

UTJECAJ SADRŽAJA IMUNOGLOBULINA G (IgG) NA ZDRAVSTVENI STATUS I PROIZVODNA SVOJSTVA PRASADI DO ODBIĆA

Čuljak, Vice

Doctoral thesis / Disertacija

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:097393>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-16**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Vice Čuljak, dr. vet. med.

**UTJECAJ SADRŽAJA IMUNOGLOBULINA G (IgG) NA
ZDRAVSTVENI STATUS I PROIZVODNA SVOJSTVA
PRASADI DO ODBIĆA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2016.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Vice Čuljak, dr. vet. med.

**UTJECAJ SADRŽAJA IMUNOGLOBULINA G (IgG) NA
ZDRAVSTVENI STATUS I PROIZVODNA SVOJSTVA
PRASADI DO ODBIĆA**

- Doktorska disertacija -

Osijek, 2016.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Vice Čuljak, dr. vet. med.

**UTJECAJ SADRŽAJA IMUNOGLOBULINA G (IgG) NA
ZDRAVSTVENI STATUS I PROIZVODNA SVOJSTVA
PRASADI DO ODBIĆA**

- Doktorska disertacija -

Mentor: prof. dr. sc. Goran Kušec

Povjerenstvo za ocjenu:

- 1. dr. sc. Ivona Djurkin Kušec, docentica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, predsjednica**
- 2. dr. sc. Goran Kušec, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, mentor i član**
- 3. dr. sc. Vladimir Margeta, docent Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, član**
- 4. dr. sc. Boris Antunović, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, član**
- 5. dr. sc. Elizabeta Has-Schön, redovita profesorica Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, član**

Osijek, 2016.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Vice Čuljak, dr. vet. med.

**UTJECAJ SADRŽAJA IMUNOGLOBULINA G (IgG) NA
ZDRAVSTVENI STATUS I PROIZVODNA SVOJSTVA
PRASADI DO ODBIĆA**

- Doktorska disertacija -

Mentor: prof. dr. sc. Goran Kušec

Javna obrana doktorske disertacije održana je 06. lipnja 2016. godine pred
Povjerenstvom za obranu:

1. **dr. sc. Ivona Djurkin Kušec, docentica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, predsjednica**
2. **dr. sc. Goran Kušec, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, mentor i član**
3. **dr. sc. Vladimir Margeta, docent Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, član**
4. **dr. sc. Boris Antunović, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, član**
5. **dr. sc. Elizabeta Has-Schön, redovita profesorica Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, član**

Osijek, 2016.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorska disertacija

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij: Poljoprivredne znanosti

Smjer: Stočarstvo

UDK: 636.4 : 619

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda

Grana: Stočarstvo

**UTJECAJ SADRŽAJA IMUNOGLOBULINA G (IgG) NA ZDRAVSTVENI STATUS I
PROIZVODNA SVOJSTVA PRASADI DO ODBIČA**

Vice Čuljak, dr. vet. med.

Disertacija je izrađena na Poljoprivrednom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Goran Kušec

Sažetak: Cilj istraživanja bio je utvrditi mogućnost primjene digitalnog Brix refraktometra kao jedne od metoda za mjerenje koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača nakon usporedbe s rezultatima dobivenih laboratorijskim pretraživanjem uzoraka kolostruma krmača metodom radijalne imunodifuzije (RID). Zatim, utvrditi količinu imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma kod krmača 0 h sata od početka prasnja te utjecaj koncentracije imunoglobulina G (IgG) na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića. Istraživanje je provedeno na 120 plotkinja i nazimica na dvije komercijalne reproduktivne farme u istočnoj Hrvatskoj (farma 1 i farma 2) koje se nalaze u sustavu dva različita hibridna programa (A i B) koje se bave proizvodnjom i uzgojem prasadi za tov do prosječne tjelesne težine od 25 kg. Od svake krmače, nulti sat od početka prasnja, kroz tri ciklusa uzimanja uzoraka, iz jedne od prednjih sisa uzeto je (izmuženo rukom) u sterilnu epruvetu ukupno 10 mL kolostruma za refraktometrijsku analizu. Kolostrum je odmah nakon uzimanja pohranjen na temperaturi od -20°C. Osim navedenih 640 uzoraka kolostruma za refraktometriju, prikupljeno je i ukupno 100 uzoraka za radijalnu imunodifuziju (RID), paralelno s uzorcima za mjerenje pomoću digitalnog Brix refraktometra. Ovi uzorci uzimani su u isto vrijeme na dvije navedene farme od po 50 uzoraka na svakoj farmi također u 3 navrata od krmača koje su različitog broja prasnja. Smrznuti uzorci kolostruma korišteni su za laboratorijske analize kojima se utvrđivao kemijski sastav kolostruma i sadržaj imunoglobulina G (IgG). RID vrijednosti utvrđene u našem istraživanju kreću se između 60 i 80 g/L. U odnosu na literaturne podatke, naše dobivene vrijednosti nešto su niže, no one nisu imale negativni učinak na preživljavanje prasadi tijekom prvih dana života. Utvrđene Brix vrijednosti u kolostrumu krmača kretale su se između 23,6% i 27,7%. Vrijednosti Brix-a iznad 22% ukazuju na dobru kvalitetu kolostruma i dobar sadržaj imunoglobulina G u njemu. Prosječne Brix vrijednosti utvrđene analizom uzorka kolostruma kroz 8 laktacija na dvije različite farme ukazuju da je kolostrum krmača s farme A imao nešto više vrijednosti u odnosu na kolostrum krmača s farme B, no te vrijednosti nisu bile statističke značajne. Zamjetne su neznatno niže Brix vrijednosti u drugoj i trećoj laktaciji, nakon čega je uslijedilo linearno povećanje vrijednosti, što je u skladu s prethodnim istraživanjima. Usporedba RID i Brix metoda određivanja sadržaja i koncentracije imunoglobulina G rezultirala je jasnim linearnim odnosom između dobivenih vrijednosti. Na farmi A koeficijent korelacije između Brix-a i RID-a iznosio je $r=0,81$, $p<0,001$, a na farmi B utvrđen je koeficijent korelacije $r=0,75$, $p<0,001$. Uzimajući u obzir visoki koeficijent korelacije, na temelju predloženog možemo zaključiti da Brix refraktometar pruža prihvatljivu i pouzdanu procjenu IgG kod kolostruma krmača te se kao takav može koristiti u širokoj praksi. Koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača mjerene pomoću digitalnog Brix refraktometra ne razlikuju se od koncentracija utvrđenih uobičajenim metodama. Nema razlika između jedinki krmača u koncentraciji imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma neposredno nakon prasnja. Tijekom provedbe istraživanja utvrđena su proizvodna svojstva krmača, prasadi tijekom dojnog razdoblja te je u istom razdoblju promatran i bilježen zdravstveni status prasadi. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između dva različita hibrida krmača na dvije farme u pogledu svih ispitivanih reproduktivnih i proizvodnih svojstava. Ovi rezultati potvrđuju činjenicu da se u visoko intenziviranoj svinjogojskoj proizvodnji danas koriste hibridi koji su vrlo slični u

pogledu navedenih svojstava. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu broja odbite prasadi, prosječne težine prasadi pri odbiću, prosječne težine legla kod odbića, kao i prosječnih ostvarenih dnevnih prirasta između prasadi na obje farme. Između ispitivanih skupina prasadi nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu stope oboljenja od pneumonije i proljeva, te u pogledu stope smrtnosti prasadi. Utvrđene vrijednosti ukazuju na visok stupanj biosigurnosnih i higijenskih mjera koje se provode na farmama uključenim u istraživanje, budući da je i stopa oboljenja prasadi, kao i smrtnost istih, vrlo niska. Koncentracija imunoglobulina G (IgG) znatno utječe na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića. Utvrđene vrijednosti sadržaja i koncentracije imunoglobulina G u kolostrumu krmača na obje farme, te utvrđena proizvodna svojstva i zdravstveni status prasadi, ukazuju na povezanost koncentracije i sadržaja imunoglobulina G utvrđenih Brix i RID metodom s proizvodnim svojstvima i zdravstvenim statusom prasadi tijekom dojnog razdoblja. Sve navedeno upućuje da primjena Brix refraktometrije u svinjogojstvu može biti značajno pomagalo proizvođačima, posebice u najosjetljivijem dijelu proizvodnje, a to je uzgoj prasadi. Metoda određivanja sadržaja imunoglobulina G u kolostrumu krmača ima prednosti u odnosu na druge metode procjene koncentracije IgG, s obzirom da je Brix refraktometar jeftin, lako dostupan, manje krhak i manje osjetljiv na varijacije u temperaturi kolostruma, godišnje doba i druge čimbenike, te zahtijeva minimalnu opremu i obuku. Procjena kolostruma može se obaviti kod same krmače neposredno nakon poroda, čime se poboljšava vjerojatnost da proizvođači donose pravovaljane i pravovremene odluke na temelju rezultata ispitivanja.

Broj stranica: 103

Broj slika: 42

Broj tablica: 29

Broj literaturnih navoda: 93

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: svinje, kolostrum, imunoglobulin G, Brix refraktometar, radijalna imunodifuzija

Datum obrane: 06. lipnja 2016.

Povjerenstvo za obranu:

1. **doc. dr. sc. Ivona Djurkin Kušec** – predsjednica
2. **prof. dr. sc. Goran Kušec** – mentor i član
3. **doc. dr. sc. Vladimir Margeta** – član
4. **prof. dr. sc. Boris Antunović** – član
5. **prof. dr. sc. Elizabeta Has-Schön** – član

Disertacija je pohranjena u:

Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu, Sveučilište u Rijeci, Sveučilište u Splitu

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

PhD thesis

Faculty of Agriculture in Osijek

Postgraduate university study: Agricultural sciences

Course: Animal Breeding

UDK: 636.4 : 619

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Agriculture

Branch: Animal Breeding

INFLUENCE OF IMMUNOGLOBULIN G (IgG) ON THE HEALTH STATUS AND PRODUCTIVE TRAITS OF WEANED PIGLETS

Vice Čuljak, DVM

Thesis performed at Faculty of Agriculture in Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Supervisor: Prof. Dr. Goran Kušec

Summary: The aim of this study was to evaluate the usefulness of Digital Brix refractometer as one of the methods for measuring the concentration of immunoglobulin G (IgG) in sows colostrum after comparing with the results obtained by laboratory testing of colostrum samples with method of radial immunodiffusion (RID). Next step was to determine the amount of immunoglobulin G (IgG) in sow colostrum 0 hours of the start of farrowing and the impact of the concentration of immunoglobulin G (IgG) on the health status and production performance of piglets to the weaning. The study was conducted on 120 cows and gilts on two commercial reproduction farm in eastern Croatia (Farm 1 and Farm 2) that are in the system of two different hybrid programs (A and B) engaged in the production and breeding of pigs for fattening to the average body weight of 25 kg. From each sow, during the first hour after the farrowing, through three cycles of sampling, from one of the front teats were taken (milked by hand) into a sterile test tube of 10 mL of colostrum for Refractometric analysis. Colostrum was stored immediately after collection at a temperature of -20°C. Besides the above mentioned 640 samples of colostrum for refractometers there was collected a total of 100 samples for radial immunodiffusion (RID), in parallel with the samples for measurement using a digital Brix refractometer. These samples were taken at the same time on the following two farms of the 50 samples, on each farm also in 3 occasions of sows that have different numbers of farrowing. Frozen colostrum samples were used for laboratory tests in which was determined the chemical composition of colostrum and immunoglobulin G (IgG). RID values determined in this study was between 60 and 80 g/L. Compared with the previously published data our values was lower, but they did not have a negative effect on the survival of piglets during the first days of life. Brix values determined in colostrum of sows were between 23.6% and 27.7%. Brix values above 22% indicate a good quality of colostrum and high concentration of immunoglobulin G. Average Brix value determined by analyzing a sample of colostrum for 8 lactation at two different farms indicate that the sows colostrum on the farm A had a slightly higher value compared with the sows colostrum from farm B, but these values were not statistically significant. Notable are slightly lower Brix value in the second and third lactation, followed by a linear increase in value, which is consistent with previous research. Comparison RID and Brix method of determining the content and concentration of immunoglobulin G resulted in a clear linear relationship between the calculated results. On farm A correlation coefficient between Brix and RID was $r = 0.81$, $p < 0.001$ and on the farm B the correlation coefficient was $r = 0.75$, $p < 0.001$. Taking into consideration high correlation coefficient, on the basis of a submitted, we can conclude that Brix refractometer provides affordable and reliable estimate of IgG concentration in sow colostrum and as such it can be used in wide practice. The concentrations of IgG in sow colostrum measured by using a digital Brix refractometer does not differ from the concentration determined by conventional methods. There was no difference between concentrations of IgG in the content of colostrum from different animals immediately after farrowing. During the research there was determined the production traits of sows and the piglets during the suckling period and at the same period there was observed and recorded health status of piglets. There were no statistically significant differences between two different sows hybrid on the two farms in terms of all determined reproductive and productive parameters. These results confirm the fact that the highly intensive pig production today uses hybrids that are very similar in

terms of its properties. There were no statistically significant differences in the number of piglets, the average body weight of piglets at the weaning, the average litter weight at weaning and average daily gain between pigs at both farms. Between groups of piglets there were no statistically significant differences in rates of illness from pneumonia and diarrhea, and in terms of mortality rates of piglets. The determined values indicate on the high level of biosecurity and hygiene measures implemented on farms involved in the survey, since the rate of disease as well as the mortality rate was very low. The concentration of IgG significantly affects the health status and production performance of piglets to the weaning. The determined value of the content and concentration of IgG in the sows colostrum on both farms and established production traits and health status of piglets, suggest an association between concentration and content of IgG determined by Brix and RID method with production specifications and the health status of piglets during the suckling period. This indicates that the application of Brix refractometry can be substantially for the producers, especially in the most sensitive part of the production, and it is the breeding of the piglets. The method of determined the content of IgG in the sows colostrum has an advantages over the other methods of assessing the level of IgG, since the Brix refractometer is inexpensive, readily available, less reliable and less susceptible to variations in the temperature of colostrum, season and other factors, and requires minimal equipment and training. Evaluation of colostrum can be conducted at sows directly after the farrowing, which can improve the possibility for producers for making the valid and timely decisions based on test results.

Number of pages: 103

Number of figures: 42

Number of tables: 29

Number of references: 93

Original in: Croatian

Key words: pigs, colostrum, immunoglobulin G, Brix refractometer, radial immunodiffusion

Date of the thesis defense: June 6th, 2016.

Reviewers:

1. **PhD Ivona Djurkin Kušec, Assistan Professor** – President
2. **PhD Goran Kušec, Full Professor** – Mentor and member
3. **PhD Vladimir Margeta, Assistant Professor** – Member
4. **PhD Boris Antunović, Full Professor** – Member
5. **PhD Elizabeta Has-Schön, Full Professor** – Member

Thesis deposited in:

National and University Library, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, University of Zagreb; University of Rijeka; University of Split

KAZALO

1.	UVOD	1
2.	PREGLED LITERATURE	4
2.1.	Kolostrum	4
2.2.	Čimbenici koji djeluju na konzumaciju kolostruma	10
2.3.	Kemijski sastav kolostruma	15
2.4.	Imunoglobulini	19
2.5.	Procjena kvalitete kolostruma	26
2.5.1.	Radikalna imunodifuzija (RID)	27
2.5.2.	Hidrometar / kolostrometar	30
2.5.3.	Refraktometrija	32
2.6.	Proizvodna svojstva prasadi tijekom dojnog razdoblja	37
3.	CILJ ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE	40
4.	MATERIJAL I METODE RADA	41
4.1.	Materijal	41
4.1.1.	Lokacija	41
4.1.2.	Životinje	42
4.1.3.	Uzorkovanje	46
4.2.	Metode	47
4.2.1.	Priprema uzoraka	47
4.2.2.	Analiza pomoću digitalnog Brix refraktometra	48
4.2.3.	Jednosmjerna radikalna imunodifuzija - RID (Mancinijev postupak)	50
4.2.4.	Analiza kemijskog sastava kolostruma	53
4.3.	Statistička obrada podataka	55
4.3.1.	GLM procedura	56
5.	REZULTATI I RASPRAVA	57
5.1.	Sastav kolostruma	57
5.2.	Imunoglobulin G (IgG)	70
5.2.1.	Radikalna imunodifuzija (RID)	70
5.2.2.	Brix refraktometrija	72
5.2.3.	Procjena uspješnosti Brix metode za utvrđivanje sadržaja IgG u kolostrumu	74
5.3.	Zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi	77
5.3.1.	Povezanost sadržaja imunoglobulina G s proizvodnim svojstvima i zdravstvenim statusom prasadi	82
6.	ZAKLJUČCI	88
7.	LITERATURA	91
8.	SAŽETAK	98
9.	SUMMARY	100
	ŽIVOTOPIS	102

1. UVOD

Svinjogojstvo je tradicionalna stočarska i gospodarska grana u Republici Hrvatskoj. Osim velikog broja obiteljskih poljoprivrednih gospodarstva na kojima se drže i uzgajaju svinje kao dio tradicionalne proizvodnje, svinje se uzgajaju i u modernim automatiziranim sustavima te time svinjogojstvo kao grana poljoprivrede zauzima značajno mjesto, kako u stočarskom dijelu proizvodnje, tako i u pogledu poljoprivrede uopće. Visoki stupanj intenzifikacije svinjogojske proizvodnje zahtijeva organiziranje i provedbu proizvodnih procesa koji će do maksimuma iskoristiti visoki genetski potencijal suvremenih pasmina, tipova i hibrida svinja u pogledu reproduktivnih i proizvodnih rezultata. O stupnju iskorištenosti genetskog potencijala ovisi uspješnost cjelokupnog procesa svinjogojske proizvodnje. Najosjetljiviji dio proizvodnog ciklusa svinjogojske proizvodnje je razdoblje nakon prasnja do odbića (zalučenja) prasadi ili dojno razdoblje.

Prva cjelovita hrana koja je dostupna novorođenoj prasadi je kolostrum. Kolostrum se izlučuje iz mliječne žlijezde odmah nakon prasnja i unutar nekoliko sati, njegov sastav se mijenja vrlo brzo i dalje predstavlja mlijeko krmače. Stjecanje visoke kvalitete kolostruma važan je faktor koji utječe na zdravlje novorođene prasadi.

Kolostrum sadrži funkcionalne proteine, imunoglobuline (Ig), masti, minerale i vitamine kako bi se osiguralo buduće zdravlje podmladka. Najvažniji imunološki sastojci kolostruma su imunoglobulini (Ig), važni u neutralizaciji toksina, virusa i bakterija. Oni predstavljaju pasivnu imunološku zaštitu jer obnavljaju i jačaju imunološke funkcije.

Novorođenoj prasadi koja tijekom prvih tjedana života ne primi kolostrum prijeti slab prinos na težini te, u većini slučajeva, takva prasad ne preživi. Kako bi se osiguralo preživljavanje i željeni zdravstveni status prasadi, ključno je da prasad na vrijeme posisa kolostrum odgovarajuće kakvoće u pogledu sadržaja hranjivih tvari. Jedna od značajnih metoda koja može pomoći u definiranju proizvodno-tehnoloških parametara jest procjena kvalitete kolostruma neposredno nakon prasnja krmača.

Danas su u svrhu procjene kvalitete dostupne različite metode, međutim nisu sve pogodne za upotrebu na farmama. Glavni razlog tome je to što bi metoda procjene kvalitete kolostruma na farmi trebala biti brza, jednostavna za korištenje, cijenom prihvatljiva i točna.

Najpreciznija metoda vrednovanja sadržaja u IgG u kolostrumu je radijalna imunodifuzija (RID). Nažalost, RID je laboratorijska metoda koja zahtjeva oko 18 do 24 sata za utvrđivanje rezultata, te kao takva nije primjenjiva na farmama.

Vizualna procjena, kao što je viskoznost ili gustoća je najčešći način za procjenu kvalitete kolostruma, ali nije dobar pokazatelj razine antitijela jer komponente kolostruma, poput masti i proteina, mogu promijeniti vizualni izgled kolostruma, ali ne i odražavati razinu antitijela.

Procjena kvalitete kolostruma pomoću hidrometra/kolostrometra je jeftina, nudi brze rezultate i jednostavna je za korištenje. Ona mjeri specifičnu težinu kolostruma pomoću plutajućeg stakla. Specifična gustoća je učinkovit način za mjerenje razine antitijela, jer antitijela predstavljaju veliki dio proteina u kolostrumu, a proteini čine visok postotak ukupne suhe tvari koja visoko korelira sa specifičnom težinom. Hidrometri/kolostrometri su učinkovitiji od vizualne procjene kvalitete kolostruma, ali su temperaturno osjetljiviji i zahtijevaju veću količinu kolostruma potrebnu za testiranje. Osim toga, plutajuće staklo je krhko, lako se razbije i skupo je za zamjenu.

Nova metoda za mjerenje kvalitete kolostruma, a koja je obećavajuća za proizvođače, je mjerenje pomoću refraktometra. Refraktometrija je optička pojava koja se zasniva na prelamanju svjetlosnih zraka na granici dviju različitih sredina u kojima se svjetlost rasprostire različitom brzinom. Rezultat mjerenja je indeks prelamanja, n . Refraktometrijski određena suha tvar predstavlja u vodi topljive tvari. Suha tvar se određuje specijalnim instrumentom - refraktometrom koji je podesan za brzu analizu sirovina i sadržaja suhe tvari. Prednost ove metode je u brzini, jednostavnosti i upotrebi malih količina uzorka.

Brix refraktometri, odnosno „Brix“ skala obično se koristi za mjerenje šećera u sadržaju voća, povrća, javorovom sirupu, medu i vinu. Istraživanja objavljena u posljednjih nekoliko godina podržala su valjanost korištenja Brix refraktometra za mjerenje ukupne suhe tvari u kolostrumu, koji je tada u korelaciji s IgG sadržajem.

Refraktometri su dovoljno točni, izdržljivi, cjenovno pristupačni, a rezultati su gotovo trenutni i ne ovise o temperaturi kolostruma te zahtijevaju samo nekoliko kapi uzorka. Brix refraktometri mogu biti optički i digitalni. Digitalni refraktometar ima sve prednosti optičkoga, ali daje digitalno očitavanje i eliminira potrebu za tumačenje linije razgraničenja. Nekoliko kapi stavi se u za to predviđeno mjesto na uređaju, a Brix vrijednost prikaže se na digitalnom očitavanju.

Cilj ovog istraživanja je procijeniti digitalni Brix refraktometar za mjerenje kvalitete kolostruma u usporedbi s laboratorijskom pretragom RID, te utvrditi utjecaj izmjerene količine imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu kod kрмаča na smrtnost i proizvodna svojstva prasadi do odbića.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Kolostrum

Kolostrum ili mljezivo je prva i osnovna hrana mladunčadi sisavaca pa tako i prasadi, u ranom postnatalnom razdoblju. To je oblik mlijeka proizveden u mliječnoj žlijezdi sisavaca u kasnoj trudnoći i nekoliko dana nakon poroda (Complete Guide to Colostrum, 2015.). Izlučuje se iz vimena odmah nakon porođaja i unutar nekoliko sati te je bogat izvor visoko probavljivih hranjivih tvari, presudnih za opstanak novorođene prasadi (The Pig site, 2015.).

Odlikuje se visokim sadržajem bjelančevina, od kojih najveći dio pripada skupini imunoglobulina. Imunoglobulini kolostruma najodgovorniji su za prenošenje pasivne imunosti s majke na potomstvo (Ehrlich, 1892.; Hajsig i sur., 2012.). Osim bjelančevina, kolostrum sadrži i vrlo značajnu količinu hranjivih energetske tvari, prvenstveno mliječne masti (El-Fattah i sur., 2012.). Sadržaj mliječne masti u kolostrumu značajan je za prasad budući da ona u prvim danima života nemaju dovoljno razvijen termoregulacijski sustav, a rezerve energije uskladištene u tjelesnim mastima su vrlo niske (Herpin i Le Dividich, 1995.; Strekozov i sur., 2008.).

Hranjive i korisne tvari iz kolostruma potiču razvoj sustava za termoregulaciju i glukoneogenezu u prvim danima postnatalnog života prasadi. Mineralne soli koje se u kolostrumu nalaze u obliku magnezij-sulfata, povoljno utječu na odstranjivanje mekonija i peristaltiku crijeva prasadi, a posredno i na iskorištavanje hranjivih tvari iz kolostruma.

Nadalje, u kolostrumu se mogu pronaći i hormoni, citokini, faktori rasta i leukociti. Faktori rasta sudjeluju u regulaciji proliferacije i diferencijacije stanica želučano-crijevnog i imunološkog sustava. Njihova biološka funkcija je još uvijek nedovoljno jasna te su potrebna dodatna istraživanja kako bi se u potpunosti objasnila. Tijekom prvih tjedana života, prasad je ovisna o majčinom mlijeku. Razdoblje života prasadi do odbića je najkritičnija faza života u kojoj se događaju i najveći gubici tijekom proizvodnog ciklusa (King'ori, 2012.).

Osim što pruža imunološku podršku, kolostrum ima i značajnu ulogu u obnovi i izgradnji mišićno-koštanog sustava (Uruakpa i sur., 2002., El-Loly, 2007.).

Leukociti koji kolostrumom krmače dopijevaju u tanko crijevo praseta migriraju u mezenterijske limfne čvorove i ostala tkiva gdje sudjeluju u imunosnoj reakciji potaknutoj mitogenima. Prasad može posisati različitu količinu kolostruma, čime je i unos količine protutijela različit, a razdoblje trajanja pasivne imunosti nije jednako kod sve prasadi. Koncentracija protutijela krmače smanjuje se na 1-3% kod prasadi tijekom 60 dana (Božić, 2006.).

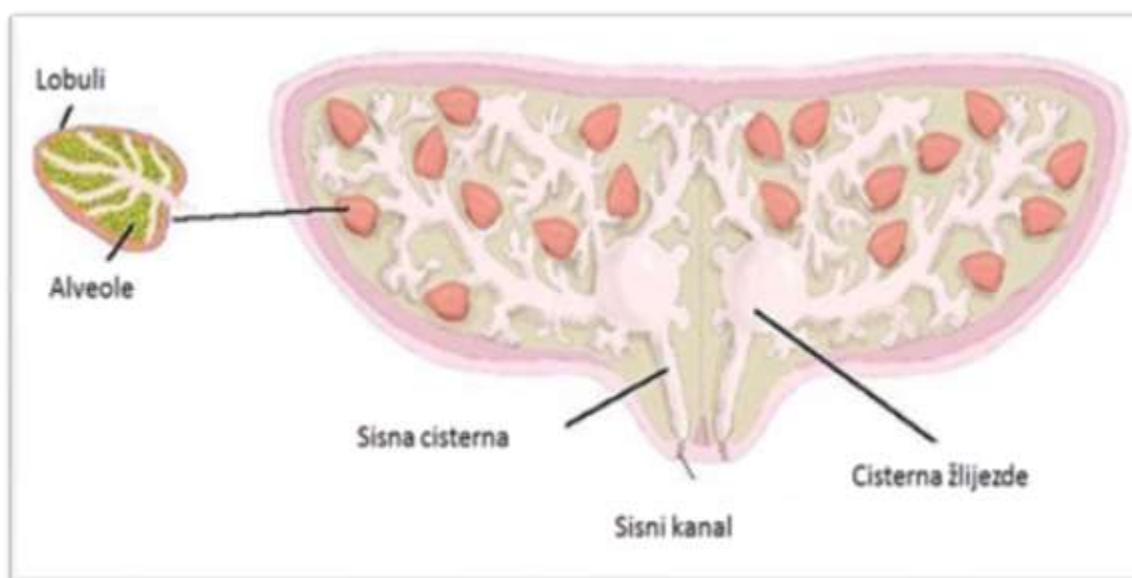
Kolostrum nastaje u procesu koji se naziva kolostrogeneza, kao posljedica zasebne fiziološke i funkcionalne faze mliječne žlijezde koja je značajno različita od njezine primarne uloge tj. proizvodnje mlijeka (Jensen i Stangel, 1992.; Barrington i sur., 2001.). U domaćih preživača, primarna razlika između kolostruma i mlijeka je visoka koncentracija kolostralnih imunoglobulina, posebno imunoglobulina G (IgG). Nastanak kolostruma i prijenos preko posteljice IgG iz majčine cirkulacije u mliječne izlučevine je konačni stadij ciklusa laktacije (Barrington i sur., 2001.). Prijenos IgG započinje nekoliko tjedana prije porođaja, a prestaje naglo neposredno prije porođaja (Brandon i sur., 1971., Girard, 1986.). Tijekom kolostrogeneze, homologna i heterologna IgG koncentracija je preko 100 puta viša nego koncentracija serumskog albumina (Goff i Horst, 1997.).

Mehanizam i regulacija kolostrogeneze nisu tako dobro poznati kao druge faze razvoja mliječne žlijezde. Postoje jasni dokazi da je kolostrogeneza regulirana dijelom od strane laktogenih hormona, kao što su estrogen i progesteron, koji su neophodni za inicijaciju i prijenos IgG u mliječnu žlijezdu (Barrington i sur., 2001.) te je pod utjecajem lokalnih mehanizama unutar mliječne žlijezde. Jednostavan primjer za to je promjena IgG sadržaja i sastav izlučivanja između pojedinačnih četvrti istog vimena (Guidry i sur., 1979.).

Imunoglobulin G prenosi se iz krvotoka preko stjenke vimena pomoću transportnog mehanizma. Specifični receptori (Fc receptori) na mliječnim alveolarnim epitelnim stanicama vežu IgG iz izvanstanične tekućine, čije molekule prolaze endocitozom, transportiraju se i konačno otpuštaju u luminalni sekret (Larson, 1980.). Za selektivni prijenos IgG u mliječnu žlijezdu potrebne su dvije odvojene funkcije. Posebni Fc receptori za IgG moraju biti zastupljeni u bazalnoj membrani plazme sekretornih stanica, pozicionirani za vezanje liganda iz izvanstanične tekućine (Day i Schultz, 2013.).

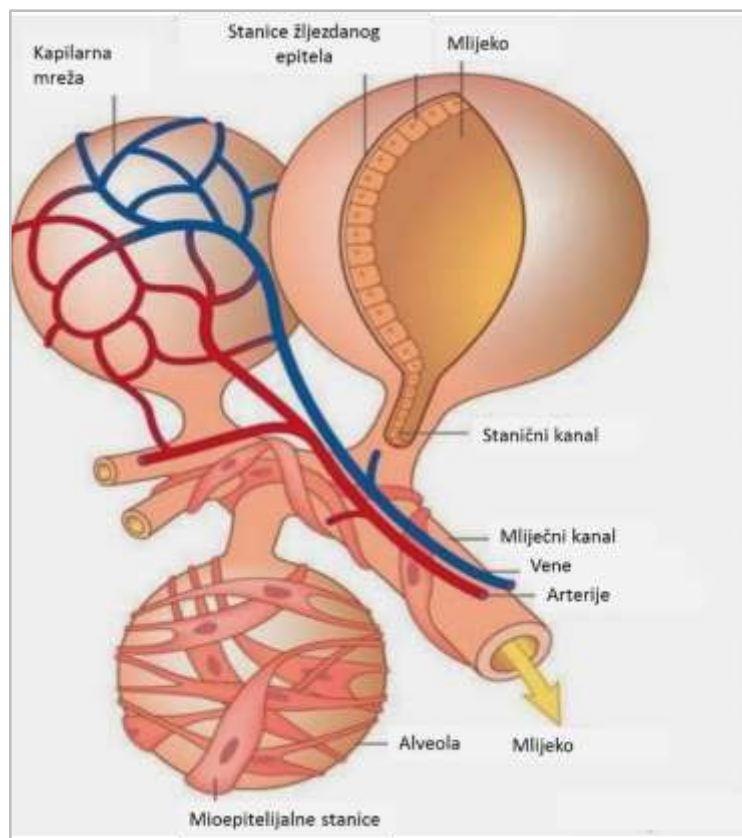
Kolostrogeneza prestaje prije ili neposredno nakon početka laktacije, što sugerira da su hormoni zaduženi za nastanak mlijeka (laktogenezu) odgovorni i za regulaciju prestanka prijenosa IgG (Barrington i sur., 2001., Kalantaridou i sur. 2004.). Winger i sur. (1995.) zaključili su da farmakološke doze deksametazona koji se daje kravama protiv upalnih procesa vimena, rezultiraju značajnim padom koncentracije IgG. Ovaj rezultat u skladu je s prihvaćenom ulogom glukokortikoida kao dijela laktogenog kompleksa koji aktivira pojavu lučenja mlijeka. Međutim, glukokortikoidi mogu izazvati indukciju preranog poroda i to bi moglo rezultirati prekidom trudnoće, a ne konkretnim učincima hormona koji bi se mogli objasniti smanjenjem IgG prijenosa u mliječnu žlijezdu (Barrington i sur., 2001.). Vrlo je vjerojatno da kombinacija koncentracije hormona ima značajnu ulogu u regulaciji kolostrogeneze i laktogeneze.

Kolostrum nastaje u mliječnoj žlijezdi neposredno prije poroda. Mliječna žlijezda svinje sastoji se iz niza kanalića čiji se broj i veličina tijekom razdoblja bređosti značajno povećaju. Ti kanalići se račvaju u manje kanaliće (*ductules*). Na kraju svakog kanalića je skup malih vrećica nalik grozdu (*alveole*). Grozd alveole naziva se režnjić (*lobula*), a grozd režnjića naziva se režanj (*lobulus*). Svaka sisa sadrži između 15 i 20 režnjeva, s jednim mliječnim kanalom za svaki režanj (Slika 1.).



Slika 1. Presjek mliječne žlijezde kod krmače
(Izvor: <http://animalsciences.missouri.edu/reprod/notes/mammary/pigmamm.htm>)

Neposredno prije poroda, uslijed aktivacije hormona prolaktina, u alveolama se nakupljaju bjelančevine, šećeri i masti iz krvi koji stvaraju kolostrum (Slika 2.)



