

UDK 636.03.034

**Izvorni znanstveni članak**  
**Original scientific paper****UČESTALOST POJAVE ANTIBIOTIKA I  
DRUGIH ANTIBAKTERIJSKIH TVARI U MLIJEKU  
ISPORUČENOM ZA TRŽIŠTE****Nataša Pintiћ, Ana Dakić, F. Poljak, Danijela Stručić,  
Vesna Tomše-Đuranec, Tatjana Jelen, V. Pintiћ****Sažetak**

Obavljeno je istraživanje učestalosti pojave antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku isporučenom za tržište. Ispitivanja su obavljena u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka Hrvatskog stočarskog centra tijekom sedmomjesečnoga razdoblja na ukupno 107.840 uzoraka, odnosno na 15.405 uzoraka u prosjeku mjesečno koji su uzimani na sabirnim mjestima iz rashladnih uređaja. Cilj je bio ukazati na učestalost pojave antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku, te na neophodnost primjene sveukupnoga menadžmenta kakvoće u kontekstu sprječavanja pojave antibiotika u svježem mlijeku s farmi s obzirom na važnost koju zauzimaju mlijeko i mliječni proizvodi u prehrani ljudi. Za njihovo određivanje u mlijeku korišten je standardni difuzni test (Delvotest MCS, proizvođača DSM Food Specialties, The Netherlands), osjetljiv na antibakterijske tvari kao što su antibiotici, sulfa- ostaci i ostale tvari npr. dezinficijensi, deterdženti itd. Uzorci u kojima je registrirana prisutnost rezidua upućeni su na brzi test koji za manje od sedam minuta otkriva širok raspon beta laktamskih ostataka (Delvo-X-PRESS® βL-II test, istoga proizvođača). Na temelju dobivenih i obrađenih rezultata utvrđeno je da postoje značajne razlike ( $P < 0,05$  i  $P < 0,01$ ) između ukupno registriranih rezidua, antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku. Dobiveni rezultati pokazuju relativno jaku pozitivnu linearnu korelacijsku vezu između prosječnoga broja uzoraka po mjesecima pozitivnih na antibiotike, u odnosu na broj registriranih uzoraka s ukupnim reziduima ( $r = 0,77$ ). Na osnovi rezultata provedenoga istraživanja ne može se izvesti zaključak o većoj ili manjoj prisutnosti antibiotika u kravljemu mlijeku ovisno o

**Nataša Pintiћ, dr. vet. med., mr. sc. Ana Dakić, Franjo Poljak, dipl. ing., Danijela Stručić, dipl. ing., Vesna Tomše-Đuranec, dr. vet. med., HSC, Središnji laboratorij za kontrolu mlijeka, Poljana Križevačka 185, 48260 Križevci, dr. sc. Tatjana Jelen, dr. sc. Vinko Pintiћ, Visoko gospodarsko učilište Križevci, Milislava Demerca 1, 48260 Križevci.**

godišnjem dobu; jesen, zima, rano proljeće, a zadaću sveukupnoga menadžmenta kakvoće treba i nadalje temeljiti na sprječavanju pojave antibiotika u svježem mlijeku dovezenog s farmi.

Ključne riječi: kravlje mlijeko, antibakterijske tvari, rezidui, menadžment kakvoće

### *Uvod*

Mlijeko je zbog svoga sastava vrlo važna namirnica u prehrani ljudi. Važnost mlijeka kao prehrambene namirnice nije samo u sadržaju bjelancevina, masti i šećera, već i u izuzetnom bogatstvu kalcija, ostalih mineralnih tvari, vitamina i drugih sastojaka.

Higijenski ispravno mlijeko, a time i mliječni proizvodi, mogu se dobiti samo od zdravih životinja. Takvo mlijeko ne smije sadržavati patogene bakterije niti rezidue štetnih tvari za ljudsko zdravlje kao što su antibiotici i druge antibakterijske tvari koje se upotrebljavaju u veterinarskoj praksi, zatim rezidue pesticida, dezinficijensa odnosno štetnih tvari koje mogu također nepovoljno djelovati na ljudsko zdravlje.

