrojne svrhe te se mogu koristiti kao (CSE, 2014):

1. Terapeutska sredstva: za liječenje bolesti. Zaražene životinje dobivaju terapiju antibioticima, što obično uključuje visoke doze antibiotika u relativno kratkom vremenskom periodu.
2. Profilaktička sredstva: za prevenciju bolesti. To uključuje davanje sub-terapijskih doza antibiotika životinjama putem hrane ili vode za piće, kada su znakovi i simptomi infekcije odsutni, ali postoji sumnja na nju. Antibiotici se primjenjuju periodično po nekoliko dana tijekom životnog ciklusa životinje.
3. Promotori rasta: Za povećanje stope rasta. Upotrebu promotora rasta karakterizira primjena vrlo niske doze antibiotika na svakodnevnoj bazi, uglavnom tijekom cijeloga života životinje i daje joj se putem hrane. Ovakva upotreba se razlikuje od terapeutske i profilaktičke upotrebe

antibiotika, koji se koriste u većim dozama i većinom se primjenjuju kroz vodu za piće. Za antibiotike koji se koriste kao promotori rasta je poznato da potiskuju crijevne bakterije ostavljajući više hranjivih tvari koje onda životinja apsorbira za veće dobivanje na težini. Istraživanje također pokazuje da je „korist“ od upotrebe promotora rasta više vidljiva u bolesnih životinja ili onih koje se drže u skućenim, nehigijenskim uvjetima.

### **2.2.1. Maksimalne dopuštene količine ostataka antibiotika u hrani animalnog podrijetla**

Maksimalna dopuštena količina (MDK) ostatka veterinarskog lijeka:

- označava najvišu koncentraciju ostatka nastalu kao posljedica uporabe veterinarskog lijeka (izražena u mg / kg ili µg / kg svježe sirovine) koja može biti prihvaćena od strane Europske unije kao legalno dopuštena ili prepoznata kao prihvatljiva u prehrambenom proizvodu dobivenom od životinje koja je dobila lijek (McGlinchey i sur., 2008).

Karenca je specifični vremenski period, nakon posljednje primjenjene doze veterinarskog lijeka, koji mora proteći prije nego životinja ili prehrambeni proizvodi od te životinje mogu ući u prehrambeni lanac. To je vrijeme potrebno da se lijek u organizmu životinje razgradi do dopuštene razine te da je meso takve životinje sigurno za konzumiranje. Da bi se odredila karenca, regulatorna tijela moraju upotrijebiti znanstveni proces koji uključuje utvrđivanje maksimalne dopuštene količine ostatka za taj lijek. U procesu uspostave MDK vrijednosti, znanstvenim studijama najprije se utvrđuje NOAEL (najviša doza koja ne uzrokuje štetne učinke). Ta doza se zatim dijeli s 'faktorom sigurnosti' (100 ili više) kako bi se odredio ADI (eng. *acceptable daily intake*) (prihvatljivi dnevni unos). ADI je ona količina ostatka koja se smatra sigurnom za pojedinca pri svakodnevnom unosu kroz cijeli život uzimajući u obzir niz čimbenika sigurnosti. MDK su određene tako da potrošači mogu uzimati sigurne količine životinjskih namirnica svaki dan bez prekoračenja ADI-a. Pritom se uzimaju u obzir brojni faktori kao što je količina pojedene hrane u danu te način na koji se antibiotik metabolizira i distribuira u različitim tkivima. MDK se onda utvrdi za svaki dio jestivog tkiva životinje i proizvoda kako bi se osiguralo da ADI nije prekoračen (Cerniglia i Kotarski, 2005). MDK vrijednosti za ostatke veterinarskih lijekova u hrani, prema zakonodavstvu Republike Hrvatske, propisane su Pravilnikom o najvišim dopuštenim količinama ostataka veterinarskih lijekova u hrani (Pravilnik, 2005). Lista ostataka farmakološki aktivnih supstancija koje se rabe u veterinarskoj medicini, a za koje je navedenim pravilnikom propisana MDK, nalazi se u Prilogu 1.

## 2.3. METODE ODREĐIVANJA OSTATAKA ANTIBIOTIKA U HRANI

Primjena bilo koje farmaceutski aktivne tvari na životinjama za proizvodnju hrane rezultira pojavom rezidua u hrani. Međutim, pojava ostataka može biti uzrokovana i drugim mehanizmima kao što su onečišćenje okoliša te prijenos sa životinje na životinju, a njihova asimilacija može predstavljati potencijalni zdravstveni rizik. Analitičke metode koje se koriste za detektiranje ostataka antibiotika u hrani mogu se klasificirati u dvije glavne skupine, a to su orijentacijske metode (eng. *screening methods*) i potvrdne metode (eng. *confirmatory methods*). Uzorci koji su „screening“ metodom određeni kao pozitivni ili sumnjivi na prisustvo antibiotika dalje se ispituju nekom od metoda za identifikaciju i kvantifikaciju rezidua (Chàfer-Pericàs i sur., 2010).

### 2.3.1. Orijetacijske metode

Mogu detektirati prisutnost analita ili skupine analita pri razini od interesa i obično osigurati semikvantitativne ili kvantitativne rezultate. Idealne karakteristike ovih metoda su niska stopa lažno pozitivnih uzoraka, jednostavnost korištenja, kratko vrijeme analize, dobra selektivnost i niska cijena. Pozitivni uzorci na antibiotik dalje se analiziraju kvantitativnom potvrdnom metodom koja omogućuje jasnu identifikaciju i kvantifikaciju analita. Ove metode možemo podijeliti u dvije glavne grupe prema mjestu odvijanja specifične reakcije na mikrobiološke testove i imunotestove te se također mogu uzeti u obzir komercijalni mikrobiološki testovi i biosenzori (Companyó i sur., 2009; Makovec i sur., 2014).

- Testovi inhibicije mikrobiološkog rasta

Testovi inhibicije mikrobiološkog rasta su kvalitativne ili semikvantitativne metode koje se temelje na određenoj reakciji između osjetljivog organizma (uglavnom bakterije) i antibiotika koji je prisutan u uzorku. Neke od prednosti ovih testova su njihova pouzdanost, ekonomičnost, jednostavnost, visoka propusnost te komercijalna dostupnost. Također, još jedna važna prednost je da mikrobiološki testovi mogu otkriti bilo koji antibiotik ili metabolite spojeva s antibakterijskim djelovanjem. S druge strane najvažniji nedostatak takvih testova je izostanak specifičnosti i dugo vrijeme inkubacije koje je u nekim slučajevima potrebno. Mogu se klasificirati u četiri grupe ovisno o njihovom načinu detekcije: konduktometrija, luminiscencija, UV / VIS i zona inhibicije rasta mikroorganizama.

- Komercijalni mikrobiološki testovi

Posljednjih godina, različiti komercijalni testovi su proizvedeni od strane nekoliko tvrtki pod raznim imenima kao što su BR test, Eclipse test, Copan test, Delvotest, Lumac i Arla. Takvi testovi mogu otkriti brojne antibiotike pri razinama koje su općenito vrlo blizu maksimalne dopuštene razine. To su kvalitetni testovi s poznatim pragom te ih mogu obavljati i neprofesionalci. Mogu se klasificirati kao testovi koji se izvode na farmi ili u laboratoriju, pri čemu se testovi koji se izvode u laboratoriju temelje na sustavu s mikrotitarskim pločicama s 96 jažica i visoko su automatizirani.

- Imunotestovi

Imunotestovi su semikvantitativne metode koje karakterizira visoka specifičnost, osjetljivost, jednostavnost i isplativost, što ih čini osobito korisnim u svakodnevnom radu. Temelje se na specifičnoj reakciji između antitijela i antigena. U imunotestove koji se primjenjuju za određivanje antibiotika ubrajamo ELISA test (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*), FIA test (eng. *fluoroimmunoassay*) i TRFIA test (eng. *time-resolved fluoroimmunoassay*) (Chàfer-Pericàs i sur., 2010).

ELISA test je najčešće korištena imunotehnika kao orijentacijska metoda, a temelji se na reakciji između antitijela i antigena. Omogućuje istovremenu obradu velikog broja uzoraka u kratkom vremenu, ali ju je teško provesti za multirezidualne uzorke (Companyó i sur., 2009). ELISA je imunoenzimski test visoke osjetljivosti i selektivnosti te je ovom tehnikom moguće određivanje vrlo niskih koncentracija analita (do ng/kg) uz vrlo jednostavnu, često rutinsku pripravu uzoraka. Postoji više različitih ELISA metoda, a tri su najčešća tipa: direktni, indirektni i tzv. „sendvič“ test, a sva se tri mogu temeljiti na kompetitivnoj ili inhibicijskoj tehnici. Kod kompetitivne tehnike antitijela specifična za analit imobilizirana su u jažicama. Za vezna mjesta na antitijelima natječu se analit iz uzorka i enzimom obilježeni analit-kompetitor. Ispiranjem se uklanja višak analita obilježenog enzimom, te se dodaje bezbojni supstrat koji pod djelovanjem enzima mijenja boju. Boja se mjeri spektrofotometrijski, a intenzitet boje je obrnuto proporcionalan koncentraciji analita u početnom uzorku (Biosafety GMO portal, 2016).

- Biosenzori

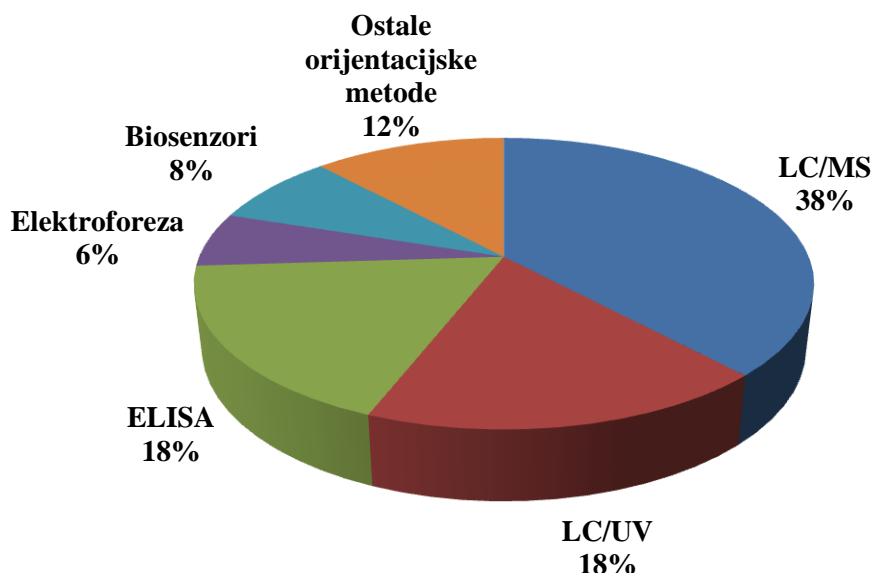
Biosenzori su integrirani uređaji koji su sposobni davati specifične kvantitativne ili semikvantitativne informacije koristeći pritom biološki element za prepoznavanje (Thévenot i sur., 1999). Mogu biti podijeljeni u nekoliko grupa, ovisno o staničnom signaliziranju ili o principu biološkog prepoznavanja. Prema signalu biosenzori se kategoriziraju kao elektrokemijski, piezoelektrični, termalni i optički koji se najčešće i koristi. Prema principu biološkog raspoznavanja, dijelimo ih na enzimске, imunokemijske, cjelostanične i DNA biosenzore (Eggins, 2002). Najčešći biološki elementi koji se koriste su enzimi koji su visoko selektivni prema određenom supstratu što ih čini pogodnim senzorskim materijalom i antitijela koji su po kemijskoj strukturi proteini koje imunološki sustav proizvodi kao odgovor na neku stranu supstancu u tijelu. Glavna razlika između enzima i antitijela je ta što se antitijela čvrsto vežu za antigene pri čemu dolazi do stvaranja kompleksa. Osjetljivost i selektivnost biosenzora ovisi o svojstvima elementa za prepoznavanje na kojeg se veže analit (Hock i sur., 2002).

### **2.3.2. Potvrđne metode**

Potvrđnim metodama se identitet lijeka tj. ostatak lijeka i njegova koncentracija potvrđuju s najvećom mogućom preciznošću i točnošću. Laboratoriji koji provode analizu velikog broja uzoraka obično prvo primijenjuju orijentacijske metode za pokrivanje skupina antibiotika. U slučaju dobivanja pozitivnih ili sumnjivih rezultata analize uzoraka na prisustvo antibiotika nekom od orijentacijskih metoda, mora se primijeniti neka od potvrđnih metoda koja pruža informacije koje daju nedvosmislenu identifikaciju i kvantifikaciju analita. Potvrđne metode za analizu ostataka antibiotika uglavnom se temelje na LC-MS (eng. *liquid chromatography-mass spectrometry*), ali i na GC-MS (eng. *gass chromatography-mass spectrometry*) te LC-MS/MS i GC-MS/MS (Companyó i sur., 2009).