Slika 2. Shematski prikaz nastajanja kolostruma u mliječnoj žlijezdi
(Izvor: <http://explainagainplease.blogspot.hr/2014/04/synthesis-and-composition-of-colostrum.html>)

Čimbenici koji utječu na sintezu kolostruma te razlike kolostruma između pojedinih krmača nisu u cijelosti poznati. Ovi čimbenici dijele se na genetske i negenetske. Od negenetskih čimbenika svakako je najznačajnija hranidba krmača prije poroda tijekom bređosti i neposredno prije poroda. Kako bi se osigurao pozitivan balans energije nužno je da prasad posiše kolostrum tijekom prvih 24 sata nakon prasnja. Promjena kemijskog sastava kolostruma događa se već od prvog sata nakon prasnja (Le Dividich i sur., 2005.; Rolinec i sur., 2012., Tablica 1.).

Tablica 1. Srednje vrijednosti koncentracija sirovih bjelančevina, masti, laktoze i suhe tvari u kolostrumu krmače u prvih 12 sati (Rolinec i sur., 2012.)

Sati od početka prasenja	Sirove bjelančevine, %	Mast, %	Laktoza, %	Suha tvar, %
2. sat	13,59	3,43	2,82	21,91
4. sat	11,31	4,01	3,08	20,23
6. sat	10,58	3,75	3,07	19,47
8. sat	9,76	5,21	3,14	19,78
10. sat	9,54	3,67	3,55	18,34
12. sat	8,85	4,95	3,39	18,74

Minimalni prag zahtjeva za unosom kolostruma odmah po rođenju kod prasadi je nepoznat, no spoznaje temeljene na istraživanjima ukazuju da će prasad konzumirati 150-280 g/kg tjelesne težine kolostruma ubrzo nakon rođenja, dok je sam unos kolostruma po rođenju kod prasadi vrlo promjenjiv i može biti u rasponu od 200 do 450 g/kg tjelesne težine. U modernoj svinjogojskoj proizvodnji cilj je osigurati da prasad dobije minimalno 100 ml kolostruma u prvih 16 sati (BPEX, 2008.).

Značaj pravovremenog unosa kolostruma u dovoljnoj količini ogleda se u njegovom djelovanju na imuni odgovor novorođene prasadi. Međutim, pored značaja za stvaranje pasivne imunosti, kao i nutritivnog značaja, unos kolostruma u organizam novorođene prasadi utječe i na razvoj probavnog sustava prasadi. Za to su naročito značajne bioaktivne tvari kao što su IGF-I i inzulin. Ove tvari stimulativno djeluju na razvoj crijevnog sustava novorođene prasadi, što rezultira maksimalnim iskorištenjem hranjivih tvari i imunoglobulina iz kolostruma i mlijeka u kasnijem razdoblju, čime se izravno i neizravno utječe na zdravstveni i nutritivni status te rast mladunčadi.

Kako vrijeme nakon poroda odmiče, tako se i smanjuje sadržaj suhe tvari, ukupnih bjelančevina i imunoglobulina u kolostrumu, a sukladno tome i sadržaj bioaktivnih tvari. Dinamika i razina opadanja navedenih nutritijenata specifična je za svaku vrstu, ovisno o nutritivnim i energetske potrebama mladunčadi kako bi se omogućilo njihovo preživljavanje u prvim danima života (Sjaastad i sur., 2003.; Kirovski i sur., 2013.).

Koncentracija IgG u krvnoj plazmi prasadi u pozitivnoj je korelaciji s količinom posisanog kolostruma. Ukoliko je količina konzumiranog kolostruma niska (150-160 g/dan) bit će onemogućeno razvijanje pasivne imunosti kod prasadi u prvim danima života. Ukoliko je konzumacija kolostruma u količini od 250 g tijekom prva 24 sata nakon prasnja, uz razvoj pasivne imunosti, smanjit će se i postotni udio uginuća prije odbića, a ta količina kolostruma pozitivno će utjecati na prirast tjelesne težine prasadi u prvim tjednima života (Quesnel, 2011.).

Krmača proizvede 3,3 do 3,7 kg kolostruma tijekom prvih 24 sata nakon prasnja. S obzirom na količinu koju prasad treba posisati, to je zadovoljavajuća proizvodnja (Quesnel i sur., 2009.; Quesnel, 2011.a). Slični rezultat za prosječnu količinu sintetiziranog kolostruma ($3,67 \pm 0,14$ kg) tijekom prva 24 sata nakon prasnja utvrdili su i Devillers i sur. (2007.).

2.2. Čimbenici koji djeluju na konzumaciju kolostruma

Opstanak i rast prasadi je glavna svrha proizvodnje svinja i na to utječu prinos i sastav mlijeka. Hranidba utječe na sastav i prinos kolostruma i mlijeka, međutim i drugi čimbenici, kao što su genetska osnova, način uzgoja i dobrobit životinja, također mogu imati utjecaj (Elliason i Isberg, 2011.).

Prasad počinje konzumirati kolostrum 20-30 minuta nakon rođenja. Porođajna težina, redni broj prasnja i veličina legla čimbenici su koji utječu na količinu posisanog kolostruma. Sinteza kolostruma, njegova količina i sastav ovise, najvećim dijelom, o genotipu krmače. Prasad koja ima veću tjelesnu težinu lakše će se izboriti za položaj na

sisi te tako posisati veću količinu kolostruma. Prasad koja je rođena ranije ima veću prednost u zauzimanju položaja na sisi. Poznato je da se u kaudalnom dijelu vimena sintetizira veća količina mlijeka, tako da prasad koja zauzme prednje sise ima veće izgleda za bolje napredovanje zbog izdašnijeg izvora mlijeka. O ovoj činjenici treba voditi računa i prilikom ujednačavanja legla, tako da nešto lakšu i sitniju prasad treba stavljati na prednje sise.

Kada prasad zauzme određenu sisu, ona na njoj ostaje sisati tijekom cijelog dojnog razdoblja (Slika 3.) Temeljni mehanizam izbora koji vodi svako prase na istoj poziciji za sisanje još uvijek nije razjašnjen. U istraživanju koje su proveli Skok i Škorjanc (2014.), prasad s različitim preferiranim pozicijama za sisanje mlijeka (prednja, stražnja) prebačeni su u domiteljskoj krmači nakon završetka redovitih 4 tjedana dojenja kod njihove biološke majke i odojci su zauzeli točno iste sisajuće pozicije. Dakle, prasad upravo prati pozicije na mliječnom kompleksu vimena čak i kada su promijenjeni prije naučeni podražaji, poput mirisa, okusa, morfologije (vimena krmače ili same krmače), glasanja istog i susjednog legla. Njihova promatranja pokazuju da prostorna konfiguracija mliječnog kompleksa, koji određuju dva paralelna reda sisa raspoređenih u parovima, hipotetički može predstavljati važan znak za orijentaciju sisajuće prasadi. Istraživanja Andersena i sur. (2007.) pokazala su da pomaganje prasadi da dobije kolostrum odmah nakon rođenja statistički značajno utječe na smanjenje smrtnosti istih.

Nadalje, temperatura okoliša (objekta) također je jedan od čimbenika koji utječe na konzumaciju kolostruma. Potrošnja kolostruma i rektalna temperatura (RT) izmjereni kod prasadi držanih na temperaturi od 18 do 20°C (CG = hladna skupina) i na 30 do 32°C (WG = topla skupina) tijekom prvog dana života, pokazala je da na sobnoj temperaturi od 18 do 20°C prasad konzumira 36,8% manje kolostruma od legla prasadi držanih na 30 do 32°C. Ukupno 5 od 39 prasadi (CG) uginulo je 3 dana nakon rođenja, dok je svih 41 prasadi (WG) preživjelo. Rezultati dokazuju da je stres uzrokovan hladnoćom glavni uzrok smrtnosti i razbolijevanja kod prasadi (Le Dividich i Noblet, 1981.).



Slika 3. Prasad tijekom prvih sati nakon prasenja sisa kolostrum
(Izvor: <http://veterinarynews.eu/>)

Kelley i sur. (1982.) su istraživanjem kod 56 prasadi držanih na temperaturi od 35°C i 21°C utvrdili da je prasad držana na 35°C imala stopu preživljavanja od 62% kroz 48 sati, dok je stopa preživljavanja kod prasadi izložene hladnoći iznosila samo 36%. Unatoč tome, apsorpcija kolostralnih IgG1 i IgM nije bila narušena niti smanjena uslijed izloženosti hladnoći. To pokazuje da hladni stresor ne narušava apsorpciju kolostralnih makromolekula u prasadi. Međutim, izloženost hladnoći povezana je s povećanom učestalošću i ozbiljnošću proljeva.

Declerck i sur. (2015.) ističu da je jedno od najznačajnijih svojstava unosa kolostruma (CI – colostrum intake), kolostralnog prinosa (CY – colostrum yield) i kolostralnog sastava (CC – colostrum composition) u svinja njegova varijabilnost. Istraživanje čimbenika koji utječu na kolostralni prinos i kolostralni sastav provedeno je u 10 komercijalnih stada na ukupno 100 krmača 5 različitih hibrida, uključujući ukupno 1455 njihove živorođene prasadi. Kolostralni prinos krmača procijenjen je od strane kolostralnog unosa njihove prasadi za vrijeme sisanja, pri čemu je sastav kolostruma

analiziran pomoću LactoScope Fourier transform infrared spektroskopijom. Prosječni rezultat za kolostralni prinos iznosio je 3500 ± 110 g, prosječni postotni udio kolostralne masti (CF - colostral fat) $5,39 \pm 0,12$, bjelančevina $16,49 \pm 0,14$, a prosječni postotni udio laktoze u kolostrumu bio je $2,02 \pm 0,05$. Učinak krmača, legla i porođajnih čimbenika na CY i CC ocijenjeni su po linearnom mješovitom regresijskom modelu. Krmače s duljinom bređosti (GL - gestation length) od 113 dana imale su veći CY (4178 ± 506 g) od krmača s GL od 114 do 115 dana (3342 ± 107 g; $P = 0,04$). Interakcija je pronađena između legla porođajne težine sisajuće prasadi (LWSP – litter birth weight of suckling piglets) i GL ($P = 0,03$). U krmača s GL od 114 do 115 dana, CY je povećan s višim LWSP ($P = 0,009$). Kraće razdoblje između rođenja i prvog sisanja kod legla povezana je s višim CY ($P < 0,01$). Postotak masti u kolostrumu je veći u Hypor krmača ($6,35 \pm 0,51$) u odnosu na PIC ($4,98 \pm 0,27$, $P = 0,001$), Topigs 20 ($5,05 \pm 0,14$, $P < 0,001$) i Danbred ($5,34 \pm 0,22$, $P < 0,001$) krmače. Postotak CF u negativnoj je korelaciji s paritetom ($P = 0,02$) i u pozitivnoj korelaciji s brojem živorođene prasadi ($P = 0,03$). Postotci kolostralnih bjelančevina i laktoze nisu značajno povezani s bilo kojim čimbenikom u multivarijantnom modelu. Istraživanje je pokazalo da su CY i CF određeni različitim krmačama i čimbenicima legla.

Charneca i sur. (2008.) utvrdili su sličan sastav kolostruma i mlijeka porijeklom od 10 krmača Alentejano pasmine (AL) i 10 krmača tropasminskih križanaca (LW x LR)x(LL), dok su AL krmače proizvele manje kolostruma. U oba genotipa, proizvodnja kolostruma ovisila je o težini, ali ne i o veličini legla, a unutar svakog genotipa potrošnja kolostruma ovisila je o porođajnoj težini prasadi. U oba genotipa, prašci koji su uginuli prije odbića bili su lakši pri rođenju i konzumirali su manje kolostruma ili (i) mlijeka od preživjelih. Po rođenju AL prašci bili su lakši nego LL prasad. Također im je prirast i unos kolostruma u prvih 24 h bio značajno niži ($P < 0,001$) od vrijednosti ostvarenih kod LL prasadi. Ovaj učinak porođajne težine na prirast od rođenja do 24 h nakon poroda te potrošnja kolostruma u skladu je s nalazima Le Dividicha i sur. (2004.) te Devillersa i sur. (2005.).

Iz Tablice 2. vidljivo je da kod oba genotipa prasad ugiba u ranom razdoblju. Svoj uginuloj prasadi zajednička je manja porođajna težina ($P < 0,001$) i manji prirast tjelesne mase ($P < 0,001$) tijekom prvih 24 sata u odnosu na preživjelu prasad. Procijeniti potrošnju kolostruma te prasadi nije moguće, jer mnoga od njih uginu prije 24 sata

života. Međutim, njihove tjelesne težine od rođenja do 24 sati starosti ili do vremena smrti ukazuju na to da ta prasadi konzumira puno manje kolostruma i (ili) mlijeka od prasadi koja je preživjela. To bi moglo značiti da je opstanak te prasadi dvostruko umanjen niskom porođajnom težinom i nižom konzumacijom kolostruma i (ili) mlijeka koja smanjuje snagu prasadi te njihovu sposobnost da se natječu za samo vime tijekom sisanja.

Tablica 2. Karakteristike prasadi uginulih nakon poroda u usporedbi s preživjelima (Charneca i sur., 2008.)

Pokazatelj	AL		LL		p<
	Uginula	Preživjela	Uginula	Preživjela	
Broj prasadi	20	62	16	96	0,001
Porodajna težina (BW) (g)	982 ± 42	1146 ± 24	1013 ± 62	1383 ± 25	0,001
Vrijeme uginuća (dan)	2,2 ± 0,6	-	3,2 ± 0,9	-	0,001
Prirast (rođenje-24 h) (g)	0 ± 14	86 ± 8	15 ± 24	129 ± 10	0,001
Tjelesna težina kod uginuća, g	1022 ± 73	-	1014 ± 80	-	

AL – Alentejano pasmina; LL - križanci

Devillers i sur. (2007.) navode da proizvodnja kolostruma krmača ovisi o veličini legla, što rezultira činjenicom da je minimalna količina kolostruma koju krmača izluči približno 1,91 kg, a maksimalna se kreće i do 5,31 kg. Sukladno tome, prosječni unos kolostruma od strane prasadi kreće se u granicama između 210 i 370 g/kg tjelesne težine. Minimalna količina kolostruma potrebna za preživljavanje prasadi je 160-170 g/kg tjelesne težine. Kod prasadi normalne porodne težine (1,35 do 1,50 kg) minimalne potrebe za kolostrumom kreću se u rasponu od 3,06 do 4,13 kg, s tim da su one znatno veće kod prasadi niže porodne težine (Tablica 3.).

Tablica 3. Odnos veličine legla i potreba za kolostrumom (Devillers i sur., 2007.)

Broj živorođene prasadi	Prosječna težina kod poroda (kg)	Minimalne potrebe za kolostrumom (kg)	Potrebe za kolostrumom kod prosječne konzumacije (kg)
12	1,50	3,06	5,22
14	1,45	3,45	5,89
16	1,40	3,81	6,50
18	1,35	4,13	7,05

Predočeni podatci ukazuju na potrebu reguliranja broja prasadi po krmači. Vrlo veliki broj prasadi u leglu rezultira, osim većih potreba prasadi za kolostrumom, i povećanim iscrpljivanjem krmače, budući da proizvodnja kolostruma zahtijeva veliki fiziološki napor i opterećenje za samu krmaču. Pravilnim menadžmentom možemo utjecati na preživljavanje prasadi te na poboljšanje zdravstvenog statusa istih, ali i na zdravstveno stanje krmače te njenu proizvodnost. Legla s velikim brojem prasadi (više od 14) nisu poželjna u svinjogojskoj proizvodnji budući da značajno podižu troškove proizvodnje.

2.3. Kemijski sastav kolostruma

Kemijski sastav kolostruma mijenja se tijekom razdoblja sisanja prasadi, što je utvrđeno istraživanjem Klobase i sur. (1987.) na 6 uzoraka kolostruma krmača u tijeku prvih sati od početka prasnja kod ukupno 20 krmača pasmine veliki jorkšir, različitog broja laktacija i različitih veličina legla. Utvrđeno je da je sadržaj suhe tvari u kolostrumu najviši u trenutku poroda i iznosi 25,6%, nakon čega opada i već nakon 12 sati poslije poroda dostiže vrijednosti koje su uobičajene za normalno krmačino mlijeko (Tablica 4.).

Tablica 4. Sastav mlijeka krmače tijekom laktacije (Klobasa i sur., 1987.)

Stadij laktacije	Suha tvar %	Mast %	Laktoza %	Ukupne bjelančevine %	Bjelančevine sirutke %	NPN ^c
0 h	25,6	5,0	3,1	15,7	14,3	0,11
6 h	22,7	4,8	3,4	13,0	10,9	0,11
12 h	18,4	4,9	4,1	8,8	7,0	0,09
18 h	17,7	5,2	4,4	7,3	5,6	0,09
24 h	17,3	5,6	4,6	6,4	4,6	0,10
48 h	18,6	6,5	4,8	6,4	3,9	0,12
72 h	19,0	6,7	5,2	6,1	3,7	0,12
5 d	18,4	6,5	5,5	5,5	3,2	0,13
7 d	18,3	6,7	5,6	5,4	3,0	0,12
14 d	18,2	6,4	5,9	5,1	2,7	0,13
21 d	18,7	6,6	5,8	5,2	2,8	0,14
28 d	18,1	6,1	5,8	5,4	2,8	0,14
35 d	17,6	5,5	5,7	5,7	3,0	0,15
42 d	17,0	5,3	5,4	6,0	3,1	0,15

^cNPN = neproteinski dušik

Tijekom sljedećih 12 sati udio suhe tvari se smanjuje i iznosi 18,4%. Udio masti u kolostrumu povećava se kontinuirano tijekom prvih sati nakon početka prasnja. Najviše vrijednosti javljaju se 18 sati nakon prasnja i iznose do 5,2%, dok su najniže vrijednosti zabilježene u prvim satima nakon početka prasnja.

Koncentracija sirovih bjelančevina na početku prasnja iznosi 13,59% te se značajno smanjuje tijekom sljedećih sati, da bi za vrijeme prvih 12 sati laktacije pala za gotovo 35%. Udio laktoze najniži je na početku prasnja i iznosi 2,82%. Tijekom sljedećih 10 sati dolazi do povećanja koncentracije laktoze na 3,55%. Smanjivanje koncentracija suhe tvari i bjelančevina uz istovremeno povećanje koncentracije masti ukazuje na prijelaz kolostruma u mlijeko krmače (Rolinec i sur., 2012.).

Promjene u sastavu kolostruma kod dva različita genotipa krmača (Alentajeno – AA i veliki jorkšir x landras – LL) u prvih 36 sati prikazane su u Tablici 5. Može se uočiti kako genotip nije značajno utjecao na promjenu sastava hranjivih tvari kod kolostruma i mlijeka. Sadržaj suhe tvari, laktoze, masti i koncentracija proteina ostaju praktički nepromijenjeni 6 h nakon rođenja prve prasadi. Nakon toga došlo je do postupnog smanjenja udjela proteina i postupnog povećanje udjela masti i laktoze. Međutim, sastav kolostruma tijekom prvih 36 sati nakon početka poroda je uglavnom sličan onima već opisanim u Tablici 4. (Klobasa i sur., 1987.).

Tablica 5. Utjecaj genotipa i vremena na sastav kolostruma i mlijeka (Charneca i sur., 2007.)

	Genotip	Kolostrum						Mlijeko
		0h	3h	6h	12h	24h	36h	15d
Suha tvar (%)	AA	27,3	27,5	26,0	21,1	20,4	21,0	19,0
	LL	24,9	24,4	23,7	22,8	19,9	21,0	19,8
Sirove bjelanč. (%)	AA	17,9	16,7	15,0	10,3	8,1	7,9	5,0
	LL	16,6	15,3	13,4	10,6	7,1	7,0	4,8
Ukupna mast (%)	AA	5,4	6,3	6,6	6,1	7,3	8,3	8,5
	LL	4,6	5,4	6,8	7,8	7,7	9,1	9,0
Laktoza (%)	AA	3,0	-	3,3	3,4	5,9	4,1	5,4
	LL	2,8	-	3,5	3,8	5,3	3,9	5,6

AL - Alentejano pasmina; LL - križanci

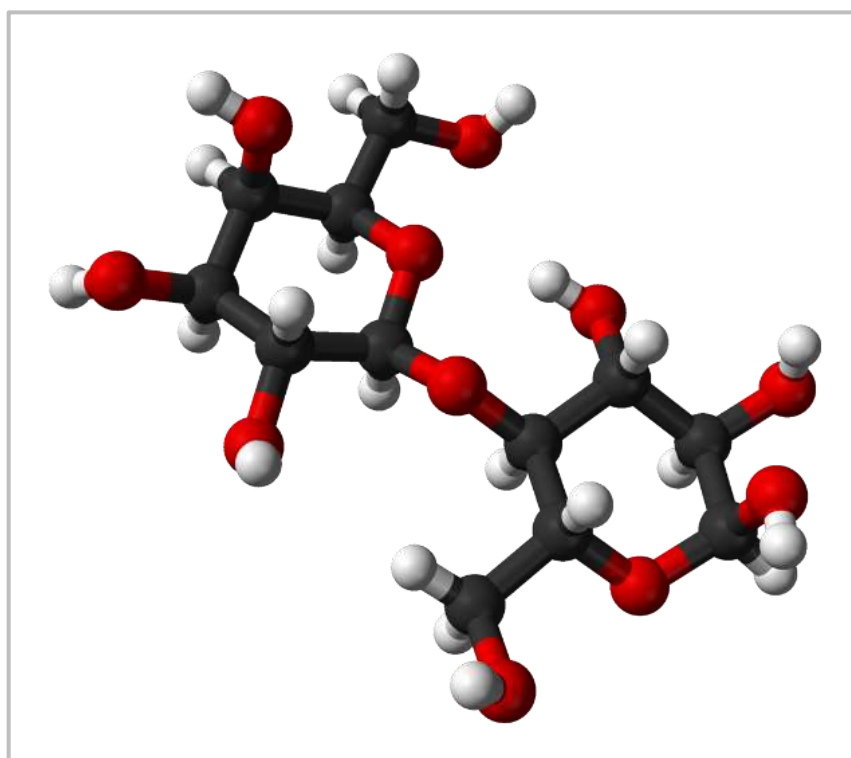
Osim osnovnih hranjivih tvari u kolostrumu krmača (bjelančevine, masti i mliječni šećer), kolostrum je značajan izvor i ostalih hranjivih tvari, te mikro- i makroelemenata koji koji imaju esencijalnu funkciju u preživljavanju, rastu i razvoju prasadi u prvim danima života (Tablica 6.).

Tablica 6. Kemijski sastav mlijeka krmače (u 100 ml) (Salobir i Rezar, 2009.)

Sastojak	Kolostrum	Mlijeko	Sastojak	Kolostrum	Mlijeko
Voda, g	75,2	81,3	Željezo, mg	0,2	0,2
Laktoza, g	3,4	5,3	Cink, mg	1,6	0,7
Masti, g	5,9	7,6	Sumpor, mg	-	3,6
Bjelančevine, g	15,1	5,5	Bakar, Mg	0,4	0,2
•kazein, g	1,48	2,74	Vitamin A, mg	169	96
•sirutkine bjel., g	14,75	2,22	Vitamin D, Mg	1,58	0,95
-serumski albumin, g	1,58	0,46	Vitamin E, Mg	390	266
-IgG, g	9,56	0,09	Vitamin K, µg	9,7	9,4
-IgA, g	2,12	0,53	Tiamin, µg	*	70
-IgM, g	0,91	0,14	Riboflavin, µg	*	280
•NPN**, g	0,3	0,3	Nikotinska kis., µg	*	740
Pepeo, g	0,7	0,9	Pantotenska kis., µg	*	460
Kalcij, mg	68	162	Folna kis., µg	*	0,39
Fosfor, mg	102	118	Biotin, µg	*	1,4
Kalij, mg	11	59	Vitamin B ₁₂ , µg	*	0,15
Natrij, mg	68	39	Vitamin C, mg	7,2	8,4
Magnezij, mg	89	9			

*nije mjereno; **NPN – neproteinski dušik

Mast u kolostrumu uglavnom se sastoji od dugolančanih masnih kiselina, a pod utjecajem je hranidbe krmače tijekom bređosti i laktacije. Sadržaj laktoze u kolostrumu je niži nego u mlijeku. Laktoza utječe na vezanje vode u alveolama te tako utječe na količinu sintetiziranog mlijeka (Slika 4.). To je jedan od razloga veće količine sintetiziranog mlijeka u odnosu na količinu kolostruma (Amusquivar i sur., 2010.; Elliason i Isberg, 2011.).



Slika 4. Molekula laktoze
(Izvor: <https://en.wikipedia.org/wiki/Lactose>)

2.4. Imunoglobulini

Osnovna funkcija imunskog sustava je obrana organizma od raznih živih uzročnika bolesti i stanica koje su organizmu strane. Samo kompetentan, posve razvijen imunski sustav je sposoban obavljati svoju osnovnu funkciju (Božić, 2006.). Pri rođenju su sve vrste sisavaca imunokompetentne, premda imunski sustav mladunčadi nije posve razvijen. Iz tog razloga imunski sustav u mladunčadi nije sposoban razviti optimalnu reakciju potaknutu antigenima niti obraniti mladunče od različitih vrsta infekcija, poglavito endemskih, odnosno, infekcija stada. Valja istaknuti da je kod sisavaca s kraćim razdobljem zrelosti imunski sustav nezreliji pri rođenju nego kod sisavaca s dužim razdobljem zrelosti.

U prvim danima, odnosno tjednima postporođajnog života mladunčad je zaštićena od raznih infekcija protutijelima majke i to predstavlja tzv. pasivnu imunost. Način postizanja pasivne imunosti protutijelima majke ovisi o vrsti životinje, odnosno o građi placente.

Pasivna imunost je, s obzirom na djelotvornost, dosta učinkovita u zaštiti mladunčeta, ali je vrlo kratkotrajna. S tim u vezi trajanje pasivne imunosti ovisi o vrsti životinje, odnosno o brzini prirasta mladunčeta. Kod životinja koje brže prirastaju, pasivna imunost traje kraće.

Mladunčad domaćih životinja rađa se s agamaglobulinemijom, bez mjerljiva sadržaja IgG ili IgM. Novorođenčad stječe pasivnu imunost apsorpcijom imunoglobulina iz kolostruma (Smith i sur., 1964.). Pasivna imunost može biti lokalna (imunoglobulini u crijevnom lumenu) i humoralna (imunoglobulini apsorbirani iz crijeva u krv; Lecce, 1984.). Novorođenčad se može svrstati u tri skupine, ovisno o tome kad stječe pasivnu humoralnu imunost (Lecce, 1984.). Prva skupina stječe pasivnu imunost nakon poroda. U ovu skupinu ubrajamo svinje, konje i preživače. Drugu skupinu čine sisavci koji stječu pasivnu imunost i prije i neposredno nakon poroda. Tu ubrajamo miševe, štakore, hrčke, pse i mačke. Sisavci treće skupine stječu pasivnu imunost prije poroda. Ova skupina uključuje ljude, primat i zamorce.

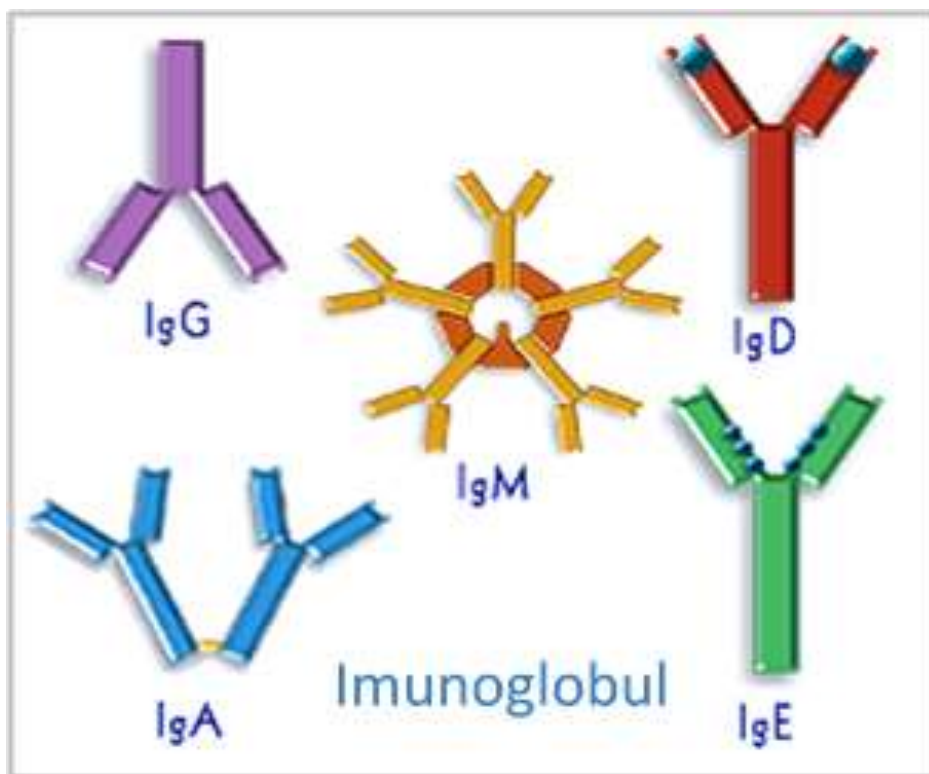
Kod prasadi je količina protutijela majke najveća u prva dva dana postnatalnog života, da bi se nakon toga progresivno smanjivala. Zbog toga je potrebno da se u što kraćem roku razvije imunosni sustav mladunčeta, kako bi mladunče steklo aktivnu imunost. Imunokompetencija se razvija proporcionalno dobi i može se očekivati da će tijekom odrastanja mladunče steći aktivnu imunost.

U određenom razdoblju postnatalnog razvoja moguća je pojava slabljenja pasivne imunosti tako da ne bude sposobna štititi mladunče od infekcije, a istodobno aktivna imunost još nije sasvim razvijena, tada mladunče postaje podložno infekciji. Potpuno razvijeni imunosni sustav kod sisavaca obilježavaju dva tipa imunosne reakcije, stanična i humoralna. Ravnoteža tih dvaju tipova imunosne reakcije, značajka je optimalne funkcije imunosnog sustava (Božić, 2006.).

Kolostrumom pasivna prenesena imunost, važna je zaštita zdravlja novorođenčeta. Novorođenoj prasadi, koja tijekom prvih tjedana života ne primi kolostrum, prijeti slab prinos na težini, ali i smrtnost. Kod ljudi je transport imunoglobulina (Ig) posteljicom vrlo učinkovit, pa se djeca rađaju s jednakom serumskom koncentracijom Ig kao i majka, dok se sisavci općenito mogu podijeliti u vrste s intenzivnim posteljičnim (placentalnim) prijenosom Ig (npr. ljudi, zečevi), vrste bez posteljičnog prijenosa, ali intenzivnim prijenosom Ig kolostrumom (npr. svinje, konji, krave, ovce, koze) i vrste koje koriste oba prijenosa Ig (npr. psi, miševi i štakori) (Božanić, 2004.).

Protutijela ili imunoglobulini su proteini koje nalazimo u krvi, mlijeku i drugim tjelesnim tekućinama. Ovi proteini su vitalne komponente imunološkog sustava (Wattiaux, 2014.).

Imunoglobulini su građeni od četiri lanca, dva teška i dva lagana te tvore „Y“ strukturu (Slika 5.). Imunoglobulin A je nositelj sekundarnog imunološkog odgovora (Rolinec i sur., 2012.).



Slika 5. Strukture imunoglobulina
(Izvor: <http://www.beltina.org>)

Podrijetlo imunoglobulina u izlučevini mliječne žljezde je humoralno, porijeklom iz krvi i lokalno, koje proizlaze iz proizvodnje od plazmocita u mliječnoj žlijezdi. Relativna važnost svakog od tih izvora varira ovisno o vrsti.

Razlikujemo imunoglobuline koji potječu iz kolostruma krmače i imunoglobuline mlijeka koji se pretežno sintetiziraju u vimenu (Naglić i Hajsig, 1993.). Imunoglobulini se dijele u nekoliko razreda. Kolostrumski imunoglobulini pripadaju razredima IgA, IgG i IgM. Tijekom prvih dana nakon prasnja kolostrum je najbogatiji imunoglobulinima.

Zbog nerazvijenog imunološkog sustava prasadi za vrijeme poroda ili neposredno nakon njega, prasad je izložena djelovanju mikroorganizama koji ne predstavljaju opasnost za odraslu životinju, no kod prasadi može uzrokovati septikemije ili enteritis (Naglić i Hajsig, 1993.). Prasad je rođena bez imunoglobulina u krvi zbog prirode posteljice krmače. Imunoglobulini se ne transportiraju posteljicom, no prasad tijekom faze bređosti nije izložena djelovanju antigena te ne postoji mogućnost obolijevanja (Wu i sur., 2010.). Glavna uloga kolostruma je osigurati tek rođenoj prasadi određenu količinu energije, razvoj probavnog sustava te dobivanje pasivne imunosti prije nego što razviju vlastitu, aktivnu imunost (King'ori, 2012.).

Sisajući kolostrum, prasad prima imunoglobuline te se tada govori o pasivnoj imunosti. Oni će dobiti aktivnu imunost tek u trenutku kada budu sposobni sami proizvoditi antitijela. IgG su predominantni u kolostrumu, dok su u mlijeku to IgA. Imunoglobulini su specifični za antigene kojima je izložena krmača i to je jedan od razloga izloženosti prasadi novim antigenima. Dob krmače također utječe na imunološku otpornost njezine prasadi (Elliason i Isberg, 2011.).

IgA ima ulogu u gastrointestinalnom sustavu te je otporan na djelovanje proteolitičkih enzima. IgM pokazuje aktivnost tijekom primarnog imunološkog odgovora. Njegovo je djelovanje citolitičko te aktivira komplement. Iz krvi krmače potječe 40% IgA, 80% IgM i 100% IgG u kolostrumu. Mala koncentracija imunoglobulina sintetizira se B limfocitima u mliječnoj žlijezdi (Rolinec i sur., 2012.).