Primjena antibiotika u stočarstvu dovela je do suzbijanja mnogih zaraznih bolesti a njihova upotreba stvorila je mnoge probleme u mljekarstvu. Iako antibiotici mogu dospjeti u mlijeko nakon terapije raznih oboljenja, ali i kao posljedica dodatka stočnoj hrani, vrijeme izlučivanja antibiotika varira kod pojedinih životinja, što pak ovisi o vrsti lijeka, unesenim količinama, načinu aplikacije, dobi životinje, zdravstvenom stanju, stadiju laktacije te individualnim osobinama životinja. Antibiotici se najčešće izlučuju iz organizma mlijekom nakon intramamarnе aplikacije lijeka kod liječenja upale mliječne žlijezde. Takvo mlijeko se nekoliko dana nakon terapije ne smije upotrebljavati u prehrani ljudi pa ako se proizvođači ne pridržavaju tog pravila velike količine rezidua antibiotika mogu dospjeti do potrošača. Koliko je ozbiljan problem pojave rezidua antibiotika u mlijeku govori i činjenica da antibiotici u mlijeku ostaju aktivni i poslije termičke obrade mlijeka. Kako se aktivnost antibiotika održava i nakon prerade mlijeka, oni se mogu dokazati u siru, maslacu i mlijeku u prahu. Kao posljedica toga nastaju velike ekonomske štete u mljekarstvu.

Zbog široke primjene antibiotika u stočarstvu, a prvenstveno u cilju zaštite zdravlja potrošača te sprječavanja šteta u mljekarskoj industriji, neophodna je kontrola mlijeka na antibiotike ali i na druge antibakterijske tvari. Postoje

brojne metode i testovi različite osjetljivosti za dokazivanje antibiotika u mlijeku.

Vrlo često se koriste kemijsko-fizikalne metode, zatim mikrobiološki receptor testovi, mikrobiološki inhibitorni testovi, imuno receptor testovi i enzimski testovi. Problematika rezidua u namirnicama u R Hrvatskoj obuhvaćena je nizom zakona i pravilnika kao što je "Zakon o veterinarstvu" (NN 70/97, 105/01, 172/03), "Zakon o hrani" (NN 117/03), "Pravilnik o praćenju rezidua određenih tvari u živim životinjama i u proizvodima životinjskog podrijetla" (NN 106/99), "Pravilnik o mjerama za monitoring određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla" (NN 118/04), "Pravilnik o količinama pesticida, toksina, mikotoksina, metala i histamina i sličnih namirnica koje se mogu nalaziti u namirnicama, te drugim uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti namirnica i predmeta opće uporabe" (NN 46/94, 45/98, 11/01, 39/03).

Zbog svega navedenog, kod primjene antibiotika u liječenju domaćih životinja veliku odgovornost imaju veterinari i vlasnici životinja.

### *Pregled literature*

Prisutnost rezidua antibiotika u mlijeku nije dozvoljena iznad određenih granica koje su propisane veterinarskim propisima. Prema "Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka", sirovo mlijeko ne smije sadržavati rezidue iznad dozvoljenih količina koje imaju farmakološko ili hormonalno djelovanje, niti antibiotike, pesticide te druge štetne tvari koje mijenjaju organoleptička svojstva mlijeka (NN 102/00). U Hrvatskoj se nastoji redovito kontrolirati onečišćivače u namirnicama s ciljem zaštite zdravlja potrošača u okvirima nacionalnog monitoring programa. Tako je donesen i "Pravilnik o mjerama za monitoring određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla" (NN 118/04). Antibiotici u mlijeku pripadaju skupini tvari čiji se rezidui određuju u okviru monitoringa. Svrha kontrole rezidua je otkrivanje razloga zaostajanja rezidua u hrani životinjskog podrijetla na farmama, u mljekarama, u klaonicama itd. Ispitivanje rezidua provodi se u ovlaštenim i referentnim laboratorijima.

Rezidue antibiotika u mlijeku uvjetuju rezistentnost ljudskog organizma, preosjetljivost na određeni antibiotik i velike ekonomske gubitke u mljekarskoj industriji (Samaržija i Antunac, 2002.). Otprilike pet do deset posto stanovništva je preosjetljivo na penicilin ili druge antibiotike i pati od

alergijskih reakcija (osip, astma, anafilaktički šok) pri koncentracijama manjim od 1ppb penicilina (Jones, 1999).

Rezidui antibiotika koji se nalaze u sirovom mlijeku inhibiraju aktivnost mikrobnih kultura za sireve, maslac, jogurt i sl. Stoga je od bitne važnosti izbjeći prisutnost takvih rezidua u mlijeku kako bi se smanjili problemi u proizvodnji kao i spriječilo njihovo širenje do potrošača (Molina i sur., 2003.).