Na slici 2 prikazana je distribucija analitičkih metoda koje se koriste za detekciju antibiotika u hrani i kao što se može vidjeti LC-MS je najzastupljenija metoda (38%), a slijede ju LC-UV (18%) te ELISA (18%) dok se razvoj ostalih orijentacijskih metoda i biosenzora konstantno povećava.



Slika 2. Distribucija analitičkih metoda koje se koriste za detekciju antibiotika u hrani (Chàfer-Pericàs i sur., 2010).

#### 2.4. UTJECAJ TERMIČKE OBRADJE NA OSTATKE ANTIBIOTIKA U HRANI

Primjena veterinarskih lijekova kod životinja može rezultirati kumuliranjem njihovih ostataka u hrani kao što su meso, mlijeko, jaja i dr. Zbog toga su informacije o stabilnosti ostataka lijekova u takvoj hrani važne pogotovo s toksikološkog stajališta obzirom na moguće neželjene i štetne učinke u okolišu (na pojedine populacije), kao i na zdravstveni status čovjeka. Gotovo svi jestivi proizvodi i nusproizvodi životinjskog podrijetla se ne konzumiraju sirovi, već zahtijevaju neku vrstu termičke obrade kao što je prženje, kuhanje, pečenje ili roštiljanje prije same konzumacije. Termička obrada može uzrokovati denaturaciju proteina, gubitak vode i masnoća te promjenu pH vrijednosti. Procesiranje također može dovesti i do promjene koncentracije kao i kemijske prirode rezidua prisutnih u određenoj hrani. Mnogi lijekovi su kemijski nestabilni u određenoj mjeri te mogu podleći degradaciji tijekom skladištenja ili tijekom termičke obrade koja je neophodna da bi dobili namirnicu spremnu za konzumiranje. Također, uvijek je važno uzeti u obzir mogućnost da tijekom obrade hrane

mogu nastati novi kemijski spojevi koji mogu biti toksičniji od ishodnih (Botsoglou i Fletouris, 2001).

#### **2.4.1. Tetraciklini**

Antibiotici tetraciklini se generalno podrazumijevaju relativno nestabilnim spojevima. Oksitetraciklin (OTC) ima ograničenu toplinsku stabilnost u vodenim otopinama i maksimalna stabilnost je primjećena pri pH 2, dok je optimalna stabilnost u rasponu od pH 1 do pH 3. Toplinska stabilnost OTC-a u tekućem mediju, koja je u istraživanju iskazana kao antimikrobna aktivnost koju OTC zadržava nakon zagrijavanja na 71°C, je puno manja nego kod drugih antibiotika kao što su npr. aminoglikozidi i β-laktami. Nedavna istraživanja termostabilnosti OTC-a u vodi i biljnom ulju su pokazala da je antibiotik nestabilan u vodi pri 100°C s poluživotom od 2 minute, ali da je stabilniji u biljnom ulju pri 180°C s poluživotom od 8 minuta. Međutim, uvjeti istraživanja ne mogu u potpunosti odgovarati stvarnim uvjetima kuhanja i postupaka obrade s obzirom da je relativno teško odrediti dužinu vremena i točno određenu temperaturu kojoj ostaci antibiotika mogu biti podvrgnuti tijekom različitih postupaka termičke obrade. U većini slučajeva, toplinska obrada pri 100°C 10-15 minuta je dovoljna da bi se uklonili ostaci oksitetraciklina i klortetraciklina do količina koje se ne mogu detektirati (Botsoglou i Fletouris, 2001). Za potpunu inaktivaciju ostataka tetraciklina u mesu i jajima potrebna je dugotrajna toplinska obrada pri 100°C tijekom 40 minuta (Moats, 1999). Pokazalo se da su se ostaci oksitetraciklina u životinjskim tkivima jetre i mišića smanjili za oko 35-94% tijekom termičke obrade koja je uključivala kuhanje, pečenje, pirjanje, prženje te obradu u mikrovalnoj pećnici i na roštilju (Heshmati, 2015). Neka istraživanja su pokazala da tijekom pečenja i obrade mesa na roštilju dolazi do redukcije antimikrobne aktivnosti OTC-a, ali se ona nikada ne smanjuje za više od 50% od početne aktivnosti. Isto tako ova se istraživanja mogu primjeniti i na ribu kod koje je primjećeno da prženje, pečenje i dimljenje ne mogu u potpunosti eliminirati visoke razine ostataka oksitetraciklina. Tetraciklini imaju tendenciju stvaranja kelata s dvovalentnim metalnim ionima. Kao posljedica njihovog afiniteta prema kalciju, tetraciklini se nakupljaju u kostima tretiranih životinja i premda ti kelati pokazuju relativnu stabilnost svejedno može doći do pojave ostataka tetraciklina u juhama i drugim jelima za čiju pripremu se koriste kosti (Botsoglou i Fletouris, 2001). Među svim metodama termičke obrade koje su proučavane, obrada u mikrovalnoj pećnici je najučinkovitija. Očito je da što je duže vrijeme termičke obrade, veći je gubitak antibiotika iz hrane. Tijekom termičke obrade, doksiciklin je identificiran kao najstabilniji, odnosno

oksitetraciklin kao najnestabilniji tetraciklin. Vrijeme potrebno da se uništi 90% početnog sadržaja tetraciklina je 23,9 minuta za termičku obradu u mikrovalnoj pećnici, 53,2 minute za kuhanje i 101,6 minuta za pečenje (Heshmati, 2015). U studiji koja je proučavala termičku stabilnost oksitetraciklina, tetraciklina i doksiciklina pri ultravisokim temperaturama ustanovljeno je da njihova degradacija slijedi kinetiku reakcije prvog reda, tj. brzina kojom će doći do degradacije ovisi o njihovoj koncentraciji. Dok bi sterilizacija, dakle izlaganje nižim temperaturama kroz duži vremenski period uništilo više od 98% početne koncentracije ostataka svih triju antibiotika. Sterilizacija pri visokim temperaturama, ali kroz kraći vremenski period bi ostavila nepromjenjene ostatke u rasponu od 50-90% (Hassani i sur., 2008). Dakle, može se reći da termička obrada osigurava sigurnosnu barijeru za proizvode koji sadrže ostatke tetraciklina (Heshmati, 2015).

#### **2.4.2. $\beta$ -laktami**

Provedena su brojna istraživanja o učincima toplinske obrade koja se primjenjuje u postupcima kao što su pasterizacija i evaporacija te u procesima sušenja na stabilnost ostataka penicilina G. Mikrobiološki testovi pokazuju da je penicilin G termički stabilan i da su temperatura i vrijeme koji se najčešće koriste u postupku pasterizacije koja se primjenjuje u proizvodnji mlijeka i mliječnih proizvoda, neadekvatni da bi inaktivirali antibiotik ako je on prisutan. Da bi se u potpunosti inaktivirao penicilin G u mlijeku pri temperaturi od 71°C, potrebno je ukupno 1705 minuta (28h i 25min), a pri temperaturi vrenja ili iznad, 60 minuta. Također, mlijeko dobiveno od tretiranih krava zadržava nešto antimikrobnog djelovanja čak i nakon konverzije u mlijeko u prahu (Botsoglou i Fletouris, 2001). Neki mikroorganizmi koji su pronađeni u sirovom mlijeku proizvode penicilinaze koje razgrađuju penicilin tijekom skladištenja i procesiranja mlijeka. Budući da termičkom obradom dolazi do inaktivacije penicilinaza, penicilin G je stabilniji u mlijeku koje je tretirano ultra visokom temperaturom nego u sirovom mlijeku. Utvrđeno je i da postupci kuhanja pokazuju slične učinke na inaktivaciju penicilina G. Ne inaktivira se u potpunosti ni tijekom zagrijavanja od 90 minuta pri 100°C u vodi, mlijeku i goveđem ekstraktu, osim u ekstraktu pilećeg mesa u kojem je manje stabilan i kao takav onda podložniji inaktivaciji. Kod termičke obrade pri 100°C 10 minuta ili duže, u svinjetini i mesu kunića primjećeno je značajno smanjenje mikrobiološke aktivnosti, a njen gubitak je obično proporcionalan jačini postupka termičke obrade (Rose i sur., 1997).

### **2.4.3. Makrolidi**

Do danas je pronađeno malo informacija o učincima procesiranja hrane na ostatke makrolida. Zna se da stabilnost nekih ostataka makrolida kao što je oleandomicin u velikoj mjeri ovisi o vrsti hrane u kojoj se nalazi pa tako zagrijavanjem mlijeka dolazi do značajnog gubitka antimikrobne aktivnosti oleandomicina. No unatoč tome, i oleandomicin i spiramicin su općenito pokazali značajnu termostabilnost pri zagrijavanju u vodi, mlijeku i mesu (Botsoglou i Fletouris, 2001). Također je utvrđeno da se ostaci tilosina smanjuju tijekom kuhanja mesa, a postotak smanjenja je u značajnoj i pozitivnoj korelaciji s vremenom kuhanja, težinom uzorka i srednjom temperaturom. Međutim, uvijek je potrebno uzeti u obzir i točnu dozu primjenjenog antibiotika kod životinja kao i vrijeme izlučivanja iz organizma (Heshmati, 2015).

### **2.4.4. Nitrofurani**

Istraživanja vezana za ostatke nitrofurana u hrani animalnog podrijetla kao glavni problem ističu stabilnost tih ostataka tijekom transporta uzoraka s mjesta prikupljanja do objekata za testiranje. Studija koja je proučavala ostatke nitrofurana u mišićnom tkivu svinja uočila je pad vrijednosti furazolidona i to sa 61 na 2 ppb nakon što su uzorci tkiva bili pohranjeni na 30°C tijekom 4 tjedna. Također, pokazalo se da se ostaci furaltadona i furazolidona u tkivima telića rapidno smanjuju netom nakon klanja. Dva sata nakon klanja, ostali su samo tragovi koji su detektirani u tkivima mišića i bubrega dok u jetri to više nije bilo moguće. Isto je primjećeno i za uzorke pilećeg mesa (Botsoglou i Fletouris, 2001). Još uvijek nije razjašnjen uzrok takvog drastičnog pada vrijednosti ostataka furazolidona netom nakon klanja, ali postoje naznake da bi to moglo biti zbog nekih tkivnih enzima koji ostaju aktivni dugo nakon smrti životinje i koji onda pretvaraju furazolidon u njegove metabolite (Steffenak i sur., 1991). U životinjama, nitrofurani brzo metaboliziraju u 3-amino-2-oksazolidinon, 3-amino-5-morfolin-linometil-2-oksazolidon, 1-aminohidantoin i semikarbazid. Ti metaboliti su stabilni i vezani za tkiva te se mogu osloboditi blagom kiselom hidrolizom i tako upotrijebiti kao markeri ostataka (Cooper i sur., 2007). Utvrđeno je da prženje, pečenje i termička obrada u mikrovalnoj pećnici i na roštilju ne utječu na metabolite nitrofurana koji se nalaze u mišićnom i jetrenom tkivu svinja i da ti metaboliti ostaju stabilni primjenom tradicionalnih postupaka termičkog procesiranja te kao takvi predstavljaju rizik za ljudsko zdravlje (Heshmati, 2015).

#### **2.4.5. Kinoloni**

Neke studije su pokazale da se ostaci oksolonične kiseline i flumekina u ribi mogu detektirati nakon što je takva riba termički obrađena kuhanjem ili pečenjem, dok se prije procesa termičke obrade nisu mogli detektirati što dovodi do zaključka da se kuhanjem omogućuje otpuštanje rezervnih ostataka kinolona koji se ne mogu detektirati u sirovj ribi. Ostaci oksolonične kiseline se najčešće mogu pronaći u ribljoj kralježnici i koži, dok ostaci flumekina prevladavaju uglavnom u kralježnici i vjeruje se da onda ti „spremnici“ služe kao skladišta iz kojih se lijekovi polagano otpuštaju u druga okolna tkiva (Botsoglou i Fletouris, 2001). Međutim, kuhanje ne predstavlja učinkovitu metodu u uklanjanju ostataka tih kinolona jer oba spoja pokazuju izuzetnu termičku stabilnost i tijekom procesa kuhanja ne dolazi do njihove degradacije (Heshmati, 2015). Isto je primjećeno i za ostatke enrofloksacina u pilećem mesu koji se ne smanjuju ni pod utjecajem različitih postupaka termičke obrade kao što su prženje, pečenje, kuhanje, obrada u mikrovalnoj pećnici te na roštilju što ukazuje da su kinoloni vrlo stabilni tijekom zagrijavanja te njihova prisutnost u hrani može ugroziti ljudsko zdravlje (Roca i sur., 2010).

