Povezanost studija i redosljeda laktacije s brojem somatskih stanica u mlijeku paških ovaca

Počekal, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:227123

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

POVEZANOST STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE S BROJEM SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU PAŠKIH OVACA

DIPLOMSKI RAD

Martina Počekal

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Proizvodnja i prerada mlijeka

POVEZANOST STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE S BROJEM SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU PAŠKIH OVACA

DIPLOMSKI RAD

Martina Počekal

Mentor: prof. dr. sc. Neven Antunac

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Martina Počekal**, JMBAG 0178098125, rođena 28.06.1994. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

POVEZANOST STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE S BROJEM SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU PAŠKIH OVACA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica 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 s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice Martine Počekal, JMBAG 0178098125, naslova

POVEZANOST STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE S BROJEM SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU PAŠKIH OVACA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1.	Prof. dr. sc. Neven Antunac	mentor	_____
2.	Doc. dr. sc. Nataša Mikulec	član	_____
3.	Doc. dr. sc. Zvonimir Prpić	član	_____

Zahvala

Veliku zahvalnost dugujem svom mentoru prof. dr. sc. Nevenu Antuncu, koji mi je svojim idejama, savjetima, stručnim vodstvom, ukazanim povjerenjem, nesebičnoj pomoći i uvijek nasmiješenog lica, pomogao oko izrade diplomskog rada kao i tijekom čitavog studijskog obrazovanja. Još jednom zahvaljujem profesoru na iskazanom strpljenju i prekrasnom mentorstvu.

Moram zahvaliti svim profesorima, docentima i osoblju Zavoda za mljekarstvo na susretljivosti i savjetima dobivenim tijekom studija, osobito zahvaljujem članovima povjerenstva za obranu diplomskog rada doc. dr. sc. Nataši Mikulec i doc. dr. sc. Zvonimiru Prpiću, te dr. sc. Šimunu Zamberlinu na ukazanoj pomoći tijekom obrade podataka.

Ponajviše zahvaljujem se svojoj obitelji, zaručniku i bliskim prijateljima koji su me uvijek podržavali u mojim težnjama da postignem vlastite uspjehe. Njihova podrška pomogla mi je da prebrodim sve izazove na svom studentskom putovanju.

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Somatske stanice 3
2.1. Što su somatske stanice? 3
2.2. Tipovi stanica 4
2.3. Čimbenici koji utječu na promjenu broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku 6
2.3.1. Infekcija mliječne žlijezde / Status infekcije vimena 6
2.3.2. Poremećaj sekrecije 7
2.3.3. Okolišni čimbenici 9
2.3.4. Genetski čimbenici 16
2.4. Svrha i razlozi određivanja broja somatskih stanica 17
2.5. Proizvodnja ovčjeg mlijeka (dnevna količina mlijeka) 18
3. Cilj istraživanja 20
4. Materijali i metode 21
4.1. Stado 21
4.2. Opis paške ovce 21
4.3. Kontrola mliječnosti ovaca 22
4.4. Analize mlijeka 23
4.5. Statistička obrada podataka 23
5. Rezultati istraživanja i rasprava 24
6. Zaključak 34
7. Literatura 35
Životopis 41

Sažetak

Diplomskog rada studentice Martine Počekal, naslova

POVEZANOST STADIJA I REDOSLIJEDA LAKTACIJE S BROJEM SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU PAŠKIH OVACA

S obzirom da se mlijeko paških ovaca prerađuje u istoimeni sir, važna je higijenska ispravnost proizvedenog mlijeka. Osim genetskih čimbenika, na proizvodnju i kvalitetu mlijeka utječe i velik broj okolišnih čimbenika, s obzirom na navedeno cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj stadija (rani, srednji i kasni) i redoslijeda laktacije (1., 2., 3., 4., 5. i ostale), na promjene dnevnih količina mlijeka i promjene broja somatskih stanica u mlijeku paških ovaca. Odabrana stada uzgajana su na području Kolana i Caske, a istraživanje je obuhvatilo ukupno 213 paških ovaca. Stadij laktacije bio je podijeljen na rani (do 50. dana), srednji (od 51.-100. dana) i kasni (>101. dana do kraja laktacije). S obzirom na redoslijed laktacije, ovce su bile razvrstane u 1. laktaciju (A), 2. laktaciju (B), 3. laktaciju (C), 4. laktaciju (D) i 5. i ostale laktacije (E). Istraživanjem je utvrđen značajan utjecaj stadija i redoslijeda laktacije na prosječnu dnevnu količinu mlijeka i broj somatskih stanica. Paške ovce vrh dnevne proizvodnje mlijeka (≈750 g) ostvarile su sredinom laktacije, odnosno u 3. laktaciji (≈690 mL). Najviši broj somatskih stanica ($\log_{10}$) bio je na početku (5,21), a najniži sredinom laktacije (5,04). Dnevna količina mlijeka nakon laktacijskog vrha (3. laktacija) postupno se smanjivala, a povećanje broja somatskih stanica zabilježeno je do 4. laktacije nakon čega je slijedilo smanjenje njihovog broja. Između pojedinih parametara utvrđeni su značajni koeficijenti korelacija.