Rezidui također mogu biti odgovorni za razvoj rezistentnih sojeva bakterija, stoga je otkrivanje beta laktamskih antibiotika postao prioritet za mliječnu industriju (Popelka i sur., 2004.).

Zbog široke, ali ujedno i opravdane primjene antibiotika pri liječenju životinja antibiotici, odnosno rezidui antibiotika najčešće su prisutne inhibitorne tvari u mlijeku (Samaržija i Antunac, 2002.).

Kao najčešća bolest muznih životinja u suvremenoj intenzivnoj proizvodnji mlijeka javlja se upala mliječne žlijezde. Lijekovi se primjenjuju muznim kravama intramamarno, parenteralno, intravaginalno ili dodatkom stočnoj hrani, a razmatranja pokazuju da je nepravilna upotreba lijekova u kontroli mastitisa glavni izvor pojave rezidua u mlijeku (Popelka i sur., 2004.).

Veličina stada ne predstavlja faktor rizika pojave rezidua antibiotika, a s obzirom na skupine lijekova koje se koriste za liječenje bolesti muznih krava, penicilin - vrste lijekova (-laktami) i cephaprin se s gledišta proizvođača najčešće navode (80%), i smatraju se najčešćim uzrokom pojave rezidua antibiotika (Erskine, 1996.).

Prema FDA (Food and Drug Administration) šest beta laktama se široko primjenjuje u liječenju bolesti muznih životinja i najčešće će uzrokovati pojavu rezidua antibiotika u mlijeku ako se krivo primjenjuju, a to su penicillin, ceftiofur, cloxacillin, cephalirin, amoxicillin i ampicillin (Nichols, 1992).

Mikrobiološki inhibitorni testovi imaju široku primjenu pri ispitivanju inhibitornih tvari u mlijeku, brzi su, jednostavni za primjenu i ekonomični. Neki od tih testova koriste bakterijske sojeve za test mikroorganizama kao što je *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, npr. Brilliant Reduction Test (BRT) i Delvotest, i koriste se u laboratorijima za kontrolu kakvoće diljem Europske Unije (Molina i sur., 2003.).

Cilj istraživanja bio je ukazati na učestalost pojave i važnost ispitivanja mlijeka na prisutnost rezidua antibiotika i ostalih antibakterijskih tvari u mlijeku, sa svrhom otkrivanja razloga njihovog zaostajanja u hrani životinjskog podrijetla na farmama, u mljekarama i u klaonicama.

Istovremeno, s obzirom na važnost koju zauzimaju mlijeko i mliječni proizvodi u prehrani ljudi, važno je ukazati na neophodnost primjene sveukupnog menadžmenta kakvoće u kontekstu sprječavanja pojave rezidua antibiotika u sirovom mlijeku s farmi.

### *Materijal i metode rada*

Istraživanje utvrđivanja rezidua antibiotika i drugih antibakterijskih tvari provedeno je na uzorcima kravljeg mlijeka individualnih proizvođača, s različitim poljoprivrednih gospodarstava i sabirališta diljem Republike Hrvatske tijekom sedam mjeseci, tj. od 01. listopada 2004. do 01. svibnja 2005. godine. Analize uzoraka mlijeka obavljene su u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka (SLKM) Hrvatskog stočarskog centra.

Kako u legislativi Republike Hrvatske nema propisane službene metode za dokazivanje rezidua antibiotika u mlijeku, laboratorijska analitika vezana za ispitivanje uzoraka na prisustnost rezidua antibiotika i antibakterijskih tvari u SLKM, odvija se prema normama: AOAC Official Method 982,18/1983 Beta – lactam antibiotics in fluid milk products, Qualitative colour reaction tests – Delvotest; IDF Bulletin No. 258/1991 Detection and confirmation of inhibitors in milk and milk products.

Uzorci su analizirani u SLKM, laboratoriju akreditiranom za utvrđivanje rezidua antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku prema naprijed navedenim normama. Četiri puta mjesečno vršeno je uzorkovanje na sabirnim mjestima iz rashladnih uređaja i ispitivanje uzoraka na prisutnost rezidua antibiotika i drugih antibakterijskih tvari. Uzorci su analizirani istog dana kada su dostavljeni u SLKM, a za krave od kojih je potjecalo to mlijeko nismo imali nikakvih saznanja da li su tretirane antibioticima.