U papkara, crijevna apsorpcija majčinih imunoglobulina iz kolostruma ima vitalnu ulogu u stjecanju pasivne imunosti tijekom ranog neonatalnog života (Kumuves i Heath, 1992.). Apсорpcija imunoglobulina iz crijeva u krv je vremenski ograničena te stoga prasad mora dobiti dovoljnu količinu kolostruma kako bi uspjela apsorbirati što veću količinu imunoglobulina u kratkom vremenu. Propusnost crijevne sluznice najjača je tijekom prvih 6 sati nakon poroda, a potpuno prestaje 24 do 36 sati nakon poroda (Naglić i Hajsig, 1993.). Sposobnost proteolize prasadi je slabo razvijena u trenutku prasnja. Kolostrum krmače sadrži inhibitore tripsina, a pH u želucu novorođenog praseta ne pogoduje pretvorbi pepsinogena u pepsin i njegovoj proteolitičkoj djelatnosti. Iz toga razloga kolostrumske bjelancevine mogu dolaziti neoštećene u jejunum i ileum gdje se resorbiraju (Naglić i Hajsig, 1993.). Najveći stupanj resorpcije imunoglobulina je 6 sati nakon rođenja prasadi. Zbog zamjene epitelnih stanica crijeva stanicama koje nemaju sposobnost resorpcije dolazi do pada resorpcije imunoglobulina. Navedena zamjena stanica događa se tijekom prvih 24 sata nakon rođenja. Smanjenje i prekid resorpcije imunoglobulina vezano je za vrijeme početka uzimanja hrane poslije poroda, a ne samo za vrijeme poroda. Prestanak resorpcije imunoglobulina događa se 36 sati nakon početka uzimanja kolostruma (Gvozdić i sur., 2004.). Neonatalna prasad može apsorbirati do 25% IgG iz kolostruma (Wu i sur., 2010.). Hranidba fermentiranom tekućom hranom tijekom zadnjeg razdoblja bređosti dovodi do povećanja koncentracija IgG i IgA, dok se koncentracije IgM ne povećavaju. Zamjena anorganskog selena s organskim u obrocima krmače tijekom kasne faze bređosti utječe na promjenu koncentracija imunoglobulina u kolostrumu (King'ori, 2012.).

Koncentracije IgA i IgG su pod utjecajem sezone. Tako se koncentracija IgA povećava tijekom proljeća i ljeta, a snižava tijekom zime. IgG se povećava tijekom proljeća, a snižava tijekom ljeta i zime. Koncentracije IgG snižavaju se i kada je krmača u visokom stupnju bređosti izložena visokim temperaturama okoliša u kojem se nalazi. Snižavanje temperature okoliša 10 dana prije prasnja dovodi do povećavanja koncentracije IgG u kolostrumu. Kod prasadi se javlja suprotan učinak; tako se koncentracija IgG imunoglobulina snižava, uz povećavanje osjetljivosti i utjecaja na zdravlje prasadi (Farmer i Quesnel, 2008.). Povećavanje koncentracije imunoglobulina u kolostrumu moguće je ostvariti pomoću različitih dodataka u obrocima, poput mananoligosaharida,

pri čemu se značajno povećala koncentracija IgG imunoglobulina, dok su se koncentracije IgA i IgM neznatno promijenile (King'ori, 2012.).

Koncentracija IgG u krvnoj plazmi krmače tijekom zadnje faze bređosti objašnjava 36% varijabilnosti koncentracije IgG u kolostrumu na početku prasnja. Povećavanje koncentracije IgG majke može poboljšati razvoj pasivne imunosti kod prasadi (Quesnel, 2011.). Visoki sadržaj suhe tvari i bjelančevina u kolostrumu povezan je sa sadržajem imunoglobulina i albumina. Oni su prisutni u mlijeku, no u manjim koncentracijama. Sadržaj bjelančevina u kolostrumu i količina kolostruma su u pozitivnoj korelaciji. Pozitivna korelacija je također između količine kolostruma i sadržaja imunoglobulina G. Povećanjem količine kolostruma dolazi do povećavanja udjela bjelančevina, a time i imunoglobulina G (Elliason i Isberg, 2011.).

Povećavanje koncentracija vitamina A, E i C u hranidbi bređih krmača ima pozitivni učinak na poboljšavanje statusa IgG kod prasadi (Farmer i Quesnel, 2008.).

U Tablici 7. prikazane su koncentracije imunoglobulina u kolostrumu i mlijeku krmača ovisno o stadiju laktacije.

Tablica 7. Koncentracija IgG, IgM i IgA (mg/ml) IgG, IgM i IgA kod krmača tijekom laktacije (Klobasa i sur.,1987.)

Stadij laktacije	IgG	IgM	IgA
0 h	95,6	9,1	21,2
6 h	64,8	6,9	15,6
12 h	32,1	4,2	10,1
18 h	21,6	3,2	6,7
24 h	14,2	2,7	6,3
48 h	6,3	2,7	5,2
72 h	3,5	2,4	5,4
5 d	1,8	2,1	5,2
7 d	1,5	1,8	4,8
14 d	1,0	1,5	4,8
21 d	0,9	1,4	5,3
28 d	0,8	1,4	5,6
35 d	0,8	1,7	7,8
42 d	0,8	1,8	9,4

IgG - imunoglobulini G; IgA - imunoglobulin A; IgM - imunoglobulin M

Koncentracije IgA kolostruma u prvim satima nakon prasnja u istraživanju Rolinec i sur. (2012.) bile su između 12,26 mg ml⁻¹ i 14,5 mg ml⁻¹. Uspoređujući njihovo istraživanje s onim koje je proveo Dunkelberg (2006.), prosječne koncentracije bile su više (6,21 do 17,39 mg ml⁻¹). Koncentracija IgG kretala se između 55,12 i 34,20 mg ml⁻¹ od početka prasnja do 12 sati nakon prasnja (Rolinec i sur., 2012.).

Koncentracije imunoglobulina IgM, IgA i IgG ovise i o broju prasnja krmače. Do smanjenja IgA i IgG dolazi od prve do treće bređosti, a povećavaju se od četvrte bređosti i sve do zadnje bređosti. Promjena koncentracija imunoglobulina u ovisnosti o broju prasnja u vezi je s povećanom izloženosti antigenima. Koncentracija imunoglobulina ovisi također i o regiji vimena. Sisne regije koje se nalaze u kaudalnom dijelu tijela imaju niže koncentracije imunoglobulina u odnosu na sise u kranijalnom dijelu (Farmer i Quesnel, 2008.).

Tablica 8. Koncentracija imunoglobulina u kolostrumu krmače (mg ml⁻¹) (Rolinec i sur., 2012.)

	Vrijeme uzorkovanja	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Koeficijent varijacije
IgG	0 h	55,12	4,05	7,34
	3 h	48,88	4,29	8,77
	6 h	45,59	2,22	4,86
	12 h	34,20	2,91	8,55
IgA	0 h	8,77	0,94	10,77
	3 h	8,28	0,98	11,81
	6 h	8,12	1,50	18,49
	12 h	7,91	1,12	14,13
IgM	0 h	1,32	0,21	16,00
	3 h	1,07	0,14	13,20
	6 h	1,36	0,21	15,22
	12 h	1,02	0,18	17,64

IgG - imunoglobulini G; IgA - imunoglobulin A; IgM - imunoglobulin M

Povećanje koncentracije IgA i IgG povezano je s vakcinacijom bređih krmača. Nespecifični imunomodulatori također dovode do povećavanja koncentracija imunoglobulina IgG te ukupnih proteina u kolostrumu krmača (Farmer i Quesnel, 2008.).

Za određivanje koncentracije imunoglobulina u kolostrumu kod različitih krmača, važno je da vrijeme uzimanja uzoraka bude istodobno zbog promjene sastava kolostruma tijekom kratkog razdoblja od početka prasnja. Najveće promjene koncentracije imunoglobulina događaju se tijekom prvih 24 h nakon prasnja (Rolinec i sur., 2012.).

2.5. Procjena kvalitete kolostruma

Analiza kemijskog sastava kolostruma od izuzetne je važnosti zbog mogućnosti njegovog poboljšanja te, samim time, utjecaja na zdravlje i otpornost prasadi u kasnijim fazama uzgoja. Postoji nekoliko metoda analize. One koje se koriste na velikim svinjogojским farmama trebaju se odlikovati jednostavnošću primjene, prihvatljivom cijenom koštanja te točnošću i jednostavnošću izvođenja analize.

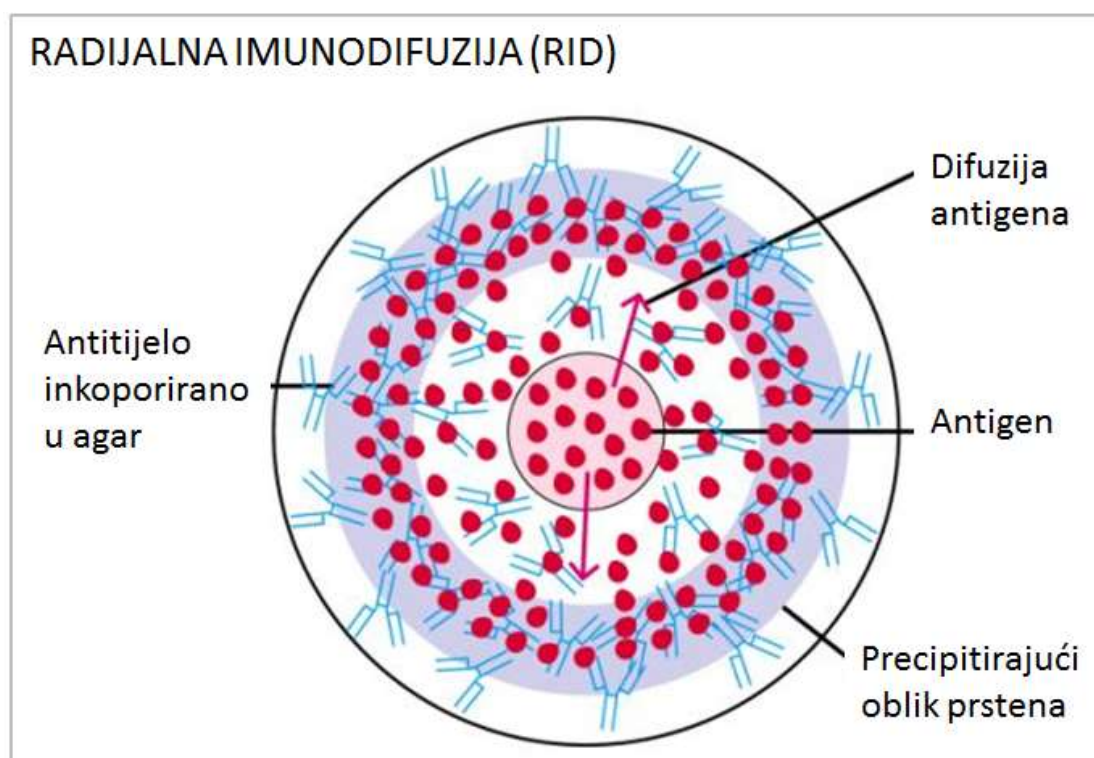
Ranije se kao parametar kvalitete kolostruma uzimala njegova boja, budući da je njen intenzitet povezan s gustoćom samog kolostruma (sadržaj suhe tvari) te sadržajem osnovnih hranjivih tvari (bjelančevine, mliječna mast). Iako sama boja kolostruma može odražavati njegovu kvalitetu, to je vrlo subjektivan parametar. Stoga se boja ne može koristiti kao jedini ili osnovni indikator kvalitete kolostruma (Chavatte i sur., 1998.).

2.5.1. Radijalna imunodifuzija (RID)

Radijalna imunodifuzija (RID) je najpreciznija metoda određivanja sadržaja imunoglobulina u kolostrumu. Ova metoda nije primjenjiva na farmama zbog dužine izvedbe (18 do 24 h) te nužnosti laboratorijske analize kolostruma. Rezultati koji se dobiju vrlo su pouzdani, no zbog vremena u kojemu su dobiveni ne mogu se koristiti u praksi u cilju reakcije na uočene nedostatke.

Metoda radijalne imunodifuzije (RID) koristi se za kvantitativnu procjenu antigena. Metoda se provodi na agaroznom gelu na koji se aplicira antigen-antitijelo precipitat (Mancini i sur., 1964.). U agar se ugrađuje antiserum, što pojačava osjetljivost aktivacije. Antigen (Ag) se zatim ostavlja da difundira iz jažice izrezane u gelu u koje se ravnomjerno raspodjeljuje antiserum. U početku kada antigen difundira iz jažica, njegova koncentracija je relativno visoka i nastaju topljivi antigen-antitijelo adukti. Međutim, kako Ag difundira dalje od jažice, Ag-Ab kompleks reagira višom količinom antitijela, što rezultira stvaranjem precipitirajućih prstenova na gelu (Slika 6.).

Nastaje niz prepoznatljivih koncentracija antigena na gelu te se promjeri svakog od precipitirajućih prstenova koriste za konstrukciju kalibracijskog (baždarnog) dijagrama. Koncentracije antigena nepoznatih uzoraka koje nastaju na istom gelu mogu se također izmjeriti na temelju promjera precipitirajućih prstenova te prikazati njihove vrijednosti na baždarnom grafikonu, dobivenom uz poznate koncentracije antigena.



Slika 6. Radijalna imunodifuzija (RID)

(Izvor: [Http://www.sbs.utexas.edu/sanders/Bio347/Lectures/2006.htm](http://www.sbs.utexas.edu/sanders/Bio347/Lectures/2006.htm))

Korištenje metode radijalne imunodifuzije u kvantifikaciji imunoglobulina u kolostrumu do sada se uglavnom koristilo kod goveda. Tako su Fleenor i Stott (1981.) ispitivali relativnu točnost radijalne imunodifuzijske tehnike za mjerenje koncentracije imunoglobulina u svježim kolostralnim pripravcima (sirutka, cijeli kolostrum i kolostrum bez masti). Autori su utvrdili različite koncentracije gamaglobulina, ovisno o vrsti pripravka. Razlike su dijelom nastale i zbog utjecaja različite difuzije kolostralnih pripravaka na agaru. Uklanjanje kazeina i masti tijekom pripreme sirutke rezultiralo je smanjenom koncentracijom imunoglobulina, što je dovelo do stvaranja naglašenih precipitirajućih prstenova.

Rezultati su pokazali da sirutka nije povoljan oblik za utvrđivanje količine imunoglobulina metodom radijalne imunodifuzije, već da je ova metoda primjenjiva i pouzdana jedino na potpunom kolostrumu.

Radijalna imunodifuzija koristi se kao standardna procedura prilikom određivanja pasivnog prijenosa kolostralnih imunoglobulina s krave na tele. Ameri i Wilkerson (2008.) uspoređivali su dva komercijalna RID (VET-RID i SRID) testa kako bi utvrdili razinu prijenosa IgG kod teladi holštajn pasmine. Rezultati ovog istraživanja pokazali su visoku razinu nepodudaranja i razlike u rezultatima između 2 RID seta u pogledu koncentracija IgG. VET-RID Kit pokazao je rezultate koji su bili bliži očekivanim koncentracijama IgG, dok je SRID Kit konstantno precjenjivao koncentraciju pročišćenih IgG. Autori smatraju da to može biti posljedica netočnosti u internim standardima SRID kita.

Gelsinger i sur. (2015.) uspoređivali su koncentracije IgG u kolostrumu, mlijeku i plazmi goveda mjerenjem pomoću ELISA i RID metode. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti koncentracije IgG izmjerene objema metodama u uzorcima govedih kolostruma prije i nakon toplinske obrade. Koncentracija IgG je kvantificirana pomoću komercijalno dostupnog kita RID i modificiranog ELISA. Autori su utvrdili slabu korelaciju između ELISA i RID u plazmi i negrijanom kolostrumu. Koncentracija IgG bila je značajno manja u svim vrstama uzoraka određivanim pomoću ELISA testa u usporedbi s RID. Dakle, izravna usporedba ELISA i RID rezultata ne može se preporučiti. Koncentracija IgG u kolostrumu značajno se smanjuje nakon toplinske obrade mjerenjem pomoću ELISA, međutim kada se mjeri RID-om, ne dolazi do značajnih promjena. Različite vrijednosti izmjerene prije i nakon toplinske obrade pokazale su promjene u matriksu kolostralnih proteina zbog djelovanja topline primjenom RID i ELISA testova.

Setcavage i Kim (1976.) među prvima su istraživali koncentraciju IgG kod prasadi koja nije dobivala kolostrum primjenjujući tri različite metode; imunoelektroforezu, dvostruku gel difuziju i radijalnu imunodifuziju. Utvrdili su da postoji velika varijabilnost u dobivenim rezultatima za različite metode mjerenja, koji su varirali od potpune odsutnosti imunoglobulina do izuzetno visoke razine.

U novije vrijeme intenzivirana su istraživanja značaja sadržaja IgG kolostruma kod prasadi. Poznato je da unos kolostruma u prvim satima nakon poroda značajno potiče crijevnu funkciju i rast, te osigurava sustavnu imunološku zaštitu putem apsorpcije imunoglobulin G (IgG). Cabrera i sur. (2012.) utvrđivali su metodom radijalne imunodifuzije koncentraciju IgG u serumu i kolostrumu kod prasadi u prvom tjednu života. Utvrdili su značajnu povezanost između koncentracije IgG u kolostrumu kod rođenja s preživljavanjem prasadi. Koncentracije serumskog IgG niže od 1000 mg/dL IgG utvrđene su kod prasadi porodne težine ispod 0,9 kg, a to je rezultiralo niskom stopom preživljavanja u odnosu na prasad veće porodne težine. Autori su zaključili da učinkovito upravljanje unosom kolostruma kod neonatalne prasadi u prvih 24 sati nakon rođenja potencijalno može značajno poboljšati preživljavanje prasadi u razdoblju od rođenja do odbića.

2.5.2. Hidrometar / kolostrometar

U prošlosti se za utvrđivanje i praćenje kvalitete kolostruma na farmama upotrebljavao prilično neprecizan i krhak dijagnostički uređaj nazvan kolostrometar. Ova metoda je prije svega jeftina, nudi brze rezultate i jednostavna je za korištenje, ali treba biti pažljiv pri rukovanju kolostrometrom, jer je staklo instrumenta prilično krhko, a u slučaju njegovog loma potrebno je, osim stakla, zamijeniti i mjerni cilindar. Hidrometrom, odnosno kolostrometrom mjeri se specifična težina kolostruma pomoću plutajućeg stakla. To je učinkovit način za mjerenje razine antitijela, jer antitijela predstavljaju veliki dio proteina u kolostrumu, a proteini čine visok postotak ukupne suhe tvari koja visoko korelira sa specifičnom težinom. Mjerenje kolostrometrom je učinkovitije od vizualne procjene kvalitete kolostruma, ali su uređaji temperaturno osjetljiviji i zahtijevaju veću količinu kolostruma potrebnu za testiranje, što je uvjet koji nije uvijek moguće ispuniti za analize kolostruma krmača.

Mechor i sur. (1991.) istraživali su utjecaj temperature na točnost mjerenja sadržaja imunoglobulina u kolostrumu krava pomoću kolostrometra. Autori su utvrdili da postoje značajne razlike u koncentraciji IgG u kolostrumu ovisno o variranju temperature pri mjerenju. Tako razlika već od 4°C ima za posljedicu visoko značajne razlike u točnosti dobivenih rezultata, te je posebice važno da se mjerenje kolostrometrom provodi u kontroliranim uvjetima u kojima nema značajnijeg variranja temperature okoline.

Opis metode:

Kolostrometar je hidrometar koji mjeri specifičnu težinu i pomoću boja označenih na skali koja je kalibrirana u miligramima po mililitru (mg/ml) imunoglobulina (Ig) te pretvara specifičnu težinu u Ig koncentraciju (Slika 7.). Kolostrometar se stavi u cilindar, koji sadrži kolostrum i ostavi da slobodno pluta. Pretraživani kolostrum koji pokazuje "zeleno" sadrži >50 mg/ml Ig, "žuto" sadrži 20 do 50 mg/ml, a "crveno" sadrži <20 mg/ml Ig. Osim Ig i ostale komponente kolostruma utječu na specifičnu težinu, tako da je ova metoda donekle primjenjiva u svojoj sposobnosti za točnu procjenu koncentracije Ig. Najveću točnost kolostrometar pokazuje kad se koristi pri sobnoj temperaturi (22°C), dok pri nižim temperaturama kolostrometar precjenjuje koncentraciju IgG, a na temperaturama iznad 22°C koncentracije imunoglobulina će se podcijeniti (Heinrichs i Jones, 2011.).



Slika 7. Kolostrometar pluta u uzorku kolostruma

(Ovaj uzorak je u kategoriji zelenog i sadrži najmanje 50 mg/mL Ig, što ga definira kao kvalitetan kolostrum; Heinrichs i Jones, 2011.)

2.5.3. Refraktometrija

Nova metoda određivanja sastava kolostruma temelji se na korištenju refraktometra. Prednost korištenja ove metode je u jednostavnosti i maloj količini uzorka koja je potrebna te u brzini izvođenja analize. Refraktometri mogu biti optički ili digitalni. Analiza se izvodi s malom količinom uzorka, a rezultati analize dobivaju se trenutno. Prednost korištenja digitalnog refraktometra je u tome što daje digitalne rezultate te eliminira potrebu za tumačenjem linije razgraničenja.

Refraktometrija je optička pojava koja se zasniva na prelamanju svjetlosnih zraka na granici dviju različitih sredina u kojima se svjetlost rasprostire različitom brzinom. Suha tvar određena na ovaj način predstavlja u vodi topljive susptance.

Brix refraktometar, također poznat kao šećerni refraktometar (Slika 8.), najčešće se koristi u industriji hrane i vina za procjenu sadržaja šećera u različitim proizvodima. Refraktometri nisu skupi, jednostavni za rukovanje, lako se kalibriraju, čiste i održavaju. Više studija objavljenih u posljednjih nekoliko godina ukazalo je na valjanost korištenja Brix refraktometra za mjerenje ukupne suhe tvari u kolostrumu, koja je tada u korelaciji s IgG sadržajem. Nadalje, u posljednjih nekoliko godina mljekari i uzgajivači teladi sve više se koriste Brix refraktometrom za procjenu koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu i/ili mjerenju i praćenju ukupne suhe tvari u mlijeku.



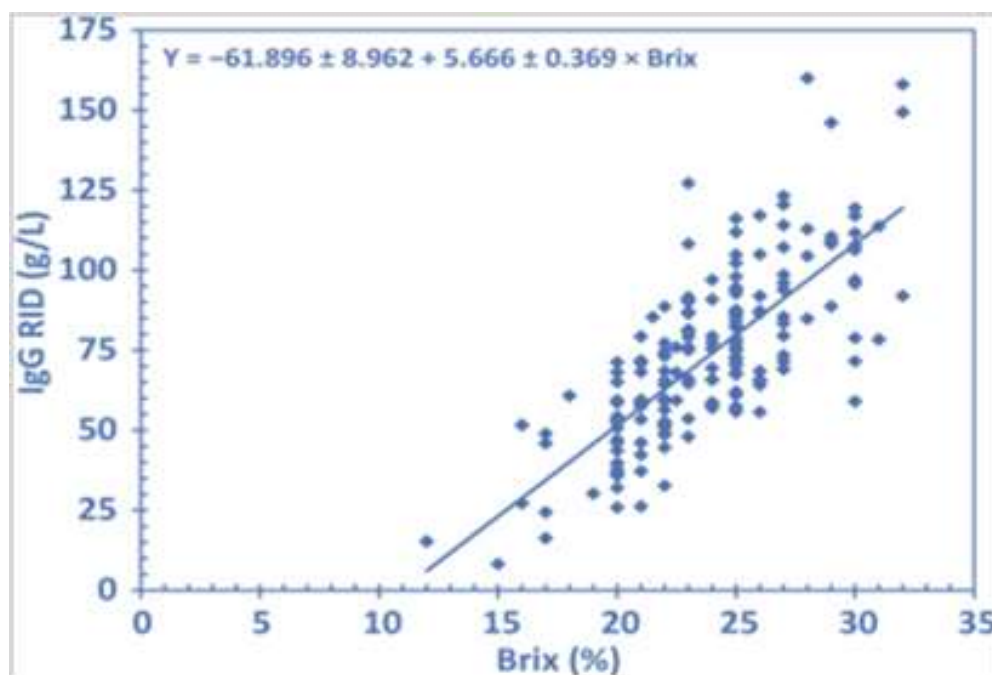
Slika 8. Digitalni Brix refraktometar

(Izvor: <http://www.allafrance.com/produit/refractometres-digitaux-1986.html>)

Argüello i sur. (2005.) uspoređivali su Brix metodu s metodom radijalne imunodifuzije u postupku utvrđivanja koncentracije imunoglobulina G kod kozjeg kolostruma iz prve i druge laktacije. Analiza odnosa metode mjerenja boje i koncentracije IgG rezultirala je značajnom linearnom korelacijom vrijednosti dobivenih dvjema metodama. Autori su utvrdili da su osjetljivost, specifičnost i predvidljiva vrijednost metode kojom se pomoću boje određuje koncentracije IgG u kozjem kolostrumu iznosile 93,03, 71,43 te 78,12%, pri korištenju 20 mg IgG/ml kolostruma kao referentne vrijednosti.

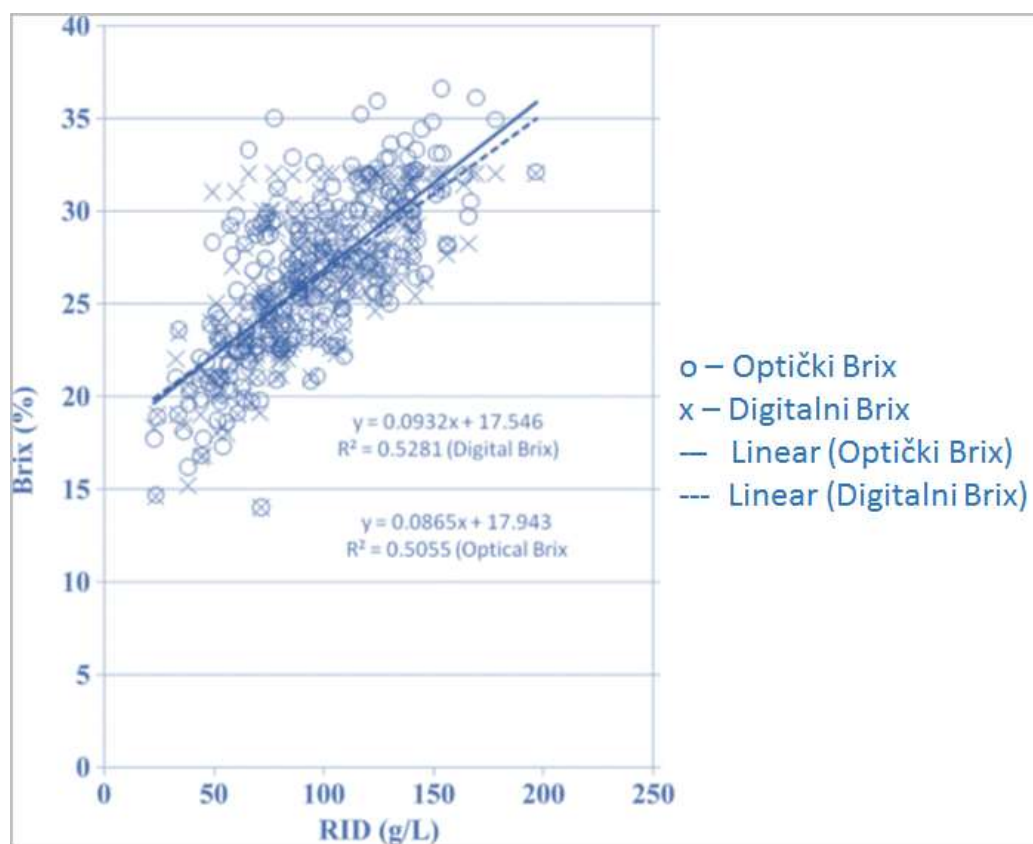
U istraživanju kolostruma goveda pasmine Holstein i Jersey, Chigerwe i Hagey (2014.) navode da je Brix refraktometrija prihvatljiva, brza i povoljna metoda na farmi za određivanje kolostralnog IgG i ukupne krute tvari, a da nije bila prihvatljiva metoda za određivanje koncentracije IgG u serumu, jer daje lažne negativne rezultate za koncentraciju IgG u serumu.

Brix refraktometar pruža prihvatljivu procjenu IgG kod prve mužnje govedeg kolostruma. Preporučuje se korištenje Brix refraktometra, gdje se 21% Brix-a smatra kao početna točka za kvalitetan (>50 g IgG/L) kolostrum (Quigley i sur., 2013., Slika 9.).



Slika 9. Odnos između Brix i RID IgG mjerenja kolostruma kod holštajn krava (Quigley i sur., 2013.)

U istraživanju na 288 uzoraka kolostruma s tri farme muznih krava, čiji je cilj bio usporediti optički i digitalni Brix refraktometar s radijalnom imunodifuzijom te odrediti korelaciju između Ig mjerenja uzetih uzoraka svježeg i smrznutog kolostruma za oba Brix refraktometra, zaključeno je da su mjerenja pomoću optičkog i digitalnog Brix refraktometra povezana za svježe i za smrznute uzorke ($r = 0,98$, odnosno $r = 0,97$). Korelacijom oba refraktometra (Slika 10.) za svježe i smrznute uzorke s radijalnom imunodifuzijom dobiveni su vrlo slični koeficijenti korelacije (0,71 i 0,74). Brix refraktometri, digitalni i optički, imaju prihvatljive ispitivane osjetljivosti i specifičnosti u odnosu na radijalnu imunodifuziju kao laboratorijsku metodu, što pokazuje da su prikladni za utvrđivanje razlika između dobre i loše kvalitete kolostruma i ukazuju na odgovarajuću graničnu točku od 22% Brix-a ili iznad toga, kako bi se osiguralo da je kolostrum dobre kvalitete i ne ovisi o tome da li je uzorak svjež ili odmrznut (Bielmann i sur., 2010.).



Slika 10. Korelacija između optičkog i digitalnog Brix instrumenta za svježe i smrznuto mlijeko (Bielman i sur., 2010.)

Bartier i sur. (2015.) u svom istraživanju uspoređivali su kolostrometar i Brix refraktometar kao dva najkorištenija uređaja za određivanje sadržaja imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu na mliječnim farmama u američkoj saveznoj državi Alberti. Cilj istraživanja bio je utvrditi koji je od navedenih uređaja učinkovitiji i koji daje IgG vrijednosti najbliže onima utvrđenim radijalnom imunodifuzijom u laboratoriju. Specifičnost i osjetljivost su određene za kolostrometar i Brix refraktometar usporedbom s limitom točke 50 mg/mL, koja je određena pomoću RID. Najviša vrijednost osjetljivosti i specifičnosti dogodila se na 80 mg/mL za (kolostrometar 84,1 i 77,0%, odnosno 23%) i 65,7 (Brix i 82,8%, po istom redoslijedu). Autori su zaključili da, iako su podaci dobiveni kolostrometrom pokazivali vrijednosti IgG bliže onima dobivenim laboratorijskom RID metodom, Brix refraktometar se pokazao kao više specifičan alat za utvrđivanje odgovarajuće kvalitete kolostruma.

Deelen i sur. (2014.) istraživali su korisnost digitalnog Brix refraktometra za ocjenu uspješnosti pasivnog prijenosa majčinskog imunoglobulina u odnosu na mjerenje serumskog ukupnog proteina (STP) refraktometrijom. Koncentracija seruma IgG određena je radijalnom imunodifuzijom (RID), a postotak Brix i STP (% Brix) određene su pomoću digitalnog refraktometra. Srednja koncentracija IgG iznosila je 24,1 g/L s rasponom od 2,1 do 59,1 g/L. Srednja koncentracija STP je 6,0 g/dL (SD $\pm$ 0,8) s rasponom od 4,4 do 8,8 g/dL. Srednja koncentracija Brix iznosila je 9,2% s rasponom od 7,3 do 12,4%. Brix postotak je bio u visokoj korelaciji s IgG ($r = 0,93$). Autori su utvrdili da je optimalna kombinacija osjetljivosti (88,9%) i specifičnosti (88,9%) za Brix iznosila 8,4%. Serumski ukupni proteini također su u visokoj korelaciji s % Brix ($r = 1,00$) i IgG ($r = 0,93$). Zaključeno je da proizvođači mlijeka mogu uspješno procijeniti sadržaj IgG kolostruma te ukupni uspjeh pasivnog prijenosa s majke na mladunče pomoću digitalnog Brix refraktomera, što u značajnoj mjeri može unaprijediti menadžment poslovanja na farmi i utjecati na pravovremeno donošenje bitnih odluka.

Procjenu uporabe refraktometrije kao sredstva za utvrđivanje koncentracije imunoglobulina G u kolostrumu krava proveli su Morill i sur. (2012.). Cilj njihova istraživanja bio je utvrditi može li se frakcioniranjem kolostruma pomoću kaprilne kiseline poboljšati procjena sadržaja IgG na svježim i zamrznutim uzorcima kravljeg

kolostruma. Dobivene vrijednosti uspoređivali su s onima dobivenim RID metodom. Autori su zaključili da refraktometrija, s ili bez frakcioniranja pomoću kaprilne kiseline, može biti točna i brza metoda za određivanje koncentracije IgG kada uzorci kolostruma nisu bili zamrznuti prije refraktometrije i zamrznuti samo jednom prije RID analize.

Dosadašnja istraživanja na području refraktometrijskog određivanja sadržaja imunoglobulina u kolostrumu provodila su se uglavnom na vrstama domaćih životinja kod kojih se relativno lako može uzeti uzorak za analizu (krave, koze, ovce i dr.). S obzirom na značaj koji imunoglobulini kolostruma imaju za preživljavanje, razvoj i opći imuno-zdravstveni sustav svih vrsta domaćih životinja, jasno je da je ovo područje istraživanja vrlo interesantno i za one vrste kod kojih nije tako lako doći do uzorka kolostruma.

