

„Intramamarna formulacija propolisa za prevenciju i tretman mastitisa kod mliječnih preživača“, prvi projekt suradnje Veterinarskoga fakulteta s gospodarstvom financiran iz strukturnih fondova Europske unije



“Intramammary propolis formulation for prevention and treatment of mastitis in dairy ruminants”, the first project of collaboration between the Faculty of Veterinary Medicine and the business sector financed from EU structural funds

*Brozić, D., G. Bačić, N. Maćešić, T. Mašek, L. Radin, J. Aladrović, K. Matanović, F. Božić, B. Šeol Martinec, B. Radić, J. Šuran**

56

Sažetak

Projekt suradnje Veterinarskoga fakulteta i tvrtke Hedera d.o.o. iz Splita „Intramamarna formulacija propolisa za prevenciju i tretman mastitisa kod mliječnih preživača“ sufinanciran je iz strukturnih instrumenata Europskog fonda za regionalni razvoj (EFRR) te iz Državnog proračuna Republike Hrvatske. Ovo je prvi strukturni projekt suradnje s industrijom koji je Veterinarski fakultet ostvario, a ukupan iznos odobrenih sredstava je 3.048.238,43 kuna. Cilj je projekta istraživanje i razvoj inovativne intramamarne formulacije propolisa za prevenciju i tretman mastitisa kod krava i koza. Glavne prednosti ove formulacije u odnosu na standardne intramamarne antibiotike jesu nepostojanje karencije i vrlo vjerojatno nemogućnost razvoja rezistencije, budući da je propolis mješavina nekoliko stotina spojeva sa složenim antimikrobnim i antioksidacijskim učincima. Razvoj ovakvog proizvoda, koji nedostaje nacionalnom i međunarodnom tržištu, dovest će do jačanja gospodarskog sektora, među ostalim i smanjenjem financijskih troškova proizvođača mlijeka te lakšim postizanjem standarda ekološkog stočarstva. Interdisciplinarna suradnja ostvarena tijekom ovog projekta, kao i investicije u opremu i edukaciju, ojačat će kapacitet Veterinarskoga fakulteta za daljnje transfere znanja i tehnologije.

Ključne riječi: EU projekt, Veterinarski fakultet, Hedera, propolis, mastitis

*Dr. sc. Diana BROZIĆ, dr. med. vet., poslijedoktorandica, Zavod za prehranu i dijetetiku životinja; dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor; dr. sc. Nino MAĆEŠIĆ, dr. med. vet., docent, Klinika za porodništvo i reprodukciju; dr. sc. Tomislav MAŠEK, dr. med. vet., izvanredni profesor, Zavod za prehranu i dijetetiku životinja; dr. sc. Lada RADIN, dr. med. vet., viša asistentica; dr. sc. Jasna ALADROVIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Zavod za fiziologiju i radiobiologiju; dr. sc. Krešimir MATANOVIĆ, dr. med. vet., stručni suradnik, Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela, dr. sc. Frane BOŽIĆ, redoviti profesor, Zavod za farmakologiju i toksikologiju, dr. sc. Branka ŠEOL MARTINEC, redovita profesorica, Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet, Zagreb; Božo RADIĆ, dr. med., Hedera d.o.o., Split, dr. sc. Jelena ŠURAN, dr. med. vet., docentica, Zavod za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet, Zagreb, Hrvatska; e-mail: *jelena.suran@vef.hr*

Abstract

The project of collaboration between the Faculty of Veterinary Medicine in Zagreb and the small enterprise Hedera Ltd from Split, entitled: "Intramammary propolis formulation for prevention and treatment of mastitis in dairy ruminants" is co-financed from the structural instruments of the European fund for regional development (EFRD) and the State Budget of Republic of Croatia. This is the first structural project of collaboration between the Faculty of Veterinary Medicine and the business sector. The project's estimated value is 3,048,238.43 HRK. The main goal of the project is research and development of innovative intramammary propolis formulation, as an alternative to antibiotic treatment of mastitis in dairy cows and goats. The development of this unique and original product may contribute to strengthening the business sector, through reducing the costs of milk production by facilitating meeting organic criteria in dairy farming. Interdisciplinary expert collaboration, along with investments in equipment and education, will strengthen the capacity of the Faculty of Veterinary Medicine for further transfer of knowledge & technology projects.