Ključne riječi: paška ovca, ovčje mlijeko, dnevna količina mlijeka, broj somatskih stanica, stadij laktacije, redoslijed laktacije

Summary

Of the master's thesis – student Martina Počekal**,** entitled

RELATIONSHIP OF STAGE AND NUMBER OF LACTATION WITH SOMATIC CELL COUNT IN MILK OF PAŠKA SHEEP

Considering Paška sheep milk is entirely processed in Pag cheese, it is importance hygienic quality to milk production. In addition to genetic factors, as the most important factor, the production and quality of sheep milk is affected by numerous environmental factors, so the aim of this research was to determine the influence of stage (the beginning, the middle, the end) and number of lactation (1^{st}, 2^{nd}, 3^{rd}, 4^{th}, 5^{th} and others) on changes in daily milk quantities and changes in somatic cell count of Paška sheep milk. Herds were selection within the areas of Kolan and Caska, and survey was conducted on a total of 213 Paška sheep. Stage of lactation was divided to: the beginning (to 50^{th}-day), the middle (from 51^{st} till 100^{th}day) and the end (101^{st} -day till dry out) of lactation. Depending on the number of lactation, sheep were grouped into five groups: 1^{st} (A), 2^{nd} (B), 3^{rd} (C), 4^{th} (D), 5^{th} and others (E). A significant influence of stage and number of lactation on average daily milk yield and number of somatic cells. The Paška sheep had the highest daily milk production (≈750 g) in the mid-lactation, and the third lactation (≈690 mL) recorded. The highest somatic cell counts (log_{10}) were at the beginning (5.21) and the lowest at the middle (5.04) of lactation. Daily milk yield after the lactation peak (3^{rd} lactation) gradually decreased, while an increase in the proportion of somatic cells up to the 4^{th} lactation was observed, followed by a decrease. Between the individual parameters significant correlation coefficients were determined.

Key words: Paška sheep, sheep milk, daily milk yield, somatic cell count, stage of lactation, number of lactation

1. Uvod

Ovčarstvo u Republici Hrvatskoj karakterizira uzgoj ovaca ponajviše radi proizvodnje mesa, odnosno mlade janjetine, dok se samo 10-12% od ukupnog broja ovaca uzgaja radi proizvodnje mlijeka (Mioč i sur. 2007.). Općenito, proizvodnja ovčjeg mlijeka u Hrvatskoj je sezonskog karaktera, uglavnom se temelji na izvornim pasminama ovaca priviknutim na oskudnu vegetaciju i hranidbu, različite klimatske uvjete i nedostatak oborina. Među najvažnije pasmine ovaca koje se u Hrvatskoj koriste za proizvodnju mlijeka, uz istočnofrizijsku, je paška ovca, zatim dalmatinska pramenka, creska ovca, krčka ovca, istarska ovca i travnička pramenka. Velike razlike u učinkovitosti proizvodnje mlijeka uvjetovane su brojnim genetskim i negenetskim čimbenicima (Mioč i sur. 2004.a). U posljednja dva desetljeća zbog povećanog interesa za proizvodnjom i preradom ovčjeg mlijeka, trend se mijenja, ne samo u industrijskim uvjetima već i na malim obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. U skladu s time, Hrvatskoj su uzor zemlje s razvijenim mliječnim ovčarstvom, zbog čega se i kod nas nastoje primjenjivati uzgojna i tehnološka rješenja za što učinkovitijom proizvodnjom ovčjeg mlijeka, kako bi proizvodni (genetski) potencijal mliječnih ovaca bio što bolje iskorišten (Mioč i Prpić, 2014.). Najviše ovčjeg mlijeka proizvodi se u priobalnim područjima (na otocima Pagu, Krku, Cresu i Braču, u Istri i u Dalmaciji) te u Ličko-senjskoj, Požeško-slavonskoj, Virovitičko-podravskoj i Varaždinskoj županiji (Vukašinović i sur. 2008.). Proizvodnja i prerada ovčjeg mlijeka u Hrvatskoj uglavnom se temelji na lokalnim (izvornim) pasminama, među kojima paška ovca zauzima najznačajnije mjesto (Barać i sur. 2013.). Ona je najbrojnija hrvatska izvorna pasmina ovaca (Mioč i sur. 2007.). Prema Godišnjem izvješću Hrvatske poljoprivredne agencije (2018.), broj uzgojno valjanih grla paške ovce je u porastu, u 2017. godini zabilježeno je 5.887 valjanih grla paške ovce koja se uzgajaju kod 52 uzgajivača. Veličina sveukupne populacije je oko 30.000 grla, a u proizvodnji mlijeka koristi se oko 24.000 rasplodnih ovaca. Zbog specifičnih klimatskih obilježja na otoku Pagu, oskudne, ali raznolike vegetacije aromatičnog i ljekovitog mediteranskog bilja, meso i mlijeko, odnosno sir imaju poseban miris i okus, što potrošači prepoznaju, traže i cijene. Iznimno je važna kvaliteta prehrambenih proizvoda zbog čega se provode redovite kontrole mliječnosti i analize kemijskog sastava i higijenske kvalitete mlijeka. Temeljni zahtjevi kvalitete ovčjeg mlijeka propisani su u *„Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka“* (2017.), prema kojem ovčje mlijeko mora