Možda kod nijedne vrste nije toliko izražen značaj pravovremenog konzumiranja kolostruma i njegove kvalitete, kao što je to kod svinja. Svinje su vrlo plodne životinje koje rađaju veliki broj mladunčadi (prasadi) i informacije koje bi se dobile neposredno nakon poroda u mnogome bi mogle utjecati na poboljšanje proizvodnih parametara u kritičnom razdoblju života prasadi od rođenja do odbića.

Budući da su metode određivanja kakvoće i sastava kolostruma univerzalne, a načini prijenosa i funkcije antitijela gotovo identični za sve sisavce, potreba za proširenjem ovakvih istraživanja na područje uzgoja svinja sasvim je razumljiva i opravdana.

2.6. Proizvodna svojstva prasadi tijekom dojnog razdoblja

Neposredno nakon prasnja potrebno je omogućiti prasadi sisanje kolostruma. Intenzitet sisanja se razlikuje, no kreće se u intervalima od 20 puta tijekom dana, pa sve do 10 puta kod nešto starije prasadi (Kralik i sur., 2007.). Ovo je ograničavajući čimbenik uspjeha razvoja i prirasta prasadi tijekom sljedećih faza uzgoja. Sisanje kolostruma važno je i s aspekta preživljavanja prasadi u leglu te dobivanja većeg broja odbijene prasadi po krmači (Williams i sur., 1995.; Whittemore i Green, 2001.).

Broj prasadi po krmači moguće je postići povećavanjem broja legla po krmači u proizvodnoj godini ili povećavanjem broja odbijene prasadi po krmači. Upravo

povećanje broja prasadi po krmači ima negativan utjecaj na prosječnu težinu netom oprasene prasadi (Yang i sur., 2008.).

Quiniou i sur. (2002.) proveli su istraživanje kojim je obuhvaćeno 965 legala u razdoblju od 1998.-2000. godine. Rezultati istraživanja pokazali su da povećanje broja prasadi od 11 do 16 u leglu dovodi do smanjivanja porođajne težine s 1,59 kg na 1,26 kg. Osim toga, utvrđeno je od 7% do 23% više prasadi male porođajne mase, tj. prasadi koja je težila manje od 1 kg. Rast prasadi može biti uvjetovan i osobinama krmače, odnosno količinom i kvalitetom mlijeka koje proizvodi. Upravo postizanje veće težine prasadi prije odbića ima veliki utjecaj na ostvarivanje većih dnevnih prirasta u kasnijim fazama uzgoja (Vincek i sur., 2010.).

Prosječni dnevni prirasti prasadi tijekom dojnog razdoblja ovise o porođajnoj težini, težini kod odbića te trajanju dojnog razdoblja. Doino razdoblje može trajati od 21 do 35 dana, u prosjeku 28 dana. Johansen i sur. (2004.) istražili su utjecaj različitih čimbenika na prosječne dnevne priraste sisajuće prasadi. Čimbenici koji su pokazali utjecaj na smanjivanje prosječnih dnevnih prirasta su artritis (-38 g/dan), dijareja (-8 g/dan) te druge infekcije (-21 g/dan). Osim toga, utjecaj navedenih čimbenika bio je jasno utvrđen i ovisno o spolu, tj. kod muške prasadi u odnosu na žensku (-4 g/dan) te kod niske porodne težine (-8,3 g na 100 g tjelesne težine) u odnosu na prasid s uobičajenom porođnom težinom.

Istraživanjem koje su proveli Surek i sur. (2014.) željelo se ispitati utjecaj ujednačavanja težine legla na rast prasadi tijekom dojnog razdoblja. Porođajne težine prasadi u ispitivanju kretale su se od 1,34 kg do 1,57 kg, dok su postignuti prosječni dnevni prirasti iznosili približno 180 g.

Prvih 10 dana nakon prasenja predstavlja najkritičniju fazu u cjelokupnoj svinjogojskoj proizvodnji. Gubici tijekom toga razdoblja su najveći te mogu iznositi do 10%, a u ukupnim gubicima koji se javljaju tijekom proizvodnog razdoblja, gubici u ovoj fazi mogu biti do 80% ukupnih gubitaka (Dewey i sur., 2008.). Gubici do 5% smatraju se prihvatljivima gledano s ekonomskog gledišta, no ako se oni povećaju do 30% javlja se upitnost opstanka takve proizvodnje. Razlozi gubitaka su pothlađenosti, proljev, prignječenja, mala porođajna težina, hipoglikemija, endokrini razvoj prasadi, upala pluća. Uremović i Uremović (1997.) navode da je 20% mortaliteta prasadi tijekom

sisajućeg razdoblja posljedica pojave proljeva kod prasadi. Jedan od zahvata koji se rade tijekom prvih dana života prasadi je kastracija. Kastracija prasadi može se provoditi između 10. i 15. dana života, no također se radi i rana kastracija u dobi od 3 do 4 dana. Izvođenje samog postupka može uzrokovati stres kod prasadi te se stoga ona provodi u ranijoj fazi života.

Kolostrum je prva hrana koju prasad usvaja odmah nakon prasnja. Sisanjem kolostruma prasad usvaja imunoglobuline koji izgrađuju pasivnu imunost prasadi. Tijekom prvih 14 dana preko krmačinog mlijeka zadovoljene su sve potrebe prasadi za hranjivim tvarima. U slučaju da prasad nema mogućnost posisati mlijeko krmače, kao zamjena može poslužiti kravlje mlijeko (Kralik i sur., 2007.). Preparati željeza i vitamina daju se 3.-4. dan nakon prasnja, sa ciljem sprječavanja pojave anemije. Kruta hrana se kod nekih proizvođača može dodavati već od 7. dana starosti u obliku premiksa koji se posipaju po vimenu krmače. Na taj način prasad tijekom sisanja počinje usvajati i manje količine krute, tj. praškaste hrane.

Pajor i sur. (1991.) su u svom istraživanju ispitali utjecaj konzumacije praškase hrane na dnevne priraste prasadi. Prasad kojoj je ponuđena hrana 12. dana starosti imala je nizak unos hrane (manje od 5 g/dan), tek tijekom 20. dana zabilježeni su veći unosi hrane (20 g/dan). Tijekom cijelog razdoblja količina hrane koju je prasad pojela varirala je između 13 g i 1911 g po prasetu. Autori su zaključili da unos praškaste hrane doprinosi ostvarivanju većih prirasta tijekom dojnog razdoblja, što je u korelaciji s prirastima koje će prasad postići nakon odbića.

Za vrijeme i nakon prasnja nužno je provesti postupke kojima će se očuvati zdravstveni status prasadi. Tijekom prasnja potrebno je obrisati prasad od sluzi, očistiti im glavu i dezinficirati pupčanu vrpцу te ih staviti pod izvor topline. Prvi dan nakon prasnja prasadi se sijeku zubi radi sprječavanja ozljeđivanja krmače tijekom sisanja. Treći dan daju se preparati željeza, a sedmi dan započinje prihranjivanje predstarterom, tj. starterom. Kastriranje muške prasadi obavlja se u drugom tjednu života. Prostor za prasad također treba biti prilagođen sprječavanju nastanka bolesti koje mogu dovesti do uginuća. Tako im se treba osigurati dovoljno veliki prostor za ležanje koji je nasteljen. Osim toga, površina treba biti suha i zaobljena s ciljem sprječavanja pothlađivanja.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Utvrditi mogućnost primjene digitalnog Brix refraktometra kao jedne od metoda za mjerenje koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača nakon usporedbe s rezultatima dobivenih metodom radijalne imunodifuzije.
2. Utvrditi koncentraciju imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma kod krmača neposredno nakon prasnja.
3. Utvrditi utjecaj koncentracije imunoglobulina G (IgG) na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića.

Hipoteze ovog istraživanja su:

1. Koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača mjerene pomoću digitalnog Brix refraktometra ne razlikuju se od koncentracija utvrđenih uobičajenim metodama.
2. Nema razlika između jedinki krmača u koncentraciji imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma neposredno nakon prasnja.
3. Koncentracija imunoglobulina G (IgG) znatno utječe na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića.

4. MATERIJAL I METODE RADA

4.1. Materijal

4.1.1. Lokacija

Istraživanje je provedeno na dvije komercijalne reprodukcijske farme u istočnoj Hrvatskoj: farma A (Slika 11.) i farma B (Slika 12.) koje se nalaze u sustavu dva različita hibridna programa. Obje farme bave se proizvodnjom i uzgojem prasadi za tov do prosječne tjelesne težine od 25 kg.



Slika 11. Farma A (Izvor: <http://zito.hr/hr/o-nama/zastita-okolisa.html>)



Slika 12. Farma B (Izvor: <http://www.belje.hr/djelatnosti/pp/svinjogojstvo.asp>)

4.1.2. Životinje

Životinje na oglednim farmama držane su u istim proizvodnim uvjetima. O životinjama je skrbio dovoljan broj odgovarajuće osposobljenog osoblja s primjerenim znanjem i stručnošću. Životinjama je osigurana sloboda kretanja primjerena njihovoj vrsti te u skladu s postojećom praksom i znanstvenim spoznajama, čime se sprečavaju nepotrebne patnje i ozljede.

Materijali koji su korišteni za izgradnju prostora za smještaj životinja, a posebno odjeljaka i opreme s kojom životinje dolaze u doticaj, nisu štetni za zdravlje životinja i mogu se temeljito čistiti i dezinficirati. Prostor za smještaj životinja i oprema s kojom životinje dolaze u doticaj izgrađeni su i održavani tako da nemaju oštih rubova ili izbočina na koje bi se životinje mogle ozlijediti. Strujanje zraka, koncentracija prašine i plinova, temperatura i relativna vlažnost zraka su u propisanim granicama koje nisu štetne za životinje.

Sva automatska ili mehanička oprema nužna za zdravlje i dobrobit životinja je kontrolirana najmanje jednom dnevno.

Hranidba plotkinja tijekom razdoblja istraživanja provodila se sukladno hranidbenim potrebama i propisanim normativima.

Tijekom razdoblja bređosti i laktacije plotkinje su hranjene standardnim krmnim smjesama (Tablica 9. i Tablica 10.).

Tablica 9. Sastav krmne smjese za hranidbu suprasnih krmača

Stavka	Udio
Sirove bjelančevine	12,0 %
Sirova mast	3,0 %
Sirova vlaknina	5,0 %
Kalcij	0,60 %
Fosfor	0,60 %
Natrij	0,20 %
Lizin	0,60 %
Metionin	0,25 %
Metabolička energija	13 MJ/kg

Tablica 10. Sastav krmne smjese za hranidbu dojnih krmača

Stavka	Udio
Sirove bjelančevine	16,0 %
Sirova mast	3,0 %
Sirova vlaknina	6,0 %
Kalcij	1,0 %
Fosfor	0,60 %
Natrij	0,20 %
Lizin	0,85 %
Metionin	0,30 %
Metabolička energija	13 MJ/kg

Dojno razdoblje trajalo je 28 dana (Slika 13.).



Slika 13. Jednodnevna prasad tijekom dojenja

Neposredno nakon poroda prasad je izvagana (težina legla, Slika 14.), tretirana preparatom željeza, odrezani su im zubi i kupirani repovi. Muška grla kastrirana su drugi dan. Tijekom dojnog razdoblja prasad je vagana svakih 7 dana te su prikupljeni podatci o proizvodnim svojstvima (prosječni dnevni i ukupni prirast, konverzija) te o zdravstvenom statusu i uginućima prasadi.



Slika 14. Vaganje prasadi tijekom istraživanja

Prasad je tijekom dojnog razdoblja, osim majčinog mlijeka, dobivala standardne krmne smjese (Tablica 11.)

Tablica 11. Potpune krmne smjese u hranidbi prasadi do odbića

Stavka	Udio	
	Predstarter	Starter
Sirove bjelančevine	22,0 %	20,0 %
Sirova mast	3,0 %	3,0 %
Sirova vlaknina	3,5 %	4,0 %
Kalcij	1,05 %	0,95 %
Fosfor	0,65 %	0,65 %
Natrij	0,25 %	0,20 %
Lizin	1,20 %	1,15 %
Metionin	0,40 %	0,35 %
Metabolička energija	14,0 MJ/kg	13,5 MJ/kg

4.1.3. Uzorkovanje

Na svakoj farmi odabrano je 120 plotkinja (nazimica i krmača) koje su korištene za potrebe istraživanja. Osnovni kriterij prilikom odabira plotkinja bio je redni broj prasenja/ciklusa (Tablica 12.). Prilikom odabira krmača vodilo se računa o prosječnoj strukturi stada na farmama (% udjel krmača na farmi ovisno o broju legala). Uzorkovanje je obavljeno u 3 navrata na istim krmačama. Drugo uzorkovanje obavljeno je na 106 krmača (14 izlučeno), a treće uzorkovanje na ukupno 94 krmače (12 izlučenih krmača iz proizvodnje u odnosu na drugo uzorkovanje).

Tablica 12. Ciljana struktura istraživanog stada rasplodnih krmača za svaku farmu

Ciljana struktura stada po farmama				
% krmača	R.b. prasenja	Uzorkovanje		
		1.	2.	3.
18	1.	22	/	/
16	2.	19	19	/
15	3.	18	18	18
13	4.	15	15	15
11	5.	13	13	13
10	6.	12	12	12
9	7.	11	11	11
8	8.	10	10	10
7	9.	/	8	8
6	10.	/	/	7
		UKUPNO= 120	UKUPNO= 106	UKUPNO= 94

Od svake krmače, nulti sat od početka prasnja, kroz tri ciklusa uzimanja uzoraka, iz jedne od prednjih sisa uzeto je (izmuženo rukom) u sterilnu epruvetu ukupno 10 ml kolostruma za mjerenje pomoću Brix refraktometra. Ukupno je to po jednoj farmi iznosilo 320 uzoraka (640 na obje farme). Kolostrum je odmah nakon uzimanja pohranjen na temperaturi od -20°C. Osim navedenih 640 uzoraka kolostruma za refraktometriju, prikupljeno je i ukupno 100 uzoraka za radijalnu imunodifuziju (RID), metodom slučajnog uzorka, paralelno s uzorcima za mjerenje pomoću digitalnog Brix refraktometra. Ovi uzorci uzimani su u isto vrijeme na dvije navedene farme od po 50 uzoraka na svakoj farmi također u 3 navrata od krmača koje su različitog broja prasnja. Smrznuti uzorci kolostruma korišteni su za laboratorijske analize u kojima se utvrđivao kemijski sastav kolostruma i sadržaj imunoglobulina G (IgG).

4.2. Metode

4.2.1. Priprema uzoraka

Laboratorijske analize provedene su u laboratoriju za biokemiju Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera te laboratoriju MEGGLE Hrvatska d.o.o. Osijek.

Za analizu kolostruma pomoću Brix refraktometra zamrznuti uzorci otapani su na sobnoj temperaturi (23°C) u trajanju od 12 sati. Nakon potpunog otapanja, sadržaj epruvete s kolostrumom izmiješao se laganim okretanjem u 10-12 navrata, kako bi se uzorak homogenizirao i bio prikladan za mjerenje pomoću refraktometra. Za analizu kemijskog sastava kolostruma pomoću MilkoScan uređaja zamrznuti uzorci otapani su također na sobnoj temperaturi (23°C) u trajanju od 12 sati. Nakon potpunog otapanja, sadržaj epruvete s kolostrumom izmiješao se laganim okretanjem u 10-12 navrata, kako bi se uzorak homogenizirao i bio prikladan za mjerenje pomoću MilkoScan-a. Za analizu kolostruma metodom radijalne imunodifuzije (RID) zamrznuti uzorci otapani su u toploj vodenoj kupelji (23°C) u trajanju od 8 sati. Nakon potpunog otapanja, sadržaj epruvete s kolostrumom neposredno prije RID analize miješao se laganim okretanjem 5 minuta kako bi se uzorak homogenizirao i bio prikladan za analizu.

4.2.2. Analiza pomoću digitalnog Brix refraktometra

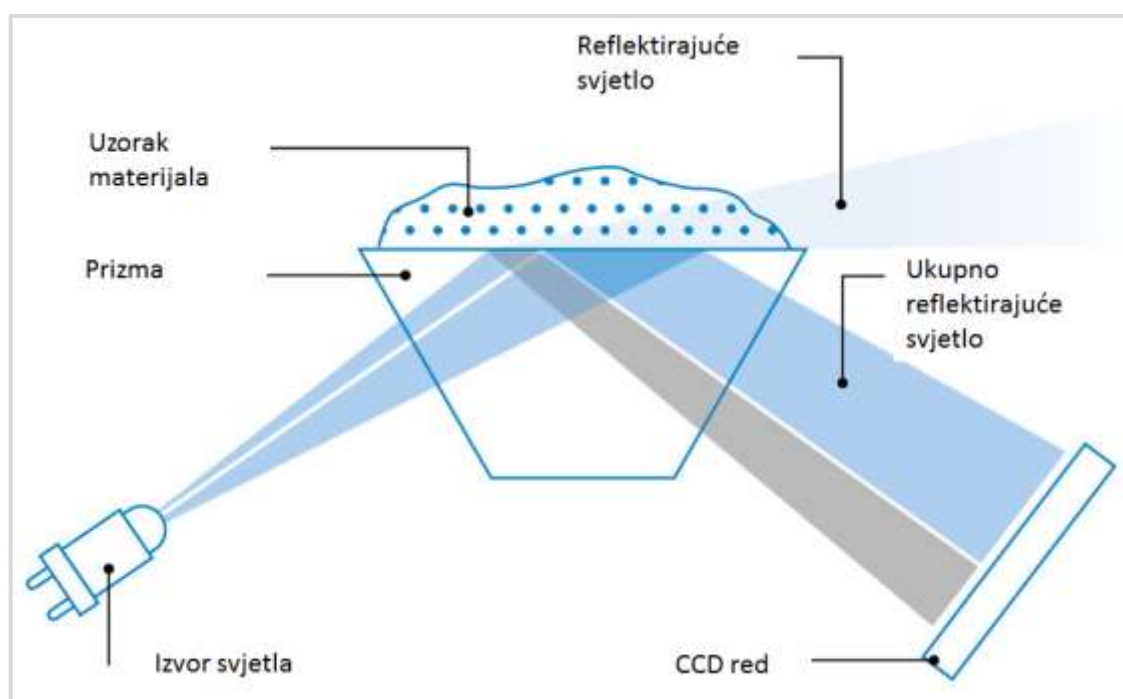
Sadržaj ukupne suhe tvari i udio imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača utvrđeni su pomoću digitalnog refraktometra HANNA HI 96801 Refractometer (mjerno područje 0 – 85% Brix, proizvođač HANNA Instruments, Woonsocket RI USA, Made in Romania, SN A0078364, Slika 15.). To je uređaj koji je čvrst, lako prenosiv i otporan na vodu te je prikladan za analize i izvan laboratorijskih uvjeta (npr. na farmi).



Slika 15. Analiza uzorka kolostruma krmače pomoću HANNA HI 96801 refraktometra

To je optički instrument koji koristi mjerenje indeksa refrakcije za prikaz sadržaja šećera u uzorcima, odnosno moguće je mjerenje ukupne suhe tvari u uzorku. Ukupna suha tvar u kolostrumu u korelaciji je sa sadržajem imunoglobulina G (IgG), tako da se količina od 21% suhe tvari u kolostrumu smatra početnom točkom kvalitetnog kolostruma koja odgovara količini od >50 g IgG/L.

Refraktometrija je postupak određivanje indeksa loma svjetlosti mjerenjem kuta pod kojim se svjetlosna zraka lomi pri prijelazu iz istraživane tekućine u staklenu prizmu poznatog indeksa loma (Slika 16.). Budući da je indeks loma razmjernan koncentraciji spojeva u otopini, refraktometrija služi i kao analitička tehnika za određivanje koncentracije šećernih sokova, voćnih sirupa, marmelada, masti u mlijeku, alkohola u alkoholnim pićima, za određivanje čistoće glicerola, mineralnih i eteričnih ulja, voskova, masti itd. Refraktometrija je također važna metoda za određivanje konstitucije organskih spojeva.



Slika 16. Princip refraktometrije

Mjerenje indeksa refrakcije je jednostavno i brzo. Uzorci kolostruma krmača mjere se nakon kalibracije s destiliranom ili deioniziranom vodom. Vrijeme mjerenja je oko 1,5 sek, instrument mjeri indeks refrakcije uzorka i odmah ga pretvara u jedinice (% Brix). Minimalni volumen uzorka je 100 μ L (da pokrije prizmu u cijelosti).

Ovaj instrument također koristi međunarodno priznate reference za konverziju jedinica i temperaturnu kompenzaciju te također primjenjuje metodologiju koju preporučuju ICUMSA metode (Međunarodno priznato tijelo za analizu šećera).

4.2.3. Jednosmjerna radijalna imunodifuzija - RID (Mancinijev postupak)

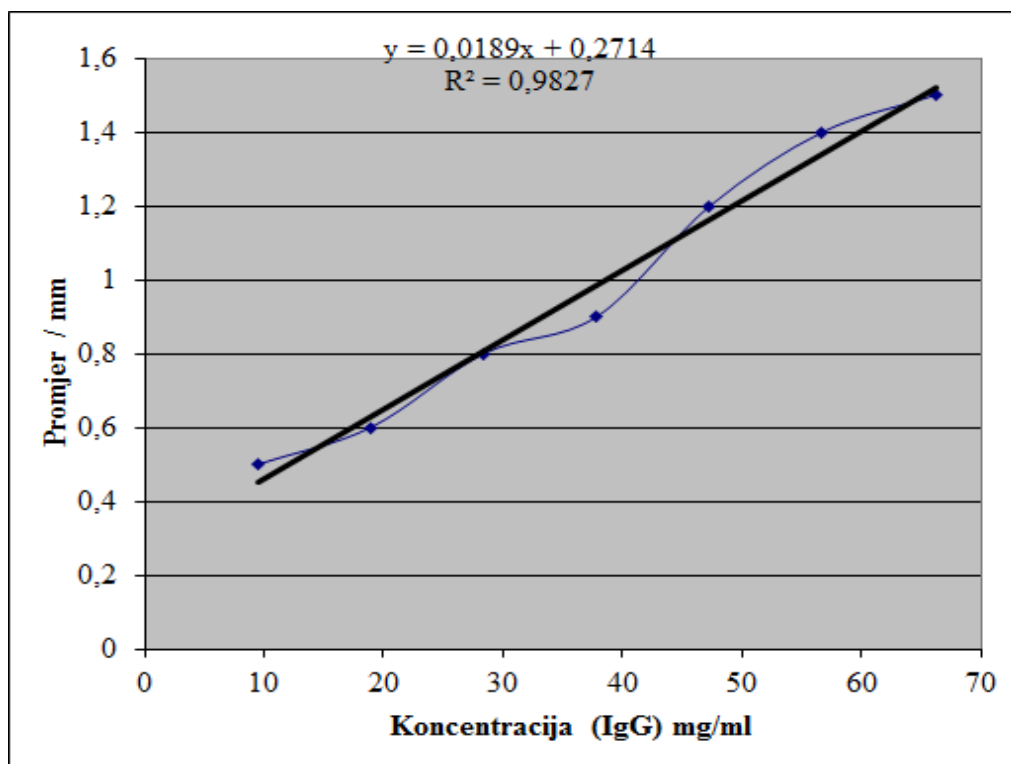
Ova laboratorijska analitička metoda najčešće služi za određivanje ukupne količine serumskih imunoglobulina ili pojedinih imunoglobulinskih frakcija u serumu, ali se može primijeniti i na druga slična istraživanja.

Određivanje standarda za RID obavljeno je u laboratoriju na prikupljenim uzorcima. U ovom postupku protutijela za pretraživani antigen pomiješaju se s otopljenim pripravkom agara (Tablica 13. i Slika 17.) i zajedno s njime izliju u Petrijevu zdjelicu. Antigen se stavlja u jažicu izdubljenu u očvrslom sloju agarnog gela.

Tablica 13. Određivanje standarda za RID

Uzorak	V (IgG)/ μ L	c (IgG)/mg/mL	R/cm
1	2	9,46	0,5
2	4	18,92	0,6
3	6	28,38	0,8
4	8	37,84	0,9
5	10	47,3	1,2
6	12	56,76	1,4
7	14	66,22	1,5

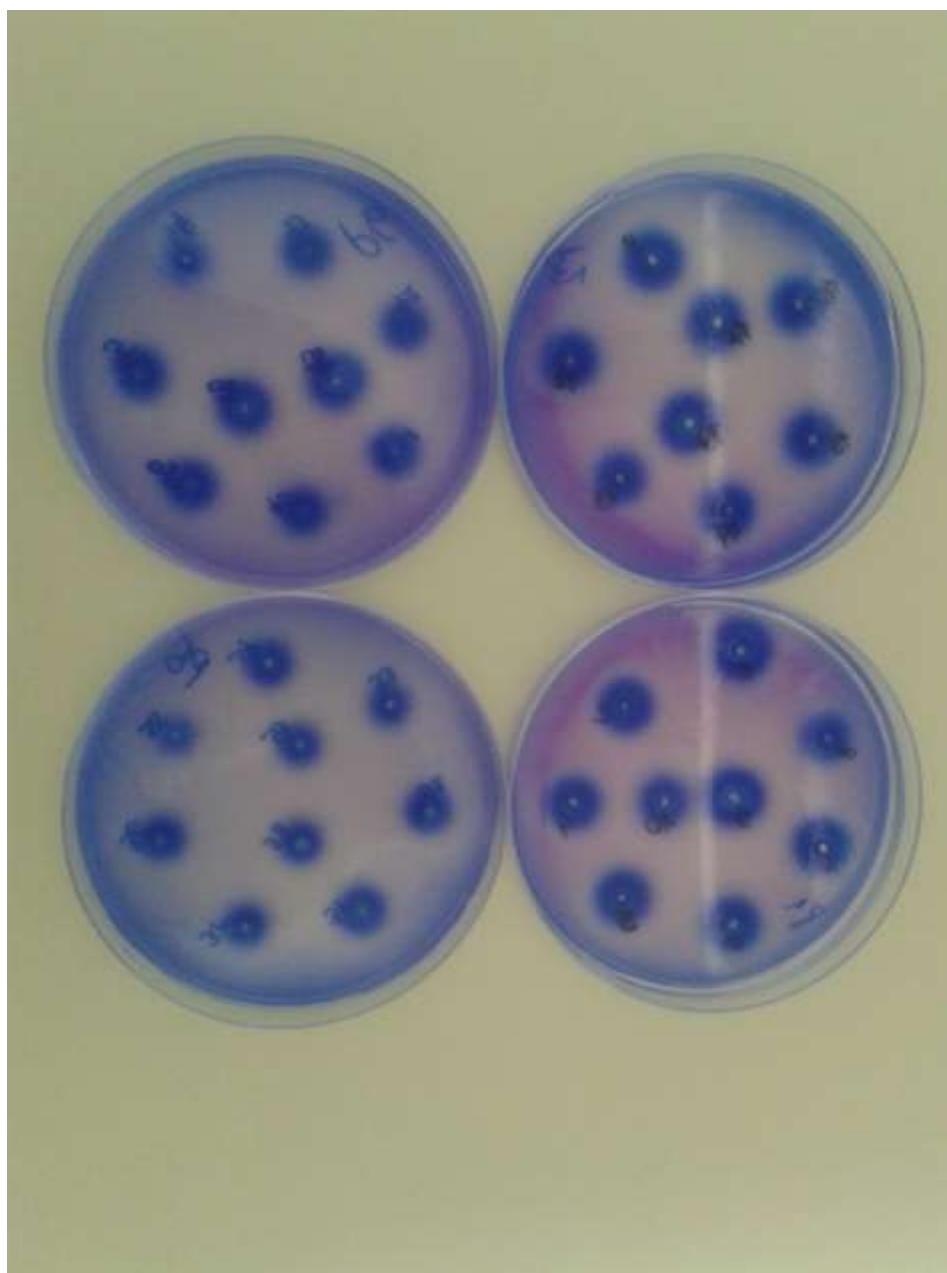
Pri određivanju ukupne količine imunoglobulina, u jažicu se nakapa pretraživani uzorak kolostruma (antigen), a agarnom se gelu primiješaju protutijela (anti-imunoglobulini) za imunoglobuline životinjske vrste od koje potječe kolostrum.



Slika 17. Korelacija između veličine uzorka i koncentracije IgG

Tijekom inkubacije (18-24h) kolostralni imunoglobulini zrakasto (radijalno) difundiraju u gel i u njemu s anti-imunoglobulinima tvore precipitate. Tvorba precipitata traje sve dok se imunoglobulini pri prolazu kroz gel ne razrijede ispod određenog minimuma. Što je više imunoglobulina u serumu, veća je površina precipitacijskog kruga, jer je potrebno šire područje difuzije da bi se antigen (kolostralni imunoglobulini) razrijedio (Slika 18.).

Rezultat reakcije očita se mjerenjem promjera precipitacijskog kruga i izračunavanjem njegove površine. Dobiveni rezultat usporedi se s podacima na baždarnoj krivulji. Ona se načini mjerenjem promjera izračunavanjem površine precipitacijskih krugova nastalih u reakciji između standardnog pripravka antiimunoglobulina i uzoraka kolostruma (seruma) s poznatom količinom imunoglobulina.



Slika 18. Izgled precipitirajućih prstenova nastalih tijekom postupka radijalne imunodifuzije

4.2.4. Analiza kemijskog sastava kolostruma

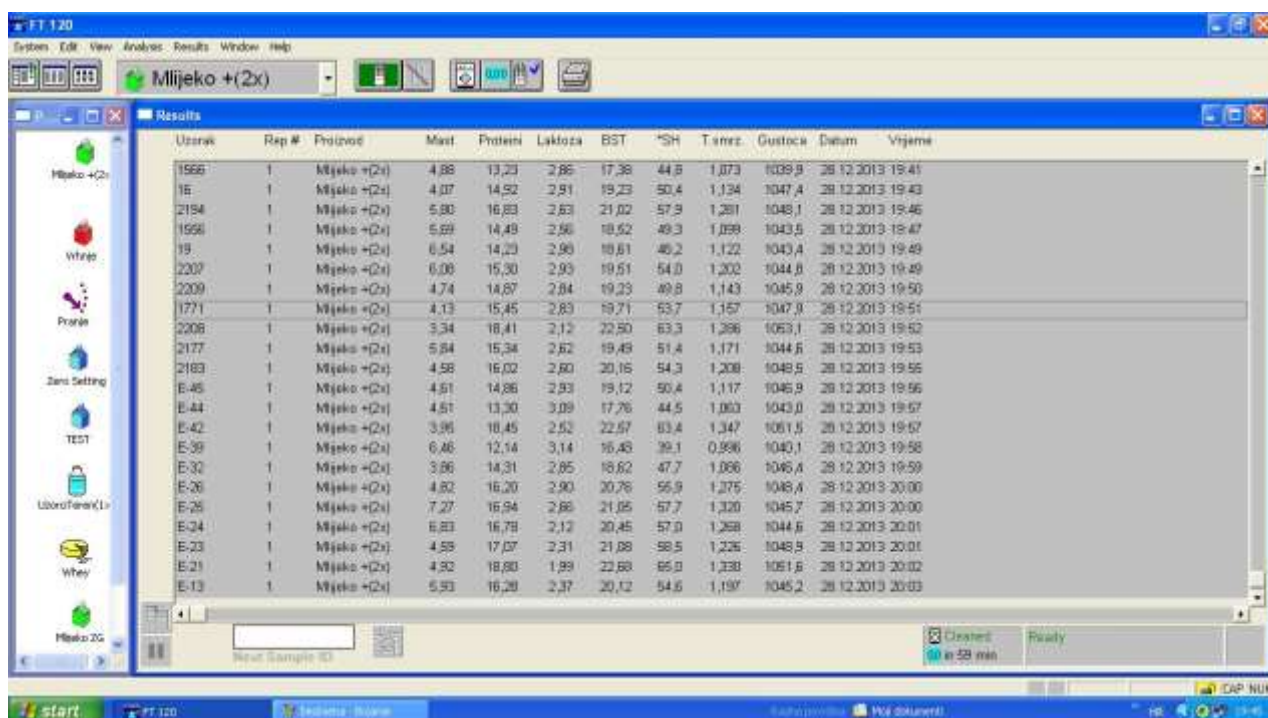
Analiza kemijskog sastava kolostruma izvršena je u laboratorijskim uvjetima na uređaju MilkoScan FT120 (FossElectric, Slika 19.). To je uređaj koji mjeri sadržaj pojedinih kemijskih sastojaka u mlijeku na temelju infracrvenog svjetla (Near Infrared Spectroscopy – NIRS), a tijekom našeg istraživanja analizirani su slijedeći parametri:

- % mlječne masti,
- % bjelančevina,
- % laktoze,
- % bezmasne suhe tvari,
- °SH,
- temperatura smrzavanja,
- gustoća.



Slika 19. MilkoScan FT120

Uređaj je spojen na računalo i u vremenu od približno 30 sekundi na ekranu se prikazuju rezultati analize, u grafičkom obliku. Grafički oblik pretvara se u tablične vrijednosti koje su prikladne za daljnju obradu podataka (Slika 20.).



