

ODNOS BROJA SOMATSKIH ĆELIJA U MLEKU KRAVA I KONCENTRACIJA CINKA U KRVNOM SERUMU^{1*}

**Davidov Ivana², Radinović Miodrag¹, Erdeljan Mihajlo¹, Stančić Ivan¹,
Stojanović Dragica², Milanov Dubravka²**

¹Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

²Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Kratak sadržaj

Istraživanje je sprovedeno na 15 krava holštajn-frizijske rase starosti između 3 i 5 godina držanih u slobodnom sistemu sa ispašom u letnjem periodu. Zbog praćenja pojava subkliničkih mastitisa uzimani su uzorci mleka dva puta godišnje. Pored mleka uzimani su i uzorci krvi radi određivanja koncentracije cinka u serumu. Na osnovu vrednosti koncentracije cinka u krvnom serumu i broja somatskih ćelija mleka krava data je procena pojave subkliničkih mastitisa kod visoko mlečnih krava. Analizom uzoraka krvnog seruma uočena su variranja koncentracija cinka krvnog seruma, koje su zavisile od godišnjeg doba. Broj somatskih ćelija u prolećnom i jesenjem periodu je u proseku bio preko 400.000/ml mleka. Na osnovu statističke analize, testa korelacije zaključuje se da koncentracija cinka krvnog seruma kod ispitivane grupe krava nije imala značajan uticaj na kretanje broja somatskih ćelija u mleku.

Ključne reči: broj somatskih ćelija, cink, krvni serum, krava

¹ Rad je rezultat istraživanja na projektu Ministarstva prosvete i nauke RS, TR 31071

² e-mail: ivanadav@polj.uns.ac.rs

RELATIONSHIP BETWEEN SOMATIC CELL COUNT AND ZINC BLOOD SERUM CONCENTRATION IN DAIRY COWS

Ivana Davidov¹, Miodrag Radinović¹, Mihajlo Erdeljan¹, Ivan Stančić¹,
Dragica Stojanović², Dubravka Milanov²

¹Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Novi Sad

²Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“, Novi Sad

Abstract

The study was conducted on 15 Holstein-Friesian cows aged between 3 and 5 years kept in the free grazing conditions in summer. The samples of milk were taken twice a year for monitoring subclinical mastitis. In addition to milk samples, the blood samples were taken to determine the concentration of zinc in serum. The occurrence of subclinical mastitis in high yielding cows was estimated based on the values of zinc concentration in blood serum and somatic cells of milk. By analyzing the samples of blood serum, a variation in the concentration of zinc in blood serum was noted depending on the season. Somatic cell count in the spring and autumn period in average was over 400.000/ml milk. Based on statistical analysis, the correlation test, it was concluded that the concentration of zinc in blood serum of cows in the experimental group had no significant effect on the somatic cells count in milk.

Key words: somatic cell count, zinc, blood serum, cow

UVOD

Cink je esencijalni element za biljke, životinje i čoveka. Danas je poznato više od 200 enzima u različitim biljnim i životinjskim vrstama, kao i u organizmu ljudi za čije je funkcionisanje važan cink (Hurley and Doane, 1989). Takođe, cink ulazi u sastav enzima koji sprečava aktivnost slobodnih radikala (Vallee and Falchuk, 1993; Prasad et al., 2004; Gressley, 2009). Prema Weiss i Spearu (2006), cink ima značajnu ulogu u imunološkom odgovoru organizma. Cink kao esecijalni element ima značajnu ulogu u očuvanju intergiteta kože (Sordillo et al., 1997; Tomlison et al., 2004; 2008) i ima uticaja na smanjenje broja somatskih ćelija u mleku krava (Kellogg et al., 2004). Mlečnoj žlezdi, kao organu koji predstavlja derivat kože, za razvoj je neophodan cink (Tomlison et al., 2004; 2008), zbog formiranja keratinskog sloja u *ductus papillaris*-u.

Oko 20-30% hranom unetog cinka se resorbuje najvećim delom u duode-

¹ e-mail: ivanadav@polj.uns.ac.rs

numu i proksimalnom jejunumu. Resorpcija cinka se podjednako odvija procesima pasivne difuzije i aktivnim transportom (Lee et al., 1989; Cope et al., 2009). Jedan deo resorbovanog cinka se brzo transportuje kroz ćelije mukoze, a drugi deo se zadržava u mukozu iz koje se polako oslobađa tokom nekoliko narednih časova (Gordon et al., 1981). Na resorpciju cinka utiču brojni faktori kao što su rastvorljivost cinka u digestivnom traktu, vrsta i kategorija životinje, sastav hrane i sadržaj cinka u obroku (Miller, 1970; Wiking et al., 2008; Cope et al., 2009; Rabbie et al., 2010).