sadržavati od 3,0% do 12% mliječne masti, od 3,8% do 8% proteina. Točka ledišta ne smije biti viša od -0,560°C, gustoća pri temperaturi od 20°C ne smije biti niža od 1,34 g/cm^3, suha tvar bez masti ne smije biti niža od 9,5%. Svježe sirovo ovčje mlijeko mora zadovoljiti kiselinski stupanj od 8,0 do 12,0°SH, a pH-vrijednost od 6,5 do 6,8. Mora potjecati od životinja u laktaciji kod kojih je od poroda prošlo minimalno osam dana ili je do poroda najmanje trideset dana, te imati izgled, boju i miris karakterističan za ovčje mlijeko. Ne smije sadržavati rezidue ili druge kontaminante u količinama većim od najviše dozvoljenih, ostatke nedopuštenih tvari, detergente i druge tvari koje mogu imati štetan učinak za zdravlje ljudi ili koje mijenjaju organoleptička svojstva mlijeka. Uz sve navedeno, svježe sirovo ovčje mlijeko ne smije sadržavati više od 1,5 milijuna mikroorganizama u 1 mL, dok broj somatskih stanica nije definiran, kako u zemljama EU, tako ni u Republici Hrvatskoj. Somatske stanice u mlijeku, odnosno njihov broj, kao i ukupan broj bakterija u mlijeku koristi se u svrhu dijagnosticiranja i identificiranja uzročnika mastitisa te odabiru terapije. Istraživači su suglasni sa značajnim povećanjem broja somatskih stanica, zbog kojeg dolazi do upalnih procesa u mliječnoj žlijezdi. Problem predstavlja dijagnoza subkliničkog matitisa i utvrđivanje granične vrijednosti ispod koje sekrecija i sastav mlijeka ostaju nepromijenjeni (Antunac 2003.).

2. Somatske stanice

2.1. Što su somatske stanice?

Somatske stanice su tjelesne stanice prirodno prisutne u mlijeku, fiziološki su sastojak mlijeka, a sastoje se od staničnih elemenata koji potječu iz organizma životinje, a koji se sastoje od epitelnih stanica vimena (alveola, mliječnih kanalića i cisterne), koje se troše u procesu sinteze i sekrecije mlijeka, a ostatak čine leukociti (bijele krvne stanice) koji potječu iz krvi. Somatske stanice su normalno prisutne u mlijeku, a njihov broj je uz ukupan broj mikroorganizama pokazatelj higijenske kvalitete mlijeka te je opći indikator zdravstvenog stanja vimena. Osim toga, koriste se kao najbolji parametar za procjenu kvalitete i prikladnosti mlijeka za konzumaciju i preradu, zatim u definiranju kriterija za sustav plaćanja i formiranje otkupne cijene mlijeka. Rezultati se prikazuju kao broj somatskih stanica u 1 mL mlijeka ili kao logaritmirana vrijednost ($\log_{10}$). Analizom mlijeka individualnih životinja, utvrđuje se njezin zdravstveni status te pojava mastitisa, dok je analiza skupnog mlijeka pokazatelj prosječnog zdravlja čitavog stada (Kelly 2002.; Ribanić i sur. 2012.; Talukder i Ahmed 2017.).

Bez obzira što broj somatskih stanica u ovčjem mlijeku, za razliku od kravljeg, nije propisan u Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017.), većina autora predlaže različite vrijednosti. Tako Fthenakis (1996.) i Pengov (2001.) za gornju graničnu vrijednost broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku predlažu $250x10^3$/mL, Antunac i sur. (2004.) $700x10^3$/mL, dok Ipsiladis i sur. (1988.) navode vrijednost od $1x10^6$/mL. Usprkos tome što granična vrijednost u zemljama EU i dalje nije definirana, većina autora (Cruz i sur. 1994., Pengov 2001.) je suglasna kako bi granična vrijednost za ovčje mlijeko trebala iznositi 250 $x10^3$/mL.