Key words: EU project, Faculty of veterinary medicine, Hedera, propolis, mastitis

Uvodno o projektu

„Intramamarna formulacija propolisa za prevenciju i tretman mastitisa kod mliječnih preživača“ jest projekt suradnje Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i tvrtke Hedera d.o.o. iz Splita (Bačić i sur., 2015.a). Projekt je sufinanciran iz strukturnih instrumenata Operativnog programa Regionalna konkurentnost 2007. – 2013. Europskog fonda za regionalni razvoj (EFRR) u sklopu prioritetne osi „Jačanje kapaciteta za istraživanje, razvoj i inovacije“, te iz Državnog proračuna Republike Hrvatske. Ovo je prvi strukturni projekt suradnje s gospodarstvom koji je Veterinarski fakultet ostvario, a ukupan iznos odobrenih sredstava je 3.048.238,43 kuna. Provedba je počela u listopadu 2014., a završava 31. ožujka 2016. godine. U rad na projektu uključeno je deset suradnika s Veterinarskoga fakulteta, suradnici s Agronomskog fakulteta i Hrvatskog veterinarskog instituta, troje suradnika iz Hedere i dvoje Hederinih stručnih savjetnika, a voditeljica projekta je doc. dr. sc. Jelena Šuran.

Osnovni je cilj projekta istraživanje i razvijanje inovativne intramamarne formulacije propolisa, proizvoda za primjenu u prevenciji i terapiji mastitisa krava i koza, kao alternative i/ili nadopune antimikrobnoj terapiji koja se rutinski primjenjuje (Bradley, 2002.). Glavne prednosti ove formulacije u odnosu na standardne intramamarne antibiotike jesu nepostojanje karencije i vrlo vjerojatno nemogućnost razvoja rezistencije, budući da je propolis mješavina od nekoliko stotina spojeva sa složenim antimikrobnim i antioksidacijskim učincima. Naime, rezistencija mikroorganizama nastaje kao rezultat kontinuirane i opsežne upotrebe antibiotika te je na sastanku lidera skupine G7 u Njemačkoj istaknuta kao svjetska prijet-

nja koja će do 2050 g. odnijeti između 11 i 444 milijuna ljudskih života, a u globalnoj ekonomiji kumulativni gubitak od 2,1 do 124,5 milijardi US dolara (Oliver i Murinda, 2012., Ventola, 2015.). Stoga je danas vrlo aktualan razvoj alternativnih pripravaka koji bi mogli smanjiti ili zamijeniti upotrebu antibiotika (Wright, 2014.). Razvojem takvog intramamarnog pripravka bilo bi moguće na potpuno prirodan način tretirati supklinički oblik mastitisa tijekom laktacije, što bi moglo smanjiti učestalost pojave mastitisa u razdoblju suhostaja. To bi izravno utjecalo na smanjenje troškova liječenja i opseg primjene antibiotske terapije kod proizvodnih životinja. Takav oblik prevencije i terapije znatan je pomak u procesu implementacije standarda ekološkog uzgoja životinja (Vaarst i sur., 2006.). Razvoj formulacije provodi se istodobno s analizom njezina sastava, antimikrobne učinkovitosti i antioksidacijskog kapaciteta, uz klinička istraživanja sigurnosti i učinkovitosti primjene kod muznih krava i koza (Bačić i sur., 2015.a, Radin i sur., 2015., Šuran i sur., 2015.). Interdisciplinarna suradnja stručnjaka na projektu, uz znatnu investiciju u opremu i edukaciju suradnika, dovela je do jačanja kapaciteta te je stvorila temelje za buduće projekte transfera znanja i tehnologije na Veterinarskom fakultetu.

Ukratko o mastitisu

Mastitis, upala mliječne žlijezde, najčešći je zdravstveni problem muznih krava, koza i ovaca, s posebnom važnošću u visokoproizvodnim mliječnim stadima. Prevencija i tretman mastitisa znatan su financijski trošak za proizvođače mlijeka zbog velikih gubitaka u proizvodnji, opsežnih troškova liječenja i negativnog utjecaja na dobrobit životinja (Nielsen i sur., 2010.). Etiologija mastitisa je složena, a sma-

tra se da je rezultat interakcije između domaćina, mikroorganizma, okoliša i načina držanja (Maćešić i sur., 2012., Bačić, 2002.). No, patogene su bakterije ključan čimbenik razvoja i tijeka upalnog procesa u mliječnoj žlijezdi (Watts, 1988., Bačić, 2009.). Bakterije *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* smatraju se najčešćim uzročnicima mastitisa mužnih krava uz često prisutne patogene bakterije: *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Trueperella pyogenes* i *Pseudomonas aeruginosa* (Passey i sur., 2008., Rall i sur., 2014.).

