

Utjecaj stadija i redosljeda laktacije na broj somatskih stanica i njihova povezanost s količinom i kvalitetom mlijeka u mliječnim krava

Lipovšćak, Maja

Professional thesis / Završni specijalistički

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:494424>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**UTJECAJ STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE NA BROJ
SOMATSKIH STANICA I NJIHOVA POVEZANOST S
KOLIČINOM I KVALITETOM MLIJEKA U MLIJEČNIH
KRAVA**

SPECIJALISTIČKI RAD

Maja Lipovšćak Garvanović mag. ing. agr

Zagreb, studeni, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Sveučilišni specijalistički studij:

Stočarstvo

**UTJECAJ STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE NA BROJ
SOMATSKIH STANICA I NJIHOVA POVEZANOST S
KOLIČINOM I KVALITETOM MLIJEKA U MLIJEČNIH
KRAVA**

SPECIJALISTIČKI RAD

Maja Lipovšćak Garvanović mag. ing. agr.

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Nataša Mikulec

Zagreb, studeni, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Maja Lipovšćak Garvanović**, 24/2018., rođena 19.07.1991. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila specijalistički rad pod naslovom:

UTJECAJ STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE NA BROJ SOMATSKIH STANICA I NJIHOVA POVEZANOST S KOLIČINOM I KVALITETOM MLIJEKA U MLIJEČNIH KRAVA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI SPECIJALISTIČKOG RADA

Specijalistički rad studenice **Maja Lipovšćak Garvanović mag. ing. agr.**, 24/2018., naslova

**UTJECAJ STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE NA BROJ SOMATSKIH STANICA I NJIHOVA POVEZANOST
S KOLIČINOM I KVALITETOM MLIJEKA U MLIJEČNIH KRAVA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. izv. prof. dr. sc. Nataša Mikulec

2. doc. dr. sc. Darija Bendelja Ljoljić

3. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

Zahvala

Ovime zahvaljujem svima koji su svojom stručnošću i nesebičnošću pomogli da opsežna statistička obrada bude odrađena na ispravan način. Bez vaših smjernica, savjeta i uputa sve ovo ne bi bilo moguće. Redom, najviše zahvaljujem profesoru doktoru Nevenu Antuncu koji je uz sve i predložio ovu temu, profesorici i mentorici Nataši Mikulec što je prihvatila mentorstvo.

Zahvaljujem i tati, doktoru Bojanu Lipovščaku i sestri Emi Peter čije je zavidno poznavanje statistike i programskih jezika uveliko pomoglo da opsežne podatke pretvorimo u razumljiv skup podataka! Veliko hvala Danijeli Stručić iz Središnjeg laboratorija za kontrolu mlijeka u Križevcima koja je omogućila sve ove podatke. Hvala svima na vremenu, na trudu i strpljenju!

Hvala mom suprugu Tomislavu Garvanoviću koji je bio i mama i tata djeci u vrijeme realizacije ovog rada. Hvala Mili i Danu što postoje.

Hvala svima koje je pogodio moj nedostatak slobodnog vremena na razumijevanju.

Posvećujem ovaj rad mami Slavici, najsnažnijoj ženi koju poznajem da u teškim trenucima borbe protiv ALS-a pronađe dodatnu snagu. Bojana hvala i tebi, hvala što si uvijek tu!

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja	4
2. PREGLED ISTRAŽIVANJA	5
2.1. Tipovi, značaj i uloga somatskih stanica	5
2.1.1. Limfociti	8
2.1.2. Makrofagi	10
2.1.3. Polimorfonuklearni neutrofili (PMN)	12
2.2. Somatske stanice i dnevna količina mlijeka	14
2.3. Somatske stanice i kemijski sastav mlijeka (suha tvar, mliječna mast, protein, laktoza, suha tvar bez masti)	16
3. MATERIJAL I METODE RADA	18
3.1. Prikupljanje uzoraka mlijeka	18
3.2. Analize mlijeka	20
3.2.1. Analize kemijskog sastava mlijeka	20
3.2.2. Određivanje broja somatskih stanica (BSS) i udjela diferenciranih somatskih stanica (DSS)	20
3.3. Statistička obrada podataka	21
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	23
4.1. Kemijski sastav mlijeka	25
4.1.1. Utjecaj stadija laktacije na promjene dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka	27
4.1.2. Utjecaj redoslijeda laktacije na promjene dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka	29
4.1.3. Utjecaj sezone na promjene dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka	31
4.2. Somatske stanice	32
4.2.1. Utjecaj stadija laktacije na broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica	33
4.2.2. Utjecaj redoslijeda laktacije u odnosu na broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica	34

4.3. Utjecaj sezone na broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica	36
4.4. Koeficijenti korelacija između pojedinih parametara	39
5. RASPRAVA	41
6. ZAKLJUČCI	50
7. POPIS LITERATURE	51
8. ŽIVOTOPIS	58

POPIS KRATICA

SS = somatske stanice

BSS = broj somatskih stanica

DBSS = diferencirani broj somatskih stanica

DSS = udio diferenciranih somatskih stanica

PMN = polimorfonuklearni neutrofil

MLD = diferencijali mliječnih leukocita

DKM (L) = dnevna količina mlijeka

ST (%) = udio suhe tvari

MM (%) = udio mliječne masti

P (%) = udio proteina

L (%) = udio laktoze

SBM (%) = udio suhe tvari bez masti

Kratice u tablicama:

\bar{X} = srednja vrijednost

SD = standardna devijacija

CV = koeficijent varijacije

n = broj uzoraka

$\bar{X} \pm \text{SD}$ = srednja vrijednost \pm standardna devijacija

***SCS** = Somatic cell score = \log_{10} broj somatskih stanica

SAŽETAK

Somatske stanice imaju važnu ulogu u održavanju zdravlja vimena i koriste se kao pokazatelj zdravstvenog stanja mliječne žlijezde i prisutnosti mastitisa. Rano otkrivanje mastitisa ključno je za održavanje zdravlja vimena i osiguranje optimalne proizvodnje mlijeka. Istraživanje je provedeno na 598 mliječnih krava, držanim na istoj farmi (u istim uvjetima) s poznatim podacima o: broju SS, udjelu DSS u ukupnom broju SS, dnevnoj količini mlijeka i njegovom kemijskom sastavu, datumu provedene kontrole mliječnosti, stadiju i redoslijedu laktacije prilikom kontrole. Podaci o mjerenjima prikupljeni su u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka u Križevcima a mjerenja su provođena na farmi na istoku zemlje. Cilj rada bio je istražiti utjecaj stadija i redoslijeda laktacije kao i sezone na kemijski sastav mlijeka, na broj somatskih stanica (SS) i udio diferenciranih somatskih stanica (DSS) i njihovu povezanost s količinom i kvalitetom mlijeka u krava Holstein pasmine. Što se tiče stadija laktacije, u prvih 100 dana broj somatskih stanica iznosio je oko 77 000 ss/mL, udio PMN + LYMF iznosio je oko 60% a udio makrofaga 40%. Sredina laktacije značila je i povećanje broja somatskih stanica na 114 000ss/mL dok se udio PMN + LYMF smanjio na 50% a udio makrofaga povećao na 50%. Na kraju laktacije došlo je do još izraženijeg povećanja broja somatskih stanica na oko 165 000ss/mL a to je ovećanje pratilo smanjenje udjela diferenciranih somatskih stanica; PMN + LYMF 40% dok se udio makrofaga povećao na 60%. Govoreći o redsoljedu laktacije u prvoj je broj somatskih stanica bio 97 000 ss/mL a udio PMN + LYMF 50%, udio makrofaga također 50%, do 4. se laktacije broj somatskih stanica povećavao, da bi se prema 7. laktaciji smanjivao dok je udio diferenciranih soamtskih stanica bio također znatno niži što se tiče PMN + LYMF, odnosno udio makrofaga u 7. je laktaciji iznosio 60%.

Rezultati ovog istraživanja imaju široku primjenu kod uzgajivača u ranom otkrivanju mastitisa obzirom da su predmet istraživanja bile somatske stanice koje ukazuju na pojavnost istog. Ranim otkrivanjem mastitisa omogućava se brže liječenje te se na taj način smanjuje i potreba za korištenjem antibiotika, čime se smanjuje i pojava rezistencije na antibiotike, a time se smanjuju i troškovi. Sastav mlijeka osnova je od koje se polazi prilikom formiranja otkupne cijene mlijeka pa je poznavanje oscilacija u sastavu tijekom različitih sezona, stadija i redoslijeda laktacije važno za osuvremenjivanje mljekarstva u Hrvatskoj.

Ključne riječi: *laktacija, kemijski sastav mlijeka, sezona, somatske stanice, kvaliteta mlijeka*

SUMMARY

Somatic cells play a crucial role in maintaining udder health and are used as an indicator of the health status of the mammary gland (presence of mastitis). Early detection of mastitis is essential for maintaining udder health and ensuring optimal milk production. The research was conducted on 598 dairy cows kept on the same farm (under the same conditions) with known data on: the number of SC, the proportion of DSC in the total number of SC, daily milk yield and its chemical composition, date of milk yield control, stage and order of lactation at the time of control.

Data was conducted by Central milk control laboratory in Križevci and was gathered on a farm in eastern part of the country. The aim of this study was to investigate the influence of order and stage of lactation on the chemical composition of milk, the number of somatic cells (SC), the proportion of differentiated somatic cells (DSC), and their correlation with the quantity and quality of milk in Holstein cows. Regarding stage of lactation, in the first 100 days somatic cell count was around 77 000 sc/mL, PMN + LYMF ratio was 60% and macrophages ratio was 40%. Middle of lactation lead to increasing SCC to 114 000sc/mL, PMN + LYMF ratio decreased 50% and macrophages increased to 50%. In the end of lactation there was significant increase of SCC to 165 000sc/mL and that also led to decreasing of PMN + LYMF ratio to 40%. Macrophages increased to 60%. Speaking of number of lactation in the first one SCC was 97 000 sc/mL and PMN + LYMF ratio 50% as well as macrophages. Till 4th lactation SCC increased and after that it started decreasing. PMN + LYMF was also decreasing, macrophages ratio increased up to 60%.

The results of this study have a wide application for breeders in early detection of mastitis since the subject of the research were somatic cells which indicate its occurrence. Early detection of mastitis allows for quicker treatment, thus reducing the need for antibiotics use, which in turn decreases the occurrence of antibiotic resistance, thereby reducing costs.

Key words: *lactation, milk chemical composition, season, somatic cells, milk quality*

1. UVOD

Mastitis je među najraširenijim bolestima u mliječnim stadima jer rezultira značajnim ekonomskim gubicima i uzgajivača i prerađivača mlijeka (Geary i sur., 2012.). Javlja se nakon ulaska infektivne doze patogenog mikroorganizma u vime, najčešće kroz sisni kanal, nakon čega slijedi njihovo razmnožavanje i stvaranje toksina. Indikator pojave mastitisa u krava je prisutnost somatskih stanica u mlijeku. Somatske stanice (SS) imaju obrambenu ulogu, budući su glavna komponenta u obrani mliječne žlijezde od infekcija i pokazatelj otpornosti i osjetljivosti krava na mastitis. Kada skupno mlijeko sadrži više od 400×10^3 SS/mL i ako je izoliran patogeni mikroorganizam, radi se o mastitisu (Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka, 2020.). Svrha određivanja somatskih stanica u mlijeku provodi se radi kontrole zdravstvenog stanja mliječne žlijezde i sprječavanja pojave mastitisa te poboljšanja kvalitete mlijeka i njegove prikladnosti za preradu. U cijelom svijetu broj somatskih stanica u mlijeku predstavlja međunarodno priznati pokazatelj zdravstvenog stanja mliječne žlijezde. Somatske stanice sadrže od 75-85 % leukocita (makrofaga, polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita) te od 15-25 % epitelnih stanica (Sarikaya i sur., 2004.; Koess i Hamann, 2008.; De Matteis i sur., 2020.). Kao prirodni sastojak sirovog mlijeka, somatske stanice ne utječu na promjenu njegovog kemijskog sastava, fizikalnih svojstava i bakteriološke kvalitete. U mlijeku iz zdravog vimena fiziološka granica iznosi do 250×10^3 SS/mL mlijeka dok u skupnom mlijeku (od većeg broja krava), njihov broj ne smije biti viši od 400×10^3 SS/mL (Havranek i Rupić 2003). Broj somatskih stanica u skupnim uzorcima mlijeka određen je na nacionalnoj razini i nije u svim zemljama identičan (USDA, 2013.; Tariq i sur., 2018.). Kada je vime zahvaćeno infekcijom, somatske stanice signaliziraju bijelim krvnim stanicama iz krvožilnog sustava prelazak iz krvi u vime te dolazi do masovnog prelaženja polimorfonuklearnih neutrofila u mlijeko. Somatske stanice uništavaju bakterije, a kada nema upale tada se broj somatskih stanica nalazi unutar dozvoljenih vrijednosti. Dio somatskih stanica i u vimenu zdravih krava izlučuje se u mlijeko (Miller i sur., 2004.).

Broj somatskih stanica i diferencirani broj somatskih stanica u uzorcima mlijeka mijenja se ovisno o zdravstvenom stanju vimena. Nizak je (npr. do 3×10^4 stanica/mL) u krava koje nemaju mastitis, a stanice se pretežno sastoje od makrofaga koji predstavljaju dominantnu skupinu stanica u zdravstveno ispravnom kravljem mlijeku (Tariq i sur., 2018.). Makrofagi i polimorfonuklearni neutrofilni (PMN) mogu uništavati mikrobne stanice fagocitozom te imaju ključnu ulogu u imunološkom sustavu (Tariq i sur., 2018.). Na mjestu infekcije PMN fagocitiraju mikroorganizme i uništavaju ih kombinacijom oksidativnih i neoksidativnih mehanizama (Pham, 2006.). U slučaju bakterijske infekcije makrofagi djeluju procesom fagocitoze te otkrivaju bakterije i pokreću imunološki odgovor regrutiranjem velikog broja polimorfonuklearnih neutrofila u mliječnu žlijezdu te oslobađaju kemijske glasnike ili kemoatraktante koji su prepoznati od strane PMN-a i upućuju ih prema mjestu infekcije. Nakon eliminacije bakterija, broj somatskih stanica počinje se smanjivati i dolazi do promjene PMN-a u odnosu na makrofage. Osim toga, makrofagi sudjeluju u specifičnom imunitetu kao i limfociti (Burvenich i sur., 2003.). Glavna uloga makrofaga u toj fazi je oporavak tkiva i uklanjanje staničnih ostataka. Limfociti se pojavljuju u relativno malom udjelu i pretpostavlja se da imaju samo sporednu ulogu iako su oni jedine stanice koje su sposobne prepoznati antigene putem specifičnih membranskih receptora za invaziju patogena.

Broj somatskih stanica u mlijeku može varirati i zbog sezone, odnosno prema Ribarić i sur. (2012.) broj se povećava tijekom ljetnih i jesenskih mjeseci, a smanjuje tijekom zimskih i proljetnih mjeseci. Na promjene njihovoga broja utječe veći broj čimbenika, a značajan utjecaj imaju stadij i redoslijed laktacije (Bombade i sur., 2017; Tariq i sur., 2018.). S napredovanjem laktacije, fiziološki se povećava broj somatskih stanica u mlijeku, bez obzira je li krava zaražena ili nije (Mijić i sur., 2012.). Također, mijenja se i omjer diferenciranih somatskih stanica tako da se udio limfocita smanjuje dok se udio neutrofila povećava u ranoj i kasnoj laktaciji. Mlijeko krava višeg reda laktacije može sadržavati povećani broj somatskih stanica (Skrzypek i sur., 2004.). Prema Solić i Šperanda (2021.) diferencirane somatske stanice sastavljene su od PMN-a i limfocita, dok se udio makrofaga (%) izračunava prema formuli $(100 - DBSS)$. Autori navode da u mlijeku zdravih krava s niskim brojem somatskih stanica dominiraju makrofagi i limfociti. U početnoj fazi bolesti, broj somatskih stanica u pravilu je nizak, ali dolazi do značajnog povećanja broja PMN-a. U slučajevima akutnog mastitisa, oba pokazatelja (SS i DBSS) su u pravilu povišena dok u slučaju kroničnog mastitisa broj somatskih stanica je u pravilu visok, a broj diferenciranih somatskih stanica nizak gdje dominiraju makrofagi. Uz postojeće informacije o broju somatskih stanica, diferencirani broj somatskih stanica (DBSS) daje detaljniji uvid u trenutno stanje mliječne žlijezde i omogućava bržu i detaljniju dijagnozu mastitisa,

kao i razvoj preciznijih metoda kontrole, odnosno praćenja broja somatskih stanica. (Solić i Šperanda, 2021.). Brojni autori (Schwarz i sur., 2011a i b; Pilla i sur., 2012.; Damm i sur., 2017.; Schwarz i sur., 2019.) navode da su povišene vrijednosti diferenciranih somatskih stanica povezane s prisutnošću intramamarne infekcije.