#### **2.4.6. Amfenikoli**

Analize pokazuju da je kloramfenikol prilično termostabilan ukoliko je dodan u vodu ili mlijeko jer se čak i nakon dva sata ključanja ne primjećuje gubitak veći od 8% od njegove početne količine. Međutim, primjena mikrobioloških metoda pokazuje smanjenje njegove aktivnosti za oko 35% nakon zagrijavanja uzoraka mlijeka ili vode 30 minuta pri 100°C. Na stabilnost kloramfenikola također značajno utječu procesi kao što su emulgiranje, sušenje te kuhanje jer su za svaki od ovih postupaka primjećeni gubici od oko 50%. Koncentracija kloramfenikola se smanjila za oko 37 ppb u emulziji dobivenoj od mišićnog tkiva svinje i goveda koje je mljeveno pri 2-3°C. Primjećeno je i da kombinirani učinak sušenja i zagrijavanja dovodi do ubrzanog gubitka kloramfenikola kao i proces konzerviranja pri 122°C. S druge strane, meso govedine koja je bila tretirana kloramfenikolom nakon obrade na žaru ili prženja od 120 minuta, nije pokazalo značajnu mikrobiološku inaktivaciju kloramfenikola (Botsoglou i Fletouris, 2001).

#### **2.4.7. Sulfonamidi**

Sulfonamidi su primjer termostabilnih spojeva. Sulfametazin se pokazao kao stabilan u kipućoj vodi pri 100°C gdje mu vrijeme poluživota iznosi oko 2 sata, ali u jestivom ulju pri 180°C ili 260°C bilježe se gubici te mu vrijeme poluživota iznosi svega 5 minuta. U mlijeku je stabilan i nakon vrenja od 15 minuta. Također, zabilježen je mali ili gotovo nikakav učinak na antimikrobnu aktivnost sulfametazina u mesu tretiranih goveda pri njihovoj termičkoj obradi uobičajenim metodama priprema u kućanstvu, kao što je pečenje ili priprema na roštilju. Procesi kao što su vrenje, pečenje, prženje, kuhanje pod tlakom, obrada u mikrovalnoj pećnici te na roštilju nemaju značajan učinak na smanjenje koncentracije ostataka sulfametazina koji se nalaze u životinjskom tkivu. Za razliku od sulfametazina, procesi kao što su pečenje, prženje i dimljenje mogu izazvati smanjenje od oko 46,1% sulfadimetoksina i smanjenje od oko 54% ormetoprima iz sirove ribe (Botsoglou i Fletouris, 2001). Iz navedenog se može zaključiti da su različiti antibiotici različito osjetljivi na strukturnu razgradnju tijekom procesa zagrijavanja te da postoji mogućnost da dođe do strukturne razgradnje ostatka antibiotika tijekom toplinske obrade, a da se pritom njegovo antimikrobno djelovanje ne smanji značajno. Zbog toga je nesigurno oslanjati se isključivo na toplinsku obradu kako bi se uništili ostaci antibiotika u hrani upravo zbog te različite degradacije svakog pojedinog antibiotika koja može nastati tijekom zagrijavanja i mogućnosti formiranja eventualno toksičnih produkata (Hsieh i sur., 2011).

#### **2.5. UTJECAJ OSTATAKA ANTIBIOTIKA NA KVALITETU MLIJEKA I MLIJEČNIH PROIZVODA**

Zbog svojih prehrambenih i terapijskih svojstava, mlijeko i mliječni proizvodi su izuzetno važne i zastupljene namirnice u prehrani ljudi. Međutim, ako su prisutni, ostaci antibiotika bitno umanjuju njihovu kvalitetu. Zbog široke primjene u liječenju životinja, ostaci antibiotika su često prisutne tvari u mlijeku. Sirovo mlijeko koje sadrži ostatke antibiotika nije pogodno za ljudsku upotrebu niti za preradu u mliječne proizvode iz zdravstvenih razloga zbog toga što takvo mlijeko može izazvati preosjetljivost i probavne smetnje kod ljudi, ali i rezistentnost organizma na antibiotike (Swatantra i sur., 2014). U tehnološkom smislu, takvo mlijeko ima smanjene preradbene osobine, budući da se toplinskom obradom ostaci antibiotika ne mogu u potpunosti ukloniti iz mlijeka. Proizvodnja fermentiranih mliječnih proizvoda, vrhnja, maslaca i gotovo svih vrsta sireva nezamisliva je bez upotrebe mljekarskih

mikrobnih kultura koje uključuju bakterije mliječne kiseline, propionske bakterije, kvasce i plijesni. Te kulture se dodaju mlijeku prvenstveno radi stvaranja mliječne i propionske kiseline te alkohola i radi postizanja željene arome i konzistencije proizvoda. Međutim, ostaci antibiotika u mlijeku uzrokuju promjenu simbiotskih odnosa između sojeva bakterija zbog čega nastaje degeneracija sojeva ili se zaustavlja rast organizama. Na ostatke antibiotika posebno su osjetljivi sojevi iz sastava jogurtnih kultura *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* te kultura za proizvodnju acidofilnog mlijeka *Lactobacillus acidophilus* (Samaržija i Antunac, 2002). Prisutnost čak i malih ostataka antibiotika u mlijeku može stvoriti probleme u mliječnoj industriji kao što su (Swatantra i sur., 2014):

- neadekvatno sirenje mlijeka i nepravilno zrenje sira tijekom proizvodnje
- interakcija sa starter kulturama što onda rezultira gubicima u proizvodnji - ostaci antibiotika mogu uzrokovati djelomičnu ili potpunu inhibiciju starter kultura koje se koriste za fermentaciju što dovodi do smetnji u proizvodnji fermentiranih proizvoda poput jogurta i sira.
- poteškoće u validaciji određenih testova kontrole kvalitete

Tako se npr. koagulacija mlijeka, ovisno o koncentraciji ostataka antibiotika, produžuje za 1 do 3 sata ili posve izostaje dok se zrenje jogurta, proizvedenog od mlijeka koje sadrži 30 µg kloksacilina/ml produžuje za 15 minuta, a ukoliko sadrži 4 µg penicilina/ml produžuje se za 30 minuta u odnosu na prirodno mlijeko. Negativan učinak očituje se i u smanjenom ili potpunom nedostatku mliječne kiseline u određenim fermentacijama. Prisutnost ostataka antibiotika u mlijeku narušava sastav mikrobne mljekarske kulture koja je odgovorna za okus, miris i konzistenciju fermentiranih mlijeka. Važno je naglasiti da ukoliko su u mlijeku prisutni ostaci antibiotika, probiotički fermentirani proizvodi koji se dobiju iz takvog mlijeka imaju značajno smanjenu terapeutsku vrijednost. Ostaci antibiotika mogu biti prisutni i u pasteriziranom i u steriliziranom mlijeku, bez obzira na količinu mliječne masti, zbog toga što su neki antibiotici topivi u vodi, neki u mliječnoj masti, a određeni antibiotici vežu se na proteine (Samaržija i Antunac, 2002).

## **2.6. MOGUĆI TOKSIČNI UČINCI OSTATAKA ANTIBIOTIKA U HRANI NA ČOVJEKA**

Kao glavne učinke prisutnosti ostataka antibiotika u hrani na čovjeka ubrajaju se selekcija rezistentnih bakterija koja bi se mogla prenijeti na ljude kroz prehrambeni lanac te alergijske reakcije. Konzumiranje ostataka antibiotika u tragovima, putem hrane animalnog podrijetla, može imati posljedice na autohtonu crijevnu mikrofloru ljudi koja čini bitnu komponentu ljudske fiziologije. Naša crijevna mikroflora djeluje kao barijera protiv kolonizacije probavnog trakta patogenim bakterijama i ima važnu ulogu u probavi hrane. Dakle, unošenje antimikrobnih ostataka prisutnih u hrani može izazvati potencijalno štetne učinke na zdravlje ljudi (Shankar i sur, 2010).

### **2.6.1. Način djelovanja antibiotika i stvaranje otpornosti**

Da bi antibiotik djelovao na bakteriju moraju biti zadovoljena tri uvjeta:

- u bakterijskoj stanici mora postojati ciljno mjesto koje je osjetljivo na antibiotik
- antibiotik mora dospjeti do ciljnog mjesta u stanici bakterije u dovoljnoj količini
- antibiotik ne smije biti inaktiviran ili izmjenjen

Iako način stjecanja otpornosti varira među bakterijskim vrstama, otpornost se može stvoriti samo kroz nekoliko mehanizama:

- inaktivacijom antibiotika - izravna inaktivacija aktivne molekule antibiotika pomoću enzima koji je razgrade ili modificiraju
- modifikacijom ciljnog mjesta djelovanja antibiotika - promjena osjetljivosti na antibiotik modifikacijom ciljnog mjesta kako se ne bi mogao odgovarajuće vezati
- promjenom propusnosti transportnih pumpa za izlučivanje i integriteta vanjske membrane - smanjenje koncentracije antibiotika u stanici zbog efikasnijeg izlučivanja i nemogućnosti ulaska uslijed smanjene permeabilnosti membrane
- zaobilaznjem ciljnog mjesta - neke bakterije postanu otporne na specifične antibiotike zaobilaznjem inaktivacije određenog enzima tj. zaobilaznjem reakcije inhibirane antibiotikom



Otpornost može biti unutrašnje svojstvo same bakterije ili može biti stečena. Stečena bakterijska otpornost na antibiotik može nastati zbog mutacije staničnih gena, zbog prihvatanja stranih rezistentnih gena ili zbog kombinacije ovih dvaju mehanizama.

Tako postoje dva glavna načina stjecanja otpornosti na antibiotike:

- kroz mutacije na različitim mjestima u kromosomima
- putem horizontalnog prijenosa gena (stjecanje rezistentnih gena iz drugih mikroorganizama) (Džidić i sur., 2008).

### 2.6.2. Antibiotička rezistencija

Bakterije koje možemo pronaći u hrani predstavljaju vrlo raznoliku populaciju čije se izvorno stanište proteže na sve ekološke niše u kojima se proizvodi i rukuje hranom za ljudsku prehranu. Tu okolinu mogu činiti tlo, biljke, životinje, svježa voda, morski ekosustavi, ribe, divlje ptice i druge divlje životinje, kao i prehrambena industrija i restorani ili otpadne vode iz kanalizacija. U posljednjih nekoliko desetljeća, kampilobakterioze, salmoneloze i infekcije izazvane bakterijom *E. Coli* predstavljaju najčešći izvor zoonoza u EU koje se prenose sa životinja na ljude putem hrane. Međutim, zdravstveni problem koji je u začetcima, a koji predstavlja ozbiljnu prijetnju za javno zdravstvo u svijetu je otpornost tih bakterija na antibiotike (Kirbis i Krizman, 2015). Bakterije su u stanju evoluirati kako bi postale otporne na antibiotike. Povećanje njihove otpornosti na antibiotike pripisuje se kombinaciji mikrobnih svojstava, selektivnoj uporabi antibiotika te društvenim i tehnološkim promjenama koje doprinose prijenosu otpornih organizama. Na ishranu i terapijsko antibiotičko liječenje domaćih životinja troši se pola svjetske količine antibiotika što rezultira pojavom antibiotički rezistentnih bakterija u tim životinjama. Bakterije otporne na antibiotike na taj se način mogu pronaći u ljudskoj hrani, nastaniti čovjekov probavni sustav i prenijeti rezistentne gene na bakterije koje su prisutne u našem probavnom sustavu (Džidić i sur., 2008). Bakterije koje normalno žive u ljudskom debelom crijevu mogu među sobom prenositi rezistentne gene. Međutim, ova vrsta prijenosa postaje veliki problem kada se takve bezazlene bakterije koje čine našu mikrofloru pretvore u patogene. Jednom stečeni, rezistentni geni se ne mogu lako izgubiti jer postaju relativno stabilan dio genoma. Sve veći broj bakterija razvilo je otpornost na praktički sva dostupna terapijska sredstva pa je tako višestruka otpornost na antibiotike primjećena kod: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*,

*Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Xanthomonas* i *Burkholderia* (Džidić i sur., 2008). Antibiotici koji se upotrebljavaju za liječenje ljudi pripadaju istim farmakološkim razredima kao i oni koji se primjenjuju za liječenje životinja što dovodi do unakrsne rezistencije prema svim antimikrobnim lijekovima koji pripadaju istom razredu. Kao posljedica izlaganja jednom antibiotiku, utvrđeno je da bakterijske populacije mogu razviti i istovremenu otpornost na više međusobno nevezanih antibiotika koji čak ne pripadaju istim farmakološkim razredima (Devirgiliis i sur., 2011). Bakterije salmonеле su samo jedne od mnogih organizama koje uzrokuju bolesti, a koje pokazuju sve veću otpornost na antibiotike zbog njihovog kontinuiranog davanja životinjama koje služe za prehranu ljudi te se može reći da je takva kronična primjena antibiotika stvorila vrlo vjerojatno epidemiju neizlječive salmoneloze. I za druge patogene bakterije prisutne u hrani primjećen je trend razvoja rezistencije. Tako je 1990-ih godina manje od 10% bakterija iz roda *Staphylococcus* bilo otporno na penicilin dok ih je 2000. godine više od 90% postalo otporno na njega. Uvođenje fluorokinolona u upotrebu kod životinja koje služe za prehranu ljudi dovelo je do pojave serotipova salmonеле sa smanjenom osjetljivošću na fluorokinolone u ljudi što izaziva osobitu zabrinutost (Swatantra i sur., 2014). Nakon uvođenja fluorokinolona za korištenje kod peradi došlo je do dramatičnog porasta fluorokinolon rezistentnih bakterija *Campylobacter jejuni* izoliranim iz žive peradi, mesa peradi i iz zaraženih ljudi (Hakanen i sur., 2003). Nekadašnja upotreba avoparcina kao dodatka hrani za životinje za poticanje rasta je pridonijela stvaranju prenosivih rezistentnih gena na glikopeptide u komenzalnim enterokokima životinja. Enterokoki koji su rezistentni na glikopeptidne antibiotike mogu uzrokovati ozbiljne infekcije kod bolesnika s oslabljenim imunitetom. Multirezistentna *Escherichia coli* se razvila uporabom širokog spektra antimikrobnih sredstava i kod životinja i kod ljudi. Razvoj antimikrobne rezistencije u *E. coli* stvara problem zbog njezine sklonosti za širenjem rezistentnih antimikrobnih gena. Određeni sojevi *E. Coli* su patogeni koji se prenose hranom, ali većina ovih sojeva je trenutno još uvijek osjetljiva na antimikrobne lijekove (Swatantra i sur., 2014).

### **2.6.3. Utjecaj ostataka antibiotika na crijevnu mikrofloru ljudi**

Značaj mikrobiološke bioraznolikosti hrane za ljudsko zdravlje postaje očito kada se uzme u obzir doprinos koji osigurava stalno prisutnoj mikrobioti u ljudskim crijevima. Ljudski probavni trakt krije trilijune bakterija, od kojih su mnoge uspostavile cijeloživotne

simbiotske odnose sa svojim domaćinima. Crijevna mikrobiota omogućava domaćinu bolje metaboličke funkcije, zaštitu od patogena, razvoj imunskog sustava, razgradnju teško probavljivih polisaharida u biljnoj hrani pomoću enzima i druge još nedovoljno istražene regulatorne funkcije koje sve skupa igraju bitnu ulogu u ravnoteži između zdravlja i bolesti. Promjene u sastavu mikrobiote često su povezane sa zdravstvenim poremećajima, kao što je sindrom iritabilnog crijeva (IBS), Crohnova bolest, pretilost te gubitak tjelesne mase. Složena i heterogena mikroflora je odgovorna za fermentaciju šećera i mliječne kiseline u prehrambenim proizvodima. Ovino o vrsti prehrambenih proizvoda (mliječni proizvodi, meso, povrće i sl.) i sastavu vrsta mikrobiote, dolazi do proizvodnje specifične kombinacije molekula koje daju jedinstven okus, aromu i teksturu svakom proizvodu. Bakterijske populacije koje su odgovorne za fermentaciju hrane često su porijeklom iz okoliša, opstaju na životu u hrani koja je namjenjena za konzumaciju i na kraju dopijevaju u gastrointestinalni trakt ljudi gdje mogu uzajamno djelovati s bakterijama prisutnim u crijevu čovjeka. Takva interakcija između hrane i crijevne mikrobiote ističe važnost mikrobiološke kakvoće fermentirane hrane, ali i zato što gusto nastanjeni okoliš crijeva predstavlja idealno mjesto za genetsku razmjenu između bakterija. Selekcija i širenje antibiotički rezistentnih gena kod bakterija koje se prenose hranom je u posljednjih desetak godina izazvalo veliki interes, s obzirom na potencijalnu prenosivost čimbenika antibiotičke otpornosti na oportunističke patogene koji prirodno nastanjuju ljudska crijeva. Zanimljiv i pozitivan primjer interakcije između hrane i crijevne mikrobiote pruža studija koja je provedena u Japanaca čija prehrana uključuje redovitu konzumaciju sushija. Njihova crijevna mikrobiota je pokazala da oni zapravo zadržavaju crijevne bakterije koje su stekle genetski materijal iz morskih vrsta što im omogućava da probave komponente morske trave koja se koristi za zamatanje sushija (Devirgiliis i sur., 2011). S druge strane, neke studije čak povezuju izloženost niskim dozama ostataka antibiotika kroz dugi vremenski period putem hrane s epidemijom pretilosti što je potkrijepljeno činjenicom da takva kronična izloženost može poremetiti normalno stanje crijevne mikroflore što onda dovodi do povećane akumulacije energije (Riley i sur., 2013). Dokazi upućuju da mogućnost prehrane da oblikuje ljudsku crijevnu mikrobiotu, utječe na ravnotežu između *Bacteroidetes* i *Firmicutes*, dva glavna koljena gram-pozitivnih komenzalnih bakterija koje nastanjuju naš gastrointestinalni trakt. Važna metabolička razlika između tih dviju vrsta bakterija je u učinkovitosti iskorištenja energije iz neprobavljivih ugljikohidrata, stoga promjene u njihovom omjeru mogu dovesti do povećane akumulacije energije. Takva interakcija između hrane i crijevne mikrobiote naglašava važnost mikrobnog sastava hrane i s aspekta kvalitete, ali i sigurnosti. Kada sojevi koji su otporni na antibiotike iz

raznih fermentiranih proizvoda dopijaju u gastrointestinalni trakt ljudi putem hrane, povećava se rizik od prijenosa njihovih rezistentnih gena na ljudske patogene koji mogu biti prisutni u našoj crijevnoj mikrobioti (Devirgiliis i sur., 2011).

#### **2.6.4. Mogućnost alergijske reakcije izazvane ostacima antibiotika u hrani**

Osim razvoja bakterija otpornih na antibiotike i narušavanja homeostaze normalne crijevne mikroflore u ljudi, moguće nuspojave ostataka antibiotika iz hrane uključuju i alergijske/anafilaktičke reakcije. Alergija na antibiotik se javlja kada imunološki sustav napadne antibiotik, odnosno haptenski metabolit roditeljskog lijeka u kombinaciji s tkivnim prijenosnim proteinima. Haptenski metabolit antibiotika je kemijski reaktivni metabolit koji se veže na protein ili drugu makromolekulu koja onda postaje strana organizmu, te vezanjem na antigen specifični T-stanični receptor, dovodi do stimulacije T-limfocita i time do humoralnog i staničnog imunskog odgovora s posljedičnom upalom i kliničkim simptomima. Čak i male razine antibiotika mogu biti opasne za osjetljive ljude i izazvati akutne reakcije (Swatantra i sur., 2014; Turčić, 2006). Kao što svaka antimikrobna tvar koja se primjenjuje na čovjeka, u nekim slučajevima može izazvati alergijski odgovor, tako je teoretski razumno očekivati da će i ostatak takve tvari u hrani ili vezani haptenski potencijalno izazvati isto, pod uvjetom da je izloženost bila dovoljna. Postoje studije koje ukazuju na to da osjetljive osobe mogu doživjeti alergijske reakcije na ostatke antibiotika u hrani i to se posebice odnosi na ostatke penicilina u mlijeku i mesu. Ostaci penicilina u mlijeku uzrokuju najveću zabrinutost jer snažno inhibiraju bakterije mliječne kiseline i mogu izazvati anafilaktički šok kod izrazito osjetljivih pacijenata koji su već prije bili izloženi penicilinu (Swatantra i sur., 2014). Također, meso i drugi prehrambeni proizvodi dobiveni od životinja namjenjenih za prehranu ljudi kao i riba iz uzgoja mogu sadržavati ostatke mnogih antibiotika i antibakterijskih sredstava ili haptenskih makromolekula. Značajan udio opće populacije ima alergijsku osjetljivost na te tvari (7-10% na penicilin) ukoliko su im prethodno već bili izloženi. Štetni učinci ostataka antibiotika u hrani povezuju se s preosjetljivošću i slučajevima kronične urtikarije, međutim dokazani slučajevi alergije na takve tvari u hrani, dobiveni na temelju kliničkih i laboratorijskih dokaza imunoloških reakcija su vrlo rijetki. Iskustva su ipak pokazala da razvoj i jačina alergijskih reakcija na antibiotike ovisi o individualnom sastavu genoma i okolnostima izlaganja. U općoj populaciji smatra se da su alergije uzrokovane ostacima antibiotika u hrani vrlo rijetke (Dayan, 1993; Barton, 2000).

### 3. ZAKLJUČAK

U posljednje vrijeme sve je veća primjena antibiotika u uzgoju životinja namijenjenih za prehranu ljudi što onda utječe na prisutnost njihovih rezidua u hrani. Broj antibiotski rezistentnih bakterija se u posljednjem desetljeću povećao i ovaj problem je postao vrlo izražen i aktualan te danas u svijetu predstavlja problem od velikog značaja za javno zdravlje.

Izloženost malim količinama ostataka antibiotika kroz hranu može uzrokovati razvoj rezistentnih mikroorganizama, promjenu crijevne mikroflore kod ljudi i alergije, a brojne studije su usmjerene i na istraživanje utjecaja termičke obrade na ostatke antibiotika u hrani. Međutim, dosadašnje spoznaje nisu dovoljne i ne može se sa sigurnošću zaključiti na koje sve načine različiti ostaci antibiotika mogu utjecati na zdravlje ljudi zbog čega su potrebna daljnja istraživanja.

Zbog toga je kontrola prisutnosti antibiotika i njihovih tragova u proizvodima životinjskog podrijetla nužna te je važno pridržavati se sigurnosnih razina kako prehrambeni proizvodi animalnog podrijetla koji su namijenjeni za konzumaciju u ljudi ne bi sadržavali nedopuštene količine potencijalno opasnih tvari.

## 4. POPIS LITERATURE

- Barton, M. D. (2000) Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutr. Res. Rev.* **13**, 279-299.
- Bedenić, B. (2009) Antibakterijski lijekovi. U: Medicinska mikrobiologija (Uzunović-Kamberović, S., ured.), Štamparija Fojnica d.o.o, Zenica, str. 221-252.
- Biosafety GMO portal (2016) ELISA - imunoenzimski test, <<http://www.gmo.hr/cro/Dodatni-sadrzaji/Pojmovnik/ELISA-imunoenzimski-test>>. Pristupljeno 17. lipnja 2016.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J. (2001) Stability of residues during food processing. U: Drug Residues in Foods: Pharmacology: Food Safety, and Analysis (Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., ured.), CRC Press Taylor & Francis Group, str. 515-539.
- Cerniglia, C.E., Kotarski, S. (2005) Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal microflora. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **28**, 3-20.
- Chàfer-Pericàs, C., Maquieira, A., Puchades, R. (2010) Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *Trend. Anal. Chem.* **29**, 1038-1049.
- Companyó, R., Granados, M., Guiteras, J., Prat, M.D. (2009) Antibiotics in food: Legislation and validation of analytical methodologies. *Anal. Bioanal. Chem.* **395**, 877-891.
- Cooper, K. M., Mccracken, R. J., Buurman, M., Kennedy, D. G. (2007) Residues of nitrofurantoin antibiotic parent compounds and metabolites in eyes of broiler chickens. *Food Addit. Contam.* **25**, 548-556.