Ovce i koze imaju apokrini tip sekrecije mlijeka, dok je u krava merokrini tip sekrecije. Apokrina sekracija podrazumijeva ulazak velikog broja citoplazmatskih čestica u mlijeko iz apikalne površine sekretornih stanica vimena tijekom izlučivanja mlijeka te predstavljaju prirodni sastojak u mlijeku ovaca i koza. Citoplazmatske čestice prema veličini sliče somatskim stanicama te ih se može razlikovati samo metodom brojanja. Iako se ovčje mlijeko sastoji od velike apokrine komponente, koncentraciju citoplazmatskih čestica čini 1/10 u odnosu na

kozje mlijeko i prosječno iznosi 15×10^3/mL, dok je prosjek kod kozjeg mlijeka 150×10^3/mL (Paape i sur. 2001.).

2.2. Tipovi stanica

U ovčjem mlijeku elektronskim i optičkim mikroskopom istražene su i opisane karakteristične značajke pet tipova stanica: polimorfonuklearni neutrofili (PMN), makrofagi i limfociti koji potječu iz krvi, te plazma stanice i epitelne stanice. U zdravom, neinficiranom mlijeku ovaca, dominantni tip stanica su makrofagi, čiji udio iznosi od 46 do 84% od ukupnog broja somatskih stanica. Osim toga makrofagi su indikator zdravlja vimena. Zatim slijede polimorfonuklearni neutrofili (2-28%) i limfociti (11-20%). Epitelne i plazma stanice se nalaze u vrlo niskim koncentracijama. Epitelne stanice (1-2%) su prisutne u mlijeku, dok su plazma stanice isključivo prisutne u kolostrumu (0-2%). U slučaju infekcije vimena s patogenim mikroorganizmima, slijedi drastično povećanje broja somatskih stanica što dovodi do promjena relativnih udjela svih tipova stanica (Gonzalo 1995.).

Makrofagi i polimorfonuklearni neutrofili su fagocitne stanice koje zahvaćaju i uništavaju bakterije. Limfociti uključuju i B-stanice i T-stanice koje imaju ključnu ulogu u specifičnim imunološkim reakcijama koje mogu slijediti početni odgovor na infekciju (Harmon 2001.).

Polimorfonuklearni neutrofili (PMN) su glavni tip stanica koji se javlja pri upali mliječne žlijezde. One se kemotaktičkim procesom privlače za mjesto infekcije zbog čega se brzo povećavaju na račun smanjenja makrofaga i limfocita. Ovčje mlijeko sadrži više od $200x10^3$ SS/mL mlijeka, pri čemu je više od 50% polimorfonuklearnih neutrofila. U slučaju da mlijeko sadrži više od $3.000x10^3$ SS/mL mlijeka, broj PMN-a se povećava i do 90%. Naime, kod ovaca polimorfonuklearni neutrofili se povećavaju u prvim tjednima laktacije od 45% do 72%, kao posljedica infekcije i sa 74% na 86% pri kraju laktacije (Gonzalo 1995.).

Ako mliječna žlijezda nije zahvaćena upalnim procesom, polimorfonuklearni neutrofili slobodno prolaze kroz kapilare s minimalnim prianjanjem uz stjenke krvnih žila. Suprotno, čim se pojavi upala, polimorfonuklearni neutrofili prianjaju i nakupljaju se u endotelu krvnih žila i prolaze između stanica. Pri upalnom procesu iz leukocita se otpuštaju kemijski posrednici koji javljaju polimorfonuklearnim neutrofilima gdje se nalazi upala i na tim se mjestima pojavljuju

u velikom broju (Cosseddu i sur. 1995.). Brzina pritjecanja polimorfonuklarnih neutrofila je ključna u suzbijanju infekcije (Burvenich i sur. 2000.).

Njihov broj se povećava i širi izvan alveola. Na mjestu oštećenja epitelnog tkiva dolazi do nakupljanja polimorfonuklearnih neutrofila, koji prolaze između epitelnih stanica i ulaze u lumen alveola. Kao rezultat tog procesa, broj somatskih stanica u mlijeku se povećava uslijed migracije polimorfonuklearnih neutrofila na mjesto upale. Polimorfonuklearni neutrofili mogu ući u sisni kanal i sise vimena, stoga ova mjesta predstavljaju put kretanja u početku upale. Njihova funkcija je uništavanje patogenih bakterija pri čemu može doći do destabilizacije globula mliječne masti i kazeina, što smanjuje njihovu učinkovitost, ali usprkos tome ostaju glavni mehanizam obrane protiv patogenih mikroorganizama (Harmon 1994.).