Mlijeko s povećanim brojem somatskih stanica prema Lindmark-Mansson i sur., (2006.) karakteriziraju kemijske, fizikalne i bakteriološke promjene mlijeka u žljezdanom tkivu vimena zbog smanjene sintetske aktivnosti. Cinar i sur. (2015.) navode niži udio (%) laktoze, suhe tvari, mliječne masti i proteina u mlijeku s povećanim brojem somatskih stanica. Udio laktoze niži od prosječnog udjela u mlijeku (3,2–4,9 %) uzrokuje sporije zakiseljavanje, uzrokuje nepoželjna organoleptička svojstva mliječnih proizvoda (Töpel, 2004.; Sharma, 2007.). Do značajnih promjena kemijskog sastava mlijeka dolazi kada je broj somatskih stanica viši od $250 \times 10^3/\text{mL}$, a do izraženijih kada je viši od $750 \times 10^3/\text{mL}$. (Töpel, 2004.; Sharma, 2007.). Udio mliječne masti u mlijeku s visokim brojem somatskih stanica može biti smanjen i za 5-12 %. (Samaržija, 1997.) Količina ukupnih proteina u mlijeku ostaje gotovo nepromijenjena, no za ~18 % se može smanjiti količina kazeina dok se količina sirutkinih proteina značajno povećava. Povećanje somatskih stanica može utjecati na smanjenje količine laktoze i do 20 % te prosječno smanjenje proizvodnje mlijeka po četvrti i laktaciji iznosi 15-40 % (Skrzypek i sur., 2004.). Ono što određuje smanjenje proizvodnje odnosno količinu mlijeka su: tip, trajanje i stupanj infekcije. Smanjena proizvodnja mlijeka inficiranih četvrti za ~ 30 % djelomično je nadoknađena s povećanom proizvodnjom mlijeka iz neinficiranih četvrti, tako da je ukupni gubitak ~ 20 %. Zbog infekcije mliječne žlijezde i povećanog broja mikroorganizama, povećava se i broj somatskih stanica a proizvodnja mlijeka se smanjuje za 1 kg odnosno za 3 kg u narednim laktacijama (Antunac i sur., 1997.) .

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

Istraživanje polazi od pretpostavke da stadij i redoslijed laktacije te sezona utječu na promjene broja somatskih i udjela diferenciranih somatskih stanica, a posljedično tome i na dnevnu količinu i kemijski sastav mlijeka. Kako bi se odredio utjecaj stadija i redoslijeda laktacije te sezone na broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica, primijenjena je univarijatna trosmjerna analiza varijance ANOVA.

Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj stadija, redoslijeda laktacije i sezone (godišnjeg doba) na broj somatskih i udio diferenciranih somatskih stanica ali i utjecaj somatskih stanica na dnevnu količinu i kvalitetu mlijeka (% udio suhe tvari, mliječne masti, proteina, laktoze, suhe tvari bez masti) u mliječnih krava holstein pasmine.

2. PREGLED ISTRAŽIVANJA

2.1. Tipovi, značaj i uloga somatskih stanica

Povezanost između broja somatskih stanica u mlijeku i upale mliječne žlijezde ključni je pokazatelj zdravlja vimena mliječnih krava. Somatske stanice prvenstveno se sastoje od bijelih krvnih stanica (leukocita) i epitelnih stanica izlučenih iz tkiva vimena. Povišen broj somatskih stanica u mlijeku, osobito prisutnost velikog broja leukocita, obično se koristi kao marker za upalu mliječne žlijezde, također poznatu kao mastitis. Mastitis je česta i skupa bolest mliječnih goveda, koju karakterizira upala tkiva mliječne žlijezde. Mogu ga uzrokovati različiti čimbenici kao što su bakterijske infekcije, loša praksa mužnje i uvjeti okoliša. Kada se mliječna žlijezda upali, imunološki sustav reagira slanjem bijelih krvnih stanica u borbu protiv infekcije. Ove bijele krvne stanice povećavaju broj somatskih stanica u mlijeku, što ga čini korisnim dijagnostičkim alatom za otkrivanje mastitisa. Praćenje broja somatskih stanica u mlijeku ključno je za rano otkrivanje i liječenje mastitisa u mliječnim stadima. Visok broj somatskih stanica ne samo da ukazuje na prisutnost upale, već također utječe na kvalitetu i proizvodnju mlijeka. Povišen broj somatskih stanica može dovesti do smanjene količine mlijeka, promjena u sastavu mlijeka i povećanog rizika od bakterijske kontaminacije.

Redovitim praćenjem broja somatskih stanica u mlijeku, uzgajivači mlijeka i veterinari mogu odmah identificirati slučajeve mastitisa, primijeniti odgovarajuće protokole liječenja i spriječiti širenje bolesti unutar stada. Učinkovite strategije upravljanja mastitisom, uključujući pravilnu higijensku praksu, pravodobno liječenje zaraženih krava i održavanje čistog okoliša, bitne su za osiguranje zdravlja i produktivnosti mliječnih krava. Analizom mlijeka individualnih životinja, utvrđuje se njezin zdravstveni status te prisutnost mastitisa, dok je analiza skupnog mlijeka pokazatelj zdravlja čitavog stada (Kelly i sur., 2002.; Ribarić i sur., 2012.; Talukder i sur., 2017.). Proaktivne prakse upravljanja i rana intervencija temeljena na praćenju broja somatskih stanica ključni su za održavanje dobrobiti mliječnih stada i osiguravanje visokokvalitetne proizvodnje mlijeka.

Somatske stanice su tjelesne stanice prirodno prisutne u mlijeku, fiziološki su sastojak mlijeka, a sastoje se od staničnih elemenata koji potječu iz organizma životinje, sastavljenih od epitelnih stanica vimena (alveola, mliječnih kanalića i cisterne), koje se troše u procesu sinteze i sekrecije mlijeka, a ostatak čine leukociti (bijeke krvne stanice) koji potječu iz krvi. Kako su somatske stanice

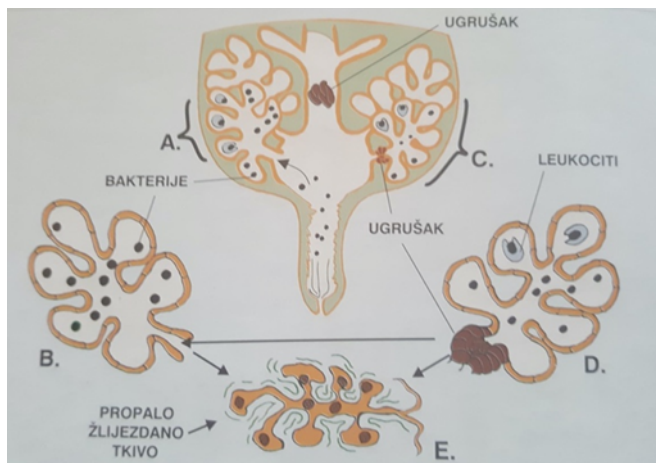
normalno prisutne u mlijeku, o njihovom broju te uz ukupan broj mikroorganizama može se zaključiti o higijenskoj kvaliteti mlijeka a uz to te se vrijednosti koriste i kao najbolji parametar za procjenu kvalitete mlijeka, ali i njegovu prikladnosti za konzumaciju i preradu kao i u definiranju kriterija za sustav plaćanja i formiranje otkupne cijene sirovog mlijeka. Rezultati se prikazuju kao broj somatskih stanica u 1 mL mlijeka ili kao logaritmirana vrijednost (\log_{10}) broja somatskih stanica u mL mlijeka (Čačić, 2003.) .

Mlijeko proizvode i izlučuju epitelne stanice mliječne žlijezde, koje su obložene krvnim kapilarama. Iz krvi uzimaju razne prekursore mlijeka te tako sintetiziraju i otpuštaju mlijeko u lumen mliječne žlijezde (Alhussien i Dang, 2018.). Epitelne stanice se izlučuju u mlijeko iz žljezdane sluznice, a leukociti ulaze u mliječnu žlijezdu kao odgovor na infekciju ili ozljedu (Sharma i sur., 2011.). Epitelne stanice djeluju kao prva obrambena linija mliječne žlijezde, a mogu sudjelovati u imunitetu novorođenčadi kod raznih vrsta (Boutinaud i Jammes, cit. Malik i sur., 2018.).

Somatske stanice uglavnom su stanice imunološkog sustava (80 % u nezaraženim četvrtima, 99 % u četvrtima zahvaćenih mastitisom). One su dio prirodnog obrambenog mehanizma i uključuju limfocite, makrofage, polimorfonuklearne neutrofile i epitelne stanice. Somatske stanice su odraz upalnog odgovora na intramamarnu infekciju. Kada je vime zdravo, broj somatskih stanica u mlijeku varira između $50-100 \times 10^3$ stanica/mL. Ako je broj somatskih stanica veći od 200×10^3 stanica/mL, smatra se da je to prag za razlikovanje zdravog od bolesnog vimena. Mlijeko s povećanim brojem somatskih stanica povezano je s promjenama proteina, mliječne masti, laktoze i mineralnih tvari u mlijeku, što umanjuje kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. Broj somatskih stanica u mlijeku (stanice/mL) uključuje različite frakcije bijelih krvnih stanica i u čitavom svijetu se koristi za praćenje i genetsko poboljšanje zdravlja vimena. Subklinički mastitis također je povezan sa smanjenjem proizvodnje mlijeka, promjenama u konzistenciji mlijeka, smanjenjem mogućnosti adekvatne obrade i visokim rizikom za higijenu mlijeka koje čak može sadržavati patogene.

Mlijeko s niskim brojem somatskih stanica daje mliječne proizvode s dužim rokom trajanja. Ovisnost između somatskih stanica, količine mlijeka i sastava mlijeka u različitim populacijama mliječnih krava već je proučavana, a prikazani rezultati su često puta i kontradiktorni. Niz studija otkrilo je umjerenu, ali negativnu genetsku korelaciju između količine mlijeka i somatskih stanica. Drugi su izvijestili o umjerenim, ali pozitivnim korelacijama između somatskih stanica i količine mlijeka. Isto se odnosi i na sadržaj mliječne masti i proteina u mlijeku. Prema Sharma i sur. (2007.), najjednostavniji i najčešći način obrade i prikaza somatskih stanica je aritmetička sredina. Specifični uvjeti regije ili zemlje utječu na razinu mliječnosti, kemijski sastav mlijeka, kao i na broj somatskih

stanica u mlijeku, kao npr. klimatske značajke, selekcija, ciljevi uzgoja, sustavi hranidbe, itd. U tom smislu, vrlo je važno proučavati međusobne veze između ovih svojstava pod specifičnim uvjetima, što može biti relevantno i za modele uzgoja i za strategije upravljanja stadom (Bytyqi i sur., 2010.).



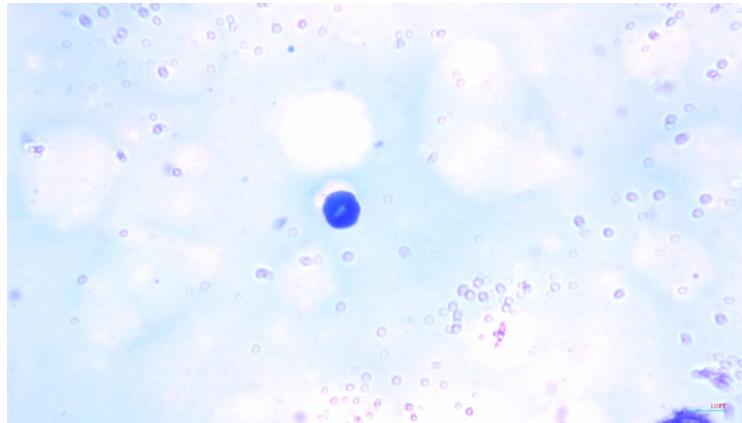
Slika1. Prikaz djelovanja leukocita prilikom upale vimena
(Izvor: Havranek i Rupić, 2003.)

Na slici 1, segment A prikazuje bakterije koje luče toksine i tako djeluju na alveole epitelnih stanica dovodeći ih u stanje mirovanja čime se smanjuje volumen alveola i sekrecija mlijeka (segment B). Segment C prikazuje nastanak ugruška koji se sastoji od mješavine propalih leukocita i bakterija. Ako leukociti ne uspiju razoriti ugrušak on zatvara mliječne kanale i onemogućava sekreciju mlijeka iz alveola. To dovodi do nakupljanja mlijeka u alveolama, posljedično tome povećava se pritisak na alveole koje ne mogu sintetizirati mlijeko i prelaze u stanje mirovanja (segment D). Ako se bakterije i toksini koje one ispuštaju zadržavaju u alveoli duže vrijeme, dolazi do propadanja sekretornih stanica i zamjene žljezdano tkiva s vezivnim (Havranek i Rupić, 2003.).

2.1.1. *Limfociti*

Imaju temeljnu ulogu u imunološkom sustavu zbog svog utjecaja na imunološke odgovore na infektivne mikroorganizme i druge strane tvari. Limfociti su jedine stanice sposobne prepoznati antigene putem specifičnih membranskih receptora za invaziju patogena (Sordillo i sur., 1997.).

Pojavljaju se u krvi i limfi (bezbojna tekućina u limfnim žilama koje krvotokom povezuju limfne čvorove u tijelu jedne s drugima). Također, javljaju se i u limfoidnim organima, kao što su timus, limfni čvorovi, slezena i slijepo crijevo (u čovjeka). Promjer limfocita varira 7-20 μm . Mikroskopski, normalne limfocite karakterizira velika, tamnoljubičasta/plavo obojena jezgra s malo ili nimalo eozinofilne citoplazme. Međutim, zabilježeni su veći oblici limfocita s obiljem citoplazme, koja sadrži nekoliko svijetlo crvenih/ljubičastih čestica nalik zrnu (Sarıkaya, 2004.).



Slika 2. Prikaz stanice limfocita u mlijeku
(Izvor: N. Mikulec)

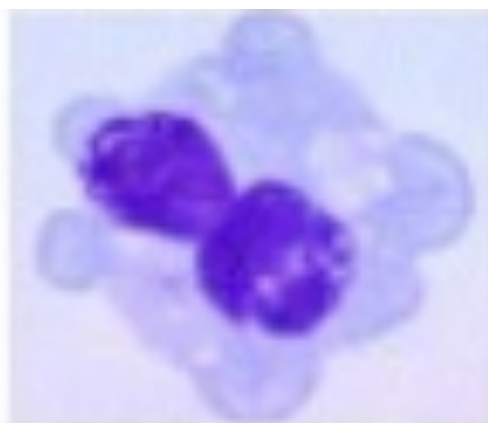
Morfološki, limfocit je mala kuglasta stanica s oskudnom citoplazmom i okruglom, blago uvučenom i pomalo ekscentrično smještenom jezgrom koja sadrži grube mase kromatina. Ova je definicija primjerena kada se radi o mišjim ili ljudskim stanicama, iako čak i kod ovih vrsta nemoguće je tvrditi da se uvijek radi o istoj stanici. Iako limfociti obavljaju mnoge funkcije, jedna od najznačajnijih je njihova sposobnost da preraspodijele svoje gene na takav način da mogu proizvesti receptore za antigene i preko tog receptora pokrenuti specifičan imunološki odgovor. Budući da nijedna druga stanica u organizmu to ne može učiniti ne postoji bolji način definiranja limfocita nego prema ovoj značajci. Receptori također pružaju osnovu za razlikovanje dviju vrsta limfocita: T limfociti, koji se uglavnom diferenciraju u timusu; i B limfociti, koji se uglavnom diferenciraju u koštanoj srži. T stanični receptor (Tcr) je receptor T limfocita, i karakterizira ga sposobnost da prepozna dvije molekule ili dva molekularna fragmenta u isto vrijeme - antigen i molekulu kodiranu u genima glavne histokompatibilnosti. Receptor limfocita B, molekula imunoglobulina (Ig), s druge strane, prepoznaje samo jednu molekulu - strani antigen. Dvije vrste receptora također se razlikuju

prema obliku u kojem ih proizvode njihove odgovarajuće stanice: B stanični receptor (Bcr) izlučuju limfociti, a Tcr ne. (Ova razlika, međutim, nije apsolutna: u određenim fazama razvoja B stanica, Bcr, kao i Tcr, integriran je u membranu i dobiva sekretorni dio tek u kasnijoj fazi. Slično tome, postoje indicacije da se u određenoj fazi razvoja T stanica, Tcr može osloboditi iz stanice u topljivom obliku kao faktor specifičan za antigen. Točan sastav ovog oblika nije utvrđen i do danas nisu identificirani nikakvi sekretorni segmenti niti u Tcr genima niti u Tcr polipeptidima (Luz i sur. 2013.) .