Upotrijebljen je uređaj PIPETNA STANICA proizvođača BARTEC, a za određivanje ukupnih rezidua u mlijeku korišten je Delvotest® MCS, standardni difuzioni test (BIOTEST) osjetljiv na antibakterijske tvari kao što su antibiotici, sulfa- ostaci i ostale tvari npr. dezinficijensi, deterdženti itd. (proizvođača DSM Food Specialties, The Netherlands).

Uzorci u kojima se utvrdila prisutnost ukupnih rezidua Delvotestom MCS upućeni su na brzi test, kvalitativno-kompetitivni receptor-enzim test koji za manje od sedam minuta otkriva širok raspon beta laktamskih ostataka (Delvo-X-PRESS®  $\beta$ L-II istoga proizvođača).

Za sve uzorke korišten je Delvotest MCS, mikrobiološki inhibitor test a uzorci su ispitivani prema uputama proizvođača. Mikrotitarske pločice, u kojima se nalazi čvrsti agar koji sadrži određeni broj spora testnog mikro-

organizma *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, obojen ljubičastim indikatorom (bromocresol purple), inkubirane su 2,5 sata na temperaturi od  $64 \pm 0.5$  °C nakon čega indikator mijenja boju i uzorci se prema toj promjeni vizualno ocjenjuju kao negativni, sumnjivi ili pozitivni na prisutnost antibiotika.

Pozitivna reakcija ukazuje na prisutnost bilo koje tvari koja sprječava rast test mikroorganizama. Test se smatra pozitivnim kada se pojavi u potpunosti ljubičasta boja. Promjena boje u žutoljubičastu smatra se sumnjivom na prisutnost antibiotika a promjena boje u žutu ukazuje na odsutnost antibiotika, odnosno reakcija se procjenjuje kao negativna.

Delvo X-PRESS je imuno receptorski test koji specifično otkriva  $\beta$ -laktamske antibiotike i svaka pozitivna reakcija na brzom testu ukazuje na prisutnost  $\beta$ -laktamskih antibiotika.

Na tablicama 1 i 2 prikazana je razina detekcije  $\beta$ -laktama Delvo-X-PRESS testa i razina detekcije antibiotika i antibakterijskih tvari Delvotesta MCS (prema proizvođaču).

Tablica 1. - RAZINA DETEKCIJE BETA LAKTAMA DELVO-X-PRESS TESTA (PROIZVOĐAČ DSM FOOD SPECIALTIES)

Table 1. - DELVO-X-PRESS DETECTION LEVEL OF BETA LACTAM RESIDUES (BY PRODUCER DSM FOOD SPECIALTIES)

Beta laktami	Nivo detekcije ng/ml (ppb)
Beta lactam	Detection level ng/ml (ppb)
Penicillin G	2-4
Ceftiofur	4-8
Cephapirin	4-8
Ampicillin	4-8
Amoxicillin	4-8
Cloxacillin	30-60

Tablica 2. - RAZINA DETEKCIJE ANTIBIOTIKA I ANTIBAKTERIJSKIH TVARI DELVOTESTA MCS (PROIZVOĐAČ DSM FOOD SPECIALTIES)

Table 2. - DELVOTEST MCS DETECTION LEVEL OF ANTIBIOTICS AND ANTIBACTERIAL SUBSTANCES (BY PRODUCER DSM FOOD SPECIALTIES)

Antibiotici i antibakterijske tvari	Nivo detekcije ng/ml
Antibiotics and antibacterial substances	Detection level ng/ml
Penicillin G	2-4
Sulphadiazine	25-100

Rezultati istraživanja obrađeni su pomoću statističkog programa "Statgraphics Plus, Statisticalgraphics system by Statistical Graphics plus Corporation, STSC Inc. Version 5.1."

### Rezultati i rasprava

Tijekom sedam mjeseci analizirano je ukupno 107.840 uzoraka mlijeka, ili u prosjeku 15.405 uzoraka mjesečno, na prisutnost rezidua antibiotika i drugih antibakterijskih tvari. Rezultati pregleda uzoraka na ukupne antibakterijske tvari (ukupni rezidui i antibiotici), te osnovna statistička obilježja temeljena na prosječnim vrijednostima, prikazani su na tablici 3.