Cosseddu i sur. (1995.) usporedili su omjer pojedinih tipova stanica u inficiranoj i u zdravoj polovini vimena, te su primijetili slijedeći omjer stanica u inficiranim polovinama vimena: PMN 77,7%, makrofagi 16,7%; epitelne stanice 4,1%; limfociti 1,1%; ostale stanice 0,4%. U zdravim polovinama vimena omjer je bio slijedeći: PMN 28,8%; makrofagi 49,6%; epitelne stanice 16,3%; limfociti 4,1% i ostale stanice 1,2%.

2.3. Čimbenici koji utječu na promjenu broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku

Različiti čimbenici u različitoj mjeri utječu na promjenu broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku. Svojim interakcijama mogu promijeniti kvalitetu mlijeka, time i kvalitetu finalnog mliječnog proizvoda. U najvećoj mjeri na broj somatskih stanica u mlijeku utječe infekcija mliječne žlijezde s patogenim mikroorganizmima, odnosno status infekcije vimena, zatim slijede okolišni čimbenici (dob mliječne životinje, stadij i redoslijed laktacije, pasmina, način držanja, geografsko područje i godišnje doba, veličina stada, stresni čimbenici, bolesti, pretjerana fizička aktivnost, mužnja, protok mlijeka, vrijeme i način uzorkovanja mlijeka te informiranost odnosno educiranost proizvođača) dok u manjoj mjeri utječu genetski čimbenici i sama životinja (Gonzalo 1995.).

2.3.1. Infekcija mliječne žlijezde / Status infekcije vimena

Najveći utjecaj na povećani broj somatskih ima infekcija mliječne žlijezde s patogenim mikroorganizmima. Status infekcije vimena može biti izražen kliničkim ili subkliničkim mastitisom. Klinički mastitis karakteriziran je vidljivim promjenama u mlijeku (sadrži pahuljice ili grudice) i/ili na vimenu (otečeno i bolno). Subklinički mastitis definira se kao upala mliječne žlijezde bez jasnih vidljivih znakova, te su za otkrivanje potrebni dijagnostički testovi poput određivanja broja somatskih stanica ili mastitis test. Subklinički mastitis je najraširenija bolest u proizvodnji mlijeka (Kelly 2002.). Subklinički mastitis je učestaliji (20-50 puta) od kliničkog, stoga su štete i ekonomski gubitci daleko veći. S obzirom na ukupan broj upala vimena, klinički mastitis pojavljuje se u 5-10% slučajeva, dok se subklinički matitis pojavljuje čak u 90-95% slučajeva. Upale vimena uzrokuju velike ekonomske gubitke u proizvodnji zbog: smanjene proizvodnje mlijeka (60%), povećanih troškova obnove stada (7%), većeg udjela ljudskog rada rada (16%), veterinarskih troškova (1%) i troškova lijekova (3%). Također, smanjuje se prodajna vrijednost mlijeka te dio mlijeka odlazi u kategoriju neupotrebljivog (9%) (Rupić i Havranek 2003.).

Najčešći uzročnici mastitisa klasificiraju se prema stupnju oštećenja u mliječnoj žlijezdi. Dijele se na „minor“ i „major“ patogene. Koagulaza negativni stafilokoki, mikrokoki,

koliformne bakterije (*Escherichia coli*) i corinebakterije (*Corynebacterium pyogenes*) smatraju se minor patogenima, dok se koagulaza pozitivni stafilokoki (*Staphylococcus aureus*), streptokoki (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactiae*, *Streptococcus uberis*), enterobakterije, *Pseudomonas* i mikoplazma, smatraju major patogenima. Koagulaza negativni stafilokoki predstavljaju 60-92% od ukupnog broja izoliranih bakterija u ovčjem mlijeku (Antunac 2003.). Uzročnici mastitisa mogu biti opasni i za ljude. *Mycobacterium tuberculosis* je značajan kao patogen te uzrokuje smrt životinja i tuberkulozu ljudi (Kelly 2002.).

Između zdravog vimena i vimena zaraženog uzročnicima koji najčešće uzrokuju mastitis (tzv. "major patogeni"), postoji prema broju somatskih stanica jasna i lako uočljiva granica. Kod infekcije uzročnicima koji rjeđe uzrokuju mastitis ("minor patogeni"), zbog blagog povećanja broja somatskih stanica, to nije slučaj. Zbog toga je važno pravilno postaviti prag, odnosno donju granicu broja somatskih stanica, da ne bismo imali lažno negativne rezultate, prema kojima bi mlijeko od životinja inficiranih s "minor patogenima" bilo smatrano zdravim i higijenski prihvatljivim (Antunac 2003.).