2.1.2. Makrofagi

Makrofagi prevladavaju u kravljem mlijeku zdravih krava. Uključeni su u imunološku obranu, organogenezu i homeostazu tkiva. Mogu se boriti protiv invazije bakterija brzim djelovanjem. U slučaju infekcije, makrofagi otpuštaju kemijske glasnike ili kemoatraktante koji otkrivaju polimorfonuklearne neutrofile, a odijele mjesto infekcije. Makrofagi i polimorfonuklearni neutrofile mogu uništavati mikrobne stanice fagocitozom te imaju ključnu ulogu u urođenom imunološkom sustavu. Također, makrofagi sudjeluju u specifičnom imunitetu kao što to čine limfociti (Burvenich i sur., cit. Malik i sur., 2018.).

Nadalje, makrofagi iz različitih tkiva heterogenog su podrijetla i fenotipa te obavljaju funkcije specifične za organe kojima upravljaju signali iz okoline. Mnoge populacije rezidentnih makrofaga u tkivima (TRM) potječu od embrionalnih prekursora i lokalno se samoobnavljaju, dok se druge kontinuirano nadopunjuju monocitima.



Slika 3. Prikaz stanice makrofaga u mlijeku

(Izvor: Li i sur., 2014.)

Značajan aspekt funkcije makrofaga je njihova uloga u urođenom i specifičnom imunitetu. Tkivni makrofagi štite se od stranih napadača i sposobni su se trenutno braniti, kao i slati signale za preraspodjelu i predstavljanje antigena drugim imunološkim stanicama. Kritični razlog zbog kojeg su makrofagi tako učinkoviti kao prva linija obrane jest to što su raspoređeni po tijelu u različitim organima, tkivima i tekućinama. Procjenjuje se da se odjeljak makrofaga zdravog odraslog miša sastoji od otprilike 108 stanica. U odraslih životinja, mononuklearni fagociti nastaju u koštanoj srži iz mijeloidnih matičnih stanica i migriraju u perifernu krv i različita tkiva. Makrofagi pokazuju veliku raznolikost fenotipa i funkcija što proizlazi iz njihove sposobnosti prilagodbe lokalnom okolišu. Izloženost određenim tkivima, vrstama stanica i fiziološkim stanjima dovodi do toga da makrofagi tkiva variraju u sazrijevanju, funkciji i metabolizmu, što je dokazano njihovim različitim odgovorom na stimulaciju i rasponom razlikovnih markera. Na primjer, iako je fagocitoza obilježje aktivnosti makrofaga, makrofagi povezani s kožom (Langerhansove stanice) slabo su fagocitni. Osim toga, proizvodnja citokina, ekspresija receptora i perioksidativna aktivnost vrlo su varijabilni između podtipova makrofaga. Budući da različiti makrofagi ne reagiraju ujednačeno, pretpostavke o jednoj populaciji temeljene na dokazima za druge, mogu biti pogrešne (Bombade i sur., 2017.).

Patološka stanja i upalni procesi utječu na odgovor i stanje aktivacije makrofaga. Na primjer, infekcija Gram-negativnom bakterijskom može dovesti do regrutiranja potpuno zrelih stanica. S druge strane, utvrđeno je da su makrofagi povezani s tumorom nezreliji i u nekim slučajevima nisu aktivni. (Alhussien i Dang, 2018.). U sisavaca su se makrofagi razvili u multifunkcionalne stanice. Osim svoje uloge „čistača“ u uklanjanju ne-vlastitih materijala kao što su mikroorganizmi i promijenjeni vlastiti materijali (npr. apoptotske stanice, stari eritrociti, imunološki kompleksi i upalni produkti), imaju ključnu ulogu u regulaciji urođenog i stečenog imuniteta. Dok se urođeni imunitet temelji na fagocitozi i unutarstaničnoj razgradnji, stečeni uvelike ovisi o proizvodnji i lučenju skupine regulatornih molekula kao što su citokini, kemokini i dušikov oksid (NO). Trošenje makrofaga i blokiranje fagocitoze predstavljaju važne pristupe u proučavanju njihove uloge u različitim obrambenim mehanizmima domaćina.

Razlozi slabijeg proučavanja uloge makrofaga u različitim obrambenim mehanizmima:

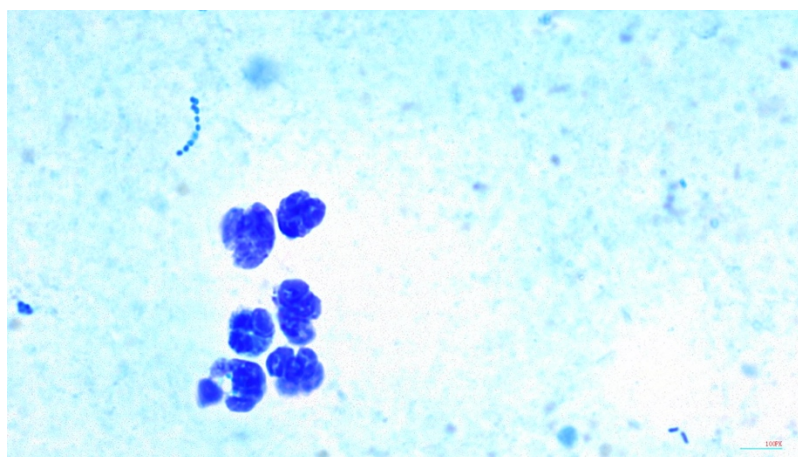
- *opća toksičnost,*
- *nedostatak selektivnosti u odnosu na makrofage,*
- *blokiranje fagocitoze praćeno aktivacijom proizvodnje citokina,*

- *suprotni učinci visokih i niskih doza agensa na makrofage, međusobno se poništavajući in vivo, gdje će ti agensi doći do nekih makrofaga u visokoj dozi, a do drugih u niskoj (Alhussien i Dang, 2018.).*

Razvijena je tehnika „samoubojstva“ makrofaga posredovana liposomima, koja se temelji na intrafagocitozi i akumulaciji lijekova inkapsuliranih u liposome koji nisu toksični u svom neinkapsuliranom obliku, ali induciraju apoptotski proces stanične smrti kada se unutarstanične koncentracije povećaju (Allhusein i Dang, 2018.).

2.1.3. Polimorfonuklearni neutrofili (PMN)

Polimorfonuklearni neutrofili (PMN) najbrojnije su stanice u početnom stadiju upale, a predstavljaju prvu liniju obrane. Ako je povećani udio polimorfonuklearnih neutrofila u mlijeku s niskim brojem somatskih stanica, to upućuje na ranu pojavu infekcije i početak obrambene reakcije u vimenu. U stanju akutnog mastitisa broj somatskih stanica i udio polimorfonuklearnih neutrofila biti će povišen. U stanju kroničnog mastitisa, broj somatskih stanica biti će visok uz najveći udio makrofaga (Solić i Šperanda, 2021.). Njihov povećani udio u mlijeku prihvatljiv je pokazatelj akutne upale vimena.



Slika 4. Prikaz zrelih polimorfonuklearnih neutrofila u mlijeku s karakterističnim oblikom jezgre u obliku potkove
(Izvor: N. Mikulec)

Somatske stanice u zdravom mlijeku sastoje se od polimorfonuklearnih leukocita (PMN stanica ili neutrofila, 12 %), makrofaga (60%) i limfocita (28%). Benić i sur. (2012.) navode udio od 12 % polimorfonuklearnih neutrofila u mlijeku zdravih krava dok Malik i sur. (2018.) navode svega 3-6 %. Schröder i Hamann (2005.) navode još širi raspon pojedinih tipova stanica u mlijeku zdravih krava i to: makrofaga od 0 % do 80 %, limfocita od 1,5 % do 79,5 %, polimorfonuklearnih neutrofila od 3 % do 95 %, epitelnih stanica od 1 % do 19 %. Međutim, unutar 6 sati od izlaganja bakterijskom endotoksinu, polimorfonuklearni neutrofili čine više od 90 % ukupnih leukocita i ostaju na toj razini do 59 sati nakon infuzije. Oni također pokreću kemijske tvari koje proizvode invazivni mikroorganizmi, a njihova primarna funkcija je gutanje i uništavanje mikroorganizama.

Broj polimorfonuklearnih neutrofila raste u kasnoj laktaciji. Na mjestu infekcije, polimorfonuklearni neutrofili fagocitiraju mikroorganizme i uništavaju ih kombinacijom oksidativnih i neoksidativnih mehanizama (Pham, 2006.). Enzimi koji se oslobađaju iz somatskih stanica imaju važnu ulogu u mlijeku. Katalaza je jedan od glavnih antioksidativnih endogenih enzima polimorfonuklearnih neutrofila u mlijeku, koji je odgovoran za promijenjeni redoks potencijal mlijeka, koji ograničava sposobnost preživljavanja mikroorganizama (Hamed i sur., cit. Malik i sur., 2018.). Funkcija lizozima (endogenog enzima somatskih stanica) poznata je po sposobnosti uništavanja bakterija (Paape i sur., cit. Malik i sur., 2018.). Polimorfonuklearni neutrofili izlučuju određene proteinaze kao što su katepsin G, elastaza i proteinaza 3, koji osiguravaju antimikrobnu aktivnost tijekom fagocitoze.

Razvijen je niz metoda za diferencijalno brojanje stanica u mlijeku, posebice za određivanje PMN-a u kravljem mlijeku koji za cilj imaju dijagnostiku mastitisa i ispitivanje imunološkog statusa vimena. Te su metode prvenstveno protočna citofluorimetrija ili tehnike diferencijalnog bojenja stanica. O'Sullivan i sur. (1992.) razvili su ELISA test za antigen polimorfonuklearnih neutrofila u mlijeku, koji je bio u visokoj korelaciji ($r = 0,94$) s brojem somatskih stanica iz uzoraka mlijeka pojedinačnih krava (Kelly, 2002.). Broj diferenciranih somatskih stanica predstavlja udio polimorfonuklearnih neutrofila u kombinaciji s limfocitima (Damm i sur., 2017.). Posljedično, udio makrofaga može se izračunati njihovim (PMN + Limfociti) oduzimanjem od 100.

Različite vrste stanica različito reagiraju na intramamarnu infekciju i nije ga moguće utvrditi na osnovu broja somatskih stanica (Schwarz i sur., 2011.). Broj diferenciranih somatskih stanica može pomoći u karakterizaciji statusa intramamarne infekcije (Kirkeby i sur., 2019.). U posljednjih nekoliko godina provedeno je više istraživanja koja su imala za cilj kvantificirati čimbenike koji utječu na broj diferenciranih somatskih stanica te procijeniti može li njihov broj poboljšati otkrivanje

intramamarne infekcije ako je već poznat broj somatskih stanica. Dok broj somatskih stanica predstavlja ukupan broj stanica, diferencirane stanice odnose se na udjele pojedinih tipova stanica kao što su: limfociti, makrofagi i polimorfonuklearni neutrofili u mlijeku, koji imaju važnu ulogu kod upalnih reakcija unutar mliječne žlijezde (Schwarz i sur., 2019.).

2.2.Somatske stanice i dnevna količina mlijeka

Broj somatskih stanica u mlijeku u visokoj je korelaciji sa stanjem vimena, ali somatske stanice nisu jedini i najpouzdaniji pokazatelj upale vimena. Eventualne bolesti vimena očituju se u brojnim promjenama strukture i funkcije vimena, koje imaju učinak na promjene kemijskog sastava mlijeka. Kod krava s mastitisom promijenjene su gotovo sve komponente mlijeka. Stoga se podaci o sastavu mlijeka koriste za opću procjenu zdravlja životinja, stanja vimena kao i pokazatelj subkliničkog mastitisa, pogrešaka u hranidbi, uzroka metaboličkih poremećaja. Od ekoloških čimbenika godišnje doba i hranidba krava imaju značajan utjecaj na osnovne sastojke i količinu mlijeka (Pizzaro, 2004). Utjecaj godišnjeg doba različito se tumači iz razloga što treba uzeti u obzir geografske i klimatske uvjete na koje se ne može utjecati. Godišnje doba često je povezano s različitim režimima hranidbe. Kvaliteta i vrsta krme, kao i unos hrane povezani su s režimom hranidbe (Ribarić i sur., 2012). Hranidba nudi brojne mogućnosti uzgajivaču jer se samo sa dobro izbalansiranim i strukturiranim obrocima sa svim nutritivnim i mineralnim tvarima, zadovoljavaju potrebe životinja te omogućuje dobra probava i metabolizam, što u konačnici utječe i na kemijski sastav mlijeka. Promjene u sastavu i količini mlijeka više su povezane s čimbenicima hranidbe stoga je za veću korelaciju među varijablama (sastav) unos hrane važniji od sadržaja hranjivih tvari u hrani. Ipak, godišnje doba značajno utječe na unos hrane. U sastavu zimskog obroka krava uglavnom je koncentrat dok ljeti prevladava hranidba voluminoznom krmom (Stenzel i sur., 2001.).

Gubitak proizvodnje mlijeka postaje ozbiljniji problem s napretkom laktacije. Pretpostavlja se da lošije zdravstveno stanje vimena, uzrokovano povećanom izloženošću patogenim mikroorganizmima, povećanom prevalencijom infekcija i naknadnim trajnim oštećenjem žlijezda od prethodnih infekcija, odgovorno za veći gubitak mlijeka u kasnoj laktaciji. Gubitak mlijeka uslijed upala najveći je prema kraju laktacije, i kod krava sa i kod krava bez povijesti kliničkog mastitisa. Veliki gubitak mlijeka u kasnoj fazi laktaciji povezan je s činjenicom da je vime u kataboličkom stanju.

Degenerativni proces koji se odvija može utjecati i na sposobnost vimena da se samo oporavi nakon infekcije i na sposobnost kompenzacije nezaraženih četvrti. Utvrđeno je da je sposobnost kompenzacije nezaraženih četvrti niža u kasnoj nego u ranoj fazi laktaciji (Hamann i Reichmuth, 1990.). Potencijal za kompenzaciju količine povezan je s brojem i aktivnošću sekretornih stanica (Hamann i Reichmuth, 1990.).

Intenzivna proizvodnja može uzrokovati oštećenje imunološkog sustava zbog metaboličkog stresa. Kada su krave u negativnoj energetskej ravnoteži, tjelesna mast se pretvara u ketonska tijela, a hiperketonemija se smatra jednim od najvažnijih čimbenika koji oslabljuje obrambeni mehanizam vimena. Krave su u negativnoj energetskej ravnoteži otprilike do 7. do 9. tjedna laktacije. Posljedično, krave su osjetljivije na infekciju vimena u ranoj laktaciji kada se očekuje ozbiljnije smanjenje količine mlijeka (Alhussien i Dang, 2018.).

2.3. Somatske stanice i kemijski sastav mlijeka (suha tvar, mliječna mast, protein, laktoza, suha tvar bez masti)

Mlijeko se kontinuirano proizvodi u mliječnoj žlijezdi, pomoću epitelnih stanica koje izlučuju mlijeko. Ove epitelne stanice obložene su krvnim žilama i preuzimaju različite prekursore mlijeka iz krvi, te tako sintetiziraju i otpuštaju mlijeko u lumen alveole. Kada dođe do bilo kakvog probijanja barijera vimena od strane patogena, on uzrokuje oštećenje tkiva i otpušta niz različitih kemijskih spojeva u sustav vimena (Solić i Šperanda, 2021.).

Epitelne stanice pokreću prvi korak u organizmu ograničavajući opseg infekcije i aktivirajući imunološki sustav vimena. Dvije komponente, stanična (leukociti) i humoralna (imunoglobulinska) komponenta, imaju značajnu ulogu u smanjenju i uklanjanju ovih infekcija. Stanična komponenta uključuje bijele krvne stanice (neutrofile, limfocite i makrofage) normalno prisutne u zdravom vimenu i druge koje aktivira imunološki sustav mliječne žlijezde.

Leukociti stalno cirkuliraju i jer se svakom mužnjom otvara sisni sfinkter pa je mliječna žlijezda podložna infekcijama. Kad god rezidentni makrofagi u mliječnoj žlijezdi identificiraju prisutnost neke patogene bakterije, signaliziraju drugim leukocitima i imunološkim stanicama o takvoj infekciji. Posljedično, više imunoloških stanica se regrutira u područje infekcije uslijed čega se broj somatskih stanica u mlijeku povećava. Fagocitne stanice, točnije neutrofile i makrofagi, nakon što detektiraju

bakterije, nastoje se uhvatiti i omotati oko njih, a taj se proces naziva fagocitoza. Nakon što su bakterije uhvaćene, fagocitne stanice nastavljaju ih uništavati otpuštanjem enzima sposobnih za probavu bakterijskih komponenti (Pila, 2012.). Tijekom upale prevladavajuća vrsta leukocita su neutrofil i poznati kao prva linija obrane, koji iz krvi ulaze u mliječnu žlijezdu. Funkcija neutrofila je fagocitoza (Cinar i sur., 2015.). Varijacije u kvaliteti i sastavu mlijeka u odnosu na broj somatskih stanica prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Varijacije u kvaliteti i sastavu mlijeka u odnosu na broj somatskih stanica

Sastojak mlijeka	Zdravo vime	Subklinički mastitis	Klinički mastitis
SCC (10⁵ stanica/mL)	<2	3-5	>5
Mliječna mast (%)	4,32	4,31	4,08
Protein (%)	3,30	3,34	3,70
Laktoza (%)	4,84	4,71	4,41
Sbm (%)	9,73	9,61	9,35

Izvor: (Cinar i sur., 2015.)