- CSE (2014) Antibiotics in chicken meat. CSE - Centre for Science and Environment, <[http://www.cseindia.org/userfiles/Antibiotics%20in%20Chicken\\_Lab%20Report\\_Final%2029%20July.pdf](http://www.cseindia.org/userfiles/Antibiotics%20in%20Chicken_Lab%20Report_Final%2029%20July.pdf)>. Pristupljeno 18. lipnja 2016.
- Dayan, A.D. (1993) Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man. *Veterinary Microbiology* **35**, 213-226.
- Devirgiliis, C., Barile, S., Perozzi, G. (2011) Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota. *Genes Nutr.* **6**, 275-284.
- Džidić, S., Šušković, J., Kos, B. (2008) Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technol. Biotechnol.* **46**, 11-21.
- Eggins, B. R. (2002) Nice E. Biosensors: book review of chemical sensors and biosensors, by Brian R. Eggins. *Bioessays* **24**, 977–978.
- Hakanen, A., Jousimies-Somer, H., Siitonen, A., Huovinen, P., Kotilainen, P. (2003) Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* isolates in travelers returning to Finland: Association of ciprofloxacin resistance to travel destination. *Emerg Infect Dis.* **9**, 267-270.
- Hassani, M., Lázaro, R., Pérez, C., Condón, S., Pagàn, R. (2008) Thermostability of oxytetracycline at ultrahigh temperatures. *J. Agr. Food Chem.* **56**, 2676-2680.
- Heshmati, A. (2015) Impact of cooking procedures on antibacterial drug residues in foods. *J. Food Qual. Hazards Control* **2**, 33-37.
- Hock, B., Seifert, M., Kramer, K. (2002) Engineering receptors and antibodies for biosensors. *Biosens. Bioelectron.* **17**, 239-249.

- Hsieh, M.K., Shyu, C.L., Liao, J.W., Franje, C.A., Huang, Y. J., Chang, S.K., Shih, P.Y., Chou, C.C. (2011) Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity. *Veterinárni Medicína* **56**, 274-285.
- Kirbis, A., Krizman, M. (2015) Spread of antibiotic resistant bacteria from food of animal origin to humans and vice versa. *Procedia Food Science* **5**, 148-151.
- Makovec, S., Kos, B., Šušković, J., Bilandžić, N. (2014) Tetraciklinski antibiotici i određivanje njihovih rezidua u hrani. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **9**, 7-16.
- Matošić, S., Šušković, J. (1999) Biotehnološka proizvodnja lijekova i specifičnih kemikalija (antibiotici, alkaloidi), Interna skripta, Zagreb.
- McGlinchey, T.A., Rafter, P.A., Regan, F., McMahon, G.P. (2008) A review of analytical methods for the determination of aminoglycoside and macrolide residues in food matrices. *Anal. Chim. Acta.* **624**, 1-15.
- Moats, W. A. (1999) The effect of processing on veterinary residues in foods. U: *Impact of Processing on Food Safety* (Jackson, L. S., Knize, M. G., Morgan, J. N., ured.), Springer US, New York, str. 233-241.
- Mulalić, J., Kozačinski, L., Benussi Skukan, A., Filipović, I., Runje, M. (2005) Metode utvrđivanja ostataka antibiotika i sulfonamida u mesu. *Meso* **8**, 37-42.
- Pravilnik o najvišim dopuštenim količinama ostataka veterinarskih lijekova u hrani (2005) *Narodne novine* **29**, Zagreb (NN 29/05).
- Riley, L. W., Raphael, E., Faerstein, E. (2013) Obesity in the United States – dysbiosis from exposure to low-dose antibiotics? *Frontiers in Public Health* **69**, 1-8.



- Roca, M., Castillo, M., Marti, P., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2010) Effect of heating on the stability of quinolones in milk. *J. Agr. Food Chem.* **58**, 5427-5431.
- Rose, M.D., Bygrave, J., Farrington W.H.H., Shearer, G. (1997) The effect of cooking on veterinary drug residues in food. Part 8. Benzylpenicillin. *Analyst.* **122**, 1095-1099.
- Samaržija, D., Antunac, N. (2002) Važnost dokazivanja prisutnosti antibiotičkih ostataka u mlijeku. *Mljekarstvo* **52**, 61-70.
- Shankar, B.P., Manjunatha Prabhu, B.H., Chandan, S., Ranjith, D., Shivakumar, V. (2010) Rapid methods for detection of veterinary drug residues in meat. *Veterinary World* **3**, 241-246.
- Steffenak, I., Hormazabal, V., Yndestad, M. (1991) Reservoir of quinolone residues in fish. *Food Addit. Contam.* **8**, 777-780.
- Swatantra, S., Sanjay, S., Neelam, T., Nitesh, K., Ritu, P. (2014) Antibiotic residues: A global challenge. *Pharma Science Monitor.* **5**, 184-197.
- Thévenot, D. R., Tóth, K., Durst, R. A., Wilson, G. S. (1999) Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Pure and Applied Chemistry* **71**, 2333-2348.
- Turčić, P. (2006) Imunološka reakcija na lijekove, <[https://bib.irb.hr/datoteka/369981.IMUNOLOKA\\_REAKCIJA\\_NA\\_LJEKOVE.doc](https://bib.irb.hr/datoteka/369981.IMUNOLOKA_REAKCIJA_NA_LJEKOVE.doc)> .> Pristupljeno 17. lipnja 2016.

## **5. PRILOG**

Tablica I.

LISTA OSTATAKA FARMAKOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCIJA KOJE SE RABE U VETERINARSKOJ MEDICINI A ZA KOJE JE PROPISANA NDK

| Farmakološki aktivnasupstancija           | Supstancija     | Vrsta životinje-hrana | NDK $\mu\text{g}/\text{kg}$ ili $\mu\text{g}/\text{l}$ | Ciljano tkivo                       | Opaska   |
|---|-----------------|-----------------------|--|-------------------------------------|--|
| <b>1. Anti infekcijske tvari</b>          |                 |                       |  |                                     |  |
| <b>1.1. Kemoterapeutici</b>               |                 |                       |  |                                     |  |
| <b>1.1.1. Sulfonamidi</b>                 |                 |                       |  |                                     |  |
| Sulfonamidi                               | izvorni spojevi | sve                   | 100  | mišić, jetra, bubreg, mast, mlijeko | Ukupna količina svih sulfonamida ne smije prijeći 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ili 100 $\mu\text{g}/\text{l}$ |
| <b>1.1.2. Derivati diamino pirimidina</b> |                 |                       |  |                                     |  |
| Bakiloprim                                | Bakiloprim      | goveda                | 10   | mast                                |  |
|   |                 |                       | 30   | mlijeko                             |  |
|   |                 |                       | 150  | bubreg                              |  |
|   |                 |                       | 300  | jetra                               |  |
|   |                 | svinje                | 40   | mast i koža                         |  |
|   |                 |                       | 50   | jetra, bubreg                       |  |
| Trimetoprim                               | Trimetoprim     | sve osim kopitara     | 50   | mišić, jetra, bubreg, mlijeko       | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju   |
|   |                 | kopitari              | 100  | mišić, mast, jetra, bubreg          |  |
| <b>1.2. Antibiotici</b>                   |                 |                       |  |                                     |  |
| <b>1.2.1. Penicilini</b>                  |                 |                       |  |                                     |  |
| Amoksicilin                               | Amoksicilin     | sve                   | 4  | mlijeko                             |  |
|   |                 |                       | 50   | mišić, jetra, bubreg, mast          |  |
| Ampicilin                                 | Ampicilin       | sve                   | 4  | mlijeko                             |  |

|                       |                       |                   |     |                                     |                              |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|-----|-------------------------------------|------------------------------|
|                       |                       |                   | 50  | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Benzilpenicilin       | Benzilpenicilin       | sve               | 4   | mlijeko                             |                              |
|                       |                       |                   | 50  | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Kloksacilin           | Kloksacilin           | sve               | 30  | mlijeko                             |                              |
|                       |                       |                   | 300 | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Dikloksacilin         | Dikloksacilin         | sve               | 30  | mlijeko                             |                              |
|                       |                       |                   | 300 | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Nafcilin              | Nafcilin              | goveda            | 30  | mlijeko                             | Uporaba samo<br>intramamarno |
|                       |                       |                   | 300 | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Oksacilin             | Oksacilin             | sve               | 30  | mlijeko                             |                              |
|                       |                       |                   | 300 | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Penetamat             | Penetamat             | goveda,<br>svinje | 4   | mlijeko                             | Mast i koža<br>kod svinja    |
|                       |                       |                   | 50  | mišić,<br>jetra,<br>bubreg,<br>mast |                              |
| Fenoksimetilpenicilin | Fenoksimetilpenicilin | svinje            | 25  | mišić,<br>jetra,<br>bubreg          |                              |

### 1.2.2.Cefalosporini

|            |            |        |     |         |                                    |
|------------|------------|--------|-----|---------|------------------------------------|
| Cefacetril | Cefacetril | goveda | 125 | mlijeko | Samo za<br>intramamarnu<br>uporabu |
|------------|------------|--------|-----|---------|------------------------------------|

|             |  |                          |      |                       |                           |
|-------------|--|--------------------------|------|-----------------------|---------------------------|
| Cefaleksin  | Cefaleksin                               | goveda                   | 100  | mlijeko               |                           |
|             |  |                          | 200  | mišić,<br>jetra, mast |                           |
|             |  |                          | 1000 | bubreg                |                           |
| Cefalon     | Cefalon                                  | goveda                   | 20   | mlijeko               |                           |
| Cefapirin   | Suma cefapirina i<br>desacetilcefapirina | goveda                   | 50   | mišić,<br>mast        |                           |
|             |  |                          | 60   | mlijeko               |                           |
|             |  |                          | 100  | bubreg                |                           |
| Cefazolin   | Cefazolin                                | goveda,<br>ovce,<br>koze | 50   | mlijeko               |                           |
| Cefoperazon | Cefoperazon                              | goveda                   | 50   | mlijeko               |                           |
| Cefkinom    | Cefkinom                                 | goveda,<br>svinje        | 20   | mlijeko               | Mast i koža kod<br>svinja |
|             |  |                          | 50   | mišić,<br>mast        |                           |
|             |  |                          | 100  | jetra                 |                           |
|             |  |                          | 200  | bubreg                |                           |

|           |   |                   |      |         |                           |
|-----------|---|-------------------|------|---------|---------------------------|
| Ceftiofur | Suma rezidua koje<br>zadržavaju<br>betalaktamsku<br>strukturu izražene<br>kao<br>desfuroilceftiofur | goveda,<br>svinje | 100  | mlijeko | Mast i koža<br>kod svinja |
|           |   |                   | 1000 | mišić   |                           |
|           |   |                   | 2000 | mast    |                           |
|           |   |                   | 6000 | bubreg  |                           |

### 1.2.3. Kinoloni

|                  |               |  |             |   |   |
|------------------|---------------|--|-------------|---|---|
| Danofloksacin    | Danofloksacin | sve osim<br>goveda,<br>ovaca,<br>koza,<br>peradi | 50          | mast                                    | Mast i koža<br>kod svinja i<br>peradi                         |
|                  |               |  | 100         | mišić                                   |   |
|                  |               |  | 200         | jetra,<br>bubreg                        |   |
|                  |               | goveda,<br>ovce,<br>koze,<br>perad               | 30          | mlijeko                                 | Ne koristi se<br>kod životinja<br>čija jaja se<br>konzumiraju |
|                  |               |  | 100         | mast                                    |   |
|                  |               |  | 200         | mišić                                   |   |
|                  |               |  | 400         | jetra,<br>bubreg                        |   |
|                  |               | Difloksacin                                      | Difloksacin | sve osim<br>goveda,<br>ovaca,<br>peradi | 100   |
| 300              | mišić         |  |             |   |   |
| 600              | bubreg        |  |             |   |   |
| 800              | jetra         |  |             |   |   |
| goveda,<br>ovce, | 100           |  |             | mast                                    |   |
|                  | 400           |  |             | mišić                                   |   |