Količina cinka u hrani varira i zavisi od količine cinka u zemljištu, od vrste biljaka i od dela biljke. Smatra se da se količina cinka u biljkama sa zemljišta teritorije Srbije kreće između 25 i 50 mg/kg suve materije (Obračević, 1990). Trave obično sadrže od 30 do 50 mg Zn/kg suve materije, dok leguminoze sadrže veće količine (Kolarski, 1995).

Vrlo je malo literaturnih podataka o uticaju cinka iz hrane na zdravlje mlečne žlezde. Ipak je objavljeno nekoliko studija o uticaju dodatka cinka u hrani na broj somatskih ćelija. U istraživanjima Kellogg (1990) i Tomlinson et al. (2002) uočeno je da je dodavanjem cinka u hrani oko 360 mg/kg hrane svakog dana dovelo do pada broja somatskih ćelija u mleku. Whitaker et al. (1997) dodavanjem 390 mg/kg hrane cinka svakog dana nisu uočili uticaj cinka na pojavu infekcija, kliničkih mastitisa i na smanjenje broj somatskih ćelija u mleku. U eksperimentu koji je izveo Van Suan (2009) na dvanaest krava u laktaciji koje su u hrani dobijale dodatak organskog cinka, uočeno je da je u 33% krava došlo do redukcije broja somatskih ćelija u mleku krava.

Aдекватна концентраcija cinka u hrani, a posledično i u krvi, pozitivno utiče na pravilan imunološki odgovor, dok deficit cinka dovodi do nepravilnog funkcionisanja imunološkog sistema i nepravilne keratinizacije (Hutcheson, 1989; Reddy i Frey, 1990). Prvu liniju odbrane vimena krava predstavlja *ductus papillaris*, koji je sa unutrašnje strane obložen kreatinskim slojem. Davidov i sar. (2011) su utvrdili da debljina keratinskog sloja varira i da ta variranja u debljini imaju uticaja na očuvanost morfologije i funkcije parenhima vimena krava.

Cilj ovog rada je da utvrdi povezanost između koncentracije cinka krvnog seruma i broja somatskih ćelija u mleku krava.

MATERIJAL I METOD

Sa jedne farme Južnobackog okruga kapaciteta 100 krava holštajn-frizijske rase, 15 krava je uključeno u istraživanje. Oglednu grupu su činile krave starosti od 3 do 5 godina, za koje su postojali podaci o povećanju broja somatskih ćelija u mleku. Krave su držane u slobodnom sistemu sa ispašom koja se koristi

u letnjem periodu. Na ispaši životinjama je dostupna paša, na pašnjaku koji je svake godine tretiran mineralnim đubrivom. U toku oglada krave su 24 sata imale pristup pijaćoj vodi.

Uzorci mleka su uzimani dva puta godišnje - u proleće i u jesen. Uzorci krvi su uzeti tri puta: na početku oglada, u proleće i u jesen. Od svake krave je uzeta krv iz repne vene (*vena coccygea*), koja daje najbolji uvid u stanje mlečne žlede. Pre uzimanja uzoraka krvi urađena je dezinfekcija mesta uboda, tako što je koža repa oprana tekućom vodom, obrisana suvom čistom krpom i na kraju očišćena alkoholom, po principu asepsa i antiseptice. Uzorci krvi su sakupljeni u desetomililitarskim vakutajner epruvetama (BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions UK) sa antikoagulansom K3E u količini od 0,072 ml. Zbog testiranja vakutajner epruveta, uzeta je mala količina krvi od 3 ml i prema uputstvu proizvođača proverena je efikasnost vakutajner epruveta. Nakon toga je vađena krv krava ogledne grupe. Izvađenja krvi u vakutajner epruveti je nežno mućkana 8 puta zbog mešanja antikoagulansa vakutajner epruvete sa uzetom krvlju. Svaka vakutajner epruveta je bila obeležena i transportovana u laboratoriju Naučnog instituta za veterinarstvo „Novi Sad“ u Novom Sadu. Priprema uzoraka je izvršena metodom vlažne digestije u sistemu Ethos, Microwave Labstation, Milestone. Koncentracije cinka su određene tehnikom spregnute plazme na instrumentu Agilent ICP-MS 7700 preko izotopa ^{66}Zn uz upotrebu inertnog gasa helijuma. Korišćeni su standardi za cink-AccuTrace Reference Standard, AA70N-1, Lot B9025027. Integraciono vreme za cink je iznosilo 0,1 s po tački.