Visoki broj somatskih stanica u mlijeku uzrokovan je upalnim stanjima mliječne žlijezde, koja mijenja sastav mlijeka sličnije sastavu krvi. To je uzrokovano povećanjem propusnosti krvne mliječne barijere što rezultira povećanjem količine iona, proteina i upalnih stanica u mlijeku. Smanjenje u količini mlijeka može se primijetiti najmanje oko 1 tjedan prije nego što se dijagnosticira mastitis (Čačić, 2003.). Nadalje, učinci mastitisa su ozbiljni ako se infekcija dogodi tijekom rane laktacije i prije nego što je životinja dosegla svoju najveću mliječnost. Nadalje, ove krave proizvode manje mlijeka tijekom ostatka laktacije u usporedbi s kravama koje nisu imale mastitis. Jednom zaražene krave ne vraćaju se na razinu mliječnosti prije mastitisa. Smanjenje mliječnosti praćeno povećanjem broja somatskih stanica u mlijeku uglavnom je posljedica fizičkog oštećenja epitelnih stanica koje proizvode mlijeko, a kao rezultat toga, sintetski i sekretorni kapacitet mliječne žlijezde značajno će se smanjiti. Upalni procesi mijenjaju koncentraciju stimulirajućih ili inhibicijskih hormona, a smanjena dostupnost prekursora mlijeka može igrati glavnu ulogu u smanjenju proizvodnje mlijeka tijekom mastitisa. Nadalje, više energije odlazi prema imunološkom sustavu umjesto prema proizvodnji mlijeka, a životinja može jesti manje zbog boli i smanjenih pokreta (Sordillo, 1997.).

3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Prikupljanje uzoraka mlijeka

Uzorci mlijeka mogu se uzimati ili kao pojedinačni iz svake pojedine četvrti ili kombinirati iz sve četiri četvrti vimena, u jednu epruvetu (kompozitni uzorci mlijeka). Međutim, kombinirani uzorci mlijeka se ne preporučuju, budući da kulture obično otkrivaju rast brojnih i različitih bakterijskih vrsta, što otežava određivanje uzročnika mastitisa.

Istraživanje je provedeno na uzorku od 598 mliječnih krava Holstein pasmine, držanih na farmi u Istočnoj Slavoniji, s poznatim informacijama o: broju somatskih stanica, udjelu diferenciranog broja somatskih stanica od ukupnog broja somatskih stanica, dnevnoj količini mlijeka i njegovom kemijskom sastavu, datumu kontrole mliječnosti, stadiju i redoslijedu laktacije na dan kontrole. Analizirani su podaci o količini i kvaliteti sirovog mlijeka, prikupljeni tijekom rutinskih kontrola mliječnosti u razdoblju od 05.12.2021. do 27.11.2022. Na taj način obuhvaćeni su podaci jedne kalendarske godine. Svi podaci potječu s jedne farme mliječnih krava. Kontrole mliječnosti provedene su B1 metodom sukladno preporukama Međunarodne organizacije za kontrolu proizvodnosti domaćih životinja ICAR (2022.), jednom mjesečno uz razmak između dviju kontrola od 22-37 dana. Grla pod kontrolom mužena su dva puta dnevno (ujutro i navečer). Uzorci mlijeka analizirani su u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka (SLKM) u Poljani Križevačkoj, koji je dio Centra za kontrolu kvalitete stočarskih proizvoda Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH).

Za svako grlo izračunat je broj dana laktacije. Kao datum početka laktacije poznat je datum kontrole za koji se pretpostavlja da obilježava početak laktacije, te je izračunat broj dana trajanja laktacije kao razlika između datuma pojedinih kontrola.

Stadij laktacije definiran je brojem dana trajanja laktacije, granice razreda stadija laktacije su: početak od 0.-100. dana, sredina od 101.-200. dana i kraj više od 201. dana. Za tako definirane stadije izračunate su vrijednosti logaritmiranog broja somatskih stanica i udjela diferenciranih somatskih stanica. Poznati su bili i podaci o redoslijedu laktacije, zbog statističke obrade podataka uzeto je 7 laktacija iako je bilo prikazano u nekim slučajevima čak više od 10.

Set podataka odnosi se na razdoblje 05.12.2021. do 27.11.2022., te je podacima obuhvaćeno razdoblje od godine dana. Izvorni set podataka sadržavao je 5.490 mjerenja i na njemu je napravljena kritična kontrola i preliminarna analiza. Kritička kontrola podataka obavljena je u nekoliko koraka kako bi se izdvojili neprikladni i nepotpuni podaci:

- a) izdvojeni su i odbačeni podaci grla koja nisu pasmine Holstein,
- b) odbačeni su nepotpuni podaci (prazna polja ili polja bez podataka),
- c) odbačeni su podaci kod kojih je redni broj kontrole >10,
- d) odbačeni su podaci za grla koja se pojavljuju samo s jednom kontrolom u skupu podataka (samo jedno mjerenje).

Nakon kritičke kontrole i filtriranja podataka prema gornjim kriterijima dobiven je skup od 3.802 kontrolnih mjerenja, koja se odnose na 598 grla pasmine Holstein (u daljnjem tekstu stado). U prosjeku se na svako grlo odnosi 6,36 kontrolnih mjerenja. Razdioba broja grla i kontrolnih mjerenja je zvonolika (slika 5). Podaci su prema tome, reprezentativni za daljnju statističku obradu. Na slici 7. prikazan je broj mjerenja po grlu. Vidljivo je kako je primjerice 90 krava bilo obuhvaćeno sa 60 mjerenja. To je bilo nužno napraviti kako bi se provjerilo jesu li mjerenja raspoređena u skladu s normalnom razdiobom.

3.2. Analize mlijeka

Uzorci mlijeka prije početka izvođenja analiza zagrijani su do temperature 37-40 °C. Bočica s mlijekom pažljivo je promiješana ulijevanjem u bocu, miješanjem kako bi se izdvojila mliječna mast, koja se može lijepiti za stijenke ambalaže. Tijekom miješanja bočica se ne smije tresti, kako bi se izbjeglo stvaranje pjene. Uzorak mora biti zagrijan na 26-28°C te odmah analiziran.

3.2.1. Analize kemijskog sastava mlijeka

Analize kemijskog sastava mlijeka provedene su metodom infracrvene spektrofotometrije, a uključile su određivanje udjela: suhe tvari (ST), mliječne masti (MM), proteina (P), laktoze (L) i suhe tvari bez masti (Sbm), a sukladno normi HRN ISO 9622:2017.

3.2.2. Određivanje broja somatskih stanica (SS) i udjela diferenciranih somatskih stanica (DBSS)

Broj somatskih stanica u mlijeku određen je fluoro-opto-elektronskom metodom, na instrumentu Fossomatic 7DC (Foss Electric, Danska), prema normi HRN EN ISO 13366-2:2007. Udio diferenciranih somatskih stanica određen je prema protokolu Schwarz (2017.).

3.3. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka izvršena je u programu Python korištenjem većeg broja procedura i paketa za deskriptivnu i inferencijalnu statističku analizu. Broj somatskih i diferenciranih somatskih stanica je logaritmiran radi transformacije originalnih podataka, kako bi se osigurala normalna distribucija i primjena parametrijskih statističkih testova u inferencijalnoj statističkoj analizi.

Za analizu broja somatskih stanica, broja diferenciranih somatskih stanica te njihovog udjela u ukupnom broju somatskih stanica, korištena je univarijantna trosmjerna analiza varijance (ANOVA) s redoslijedom laktacije, stadijem laktacije i sezonom kao fiksnim kategoričkim prediktorima. Test ANOVA koristi se zbog toga što postoje 3 grupe, odnosno 3 stadija laktacije.

Odrađena je i F statistika, odnosno statistička mjera koja se koristi u analizi varijance (ANOVA), regresijskoj analizi i drugim statističkim testovima, kako bi se odredilo postoji li statistički značajna razlika između srednjih vrijednosti različitih skupina. Da bi se potvrdio zaključak da se broj somatskih stanica značajno mijenja s redoslijedom laktacije, na skupu podataka provedena je univarijantna trosmjerna analiza varijance (ANOVA). Analizirana je razlika između srednjih vrijednosti grupa u vezi s jednom zavisnom varijablom. Za procjenu statističke razlike između grupa izračunata je F statistika i određena je P vrijednost razine značajnosti 0,05.

Koeficijent korelacije mjera je linearnog odnosa između dva numerička podatka. U ovom je istraživanju korišten Pearson-ov koeficijent korelacije. Za skup podataka koji opisuju stado izračunati su koeficijenti korelacije za parove vrijednosti te su prikazani korelacijskom matricom u tablici 13.

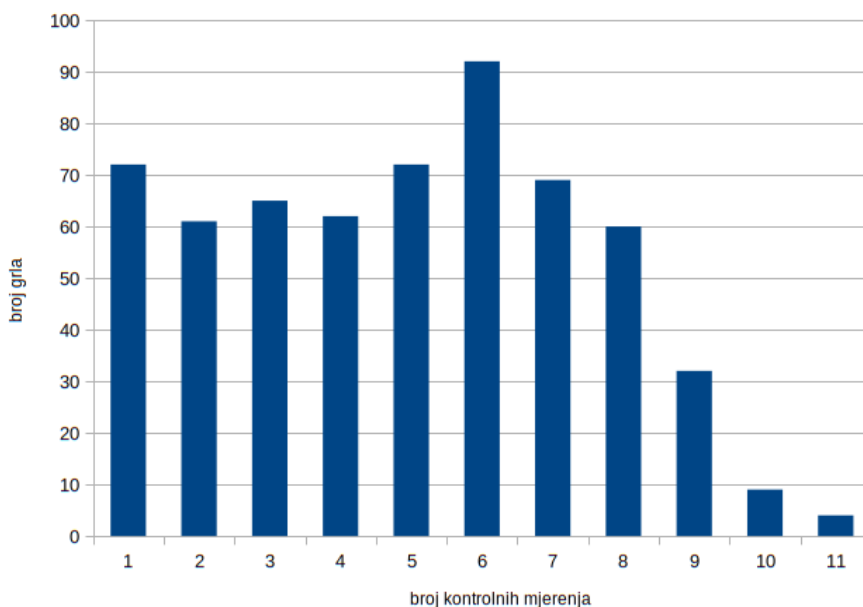
Pearsonov koeficijent korelacije ima raspon vrijednosti od -1 do 1. Koeficijent R blizu ± 1 , označava vrlo jaku linearnu povezanost između varijabli. Koeficijent R blizu nule označava nepostojanje linearnog odnosa između dvije varijable. Pozitivan koeficijent R ukazuje na povećanje dviju varijabli, dok negativan koeficijent R ukazuje na povećanje jedne varijable i smanjenje druge varijable.

Interpretacija vrijednosti R:

- Blizu 1 ili -1: visoka korelacija,
- Blizu 0: niska ili nema korelacije
- R od 0,7 do 0,9 ili -0,7 do -0,9: jaki linearni odnos ***
- R od 0,5 do 0,7 ili -0,5 do -0,7: umjeren linearni odnos **
- R ispod 0,5 ili iznad -0,5: slabi linearni odnos *

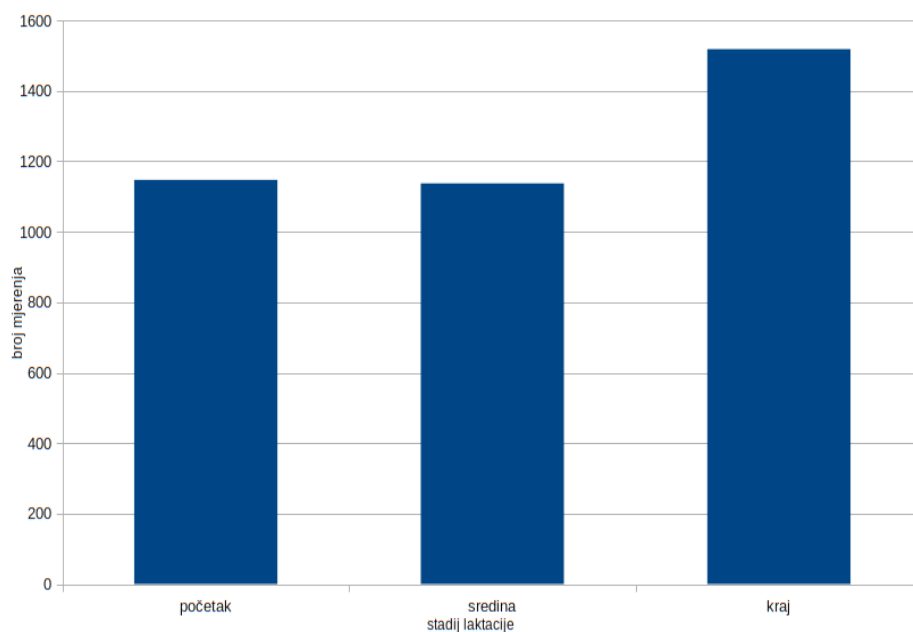
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Nakon kritičke kontrole i filtriranja podataka prema gornjim kriterijima dobiven je skup od 3.802 kontrolnih mjerenja, koja se odnose na 598 grla pasmine Holstein (u daljnjem tekstu stado). U prosjeku se na svako grlo odnosi 6,36 kontrolnih mjerenja. Razdioba broja grla i kontrolnih mjerenja je zvonolika (slika 5). Podaci su prema tome, reprezentativni za daljnju statističku obradu. Na slici 5. prikazan je broj mjerenja po grlu. Vidljivo je kako je primjerice 90 krava bilo obuhvaćeno sa 60 mjerenja. To je bilo nužno napraviti kako bi se provjerilo jesu li mjerenja raspoređena u skladu s normalnom razdiobom.



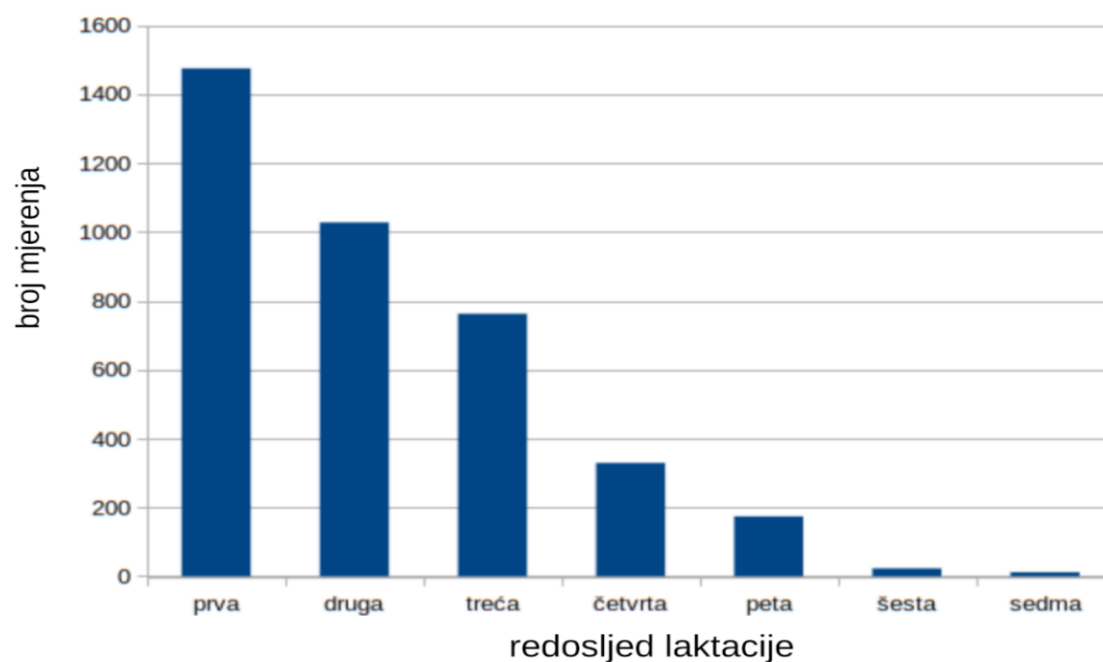
Slika 5. Broj kontrolnih mjerenja i broj grla

Na slici 6. prikazan je odnos broja kontrolnih mjerenja u odnosu na stadij laktacije. Najveći broj kontrolnih mjerenja obavljen je na kraju laktacije, ~1.518.



Slika 6. Broj mjerenja u odnosu na stadij laktacije

Broj kontrolnih mjerenja u odnosu na redoslijed laktacije prikazan je na slici 7.