|                            |                                       |  |          |   |  |       |  |
|----------------------------|---------------------------------------|--|----------|---|--|-------|--|
|                            |                                       | koze   | 800      | bubreg                                      |  |       |  |
|                            |                                       |  | 1400     | jetra                                       |  |       |  |
|                            |                                       | svinje   | 100      | mast i koža                                 |  |       |  |
|                            |                                       |  | 400      | mišić                                       |  |       |  |
|                            |                                       |  | 800      | jetra,<br>bubreg                            |  |       |  |
|                            |                                       | perad  | 300      | mišić                                       | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju |       |  |
|                            |                                       |  | 400      | mast i koža                                 |  |       |  |
|                            |                                       |  | 600      | bubreg                                      |  |       |  |
|                            |                                       |  | 1900     | jetra                                       |  |       |  |
| Enrofloksacin              | Suma enrofloksacina i ciprofloksacina | sve osim goveda, ovaca, koza, svinja, zečeva, peradi | 100      | mišić,mast                                  |  |       |  |
|                            |                                       |  | 200      | jetra,bubreg                                |  |       |  |
|                            |                                       | goveda, ovce, koze                                   | 100      | mlijeko, mišić, mast                        |  |       |  |
|                            |                                       |  | 200      | jetra                                       |  |       |  |
|                            |                                       |  | 300      | bubreg                                      |  |       |  |
|                            |                                       | svinje, zečevi                                       | 100      | mišić, mast                                 | Mast i koža kod svinja                               |       |  |
|                            |                                       |  | 200      | jetra                                       |  |       |  |
|                            |                                       |  | 300      | bubreg                                      |  |       |  |
|                            |                                       | perad  | 100      | mišić, mast i koža                          | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju |       |  |
|                            |                                       |  | 200      | jetra                                       |  |       |  |
|                            |                                       |  | 300      | bubreg                                      |  |       |  |
|                            |                                       | Flumekin   | Flumekin | sve osim goveda, ovaca, koza, svinja i riba | 200  | mišić |  |
|                            |                                       |  |          |   | 250  | mast  |  |
| 500                        | jetra                                 |  |          |   |  |       |  |
| 1000                       | bubreg                                |  |          |   |  |       |  |
| goveda, svinje, ovce, koze | 50                                    |  |          | mlijeko                                     | Mast i koža kod svinja                               |       |  |
|                            | 200                                   |  |          | mišić                                       |  |       |  |
|                            | 300                                   |  |          | mast  |  |       |  |
|                            | 500                                   |  |          | jetra                                       |  |       |  |
|                            | 1500                                  |  |          | bubreg                                      |  |       |  |
| perad                      | 250                                   |  |          | mast i koža                                 | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju |       |  |
|                            | 400                                   |  |          | mišić                                       |  |       |  |
|                            | 800                                   |  |          | jetra                                       |  |       |  |
|                            | 1000                                  |  |          | bubreg                                      |  |       |  |
| riba                       | 600                                   | mišić  |          |   |  |       |  |
|                            |                                       |  |          |   |  |       |  |
| Marbofloksacin             | Marbofloksacin                        | goveda, svinje                                       | 50       | mast  | Mast i koža kod svinja                               |       |  |
|                            |                                       |  | 75       | mlijeko                                     |  |       |  |

|                        |                     |                   |           |                         |   |
|------------------------|---------------------|-------------------|-----------|-------------------------|---|
|                        |                     |                   | 150       | mišić, jetra,<br>bubreg |   |
| Oksolinska<br>kiselina | Oksolinska kiselina | svinje,<br>pilići | 50        | mast i koža             | Ne koristi se<br>kod životinja<br>čija jaja se<br>konzumiraju |
|                        |                     |                   | 100       | mišić                   |   |
|                        |                     |                   | 150       | jetra,<br>bubreg        |   |
|                        |                     | riba              | 100       | mišić                   |   |
| Sarafloksacin          | Sarafloksacin       | perad             | 10        | mast i koža             |   |
|                        |                     |                   | 100       | jetra                   |   |
|                        |                     |                   | salmonide | 30                      | mišić   |

| <b>1.2.4. Makrolidi</b> |   |                    |       |  |   |
|-------------------------|---|--------------------|-------|--|---|
| Acetilsovaleritilozin   | Suma acetyl-<br>izovaleritilozina i<br>3-0-acetyltilozina | svinje             | 50    | mišić, mast<br>i<br>koža, jetra,<br>bubreg |   |
| Eritromicin             | Eritromicin A   | sve                | 40    | mlijeko                                    | Mast i koža<br>kod svinja i<br>peradi                         |
|                         |   |                    | 150   | jaja                                       |   |
|                         |   |                    | 200   | mišić,<br>mast, jetra,<br>bubreg           |   |
| Spiramicin              | Suma spiramicina i<br>neospiramicina                      | goveda             | 200   | mišić,<br>mlijeko                          |   |
|                         |   |                    | 300   | mast, jetra,<br>bubreg                     |   |
|                         |   | perad              | 200   | mišić                                      |   |
|                         |   |                    | 300   | mast i koža                                |   |
|                         | 400   |                    | jetra |  |   |
|                         | Spiramicin 1  | svinje             | 250   | mišić                                      |   |
|                         |   |                    | 1000  | bubreg                                     |   |
| 2000                    |   |                    | jetra |  |   |
| Tilmikozin              | Tilmikozin  | sve osim<br>peradi | 50    | mišić, mast,<br>mlijeko                    | Mast i koža<br>kod svinja                                     |
|                         |   |                    | 1000  | jetra, bubreg                              |   |
|                         |   | perad              | 75    | mišić, mast<br>i<br>koža                   | Ne koristi se<br>kod životinja<br>čija jaja se<br>konzumiraju |
|                         |   |                    | 250   | bubreg                                     |   |
|                         |   |                    | 1000  | jetra                                      |   |
| Tilozin                 | Tilozin A   | sve                | 50    | mlijeko                                    | Mast i koža<br>kod svinja i<br>peradi                         |
|                         |   |                    | 100   | mišić,<br>mast,<br>jetra,<br>bubreg        |   |

|              |   |                |      |               |   |
|--------------|---|----------------|------|---------------|---|
|              |   |                | 200  | jaja          |   |
| Tulatromicin | (2R, 3S,4R,5R, 8R, 10R,11R,12S, 13S, 14R)-2-etil-3,4,10,13 - tetrahidroksi-3,5,8,10,12,14-heksametil-11-[[[(3,4,6,-trideoksi-3-(dimetilamino)-β-D-ksilo-heksopiranozil]oksi]1-oksa-6-azaciklopentadekan-15-on izraženo kao tulatromicin ekvivalenti | goveda, svinje | 100  | mast          | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira<br>Mast i koža kod svinja |
|              |   |                | 3000 | jetra, bubreg |   |

### 1.2.5. Florfenikol i slični spojevi

|             |   |   |      |                                     |   |
|-------------|---|---|------|-------------------------------------|---|
| Florfenikol | Suma florfenikola i njegovih metabolita mjereni kao florfenikolamin | sve osim goveda, ovaca, koza, svinja i riba | 100  | mišić                               |   |
|             |   |   | 200  | mast                                |   |
|             |   |   | 300  | bubreg                              |   |
|             |   |   | 2000 | jetra                               |   |
|             |   | goveda, ovce, koze                          | 200  | mišić                               | Ne koristi se kod životinja čije se mlijeko konzumira                           |
|             |   |   | 300  | bubreg                              |   |
|             |   |   | 3000 | jetra                               |   |
|             |   | svinje                                      | 300  | mišić                               |   |
|             |   |   | 500  | mast i koža, bubreg                 |   |
|             |   |   | 2000 | jetra                               |   |
|             |   | perad                                       | 100  | mišić                               | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju                            |
|             |   |   | 200  | mast i koža                         |   |
|             |   |   | 750  | bubreg                              |   |
|             |   |   | 2500 | jetra                               |   |
|             |   | ribe  | 1000 | mišić                               |   |
| Tiamfenikol | Tiamfenikol   | goveda, pilići                              | 50   | mlijeko, mišić, mast, jetra, bubreg | Mast i koža kod pilića.<br>Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju |



| <b>1.2.6. Tetraciklini</b> |   |               |     |                    |   |
|----------------------------|---|---------------|-----|--------------------|---|
| Klortetraciklin            | Suma izvorne supstancije i njenog 4-epimera | sve           | 100 | mišić, mlijeko     |   |
|                            |   |               | 200 | jaja               |   |
|                            |   |               | 300 | jetra              |   |
|                            |   |               | 600 | bubreg             |   |
| Doksiciklin                | Doksiciklin                                 | goveda        | 100 | mišić              | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|                            |   |               | 300 | jetra              |   |
|                            |   |               | 600 | bubreg             |   |
|                            |   | svinje, perad | 100 | mišić              | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju  |
|                            |   |               | 300 | mast i koža, jetra |   |
|                            |   |               | 600 | bubreg             |   |
| Oksitetraciklin            | Suma izvorne supstancije i njenog 4-epimera | sve           | 100 | mišić, mlijeko     |   |
|                            |   |               | 200 | jaja               |   |
|                            |   |               | 300 | jetra              |   |
|                            |   |               | 600 | bubreg             |   |
| Tetraciklin                | Suma izvorne supstancije i njenog 4-epimera | sve           | 100 | mišić, mlijeko     |   |
|                            |   |               | 200 | jaja               |   |
|                            |   |               | 300 | jetra              |   |
|                            |   |               | 600 | bubreg             |   |

| <b>1.2.7. Ansamicin s naftalenskim prstenom</b> |   |                |       |                    |  |
|---|---|----------------|-------|--------------------|--|
| Rifaksimin                                      | Rifaksimin  | goveda         | 60    | mlijeko            |  |
| <b>1.2.8. Pleuromutilini</b>                    |   |                |       |                    |  |
| Tiamulin  | Suma metabolita koji mogu hidrolizirati u 8-a-hidroksimutilin | svinje, zečevi | 100   | mišić              |  |
|   |   |                | 500   | jetra              |  |
|   |   | pilići         | 100   | mišić, mast i koža |  |
|   |   |                | 1000  | jetra              |  |
|   | Tiamulin  |                | 1000  | jaja               |  |
|   | Suma metabolita koji mogu hidrolizirati u 8-a-hidroksimutilin | purani         | 100   | mišić, mast i koža |  |
| 300   |   |                | jetra |                    |  |

|                           |            |        |      |                      |                                 |
|---------------------------|------------|--------|------|----------------------|---------------------------------|
| Valnemulin                | Valnemulin | svinje | 50   | mišić                |                                 |
|                           |            |        | 100  | bubreg               |                                 |
|                           |            |        | 500  | jetra                |                                 |
| <b>1.2.9. Linkozamidi</b> |            |        |      |                      |                                 |
| Linkomicin                | Linkomicin | sve    | 50   | mast, jaja           | Mast i koža kod svinja i peradi |
|                           |            |        | 100  | mišić                |                                 |
|                           |            |        | 150  | mlijeko              |                                 |
|                           |            |        | 500  | jetra                |                                 |
|                           |            |        | 1500 | bubreg               |                                 |
| Pirlimicin                | Pirlimicin | goveda | 100  | mišić, mast, mlijeko |                                 |
|                           |            |        | 400  | bubreg               |                                 |
|                           |            |        | 1000 | jetra                |                                 |

|                                  |                                    |                                   |       |                          |  |
|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-------|--------------------------|--|
| <b>1.2.10. Aminoglikozidi</b>    |                                    |                                   |       |                          |  |
| Apramicin                        | Apramicin                          | goveda                            | 1000  | mišić, mast              | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira          |
|                                  |                                    |                                   | 10000 | jetra                    |  |
|                                  |                                    |                                   | 20000 | bubreg                   |  |
| Dihidrostreptomycin              | Dihidrostreptomycin                | goveda, svinje, ovce              | 200   | mlijeko                  | Mast i koža kod svinja   |
|                                  |                                    |                                   | 500   | mišić, mast, jetra       |  |
|                                  |                                    |                                   | 1000  | bubreg                   |  |
| Gentamicin                       | Suma gentamicina C1, C1a, C2 i C2a | goveda, svinje                    | 50    | mišić, mast              | Mast i koža kod svinja   |
|                                  |                                    |                                   | 100   | mlijeko                  |  |
|                                  |                                    |                                   | 200   | jetra                    |  |
|                                  |                                    |                                   | 750   | bubreg                   |  |
| Kanamicin                        | Kanamicin                          | zečevi, goveda, ovcsvinje, pilići | 100   | mišić, mast              | Mast i koža kod svinja   |
|                                  |                                    |                                   | 150   | mlijeko                  |  |
|                                  |                                    |                                   | 600   | jetra                    |  |
|                                  |                                    |                                   | 2500  | bubreg                   |  |
| Neomicin (uključivši framycetin) | Neomicin B                         | sve                               | 500   | mišić, mast, jetra, jaja | Mast i koža kod svinja i peradi                                |
|                                  |                                    |                                   | 1500  | mlijeko                  |  |
|                                  |                                    |                                   | 5000  | bubreg                   |  |
| Paromomicin                      | Paromomicin                        | sve                               | 500   | mišić                    | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko i jaja se konzumiraju |
|                                  |                                    |                                   | 1500  | jetra, bubreg            |  |

|               |               |                      |      |                    |   |
|---------------|---------------|----------------------|------|--------------------|---|
| Spektinomicin | Spektinomicin | sve osim ovaca       | 200  | mlijeko            | Mast i koža kod svinja i peradi. Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju |
|               |               |                      | 300  | mišić              |   |
|               |               |                      | 500  | mast               |   |
|               |               |                      | 1000 | jetra              |   |
|               |               |                      | 5000 | bubreg             |   |
|               |               | ovce                 | 200  | mlijeko            |   |
|               |               |                      | 300  | mišić              |   |
|               |               |                      | 500  | mast               |   |
|               |               |                      | 2000 | jetra              |   |
|               |               |                      | 5000 | bubreg             |   |
| Streptomicin  | Streptomicin  | goveda, ovce, svinje | 200  | mlijeko            | Mast i koža kod svinja  |
|               |               |                      | 500  | mišić, mast, jetra |   |
|               |               |                      | 1000 | bubreg             |   |