Upala vimena ili mastitis može se klinički različito očitovati prema intenzitetu upale, trajanju upale i konačnom ishodu upalnog procesa. Razlikuju se subklinčki oblik koji se manifestira bez vidljivih znakova (simptoma) na vimenu, isto tako bez organoleptičkih promjena mlijeka te klinički oblik koji je vidljiv s jasno izraženim znakovima na vimenu (crvenilo, otok, bolnost, povišena temperatura organizma i vimena) i s organoleptičkim promjenama mlijeka. Mlijeko mijenja izgled, konzistenciju (vodenasto, gusto, krpičasto), boju (crvenkasto, žuto, plavkasto, zelenkasto), miris (na trulež, po lijekovima, po silaži, po stočnom kelju i repi, po balegi) i okus (slankast, gorak). Prema uzrocima i prema intenzitetu, postoji nekoliko subkliničkih oblika upale: poremećaj sekrecije vimena, latentna infekcija, kataralna upala (akutna i kronična).

2.3.2. Poremećaj sekrecije

Pri poremećaju sekrecije u mlijeku i na vimenu ne opažaju se promjene koje bi upozorile na bolest, ali je povećan broj somatskih stanica u mlijeku dok je bakteriološki nalaz negativan i iz mlijeka se ne može izolirati uzročnik. Vime je neinficirano, a mlijeko je slankastog okusa. Uzroci poremećaja sekrecije najčešće su gruba i neredovita mužnja, predugo držanje sisnih

čaša na sisama, tj, mužnja praznog vimena, nepotpuna odnosno prekratka mužnja sustavom za mužnju i različiti hormonski poremećaji. Broj somatskih stanica u mlijeku može bit povećan i zbog različitih nepravilnosti u hranidbi (nagla promjena sastava obroka ili nekog krmiva u obroku), zbog učestalosti mužnje, stadija laktacije, laktacijske dobi, tjeranja (estrusa), nastupa jalovosti (steriliteta), nagle promjene načina držanja i ambijenta.

Latentna infekcija vimena

Pri latentnim infekcijama uzročnik je izoliran, u vimenu se nalaze različiti mikroorganizmi pretežno bakterije koji uzrokuju upalne procese manjeg intenziteta. Povećan je broj somatskih stanica, a mlijeko je slankastog okusa. Latentne infekcije obično traju više mjeseci, a na njih se u najvećem broju slučajeva nastavljaju kronične kataralne upale vimena. Kliničkim pregledom vimena i organoleptičkim pregledom mlijeka svake mužnje, ne nalaze se promjene koje bi upozoravale na bolest vimena. Ponekad, pri manjim infekcijama, obrambeni (nespecifična i specifična) sustav organizma i vimena nadvladavaju patogene mikroorganizme i tada upala spontano prolazi.

Kataralna upala vimena

U slučaju kataralne upale vimena, upalni proces obuhvaća površinski sloj sluznice (cisterne, mliječni kanali i kanalići) i alveole žljezdanog dijela vimena. Upala se dijeli na akutnu i kroničnu. Obje upale uzrokuju virusi (*herpesvirus* zaraznog rinotraheitisa), mikoplazme (*Mycoplasma bovis*), klamidije (*Chlamydia psittaci*), bakterije (*Streptococcus agalactiae, Sc. dysgalactiae, Sc. uberis, Sc. parauberis*, *Sc. aureus, Sc. bovis*, kaugulaza-negativni stafilokoki, *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Mycobacterium bovis, M. tuberculosis*) te gljivice (rod *Candida* - *C. albicans*) i njihovi toksini. Uz to, uzročnici kataralne upale, također su i riketsije (*Coxiella burnetti*) te alge bez klorofila (*Prototheca zopfil* i *Prototheca wickerhamii*). Mikroorganizmi u vime dospijevaju preko sisnog kanala, a prenose se sa životinje na životinju pri mužnji, nepridržavanjem osnovnih pravila higijene i dezinfekcije, zatim steljom koja je kontaminirana mikroorganizmima.

a) Akutna kataralna upala vimena

Akutna kataralna upala je bolest vimena koja se razvija vrlo brzo, nerijetko se mijenja i opće stanje životinje. Zahvaćena polovina vimena je otečena i toplija u odnosu na zdravu. Patološki sekret može biti prisutan u vrlo malim ili velikim količinama, ovisno o jačini upalnog procesa.