Uzorak	Rep #	Proizvod	Moist	Protein	Laktaza	BST	*SH	T. smrz.	Gustoca	Datum	Vrijeme
1966	1	Mlijeko + (2x)	4.88	13.23	2.86	17.38	44.8	1.073	1039.9	28.12.2013	19:41
196	1	Mlijeko + (2x)	4.07	14.52	2.91	19.23	50.4	1.134	1047.4	28.12.2013	19:43
2194	1	Mlijeko + (2x)	5.80	16.83	2.83	21.02	57.9	1.281	1048.1	28.12.2013	19:46
1956	1	Mlijeko + (2x)	5.69	14.49	2.56	18.52	49.3	1.099	1043.5	28.12.2013	19:47
19	1	Mlijeko + (2x)	6.54	14.23	2.99	18.61	46.2	1.122	1043.4	28.12.2013	19:49
2207	1	Mlijeko + (2x)	6.08	15.30	2.93	19.51	54.0	1.202	1044.8	28.12.2013	19:49
2209	1	Mlijeko + (2x)	4.74	14.87	2.84	19.23	49.8	1.143	1045.9	28.12.2013	19:50
1771	1	Mlijeko + (2x)	4.13	15.45	2.83	19.71	53.7	1.157	1047.8	28.12.2013	19:51
2206	1	Mlijeko + (2x)	3.34	18.41	2.12	22.50	63.3	1.286	1053.1	28.12.2013	19:52
2177	1	Mlijeko + (2x)	5.84	15.34	2.62	19.49	51.4	1.171	1044.6	28.12.2013	19:53
2183	1	Mlijeko + (2x)	4.58	16.02	2.60	20.16	54.3	1.208	1048.5	28.12.2013	19:55
E-45	1	Mlijeko + (2x)	4.51	14.86	2.93	19.12	50.4	1.117	1045.9	28.12.2013	19:56
E-44	1	Mlijeko + (2x)	4.51	13.30	3.09	17.76	44.5	1.063	1043.0	28.12.2013	19:57
E-42	1	Mlijeko + (2x)	3.96	18.45	2.52	22.57	63.4	1.347	1051.5	28.12.2013	19:57
E-39	1	Mlijeko + (2x)	6.46	12.14	3.14	16.48	39.1	0.986	1040.1	28.12.2013	19:58
E-32	1	Mlijeko + (2x)	3.86	14.31	2.85	18.62	47.7	1.066	1045.4	28.12.2013	19:59
E-26	1	Mlijeko + (2x)	4.82	16.20	2.90	20.76	55.9	1.275	1048.4	28.12.2013	20:00
E-25	1	Mlijeko + (2x)	7.27	16.94	2.86	21.05	57.7	1.320	1045.7	28.12.2013	20:00
E-24	1	Mlijeko + (2x)	6.83	16.78	2.12	20.45	57.0	1.268	1044.6	28.12.2013	20:01
E-23	1	Mlijeko + (2x)	4.59	17.07	2.31	21.88	58.5	1.225	1048.9	28.12.2013	20:01
E-21	1	Mlijeko + (2x)	4.92	18.80	1.99	22.68	65.0	1.238	1051.6	28.12.2013	20:02
E-13	1	Mlijeko + (2x)	5.93	16.28	2.37	20.12	54.6	1.197	1045.2	28.12.2013	20:03

Slika 20. Tablični prikaz analize kolostruma pomoću Milkoscan FT120 uređaja

4.3. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka provedena je pomoću SAS® Stat softvera (SAS® System, License No. 0092661001). Vrijednosti koje su izračunate i korištene za deskriptivnu statistiku su: aritmetička sredina, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti, a testiranje vrijednosti obavljeno je pomoću z-testa.

Aritmetička sredina izračunata je pomoću formule:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + \dots + x_n}{n}.$$

Standardna devijacija izračunata je pomoću formule:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Koeficijent varijabilnosti proporcionalan je standardnoj devijaciji a obrnuto je proporcionalan aritmetičkoj sredini. Izračunat je po formuli:

$$V = \frac{\sigma \cdot 100}{\bar{x}} \%$$

4.3.1. GLM procedura

Za stupanj interakcije između promatranih pojava i upotrebljenih učinaka korištena je GLM procedura (SAS Institute Inc.). GLM se koristila za utvrđivanje razlika u sastavu nutrijenata u kolostrumu s obzirom na cikluse skladištenja uzoraka. Model za procjenu je opisan jednadžbom:

$$Y_{ij} = \mu + F_i + e_{ij}$$

gdje je Y_{ij} zavisna varijabla; μ srednja vrijednosti; F_i fiksni učinak zavisne varijable; e_{ij} pogreška zavisne varijable (Morill i sur., 2012).

5. REZULTATI I RASPRAVA

5.1. Sastav kolostruma

Utvrđivanje kemijskog sastava i sadržaja hranjivih tvari u kolostrumu ispitivanih krmača s dvije farme provedeno je analizom pomoću MilkoScan uređaja. Najznačajnije hranjive tvari prikazane su u postotnim udjelima (Tablica 14.).

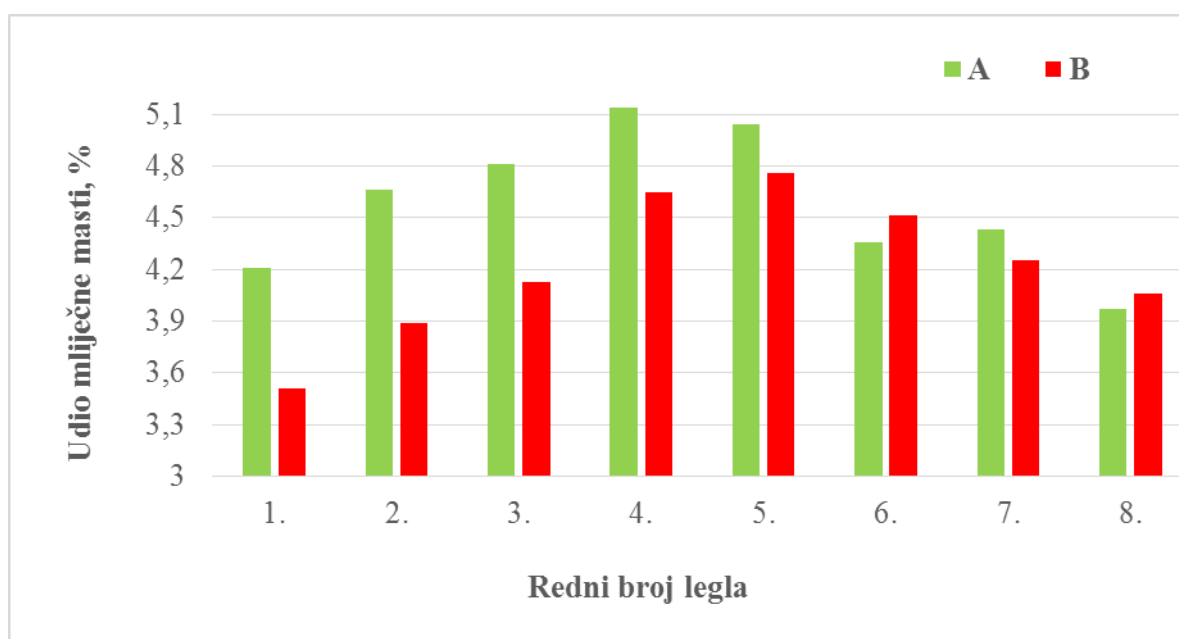
Tablica 14. Sastav kolostruma krmača

Svojstvo	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
Udio mliječne masti, %	$\bar{x}$	4,58	4,22	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,31	0,22	
	<i>Vk</i>	3,87	3,36	
	$s_{\bar{x}}$	0,41	0,33	
Udio bjelančevina, %	$\bar{x}$	15,05	15,10	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	1,24	1,56	
	<i>Vk</i>	6,33	5,96	
	$s_{\bar{x}}$	0,89	0,86	
Udio laktoze, %	$\bar{x}$	2,61	2,60	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,16	0,22	
	<i>Vk</i>	1,17	1,58	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,12	
Bezmasna suha tvar (BST), %	$\bar{x}$	19,61	19,92	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	1,96	2,31	
	<i>Vk</i>	5,42	5,95	
	$s_{\bar{x}}$	0,84	0,75	

Kao što je vidljivo iz tablice, nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu udjela hranjivih tvari kolostruma krmača s dvije različite farme. Utvrđene prosječne vrijednosti u granicama su onih koje se mogu pronaći u literaturi (Rolinec i sur., 2012.; Kirovski i sur., 2013.), a koje, prema autorima, određuju kolostrum dobrog hranidbenog i kvalitativnog sastava.

Mliječna mast je značajan sastojak kolostruma krmača, koji u prvim satima i danima života prasadi osigurava neophodnu energiju za održavanje vitalnih životnih funkcija (Aumaitre i Seve, 1978.). Udio mliječne masti u kolostrumu krmača na obje farme kretao se u granicama koje se mogu okarakterizirati kao standardna količina (Göransson, 1990.).

Udio mliječne masti u kolostrumu krmača na obje farme kroz 8 laktacija prikazan je na Slici 21.



Slika 21. Udio mliječne masti u kolostrumu krmača u ovisnosti od rednog broja legla

Kao što je vidljivo, udio mliječne masti u kolostrumu krmača na obje farme povećava se sa starošću krmača, tj. povećanjem broja laktacija do 4. laktacije, nakon čega dolazi do blagog opadanja vrijednosti.

Tablica 15. Razlike u udjelu mliječne masti u kolostrumu krmača s obje farme između laktacija

Redni broj legla	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
1.	$\bar{x}$	4,20	3,41	$P<0,01$
	Sd	0,36	0,29	
	Vk	2,56	3,48	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,08	
2.	$\bar{x}$	4,65	3,81	$P<0,05$
	Sd	0,41	0,36	
	Vk	3,52	3,24	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,10	
3.	$\bar{x}$	4,80	4,12	$P<0,05$
	Sd	0,38	0,48	
	Vk	3,96	3,58	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,13	
4.	$\bar{x}$	5,13	4,75	<i>n.s.</i>
	Sd	0,29	0,33	
	Vk	3,41	4,07	
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,08	
5.	$\bar{x}$	4,95	4,73	<i>n.s.</i>
	Sd	0,39	0,32	
	Vk	4,22	3,62	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,08	
6.	$\bar{x}$	4,31	4,52	<i>n.s.</i>
	Sd	0,36	0,31	
	Vk	3,36	3,19	
	$s_{\bar{x}}$	0,14	0,07	
7.	$\bar{x}$	4,41	4,28	<i>n.s.</i>
	Sd	0,25	0,34	
	Vk	3,98	3,18	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,12	
8.	$\bar{x}$	4,02	4,11	<i>n.s.</i>
	Sd	0,28	0,36	
	Vk	4,08	3,65	
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,09	

Prosječne vrijednosti udjela mliječne masti u kolostrumu krmača s obje farme prikazane su u Tablici 15. Prikazane vrijednosti ukazuju da krmače s farme B imaju nešto niži udio mliječne masti u kolostrumu u odnosu na krmače s farme A, a razlike su osobito izražene u prve tri laktacije i kreću se između statistički visoko značajnih ($P < 0,01$) u prvoj laktaciji do statistički značajnih ($P < 0,05$) u drugoj i trećoj laktaciji. U ostalim laktacijama nisu utvrđene statistički značajne razlike u udjelu mliječne masti u kolostrumu.

Na temelju ovoga možemo tvrditi da genetski status krmača ima određenog utjecaja na omjer sadržaja mliječne masti, a da su ta svojstva dobrim dijelom ovisna i o dobi krmača te redoslijedu laktacije. Do sličnih zaključaka došli su i Farmer i Quesnel (2008.) te Kingori (2012.). Potonji još navodi kako se na udio mliječne masti u kolostrumu krmača može, do određene mjere, utjecati i hranidbom krmača u posljednjem stadiju bređosti.

Razlike između sadržaja mliječne masti u kolostrumu između pojedinih laktacija krmača na farmi A i B prikazane su u Tablicama 16. i 17. U tablici su prikazane aritmetičke sredine i standardne devijacije utvrđenih udjela.

Tablica 16. Razlike u udjelu mliječne masti u kolostrumu između laktacija (Farma A)

Redni broj legla	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1.	-	4,65±0,41*	4,80±0,38*	5,13±0,29**	4,95±0,39*	4,31±0,36**	4,41±0,25**	4,02±0,28
		4,20±0,36	4,20±0,36	4,20±0,36	4,20±0,36	4,20±0,36	4,20±0,36	4,20±0,36
2.		-	4,80±0,38	5,13±0,29*	4,95±0,39*	4,31±0,36	4,41±0,25	4,02±0,28*
			4,65±0,41	4,65±0,41	4,65±0,41	4,65±0,41	4,65±0,41	4,65±0,41
3.			-	5,13±0,29	4,95±0,39	4,31±0,36*	4,41±0,25	4,02±0,28**
				4,80±0,38	4,80±0,38	4,80±0,38	4,80±0,38	4,80±0,38
4.				-	4,95±0,39	4,31±0,36**	4,41±0,25*	4,02±0,28**
					5,13±0,29	5,13±0,29	5,13±0,29	5,13±0,29
5.					-	4,31±0,36*	4,41±0,25*	4,02±0,28**
						4,95±0,39	4,95±0,39	4,95±0,39
6.						-	4,41±0,25	4,02±0,28
							4,31±0,36	4,31±0,36
7.							-	4,02±0,28
								4,41±0,25
8.								-

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$

Podatci iz Tablica 16. i 17. pokazuju kako postoje statističke razlike između svih laktacija u pogledu sadržaja mliječne masti kolostruma, a one se kreću u rangui od značajne ($P < 0,05$) do vrlo značajne ($P < 0,01$), s naglaskom da ova razlika raste kako se povećava broj laktacija, tj. dob krmača, ali samo do 5., odnosno 6. legla.

Tablica 17. Razlike u udjelu mliječne masti u kolostrumu između laktacija (Farma B)

Redni broj legla	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1.	-	3,81±0,36 3,41±0,29	4,12±0,48* 3,41±0,29	4,75±0,33** 3,41±0,29	4,73±0,32** 3,41±0,29	4,52±0,31* 3,41±0,29	4,28±0,34* 3,41±0,29	4,11±0,36* 3,41±0,29
2.		-	4,12±0,48 3,81±0,36	4,75±0,33* 3,81±0,36	4,73±0,32** 3,81±0,36	4,52±0,31* 3,81±0,36	4,28±0,34* 3,81±0,36	4,11±0,36 3,81±0,36
3.			-	4,75±0,33* 4,12±0,48	4,73±0,32* 4,12±0,48	4,52±0,31 4,12±0,48	4,28±0,34 4,12±0,48	4,11±0,36 4,12±0,48
4.				-	4,73±0,32 4,75±0,33	4,52±0,31 4,75±0,33	4,28±0,34 4,75±0,33	4,11±0,36* 4,75±0,33
5.					-	4,52±0,31 4,73±0,32	4,28±0,34 4,73±0,32	4,11±0,36* 4,73±0,32
6.						-	4,28±0,34 4,52±0,31	4,11±0,36 4,52±0,31
7.							-	4,11±0,36 4,28±0,34
8.								-

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$

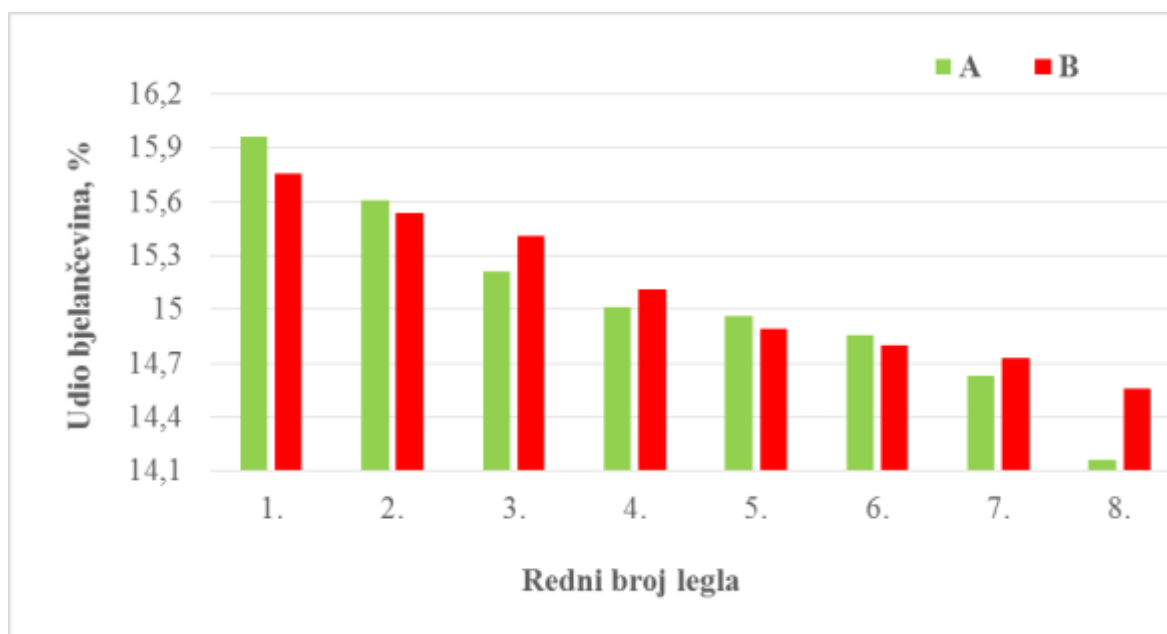
Kingori (2012.) također navodi varijacije u sadržaju mliječne masti ovisno o stadiju laktacije kod hibridnih krmača u intenzivnom sustavu držanja. Ne može se sa sigurnošću govoriti o razlozima utvrđenih statističkih različitosti. Krogh i sur. (2015.) smatraju da razlike u sadržaju hranjivih tvari kolostruma unutar laktacija treba posmatrati kao individualni odgovor krmače na okolišne uvjete.

Tablica 18. Razlike u udjelu ukupnih bjelančevina u kolostrumu krmača s obje farme između laktacija

Redni broj legla	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
1.	$\bar{x}$	15,98	15,71	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,49	0,61	
	<i>vk</i>	3,54	4,01	
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,09	
2.	$\bar{x}$	15,59	15,51	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,36	0,31	
	<i>vk</i>	4,11	3,68	
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,08	
3.	$\bar{x}$	15,21	15,38	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,51	0,45	
	<i>vk</i>	3,68	3,13	
	$s_{\bar{x}}$	0,13	0,10	
4.	$\bar{x}$	15,02	15,19	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,62	0,65	
	<i>vk</i>	6,11	4,30	
	$s_{\bar{x}}$	0,13	0,14	
5.	$\bar{x}$	14,91	14,85	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,87	0,34	
	<i>vk</i>	3,65	4,51	
	$s_{\bar{x}}$	0,21	0,09	
6.	$\bar{x}$	14,79	14,71	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,61	0,82	
	<i>vk</i>	4,32	4,11	
	$s_{\bar{x}}$	0,21	0,09	
7.	$\bar{x}$	14,60	14,72	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,54	0,49	
	<i>vk</i>	3,97	3,66	
	$s_{\bar{x}}$	0,13	0,11	
8.	$\bar{x}$	14,19	14,50	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,39	0,42	
	<i>vk</i>	4,13	3,96	
	$s_{\bar{x}}$	0,14	0,17	

Prosječni udio ukupnih bjelančevina u kolostrumu ispitivanih krmača kroz laktacije tijekom proizvodnog ciklusa prikazan je u Tablici 18. Analizom je utvrđen udio ukupnih bjelančevina, od kojih je najzastupljeniji imunoglobulin G (IgG), koji čini približno 40% ukupnih bjelančevina kolostruma neposredno nakon prasenja (Salobir i Rezar, 2009.). Sastav kolostruma krmača ovisan je i o starosti krmača, tj. rednom broju legla (Elliason i Isberg, 2011.).

Nisu utvrđene statistički značajne razlike između krmača s farme A i B s obzirom na udjele ukupnih bjelančevina kroz sve vrijeme laktacije. Na slično u svojem istraživanju ukazuju i Declerck i sur. (2015.) koji potvrđuju konstantnost sadržaja bjelančevina u kolostrumu hibridnih krmača. Kao što se može vidjeti iz prikaza, za razliku od sadržaja mliječne masti, čiji sadržaj varira, ukupni sadržaj bjelančevina opada s porastom broja laktacija. Na ovu činjenicu u svojim istraživanjima ukazuju i Devillers i sur. (2007.) te Qusnell (2011.). Na Slici 22. prikazano je kretanje udjela ukupnih bjelančevina kroz svih 8 laktacija tijekom ispitivanog razdoblja na obje farme.



Slika 22. Udio ukupnih bjelančevina u kolostrumu krmača
u ovisnosti o rednom broju legla

Razlike između udjela bjelančevina u kolostrumu između pojedinih laktacija krmača na farmi A i B prikazane su u Tablicama 19. i 20. Utvrđene statističke značajnosti kreću se u rasponu od značajnih ($P < 0,05$), do visoko ($P < 0,01$) i vrlo visoko značajnih ($P < 0,001$). Ove značajnosti proizlaze iz činjenice da je utvrđeno linearno smanjenje udjela ukupnih bjelančevina tijekom proizvodnog ciklusa, tj. u svakoj slijedećoj laktaciji.

Tablica 19. Razlike u udjelu bjelančevina u kolostrumu između laktacija (Farma A)

R.b.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1.	-	15,59±0,36 15,98±0,49	15,21±0,51 15,98±0,49	15,02±0,62* 15,98±0,49	14,91±0,87** 15,98±0,49	14,79±0,61** 15,98±0,49	14,60±0,54** 15,98±0,49	14,19±0,39*** 15,98±0,49
2.		-	15,21±0,51 15,59±0,36	15,02±0,62* 15,59±0,36	14,91±0,87* 15,59±0,36	14,79±0,61** 15,59±0,36	14,60±0,54** 15,59±0,36	14,19±0,39*** 15,59±0,36
3.			-	15,02±0,62 15,21±0,51	14,91±0,87 15,21±0,51	14,79±0,61* 15,21±0,51	14,60±0,54* 15,21±0,51	14,19±0,39** 15,21±0,51
4.				-	14,91±0,87 15,02±0,62	14,79±0,61 15,02±0,62	14,60±0,54 15,02±0,62	14,19±0,39* 15,02±0,62
5.					-	14,79±0,61 14,91±0,87	14,60±0,54 14,91±0,87	14,19±0,39* 14,91±0,87
6.						-	14,60±0,54 14,79±0,61	14,19±0,39* 14,79±0,61
7.							-	14,19±0,39 14,60±0,54
8.								-

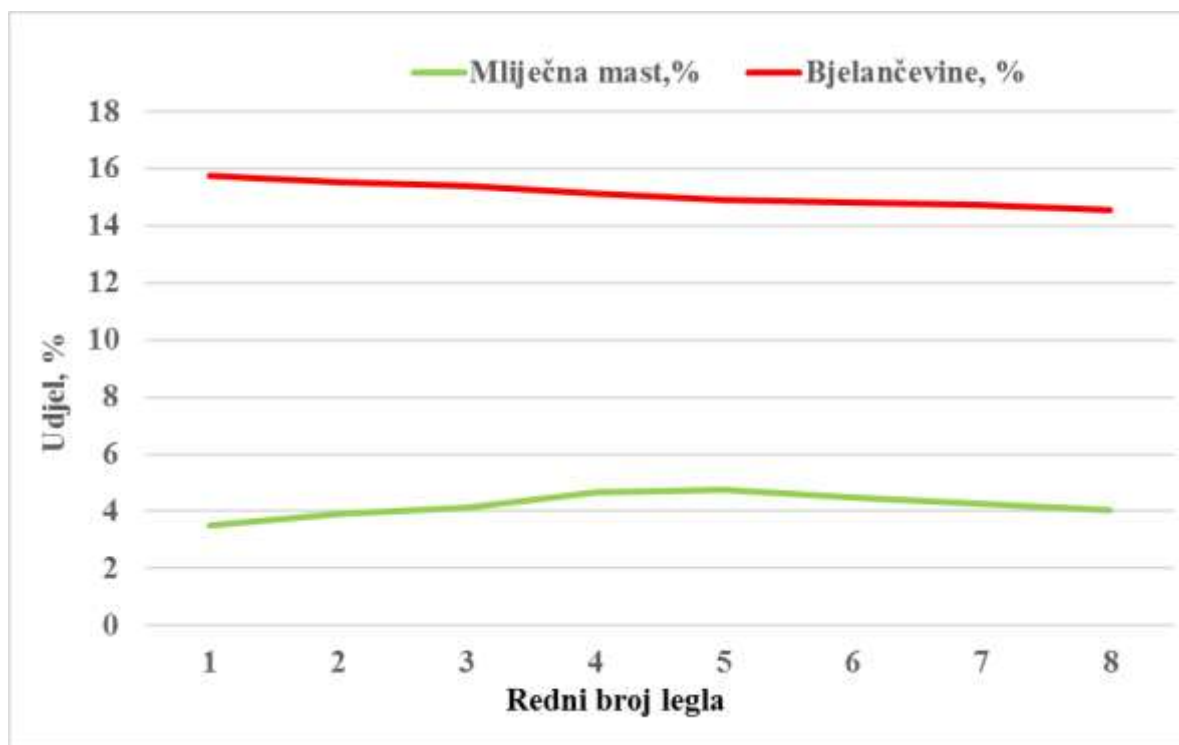
* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

Tablica 20. Razlike u udjelu bjelančevina u kolostrumu između laktacija (Farma B)

R.b.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1.	-	15,51±0,31 15,71±0,61	15,38±0,45 15,71±0,61	15,19±0,65* 15,71±0,61	14,85±0,34** 15,71±0,61	14,71±0,82** 15,71±0,61	14,72±0,49** 15,71±0,61	14,50±0,42*** 15,71±0,61
2.		-	15,38±0,45 15,51±0,31	15,19±0,65 15,51±0,31	14,85±0,34* 15,51±0,31	14,71±0,82*** 15,51±0,31	14,72±0,49*** 15,51±0,31	14,50±0,42** 15,51±0,31
3.			-	15,19±0,65 15,38±0,45	14,85±0,34* 15,38±0,45	14,71±0,82*** 15,38±0,45	14,72±0,49*** 15,38±0,45	14,50±0,42** 15,38±0,45
4.				-	14,85±0,34 15,19±0,65	14,71±0,82* 15,19±0,65	14,72±0,49* 15,19±0,65	14,50±0,42** 15,19±0,65
5.					-	14,71±0,82 14,85±0,34	14,72±0,49 14,85±0,34	14,50±0,42 14,85±0,34
6.						-	14,72±0,49 14,71±0,82	14,50±0,42 14,71±0,82
7.							-	14,50±0,42 14,71±0,82
8.								-

*P<0,05, **P<0,01, P<0,001

O kakvoći samog kolostruma mnogo nam može reći i odnos između sadržaja mliječne masti i bjelančevina (Slika 23.).



Slika 23. Prosječni udjeli mliječne masti i bjelančevina u kolostrumu krmača

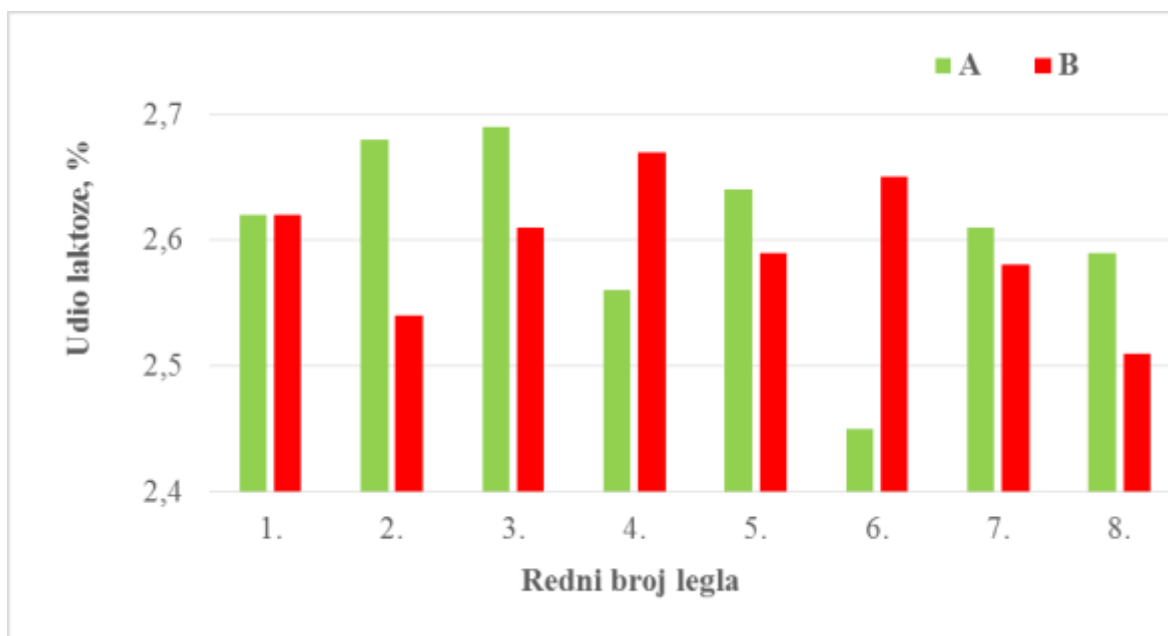
Odnos sadržaja mliječne masti i ukupnih bjelančevina u kolostrumu krmača najbliži je između 3. i 5. legla, što je u suglasju s literaturnim podacima o ranijim istraživanjima kvalitete krmačinog kolostruma (Eliasson i Isberg, 2011.). Navedeni autori ukazuju da je omjer mliječne masti i sadržaja bjelančevina jedan od ključnih čimbenika preživljavanja prasadi, njihovog rasta i razvoja te zdravstvenog statusa. Upravo se razdoblje od 3. do 5. legla danas u intenzivnoj svinjogojskoj proizvodnji smatra najproduktivnijim i ekonomski najprofitabilnijim, s obzirom na navedena svojstva.

Udjeli mliječnog šećera – laktoze (Tablica 21., Slika 24.) i bezmasne suhe tvari (Tablica 22., Slika 25.) u kolostrumu krmača s obje farme tijekom svih 8 ispitivanih laktacija nisu se značajnije mijenjali i bili su konstantni, što je također na tragu literaturnih podataka (Devillers i sur., 2007.).

Tablica 21. Razlike u udjelu mliječnog šećera laktoze u kolostrumu krmača s obje farme između laktacija

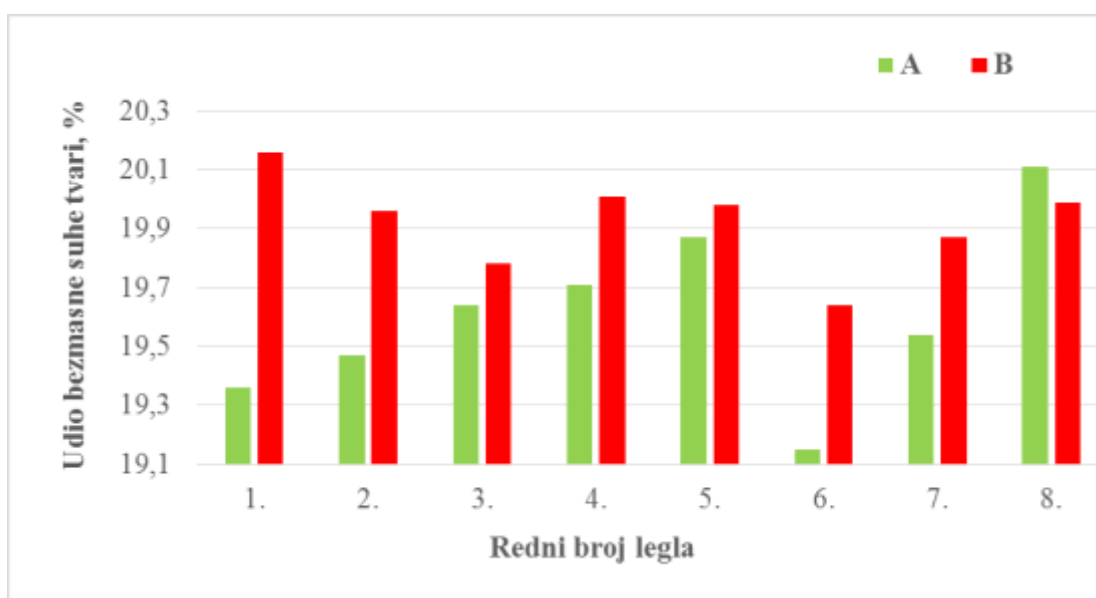
Redni broj legla	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
1.	$\bar{x}$	2,64	2,63	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,21	0,19	
	<i>Vk</i>	2,59	3,11	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,09	
2.	$\bar{x}$	2,67	2,54	<i>P<0,05</i>
	<i>Sd</i>	0,26	0,27	
	<i>Vk</i>	3,11	2,99	
	$s_{\bar{x}}$	0,08	0,07	
3.	$\bar{x}$	2,69	2,61	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,38	0,29	
	<i>Vk</i>	3,01	2,56	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,06	
4.	$\bar{x}$	2,56	2,67	<i>P<0,05</i>
	<i>Sd</i>	0,22	0,31	
	<i>Vk</i>	3,21	3,26	
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,06	
5.	$\bar{x}$	2,63	2,59	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,38	0,40	
	<i>Vk</i>	3,69	2,96	
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,09	
6.	$\bar{x}$	2,44	2,65	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,25	0,30	
	<i>Vk</i>	2,56	2,13	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,08	
7.	$\bar{x}$	2,61	2,58	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,33	0,28	
	<i>Vk</i>	2,11	2,98	
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,06	
8.	$\bar{x}$	2,59	2,52	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,35	0,29	
	<i>Vk</i>	2,88	2,69	
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,09	

Kao što je vidljivo iz tablice, udio laktoze u kolostrumu prilično je ujednačen, osim u drugoj i četvrtoj laktaciji, gdje su utvrđene statistički značajne razlike ($P < 0,05$) u sadržaju mliječnog šećera, laktoze.



Slika 24. Udio laktoze u kolostrumu krmača u ovisnosti od rednog broja legla

Za razliku od naših dobivenih vrijednosti udjela mliječnog šećera (2,61%), Rolinac i sur. (2012.) navode da je udio laktoze najniži na početku prasnja i iznosi 2,82% te da tijekom sljedećih 10 sati dolazi do povećanja koncentracije laktoze na 3,55%.