Tablica 3. - BROJ ISPITANIH UZORAKA TE REGISTRIRANI UKUPNI REZIDUI I ANTIBIOTICI PO MJESECIMA

Table 3. - NUMBER OF EXAMINED SAMPLES AND DETERMINED TOTAL RESIDUES AND ANTIBIOTICS PER MONTHS

R.br. Ordinal no	Mjeseci Months	Broj uzoraka No of samples	Ukupni rezidui Total residues	Antibiotici Antibiotics	Ostali rezidui Other residues
1.	X	15.773	215	160	55
2.	XI	14.006	239	187	52
3.	XII	15.450	273	198	75
4.	I	16.219	290	187	103
5.	II	16.040	314	176	138
6.	III	15.840	321	195	126
7.	IV	14.512	187	116	71
	Σ	107.840	1.839	1.219	620
	Min	14.006	187	116	52
Statistička obilježja	Max	16.219	321	198	138
Statistical marks	$\bar{x}$	15.405,71	262,71 <sup>aA</sup>	174,14 <sup>bB</sup>	88,57 <sup>cC</sup>
	s	831,379	50,74	28,63	34,18
	$s\bar{x}$	313,73	19,15	10,80	12,90
	C	5,40	19,31	16,44	38,59

a, b .... P=0,05 / Razlike srednjih vrijednosti s istim slovom nisu statistički značajne

A, B ..... P=0,01 / Differences between mean values with the same letters are not significant

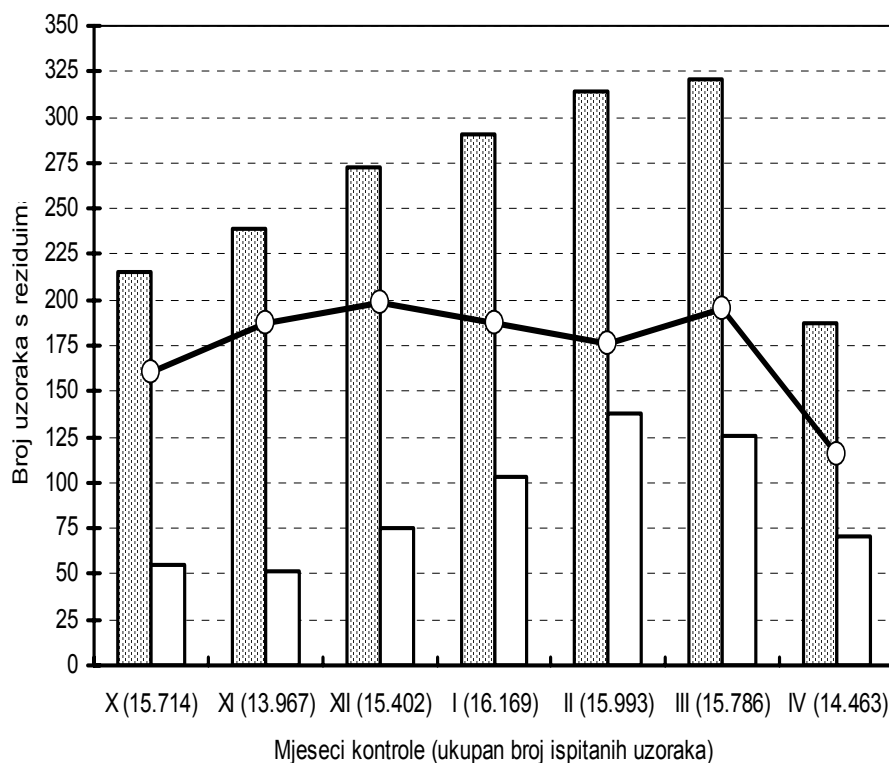
Analizom varijance utvrđeno je da između prosječnih vrijednosti ukupnih rezidua, antibiotika i ostalih rezidua, postoje značajne razlike ( $P < 0,01$  i  $P < 0,05$ ).

Međutim, kako prethodna analiza ne daje precizan odgovor, tj. da li je opravdana razlika između prosječnih vrijednosti svih parametara ili samo između nekih, provedeno je dodatno testiranje opravdanosti razlika između aritmetičkih sredina svih parametara (ukupnih rezidua, antibiotika i ostalih rezidua) metodom po Snedecoru.

Kako je izračunata diferencija (D) na obe razine značajnosti (43,80 uz 5%, odnosno 60,01 uz 1%) manja od svih diferencija, može se zaključiti da postoji značajna razlika između prosječnih vrijednosti svih ispitivanih parametara.