b) Kronična kataralna upala vimena

Kronična kataralna upala vimena jedan je od najvećih zdravstvenih problema u mljekarstvu i stvara velike štete u proizvodnji. Štete se očituju u smanjenju količine mlijeka, izlučivanju životinja iz uzgoja, a mlijeko takvih životinja nije za prehranu ni preradu. Upala zahvaća cjelokupnu sluznicu cisterne, velike i manje mliječne kanaliće te alveole. Proces upale se postupno proširuje na kompletnu sluznicu mliječnih puteva. Upala se sporo širi po vimenu, na vimenu nema kliničkih znakova patoloških promjena, niti u mlijeku nema jasnih organoleptičkih promjena osim što je slankastog okusa. Razvojem upale smanjuje se količina mlijeka koje postaje vodenasto i plavkaste boje. Ponekad se mogu pronaći grudice i krpice gnoja, naposljetku vime atrofira. Bolest je dugotrajna i traje više mjeseci. Zbog odsutnosti ranih znakova bolesti, vlasnici uočavaju simptome tek nakon uznapredovale patološke promjene (Rupić i Havranek 2003.).

2.3.3. Okolišni čimbenici

Nakon infektivnih čimbenika koji u najvećoj mjeri uzrokuju značajno povećanje broja somatskih stanica, slijede okolišni čimbenici, a na mnoge od njih može utjecati i sam uzgajivač. Najvažniji su: dob životinje, stadij i redoslijed laktacije, pasmina, način držanja, geografsko područje i godišnje doba, veličina stada, stres, pretjerana fizička aktivnost, mužnja i edukacija proizvođača (Čačić i sur. 2003.).

2.3.3.1. Dob životinje

Broj somatskih stanica u mlijeku povezan je s dobi muzne životinje. Veza između dobi i broja somatskih stanica je proporcionalna. Starije jedinke su vremenski duže izložene djelovanju mikroorganizama koji uzrokuju mastitis, pa je veći broj starijih jedinki zaražen. Uz to, starije životinje, sklonije su dužem trajanju infekcije (Reneau 1986.). Na broj somatskih stanica utječe i dob pri prvom partusu. S povećanjem dobi, povećava se i broj somatskih stanica u mlijeku (Schultz i sur. 1990.).

2.3.3.2. Stadij laktacije

Početak i kraj laktacije su dva kritična razdoblja u kojem mlijeko sadrži povećan broj somatskih stanica. Neposredno nakon partusa kolostrum sadrži povećan broj somatskih stanica, zatim se broj smanjuje završetkom kolostralnog razdoblja. Broj somatskih stanica najniži je sredinom, a najviši krajem laktacije. Krivulja broja somatskih stanica u pravilu je obrnutog smjera od laktacijske krivulje. S obzirom na normalno povišen BSS u početku laktacije, određivanje se ne preporuča prije šestog dana nakon partusa (Reneau 1986.). Broj somatskih stanica ostaje povišen i dva tjedna nakon partusa pri čemu je prosjek 242 $x10^3$ SS/mL. Schultz i sur. (1990.) navode kako je u 1. laktaciji broj somatskih stanica veći na početku laktacije, dok je kod 2. i ostalih laktacija broj veći pred zasušenje.

2.3.3.3. Redoslijed laktacije

Redoslijed laktacije ima značajan utjecaj na broj somatskih stanica u mlijeku. Prosječni broj somatskih stanica u mlijeku krava koje su po prvi puta u laktaciji, uz neinficirano vime iznosi $232x10^3$/mL. Broj somatskih stanica u pojedinoj laktaciji se povećava, u prosjeku za $100x10^3$/mL. Povećanje broja somatskih stanica negativno se odražava na mliječnost bez obzira na redoslijed laktacije, što potvrđuju i Vecht i sur. (1989.), te dodaju kako je broj somatskih stanica značajno bio viši u bakteriološki pozitivnim uzorcima mlijeka.

2.3.3.4. Pasmina

Veliki utjecaj na sastav i proizvodnju mlijeka ima pasmina. Sastav mlijeka unutar pasmine mijenja se na dnevnoj bazi, a ovisi o već spomenutim čimbenicima. Selekcija ovaca za proizvodnju mlijeka dovodi do stvaranja mliječnih pasmina koje proizvode više mlijeka od pasmina koje proizvode meso ili vunu. Najmlječnija pasmina je istočno-frizijska ovca koja u laktaciji proizvodi i do 600 i više kilograma mlijeka (Antunac i Havranek 1999.).

Mliječne pasmine visokog genetskog potencijala imaju veliku fiziološku opterećenost vimena, zbog čega je smanjena otpornost istog, što dovodi do veće sklonosti ka mastitičnom oboljenju. Schultz i sur. (1990.) razmatrali su razlike u broju somatskih stanica u prvoj laktaciji krava, te su utvrdili, da je broj somatskih stanica za visoko mliječne pasmine bio najviši na početku laktacije, dok je kod manje mliječnih pasmina broj somatskih stanica bio najviši na kraju laktacije.