Slika 7. Broj kontrolnih mjerenja u odnosu na redoslijed laktacije

Najviše kontrolnih mjerenja (> 1.400) bilo je u 1. laktaciji, zatim u 2. (> 1.000) i 3. laktaciji (< 800) a najmanje u 5., 6. i 7. laktaciji. Broj kontrolnih mjerenja smanjivao se ovisno o redoslijedu laktacije. Značajno manji broj kontrolnih mjerenja bilo je u 4. laktaciji (< 400) odnosno u 5. laktaciji (< 200), dok je u 6. i 7. laktaciji bio zanemariv. Važno je napomenuti kako je veliki broj laktacija posljedica neprekidne mužnje krava.

4.1. Kemijski sastav mlijeka

Standardnim statističkim metodama izračunate su srednje vrijednosti mjerenih parametara te standardna devijacija, minimalne i maksimalne vrijednosti te koeficijenti varijacije za dnevnu količinu mlijeka te kemijski sastav koji uključuje udio: suhe tvari, mliječne masti, proteina, laktoze, suhe tvari bez masti (tablica 2).

Tablica 2. Kemijski sastav mlijeka

	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Min	Max	CV
DKM (L)	15,49	5,45	1,70	37,70	35,18
ST (%)	13,18	1,21	5,84	18,33	9,15
MM (%)	4,26	1,00	1,50	8,72	23,47
P (%)	3,44	0,41	1,39	5,32	11,83
L (%)	4,53	0,21	2,05	5,05	4,74
Sbm (%)	8,92	0,49	4,04	10,79	5,55

DMK – dnevna količina mlijeka; ST – suha tvar; MM – udio mliječne masti; P – udio proteina; L – udio laktoze; Sbm – udio suhe tvari bez masti; Min – minimalna vrijednost; Max – maksimalna vrijednost; CV – koeficijent varijacije

Srednja vrijednost za dnevnu količinu mlijeka (DKM) iznosila je 15,49 L, dok je udio pojedinih sastojaka mlijeka bio slijedeći: suha tvar (ST) 13,18 %; mliječna mast (MM) 4,26 %; protein (P) 3,44 %; laktoza (L) 4,53 % i suha tvar bez masti (Sbm) 8,92 %. Iz podataka (tablica 2), vidljiva je velika varijabilnost u dnevnoj količini mlijeka 35,18 %, budući je najmanja dnevna količina mlijeka bila 1,7 L, a najveća 37,7 L. Za udio mliječne masti također je utvrđena velika varijabilnost (23,47 %), što potvrđuje činjenicu da je mliječna mast u odnosu na ostale sastojke najvarijabilniji sastojak mlijeka.

Što se tiče udjela proteina, laktoze i suhe tvari bez masti, standardna devijacija je bila manja od 1, što ukazuje i na manju varijabilnost. Najmanja varijabilnost utvrđena je za laktozu (4,74 %).

4.1.1. Utjecaj stadija laktacije na promjene dnevne količine mlijeka i kemijskog sastava mlijeka

Utjecaj stadija laktacije na promjenu u dnevnoj količini mlijeka i kemijskog sastava mlijeka prikazan je u tablici 3.

Tablica 3. Utjecaj stadija laktacije na promjenu dnevne količine mlijeka i kemijskog sastava mlijeka

Stadij laktacije	DKM (L)	ST (%)	MM (%)	P (%)	L (%)	Sbm (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Početak (n=1146)	19,04 ± 3,66 ^a	13,09 ± 1,19 ^b	4,35 ± 0,85 ^b	3,21 ± 0,41 ^a	4,60 ± 0,24 ^a	8,74 ± 0,52 ^a
CV (%)	19,22	9,09	19,53	12,84	5,12	5,94
Sredina (n=1137)	16,61 ± 4,65 ^b	12,99 ± 1,25 ^c	4,11 ± 0,96 ^c	3,39 ± 0,34 ^b	4,57 ± 0,190 ^b	8,89 ± 0,45 ^b
CV (%)	28,00	8,85	23,31	9,89	4,12	5,08
Kraj (n=1519)	11,98 ± 4,06 ^c	13,38 ± 1,17 ^a	4,30 ± 0,84 ^a	3,65 ± 0,41 ^c	4,47 ± 0,23 ^c	9,08 ± 0,52 ^c
CV (%)	33,86	8,73	19,55	11,19	5,12	5,72

DMK – dnevna količina mlijeka; ST – suha tvar; MM – udio mliječne masti; P – udio proteina; L – udio laktoze; Sbm – udio suhe tvari bez masti

^{a,b,c} vrijednosti unutar iste kolone koje nemaju iste oznake slova značajno se razlikuju (P<0,05)

Iz tablice 3 vidljive su promjene dnevnih količina i kemijskog sastava mlijeka tijekom laktacije. Dnevna količina mlijeka postupno se i značajno smanjivala od početnog stadija laktacije (19,04 L) prema kraju laktacije (11,98 L), što je i očekivano budući da se proizvodnja mlijeka smanjuje s napredovanjem laktacije. Dnevnu količinu mlijeka karakterizira velika varijabilnost, od 19,22 % u početnom stadiju do 33,863 % na kraju laktacije.

Udio suhe tvari na početku i na kraju laktacije gotovo identične vrijednosti (13,09 odnosno 13,38%), a minimum je sredinom laktacije (12,99 %). Udio mliječne masti slijedi isti obrazac kao i udio suhe tvari na početku i kraju laktacije su jednake vrijednosti a minimum je sredinom laktacije.

Udio proteina značajno se povećava tijekom laktacije od 3,21 do 3,65 %. U pravilu, udio laktoze ima suprotan trend kretanja u odnosu na mliječnu mast i protein, što je potvrđeno i u ovom istraživanju, budući da se udio laktoze postupno i značajno smanjivao od početnog stadija laktacije (4,60 %) prema kraju (4,47 %). Udio suhe tvari bez masti raste prema kraju laktacije, od 8,74 do 9,08%.

4.1.2. Utjecaj redoslijeda laktacije na promjene dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka

Utjecaj redoslijeda laktacije (od 1. do 7.) na promjene u dnevnoj količini mlijeka i kemijskom sastavu mlijeka prikazan je u tablici 4.

Tablica 4. Utjecaj redoslijeda laktacije na promjene dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka

Redoslijed laktacije	DKM (L)	ST (%)	MM (%)	P (%)	L (%)	Sbm (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
1. (n=1474)	13,56 ± 3,83 ^a	13,29 ± 1,16 ^c	4,29 ± 0,94 ^c	3,46 ± 0,39 ^a	4,60 ± 0,20 ^b	9,00 ± 0,48 ^a
CV (%)	28,23	8,72	21,84	11,33	4,23	5,3
2. (n=1025)	16,69 ± 5,79 ^b	13,08 ± 1,16 ^c	4,19 ± 1,04 ^c	3,43 ± 0,42 ^b	4,52 ± 0,23 ^c	8,89 ± 0,42 ^b
CV (%)	34,7	9,49	24,83	12,29	4,98	5,96
3. (n=761)	16,75 ± 6,18 ^b	13,15 ± 1,22 ^c	4,27 ± 1,04 ^c	3,44 ± 0,41 ^b	4,49 ± 0,20 ^b	8,88 ± 0,53 ^b
CV (%)	36,90	9,26	24,4	11,85	4,36	5,18
4. (n=328)	17,25 ± 6,10 ^b	13,20 ± 1,22 ^c	4,38 ± 1,33 ^b	3,41 ± 0,40 ^b	4,46 ± 0,22 ^b	8,88 ± 0,46 ^b
CV (%)	35,37	9,27	23,62	11,66	4,99	5,26
5. (n=173)	15,87 ± 5,39 ^c	13,15 ± 1,18 ^c	4,26 ± 0,96 ^c	3,43 ± 0,44 ^b	4,53 ± 0,21 ^b	8,21 ± 0,46 ^c
CV (%)	33,93	8,94	22,54	12,96	4,73	5,81
6. (n=22)	16,85 ± 6,88 ^b	13,22 ± 1,34 ^c	4,33 ± 1,11 ^c	3,42 ± 0,46 ^b	4,53 ± 0,25 ^b	8,89 ± 0,52 ^b

CV (%)	40,82	10,16	25,58	13,43	5,41	6,38
7. (n=12)	13,08 ± 4,84 ^a	13,65 ± 1,06 ^a	4,84 ± 0,75 ^a	3,36 ± 0,46 ^b	4,50 ± 0,23 ^b	8,88 ± 0,57 ^b
CV (%)	37,06	7,74	15,55	13,72	5,0	6,68

DMK – dnevna količina mlijeka; ST – suha tvar; MM – udio mliječne masti; P – udio proteina; L – udio laktoze; Sbm – udio suhe tvari bez masti

^{a,b,c}vrijednosti unutar iste kolone koje nemaju iste oznake slova značajno se razlikuju ($P < 0,05$)

Dnevna količina mlijeka se postupno i značajno povećavala od 1. laktacije (13,56 L) pa sve do 4. laktacije (17,25 L), kada je i utvrđena najveća količina mlijeka. Nakon toga, utvrđeno je postupno smanjivanje dnevne količine mlijeka sve do 7. laktacije (13,08 L). Najveće vrijednosti koeficijenta korelacije utvrđene su u 6. i 7. laktaciji (40,82 % i 37,06 %), kada je i broj krava u kontroli mliječnosti bio najmanji (22 odnosno 12).

Udio suhe tvari u mlijeku varirao je od minimalnih 13,08 % u 2. laktaciji do maksimalnih 13,65 % u 7. laktaciji, kada je i dnevna količina mlijeka bila najmanja. Varijabilnost udjela suhe tvari bila je prilično ujednačena i kretala se unutar 10 %.

Za mliječnu mast utvrđeni su znatno veći koeficijenti varijacije (od 15,55 % do 25,58 %) u odnosu na ostale sastojke mlijeka. Najmanja srednja vrijednost udjela mliječne masti od 4,19 % bila je u 2. laktaciji, a najveća od 4,84 % u 7. laktaciji kada su udjeli bili značajno veći nego u svim ostalim laktacijama. Za razliku od mliječne masti, najmanji udio proteina od 3,36 % utvrđen je u 7. laktaciji, a najveći 3,46 % u 1. laktaciji. Mlijeko je u 1. laktaciji sadržavalo značajno veći udio proteina u odnosu na sve ostale laktacije.

Raspon udjela laktoze u mlijeku varirao je od minimalnih 4,46 % do maksimalnih 4,6 %. Varijabilnost je bila u okviru do ~5 %, s prilično ujednačenim vrijednostima. Najveća vrijednost utvrđena je u 1. laktaciji a najmanja u 4. laktaciji.

Udio suhe tvari bez masti bio je značajno veći u 1. laktaciji (9,0 %) u odnosu na sve ostale laktacije. U svim laktacijama utvrđene su približno identične srednje vrijednosti, uz malu varijabilnost što potvrđuju i vrijednosti koeficijenta varijacije u rasponu od 5,18 % do 6,68 %.

4.1.3. Utjecaj sezone na promjene dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka

U tablici 5 prikazane su srednje vrijednosti dnevnih količina mlijeka i kemijskog sastava mlijeka tijekom pojedinih sezona.

Tablica 5. Promjene dnevnih količina i kemijskog sastava mlijeka tijekom pojedinih sezona

Sezona	DKM (L)	ST (%)	MM (%)	P (%)	L (%)	Sbm (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Zima (n=984)	16,41±5,91 ^a	13,43±1,19 ^b	4,48±1,02 ^a	3,47±0,41 ^a	4,55±0,21 ^a	8,95±0,49 ^a
CV	35,97	8,87	22,83	11,92	4,53	5,41
Proljeće (n=1020)	14,73±5,29 ^b	12,94±1,21 ^b	4,21±0,91 ^a	3,30±0,37 ^b	4,54±0,23 ^b	8,73±0,42 ^a
CV	35,96	9,32	21,58	11,08	5,16	6,01
Ljeto (n=855)	15,07±4,99 ^a	12,78±1,07 ^c	3,90±0,92 ^a	3,38±0,35 ^b	4,52±0,22 ^b	8,88±0,42 ^b
CV	33,08	8,36	23,63	10,38	4,77	4,77
Jesen (n=943)	15,73±5,37 ^a	13,52±1,17 ^b	4,40±1,04 ^a	3,62±0,42 ^a	4,53±0,20 ^a	9,13±0,44 ^c
CV	34,14	8,68	23,68	11,68	4,39	4,86

DMK – dnevna količina mlijeka; ST – suha tvar; MM – udio mliječne masti; P – udio proteina; L – udio laktoze; Sbm – udio suhe tvari bez masti

^{a,b,c} vrijednosti unutar iste kolone koje nemaju iste oznake slova značajno se razlikuju (P<0,05)

Najmanja dnevna količina mlijeka (14,73 L) utvrđena je u proljeće, a najveća (16,41 L) zimi. U proljeće je dnevna količina mlijeka bila značajno manja u odnosu na ostale tri sezone. Koeficijenti varijabilnosti varirali su u rasponu od 33,08 % do 35,97 %.

Najmanji udio suhe tvari u mlijeku (12,78 %) bio je ljeti, a najveći (13,52 %) u jesen. Mlijeko je ljeti također sadržavalo značajno manje suhe tvari u odnosu na ostale tri sezone. Osim suhe tvari, ljeti su utvrđeni i najmanji udjeli mliječne masti (3,90 %) i laktoze (4,42 %), dok su u jesen utvrđeni najveći udjeli mliječne masti (3,53 %) i proteina (3,28 %). Udio laktoze u mlijeku bio je prilično ujednačen što potvrđuju i niske vrijednosti koeficijenata varijacije (od 4,39 % do 5,16 %), a varirao je u rasponu od 4,52 % do 4,55 %. Mlijeko je u sezoni jesen-zima sadržavalo značajno manji udio laktoze u odnosu na sezonu proljeće-ljeto.

4.2. Somatske stanice

U tablici 6 prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije logaritmiranog broja somatskih stanica te udjela diferenciranih somatskih stanica (polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita te makrofaga).

Tablica 6. Statistički pokazatelji za logaritmirani broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica

	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Medijan
BSS (log ₁₀)	120x10 ³ 5,08	0,63	5,02
PMN + LYMF (%)	50,76	36,62	69,6
Makrofagi (%)	49,24	36,62	30,4

Iz tablice 6. vidljivo je da srednja vrijednost logaritmiranog broja somatskih stanica (log₁₀BSS) iznosi 5,08 što odgovara broju somatskih stanica od ~ 120x10³/mL. Srednja vrijednost udjela diferenciranih somatskih stanica iznosi 50,76 (za polimorfonuklearne neutrofile i limfocite) odnosno 49,24 za makrofage.

4.2.1. Broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica tijekom laktacije

Promjene u broju somatskih stanica i udjelu diferenciranih somatskih stanica tijekom laktacije prikazane su u tablici 7.

Tablica 7. Logaritmirani broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica tijekom laktacije

Stadij laktacije	BSS (log ₁₀)	PMN + LYMF (%)	Makrofagi (%)
Početak (n=1146)	4,89 ± 0,54 ^a 77 000 SS/mL	59,78 ± 28,30 ^a	40,22 ± 28,30 ^a
CV	11,09	47,34	70,37
Sredina (n=1137)	5,06 ± 0,64 ^b 114 000 SS/mL	50,43 ± 37,58 ^b	49,56 ± 37,58 ^b
CV	12,75	74,51	75,82
Kraj (n=1519)	5,22 ± 0,55 ^c 165 000 SS/mL	40,38 ± 30,69 ^c	59,62 ± 30,69 ^c
CV	10,61	76,01	51,48

^{a,b,c} vrijednosti unutar iste kolone koje imaju različite oznake slova značajno se razlikuju (P<0,05)

Na osnovu rezultata prikazanih u tablici 7. može se zaključiti da se tijekom laktacije logaritmirani broj somatskih stanica postupno i značajno povećavao, od 4,89 – što je ekvivalent 77 x 10³ početku do 5,22 na kraju laktacije. S povećanjem broja somatskih stanica smanjivao se udio polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita (od 59,78 % na 40,38 %) dok se udio makrofaga povećavao (od 40,22 % na 59,62 %).

4.2.2. Logaritmirani broj somatskih stanica i udio diferenciranih somatskih stanica zavisno o redosljedu laktacije

Promjene logaritmiranog broja somatskih stanica i udjela diferenciranih somatskih stanica u mlijeku zavisno o redosljedu laktacije prikazan je u tablici 8.