Graf 1. - UZORCI U KOJMA SU UTVRĐENI ANTIBIOTICI I OSTALI REZIDUI

Graph 1. - DETERMINED ANTIBIOTICS AND OTHER RESIDUES IN SAMPLES

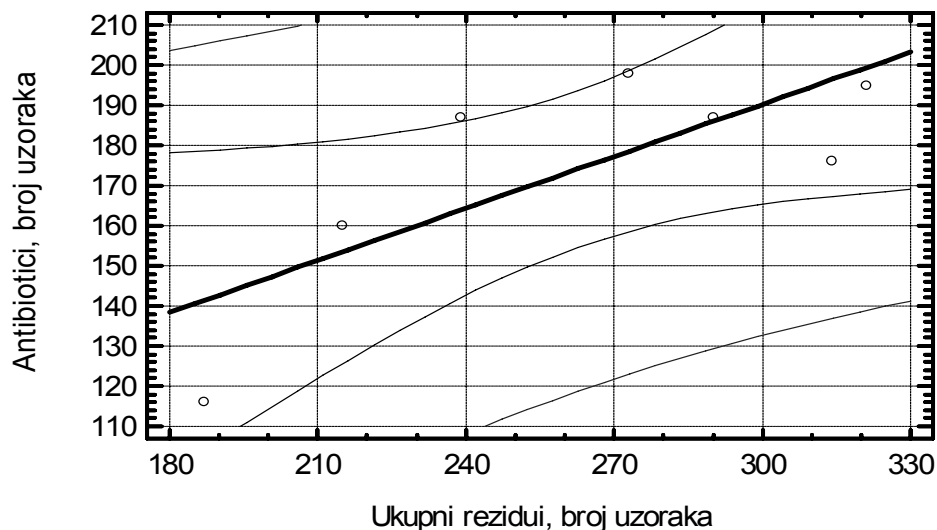




Između prosječnoga broja uzoraka pozitivnih na antibiotike u odnosu na broj uzoraka s ukupnim reziduima utvrđen je visok koeficijent korelacije ( $r = 0,77$ ).

Graf 2. - REGRESIJA ANTIBIOTIKA NA UKUPNE REZIDUE U MLIJEKU

Graph 2. - REGRESSION OF ANTIBIOTICS RELATED TO TOTAL RESIDUES IN MILK



Tablica 4. - RELATIVNI UDIO REZIDUA, ANTIBIOTIKA I OSTALIH REZIDUA U ODNOSU NA UKUPAN BROJ ISPITANIH UZORAKA

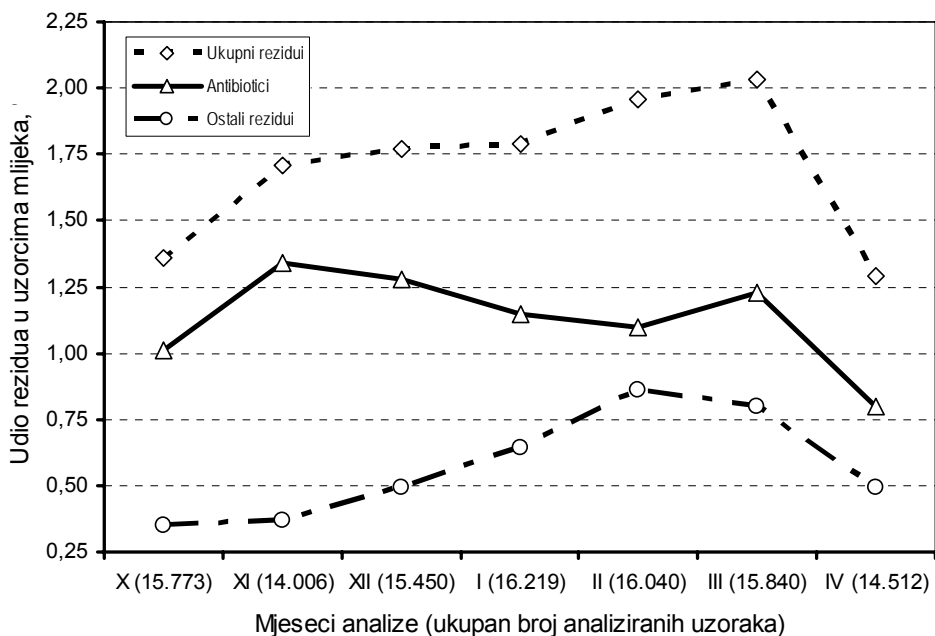
Table 4. - RELATIVE SHARE OF RESIDUES, ANTIBIOTICS AND OTHER RESIDUES RELATED TO TOTAL NUMBER OF EXAMINED SAMPLES