Uzorci mleka od 15 krava holštajn-frizijske rase su uzimani pre jutarnje muže u plastične sterilne bočice od 10 ml. Uzorci zbirnog mleka svake krave su prikupljeni u proleće i u jesen. Pre uzimanja uzorka svaka papila, a naročito njen vrh, je dezinfikovana. Uzeti uzorci mleka su pregledani aparatom fosomatikom (Fossomatic; Foss Electric, Hillerød, Denmark), zbog brojanja somatskih ćelija u mleku.

REZULTATI I DISKUSIJA

Na početku istraživanja uzimani su uzorci krvi i mleka oglednoj grupi krava, za dobijanje vrednosti koncentracija cinka krvnog seruma. Uzorke je bilo neophodno uzeti zbog dobijanja početnog stanja koncentracija cinka i zbog praćenja uticaja cinka na očuvanost morfologije i funkcije vime krava.

Merenjem vrednosti cinka u krvnom serumu 15 krava na početku istraživanja, uočeno je da se koncentracija cinka krvnog seruma kretala u rasponu od 4,95 do 16,75 $\mu\text{mol/l}$ (Tabela 1). Znajući da su fiziološke vrednosti cinka od 7 do 13 $\mu\text{mol/l}$, kod 15 ispitivanih krava 11 (73,33%) vrednosti cinka su bile ispod fizioloških za visokomlečne krave.

Tabela 1. Koncentracija cinka u krvnom serumu krava na početku istraživanja

red.br. krava	Zn μmol/l	red.br. krava	Zn μmol/l	red.br. krava	Zn μmol/l
1.	10,33	6.	5,8	11.	6,64
2.	14,91	7.	9,98	12.	14,22
3.	15,12	8.	11,66	13.	7,13
4.	12,5	9.	7,46	14.	12,71
5.	16,75	10.	4,95	15.	9,98

Merenjem vrednosti cinka u krvnom serumu krava u proleće uočeno je da se koncentracija cinka krvnog seruma kretala u rasponu od 4,95 do 21,15 μmol/l (Tabela 2). Obzirom da su krave bile u štalskim uslovima u zimskom periodu i da su hranjene silažom, senom i koncentratom, uočava se da su vrednosti cinka krvnog seruma kod 5/15 (33,33%) krava u prolećnom periodu bile ispod fizioloških vrednosti.

Tabela 2. Koncentracija cinka u krvnom serumu krava u prolećnom periodu

red.br. krava	Zn μmol/l	red.br. krava	Zn μmol/l	red.br. krava	Zn μmol/l
1.	13,23	6.	10,58	11.	7,64
2.	18,10	7.	13,98	12.	18,62
3.	18,20	8.	15,86	13.	9,61
4.	17,50	9.	9,64	14.	16,61
5.	21,15	10.	4,95	15.	13,28

Merenjem vrednosti cinka u krvnom serumu krava u jesenjem periodu uočeno je da su se koncentracije cinka krvnog seruma kretale u rasponu od 10,78 do 24,87 μmol/l (Tabela 3). U toku letnjeg perioda krave su bile na ispaši na pašnjaku koji je svake godine tretiran mineralnim đubrivom. Od ispitivanih 15 krava sve krave su bile sa vrednostima cinka krvnog seruma u fiziološkim granicama za visokomlečne krave.

Tabela 3. Koncentracija cinka u krvnom serumu krava u jesenjem periodu

red.br. krava	Zn μmol/l	red.br. krava	Zn μmol/l	red.br. krava	Zn μmol/l
1.	15,58	6.	23,72	11.	15,96
2.	20,41	7.	13,36	12.	24,66
3.	15,63	8.	12,62	13.	14,80
4.	24,87	9.	13,58	14.	18,85
5.	18,85	10.	10,78	15.	13,77

Analizom broja somatskih ćelija u mleku kod 15 krava u prolećnom periodu uočeno je da su se vrednosti broja somatskih ćelija u mleku kretale od 380.000 do 580.000 ml/mleka (Tabela 4). Poznato je da nalaz broja somatskih ćelija u mleku preko 400.000/ml indikator subkliničkih mastitisa, uočava se da je u prolećnom periodu 14/15 (93,33%) bilo sa subkliničkim mastitisom.