Propolis i njegova primjena u medicini

Propolis je smolna smjesa koja nastaje preradom biljnih sokova koje pčele (*Apis mellifera*, L.) sakupljaju s pupoljaka, lišća, korijena i kore biljaka te oplemenjuju enzimima, beta-glukozidazama, koje luče iz submandibularnih žlijezda slinovnica te ga koriste kao zaštitu košnice od nepoželjnih vanjskih utjecaja (Ghisalberti, 1979.). Sastav propolisa iznimno je složen i ovisan ponajprije o biljnom pokrovu područja u kojemu žive pčelinje zajednice (Bankova i sur., 2014.). Koncentracija i udio frakcija u propolisu ovise o ekološkim i klimatskim čimbenicima koji utječu na biljni izvor korišten pri prikupljanju propolisa i stoga je sastav varijabilan (Castaldo i Capasso 2002.). U prosjeku, propolis sadržava 50 % balzama i smola, 30 % pčelinjeg voska, 5 % polena, 10 % eteričnih ulja i 5 % ostalih organskih komponenata (Cirasino i sur., 1987.). Ključni u sastavu propolisa su polifenoli (flavonoidi, fenolne kiseline i esteri), skupina bioaktivnih organskih molekula koji nastaju kao produkt sekundarnog metabolizma biljaka (Dobrowolski i sur., 1991., Shimizu i sur., 2004.). Znanstveno dokazana djelovanja flavonoida su protuupalno, citotoksično, imunomodulacijsko, antimikrobno (antibakterijsko, antimikotičko, antivirusno) (Burdock, 1998., Banskota i sur., 2001., Sforcin, 2007., Bachiega i sur., 2012.). Biološki učinci propolisa vezani su i uz antioksidacijska svojstva zbog uloge tzv. hvatača slobodnih radikala (Pascual i sur., 1994., Isla i sur., 2001.). Također, utvrđena je inhibicijska aktivnost propolisa na djelovanje različitih enzima odgovornih za početak upalnih procesa kao što su hidrolaze, alkalne fosfataze, mijeloperoksidaze (Frenkel i sur., 1993.).

Uporaba propolisa zabilježena je još u antičkim vremenima (Castaldo i Capasso, 2002.). Tada, kao i danas, ima široku primjenu u klasičnoj i narodnoj medicini i biokozmetici, ponajprije zahvaljujući mnogobrojnim blagotvornim djelovanjima poput anti-septičkog, protuupalnog, antibakterijskog, antioksi-

dativnog, antimikotičkog, antivirusnog i protutumor-skog (Burdock, 1998., Castaldo i Capasso, 2002., Russo i sur., 2002., Giusti i sur. 2004.). No većina tih svojstava dokazana je u uvjetima *in vitro* ili na laboratorijskim životinjama, dok su klinička istraživanja provedena *in vivo* na ljudima i proizvodnim životinjama nedostatna (Silva-Carvalho i sur., 2015.).

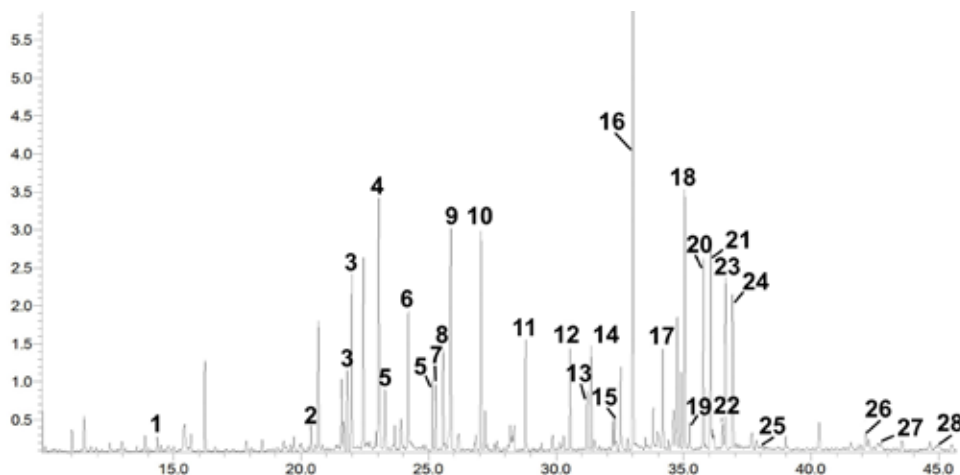
Provedba istraživanja – kratki opis glavnih aktivnosti na projektu