### 1.2.11. Ostali antibiotici

|            |            |        |    |         |  |
|------------|------------|--------|----|---------|--|
| Novobiocin | Novobiocin | goveda | 50 | mlijeko |  |
|------------|------------|--------|----|---------|--|

### 1.2.12. Polipeptidi

|            |                           |        |     |                            |  |
|------------|---------------------------|--------|-----|----------------------------|--|
| Bacitracin | Suma bacitracina A, B i C | goveda | 100 | mlijeko                    |  |
|            |                           | zečevi | 150 | mišić, mast, jetra, bubreg |  |

### 1.2.13. Inhibitori beta-laktamaze

|                      |                      |                |     |                |                        |
|----------------------|----------------------|----------------|-----|----------------|------------------------|
| Klavulanska kiselina | Klavulanska kiselina | goveda, svinje | 100 | mišić, mast    | Mast i koža kod svinja |
|                      |                      |                | 200 | jetra, mlijeko |                        |
|                      |                      |                | 400 | bubreg         |                        |

### 1.2.14. Polimiksini

|          |          |     |     |                    |                                 |
|----------|----------|-----|-----|--------------------|---------------------------------|
| Kolistin | Kolistin | sve | 50  | mlijeko            | Mast i koža kod svinja i peradi |
|          |          |     | 150 | mišić, mast, jetra |                                 |
|          |          |     | 200 | bubreg             |                                 |
|          |          |     | 300 | jaja               |                                 |

## 2. Antiparazitici

### 2.1. Tvari protiv endoparazita

#### 2.1.1. Salicilanilidi

|           |           |        |      |              |   |
|-----------|-----------|--------|------|--------------|---|
| Klosantel | Klosantel | goveda | 1000 | mišić, jetra | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|           |           |        | 3000 | mast, bubreg |   |
|           |           | ovce   | 1500 | mišić, jetra |   |
|           |           |        | 2000 | mast         |   |

|            |            |        |      |               |   |
|------------|------------|--------|------|---------------|---|
|            |            |        | 5000 | bubreg        |   |
| Rafoksamid | Rafoksamid | goveda | 10   | jetra         | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|            |            |        | 30   | mišić, mast   |   |
|            |            |        | 40   | bubreg        |   |
|            |            | ovce   | 100  | mišić         |   |
|            |            |        | 150  | jetra, bubreg |   |
|            |            |        | 250  | mast          |   |

|   |  |                             |      |                      |   |
|---|--|-----------------------------|------|----------------------|---|
| <b>2.1.2. Tetra-hidro-imidazoli</b>             |  |                             |      |                      |   |
| Levamisol                                       | Levamisol  | goveda, ovce, svinje, perad | 10   | mišić, mast, bubreg  | Mast i koža kod svinja i peradi. Ne koristi se kod životinja čije mlijeko i jaja se konzumiraju |
|   |  |                             | 100  | jetra                |   |
| <b>2.1.3. Benzimidazoli i pro-benzimidazoli</b> |  |                             |      |                      |   |
| Albendazol                                      | Suma albendazolsulfoksida, albendazolsulfona i albendazol-2-aminosulfona izraženo kao albendazol | goveda, ovce                | 100  | mišić, mast, mlijeko |   |
|   |  |                             | 500  | bubreg               |   |
|   |  |                             | 1000 | jetra                |   |
|   |  |                             |      |                      |   |
| Albendazol oksid                                | Suma albendazoloksida, albendazolsulfona i albendazol-2-aminosulfona izraženo kao albendazol     | goveda, ovce                | 100  | mišić, mast, mlijeko |   |
|   |  |                             | 500  | bubreg               |   |
|   |  |                             | 1000 | jetra                |   |

|             |  |                                |     |                     |                        |
|-------------|--|--------------------------------|-----|---------------------|------------------------|
| Febantel    | Suma ekstraktibilnih rezidua koje mogu oksidirati u oksfendazol sulfon | goveda, ovce                   | 10  | mlijeko             |                        |
|             |  | goveda, ovce, svinje, kopitari | 50  | mišić, mast, bubreg | Mast i koža kod svinja |
|             |  |                                | 500 | jetra               |                        |
| Fenbendazol | Suma   | goveda,                        | 10  | mlijeko             |                        |

|             |  |                                      |     |                     |                        |
|-------------|--|--------------------------------------|-----|---------------------|------------------------|
|             | ekstraktibilnih rezidua koje mogu oksidirati u oksfendazol sulfon          | ovce                                 |     |                     |                        |
|             |  | goveda, ovce, svinje, kopitari       | 50  | mišić, mast, bubreg | Mast i koža kod svinja |
|             |  |                                      | 500 | jetra               |                        |
| Flubendazol | Suma flubendazola i (2-amino 1H-benzimidazol-5-il) (4-fluorofenil) metanon | svinje, pilići, purani, divlje ptice | 50  | mišić, mast         | Mast i koža kod svinja |
|             |  |                                      | 300 | bubreg              |                        |
|             |  |                                      | 400 | jetra               |                        |
|             | Flubendazol  | pilići                               | 400 | jaja                |                        |

|                |  |                      |                                |                                     |   |
|----------------|--|----------------------|--------------------------------|-------------------------------------|---|
| Mebendazol     | Suma mebendazol metil 5-(1-hidroksi, 1-fenil) metil-1H-benzimidazol-2-il)karbamat i (2-amino-1H-benzimidazol-5-il) fenilmetanon, izraženo kao mebendazol ekvivalenti | ovce, koze, kopitari | 60                             | mišić, mast, bubreg                 | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|                |  |                      | 400                            | jetra                               |   |
| Netobimin      | Suma albendazol oksida, sulfona i albendazol 2-aminosulfona, izraženo kao albendazol   | goveda, ovce         | 100                            | mišić, mast, mlijeko                | Samo za oralnu uporabu                                |
|                |  |                      | 500                            | bubreg                              |   |
|                |  |                      | 1000                           | jetra                               |   |
| Oksfendazol    | Suma ekstraktibilnih rezidua koje mogu oksidirati u oksfendazol sulfon   | goveda, ovce         | 10                             | mlijeko                             | Mast i koža kod svinja                                |
|                |  |                      | goveda, ovce, svinje, kopitari | 50                                  |   |
|                |  |                      | 500                            | jetra                               |   |
| Oksibendazol   | Oksibendazol   | svinje               | 100                            | mišić, bubreg                       |   |
|                |  |                      | 200                            | jetra                               |   |
|                |  |                      | 500                            | mast i koža                         |   |
| Tiabendazol    | Suma tiabendazola i 5-hidroksitiabendazola   | goveda               | 100                            | mišić, mast, jetra, bubreg, mlijeko |   |
| Triklabendazol | Suma ekstraktibilnih rezidua koje mogu   | goveda, ovce         | 100                            | mišić, jetra, bubreg                | Ne koristi se kod                                     |

|  |                                 |  |  |  |                                     |
|--|---------------------------------|--|--|--|-------------------------------------|
|  | oksidirati u ketotriklabendazol |  |  |  | životinja čije mlijeko se konzumira |
|--|---------------------------------|--|--|--|-------------------------------------|

| <b>2.1.4. Fenol derivati uključivši salicilanide</b> |              |              |      |               |   |
|--|--------------|--------------|------|---------------|---|
| Nitroksinil  | Nitroksinil  | goveda, ovce | 20   | jetra         | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|  |              |              | 200  | mast          |   |
|  |              |              | 400  | mišić, bubreg |   |
| Oksiklozanid   | Oksiklozanid | goveda, ovce | 10   | mlijeko       | Ne koristi se kod ovaca čije mlijeko se konzumira     |
|  |              |              | 20   | mišić, mast   |   |
|  |              |              | 100  | bubreg        |   |
|  |              |              | 500  | jetra         |   |
| <b>2.1.5. Benzensulfonamidi</b>                      |              |              |      |               |   |
| Klorsulon  | Klorsulon    | goveda       | 35   | mišić         | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|  |              |              | 100  | jetra         |   |
|  |              |              | 200  | bubreg        |   |
| <b>2.1.6. Derivati piperazina</b>                    |              |              |      |               |   |
| Piperazin  | Piperazin    | svinje       | 400  | mišić         |   |
|  |              |              | 800  | mast i koža   |   |
|  |              |              | 1000 | bubreg        |   |
|  |              |              | 2000 | jetra         |   |
|  |              | pilići       | 2000 | jaja          |   |

| <b>2.2. Tvari protiv parazita</b> |          |                            |     |                      |                                  |
|-----------------------------------|----------|----------------------------|-----|----------------------|----------------------------------|
| <b>2.2.1. Organofosfati</b>       |          |                            |     |                      |                                  |
| Kumafos                           | Kumafos  | pčele                      | 100 | med                  |                                  |
| Diazinon                          | Diazinon | goveda, ovce, koze         | 20  | mlijeko              | Mast i koža kod svinja           |
|                                   |          |                            | 20  | mišić, jetra, bubreg |                                  |
|                                   |          | goveda, svinje, ovce, koze | 700 | mast                 |                                  |
| Foksim                            | Foksim   | ovce                       | 50  | mišić, bubreg        | Ne koristi se kod životinja čije |
|                                   |          |                            | 400 | mast                 |                                  |

|                           |   |        |     |                      |                     |
|---------------------------|---|--------|-----|----------------------|---------------------|
|                           |   |        |     |                      | mljeko se konzumira |
|                           |   | svinje | 20  | mišić, jetra, bubreg |                     |
|                           |   |        | 700 | mast i koža          |                     |
| <b>2.2.2. Formamidini</b> |   |        |     |                      |                     |
| Amitraz                   | Suma amitraza i svih metabolita koji sadrže 2,4-dimetilanilinski dio izraženo kao amitraz | goveda | 10  | mljeko               |                     |
|                           |   |        | 200 | mast, jetra, bubreg  |                     |
|                           |   | ovce   | 10  | mljeko               |                     |
|                           |   |        | 100 | jetra                |                     |
|                           |   |        | 200 | bubreg               |                     |
|                           |   |        | 400 | mast                 |                     |
|                           |   | svinje | 200 | jetra, bubreg        |                     |
|                           |   |        | 400 | mast i koža          |                     |
|                           |   | pčele  | 200 | med                  |                     |

|                          |   |        |     |                      |   |
|--------------------------|---|--------|-----|----------------------|---|
| <b>2.2.3. Piretroidi</b> |   |        |     |                      |   |
| Ciflutrin                | Ciflutrin (suma izomera)                  | goveda | 10  | mišić, jetra, bubreg | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|                          |   |        | 20  | mljeko               |   |
|                          |   |        | 50  | mast                 |   |
| Cihalotrin               | Cihalotrin (suma izomera)                 | goveda | 50  | mljeko, bubreg       |   |
|                          |   |        | 500 | mast                 |   |
| Deltametrin              | Deltametrin                               | goveda | 10  | mišić, jetra, bubreg |   |
|                          |   |        | 20  | mljeko               |   |
|                          |   |        | 50  | mast                 |   |
|                          |   | ovce   | 10  | mišić, jetra, bubreg |   |
|                          |   |        | 50  | mast                 |   |
|                          |   | riba   | 10  | mišić                |   |
| Fenvalerat               | Fenvalerat (suma RR, SS, RS i SR izomera) | goveda | 25  | mišić, jetra, bubreg |   |
|                          |   |        | 40  | mljeko               |   |
|                          |   |        | 250 | mast                 |   |
| Flumetrin                | Flumetrin (suma trans-Z izomera)          | goveda | 10  | mišić, bubreg        |   |
|                          |   |        | 20  | jetra                |   |
|                          |   |        | 30  | mljeko               |   |

|           |                          |        |     |                               |   |
|-----------|--------------------------|--------|-----|-------------------------------|---|
|           |                          |        | 150 | mast                          | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|           |                          | ovce   | 10  | mišić, bubreg                 |   |
|           |                          |        | 20  | jetra                         |   |
|           |                          |        | 150 | mast                          |   |
| Permetrin | Permetrin (suma izomera) | goveda | 50  | mišić, jetra, bubreg, mlijeko |   |
|           |                          |        | 500 | mast                          |   |

#### 2.2.4. Derivati acil uree

|               |               |           |      |       |  |
|---------------|---------------|-----------|------|-------|--|
| Diflubenzuron | Diflubenzuron | salmonide | 1000 | mišić |  |
| Teflubenzuron | Teflubenzuron | salmonide | 500  | mišić |  |

#### 2.2.5. Derivati pirimidina

|            |  |      |     |               |   |
|------------|--|------|-----|---------------|---|
| Diciklanil | Suma diciklanila i 2,4,6-triamino-pirimidin-5-karbonitrila | ovce | 150 | mast          | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|            |  |      | 200 | mišić         |   |
|            |  |      | 400 | jetra, bubreg |   |