Tabela 4. Broj somatskih ćelija u mleku (BSĆ) krava u prolećnom periodu

red.br. krava	BSĆ/ml	red.br. krava	BSĆ/ml	red.br. krava	BSĆ/ml
1.	570.000	6.	540.000	11.	580.000
2.	510.000	7.	540.000	12.	560.000
3.	530.000	8.	410.000	13.	530.000
4.	490.000	9.	520.000	14.	400.000
5.	480.000	10.	450.000	15.	380.000

Analizom broja somatskih ćelija u mleku kod krava u jesenjem periodu uočeno je da su se vrednosti somatskih ćelija u mleku kretale od 210.000 do 510.000 ml/mleka (Tabela 5). Uočava se da je u jesenjem periodu 11/15 (73,33%) krava bilo sa povećanim brojem somatskih ćelija u mleku.

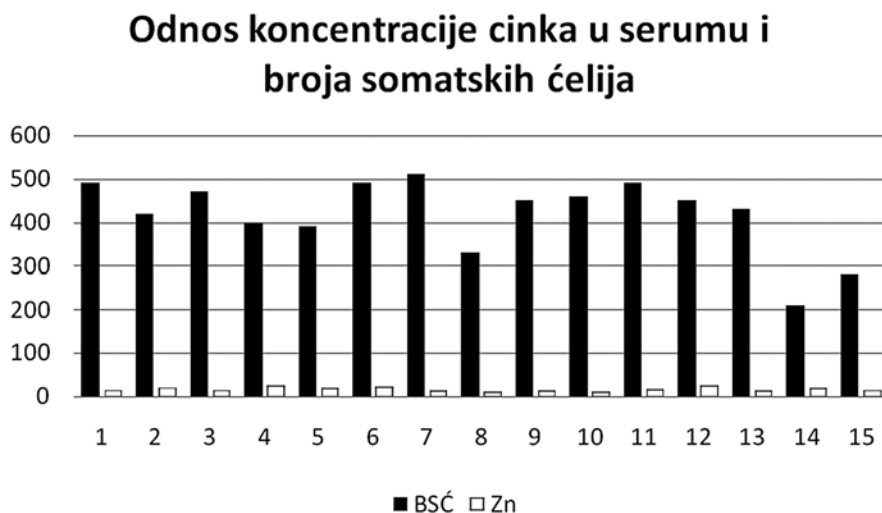
Tabela 5. Broj somatskih ćelija u mleku (BSĆ) krava u jesenjem periodu

red.br. krava	BSĆ/ml	red.br. krava	BSĆ/ml	red.br. krava	BSĆ/ml
1.	490.000	6.	490.000	11.	490.000
2.	420.000	7.	510.000	12.	450.000
3.	470.000	8.	330.000	13.	430.000
4.	400.000	9.	450.000	14.	210.000
5.	390.000	10.	460.000	15.	280.000

Statističkom analizom korelacije koncentracije cinka krvnog seruma i broja somatskih ćelija u mleku krava uočeno je da koncentracija cinka krvnog seruma krava nema uticaja na broj somatskih ćelija u mleku (Tabela 6, Grafikon 1).

Tabela 6. Test korelacije koncentracije cinka krvnog seruma i broja somatskih ćelija u mleku krava

Broj krava	Zn $\mu\text{mol/l}$	BSĆ/ml
1.	15,58	490.000
2.	20,41	420.000
3.	15,63	470.000
4.	24,87	400.000
5.	18,85	390.000
6.	23,72	490.000
7.	13,36	510.000
8.	12,62	330.000
9.	13,58	450.000
10.	10,78	460.000
11.	15,96	490.000
12.	24,66	450.000
13.	14,8	430.000
14.	18,85	210.000
15.	13,77	280.000
KORELACIJA		0,00155



Grafikon 1. Prikaz odnosa koncentracije cinka krvnog seruma i broja somatskih ćelija u mleku krava

ZAKLJUČAK

Dobijeni rezultati ukazuju da postoje variranja u koncentraciji cinka krvnog seruma u različitim periodima godine. Broj somatskih ćelija u mleku ispitivanih krava je pokazao tendenciju variranja. Na osnovu statističke analize, testa korelacije može se zaključiti da koncentracija cinka krvnog seruma kod ispitivane grupe krava nije imala značajan uticaj na kretanje broja somatskih ćelija u mleku.