Izrada formulacije bezalkoholne otopine propolisa za intramamarnu primjenu

Hedera d.o.o. je mala tvrtka iz Splita koja se već 27 godina bavi razvojem i proizvodnjom pčelinjih pripravaka. Ono što tu tvrtku čini vrlo posebnom jest interes za inovacije, istraživanja i suradnju s brojnim znanstvenim institucijama u Hrvatskoj i inozemstvu. S obzirom na njezinu veličinu i prilike u Hrvatskoj, posebno na tržištu tvrtki sa sličnim djelatnostima, fascinantna je brojnost Hederinih realiziranih suradnji i otvorenosti prema znanstvenoj zajednici. Rezultat je toga prava inovativnost proizvoda koje ova tvrtka plasira. Jedan od takvih proizvoda bit će i bezalkoholna otopina propolisa dobivena procesom koji je razvio dr. sc. Saša Radić, stručni Hederin savjetnik. Bezalkoholna otopina nativnog propolisa jest homogena, viskozna, stabilna tekućina narančastosmeđe boje, a za testiranje su pripremljene njezine različite koncentracije (10 %, 5 %, 3 %, 1 %, 0,5 %, 0,3 % i 0,1 %) u otapalu prikladnom za intramamarnu primjenu. Intramamarni su injektori također prilagođeni životinjskoj vrsti kod koje se primjenjuju. Analize zdravstvene ispravnosti pripremljenih otopina redovito su se provodile na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije u Splitu.

Analiza sastava nativnog propolisa i bezalkoholne otopine propolisa

U sklopu ovih aktivnosti kolege sa Zavoda za dijetetiku i prehranu životinja, prof. dr. sc. Tomislav Mašek i dr. sc. Diana Brozić, te dr. sc. Kristina Starčević sa Zavoda za stočarstvo, povezali su se i s kolegama Fakulteta kemijskog inženjstva i tehnologije, što je rezultiralo izradom diplomskog (Zorić, 2015.) i znanstvenog rada (u pripremi). Aktivnosti su uključivale analizu propolisa postupkom alkoholne ekstrakcije, ekstrakcije vodenom parom i ekstrakcije u organskim nepolarnim otapalima. Osim toga, provodi se analiza sastava same formulacije koja uključuje poseban oblik ekstrakcije koja do sada nije opisana. Različitim metodama ekstrakcije (maceracija, refluks i mikrovalna ekstrakcija) utvrdila se koncentracija ukupnih



Slika 1. Reprezentativni kromatogram spojeva utvrđenih u ekstraktu propolisa na Shimadzu GC-MS Ultra Gas Chromatograph Mass Spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). 1. *trans*-cinamična kiselina, 2. 4-metoksicinamična kiselina, 3. D-fruktoza, 4. *p*-kumarinska kiselina, 5. D-glukoza, 6. 3,4-dimetoksicinamična kiselina, 7. palmitinska kiselina, 8. *trans*-izoferulna kiselina, 9. ferulna kiselina, 10. kafeinska kiselina, 11. stearinska kiselina, 12. 3-metil-3-butenil kafeat, 13. 2-metil-2-butenil kafeat, 14. 3-metil-2-butenil kafeat, 15. pinostrobin, 16. pinocembrin, 17. pinobanksin, 18. pinobanksin-3-acetat, 19. tektokrisin, 20. benzil kafeat, 21. krisin, 22. saharoza, 23. galangin, 24. feniletil kafeat, 25. naringenin, 26. kaempferol, 27. apigenin, 28. kvercetin.

fenolnih spojeva, antioksidacijski kapacitet i kemijski sastav ekstrakata hrvatskog nativnog propolisa. Analiza antioksidacijskog kapaciteta raznih ekstrakata i same formulacije provela se utvrđivanjem koncentracije ukupnih fenolnih spojeva (TPC) metodom s folinovim reagensom, metodom s 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), metodom s 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazoline-6-sulfonskom kiselinom (ABTS) i metodom antioksidacijskog svojstva reduciranja željeza (FRAP) (Starčević i sur., 2015.). Analiza sastava ekstrakta hrvatskog nativnog propolisa provela se metodom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom na Shimadzu GC-MS Ultra Gas Chromatograph Mass Spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan), a analiza formulacije metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti s UV-Vis detektorom (Shimadzu, Kyoto, Japan) na Zavodu za prehranu i dijetetiku životinja. Navedeni maseni spektrometar tvrtke Shimadzu nabavljen je upravo iz bespovratnih sredstava odobrenima u sklopu ovoga projekta. Rezultati analize na GC-MS-u pokazali su kakva je zastupljenost polifenola i ostalih biomarkera u nativnom propolisu hrvatskih pčelinjaka (slika 1) (Šuran i sur., 2015., Starčević i sur., 2015.).