Mjeseci Months	Broj uzoraka No of samples	Rezidui, % Residues	Antibiotici, % Antibiotics	Ostali rezidui, % Other residues
X	15.773	1,36	1,01	0,35
XI	14.006	1,71	1,34*	0,37
XII	15.450	1,77	1,28	0,49
I	16.219	1,79	1,15	0,64
II	16.040	1,96	1,10	0,86
III	15.840	2,03	1,23	0,80
IV	14.512	1,29	0,80*	0,49
$\Sigma / \bar{x}$	107.840	1,71	1,13	0,58

Apsolutno najveći broj pozitivnih uzoraka mlijeka na antibiotike bio je u prosincu, dok je relativno najveći bio u studenome, a najmanji u travnju, kada je i apsolutno bilo najmanje uzoraka pozitivnih na antibiotike.

Graf 3. - UDIO REZIDUA U MLIJEKU TIJEKOM ISPITIVANOGA RAZDOBLJA (%)

Graph 3. - RESIDUES SHARE IN MILK DURING THE PERIOD OF EXAMINATION (%)



Visoko proizvodne mliječne krave konstitucijski su predisponirane za nastanak metaboličkih poremećaja, i smanjena im je sposobnost prilagođavanja procesa metabolizma uvjetima sredine. Međutim, ono što je najbitnije u tome, to je da poremećaji metabolizma dovode do smanjenja opće otpornosti organizma, pojedinih tkiva i organa, a u vezi s tim do mogućnosti pojave tzv. sekundarnih infekcija koje su prouzročene fakultativno patogenim mikroorganizmima. Mliječna žlijezda je u tom slučaju organ koji je često nešto više izložen djelovanju štetnih čimbenika u odnosu na ostale organe, pa otuda i česta pojava oboljenja.

Sagledavanje etiologije oboljenja mliječne žlijezde moguće je samo kroz analizu čitavog ekološkog kompleksa koji okružuje kravu. Ocjenjivanje i

tretiranje tih bolesti, nezavisno od okoline odnosno simptomatsko suzbijanje bolesti, ne dovodi do sanacije i u osnovi je pogrešno.

S druge strane, primjena antibiotika u terapiji upale mliječne žlijezde, pored stvaranja rezistentnih sojeva, dovodi i do nadražaja tkiva mliječne žlijezde i promjena u kakvoći mlijeka, odnosno poremećaja sekrecije. Te promjene mogu biti različitoga intenziteta, trajati različito vrijeme i javljati se u mlijeku krava, kod kojih prije liječenja nije bilo vidljivih promjena.

Nažalost realnost je, da će antibiotici i dalje biti sastavni dio mljekarskoga menadžmenta. Upotreba antibiotika pri liječenju i sprečavanju infekcija vimena krava je sastavni dio kontrole mastitisa u mnogim zemljama, pa i u nas. Međutim, javnost postaje sve više svjesna potencijalne opasnosti od prisutnosti rezidua antibiotika u hrani općenito, pa tako i u mlijeku.

U tom kontekstu, propisi u EU zahtijevaju da sve cisterne mlijeka budu ispitane na prisutnost rezidua beta-laktamskih antibiotika.

### *Zaključak*

Na osnovi provedenoga istraživanja, dobivenih i obrađenih rezultata, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Tijekom ispitivanoga razdoblja (sedam mjeseci) ukupno je analizirano 107.840 uzoraka mlijeka i utvrđeno je da između ukupno registriranih rezidua, antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku (ostali rezidui) postoje značajne razlike ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,05$ ).
2. Na temelju provedene analize uzoraka, dobiveni rezultati pokazuju relativno jaku pozitivnu korelacijsku vezu između prosječnoga broja uzoraka po mjesecima, pozitivnih na antibiotike u odnosu na broj registriranih uzoraka s ukupnim reziduima ( $r = 0,77$ ).
3. Iz dobivenih rezultata provedenoga istraživanja ne može se zaključiti o većoj ili manjoj prisutnosti antibiotika u kravljemu mlijeku ovisno o godišnjem dobu; jesen, zima, rano proljeće.
4. Zadaća sveukupnoga menadžmenta kakvoće treba i nadalje ostati: spriječiti pojavu rezidua antibiotika u svježem mlijeku dovezenog s farmi.