Tablica 8. Udio somatskih stanica i diferencirani broj somatskih stanica zavisno o redosljedu laktacije

Redosljed laktacije	BSS (log ₁₀)	PMN + LYMF (%)	Makrofagi (%)
1. (n=1474)	4,99 ± 0,55 ^a 97 000 SS/mL	49,16 ± 37,54	51,84 ± 37,54
2. (n=1025)	5,02 ± 0,64 ^b 104 000 SS/mL	46,83 ± 37,19	53,17 ± 37,19
3. (n=761)	5,16 ± 0,61 ^b 144 000 SS/mL	54,92 ± 33,87	45,08 ± 33,87
4. (n=328)	5,31 ± 0,71 ^b 204 000 SS/mL	60,51 ± 34,01	39,49 ± 34,01
5. (n=173)	5,09 ± 0,77 ^c 123 000 SS/mL	50,40 ± 34,15	49,60 ± 34,15
6. (n=22)	4,72 ± 0,61 ^c 52 000 SS/mL	39,79 ± 39,89	60,21 ± 39,89
7. (n=12)	4,90 ± 0,55 ^c 79 000 SS/mL	39,08 ± 40,61	60,92 ± 40,61

^{a,b,c} vrijednosti unutar iste kolone koje imaju različite oznake slova značajno se razlikuju (P<0,05)

Broj somatskih stanica varirao je u rasponu od 52 000 SS/mL u 6. laktaciji do maksimalnih 204 000 SS/mL u 4. laktaciji. U 2., 3. i 4. laktaciji broj somatskih stanica bio je značajno viši u odnosu na 1. laktaciju te 5., 6. i 7. laktaciju. Treba istaknuti da je najmanji udio PMN-a i leukocita utvrđen u 6. i 7. laktaciji u kojima je i broj somatskih stanica bio najmanji dok je udio makrofaga bio najveći. Najveći udio PMN-a i leukocita utvrđen je u 4. laktaciji u kojoj je i broj somatskih stanica bio najveći, dok je udio makrofaga bio najmanji.

4.3. Utjecaj sezone na broj somatskih stanica

U tablici 9 prikazane su srednje vrijednosti dnevnih količina mlijeka, kemijskog sastava mlijeka, logaritmiranog broja somatskih stanica i udjela polimorfonuklearnih neutrofila, limfocita i makrofaga tijekom pojedinih sezona.

Tablica 9. Logaritmirani broj somatskih stanica u mlijeku tijekom pojedinih sezona

Sezona	BSS (log ₁₀)	PMN + LYN (%)	Makrofagi (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Zima (n=984)	5,03±0,63 ^a 107 000 SS/mL	44,94±37,52	55,06±37,52
Proljeće (n=1020)	5,05±0,63 ^a 112 000 ss/mL	49,73±36,39	50,27±36,39
Ljeto (n=855)	5,20±0,62 ^b 158 000 SS/mL	58,21±34,36	41,79±34,36
Jesen (n=943)	5,06±0,60 ^c 114 000 SS/mL	51,36±36,76	48,64±36,76

^{a,b,c} vrijednosti u istoj kolon označene različitim slovima značajno se razlikuju (P<0,05)

Najmanji broj somatskih stanica zabilježen je u proljeće 112 000 SS/mL a najveći u ljeti 158 000 SS/mL. U zimi su broj somatskih stanica i udio polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita bili najmanji (44,94 %), dok je udio makrofaga bio najveći (~ 55 %). Najveći broj somatskih stanica i udio polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita utvrđen je ljeti, kada je udio makrofaga bio najmanji (~ 42 %).

Tablica 10. Broj somatskih stanica

	BSS (do 200 x 10 ³ /mL)	BSS (>200 x 10 ³ /mL)
n	2.540	1.254
(%)	67	33

Iz tablice 10. vidljivo je da je 67 % analiziranih uzoraka sadržavalo manje od 200x10³ somatskih stanica/mL, a 33 % više od 200x10³ SS/mL. Podjela je načinjena budući da se radi o individualnim uzorcima mlijeka za koje je već definirana granična vrijednost 200x10³/mL za grla sa zdravom mliječnom žlijezdom odnosno više od 200x10³/mL za grla s mogućom infekcijom mliječne žlijezde.

U tablici 11. prikazane su srednje vrijednosti za dnevnu količinu mlijeka, kemijski sastav mlijeka te logaritmirani broj somatskih stanica ovisno o razredu s različitim brojem somatskih stanica.

Tablica 11. Promjene dnevnih količina mlijeka, kemijskog sastava i broja somatskih stanica u mlijeku

SCC (x10³)	DKM (L)	ST (%)	MM (%)	P (%)	L (%)	SBM (%)
x 10³/mL	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
<200	16,14 ± 5,27	13,18 ± 1,23	4,25 ± 1,03	3,41 ± 0,40	4,57 ± 0,20	8,92 ± 0,49
201 - 400	13,99 ± 5,63	13,30 ± 1,16	4,33 ± 0,93	3,52 ± 0,42	4,49 ± 0,23	8,96 ± 0,51
401 - 1.000	15,28 ± 5,42	13,25 ± 1,13	4,30 ± 0,92	3,46 ± 0,40	4,55 ± 0,19	8,95 ± 0,47
>1.000	14,51 ± 5,49	13,01 ± 1,17	4,19 ± 0,98	3,48 ± 0,40	4,40 ± 0,21	8,82 ± 0,49

DMK – dnevna količina mlijeka; ST – suha tvar; MM – udio mliječne masti; P – udio proteina; L – udio laktoze; Sbm – udio suhe tvari bez masti

Na osnovu rezultata prikazanih u tablici 11, proizlazi da je najveća dnevna količina mlijeka (16,14 L) utvrđena u razredu u kojem je mlijeko sadržavalo manje od 200x10³ somatskih stanica/mL. I za pojedine sastojke mlijeka (suha tvar, mliječna mast, protein, laktoza, suha tvar bez masti), utvrđeni su najveći udjeli u razredu u kojem je mlijeko sadržavalo od 200-400x10³ somatskih stanica/mL.

4.4. Koeficijenti korelacija između pojedinih parametara

U tablici 12. prikazani su koeficijenti korelacija između pojedinih parametara.

Tablica 12. Koeficijenti korelacija između dnevne količine mlijeka, pojedinih sastojaka kemijskog sastava mlijeka te logaritmiranog broja somatskih stanica

	DKM (L)	ST (%)	MM (%)	P (%)	L (%)	SBM (%)	BSS (log10)	PMN + LYMF	MAKROFAGI
DKM (L)	1,00								
ST (%)	-0,21 *	1,00							
MM (%)	-0,08 *	0,92 ***	1,00						
P (%)	-0,50 **	0,60 **	0,30 *	1,00					
L (%)	0,23 *	0,13 *	-0,04 *	-0,09 *	1,00				
SBM (%)	-0,34 *	0,59 **	0,21 *	0,86 ***	0,40 *	1,00			
BSS (log10)	0,23 *	0,02 *	0,02 *	0,17 *	0,32 *	0,01 *	1,00		
PMN + LYMF	-0,19 *	0,02 *	0,01 *	0,13 *	-0,21 *	0,03 *	0,80 **	1,00	
MAKROFAGI	0,19 *	-0,02 *	-0,01 *	-0,13 *	0,21 *	-0,03 *	-0,80 **	-1,00	1,00

DMK – dnevna količina mlijeka; ST – suha tvar; MM – udio mliječne masti; P – udio proteina; L – udio laktoze; Sbm – udio suhe tvari bez masti; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001

Na osnovu prikazanih koeficijenata korelacije (tablica 12), može se zaključiti da je jaka korelacija utvrđena između udjela suhe tvari i mliječne masti (0,92) te između udjela proteina i suhe tvari bez masti (0,86). Utvrđena je značajna korelacija između broja somatskih stanica te polimorfonuklearnih stanica i limfocita. Također je zanimljiv utjecaj povećanja broja somatskih stanica na udio makrofaga. Naime povećani broj somatskih stanica smanjuje broj makrofaga u mlijeku.

Umjereni koeficijenti korelacije utvrđeni su između udjela suhe tvari i udjela proteina (0,60) odnosno udjela suhe tvari bez masti (0,59), dok je negativni koeficijent korelacije bio između dnevne količine mlijeka i udjela proteina (-0,50).

Slabi odnos i negativni koeficijenti korelacija utvrđeni su između dnevne količine mlijeka i: suhe tvari (-0,21) odnosno suhe tvari bez masti (-0,34), dok su pozitivni koeficijenti korelacija utvrđeni između dnevne količine mlijeka i: udjela laktoze (0,23) odnosno logaritmiranog broja somatskih stanica.

5. RASPRAVA

Na proizvodnju mlijeka, sastav i kvalitetu mlijeka utječu brojni čimbenici, a uključuju pasminu, dob životinje, stadij i redosljed laktacije, učestalost mužnje, doba godine, sustav hranidbe i sastav obroka. Ovim istraživanjem utvrđena srednja vrijednost za dnevnu količinu mlijeka Holstein krava iznosila je 15,49 L. Za istu pasminu krava na jugu Brazila Bondan i sur. (2018.) navode veću dnevnu količinu mlijeka (25,5 L), koja je procijenjena višestrukom regresijom.

Na dnevnu količinu mlijeka značajan utjecaj imali su stadij i redosljed laktacije te sezona. Najveća dnevna količina mlijeka utvrđena je od 1.-100. dana laktacije (19,04 L), te se postupno smanjivala prema kraju laktacije (11,98 L). Lambertz i sur. (2014.) su također najveće količine mlijeka utvrdili u prvih 100 dana laktacije, uz postupno smanjivanje sve do zasušenja.

Najmanja dnevna količina mlijeka utvrđena je u 1. laktaciji (13,56 L) i postupno se povećavala sve do 4. laktacije kada je zabilježena najveća dnevna količina mlijeka (17,25 L) te se postupno smanjivala sve do 7. laktacije. Ludwiczuk i sur., cit. Weglarz i sur. (2008.) također su najveću dnevnu količinu mlijeka utvrdili od 4. do 7. laktacije, a Čardak (2016.) do 6. godine. Značajan utjecaj stadija i redosljeda laktacije na količinu mlijeka i nižu mliječnost krava u 1. laktaciji u odnosu na 2. laktaciju, navodi Čardak (2016.), uz obrazloženje da se tijekom vremena povećava tjelesna masa krava te završava razvoj tkiva vimena. Utjecaj sezone bio je također značajan te je u proljeće dnevna količina mlijeka bila značajno manja u odnosu na ostala 3 godišnja doba, dok je najveća dnevna količina mlijeka utvrđena u zimskom razdoblju. Suprotno tim navodima, Borkowska i sur., cit. Weglarz i sur. (2008.), Stenzel i sur., 2001., Frelick i sur., cit. Weglarz i sur. (2008.), su veću mliječnost i to za 15 % utvrdili u ljetnim mjesecima u odnosu na zimu tj. u sezoni kada krave borave na paši.

Stadij laktacije u značajnoj mjeri utjecao je na promjene kemijskog sastava mlijeka. Početkom laktacije mlijeko Holstein krava sadržavalo je najmanji udio suhe tvari, mliječne masti, proteina i suhe tvari bez masti, dok je udio laktoze bio najveći. Krajem laktacije utvrđeni su najveći udjeli suhe tvari, mliječne masti, proteina i suhe tvari bez masti. Razlike su bile značajne. Auldist i sur. (1998.) su također niži udio laktoze i posljedično tome nižu mliječnost utvrdili krajem laktacije, dok su udjeli mliječne masti i proteina u mlijeku bili najveći nakon 220.-og dana laktacije. Čardak (2016.) također navodi povećanje udjela mliječne masti u mlijeku odmicanjem laktacije, pri čemu je najveći udio utvrđen krajem laktacije.

U mlijeku je na početku laktacije utvrđeno 3,21 % proteina, a na kraju laktacije značajno više 3,64 % te je razlika iznosila 0,43 %. Richardt, cit. Ćardak (2016.) je izvijestio da razlika između udjelu proteina u mlijeku u prvih 100 dana i posljednjih 100 dana laktacije može najviše iznositi 0,5-0,6 %.

Udio pojedinih sastojaka mlijeka, prije svega mliječne masti i proteina utvrđenog ovim istraživanjem, bio je vrlo sličan vrijednostima koje Ribas i sur., cit. Bondan i sur. (2018.) navode. Isti autori navode znatno niži udio suhe tvari, mliječne masti, proteina i laktoze u mlijeku proizvedenom u državama Santa Catarine, Parana i Sao Paulo (Brazil) od vrijednosti utvrđenih ovim istraživanjem. Vrlo je važan omjer mliječne masti i proteina u mlijeku, koji mora biti u rasponu između $>1,1$ i $<1,5$, a optimalna vrijednost je 1,2 (Richardt, cit. Ćardak, 2016.).

Najmanji udjeli suhe tvari i mliječne masti u mlijeku utvrđeni su u 2. laktaciji dok su najveći udjeli zabilježeni u 7. laktaciji. Suprotno tome, najveći udjeli proteina, laktoze i suhe tvari bez masti, utvrđeni su u 1. laktaciji dok su najmanji udjeli bili za protein u 7. laktaciji odnosno u 4. i 5. laktaciji za laktozu i suhu tvar bez masti. Pojedini autori (Czaplicka i sur., cit. Węglarz i sur. (2008.)), navode smanjenje mliječnosti i a obrnuto proporcionalno povećanje mliječne masti, proteina, laktoze i ukupne suhe tvari s povećanjem dobi krave. Ludwiczuk i sur. (2001.) navode da su promjene u mliječnosti, te udjelu mliječne masti i proteina tijekom laktacije bile sukladne s onima koje se očekuju od karakterističnih laktacijskih krivulja za pojedine sastojke mlijeka.

Istraživanjem utvrđen značajan utjecaj sezone (godišnjeg doba) na promjene kemijskog sastava mlijeka. Udio suhe tvari bio je u ljetnim mjesecima značajno niži u odnosu na ostale tri sezone. Mlijeko je najviše suhe tvari sadržavalo u jesen. Najmanji udio mliječne masti u mlijeku utvrđen je također ljeti, a najveći zimi. Razlike između sezona za sadržaj mliječne masti nisu bile značajne. Najmanji udio proteina u mlijeku bio je u proljeće, a značajno veći u jesen. Uobičajeno je da mlijeko u određenim sezonama bilježi ujednačeni trend kretanja mliječne masti i proteina, međutim u ovom istraživanju to nije bio slučaj. Najveći udio mliječne masti utvrđen je u zimi dok je najveći udio proteina zabilježen u jesen. Također o najvećem udjelu mliječne masti i proteina u mlijeku u jesenskim i zimskim mjesecima, izvještavaju Weiss i sur. (2002.). Autori dalje navode da smanjenje količine mlijeka u jesen može povećati udio mliječne masti i proteina, zbog učinka koncentracije. Udio laktoze u mlijeku bio je prilično ujednačen tako da su rasponi srednjih vrijednosti u pojedinim sezonama varirale od 4,52 % (ljetno) do 4,55 % (zima). Noro i sur., cit. Bondan i sur. (2018.) su također najveći udio laktoze u mlijeku i najveću količinu mlijeka utvrdili u zimskim mjesecima, kao posljedica hranidbe krava s kvalitetnijim travama, boljom opskrbljenosti s energijom i proteinima. U jesen je udio suhe tvari bez masti bio značajno viši u odnosu na ostale tri sezone.

Na osnovu rezultata može se zaključiti da je u jesen utvrđen najveći udio suhe tvari, proteina i suhe tvari bez masti dok je u zimi udio mliječne masti i laktoze bio najveći. Heck i sur. (2009.) navode da su varijacije sastava mlijeka u Nizozemskoj rezultat utjecaja sezone. Sukladno rezultatima ovoga istraživanja, mliječna mast je varirala u najvećoj mjeri, zatim slijede proteini dok je laktoza varirala u najmanjoj mjeri. Smanjenje udjela mliječne masti u mlijeku tijekom ljeta Heck i sur. (2009.) pripisuju hranidbi temeljenoj na svježoj travi. Toplinski stres u ljetnim mjesecima također nepovoljno utječe na količinu i kemijski sastav mlijeka. Lambertz i sur. (2014.) su zaključili da krave pod termičkim stresom ljeti proizvode manju količinu mlijeka s manjim udjelom mliječne masti i proteina i s povećanim brojem somatskih stanica.

Postoji mnogo čimbenika koji utječu na broj somatskih stanica u mlijeku na razini stada. Sposobnost ispravnog tumačenja broja somatskih stanica ovisi o razumijevanju čimbenika koji mogu utjecati na njihov broj. Infekcija vimena je najvažniji čimbenik koji utječe na broj somatskih stanica u mlijeku (Dohoo i Meek, 1982.; Vissio i sur., 2018.). Primjerice, prosječan broj somatskih stanica u skupnom mlijeku raste s povećanjem broja zaraženih četvrti (Meeketal, 1980.). Isto tako, broj somatskih stanica u mlijeku povećava se s napredovanjem laktacije, bez obzira na to da li je krava zaražena ili nije (Malik i sur., 2018.) U pravilu je u vrijeme partusa broj somatskih stanica $>10^6$ /mL koji se zatim smanjuje na 10^5 /mL u 7-10 dana nakon partusa (Malik i sur., 2018.).