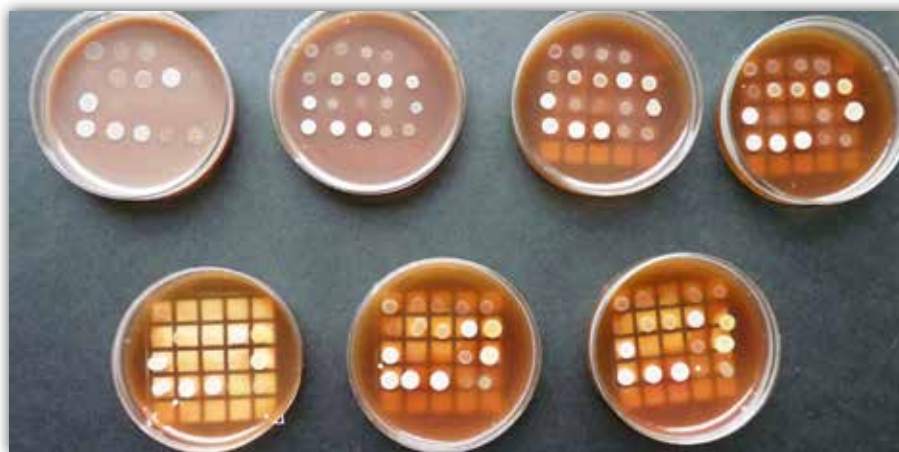
Pretkliničko *in vitro* istraživanje

Pretkliničko *in vitro* istraživanje uključivalo je određivanje minimalne inhibicijske koncentracije (MIK) bezalkoholne otopine propolisa za različite uzročnike mastitisa u krava i koza (*Staphylococcus*

aureus, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Trueperella pyogenes*) u višestrukim razrjeđenjima na Müller-Hintonovu agaru (slika 2). To je uključivalo izradu protokola standardizacije postupka i prilagodbe metode za testiranje bezalkoholne otopine propolisa te određivanje MIK-ova bezalkoholne otopine propolisa. Preliminarni rezultati upućuju na veliku učinkovitost formulacije u sprečavanju rasta gram-pozitivnih bakterija (Matanović i sur., 2015., Šuran i sur., 2015.). Istraživanje se nastavilo provjerom učinkovitosti formulacije propolisa određivanjem MIK-ova kod patogenih sojeva bakterija izdvojenih iz sekreta vimena životinja uključenih u terensko istraživanje. U sklopu ovih istraživanja prof. dr. sc. Branka Šeol Martinec i dr. sc. Krešimir Matanović su se povezali s dr. sc. Miroslavom Benićem iz Laboratorija za mastitise i kakvoću sirova mlijeka Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu, kako bi mogli provesti testiranja na što većem broju kliničkih izolata.

Kliničko istraživanje

Terenska klinička istraživanja sigurnosti i učinkovitosti formulacije propolisa za intramamarnu primjenu provedena su na velikom broju muznih krava i koza u laktaciji i suhostaju (slika 3). Bez pomoći mr. sc. Josipa Dauda i ostalih kolega iz tvrtke Bosgen d.o.o. te farmi muznih krava Grube d.o.o., Agro Bo-



Slika 2. Određivanje minimalnih inhibicijskih koncentracija propolisa agar-dilucijskim postupkom.

vis d.o.o., PG Đido, Krndija, SNK Milk i Žito d.o.o., kao i pomoći prof. dr. sc. Antuna Kostelića i farmi muznih koza OPG Goran Košak i OPG Matijašec ne bi bilo moguće provesti ova istraživanja koja zapravo čine najzahtjevniji dio projekta. Prof. dr. sc. Goran Bačić, voditelj istraživanja, te doc. dr. sc. Nino Maćešić uspješno su se, uz maksimalan angažman obiju strana, povezali s kolegama na terenu i pratili zdravlje i produktivnost muznih krava, pojavnost mastitisa, kvalitetu mlijeka i mišljenje krajnjih korisnika – veterinarima i stočara – uzgajivača o praktičnosti i korisnosti primijenjene formulacije. Na isti su način zdravlje i produktivnost muznih koza pratile dr. sc. Lada Radin i prof. dr. sc. Jasna Aladrović u suradnji s prof. dr. sc. Antunom Kostelićem s Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

U ovim je istraživanjima, dakle, bilo potrebno utvrditi koje su koncentracije intramamarnih formulacija propolisa sigurne za primjenu, a da imaju i dobar antimikrobni učinak. Takvima su se pokazale koncentracije od 1 i 3 % propolisa za krave, te 3 i 5 % za koze. Sigurnost primjene provjeravala se neposrednim kliničkim pregledom životinja, analizom broja somatskih stanica na terenu, a antimikrobna učinkovitost bakteriološkim analizama uzoraka mlijeka u Laboratoriju za mastitise i kakvoću sirova mlijeka Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu. Važno je napomenuti da je u okviru ovih istraživanja ostvarena vrlo uspješna suradnja Veterinarskog fakulteta i Hrvatskog veterinarskog instituta, i to posebno s dr. sc. Miroslavom Beničem, koji je projektnom timu uvijek bio na raspolaganju i pomoći. Nadamo se da će u sklopu ove suradnje fakulteta i instituta biti obranjena najmanje dva doktorska rada.