## LITERATURA

1. AOAC Official Method 982,18 (1983): Beta-Lactam Antibiotics in Fluid Milk Products. Qualitative Color Reaction Tests-Delvotest
2. Bulletin of the International Dairy Federation (FIL-IDF) No. 258 (1991): Detection and confirmation of inhibitors in milk and milk products
3. Erskine, R. (1996): Why Do Antibiotic Residues in Milk Happen? Michigan Dairy Review 1(3):16
4. Jones, G. M. (1999): On-farm Tests for Drug Residues in Milk. Virginia Cooperative Extension. Virginia Tech Pub. No. 404-401.
5. Jones, G. M. (1999): Preventing Drug Residues In Milk and Cull Dairy Cows. Virginia Cooperative Extension. Virginia Tech Pub. No. 404-403.
6. Molina, M. P., Althaus, R.L., Balasch, S., Torres, A., Peris, C., Fernandez, N. (2003): Evaluation of Screening Test for Detection of Antimicrobial Residues in Ewe Milk. J. Dairy Sci. 86:1947-1952.
7. Nichols, J. G. (1992): Beta lactam Screening Methods. U. S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, FDA Prime Connection, M-I-92-1. Milk Safety Branch, HFF-346.
8. Popelka, P., Nagy, J., Popelka, P., Marcinčák, S., Róžanska, H., Sokol, J. (2004): Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 48, 273-276.
9. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka, NN 102/2000.
10. Pravilnik o količinama pesticida, toksina, mikotoksina, metala i histamina i sličnih namirnica koje se mogu nalaziti u namirnicama, te drugim uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti namirnica i predmeta opće uporabe, NN 46/1994, 45/1998, 11/2001, 39/2003.
11. Pravilnik o mjerama za monitoring određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla, NN 118/2004.
12. Pravilnik o praćenju rezidua određenih tvari u živim životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla, NN 106/1999.
13. Samaržija, D., Antunac, N. (2002): Važnost dokazivanja prisutnosti antibiotičkih ostataka u mlijeku. Mljekarstvo 52 (I) 61-70.
14. Statistički računalni program (1994-96): Statgraphics Plus, Statisticalgraphics system by Statistical Graphics plus Corporation, STSC Inc. Version 5.1..
15. Zakon o hrani, NN 117/2003.
16. Zakon o veterinarstvu, NN 70/1997, 105/2001, 172/2003.

### INCIDENCE OF ANTIBIOTICS AND OTHER ANTIBACTERIAL SUBSTANCES IN MILK COLLECTED FOR THE MARKET

#### Summary

Incidence of antibiotics and other antibacterial substances in milk collected for the market was studied. Seven months long investigations were conducted at the Central Laboratory for Milk Control of the Croatian Livestock Centre and involved 107.840 samples, or an average of 15.405 samples per month. Samples were taken from the lactofreeze at milk collection centres.

The research goal was to determine the incidence of antibiotics and other antibacterial substances in milk, and point to the need of applying integral quality management for prevention of the presence of antibiotics in fresh farm milk in the light of the importance of milk and milk products in human nutrition. The said substances were detected in milk using the standard diffusion test (Delvotest MCS, DSM Food Specialties, The Netherlands), sensitive to antibacterial substances such as antibiotics, sulpha-residues and other substances, e.g. disinfectants, detergents, etc.

Samples in which the presence of residues was determined were submitted to a quick test which in less than seven minutes detects a wide range of beta-lactam residues (Delvo-X-PRESS®  $\beta$ L-II test of the same manufacturer).

Based on the obtained and analyzed results, significant differences at both levels of significance ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ) were determined between the total detected residues, antibiotics and other antibacterial substances in milk.

The results point to a relatively strong linear correlation between the average number of samples per month positive to antibiotics and the number of registered samples with total residues ( $r = 0.77$ ).

Research results do not allow the conclusion on higher or lower levels of antibiotics in cow milk in dependence on the season; autumn, winter, early spring. Integral quality management should continue to be based on prevention of the presence of antibiotics in fresh milk delivered from farms.

Key words: cow milk, antibacterial substances, residues, quality management

Primljeno: 21. 3. 2006.