LITERATURA

1. Cope C.M., Mackenzie A.M., Wilde D. and Sinclair L.A.: Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. *J. Dairy Sci.* 92, 2128-2135, 2009.
2. Davidov, I, Radinović, M., Stojanović, D.: Uticaj stratum corneum-a ductus papillaris-a na očuvanost parenhima vimena krava. *Arhiv veterinarske medicine*, 4, 1, 3-10, 2011.
3. Gordon F.E., Gordon C.R., Passal B.D.: Zinc metabolism- Basic, clinical and behavioral aspects. *J. Pediatr.* 99:, 41-349, 1981.
4. Gressley T.F.: Zinc, copper, manganese and selenium in dairy cattle rati-

- ons. In: Proceedings of the 7th Annual Mid-Atlantic Nutrition Conference, pp.65-71, 2009.
5. Hurley W.L. and Doane R.H.: Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J. Dairy Sci.* 72, 1123-1135, 1989.
 6. Hutcheson D.P.: Nutritional factors affect immune response in cattle. *Feedstuffs*. 61,16-24, 1989.
 7. Kellogg D.W.: Zinc methionine affects performance of lactating cows. *Feedstuffs Aug* 20, 15-20, 1990.
 8. Kellogg D.W., Tomlinson D.J., Socha M.T. and Johnson A.B.: Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: twelve- trial summary. *Anim. Sci.* 20, 295-301, 2004.
 9. Kolarski D.: Osnovi ishrane domaćih životinja. Beograd: Naučna knjiga. 1995.
 10. Lee H.H., Prasad S.A., Brewer J.G., Owyang C.: Zinc absorption in human small intestine. *Am. J. Physiol.* 256, 687-691, 1989.
 11. Miller W.J.: Zinc nutrition of cattle- A review. *J. Dairy Sci.* 53,1123-1135, 1970.
 12. Prasad A.S., Bao B., Beck Jr. F.W., Kucuk O. and Sarkar F.H.: Antioxidant effects of zinc in humans. *Free Radic. Biolo. and Med.* 37, 1182-1190, 2004.
 13. Rabiee A.R., Lean I.J., Stevenson M.A. and Socha M.T.: Effects of feeding organic trace minerals on milk production and reproductive performance in lactating dairy cows: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 93, 4239-4251, 2010.
 14. Reddy P.G. and Frey R.A.: Nutritional modulation of immunity in domestic food animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 35, 255-281, 1990.
 15. Sordillo L.M., Shafer-Weaver K. and DeRosa D.: Immunobiology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 80, 1851-1865, 1997.
 16. Tomlinson D.J., Socha M.T., Rapp C.J. and Johnson A.B.: Summary of twelve trails evaluating the effect of feeding complexed zinc methionine on lactation performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 106-111, 2002.
 17. Tomlinson D.J., Mulling C.H. and Fakler T.M.: Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of homones, minerals and vitamins in fuctional claw integrity. *J. Dairy Sci.* 87, 797-809, 2004.
 18. Tomlinson D.J., Socha M.T. and DeFrain J.M.: Role of trace minerals in the immune system. In: Proc. Penn. State Dairy Cattle Nutrition Workshop, pp. 39-52, 2008.
 19. Vallee B.L. and Falchuk K.H.: The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol. Rev.* 73, 79-118, 1993.
 20. Van Saun R.J.: Ration approach to selenium supplemnetation essential. *Feedstuffs* 15, 15-21, 1990.
 21. Weiss W.P. and Spears J.W.: Vitamin and trace mineral effect on immune fuction of ruminants. In: Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. (Eds.), Ruminanat Physiology. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands, pp. 473-496, 2006.

22. Whitaker D.A., Eayres H.F., Aitchison K. and Kelly J.M.: No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate and somatic cell count in dairy cows. *Vet. J.* 153, 197-204, 1997.
23. Wiking L., Larsen T. and Sehested J.: Transfer of dietary zinc and fat to milk-evaluation of milk fat quality, milk fat precursors and mastitis indicators. *J. Dairy Sci.* 91, 1544-1551, 2008.

Primljeno: 15.04.2012.

Odobreno: 23.06.2012.