Slika 25. Udio bezmasne suhe tvari u kolostrumu krmača u ovisnosti od rednog broja legla

Tablica 22. Razlike u udjelu bezmasne suhe tvari u kolostrumu krmača s obje farme između laktacija

Redni broj legla	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
1.	$\bar{x}$	19,37	20,16	$P<0,05$
	Sd	0,46	0,39	
	Vk	2,38	2,56	
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,09	
2.	$\bar{x}$	19,46	19,93	$n.s.$
	Sd	0,38	0,36	
	Vk	3,04	2,68	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,08	
3.	$\bar{x}$	19,65	19,78	$n.s.$
	Sd	0,51	0,42	
	Vk	3,15	2,98	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,10	
4.	$\bar{x}$	19,71	19,95	$n.s.$
	Sd	0,36	0,33	
	Vk	2,68	3,05	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,11	
5.	$\bar{x}$	19,83	19,95	$n.s.$
	Sd	0,43	0,38	
	Vk	3,13	3,26	
	$s_{\bar{x}}$	0,12	0,09	
6.	$\bar{x}$	19,16	19,66	$P<0,05$
	Sd	0,38	0,41	
	Vk	3,23	2,95	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,08	
7.	$\bar{x}$	19,56	19,83	$n.s.$
	Sd	0,37	0,26	
	Vk	3,14	3,20	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,11	
8.	$\bar{x}$	20,10	19,96	$n.s.$
	Sd	0,31	0,42	
	Vk	2,98	3,16	
	$s_{\bar{x}}$	0,10	0,08	

5.2. Imunoglobulin G (IgG)

Utvrđivanje koncentracije i sadržaja imunoglobulina G (IgG) u ukupnim bjelančevinama kolostruma krmača s farme A i B provedeno je metodom radijalne imunodifuzije (RID) i refraktometrijom pomoću BRIX refraktometra.

5.2.1. Radijalna imunodifuzija (RID)

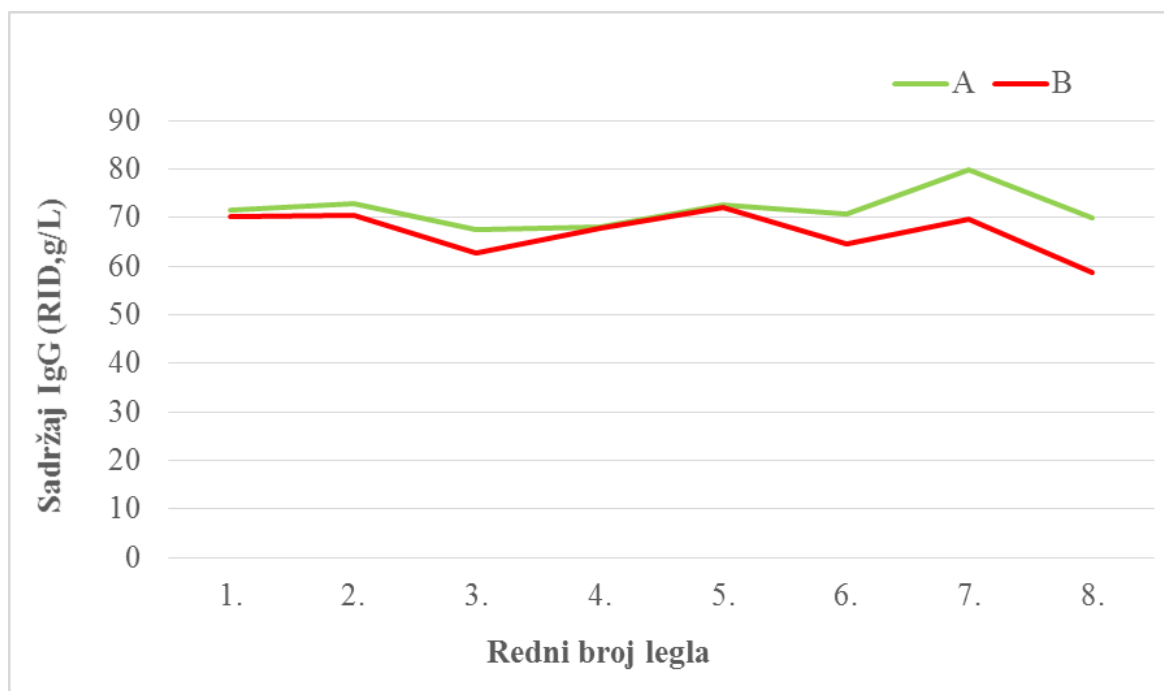
Radijalna imunodifuzija je najtočnija metoda određivanja sadržaja imunoglobulina G u kolostrumu. Vrlo često se naziva i tzv. „zlatnim standardom“ u određivanju sadržaja imunoglobulina G u kolostrumu (Balzani i sur., 2015.). Sadržaj imunoglobulina G (IgG) dobiven laboratorijskom RID metodom izražava se u gramima po litri (g/L).

U Tablici 23. prikazane su prosječne dobivene vrijednosti sadržaja IgG u kolostrumu krmača s obje farme kroz 8 laktacija.

Tablica 23. Vrijednosti sadržaja IgG (g/L) u kolostrumu krmača s obje farme, dobivene radijalnom imunodifuzijom (RID)

Farma	Statist. pokaz.	Redni broj legla							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
A	$\bar{x}$	71,6	72,8	67,5	68,1	72,6	70,8	79,8	70,0
	<i>Sd</i>	7,81	8,15	7,71	8,34	8,94	8,87	9,11	8,23
	<i>Vk</i>	11,24	10,6	9,01	10,33	11,14	12,78	11,02	10,94
	$s_{\bar{x}}$	1,94	2,36	2,10	1,39	2,47	2,52	2,98	2,63
B	$\bar{x}$	70,3	70,6	62,6	67,8	72,1	64,5	69,6	58,8
	<i>sd</i>	8,43	9,17	8,21	8,12	10,26	9,95	8,91	7,87
	<i>vk</i>	12,18	10,4	8,06	8,01	11,21	8,97	9,42	8,28
	$s_{\bar{x}}$	1,76	1,94	1,65	1,88	2,43	2,29	3,08	2,27

Kao što je vidljivo iz tablice, RID vrijednosti sadržaja imunoglobulina G kreću se u rasponu od 67,5 do 79,8 g/L kod krmača s farme A te 58,8 do 72,1 g/L kod krmača s farme B. Grafički prikaz kretanja sadržaja IgG u kolostrumu krmača tijekom 8 laktacija prikazan je na Slici 26.



Slika 26. Sadržaj IgG (RID) u kolostrumu krmača tijekom laktacija

Zamjetna je ujednačenost RID vrijednosti kolostruma kod krmača u obje farme, s tim da nakon 5. laktacije dolazi do nešto značajnije razlike u ukupnom sadržaj IgG, međutim, utvrđene razlike nisu bile statistički značajne ($P > 0,05$).

RID vrijednosti utvrđene u našem istraživanju kreću se između 60 i 80 g/L. U odnosu na literaturne podatke, naše dobivene vrijednosti su nešto niže, no one nisu imale negativni učinak na preživljavanje prasadi tijekom prvih dana života. Cabrera i sur. (2012.) utvrđivali su metodom radijalne imunodifuzije koncentraciju IgG u serumu i kolostrumu kod prasadi u prvom tjednu života. Autori su utvrdili značajnu povezanost između koncentracije IgG u kolostrumu kod rođenja i preživljavanja prasadi. Zaključili su da su koncentracije serumskog IgG niže od 100 g/L IgG utvrđene kod prasadi porodne težine

ispod 0,9 kg utjecale na vrlo nisku stopu preživljavanja u odnosu na prasad veće porodne težine.

Legla ispitivanih krmača u našem istraživanju bila su prilično ujednačena, tako da nije bilo slučajeva iznimno niske težine prasadi.

5.2.2. BRIX refraktometrija

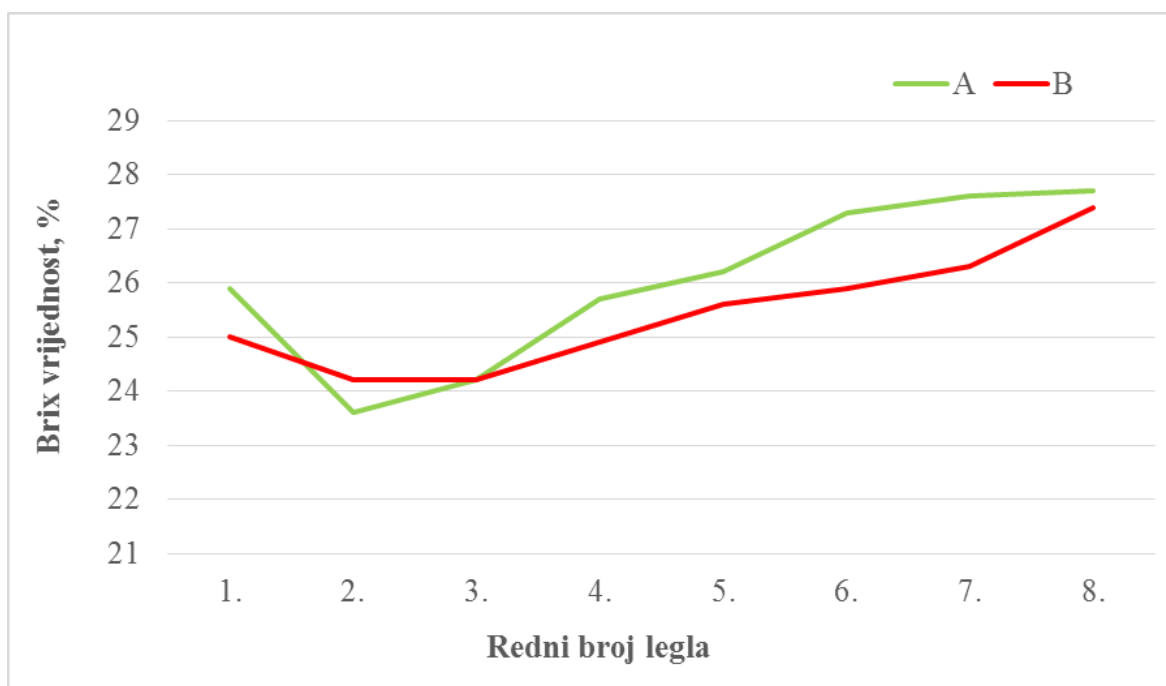
BRIX refraktometrija je metoda za određivanje udjela imunoglobulina G u kolostrumu na temelju udjela ukupne suhe tvari u kolostrumu, koja je u korelaciji sa sadržajem imunoglobulina G. Brix vrijednosti izražavaju se u %-tnom udjelu, a vrijednost Brixa od 22% ekvivalent je sadržaju imunoglobulina G od 50 g/L. Vrijednosti Brix-a iznad 22% definiraju vrlo dobrim sadržaj imunoglobulina G u kolostrumu (Bielmann i sur., 2010.).

Vrijednosti koncentracije imunoglobulina G dobivene mjerenjem kolostruma pomoću Brix refraktometra prikazane su u Tablici 24.

Tablica 24. Brix vrijednosti (%) kolostruma krmača s obje farme dobivene refraktometrijom

Farma	Statistički pokazatelj	Redni broj legla							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
A	$\bar{x}$	25,9	23,6	24,2	25,7	26,2	27,3	27,6	27,7
	sd	3,31	3,13	3,17	3,20	3,33	3,48	3,45	3,39
	vk	6,48	6,13	6,89	5,96	7,11	6,58	6,69	6,13
	$s\bar{x}$	1,14	1,36	1,30	1,09	1,34	1,55	1,31	1,61
B	$\bar{x}$	25,0	24,2	24,2	24,9	25,6	25,9	26,3	27,4
	sd	3,15	3,04	2,98	3,11	3,38	3,29	3,55	3,46
	vk	5,58	6,29	5,96	5,85	6,65	6,91	7,14	6,58
	$s\bar{x}$	1,35	1,61	1,18	1,56	1,63	1,35	1,58	1,46

Iz tablice je vidljivo da su utvrđene Brix vrijednosti u kolostrumu krmača iznad 22% Brix-a što ukazuje na dobru kvalitetu kolostruma i dobar sadržaj imunoglobulina G. Grafički prikaz sadržaja Brix vrijednosti tijekom 8 laktacija za svaku farmu prikazan je na Slici 27.



Slika 27. Brix vrijednosti u kolostrumu krmača tijekom laktacija

Prosječne Brix vrijednosti utvrđene analizom uzorka kolostruma kroz 8 laktacija na dvije različite farme ukazuju da je kolostrum krmača s farme A imao nešto više vrijednosti u odnosu na kolostrum krmača s farme B, no te vrijednosti nisu bile statističke značajne. Zamjetne su neznatno niže Brix vrijednosti u drugoj i trećoj laktaciji, nakon čega je uslijedilo linearno povećanje vrijednosti, što je u skladu s prethodnim istraživanjima (Bielmann i sur., 2010., Quesnel, 2011., Bartier i sur., 2015.). Prosječne Brix vrijednosti utvrđene na obje farme ukazuju da je kolostrum ispitivanih krmača bio u granicama kvalitetnog do vrlo kvalitetnog (>22%), što ukazuje na dobru genetsku osnovu stada i uspješno menadžiranje istog (Quigley i sur., 2013.).

Na porast Brix vrijednosti kolostruma, ovisno o rednom broju laktacije, ukazuju u svom radu i Coleman i sur. (2015.), naglašavajući kako je sadržaj suhe tvari u kolostrumu genetski određeno svojstvo na koje se može djelomično utjecati i hranidbom, što u konačnici može rezultirati povoljnijim sadržajem imunoglobulina G, a posljedično tome i boljim imunosnim te zdravstvenim statusom mladunčadi. Suprotno predočenim rezultatima, Farmer i Quesnel (2008.) utvrdili su da sadržaj IgG utvrđen Brix refraktometrijom u krmačinom kolostrumu nema linearni porast u ovisnosti o broju laktacija. Autori navode kako do smanjenja koncentracije IgG dolazi od prve do treće bređosti, a povećavaju se od četvrte sve do zadnje bređosti.

5.2.3. Procjena uspješnosti Brix metode za utvrđivanje sadržaja IgG u kolostrumu

Prednost korištenja Brix metode je u jednostavnosti i maloj količini uzorka koja je potrebna te u brzini izvođenja analize. Da bismo utvrdili uspješnost primjene Brix refraktometrije u utvrđivanju sadržaja imunoglobulina G u kolostrumu krmača, potrebno je utvrditi povezanost rezultata dobivenih ovom metodom s rezultatima dobivenim radijalnom imunodifuzijom (RID) kao standardom.

U Tablici 25. prikazane su prosječne RID i Brix vrijednosti tijekom ispitivanog razdoblja.

Tablica 25. Prosječne RID i BRIX vrijednosti tijekom promatranog razdoblja na farmama A i B

Svojstvo	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
RID, g/L	$\bar{x}$	71,65	67,46	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	2,16	2,36	
	<i>vk</i>	6,01	5,63	
	$s_{\bar{x}}$	0,18	0,11	
BRIX, %	$\bar{x}$	26,03	25,44	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,38	0,46	
	<i>vk</i>	3,21	3,44	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,08	

Da bismo to utvrdili, izračunat je koeficijent korelacije (r) te koeficijent determinacije (r^2) između navedenih metoda. U Tablici 26. prikazani su koeficijenti korelacije između Brix-a i RID-a na temelju utvrđenog sadržaja imunoglobulina G u kolostrumu ispitivanih krmača.

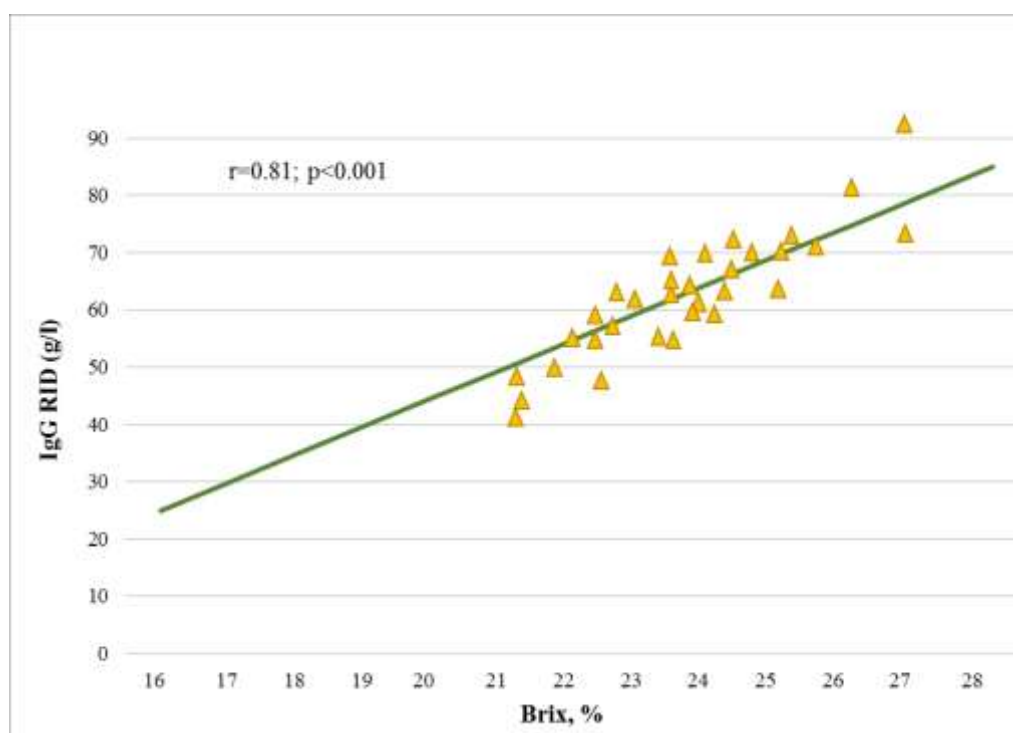
Tablica 26. Koeficijent korelacije Brix-a i RID-a

Farma	R	r^2	Statistička značajnost
Farma A	0,81	0,870	$P < 0.001$
Farma B	0,75	0,880	$P < 0.001$

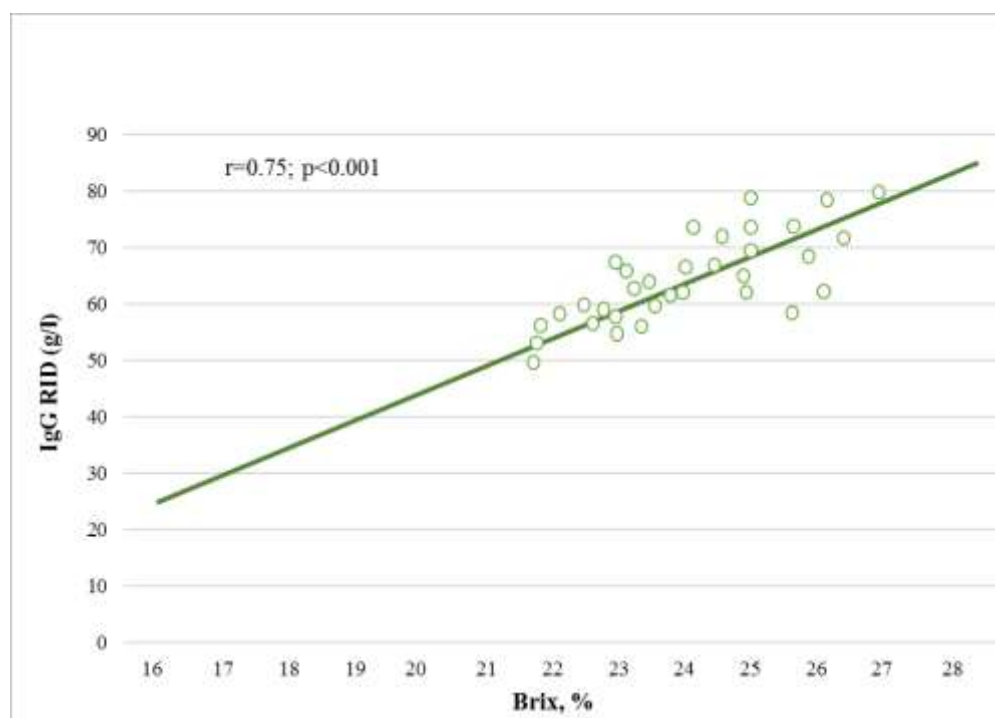
Na farmi A koeficijent korelacije između Brix-a i RID-a iznosio je $r=0,81$, $p < 0,001$, a na farmi B utvrđen je koeficijent korelacije $r=0,75$, $p < 0,001$. Do sličnih korelativnih odnosa u svojim istraživanjima došli su Argüello i sur. (2005.), Chigerwe i Hagey (2014.) te Colemann i sur. (2015.).

Na Slikama 28. i 29. prikazana je usporedba koncentracija IgG dobivenih RID metodom i vrijednosti dobivenih Brix refraktometrijom. Kao što je iz slika vidljivo, usporedba dvaju metoda određivanja sadržaja i koncentracije imunoglobulina G rezultirala je jasnim linearnim odnosom između dobivenih vrijednosti.

Uzimajući u obzir visoki koeficijent korelacije, na temelju predloženog možemo zaključiti da Brix refraktometar pruža prihvatljivu i pouzdanu procjenu IgG kod kolostruma krmača te se kao takav može koristiti u širokoj praksi.



Slika 28. Odnos između Brix i RID IgG mjerenja kolostruma krmača na farmi A



Slika 29. Odnos između Brix i RID IgG mjerenja kolostruma krmača na farmi B

5.3. Zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi

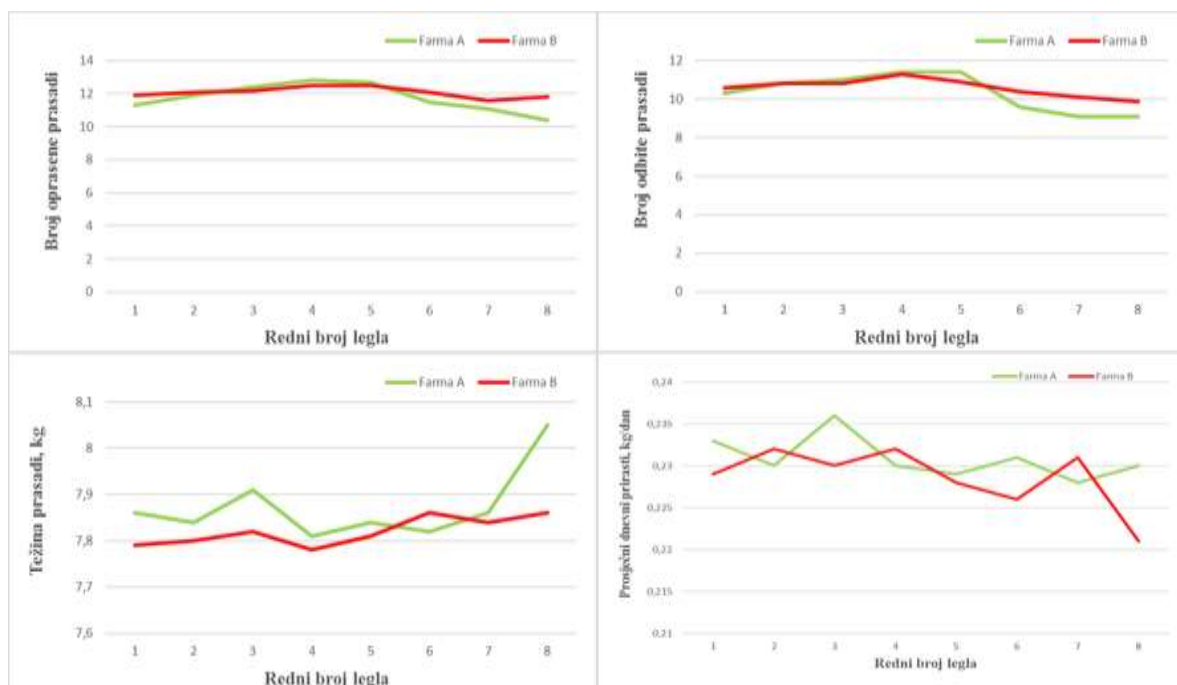
Tijekom provedbe istraživanja utvrđena su proizvodna svojstva krmača, prasadi tijekom dojnog razdoblja te je u istom razdoblju promatran i bilježen zdravstveni status prasadi. U Tablici 27. prikazani su proizvodni rezultati krmača na obje farme u ispitivanom razdoblju. Iz tablice je razvidno da ne postoje statistički značajne razlike između dva različita hibrida krmača na dvije farme u pogledu svih ispitivanih reproduktivnih i proizvodnih svojstava. Ovi rezultati potvrđuju činjenicu da se u visoko intenziviranoj svinjogojskoj proizvodnji danas koriste hibridi koji su vrlo slični u pogledu navedenih svojstava, a da ispoljavanje i ispunjenje visokog genetskog potencijala u pogledu plodnosti i proizvodnosti ovisi isključivo o menadžmentu na samoj farmi (Honeyman, 2002.).

S obzirom na ukupan broj legala i prasadi, možemo zaključiti da utvrđene statističke značajnosti ne utječu na krajnji proizvodni rezultat na farmi te da su rezultat politike poslovnog upravljanja i odlučivanja.

Tablica 27. Proizvodni rezultati krmača na farmi A i B.

Svojstvo	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
Broj oprasene prasadi	$\bar{x}$	11,43	11,68	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,56	0,43	
	<i>Vk</i>	3,65	4,12	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,05	
Broj živooprasene prasadi	$\bar{x}$	10,89	11,13	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,68	0,59	
	<i>Vk</i>	3,28	3,85	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,08	
Prosječna težina prasadi pri rođenju, kg	$\bar{x}$	1,38	1,36	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,23	0,26	
	<i>Vk</i>	1,16	1,25	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,09	
Težina legla pri porodu, kg	$\bar{x}$	16,22	16,31	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,55	0,69	
	<i>Vk</i>	3,69	4,02	
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,08	

Navedene ujednačenosti najbolje se mogu vidjeti u grafičkom prikazu (Slika 30.)



Slika 30. Proizvodni rezultati krmača

Osim proizvodnih rezultata krmača, utvrđivana su i najznačajnija proizvodna svojstva prasadi tijekom dojnog razdoblja. U Tablici 28. prikazani su usporedni rezultati proizvodnih performansi prasadi na obje farme tijekom ispitivanog razdoblja.

Tablica 28. Proizvodni rezultati prasadi tijekom dojnog razdoblja na farmi A i B

Svojstvo	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
Broj odbite prasadi	$\bar{x}$	10,33	10,60	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,65	0,43	
	<i>Vk</i>	3,65	3,54	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,08	
Prosječna težina prasadi pri odbiću, kg	$\bar{x}$	7,83	7,26	<i>ns</i>
	<i>Sd</i>	0,32	0,41	
	<i>Vk</i>	3,31	2,98	
	$s_{\bar{x}}$	0,09	0,06	
Prosječna težina legla kod odbića, kg	$\bar{x}$	80,97	82,25	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	2,13	1,98	
	<i>Vk</i>	4,56	5,12	
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,09	
Prosječan dnevni prirast prasadi do odbića, kg/dan	$\bar{x}$	0,23	0,24	<i>n.s.</i>
	<i>Sd</i>	0,31	0,26	
	<i>Vk</i>	1,14	1,38	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,07	

Kao što je vidljivo iz tablice, nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu broja odbite prasadi, prosječne težine prasadi pri odbiću, prosječne težine legla kod odbića kao i prosječnih ostvarenih dnevnih prirasta. Postignuti rezultati u skladu su s očekivanjima i zahtjevima visokointenzivne svinjogojске proizvodnje temeljene na primjeni hibridnih svinja visokog genetskog potencijala u pogledu plodnosti i proizvodnosti (Honeyman, 2002.).

Osim proizvodnih svojstava, tijekom istraživanja promatran je i utvrđen i zdravstveni status prasadi u dojnog razdoblju. Rezultati su predloženi u Tablici 29. U svrhu procjene zdravstvenog statusa promatrana je učestalost pojave pneumonije, pojava proljeva te smrtnost prasadi do odbića.

Tablica 29. Zdravstveni status prasadi i stopa smrtnosti

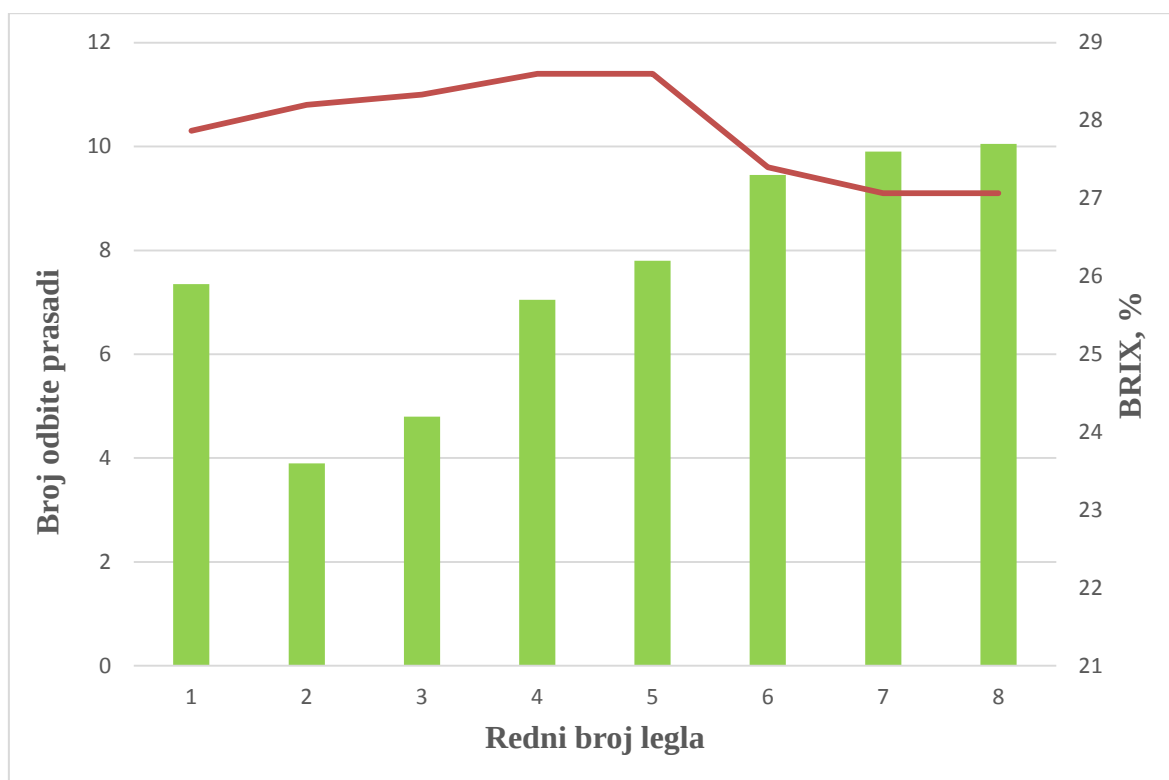
Svojstvo	Statistički pokazatelji	Farma		Statistička značajnost
		A	B	
Broj prasadi oboljele od pneumonije, %	$\bar{x}$	4,13	3,95	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,26	0,21	
	<i>vk</i>	2,18	2,56	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,08	
Broj prasadi oboljele od proljeva, %	$\bar{x}$	5,13	5,24	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,33	0,21	
	<i>vk</i>	3,14	3,24	
	$s_{\bar{x}}$	0,06	0,07	
Smrtnost prasadi u dojnom razdoblju, %	$\bar{x}$	6,71	7,18	<i>n.s.</i>
	<i>sd</i>	0,22	0,31	
	<i>vk</i>	2,96	2,67	
	$s_{\bar{x}}$	0,08	0,07	

Između ispitivanih skupina prasadi nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu stope oboljenja od pneumonije i proljeva, te u pogledu stope smrtnosti prasadi. Utvrđene vrijednosti ukazuju na visok stupanj biosigurnosnih i higijenskih mjera koje se provode na farmama uključenim u istraživanje, budući da je i stopa oboljenja prasadi, kao i smrtnost istih, vrlo niska.

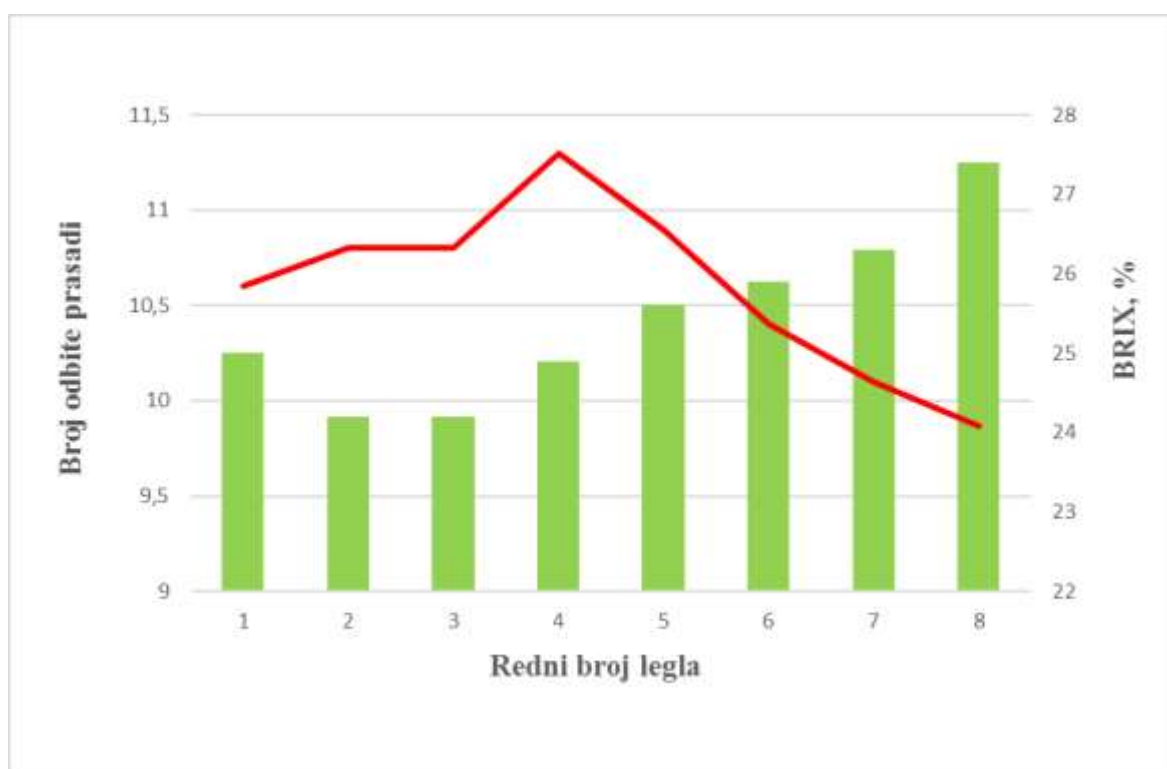
5.3.1. Povezanost sadržaja imunoglobulina G s proizvodnim svojstvima i zdravstvenim statusom prasadi

Utvrđene vrijednosti sadržaja i koncentracije imunoglobulina G u kolostrumu krmača na obje farme, te utvrđena proizvodna svojstva i zdravstveni status prasadi, ukazuju na povezanost između navedenih svojstava.