Naknadno će se na temelju dobivenih rezultata procijeniti korisnost intramamarne primjene bezalkoholne otopine propolisa za životinje u suhostaju

kako bi se mogao steći uvid u to koliko korištenje ove formulacije kod supkliničkih oblika mastitisa može pridonijeti smanjenoj učestalosti mastitisa tijekom cijelog proizvodnog razdoblja stada.

Utvrđivanje intramamarno primijenjene bezalkoholne otopine propolisa na oksidacijski stres

Utjecaj intramamarno primijenjene bezalkoholne otopine propolisa na oksidacijski stres kod životinja u laktaciji i suhostaju ima za cilj istražiti posjeduje li bezalkoholna otopina propolisa, primijenjena intramamarno, učinak na oksidacijski stres u organizmu muznih krava i koza. Rezultati će dati odgovore na pitanja o antioksidacijskom učinku lokalno primijenjenog propolisa i potvrdu mehanizma djelovanja na uzorcima mlijeka i seruma krava i koza.



Slika 3. Aplikacija formulacije bezalkoholne otopine propolisa u vime krave.

Implementacija projektnih rezultata

Ustaljena terapija kod mastitisa podrazumijeva primjenu antibiotika te se izbor i način primjene prilagođavaju tijeku upale i izoliranom uzročniku. Međutim, rezidue antimikrobnih lijekova mogu, unatoč poštovanju karencije, zaostati u mlijeku te imati ograničen učinak na uzročnika (Mukherjee i sur., 2005., Bačić, 2009.). Uz kliničke mastitise i supklinički su mastitisi znatan problem na farmama s velikim brojem visokoproizvodnih životinja (Bačić i sur., 2015.b). Razlog tomu je što se upala klinički ne očituje, ali dovodi do smanjene produkcije mlijeka i visokog broja somatskih stanica što uvjetuje lošiju kvalitetu mlijeka. Često je prisutan loš odgovor na antibiotsku terapiju te se stoga oboljele životinje izlučuju iz uzgoja. U slučaju kada se ne liječe, supklinički oboljele životinje pridonijet će lošoj kvaliteti ukupno predanog mlijeka i time dovesti do znatnih gubitaka (Bačić i sur., 2015.b).

Pčelinji proizvodi mogu biti dio ekološkog pristupa prevenciji i liječenju mastitisa s obzirom na to da imaju antibakterijsko djelovanje koje je dokazano kod najčešćih uzročnika mastitisa krava (Fiordalisi i sur., 2016.). No, njihova primjena kod mliječnih preživača do danas nije zaživjela. Moguć razlog je što do sada nije razvijena formulacija propolisa koja bi bila istodobno učinkovita i sigurna za intramamarnu primjenu. Primjena takve formulacije bit će alternativa konvencionalnoj upotrebi antibiotika (Radin i sur., 2016.). Istodobno, proizvodi od životinja koje nisu liječene antibioticima dobit će dodanu vrijednost i sasvim novo tržište na kojemu će biti konkurentni.

Veterinarski fakultet i tvrtka Hedera s ovim su projektom tek započeli suradnju čiji će prvi opipljivi rezultat biti navedena formulacija propolisa, no najveća je vrijednost te suradnje u povezivanju javne znanstvenoistraživačke institucije s gospodarstvom, i to ne samo s Hederom nego i s kolegama na terenu – veterinarima i stočarima – jer je uzimanje u obzir potreba budućih krajnjih korisnika rezultata projekta od neprocjenjive važnosti za njihovu implementaciju.

Zaključno, ovo će partnerstvo fakulteta i Hedere d.o.o. rezultirati jasnim transferom znanja i razvojem konkretnog proizvoda. Uz sudjelovanje znanstvenika, stručnjaka, pa i studenata raznih usmjerenja, to će biti indikator unapređenja postojećih kapaciteta za transfer tehnologije na Veterinarskom fakultetu. Putem investicija u potrebnu opremu i edukaciju ljudi projekt će osnažiti istraživačku infrastrukturu fakulteta, što će trajno poboljšati uvjete za provođenje postojećih i daljnjih istraživačko-razvojnih aktivnosti.

Zahvala

Realizacija projekta ne bi bila moguća bez dobre suradnje Veterinarskoga fakulteta s posredničkim tijelima, Ministarstvom znanosti, obrazovanja i sporta (MZOS) i Središnjom agencijom za financiranje i ugovaranje EU projekata (SAFU). Veliki angažman voditeljica projekta u MZOS-u i SAFU, Ivane Roić Ivček i Ane Petrić, te njihovih kolegica Željke Palorec, Darije Skoko i Sanje Buđe znatno je olakšao fakultetu ostvarenje svih ciljeva i pokazatelja projekta. Stoga se ovim putem od srca zahvaljujemo kolegicama iz MZOS-a i SAFU-a na vrijednim savjetima, potpori i vođenju.