U ovom istraživanju broj somatskih stanica u mlijeku postupno se i značajno povećavao tijekom laktacije, od početka laktacije kada je iznosio 77 000 ss/mL prema njenom kraju kada je iznosio 165 000 ss/mL. Sawa i sur., cit. Weglarz i sur. (2008.) također navode tendenciju povećanja broja somatskih stanica tijekom stadija laktacije. Također, Guliński i sur. (2003) navode vrlo značajan utjecaj stadija laktacije na broj somatskih stanica u mlijeku, tj. od 68.000 do 1.349.000 stanica/mL. Nasuprot tome, Turki i sur. (2001.) nisu utvrdili značajnu povezanost između stadija laktacije i broja somatskih stanica u mlijeku. Relativno visok broj somatskih stanica procijenjen u njihovom istraživanju autori pripisuju lošim i neprikladnim higijenskim uvjetima tijekom prikupljanja mlijeka i lošem zdravstvenom stanju mliječne žlijezde. Upala mliječne žlijezde glavni je uzrok manje količine i smanjene kvalitete mlijeka, što se očituje u nepovoljnim promjenama kemijskog sastava, fizikalno-kemijskih svojstava te nižoj hranjivoj vrijednosti mlijeka. Stoga, uz redovito kontrolu i praćenje krava te preventivu vimena, autori preporučuju redoviti pregled mliječne žlijezde. Istraživanjem je utvrđeno postotno smanjenje limfocita dok se udio neutrofila veći na početku i na kraju laktacije.

Broj somatskih stanica u mlijeku postupno se povećavao od 1. (97 000 ss/mL) do 4. laktacije, kada je broj dostigao maksimalnu vrijednost 204 000 ss/mL, nakon čega je zabilježeno postupno

smanjivanje broja sve do minimalne vrijednosti 52 000 ss/mL. Ludwiczuk i sur., cir. Weglarz i sur. (2008) su također utvrdili značajno povećanje broja somatskih stanica u uzastopnim laktacijama, počevši od 1. pa sve do 3. laktacije. Također, Guliński i sur. (2003.) navode da je dob krave značajno utjecala na broj somatskih stanica u mlijeku. Naime, ističu najveći broj somatskih stanica u mlijeku krava od 6. do 9. laktacije u kojoj je vrijednost bila tri puta veća nego kod prvotelki, kod kojih je broj somatskih stanica bio najmanji. Czaplicka i sur., cit. Weglarz i sur., (2008.) navode najmanji broj somatskih stanica u 2. laktaciji dok su u 1. i 3. vrijednosti bile neznatno veće. Istraživanja koja su proveli Rupp i sur. (2000), ukazuju da su krave s manjim brojem somatskih stanica u 1. laktaciji bile pod manjim rizikom pojave kliničkog mastitisa u 2. laktaciji te predlažu u programima uzgoja odabir krava sa što manjim brojem somatskih stanica.

O varijacijama broja somatskih stanica u mlijeku krava tijekom sezona detaljno su izvijestili brojni autori (Summer i sur., 2007; Cicconi-Hogan i sur., 2013.). Navodi autora o utjecaju sezone (godišnjeg doba) na broj somatskih stanica u mlijeku su različiti i često puta kontradiktorni. Najveći broj somatskih stanica u mlijeku holstein krava utvrđen u ovom istraživanju bio je u ljetnim mjesecima (158 000 ss/mL) dok je u ostale tri sezone bio značajno manji. Općenito se može zaključiti da je broj somatskih stanica najveći tijekom ljetnih mjeseci, a najmanji u zimskim mjesecima (Khate i Yadav, 2010.; Bombade i sur., 2017.).

Ribarić i sur. (2012.) također navode značajno veći broj somatskih stanica ljeti u odnosu na zimu i proljeće, kada je utvrđen i najmanji broj uz najmanje varijacije. Brzowski i sur. (1999.), Norman i sur. (2000.) te Malinowski i sur. (2001.) su također u ljetnim mjesecima utvrdili veći broj somatskih stanica u odnosu na ostale tri sezone. Visoke temperature u ljetnim mjesecima i povećana vlažnost zraka u jesenskim mjesecima izazivaju povećanu sklonost prema infekcijama vimena što prema navodima Rice i Bodman, cit. Pizarro i sur. (2004.). ima značajan utjecaj na povećanje broja somatskih stanica. Dakić i sur. (2006.) navode da je najveći broj somatskih stanica u ljetnim i posebno zimskim mjesecima prvenstveno uvjetovan stresnim faktorom te velikom vlažnosti zraka i visokih temperatura ljeti odnosno niskih temperatura zimi. Zbog veće izloženosti vimena infekcijama iz okoline te učestalije pojave kliničkog mastitisa uzrokovanog s različitim mikroorganizmima, Reneau (1986.) te Wells i Ott (1998.) su najveći broj somatskih stanica u mlijeku utvrdili u ljetnim mjesecima. Tijekom srpnja i kolovoza Memiši i sur. (2011.) navode smanjenu konzumaciju hrane zbog visokih dnevnih temperatura i stresnog faktora što je rezultiralo najvećim brojem somatskih stanica u mlijeku. Suprotno tome, Skrzypek i sur. (2004.) su u ljetnim mjesecima utvrdili manji broj somatskih stanica u mlijeku što dovode u vezu s kvalitetnijom hranidbom, boljom kondicijom i većom

otpornošću. Allore i sur. (1997.) pak su utvrdili da je broj somatskih stanica u mlijeku bio znatno veći u proljeće nego u jesen. Istraživanja su pokazala da variranja broja somatskih stanica u mlijeku dobivenom od dvije uzastopne mužnje, od iste krave, mogu iznositi i do 30%.

Zaključno se može utvrditi da su ljeto i zima sezone s najvećim varijacijama budući su to razdoblja s ekstremnim temperaturama što stresno djeluje na organizam, uslijed čega se povećava broj somatskih stanica.

Somatske stanice su pokazatelji otpornosti i osjetljivosti krava na mastitis i mogu se koristiti za praćenje razine ili pojave subkliničkog mastitisa u stadima ili kod pojedinačnih krava. Sastoje se od 75-85 % leukocita (makrofaga, polimorfonuklearnih neutrofila, limfocita) i 15-25 % epitelnih stanica (Barrett, 2002.). U zdravom vimenu broj somatskih stanica je gotovo konstantan, iznimka je prvi tjedan nakon poroda (Miller i sur., 2004.). Međutim, kada je vime zaraženo, rezidualne somatske stanice obaviještavaju bijele krvne stanice u krvotoku pa masivno dolazi do povećanja polimorfonuklearnih neutrofilnih stanica u mlijeko (Shuster i sur., cit. Malik i sur., 2018.). Ove stanice uništavaju bakterije, a kada se infekcija eliminira broj stanica u mlijeku se vraća u normalu. Mlijeko iz zdrave mliječne žlijezde sadrži manje od 10^5 stanica/mL, dok bakterijska infekcija može uzrokovati povećanje do iznad 10^6 stanica/mL (Bytygi i sur., 2010.). Povećanje iznad 200×10^3 stanica/mL znak je mastitisa (Harmon, 2001.).

Niži broj somatskih stanica a povišen broj diferenciranih somatskih stanica u mlijeku mliječnih krava pokazatelji su da je riječ o upali mliječne žlijezde. Kod zdravih krava s niskim brojem somatskih stanica dominiraju makrofagi i limfociti. Povišen broj diferenciranih somatskih stanica, odnosno PMN pokazatelji su akutne upale vimena. Povišen broj somatskih stanica i viši udio makrofaga pokazatelji su kroničnog mastitisa. Niski udio broja somatskih stanica i viši udio PMN rani su znak infekcije te označavaju početak obrambene reakcije u organizmu.

Razlikovanje somatskih stanica je ključno za identifikaciju upalnih procesa u vimenu, što je od velike važnosti. Čak i kod niskih vrijednosti ukupnog broja somatskih stanica, različitost ovih stanica omogućuje sumnju na prisutnost kroničnog ili akutnog mastitisa. Informacije o specifičnim somatskim stanicama omogućuju vlasnicima krava da započnu pravovremenu prevenciju i liječenje.

Kada patogeni mikroorganizmi prodiru kroz sisni kanal u vime, leukociti djeluju sinergički kako bi eliminirali te mikroorganizme. Makrofagi prvi reagiraju i izlučuju citokine kako bi upozorili PMN leukocite da im je potrebna pomoć, što rezultira njihovim brzim priljevom u vime. Brzina dolaska PMN leukocita u vime ključna je za suzbijanje mastitisa. U početnim fazama infekcije, PMN leukociti su najbrojniji, čineći 90% svih leukocita.

Tablica 13. Udjeli logaritmiranog broja somatskih stanica, polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita te makrofaga u mlijeku tijekom stadija laktacije, redoslijeda laktacije i sezona

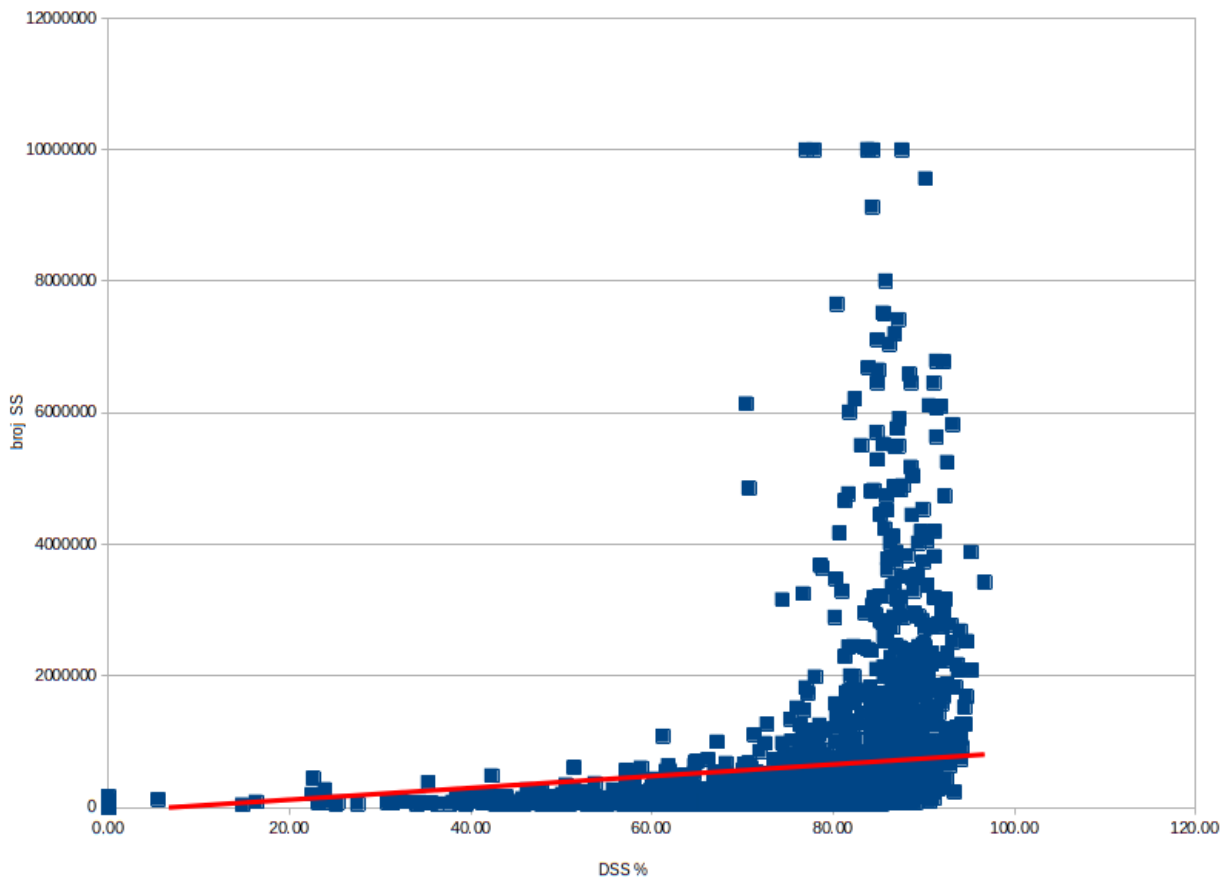
UTJECAJ	LAKTACIJA/SEZONA	BSS _{log}	PMN + LYMF	MAKROFAGI
Stadij	POČETAK LAKTACIJE	MIN.	MAX.	MIN.
	KRAJ LAKTACIJE	MAX.	MIN.	MAX.
Redoslijed	4. LAKTACIJA	MAX.	MAX.	MIN.
	6. i 7. LAKTACIJA	MIN.	MIN.	MAX.
Sezona	LJETO	MAX.	MAX.	MIN.
	ZIMA	MIN.	MIN.	MAX.

Na početku laktacije, u 6. i 7. laktaciji te zimi vrijednosti logaritmiranog broja somatskih stanica bile najmanje kao i udjeli polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita, dok je udio makrofaga bio najveći.

Krajem laktacije, u 4. laktaciji te ljeti vrijednosti logaritmiranog broja somatskih stanica bile su najveće kao i udjeli polimorfonuklearnih neutrofila i limfocita, dok je udio makrofaga bio najmanji.

Udjeli diferenciranih somatskih stanica variraju u niskom rasponu broja somatskih stanica, ali se povećavaju s povećanjem broja somatskih stanica (Damm et al., 2017.). Pretpostavlja se da su povišeni rezultati diferenciranog udjela somatskih stanica povezani s prisutnošću intramamarne infekcije (Schwarz i sur., 2011a i b; Pilla i sur., 2012; Damm i sur., 2017). Niži broj somatskih stanica a povišen broj diferenciranih somatskih stanica pokazatelji su da se kod mliječnih krava događa upalni proces, odnosno da je mliječna žlijezda upaljena. Što se tiče omjera tipova diferenciranih somatskih stanica kod zdravih krava s niskim brojem somatskih stanica prevladavaju makrofagi i limfociti. Povišen broj diferenciranih somatskih stanica odnosno polimorfonuklearnih neutrofila pokazatelj je akutne upale vimena. Ukoliko se radi o povišenim udjelu broja somatskih stanica i povišenom udjelu makrofaga može se zaključiti da je riječ o kroničnoj upali mliječne žlijezde. S druge strane, nizak broj somatskih stanica s povećanim udjelom PMN leukocita označava početak upale, odnosno rani su znak infekcije. Kada patogeni mikroorganizmi prodru u sisni kanal leukociti su ti koji djeluju kako bi ih eliminirali. Makrofagi prvi reagiraju izlučivanjem citokina kako bi upozorili PMN leukocite koji potom ulaze iz krvi u vime. Brzina njihovog dolaska u vime ključna je za suzbijanje mastitisa. U početnim fazama infekcije njihov je broj najveći – čine čak 90% svih leukocita.

Za identifikaciju upalnih procesa u vimenu važno je razlikovanje somatskih stanica. Različiti tipovi i udjeli diferenciranih somatskih stanica čak i uslijed niskih vrijednosti mogu uzgajivačima ukazati na upalne procese, no ne samo to već se takvim ranim otkrivanjem može detektirati radi li se o kroničnoj ili akutnoj upali. Takvom ranom detekcijom upale može se i ranije intervenirati što poboljšava izgleda i tijek liječenja a samim time smanjuje i njegove troškove.



Graf 1. Odnos broja somatskih stanica i udjela diferenciranih somatskih stanica

Graf prikazuje odnos između broja somatskih stanica te udio diferenciranih somatskih stanica. Što je veći broj somatskih stanica tako se povećava i udio diferenciranih somatskih stanica.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata o utjecaju stadija i redosljeda laktacije te sezone na snevnu količinu mlijeka i promjena njegova kemijskog sastava te povezanosti broja somatskih i diferenciranih somatskih stanica; moguće je zaključiti:

1. Krajem laktacije utvrđen je najveći broj somatskih stanica a tada je i udio diferenciranih somatskih stanica bio najveći i to PMN + LYMF
2. Redosljed laktacije utjecao je na dnevnu količinu mlijeka također i na kemijski sastav. Količina mlijeka se povećavala prema 4. laktaciji a potom se smanjivala prateći tijek laktacijske krivulje dok se udio svih sastojaka mlijeka smanjivao u višim laktacijama, osim laktoze čiji se udio povećavao. U prve 4 laktacije broj somatskih stanica postepeno se povećavao a udio somatskih se također mijenjao i to na način da se udio PMN + LYMF povećavao do 4. laktacije a onda se smanjivao. Udio makrofaga ponašao se obrnuto.
3. Broj somatskih stanica najveći je tijekom ljetnih mjeseci a najmanji u zimskom periodu. Sezona utječe i na kemijski sastav mlijeka, udio suhe tvari najmanji je i značajno niži u ljetnim mjesecima.

7. POPIS LITERATURE

Alhussien M., Dang A.K. (2018.). Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects and practical utility in dairy animals. *Veterinary World*. 11, 562-557. doi: 10.14202/vetworld.2018.562-577

Allore H.G., Oltenacu P.A., Erb H.N. (1997.). Effects of season, herd size and geographic region on the composition and quality of milk in the Northeast. *Journal of Dairy Science*. 80, 3040-3049. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(97)76271-4

Antunac N., Lukač J., Havranek J. (1997.). Somatske stanice i njihov utjecaj na kakvoću i preradu mlijeka. *Mljekarstvo*. 47/3.