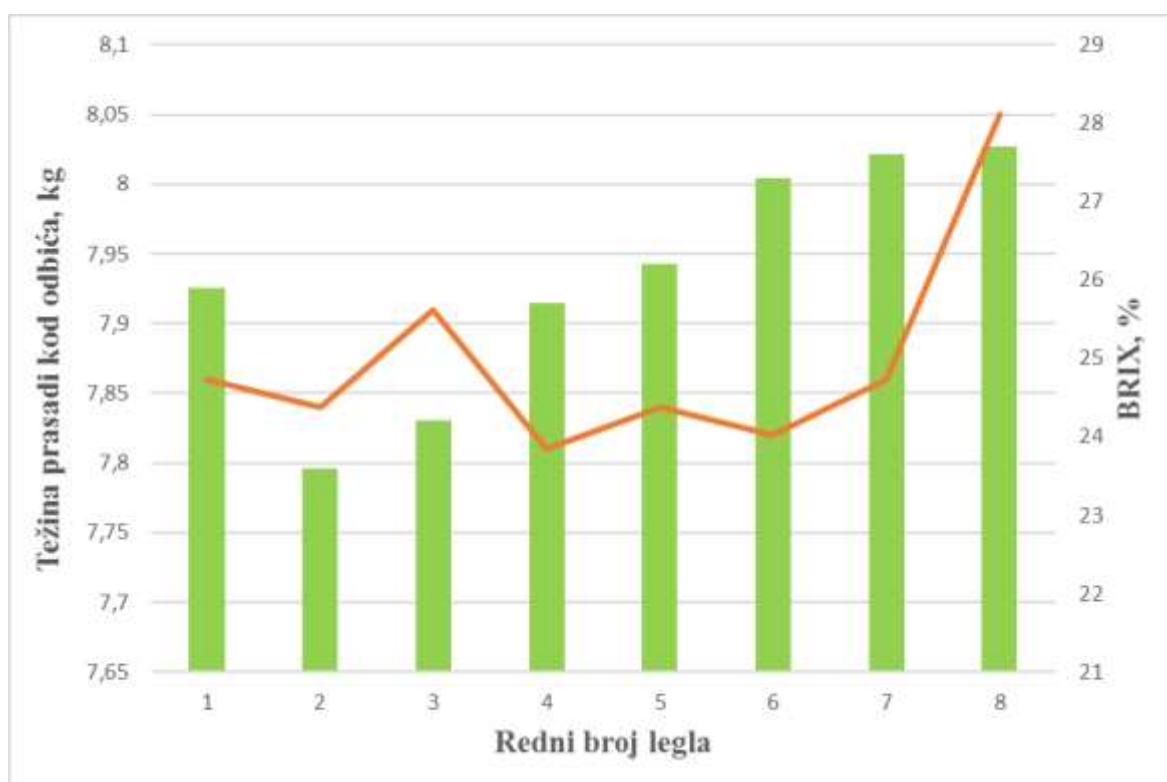
Na Slikama 31.-42. prikazan je odnos koncentracije i sadržaja imunoglobulina G utvrđenih Brix i RID metodom s proizvodnim svojstvima i zdravstvenim statusom prasadi tijekom dojnog razdoblja.



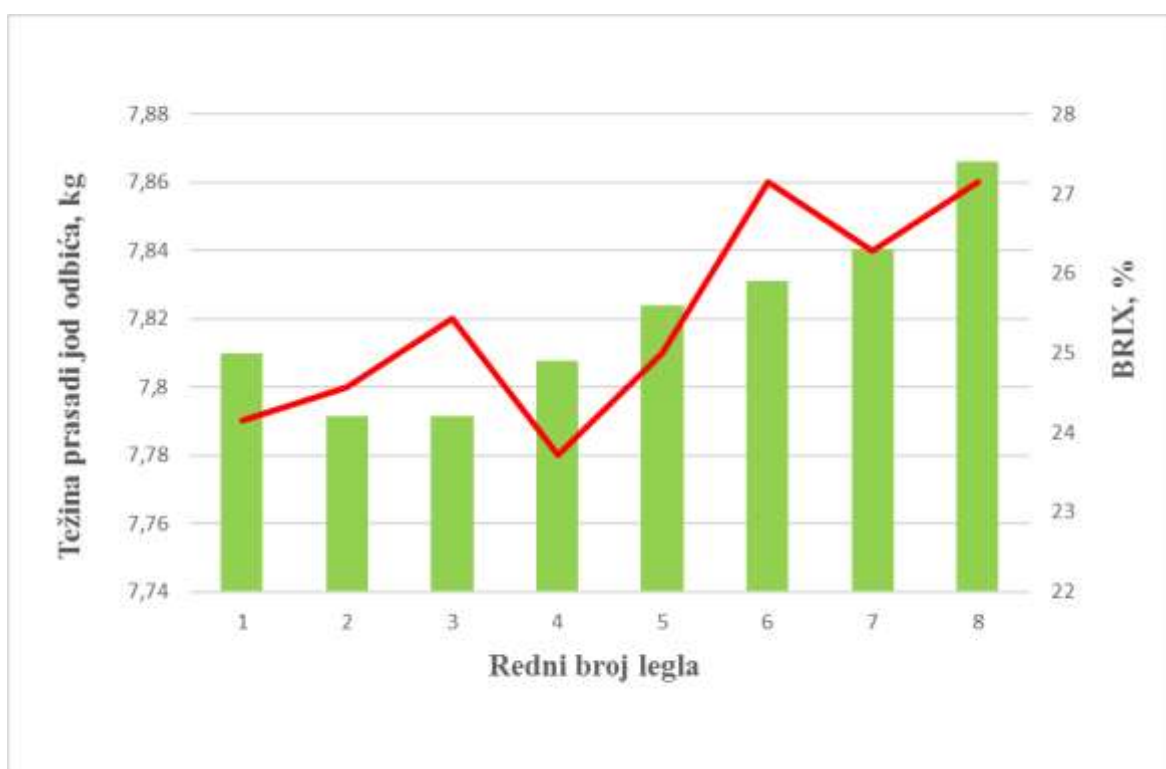
Slika 31. Odnos IgG (Brix) i broja odbite prasadi na farmi A



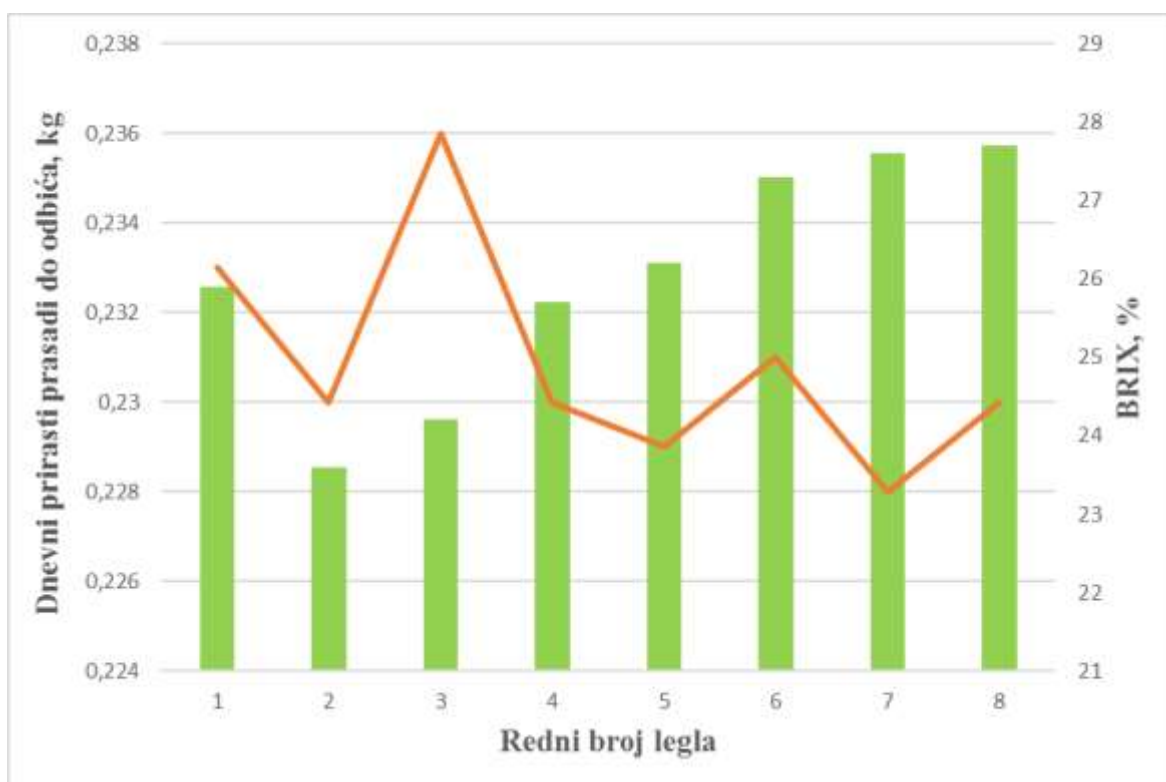
Slika 32. Odnos IgG (Brix) i broja odbite prasadi na farmi B



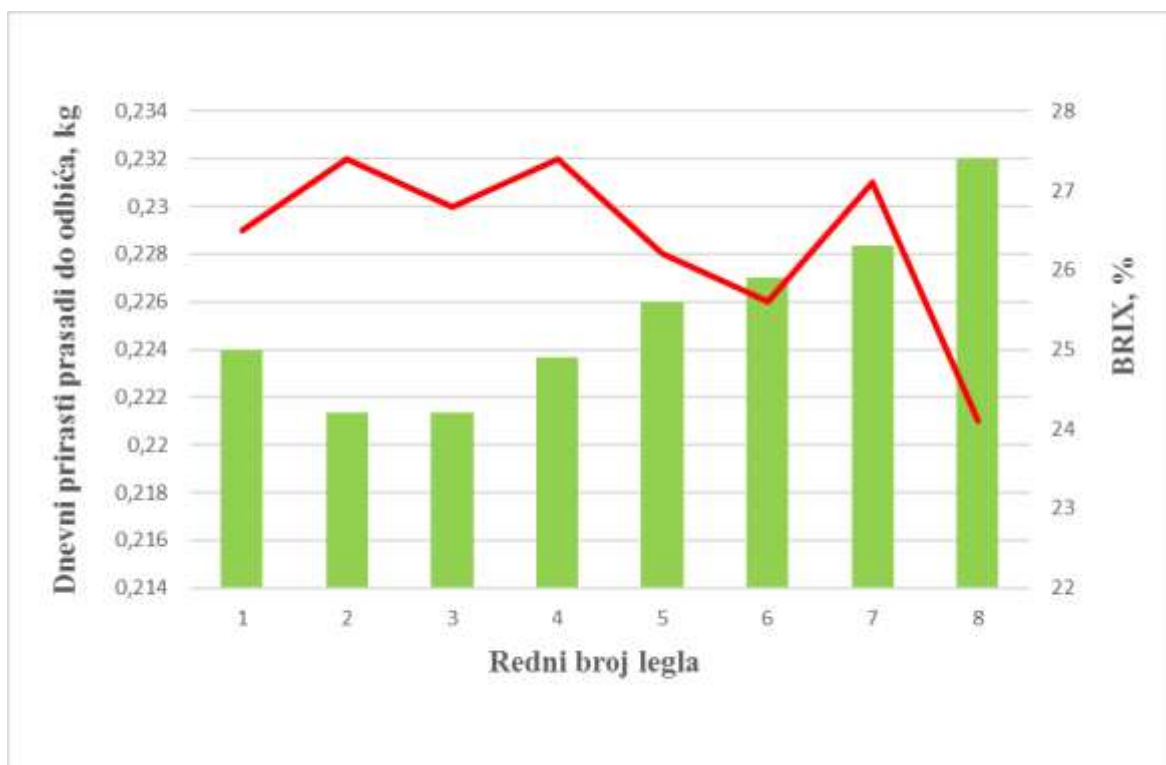
Slika 33. Odnos IgG (Brix) i težine prasadi kod odbića na farmi A



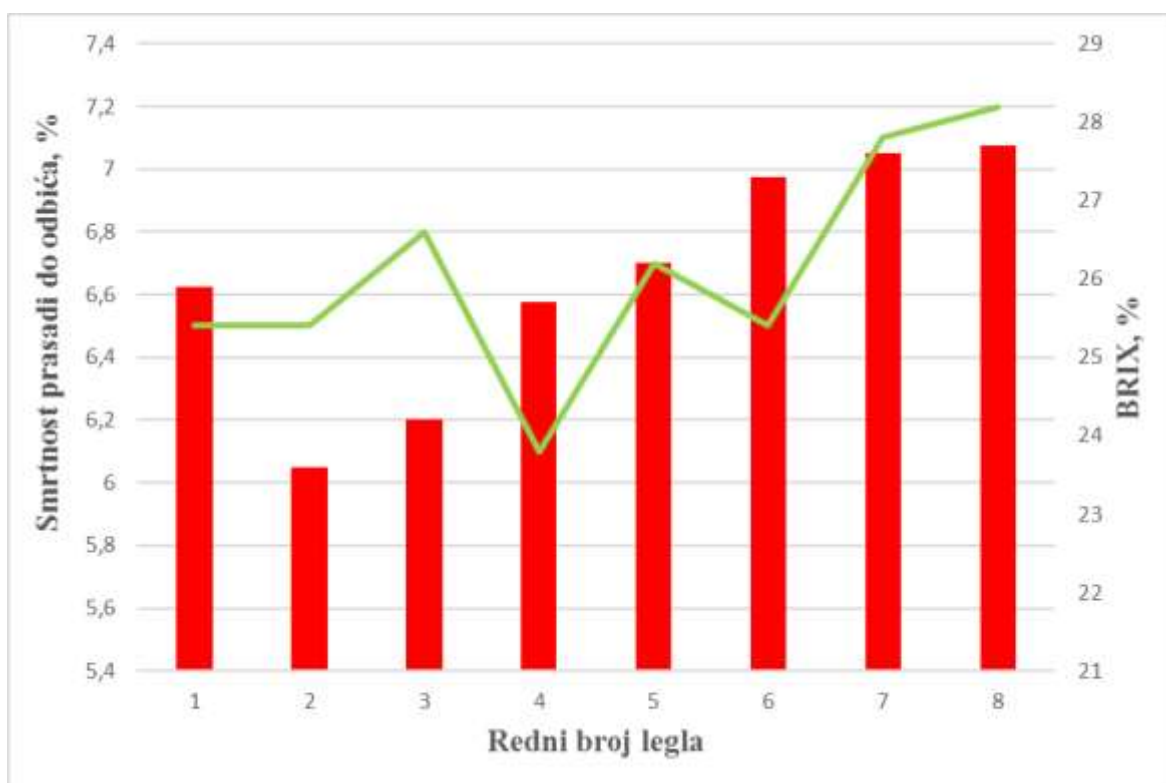
Slika 34. Odnos IgG (Brix) i težine prasadi kod odbića na farmi B



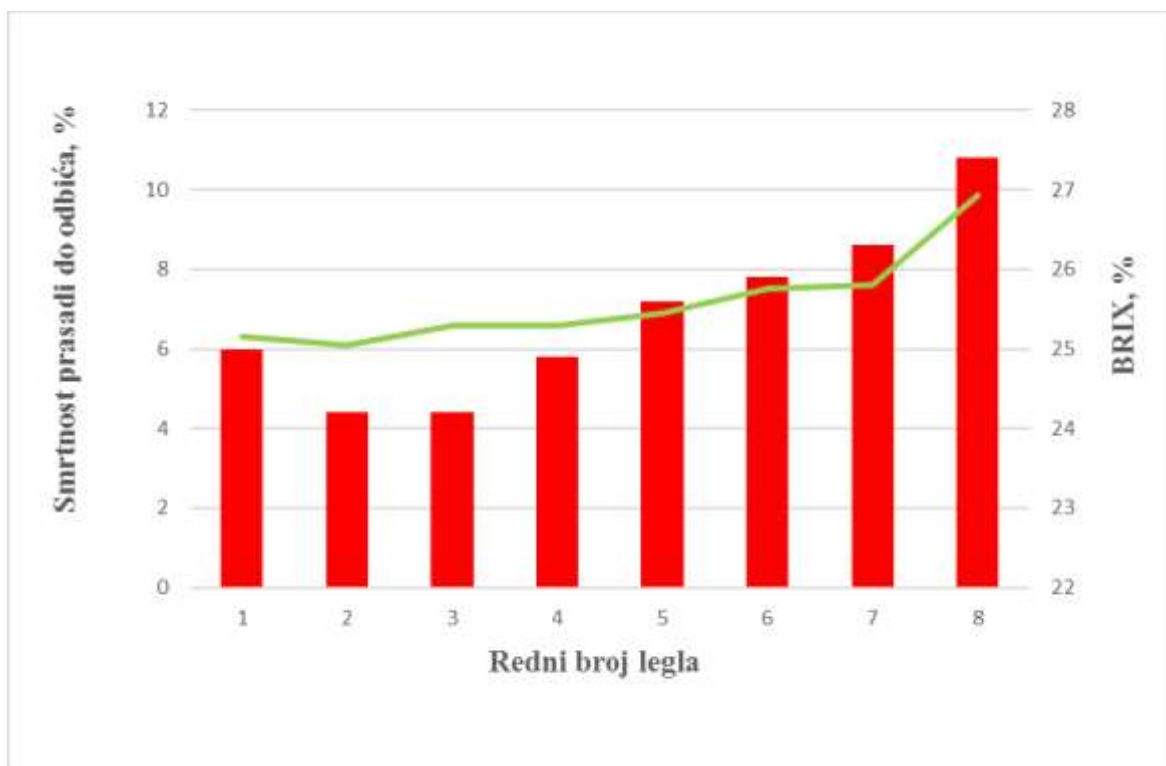
Slika 35. Odnos IgG (Brix) i dnevnog prirasta prasadi do odbića na farmi A



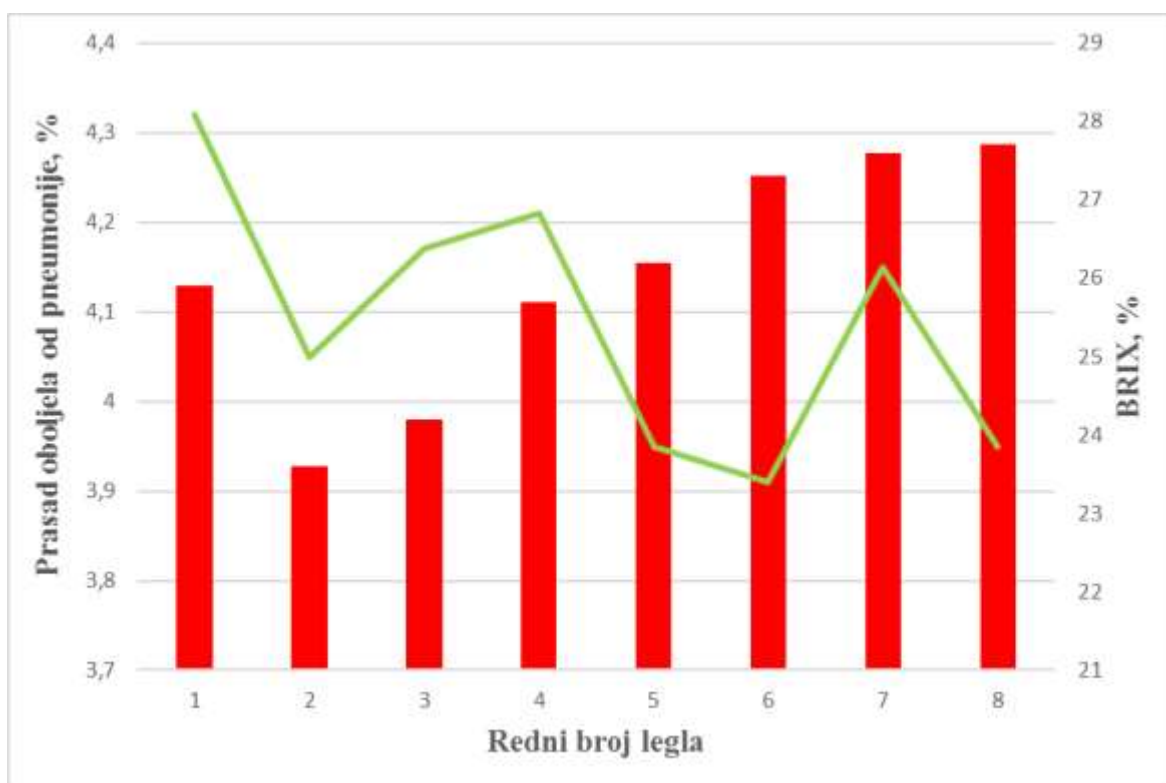
Slika 36. Odnos IgG (Brix) i dnevnog prirasta prasadi do odbića na farmi B



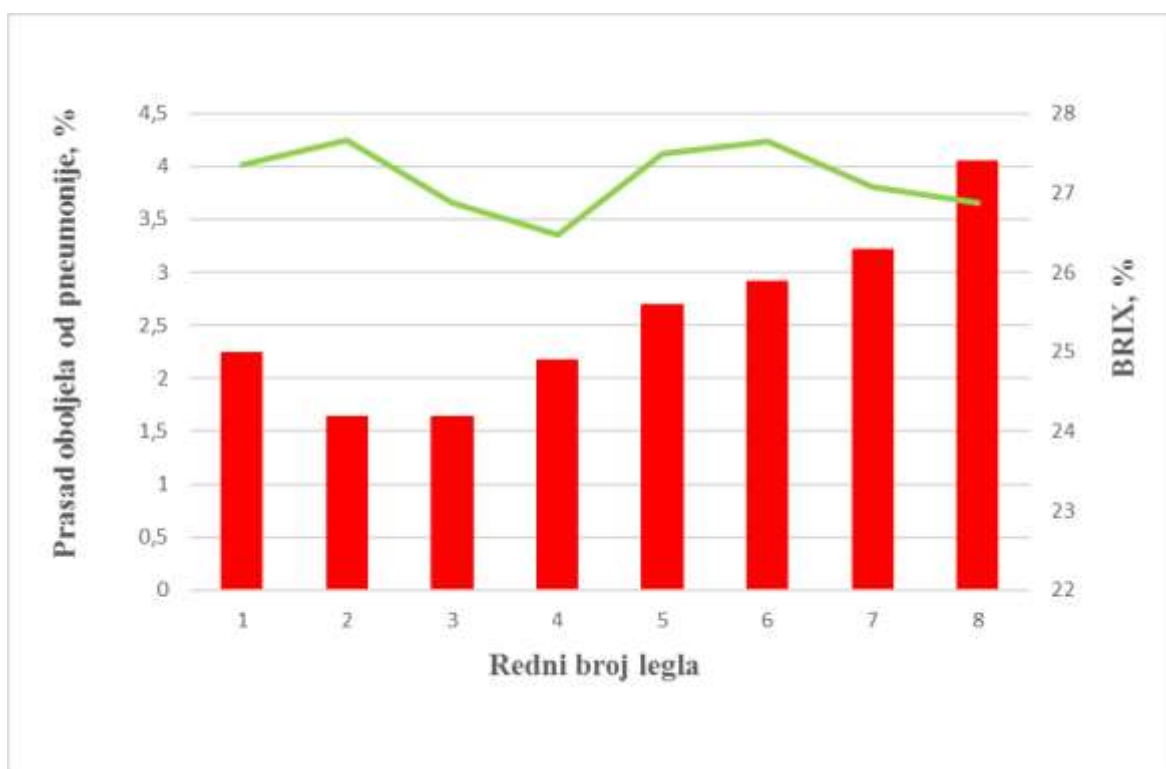
Slika 37. Odnos IgG (Brix) i smrtnosti prasadi do odbića na farmi A



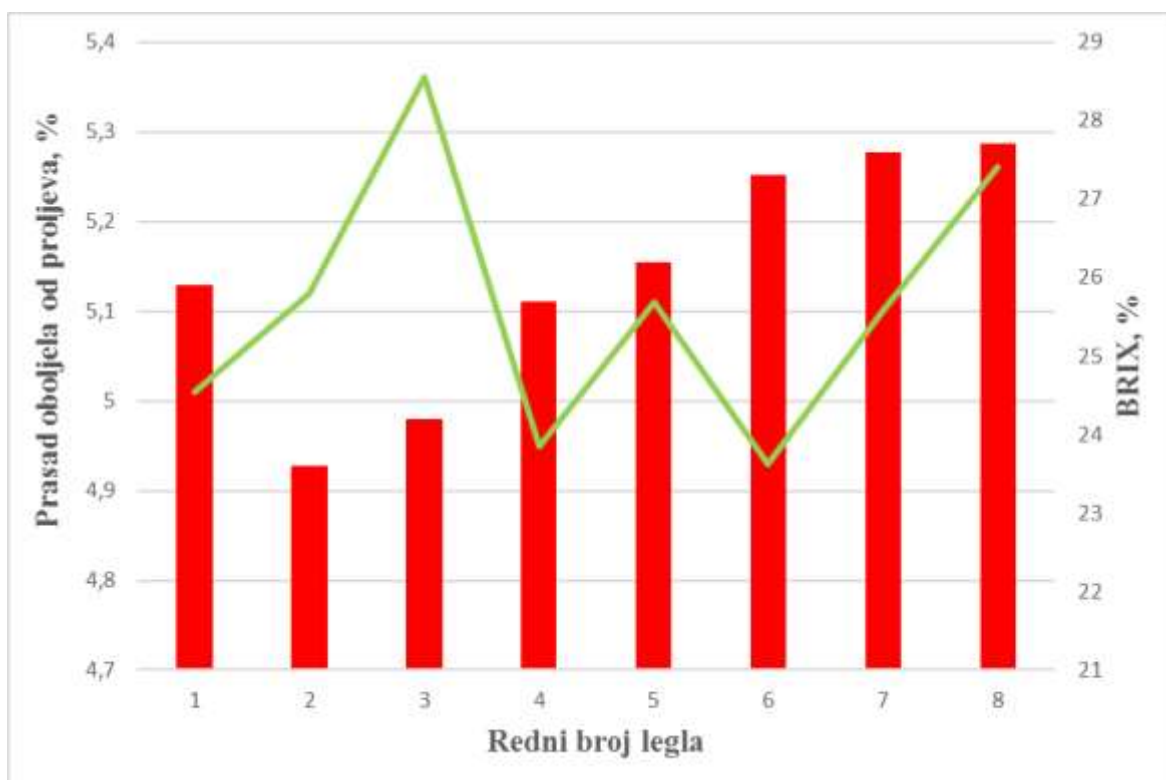
Slika 38. Odnos IgG (Brix) i smrtnosti prasadi do odbića na farmi B



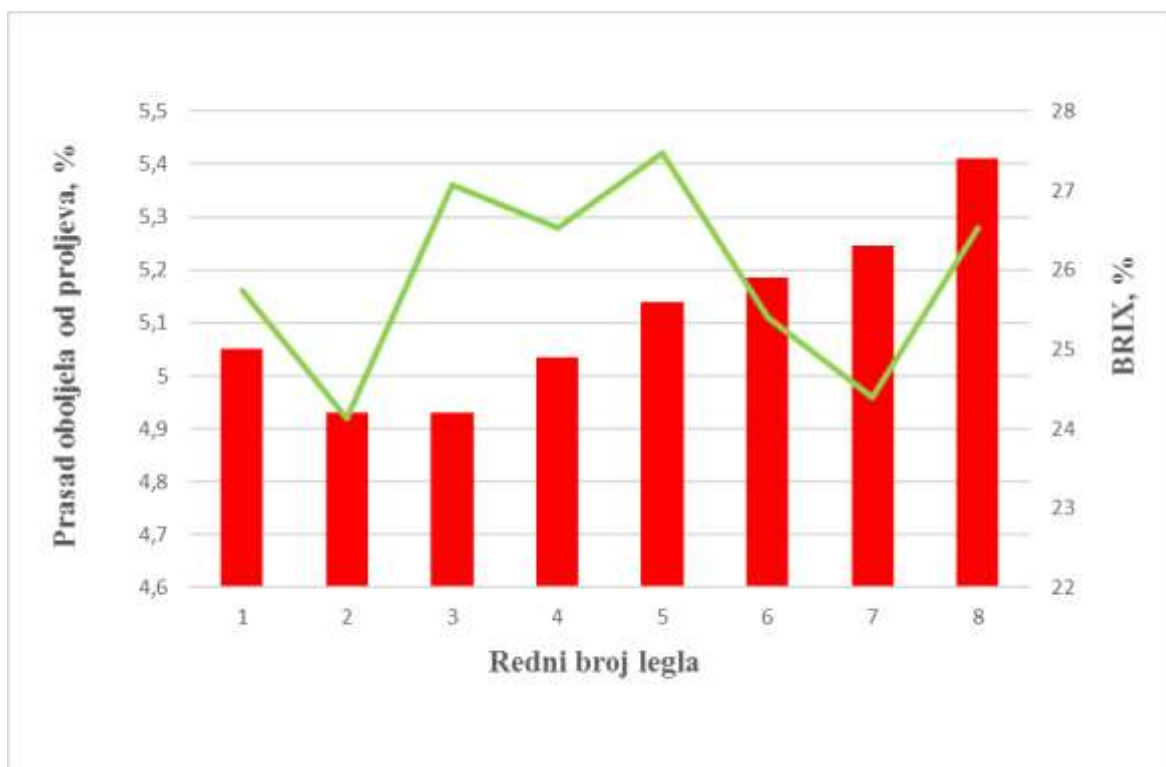
Slika 39. Odnos IgG (Brix) i stope oboljenja prasadi od pneumonije na farmi A



Slika 40. Odnos IgG (Brix) i stope oboljenja prasadi od pneumonije na farmi B



Slika 41. Odnos IgG (Brix) i stope oboljenja prasadi od proljeva na farmi A



Slika 42. Odnos IgG (Brix) i stope oboljenja prasadi od proljeva na farmi B

Sve navedeno upućuje da primjena Brix refraktometrije u svinjogojstvu može biti značajno pomagalo proizvođačima, posebice u najosjetljivijem dijelu proizvodnje, a to je uzgoj prasadi.

Ova metoda ima prednosti u odnosu na druge metode procjene koncentracije IgG, s obzirom da je Brix refraktometar jeftin, lako dostupan, manje krhaka i manje osjetljiv na varijacije u temperaturi kolostruma, godišnje doba i druge čimbenike, te zahtijeva minimalnu opremu i obuku. Procjena kolostruma može se obaviti kod same krmače neposredno nakon poroda, čime se poboljšava vjerojatnost da proizvođači donose pravovaljane i pravovremene odluke na temelju rezultata ispitivanja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenih istraživanja i predloženih rezultata mogu se donijeti slijedeći zaključci:

RID vrijednosti utvrđene u našem istraživanju kreću se između 60 i 80 g/L. U odnosu na literaturne podatke, naše dobivene vrijednosti su nešto niže, no one nisu imale negativni učinak na preživljavanje prasadi tijekom prvih dana života.

Zamjetna je ujednačenost RID vrijednosti kolostruma kod krmača u obje farme, s tim da nakon 5. laktacije dolazi do nešto značajnije razlike u ukupnom sadržaj IgG, međutim, utvrđene razlike nisu bile statistički značajne ($P>0,05$).

Utvrđene Brix vrijednosti u kolostrumu krmača bile su između 23,6% i 27,7%. Vrijednosti Brix-a iznad 22% ukazuje na dobru kvalitetu kolostruma i dobar sadržaj imunoglobulina G u istom.

Prosječne Brix vrijednosti utvrđene analizom uzorka kolostruma kroz 8 laktacija na dvije različite farme ukazuju da je kolostrum krmača s farme A imao nešto više vrijednosti u odnosu na kolostrum krmača s farme B, no te vrijednosti nisu bile statističke značajne. Zamjetne su neznatno niže Brix vrijednosti u drugoj i trećoj laktaciji, nakon čega je uslijedilo linearno povećanje vrijednosti, što je u skladu s prethodnim istraživanjima.

Usporedba RID i Brix metoda određivanja sadržaja i koncentracije imunoglobulina G rezultirala je jasnim linearnim odnosom između dobivenih vrijednosti.

Na farmi A koeficijent korelacije između Brix-a i RID-a iznosio je $r=0,81$, $p<0,001$, a na farmi B utvrđen je koeficijent korelacije $r=0,75$, $p<0,001$.

Uzimajući u obzir visoki koeficijent korelacije, na temelju predloženog možemo zaključiti da Brix refraktometar pruža prihvatljivu i pouzdanu procjenu IgG kod kolostruma krmača te se kao takav može koristiti u širokoj praksi.

Koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača mjerene pomoću digitalnog Brix refraktometra ne razlikuju se od koncentracija utvrđenih uobičajenim metodama.

Nema razlika između jedinki krmača u koncentraciji imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma neposredno nakon prasnja.

Tijekom provedbe istraživanja utvrđena su proizvodna svojstva krmača, prasadi tijekom dojnog razdoblja te je u istom razdoblju promatran i bilježen zdravstveni status prasadi. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između dva različita hibrida krmača na dvije farme u pogledu svih ispitivanih reproduktivnih i proizvodnih svojstava.