Slika 4. Projekt je sufinanciran sredstvima EFRR-a te iz Državnog proračuna Republike Hrvatske

Literatura

- BACHIEGA, T. F., C. L. ORSATTI, A. C. PAGLIARONE, J. M. SFORCIN (2012): The effects of propolis and its isolated compounds on cytokine production by murine macrophages. *Phytother. Res.* 26, 1308-1313.
- BAČIĆ, G. (2002): Procjena rizičnih faktora za nastanak mastitisa, Zbornik sažetaka 35. Simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, 13.-15. studeni, Lovran, Hrvatska.
- BAČIĆ, G (2009): Dijagnostika i liječenje mastitisa u goveda, Veterinarski fakultet, Zagreb, 145-150.
- BAČIĆ, G (2009): Dijagnostika i liječenje mastitisa u goveda, Veterinarski fakultet, Zagreb, 29-40.
- BAČIĆ, G., N. MAČEŠIĆ, L. RADIN, K. MATANOVIĆ, T. MAŠEK, D. BROZIĆ, M. BENIĆ, B. RADIĆ, I. BAČIĆ, J. ŠURAN (2015a): Project „Intramammary propolis formulation for prevention and treatment of mastitis in dairy ruminants – preliminary results“ Book of abstracts of 6th International congress veterinary science and profession, 1 – 2- listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 81.
- BAČIĆ, G., N. MAČEŠIĆ, T. KARADJOLE, M. LOJKIĆ, N. PRVANOVIĆ BABIĆ, M. BENIĆ, L. RADIN, J. ŠURAN (2015b): Subklinički mastitisi mliječnih goveda. Zbornik Radova 6. Naučni simpozijum Reprodukcijska domaćih životinja i bolesti mlečne žlezde. 8.-11. studeni, Divčibare, Srbija, str. 119-126.
- BANKOVA, V., M. POPOVA, B. TRUSHEVA (2014): Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chem. Cent. J.* 8, 28.