#### 2.2.6. Derivati triazina

|           |           |      |     |                            |   |
|-----------|-----------|------|-----|----------------------------|---|
| Ciromazin | Ciromazin | ovce | 300 | mišić, mast, jetra, bubreg | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|-----------|-----------|------|-----|----------------------------|---|

### 2.3. Tvari protiv endo- i ektoparazita

#### 2.3.1. Avermektini

|            |                |        |    |               |   |
|------------|----------------|--------|----|---------------|---|
| Abamektin  | Avermektin B1a | goveda | 10 | mast          | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|            |                |        | 20 | jetra         |   |
|            |                | ovce   | 20 | mišić, bubreg |   |
|            |                |        | 25 | jetra         |   |
|            |                |        | 50 | mast          |   |
| Doramektin | Doramektin     | goveda | 10 | mišić         | Ne koristi  |



|              |                              |                                  |      |               |   |
|--------------|------------------------------|----------------------------------|------|---------------|---|
|              |                              |                                  | 30   | bubreg        | se kod životinja čije mlijeko se konzumira            |
|              |                              |                                  | 100  | jetra         |   |
|              |                              |                                  | 150  | mast          |   |
|              |                              | svinje, ovce, divljač (i sobovi) | 20   | mišić         | Mast i koža kod svinja                                |
|              |                              |                                  | 30   | bubreg        |   |
|              |                              |                                  | 50   | jetra         |   |
|              |                              |                                  | 100  | mast          |   |
| Emamektin    | Emamektin B1a                | salmonide                        | 100  | mišić         |   |
| Eprinomektin | Eprinomektin B1a             | goveda                           | 20   | mlijeko       |   |
|              |                              |                                  | 50   | mišić         |   |
|              |                              |                                  | 250  | mast          |   |
|              |                              |                                  | 300  | bubreg        |   |
|              |                              |                                  | 1500 | jetra         |   |
| Ivermektin   | 22,23-Dihidro-avermektin B1a | goveda                           | 40   | mast          | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
|              |                              |                                  | 100  | jetra         |   |
|              |                              | svinje, ovce, kopitari           | 15   | jetra         | Mast i koža kod svinja                                |
|              |                              |                                  | 20   | mast          |   |
|              |                              | divljač (i sobovi)               | 20   | mišić, bubreg |   |
|              |                              |                                  | 50   | jetra         |   |
|              |                              |                                  | 100  | mast          |   |
| Moksidektin  | Moksidektin                  | goveda                           | 40   | mlijeko       | Ne koristi se kod ovaca čije mlijeko se konzumira     |
|              |                              | goveda, ovce, kopitari           | 50   | mišić, bubreg |   |
|              |                              |                                  | 100  | jetra         |   |
|              |                              |                                  | 500  | mast          |   |

## 2.4. Tvari protiv protozoa

### 2.4.1. Derivati triazintriona

|             |                    |                |     |               |  |  |
|-------------|--------------------|----------------|-----|---------------|--|--|
| Toltrazuril | Toltrazuril sulfon | svinje         | 100 | mišić         |  |  |
|             |                    |                | 150 | mast i koža   |  |  |
|             |                    |                | 250 | bubreg        |  |  |
|             |                    |                | 500 | jetra         |  |  |
|             |                    | pilići, purani | 100 | mišić         |  | Ne koristi se kod životinja čija jaja se konzumiraju |
|             |                    |                | 200 | mast i koža   |  |  |
|             |                    |                | 400 | bubreg        |  |  |
| Halofuginon | Halofuginon        | goveda         | 10  | mišić         | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko |  |
|             |                    |                | 25  | mast          |  |  |
|             |                    |                | 30  | jetra, bubreg |  |  |

|                           |           |        |      |               |              |
|---------------------------|-----------|--------|------|---------------|--------------|
|                           |           |        |      |               | se konzumira |
| <b>2.4.3. Karbanilidi</b> |           |        |      |               |              |
| Imidokarb                 | Imidokarb | goveda | 50   | mast, mlijeko |              |
|                           |           |        | 300  | mišić         |              |
|                           |           |        | 1500 | bubreg        |              |
|                           |           |        | 2000 | jetra         |              |

|  |                            |                  |      |                                   |  |
|--|----------------------------|------------------|------|-----------------------------------|--|
| <b>3. Tvari koje djeluju na živčani sustav</b>             |                            |                  |      |                                   |  |
| <b>3.1. Tvari koje djeluju na centralni živčani sustav</b> |                            |                  |      |                                   |  |
| <b>3.1.1. Butirofenonska sredstva za umirenje</b>          |                            |                  |      |                                   |  |
| Azaperon   | Suma azaperona i azaperola | svinje           | 100  | mišić, mast i koža, jetra, bubreg |  |
| <b>3.2. Tvari koje djeluju na autonomni živčani sustav</b> |                            |                  |      |                                   |  |
| <b>3.2.1. Anti adrenergici</b>                             |                            |                  |      |                                   |  |
| Karazolol  | Karazolol                  | goveda           | 1    | mlijeko                           |  |
|  |                            |                  | 5    | mišić, mast                       |  |
|  |                            |                  | 15   | jetra, bubreg                     |  |
|  |                            | svinje           | 5    | mišić, mast i koža                |  |
|  |                            |                  | 25   | jetra, bubreg                     |  |
| <b>3.2.2. Beta 2 simpatomimetske tvari</b>                 |                            |                  |      |                                   |  |
| Klenbuterol hidroklorid                                    | Klenbuterol                | goveda           | 0.05 | mlijeko                           |  |
|  |                            |                  | 0.1  | mišić                             |  |
|  |                            |                  | 0.5  | jetra, bubreg                     |  |
|  |                            | kopitari         | 0.1  | mišić                             |  |
|  |                            |                  | 0.5  | jetra, bubreg                     |  |
| <b>4. Protuupalne tvari</b>                                |                            |                  |      |                                   |  |
| <b>4.1. Nesteroidne protuupalne tvari</b>                  |                            |                  |      |                                   |  |
| <b>4.1.1. Derivati arilpropionske kiseline</b>             |                            |                  |      |                                   |  |
| Karprofen  | Karprofen                  | goveda, kopitari | 500  | mišić                             | Ne koristi se kod goveda čije mlijeko se konzumira |
|  |                            |                  | 1000 | mast, jetra, bubreg               |  |
| Vedaprofen   | Vedaprofen                 | kopitari         | 20   | mast                              |  |
|  |                            |                  | 50   | mišić                             |  |

|                                 |                      |                |                     |                |    |
|---------------------------------|----------------------|----------------|---------------------|----------------|----|
|                                 |                      |                | 100                 | jetra          |    |
|                                 |                      |                | 1000                | bubreg         |    |
| <b>4.1.2. Derivati fenamata</b> |                      |                |                     |                |    |
| Fluniksin                       | Fluniksin            | goveda         | 20                  | mišić          |    |
|                                 |                      |                | 30                  | mast           |    |
|                                 |                      |                | 100                 | bubreg         |    |
|                                 |                      |                | 300                 | jetra          |    |
|                                 |                      | svinje         | 10                  | mast i koža    |    |
|                                 |                      |                | 30                  | bubreg         |    |
|                                 |                      |                | 50                  | mišić          |    |
|                                 |                      |                | 200                 | jetra          |    |
|                                 |                      | kopitari       | 10                  | mišić          |    |
|                                 |                      |                | 20                  | mast           |    |
|                                 |                      |                | 100                 | jetra          |    |
|                                 |                      |                | 200                 | bubreg         |    |
|                                 |                      |                | 5-hidroksifluniksin | goveda         | 40 |
| Tolfenamska kiselina            | Tolfenamska kiselina | goveda, svinje | 50                  | mišić, mlijeko |    |
|                                 |                      |                | 100                 | bubreg         |    |
|                                 |                      |                | 400                 | jetra          |    |

|                                 |            |                          |    |               |  |
|---------------------------------|------------|--------------------------|----|---------------|--|
| <b>4.1.4. Derivati oksikama</b> |            |                          |    |               |  |
| Meloksikam                      | Meloksikam | goveda, svinje, kopitari | 15 | mlijeko       |  |
|                                 |            |                          | 20 | mišić         |  |
|                                 |            |                          | 65 | jetra, bubreg |  |

|                             |                  |                          |      |                            |   |
|-----------------------------|------------------|--------------------------|------|----------------------------|---|
| <b>5. Kortikoidi</b>        |                  |                          |      |                            |   |
| <b>5.1. Glukokortikoidi</b> |                  |                          |      |                            |   |
| Betametazon                 | Betametazon      | goveda, svinje           | 0.3  | mlijeko                    |   |
|                             |                  |                          | 0.75 | mišić, bubreg              |   |
|                             |                  |                          | 2    | jetra                      |   |
| Deksametazon                | Deksametazon     | goveda, svinje, kopitari | 0.3  | mlijeko                    |   |
|                             |                  |                          | 0.75 | mišić, bubreg              |   |
|                             |                  |                          | 2    | jetra                      |   |
| Metilprednizolon            | Metilprednizolon | goveda                   | 10   | mišić, mast, jetra, bubreg | Ne koristi se kod životinja čije mlijeko se konzumira |
| Prednizolon                 | Prednizolon      | goveda                   | 4    | mišić, mast                |   |
|                             |                  |                          | 6    | mlijeko                    |   |
|                             |                  |                          | 10   | jetra, bubreg              |   |

| 6. Tvari koje djeluju na reproduktivni sustav |                  |                  |      |                            |  |
|---|------------------|------------------|------|----------------------------|--|
| 6.1. Progestageni                             |                  |                  |      |                            |  |
| Altrenogest                                   | Altrenogest      | svinje, kopitari | 3    | mast, jetra, bubreg        | Mast i koža kod svinja                   |
| Flugeston acetat                              | Flugeston acetat | koze, ovce       | 0.5  | mišić, mast, jetra, bubreg | Samo za terapijsku i zootehničku uporabu |
|   |                  |                  | 1    | mlijeko                    |  |
| Klormadinon                                   | Klormadinon      | goveda           | 2    | jetra                      | Samo za zootehničku uporabu              |
|   |                  |                  | 2.5  | mlijeko                    |  |
|   |                  |                  | 4    | mast                       |  |
| Norgestomet                                   | Norgestomet      | goveda           | 0.15 | mlijeko                    | Samo za terapijsku i zootehničku uporabu |
|   |                  |                  | 0.5  | mišić, mast, jetra, bubreg |  |

Tablica II.

LISTA FARMAKOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCIJA KOJE SU ZABRANJENE U VETERINARSKOJ MEDICINI I ZA KOJE NIJE PROPISANA NDK.

| Supstancija   |
|---|
| Vučja stopa i pripravci ( <i>Aristolochia spp</i> ) |
| Kloramfenikol                                       |
| Kloroform   |
| Klorpromazin  |
| Kolhicin  |
| Dapson  |
| Dimetridazol  |
| Metronidazol  |
| Nitrofurani uključujući furazolidon                 |
| Ronidazol   |

Tablica III.

HORMONI I PRIPRAVCI S HORMONSKIM DJELOVANJEM

| Supstancija       | µg/kg | Vrsta životinje - hrana |
|-------------------|-------|-------------------------|
| Dietilstilbestrol | < GO  | sve                     |

|                            |                   |     |
|----------------------------|-------------------|-----|
| Heksestrol                 | < GO              | sve |
| Dienestrol                 | < GO              | sve |
| Medroksiprogesteron acetat | < GO              | sve |
| Metil testosteron          | < GO              | sve |
| 19-nortestosteron          | < GO              | sve |
| Tapazol                    | < GO              | sve |
| Trenbolon                  | < GO              | sve |
| Zeranol                    | < GO              | sve |
| Progesteron                | Prirodne količine | sve |
| Testosteron                | Prirodne količine | sve |
| Estradiol                  | Prirodne količine | sve |

Napomena: <GO znači manje od granice određivanja

Tablica IV.

**NAJMANJE POTREBNE GRANICE ODREĐIVANJA ANALITIČKIH METODA (NPGO)**

| <b>Supstancija i/ili metabolit</b>   | <b>Namirnica</b>                                | <b>MPGO µg/kg</b> |
|--|---|-------------------|
| Kloramfenikol  | meso, jaja, mlijeko, proizvodi akvakulture, med | 0.3               |
| Medroksiprogesteron acetat   | svinjska bubrežna mast                          | 1.0               |
| Metaboliti nitrofurana:<br>- furazolidon<br>- furaltadon<br>- nitrofurantoin<br>- nitrofurazon | meso peradi, proizvodi akvakulture              | 1.0               |