Auldism M.J., Walsh B.J., Thomson N.A. (1998.). Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *Journal of Dairy Research*. 65, 401-411. doi:10.1017/s0022029998002970

Barrett D. (2002.). High somatic cell counts - a persistent problem. *Irish Veterinary Journal*. 55 (4): 173-178.

Benić M., Habrun B., Kompes G., Mihaljević Z., Cergolj M., Cvetnić Z., Mačević N. (2012.). Cell content in milk from cows with *Staphylococcus aureus* intramammary infection. *Veterinarski Arhiv*. 82 (5), 411–422.

Bombade K., Kamboj A., Alhussien M.N., Mohanty A.K., Dang A.K. (2017.). Diurnal variation of milk somatic and differential leukocyte counts of Murrah buffaloes as influenced by different milk fractions, seasons and parities. *Biological Rhythm Research*. 49 (1), 151-163. <https://doi.org/10.1080/09291016.2017.1345472>

Bondan C., Aneris J., Noro M., Lazari Quadros D., Martini Machado K., Hilario Diaz Gonzalez F. (2018.). Milk composition of Holstein cows: a retrospective study. *Animal Production*. 48 (12), (broj stranica). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180123>.

Brzowski P., Ludwiczuk K., Zdziarski K. (1999.). Somatic cell count in milk cows covered with milk recording system in central region of Poland. *Animal Production Review of Polish Society of Animal Production*. 44, 83-90.

Burvenich C., van M.V, Mehrzad J., Diez-Fraile A., Duchateau L. (2003.). Severity of *Escherichia coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research*. 34 (5), 521–564. doi: 10.1051/vetres:2003023

Bytyqi H., Zaugg U., Sherifi K., Hamidi A., Gjonbalaj M., Muji S., Mehmeti H. (2010.). Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw cow milk in Kosova. *Veterinarski Arhiv*. 80 (2), 173-183.

Çardak A.D. (2016.). Effects of Somatic Cell Count, Parity and Lactation Stage on Yield and Components of Milk in Holstein-Friesian Cows. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5 (1), 34-39.

Cicconi-Hogan K.M., Gamroth M., Richert R., Ruegg P.L., Stiglbauer K.E., Schukken, Y.H. (2013.). Associations of risk factors with somatic cell count in bulk tank milk on organic and conventional dairy farms in the United States. *Journal of Dairy Science*. 96 (6), 3689-3702. doi: 10.3168/jds.2012-6271

Cinar M., Serbest U., Ceyhan A., Gorgulu M. (2015.). Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*. 14 (1), <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3646>

Dakić A., Pintiç N., Poljak F., Novosel A., Stručić D., Jelen T., Pintiç V. (2006.). Utjecaj godišnjeg doba na broj somatskih stanica u kravljem mlijeku isporučenom za tržište. *Stočarstvo*. 60 (1), 35-39.

Damm M., Holm C., Blaabjerg M., Novak Bro M., Schwarz D. (2017.). Differential somatic cell count – a novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. *Journal of Dairy Science*. 100, 4926–4940. doi:10.3168/jds.2016-12409

De Matteis G., Grandoni F., Scatà M.C., Catillo G., Moioli B., Buttazzoni L. (2020.). Flow Cytometry-Detected Immunological Markers and on Farm Recorded Parameters in Composite Cow Milk as Related to Udder Health Status. *Veterinary Science*. 7, 114. doi: 10.3390/vetsci7030114

Dohoo I.R., Meek A.H. (1982.). Somatic cell counts in bovine milk. *Canadian Veterinary Journal*. 23 (4), 119-125.

Geary U., Lopez-Villalobos N., Begley N., McCoy F., O'brien B., O'grady L., Shalloo L. (2012.). Estimating the effect of mastitis on the profitability of Irish dairy farms. *Journal of Dairy Science*. 95 (7), 3662-3673. <http://doi.org/10.3168/jds.2011-4863>

Guliński P., Dobrogowska E., Niedziałek G., Mróz B. (2003). Attempt to determine the relations between somatic cell count and chosen milk performance traits of cows (in Polish). *Scientific Annals of Polish Society of Animal Production*. 69, 101-109.

Hamann J., Reichmuth J. (1990.). Compensatory milk production within the bovine udder: effects of short-term non-milking of single quarters. *Journal of dairy research*, 1/57, 17-22. doi <https://doi.org/10.1017/S002202990002656X>

Harmon R. (2001.). Somatic cell counts: A primer. *Agricultural and Food Sciences*. In: Annual Meeting-National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. Incorporated 40, 3-9.

Havranek J., Rupiç V. (2003.). Mlijeko od farme do mljekare. *Hrvatska mljekarska udruga*, Zagreb.

Heck J.M., van Valenberg H.J.F., Dijkstra J., van Hooijdonk A.C.M. (2009.). Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *Journal of Dairy Science*. 92, 4745-4755. doi: 10.3168/jds.2009-2146.

HRN ISO 9622 (2017.). Mlijeko i tekući mliječni proizvodi - Smjernice za primjenu infracrvene spektrometrije u srednjem infracrvenom području. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO 13366-2 (2007.). Mlijeko - Brojenje somatskih stanica - 2. dio: Upute za rad s fluoro-optoelektroničkim brojačima. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

ICAR (2022.). The International Committee for Animal Recording. The Global Standards for Livestock Data. Section 2-Guideliness for Dairy Cattle Milk Recording. 1-29. The Netherlands.

Kelly A.L. (2002.): Test methods and standards. Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press. Vol 3., 1995 – 2002.

Kelly A.L. (2011.). Test methods and standards. Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press. Vol 3., 2nd Edition. 894-901. Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-374407-4.00353-8

Khate K., Yadav B.R. (2010.). Incidence of mastitis in Sahiwal cattle and Murrah buffaloes of a closed organized herd. Indian Journal of Animal Science. 80 (5), 467-469.

Kirkeby C., Toft N., Schwarz D., Farre M., Nielsen S.S., Zervens L., Hechinger S., Halasa T. (2019.). Differential somatic cell count as an additional indicator for intramammary infections in dairy cows. Journal of Dairy Science. 103, 1759–1775. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16523>

Koess C., Hamann J. (2008.). Detection of Mastitis in the Bovine Mammary Gland by Flow Cytometry at Early Stages. Journal of Dairy Research. 75, 225–232. doi: 10.1017/S0022029908003245

Lambertz C., Sanker C., Gauly M. (2014.). Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. Journal of Dairy Science. 97, 319-329. doi: 10.3168 / jds.2013-7217.

Li N., Richoux R., Boutinaud M., Martin P., Gagnaire V. (2014.). Role of somatic cells on dairy processes and products. Dairy Science & Technology. 94, 517-538. doi: 10.1007/s13594-014-0176-3

Lindmark-Mansson H., Bränning C., Alden G., Paulsson M. (2006.). Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. International Dairy Journal. 16 (7), 717-727. doi: 10.1016/j.idairyj.2005.07.003

Ludwiczuk K., Brzozowski P., Zdziarski K. (2001.). The influence of selected factors on milk yield, somatic cell content and chemical composition of milk from cows of Black-and- White breed and crossbreds with Holstein Friesians with different HF genes' share (in Polish). Animal Production Review of Polish Society of Animal Production. 55, 123-131.

Malik T.A., Mohini M., Hassan Mir S., Ganaie B., Singh D., Kumar Varun T., Howal S., Thakur S. (2018.). Somatic Cells in Relation to Udder Health and Milk Quality-A Review. Journal of Animal Health and Production. 6 (1), 18-26. doi: 10.17582/journal.jahp/2018/6.1.18.26

Malinowski E. (2001.). Somatic cells in milk. Medycyna Weterynaryjna. 57 (1), 13-17.

Memiši N., Bogdanović V., Tomić Z., Kasalica A., Žujović M., Stanišić N., Delić N. (2011.). Variability and correlation between basic quality parameters of raw cow milk. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 27 (3), 959-967. doi: 10.2298/BAH1103959M

Mijić P., Gantner V., Bobić T., Kuterovac K. (2012.). Variation of somatic cell count (SCC) of dairy cattle in conditions of Mediterranean region in Croatia. In: *Animal farming and environmental interactions in the Mediterranean region*. Wageningen Academic Publishers. doi.org/10.3920/978-90-8686-741-7_31

Miller R.H., Norman H.D., Wiggans G.R., Wright J.R.J. (2004.). Relationship of test-day somatic cell score with test-day and lactation milk yield of buffaloes in the Sao Paulo state, Brazil. *Journal of Dairy Science*. 87 (7), 2299-2306.

Norman H.D., Miller R.H., Wright J.R., Wiggans G. (2000.). Herd and state means for somatic cell count from dairy herd improvement. *Journal of Dairy Science*. 83, 2782-2788. doi: 10.3168/JDS.S0022-0302(00)75175-7

Pham C.T.N. (2006.). Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 6 (7), 541–550. <https://doi.org/10.1038/nri1841>

Pilla R., Schwarz D., König S., Piccinini R. (2012.). Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. *Journal of Dairy Science*. 95:4410-4420. doi: 10.3168/jds.2012-5331

Pizarro B.C.H., Cordeiro P.R.C., Bresslau S. (2004.). Seasonal Variation of Goat Milk Composition and Somatic Cell Count in Southeastern Brazil. *International symposium the future of the sheep and goat dairy sectors, Zaragoza, Spain*, 28-30. October.

Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2020.). *Narodne novine*. Broj 136. Ministarstvo poljoprivrede. Zagreb.

R Core Team (2022.). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Reneau J.K. (1986.). Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science*. 69 (6), 1708-1720. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(86)80590-2.

Ribarić J., Lončar D., Balinović I., Ferenčaković M., Salajpal K. (2012.). Utjecaj sezone na variranje broja somatskih stanica u mlijeku. *Stočarstvo*. 66 (2), 137–147.

Rupp R., Beaudeau F., Boichard D. (2000.). Relationship between milk somatic-cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. *Preventive Veterinary Medicine*. 46 (2), 99-111. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00142-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00142-2)

Samaržija D., Lukač J., Antunac N. (1991.). Broj somatskih stanica i kvaliteta mlijeka. *Mljekarstvo* 41/8. 221-224.

Sarikaya H., Prgomet C., Pfaffl M.W., Bruckmaier R.M. (2004.). Differentiation of Leukocytes in Bovine Milk. *Milchwissenschaft*. 59, 586–589.

Schwarz D. (2017.). Differential somatic cell count - A new biomarker for mastitis screening. *ICAR Technical Series*. No. 21. 104-112.

Schwarz D., Lipkens Z., Piepers S., Vlieghe S. (2019.). Investigation of differential somatic cell count as a potential new supplementary indicator to somatic cell count for identification of intramammary infection in dairy cows at the end of the lactation period. *Preventive Veterinary Medicine*. 172, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104803>

Schwarz, D., Diesterbeck, U.S., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., Wolter, W., Czerny, C.P. (2011.). Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands -*Journal of Dairy Science*. 94 (10), 5033-5044. doi: 10.3168/jds.2011-4348

Schwarz, D., Diesterbeck, U.S., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., Wolter, W., Czerny, C.P. (2011.). Microscopic differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands- *Journal of Dairy Research*. 78, 448-455. doi: <https://doi.org/10.1017/S0022029911000574>

Schroder, A.C., Hamann, J., (2005.). The influence of technical factors on differential cell count in milk. 72 (2), 153-158

Sharma N. (2007.). Alternative approach to control intramammary infection in dairy cows - A review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2, 50-62. doi:10.3923/AJAVA.2007.50.62

Sharma, N., Singh, N.K., Bhadwal M.S. (2011.). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 3, 429-438. doi: 10.5713/ajas.2011.10233

Skrzypek R., Wojtowaski J., Fahr R.D. (2004.). Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk: A case study from Poland. *Journal of Veterinary Medicine*. 51 (3), 127-131. doi: 10.1111/j.1439-0442.2004.00611.x

Solić D., Šperanda M. (2021.). Diferencijacija somatskih stanica u mlijeku – novi alat u rutinskoj kontroli mastitisa. <https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2021/02/M.-Speranda-Diferencijacija-somatskih-stanica.pdf>

Sordillo L.M., Shafer-Weaver K., Dessauge F. (1997.). Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*. 80 (8), 1851–1865. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76121-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76121-6)

Stenzel R., Chabuz W., Pypeć M., Pietras U. (2001.). Effect of the season of the year and run of lactation on somatic cell count in milk (in Polish). *Animal Production Review of Polish Society of Animal Production*. 55, 173-178.

Summer A., Sandri S., Tosi F., Franceschi P., Malacarne M., Formaggioni P., Mariani P. (2007.). Seasonal trend of some parameters of the milk quality payment for Parmigiano-Reggiano cheese. *Italian Journal of Animal Science*. 6, 475-477. doi: 10.4081/ijas.2007.1s.475

Talukder M., Manir Ahmed H.M. (2017.). Effect of somatic cell count on dairy products: a review. *Asian Journal of Medical and Biological Research*. 3 (1), 1-9. doi: 10.3329/ajmbr.v3i1.32030

Tariq A.M., Shahid H.M., Madhu M., Bilal G. (2018.). Somatic cells in relation to udder health and Milk quality – a review. *Journal of animal health and production, Journal of Animal Health and Production March*. 6 (1), 18-26. doi: 10.17582/journal.jahp/2018/6.1.18.26

Töpel A. (2004.). *Chemie und Physik der Milch*. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, Hamburg DE 756:369-434.

Turki H., Olechnowicz J., Winnicki S. (2001.). Somatic cell variation in milk from individual quarters of cows (in Polish). *Animal Production Review Polish Society of Animal Production*. 55, 151-159.

USDA (United States Department of Agriculture) (2013.). Determining US Milk Quality using Bulk Tank Somatic Cell Count USDA APHISVS-CEAH. Available online: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy_monitoring/BTSCC_2012infosheet.pdf

Vissio C., Bouman M., Larriestra A.J. (2018.). Milking machine and udder health management factors associated with bulk milk somatic cell count in Uruguayan herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 150, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.12.011>

Weiss D., Hilger, M., Meyer H.H.D., Bruckmaier R.M. (2002.). Variable milking intervals and milk composition. *Milchwissenschaft*. 57, 246-249.

Węglarz A., Gardzina-Mytar E., Zapletal P., Makulska J., Frelich J. (2008.). Effect of the parity, lactation stage and season of feeding on the somatic cell count in cow milk. *Journal of Agrobiolology*, 25 (2), 209-214.

Wells S.J., Ott S.L. (1998.). What is the current milk quality in the USD. *Proceeding Annual Meeting National Mastitis Council*. 10.

8. ŽIVOTOPIS

Maja Lipovščak Garvanović, rođena je 19.07.1991. u Zagrebu, gdje je završila osnovnu školu, nakon koje upisuje gimnaziju Lucijana Vranjanina – jezični smjer. Nakon završene gimnazije upisuje studij Animalnih znanosti na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom prve godine studiranja, prekida natjecateljsku karijeru u brzom klizanju na kratke staze zbog ozljeda, nakon 10 godina predstavljanja Hrvatske reprezentacije - upisuje Fizioterapiju na Zdravstvenom Veleučilištu u Zagrebu, te paralelno studira na dva fakulteta. Nakon stjecanja diplome prvostupnice animalnih znanosti, upisuje diplomski studij Proizvodnja i prerada mlijeka, također na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme diplomskog studija prijavljuje se na Zimsku školu na Sveučilištu u Nitri (Slovačka), za što i dobiva stipendiju te tamo provodi nekoliko tjedana. Također prijavljuje rad za Rektorovu nagradu naslova: „*Utjecaj nehranidbenih čimbenika na količinu ureje u mlijeku Holstein krava*“, pod mentorstvom profesora Ante Ivankovića.

Pod mentorstvom izvanredne profesorice Nataše Mikulec, izradila je diplomski rad naslova: „*Provjere ispravnosti označavanja svježih sireva proizvedenih od toplinski obrađenog mlijeka*“, 2017. godine, na Zdravstvenom Veleučilištu, pod mentorstvom prof. Olivera Petrak i stječe diplomu obranom rada naslova: „*Analiza prezentiranja Starijih osoba u televizijskom informativnom programu*“. Nedugo zatim upisuje poslijediplomski specijalistički studij Stočarstvo, a za vrijeme tog studija piše znanstveni članak o usporedbi kemijskog sastava mlijeka i jaja s posebnim osvrtom na udio proteina, koji je objavljen u časopisu *Krmiva*, pod vodstvom profesora Zlatka Janječića i profesora Dalibora Bedekovića. Nakon upisanog poslijediplomskog studija započinje stručno osposobljavanje u HPA (Hrvatska Poljoprivredna Agencija), a istovremeno započinje i kao vanjski suradnik na Mreža TV uređivati i voditi poljoprivrednu emisiju Agrokultura. Nedugo zatim stručno osposobljavanje prekida te se posvećuje radu u medijima.