Ovi rezultati potvrđuju činjenicu da se u visoko intenziviranoj svinjogojskoj proizvodnji danas koriste hibridi koji su vrlo slični s obzirom na navedena svojstva.

Nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu broja odbite prasadi, prosječne težine prasadi pri odbiću, prosječne težine legla kod odbića, kao i prosječnih ostvarenih dnevnih prirasta između prasadi na obje farme.

Između ispitivanih skupina prasadi nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu stope oboljenja od pneumonije i proljeva te u pogledu stope smrtnosti prasadi. Utvrđene vrijednosti ukazuju na visok stupanj biosigurnosnih i higijenskih mjera koje se provode na farmama uključenim u istraživanje, budući da su stopa oboljenja prasadi, kao i smrtnost, vrlo niski.

Koncentracija imunoglobulina G (IgG) znatno utječe na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića.

Utvrđene vrijednosti sadržaja i koncentracije imunoglobulina G u kolostrumu krmača na obje farme, kao i utvrđena proizvodna svojstva i zdravstveni status prasadi, ukazuju na povezanost koncentracije i sadržaja imunoglobulina G, utvrđenih Brix i RID metodom s proizvodnim svojstvima i zdravstvenim statusom prasadi tijekom dojnog razdoblja.

Sve navedeno upućuje da primjena Brix refraktometrije u svinjogojstvu može biti značajno pomagalo proizvođačima, posebice u najosjetljivijem dijelu proizvodnje, a to je uzgoj prasadi.

Metoda određivanja sadržaja imunogloblina G u kolostrumu krmača ima prednosti u odnosu na druge metode procjene koncentracije IgG, s obzirom da je Brix refraktometar jeftin, lako dostupan, manje krhak i manje osjetljiv na varijacije u temperaturi kolostruma, godišnje doba i druge čimbenike, te zahtijeva minimalnu opremu i obuku.

Procjena kolostruma može se obaviti kod same krmače neposredno nakon poroda, čime se poboljšava vjerojatnost da proizvođači donose pravovaljane i pravovremene odluke na temelju rezultata ispitivanja.

7. LITERATURA

1. Ameri, M., Wilkerson, M.J. (2008): Comparison of two commercial radial immunodiffusion assays for detection of bovine immunoglobulin G in newborn calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(3): 333-336.
2. Amusquivar, E., Laws, J., Clarke, L., Herrera, E. (2010): Fatty acid composition of the maternal diet during the first or the second half of gestation influences the fatty acid composition of sow's milk and plasma, and of their piglets. *Lipids*, 45: 409–418.
3. Andersen, I.L., Tajet, G.M., Haukvik, I.A., Kongsrud, S., Bøe, K.E. (2007): Relationship between postnatal piglet mortality, environmental factors and management around farrowing in herds with loose-housed, lactating sows. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 57(1): 38-45.
4. Argüello, A., Castro, N., Capote, J. (2005): Short communication: evaluation of a color method for testing immunoglobulin G concentration in goat colostrum. *Journal of Dairy Science*, 88(5): 1752-1754.
5. Aumaitre, A., Seve, B. (1978): Nutritional importance of colostrum in the piglet. *Ann Rech Vet.* 9(2):181-92.
6. Bartier, A.L., Windeyer, M.C., Doepel, L. (2015): Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. *Journal of Dairy Science*, 98(3): 1878-1884.
7. Barrington, G.N., McFadden, T.B., Huyler, M.T., Besser, T.E. (2001): Regulation of colostrogenesis in cattle. *Livestock Production Science*, 70: 95-104.
8. Biemann, V., Gillan, J., Perkins, N.R., Skidmore, A.L., Godden, S., Leslie, K.E. (2010): An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(8): 3713-3721.
9. Božanić, R. (2004): Važnost i korištenje kolostruma. *Mljekarstvo*, 54(3): 209-224.
10. Božić, F. (2006): Imunost mladunčadi. *Hrvatski veterinarski vjesnik*, 29(3): 189-193.
11. BPEx (2008): Colostrum: Food for life. Available at: http://www.bpex.org.uk/articles/296579/17_Colostrum_Food_for_life.aspx
12. Brandon, M.R., Watson, D.L., Lascelles, A.K. (1971): The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 49: 613-623.
13. Cabrera, R.A., Lin, X., Campbell, J.M., Moeser, A.J., Odle, J. (2012): Influence of birth order, birth weight, colostrum and serum immunoglobulin G on neonatal piglet survival. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3(1): 1.

14. Charneca, R., Tirapicos Nunes, J.L., Le Dividich, J. (2008): Comparative study on colostrum production and colostrum composition in alentejano swine breed and lwxlr sows—preliminary results. (Available at: <http://www.rdpcc.uevora.pt>)
15. Chavatte, P., Clément, F., Cash, R., Grongnet, J. F. (1998): Field determination of colostrum quality by using a novel, practical method. In Proc Annual Convention AAEP, 44: 206-209.
16. Chigerwe, M., Hagey, J.V. (2014): Refractometer assessment of colostral and serum IgG and milk total solids concentrations in dairy cattle. BMC Veterinary Research, 10(1): 178.
17. Complete Guide to Colostrum (2015). Available at: <http://natural-colostrum.blogspot.hr/>
18. Dairy News, (2010): Dairyland Veterinary Service: Using Brix Refractometers to Evaluate Calf Nutrition. Available at: <http://www.dairylandvet.net/Newsletter510.pdf>
19. Day, M.J., Schultz R.D. (2013.): Veterinarska imunologija. Načela i primjena. Medicinska naklada Zagreb: 19-29.
20. Declerck, I., Dewulf, J., Piepers, S., Decaluwé, R., Maes, D. (2015): Sow and litter factors influencing colostrum yield and nutritional composition. Journal of Animal Science, 93: 1309-1317.
21. Deelen, S.M., Ollivett, T.L., Haines, D.M., Leslie, K.E. (2014): Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. Journal of Dairy Science, 97(6): 3838-3844.
22. Devillers, N., Le Dividich, J., Farmer, C., Mounier, A-M, Lefebvre, M., Prunier, A. (2005): Origine et conséquences de la variabilité de la production de colostrum par la truie et de la consommation de colostrum par les porcelets. Journées Recherche Porcine, 37: 435-442.
23. Devillers, N., Farmer, C., Le Dividich, J., Prunier, A. (2007): Variability of colostrum yield and colostrum intake in pigs. Animal, 1(7): 1033–1041.
24. Dewey, C.E., Gomes, T., Richardson, K. (2008): Field trial to determine the impact of providing additional care to litters on weaning weight of pigs. Can. J. Vet. Res., 72: 390–395.
25. Dunkelberg, S., (2006) Haptoglobin in Milch und Blut von Sauen und ihren Ferkeln. JLU, Gießen,
26. Ehrlich, P. (1892): Ueber immunität durch vererbung und säugung. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 12(1): 183-203.
27. Eliasson, C., Isberg, S. (2011): Production and composition of sow milk. Swedish University of Agricultural Sciences. The Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science.

-
28. El-Fattah, A.M.A., Rabo, F.H.R.A., El-Dieb, S.M., El-Kashef, H.A. (2012): Changes in composition of colostrum of Egyptian buffaloes and Holstein cows. *BMC Veterinary Research*, Vol. 8. Available at: <http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-8-19>
 29. El-Loly, M.M. (2007): Bovine Milk Immunoglobulins in Relation to Human Health. Department of Dairy, National Research Centre, Dokki, Cairo: 183-195.
 30. Farmer, C., Quesnel, H. (2008): Nutritional, hormonal, and environmental effects on colostrum in sows. *Journal of Animal Science*, 87: 56-64.
 31. Fleenor, W.A., Stott, G.H. (1981): Single radial immunodiffusion analysis for quantitation of colostral immunoglobulin concentration. *Journal of Dairy Science*, 64(5): 740-747.
 32. Gelsinger, S.L., Smith, A.M., Jones, C.M., Heinrichs, A.J. (2015). Technical note: Comparison of radial immunodiffusion and ELISA for quantification of bovine immunoglobulin G in colostrum and plasma. *Journal of Dairy Science*, 98(6): 4084-4089.
 33. Girard, J. (1986): Gluconeogenesis in late fetal and early neonatal life. *Neonatology*, 50(5): 237-258.
 34. Goff, J.P., Horst, R.L. (1997): Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders 1, 2. *Journal of Dairy Science*, 80(7): 1260-1268.
 35. Göransson, L. (1990): The effect of late pregnancy feed allowance on the composition of the sow's colostrum and milk. *Acta Vet. Scand.*, 31: 109-115.
 36. Guidry, A.J., Paape, M.J., Pearson, R.E. (1980): Quarter milk variation in immunoglobulins and ability to support phagocytosis. *Journal of Dairy Science*, 63(4): 611-615.
 37. Gvozdić, D., Stojić, V., Šamanc, H. (2004): Biološki aktivna jedinjenja u kolostrumu i njihov uticaj na porast prasadi u neonatalnom periodu. *Veterinarski glasnik*, 58: 433-445.
 38. Hajsig, D., Pinter, Lj., Naglić, T., Antolović, R. (2012): Veterinarska klinička imunologija. Hrvatsko mikrobiološko društvo, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 295-297.
 39. Heinrichs, J., Jones, C. (2011): Colostrum Management Tools: Hydrometers and Refractometers. Penn State Extension.
 40. Herpin, P., Le Dividich, J. (1995): Thermoregulation and the environment. *The Neonatal Pig: Development and Survival*: 57-95.
 41. Hrvatska poljoprivredna agencija (2015): Izvješće za 2014. godinu: 7-16.
 42. Jensen, P., Stangel, G. (1992): Behaviour of piglets during weaning in a seminatural enclosure. *Applied Animal Behaviour Science*, 33(2): 227-238.
-

-
43. Johansen, M., Alban, L., Dodensig, K., Bækbo, P. (2004): Factors associated with suckling piglet average daily gain. *Prev. Vet. Med.*, 63: 91-102. Kalantaridou, S. N., Makrigrannakis, A., Zoumakis, E., Chrousos, G.P. (2004): Stress and the female reproductive system. *J. Reprod. Immunol.*, 62: 61–68.
 44. Kelley, K.W., Blecha F., Regnier, J.A. (1982): Cold Exposure and Absorption of Colostral Immunoglobulins by Neonatal Pigs. *J. Anim Sci.*, 55: 363-368.
 45. King`ori, A.M. (2012): Sow Lactation: Colostrum And Milk Yield: a Review. *Journal Anim.Sci.*, 2(6): 525-533.
 46. Kirovski, D., Vujanac, I., Prodanović, R., Đurić, M., Sladojević, Ž., Savić, Đ. (2014): The biological significance of differences in cows and sows colostrum and milk composition. *Veterinarski glasnik*, 68(3-4): 175-188.
 47. Klobasa, F., Werhahn, E., Butler, J.E. (1987): Composition of Sow Milk During Lactation. *Journal of Animal Science*, 64: 1458-1466.
 48. Kralik, G., Kušec, G., Kralik, D., Margeta, V. (2007): Svinjogojstvo – biološki i zootehnički principi. Tisak Grafika Osijek, str. 19-368.
 49. Krogh, U., Braun, T.S., Amdi, C., Flummer, C., Poulsen, J., Theil, P.K. (2015): Colostrum production in sows fed different sources of fiber and fat during late gestation. *Can. J. Anim. Sci.* (in press). doi:10.4141/CJAS-2014-060.
 50. Kumuves, L.G., Heath, J.P. (1992): *J. Histochem. Cytochem.*, 40 (11): 1637-1646.
 51. Larson, B.L., Heary, H.L., Devery, J.E. (1980): Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 63(4): 665-671.
 52. Le Dividich, J., Noblet, J. (1981): Colostrum intake and thermoregulation in the neonatal pig in relation to environmental temperature. *Biol. Neonate*. 40(3-4): 167-174.
 53. Le Dividich, J., Martineau, G.P., Thomas, F., Demay, H., Renoult, H., Homo, C., Boutin, D., Gaillard, L., Surel, Y., Bouétard, R., Massard, M. (2004): Acquisition de l'immunité passive chez les porcelets et production de colostrum chez la truie. *Journées Recherche Porcine*, 36: 451-456.
 54. Le Dividich, J., Rooke, J.A., Herpin, P. (2005): Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *The Journal of Agricultural Science*, 143(06): 469-485.
 55. Lecce, J.G. (1984): Absorption of macromolecules by mammalian intestinal epithelium. *Target Organ Toxicol. Ser.*: 33-44.
 56. Mancini, G., Vaerman, J.P., Carbonara, A.O., Heremans, J.F. (1964): A single radial diffusion method for the immunological quantitation of proteins. In Peeters, Hubert. *Protides of the Biological Fluids: Proceedings of the 11th Colloquium*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier: 370–373.
-

-
57. Mechor, G.D., Gröhn, Y.T., Van Saun, R.J. (1991): Effect of temperature on colostrometer readings for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 74(11): 3940-3943.
 58. Morill, K.M., Conrad, E., Polo, J., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J., Tyler, H. (2012): Estimate of colostrum immunoglobulin G concentration using refractometry without or with caprylic acid fractionation. *Journal of Dairy Science*, 95(7): 3987-3996.
 59. Naglič, T., Hajsig D. (1993): Veterinarska imunologija. Školska knjiga, Zagreb, str. 170-173
 60. Pajor, E.A., Fraser, D., Kramer, D.L. (1991): Consumption of solid food by suckling piglets: Individual variation and relation to weight gain. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 32: 139-155
 61. Rolinec, M., Bíro, D., Šimko, M., Juráček, M., Gálik, B. (2011): Changes in sow colostrum nutrients in the first 12 hours from the beginning of farrowing. *Krmiva*, 53: 157-161.
 62. Quesnel, H., Meunier-Salaün, M.C., Hamard, A., Guillemet, R., Etienne, M., Farmer, C., Dourmad, J.Y., Père, M.C. (2009): Dietary fibre for pregnant sows: influence on sow physiology and performance during lactation. *J. Anim. Sci.*, 87: 532-543.
 63. Quesnel, H. (2011): Colostrum: roles in piglet performance and production by the sow. *Simposio Internacional de Suinocultura*. Porto Alegre. 10.-13 de Maio de 2011.
 64. Quesnel, H. (2011a): Colostrum production by sows: variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations. *Animal*, 5(10): 1546-1553.
 65. Quigley, J.D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., Polo, J. (2013): Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 96(2): 1148-1155.
 66. Quiniou, N., Dagorn, J., Gaudre, D. (2002): Variation of piglets birth weight and consequences on subsequent performance. *Li. Prod. Sci.*, 78: 63-70.
 67. Rolinec, M., Biro, D., Štastný, P., Galik, B., Šimko, M., Juraček, M. (2012): Immunoglobulins in colostrum of sows with porcine reproductive and respiratory syndrome – PRRS. *Journal of Central European Agriculture*, 13(2): 303-31.
 68. Salobir, J., Rezar, V. (2009): Z mlekom in brez mleka v prehrani pujskov. Znanstveni referati ZED 2009, Kmetijsko gozdarski zavod Murska Sobota.
 69. Setcavage, T.M., Kim, Y.B. (1976): Variability of the immunological state of germfree colostrum-deprived Minnesota miniature piglets. *Infection and Immunity*, 13(2): 600-607.
 70. Sjaastad, O.V., Hove, K., Sand, O. (2003): *Physiology of Domestic Animals*. Scandinavian Veterinary Press: 736-759.
-

-
71. Skok, J., Škorjanc, D. (2014): A note on precise tracking of suckling position by piglets. *Archiv Fur Tierzucht-Archives of Animal Breeding*, 57(11): 1-7.
 72. Smith, V.R., Reed, R.E., Erwin, E.S. (1964): Relation of physiological age to intestinal permeability in the bovine. *Journal of Dairy Science*, 47(8): 923-924.
 73. Strekozov, N.I., Motova, E.N., Fedorov, Yu. N. (2008): Evaluation of the chemical composition and immunological properties of colostrum of cows' first milk yield. *Russian Agricultural Sciences*, 34(4): 259-260.
 74. Surek, D., Barrilli, L.N.E., Bueno, I.J.M., Krabbe, E.L., Alberton, G.C., Maiorka, A. (2014): Growth of suckling piglets in litters standardized by weight. *J. Anim. Sci.*, 92(1):177-181.
 75. The Pig Site (2015): Colostrum: Food for life. Available at: <http://www.thepigsite.com/articles/2365/colostrum-food-for-life/>
 76. Uremović, Z., Uremović, M. (1997): *Svinjogojstvo*. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 77. Uruakpa, F.O., Ismond, M.H.A., Akobundu, E.N.T. (2002): Colostrum and its Benefits. *Nutrition Research*, 22(6): 755-767.
 78. Vincek, D., Đurkin, I., Lukić, B., Kralik, G., Kušec, G. (2010): Variability in carcass composition of pigs during growth. 18th International Symposium "Animal Science Days", Kaposvar, Hungary. *Acta Agraria Kaposvariensis*, ISSN1418-1789, 14(2): 237-243 .
 79. Wattiaux, M.A. (2014.): Importance of Colostrum Feeding. The Babcock Institute, 109-112.
 80. Whittemore, C.T., Green, D.M. (2001): Growth of the young weaned pig. *The Weaner Pig—Nutrition and Management*. CAB International, Wallingford, UK, 1-15.
 81. Williams, I.H., Hennessy, D.P., Cranwell, P.D. (1995): Sow's milk as a major nutrient source before weaning. In: *Manipulating pig production 5. Proceedings of the Fifth Biennial Conference of the Australasian Pig Science Association (APSA) held in Canberra, ACT on November 26 to 29, 1995*. Australasian Pig Science Association, p. 107-113.
 82. Winger, K., Gay, C.C., Besser, T.E. (1995): Immunoglobulin G 1 transfer into induced mammary secretions: The effect of dexamethasone. *Journal of Dairy Science*, 78(6): 1306-1309.
 83. Wu, Z.W., Wang, X.Q., Wu, G.Y., Kim, S.W., Chen, F., Wang, J.J. (2010): Differential composition of proteomes in sow colostrum and milk from anterior and posterior mammary glands. *Journal of Animal Science*, 88: 2657-2664.
 84. Yang, Y., Heo, S., Jin, Z., Shinde, P., Choi, J., Yang, B., Chae, B. (2008): Effect of dietary energy and lysine intake during late gestation and lactation on blood metabolites, hormones, milk composition and reproductive performance in multiparous sows. *Arch. Anim. Nutr.*, 62: 10–21.
-

-
85. <http://animalsciences.missouri.edu/reprod/notes/mammary/pigmamm.htm> (pristupljeno 07.09.2015)
 86. <http://explainagainplease.blogspot.hr/2014/04/synthesis-and-composition-of-colostrum.html> (pristupljeno 07.09.2015.)
 87. <http://veterinarynews.eu/> (pristupljeno 08.09.2015.)
 88. <https://en.wikipedia.org/wiki/Lactose> (pristupljeno 08.09.2015.)
 89. <http://www.beltina.org> (pristupljeno 11.09.2015.)
 90. <http://www.sbs.utexas.edu/sanders/Bio347/Lectures/2006.htm> (pristupljeno 15.09.2015.)
 91. <http://www.allafrance.com/produit/refractometres-digitaux-1986.html> (pristupljeno 15.09.2015.)
 92. <http://zito.hr/hr/o-nama/zastita-okolisa.html> (pristupljeno 18.09.2015.)
 93. <http://www.belje.hr/djelatnosti/pp/svinjogojstvo.asp> (pristupljeno 18.09.2015.)

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je utvrditi mogućnost primjene digitalnog Brix refraktometra kao jedne od metoda za mjerenje koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača nakon usporedbe s rezultatima dobivenih laboratorijskim pretraživanjem uzoraka kolostruma krmača metodom radijalne imunodifuzije (RID). Zatim, utvrditi količinu imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma kod krmača 0 h sata od početka prasenja te utjecaj koncentracije imunoglobulina G (IgG) na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića.

Istraživanje je provedeno na 120 plotkinja i nazimica na dvije komercijalne reproduksijske farme u istočnoj Hrvatskoj (farma 1 i farma 2) koje se nalaze u sustavu dva različita hibridna programa (A i B) koje se bave proizvodnjom i uzgojem prasadi za tov do prosječne tjelesne težine od 25 kg. Od svake krmače, nulti sat od početka prasenja, kroz tri ciklusa uzimanja uzoraka, iz jedne od prednjih sisa uzeto je (izmuzeno rukom) u sterilnu epruvetu ukupno 10 mL kolostruma za refraktometrijsku analizu. Kolostrum je odmah nakon uzimanja pohranjen na temperaturi od -20°C . Osim navedenih 640 uzoraka kolostruma za refraktometriju, prikupljeno je i ukupno 100 uzoraka za radijalnu imunodifuziju (RID), paralelno s uzorcima za mjerenje pomoću digitalnog Brix refraktometra. Ovi uzorci uzimani su u isto vrijeme na dvije navedene farme od po 50 uzoraka na svakoj farmi također u 3 navrata od krmača koje su različitog broja prasenja. Smrznuti uzorci kolostruma korišteni su za laboratorijske analize kojima se utvrđivao kemijski sastav kolostruma i sadržaj imunoglobulina G (IgG).

RID vrijednosti utvrđene u našem istraživanju kreću se između 60 i 80 g/L. U odnosu na literaturne podatke, naše dobivene vrijednosti nešto su niže, no one nisu imale negativni učinak na preživljavanje prasadi tijekom prvih dana života. Utvrđene Brix vrijednosti u kolostrumu krmača kretale su se između 23,6% i 27,7%. Vrijednosti Brix-a iznad 22% ukazuju na dobru kvalitetu kolostruma i dobar sadržaj imunoglobulina G u njemu. Prosječne Brix vrijednosti utvrđene analizom uzorka kolostruma kroz 8 laktacija na dvije različite farme ukazuju da je kolostrum krmača s farme A imao nešto više vrijednosti u odnosu na kolostrum krmača s farme B, no te vrijednosti nisu bile statističke značajne. Zamjetne su neznatno niže Brix vrijednosti u drugoj i trećoj laktaciji, nakon čega je uslijedilo linearno povećanje vrijednosti, što je u skladu s prethodnim istraživanjima. Usporedba RID i Brix metoda određivanja sadržaja i koncentracije imunoglobulina G rezultirala je jasnim linearnim odnosom između dobivenih vrijednosti. Na farmi A koeficijent korelacije između Brix-a i RID-a iznosio je $r=0,81$, $p<0,001$, a na farmi B utvrđen je koeficijent korelacije $r=0,75$, $p<0,001$.

Uzimajući u obzir visoki koeficijent korelacije, na temelju predloženog možemo zaključiti da Brix refraktometar pruža prihvatljivu i pouzdanu procjenu IgG kod kolostruma krmača te se kao takav može koristiti u širokoj praksi. Koncentracije imunoglobulina G (IgG) u kolostrumu krmača mjerene pomoću digitalnog Brix refraktometra ne razlikuju se od koncentracija utvrđenih uobičajenim metodama. Nema razlika između jedinki krmača u koncentraciji imunoglobulina G (IgG) u sadržaju kolostruma neposredno nakon prasnja. Tijekom provedbe istraživanja utvrđena su proizvodna svojstva krmača, prasadi tijekom dojnog razdoblja te je u istom razdoblju promatran i bilježen zdravstveni status prasadi. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između dva različita hibrida krmača na dvije farme u pogledu svih ispitivanih reproduktivnih i proizvodnih svojstava. Ovi rezultati potvrđuju činjenicu da se u visoko intenziviranoj svinjogojskoj proizvodnji danas koriste hibridi koji su vrlo slični u pogledu navedenih svojstava. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu broja odbite prasadi, prosječne težine prasadi pri odbiću, prosječne težine legla kod odbića, kao i prosječnih ostvarenih dnevnih prirasta između prasadi na obje farme. Između ispitivanih skupina prasadi nisu utvrđene statistički značajne razlike u pogledu stope oboljenja od pneumonije i proljeva, te u pogledu stope smrtnosti prasadi. Utvrđene vrijednosti ukazuju na visok stupanj biosigurnosnih i higijenskih mjera koje se provode na farmama uključenim u istraživanje, budući da je i stopa oboljenja prasadi, kao i smrtnost istih, vrlo niska. Koncentracija imunoglobulina G (IgG) znatno utječe na zdravstveni status i proizvodna svojstva prasadi do odbića. Utvrđene vrijednosti sadržaja i koncentracije imunoglobulina G u kolostrumu krmača na obje farme, te utvrđena proizvodna svojstva i zdravstveni status prasadi, ukazuju na povezanost koncentracije i sadržaja imunoglobulina G utvrđenih Brix i RID metodom s proizvodnim svojstvima i zdravstvenim statusom prasadi tijekom dojnog razdoblja. Sve navedeno upućuje da primjena Brix refraktometrije u svinjogojstvu može biti značajno pomagalo proizvođačima, posebice u najosjetljivijem dijelu proizvodnje, a to je uzgoj prasadi. Metoda određivanja sadržaja imunoglobulina G u kolostrumu krmača ima prednosti u odnosu na druge metode procjene koncentracije IgG, s obzirom da je Brix refraktometar jeftin, lako dostupan, manje krhak i manje osjetljiv na varijacije u temperaturi kolostruma, godišnje doba i druge čimbenike, te zahtijeva minimalnu opremu i obuku. Procjena kolostruma može se obaviti kod same krmače neposredno nakon poroda, čime se poboljšava vjerojatnost da proizvođači donose pravovaljane i pravovremene odluke na temelju rezultata ispitivanja.

Ključne riječi: svinje, kolostrum, imunoglobulin G, Brix refraktometar, radijalna imunodifuzija

9. SUMMARY

INFLUENCE OF IMMUNOGLOBULIN G (IgG) ON THE HEALTH STATUS AND PRODUCTIVE TRAITS OF WEANED PIGLETS

The aim of this study was to evaluate the usefulness of Digital Brix refractometer as one of the methods for measuring the concentration of immunoglobulin G (IgG) in sows colostrum after comparing with the results obtained by laboratory testing of colostrum samples with method of radial immunodiffusion (RID). Next step was to determine the amount of immunoglobulin G (IgG) in sow colostrum 0 hours of the start of farrowing and the impact of the concentration of immunoglobulin G (IgG) on the health status and production performance of piglets to the weaning.

The study was conducted on 120 cows and gilts on two commercial reproduction farm in eastern Croatia (Farm 1 and Farm 2) that are in the system of two different hybrid programs (A and B) engaged in the production and breeding of pigs for fattening to the average body weight of 25 kg. From each sow, during the first hour after the farrowing, through three cycles of sampling, from one of the front teats were taken (milked by hand) into a sterile test tube of 10 mL of colostrum for Refractometric analysis. Colostrum was stored immediately after collection at a temperature of -20°C. Besides the above mentioned 640 samples of colostrum for refractometers there was collected a total of 100 samples for radial immunodiffusion (RID), in parallel with the samples for measurement using a digital Brix refractometer. These samples were taken at the same time on the following two farms of the 50 samples, on each farm also in 3 occasions of sows that have different numbers of farrowing. Frozen colostrum samples were used for laboratory tests in which was determined the chemical composition of colostrum and immunoglobulin G (IgG).

RID values determined in this study was between 60 and 80 g/L. Compared with the previously published data our values was lower, but they did not have a negative effect on the survival of piglets during the first days of life. Brix values determined in colostrum of sows were between 23.6% and 27.7%. Brix values above 22% indicate a good quality of colostrum and high concentration of immunoglobulin G. Average Brix value determined by analyzing a sample of colostrum for 8 lactation at two different farms indicate that the sows colostrum on the farm A had a slightly higher value compared with the sows colostrum from farm B, but these values were not statistically significant. Notable are slightly lower Brix value in the second and third lactation, followed by a linear increase in value, which is consistent with previous research. Comparison RID and Brix method of determining the content and concentration of immunoglobulin G resulted in a clear linear relationship between the calculated results. On farm A correlation coefficient between Brix

and RID was $r = 0.81$, $p < 0.001$ and on the farm B the correlation coefficient was $r = 0.75$, $p < 0.001$.

Taking into consideration high correlation coefficient, on the basis of a submitted, we can conclude that Brix refractometer provides affordable and reliable estimate of IgG concentration in sow colostrum and as such it can be used in wide practice. The concentrations of IgG in sow colostrum measured by using a digital Brix refractometer does not differ from the concentration determined by conventional methods. There was no difference between concentrations of IgG in the content of colostrum from different animals immediately after farrowing. During the research there was determined the production traits of sows and the piglets during the suckling period and at the same period there was observed and recorded health status of piglets. There were no statistically significant differences between two different sows hybrid on the two farms in terms of all determined reproductive and productive parameters. These results confirm the fact that the highly intensive pig production today uses hybrids that are very similar in terms of its properties. There were no statistically significant differences in the number of piglets, the average body weight of piglets at the weaning, the average litter weight at weaning and average daily gain between pigs at both farms. Between groups of piglets there were no statistically significant differences in rates of illness from pneumonia and diarrhea, and in terms of mortality rates of piglets. The determined values indicate on the high level of biosecurity and hygiene measures implemented on farms involved in the survey, since the rate of disease as well as the mortality rate was very low. The concentration of IgG significantly affects the health status and production performance of piglets to the weaning. The determined value of the content and concentration of IgG in the sows colostrum on both farms and established production traits and health status of piglets, suggest an association between concentration and content of IgG determined by Brix and RID method with production specifications and the health status of piglets during the suckling period. This indicates that the application of Brix refractometry can be substantially for the producers, especially in the most sensitive part of the production, and it is the breeding of the piglets. The method of determined the content of IgG in the sows colostrum has an advantages over the other methods of assessing the level of IgG, since the Brix refractometer is inexpensive, readily available, less reliable and less susceptible to variations in the temperature of colostrum, season and other factors, and requires minimal equipment and training. Evaluation of colostrum can be conducted at sows directly after the farrowing, which can improve the possibility for producers for making the valid and timely decisions based on test results.

Key words: pigs, colostrum, immunoglobulin G, Brix refractometer, radial immunodiffusion

ŽIVOTOPIS

OSOBNİ PODACI

Ime i prezime: Vice Čuljak
 Datum i mjesto rođenja: 09. travnja 1972., Osijek
 Adresa: Kutinska 41, 31000 Osijek
 Telefon: +385 98 9000 011
 E-mail: vice.culjak@hotmail.com

OBRAZOVANJE

1987.-1991. Poljoprivredno školski centar, Osijek:
 Veterinarski tehničar
 1991.-1998. Veterinarski fakultet, Zagreb: Doktor veterinarske
 medicine
 2009.- Upisan na poslijediplomski sveučilišni (doktorski)
 studij „Poljoprivredne znanosti“, smjer
 „Stočarstvo“ na Poljoprivrednom Fakultetu u
 Osijeku

DODATNO OBRAZOVANJE

2000. Položen stručni ispit
 2001. Položen državni stručni ispit za inspektora iz
 upravnog područja veterinarstva
 HACCP certifikat za Internal auditor-a

SEMINARI

2004. HACCP seminari MODUL I i II
 2006. HACCP seminar Internal auditor
 2008. TAIEX seminar „Sljedivost od farme do stola“
 TAIEX seminar „Mikrobiološki standardi za
 hranu“
 TAIEX seminar „Monitoring rezidua“
 2009. TAIEX seminar „Dobrobit životinja tijekom
 prijevoza“
 TAIEX seminar „Službene kontrole u mliječnom
 sektoru“
 Ministarstvo poljoprivrede, seminar „Zaštita
 životinja koje se koriste u svrhu pokusa i u druge
 znanstvene svrhe“
 2010. TAIEX radionica „Zaštita kokoši nesilica u
 različitim sustavima držanja“
 2011. TAIEX radionica „Navigacijski sustav i oprema
 za snimanje i prijevoz stoke“
 TAIEX radionica „Zaštita tovnih pilića i nesilica
 od farme do klaonice i usmrćivanja peradi radi
 kontrole bolesti“
 2012. TAIEX radionica „Službene kontrole centara za
 sakupljanje i skladištenje sjemena, timova za
 proizvodnju i sakupljanje embrija“

	TAIEX radionica „Workshop on Prevention, Control and Eradication of Transmissible Spongiform Encephalopathy“
2013.	TAIEX radionica "Expert mission on foods with traditional characteristics"
2014.	TAIEX radionica “Workshop on application of derogation for the establishments producing traditional products“
2016.	BTSF trening „Animal Welfare in pig production“, Malmö, Sweden
RADNO ISKUSTVO	
prosinac 1998. - rujan 1999.	BELJE d.d., Darda -pripravnički staž kao veterinar na govedarskim, svinjogojskim i ovčarskoj farmi te na ribogojilištu
srpanj 2000.	Veterinarska stanica Beli Manastir d.d., Beli Manastir -dio pripravničkog staža kao veterinar u veterinarskoj ambulanti i terenski poslovi
kolovoz 2000. veljača 2003.	-služenje vojnog roka BELJE d.d., Darda -rukovoditelj / veterinar na farmi goveda Sokolovac u sustavu držanja krava-tele -veterinar na farmama mliječnih goveda, farmama sustava krava - tele, farmi junadi, ovčarskoj farmi te na ribnjačarstvu, sve u sklopu BELJE d.d.
ožujak 2003. - ožujak 2009.	Veterinarska stanica „VETAM“ d.o.o., Osijek -obavljanje poslova u sklopu veterinarske djelatnosti kao veterinar na terenu i ovlašteni veterinar -ovlašteni veterinar u izvoznom objektu mljekari MEGGLE HRVATSKA d.o.o. Osijek i drugim odobrenim objektima
ožujak 2009. -	Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane -viši veterinarski inspektor
VJEŠTINE	Rad na računalu. Aktivno i svakodnevno korištenje MS Office paketa. Vozačka dozvola B kategorije
Strani jezici	Engleski
OSTALO	Bračno stanje: neoženjen
BIBLIOGRAFIJA	U koautorstvu je objavio 5 znanstvenih i 4 stručna rada.