- BANSKOTA, A., Y. TEZUKA, S. KADOTA (2001): Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother. Res.* 15, 561 - 571.
- BRADLEY, A. (2002): Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 164, 116-128.
- BURDOCK, G. (1998): Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food. Chem. Toxicol.* 36, 347 - 636.
- CASTALDO, S., F. CAPASSO (2002): Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73, 51, 1-6.
- CIRASINO, L., A. PISATI, F. FASANI (1987): Contact dermatitis from propolis. *Contact Derm.* 16, 110-111.
- DOBROWOLSKI, J. W., S. B. VOHORA, K. SHARMA, S. A. SHAH, S. A. NAQVI, P. C. DANDIYA (1991): Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.* 35, 77-82.
- FIORDALISI, S. A. L., L. A. HONORATO, M. R. LOIKO, C. A. M. AVANCINI, M. B. R. VELEIRINHO, L. C. P. M. FILHO, S. KUHNEN (2016): The effects of Brazilian propolis on etiological agents of mastitis and the viability of bovine mammary gland explants. *J. Dairy Sci.* 99, 2308-2318
- FRENKEL, K., H. WEI, R. BHIMANI, J. YE, J. A. ZADUNAISKY, M. T. HUANG, T. FERRARO, A. H. CONNEY, D. GRUNBERGER (1993): Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer. Res.* 53, 1255-1261.
- GHISALBERTI, E. L. (1979): Propolis: A Review. *Bee World* 60, 59-84.
- GIUSTI, F., R. MIGLIETTA, P. PEPE, S. SEIDENARI (2004): Sensitization to propolis in 1255 children undergoing patch testing. *Contact Derm.* 51, 255-258.
- ISLA, M. I., M. I. NIEVA MORENO, A. R. SAMPIETRO, M. A. VATTUONE (2001): Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *J. Ethnopharmacol.* 76, 165-170.
- MAČEŠIĆ, N., T. KARADJOLE, G. BAČIĆ, M. BENIĆ, S. VINCE, M. LIPAR, M. CERGOLJ (2012): Aetiology and prevention of bovine intramammary infection at drying off, *Vet. Arh.* 82(2): 125-131.
- MATANOVIĆ, K., B. ŠEOL MARTINEC, I. ŠTIMAC, L. RADIN, G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, M. BENIĆ, B. RADIĆ, J. ŠURAN (2015): Antimicrobial activity of non-alcoholic propolis solution against common bovine mastitis pathogens. *Proceedings of the 6th International Scientific Meeting Days of veterinary medicine*, 24.-26. rujana, Struge, Makedonija, str. 51.
- MUKHERJEE, R., P. K. DASH, G. C. RAM (2005): Immunotherapeutic potential of *Ocimum sanctum* (L) in bovine subclinical mastitis. *Res. Vet. Sci.* 79, 37-43.
- NIELSEN, C., S. OSTERGAARD, U. EMANUELSON, H. ANDERSSON, B. BERGLUND, E. STRANDBERG (2010): Economic consequences of mastitis and withdrawal of milk with high somatic cell count in Swedish dairy herds. *Animal* 4, 1758-1770.
- OLIVER, S. P., S. E. MURINDA (2012): Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 28, 165-185.
- PASCUAL, C., R. GONZALEZ, R. G. TORRICELLA (1994): Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J. Ethnopharmacol.* 41, 9-13.
- PASSEY, S., A. BRADLEY, H. MELLOR (2008): *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis invade mammary cells by a modified endocytic pathway. *Vet. Microbiol.* 130, 151-164.
- RADIN, L., G. BAČIĆ, K. MATANOVIĆ, N. MAČEŠIĆ, T. MAŠEK, D. BROZIĆ, M. BENIĆ, B. RADIĆ, J. ŠURAN (2015): Implementation of the project "Intramammary propolis formulation for prevention and treatment of mastitis in dairy ruminants". *Proceedings of the second Dairy care conference*. Knight, C. H. (ur.). Cordoba, Španjolska, 69-69.
- RADIN, L., G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, J. ALADROVIĆ, K. MATANOVIĆ, B. ŠEOL MARTINEC, T. MAŠEK, D. BROZIĆ, M. BENIĆ, B. RADIĆ, J. ŠURAN (2016): Can propolis be an alternative for intramammary antibiotics? *44th Dairy Industry Conference Compendium of Abstracts*, 18.-20. veljače, Karnal City, Indija, str. 163.
- RALL, V. L., E. S. MIRANDA, I. G. CASTILHO, C. H. CAMARGO, H. LANGONI, F. F. GUIMARAES, J. P. ARAUJO JUNIOR, A. FERNANDES JUNIOR (2014): Diversity of *Staphylococcus* species and prevalence of enterotoxin genes isolated from milk of healthy cows and cows with subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 97, 829-837.
- RUSSO, A., R. LONGO, A. VANELLA (2002): Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 73 (51), 21-29.
- SFORCIN, J. M. (2007): Propolis and the immune system: a review. *J. Ethnopharmacol.* 113, 1-14.
- SHIMIZU, K., H. ASHIDA, Y. MATSUJURA, K. KANAZAWA (2004): Antioxidative bioavailability of artemisinin C in Brazilian propolis. *Arch. Biochem. Biophys.* 424, 181-188.

- SILVA-CARVALHO, R., F. BALTAZAR, C. ALMEIDA-AGUIAR (2015): Propolis: A complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 206439.
- STARČEVIĆ, K., M. HRANJEC, I. ZORIĆ, D. BROZIĆ, T. MAŠEK, L. RADIN, B. RADIĆ, J. ŠURAN (2015): Antioxidative properties and GC-MS analyses of Croatian native propolis for implementation in veterinary medicine. *Proceedings of the 6th International Scientific Meeting Days of veterinary medicine*, 24.-26. rujana, Struge, Makedonija, str. 46.
- ŠURAN, J., K. MATANOVIĆ, F. BOŽIĆ, B. ŠEOL MARTINEC, J. ALADROVIĆ, G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, T. MAŠEK, D. BROZIĆ, M. BENIĆ, B. RADIĆ, L. RADIN (2015): Intramammary propolis formulation for prevention and treatment of mastitis in dairy ruminants. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 38 (5), 67.
- VAARST, M., T. W. BENNEDSGAARD, I. KLAAS, T. B. NISSEN, S. M. THAMSBORG, S. OSTERGAARD (2006): Development and daily management of an explicit strategy of nonuse of antimicrobial drugs in twelve Danish organic dairy herds. *J. Dairy Sci.* 89, 1842-1853.
- VENTOLA, C. L. (2015): The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics* 40, 277-283.
- WATTS, J. L. (1988): Etiological agents of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 16, 41-66.
- WRIGHT, G. D. (2014): Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. *Can. J. Microbiol.* 60, 147-154.
- ZORIĆ, I. (2015): Utjecaj različitih metoda ekstrakcije na sastav bioaktivnih spojeva propolisa. Završni rad. Sveučilišni preddiplomski studij. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.



Convention Centre Dublin, Ireland

www.wbc2016.com

INDUSTRY PROSPECTUS

The
29th
Congress of the
World Association
for Buiatrics



**WORLD
BUIATRICS
CONGRESS**
Dublin 2016

3rd - 8th July