2.3.3.5. Način držanja

Način držanja, koji uključuje ambijentalne uvjete boravka životinje utječe na njeno zdravstveno stanje. Tako, držanje u neodgovarajućim uvjetima dovodi do smanjenja opće otpornosti organizma, većoj sklonosti infekcijama te smanjenja proizvodnje, što za posljedicu ima povećanje broja somatskih stanica u mlijeku. Hutton i sur. (1990.) su zaključili da držanje životinja na suhom ležištu pridonosi smanjenju broja somatskih stanica u mlijeku. Nadalje, Bartlett i sur. (1992.a) primjećuju manji broj somatskih stanica u mlijeku životinja držanih na stelji te zaključuju da je njihov broj manji u stadima koja su cijelu ili veći dio godine držana na pašnjaku. Povratak sa pašnjaka u staju životinjama predstavlja veliki stres, te je normalno za očekivati povećani broj somatskih stanica u mlijeku tijekom tog perioda. Osim suhog ležišta i boravka životinje na otvorenom, na broj somatskih stanica utječe i način držanja, slobodni ili vezani. Tako su Vecht i sur. (1989.) ustanovili da je njihov broj manji u slučaju slobodnog držanja.

2.3.3.6. Geografsko područje, godišnje doba (sezona) i hranidba

Geografsko područje i godišnje doba su čimbenici koji također imaju utjecaj na broj somatskih stanica koje se nalaze u mlijeku te su u uskoj vezi s hranidbom životinja. U zimskim mjesecima hrana je oskudna i deficitarna u pojedinim hranjivim tvarima. Zbog nedostatne i nekvalitetne hranidbe, ovce imaju smanjenu otpornost prema mikroorganizmima, dok to nije slučaj u periodu ljetnih mjesec kada je hrana bogata raznim nutrijentima, što ovcama daje bolju kondiciju i veću otpornost organizma. Uz to, u ljetnom razdoblju broj somatskih stanica u mlijeku je u pravilu najniži. Anifantakis i sur. (1996.) istraživali su stado ovaca u Grčkoj i zabilježili najviši broj somatskih stanica tijekom siječnja (≈9.380x10^3/mL), nešto niži u svibnju (≈1.780x10^3/mL), a najniži u lipnju (≈1.240x10^3/mL). Prema tome, može se zaključiti da se broj somatskih stanica smanjuje s dolaskom toplijih mjeseci, u jesen povećava a u proljeće ponovno smanjuje. Suprotno od navedenog, Reneau (1986.) navodi da je broj somatskih stanica najviši u ljetnim mjesecima i kao razlog tomu navodi povećanu bakteriološku kontaminaciju sisa. Ubertalle i sur. (1996.) navode kako su individualni uzroci mlijeka ovaca hranjenih sijenom sadržavali 1.632x10^3 SS/mL, dok u ovaca hranjenih zelenom silažom, broj somatskih stanica bio je nešto niži i iznosio je 1.182x10^3/mL, dok je u ovaca hranjenih lucerkinim sijenom bio najniži (890x10^3 SS/mL). Sukladno geografskom području Vecht i sur.(1989.) su ustanovili veći broj somatskih stanica na farmama smještenim u sjevernim u odnosu na južna područja.

2.3.3.7. Veličina stada

Na broj somatskih stanica u mlijeku utječe i veličina stada, i to proporcionalno na način da što je veći broj jedinki u stadu veći je i broj somatskih stanica u mlijeku. Navedeno dokazuju Kalit i Lukač Havranek (1999.) te navode kako se na gospodarstvima s više od 4 grla značajno povećava broj somatskih stanica u skupnom mlijeku, što je povezano s uvođenjem strojeva za mužnju preko kojih se povećava mogućnost infekcije vimena.

2.3.3.8. Stresni čimbenici i ostale bolesti

Različiti oblici stresa (izolacija, promjena vremena, temperaturni šok, visoka vlažnost zraka i sl.) uzrokuju povećanje broja somatskih stanica u mlijeku. Također, do povećanja može doći u slučaju promjenjivog napona električne energije u radu uređaja za mužnju. Isto tako, mužnja praznog vimena zbog nepravodobnog skidanja sisnog sklopa predstavlja stres pri čemu dolazi do oštećenja tkiva sisa i vimena te povećanja broja somatskih stanica. Većinom stres uzrokuje povećanje broja somatskih stanica u životinja koje su inficirane. Zdrave životinje na stres ne reagiraju značajnim povećanjem broja somatskih stanica. Mehaničke ozljede vimena, kao što su udarci, nisu promjene uzrokovane infekcijom sekretornog dijela vimena, ali uzrokuju povećanje broja somatskih stanica u mlijeku. Estrus zajedno sa bilo kojom drugom infekcijom, koja se odvija bilo gdje drugdje u organizmu, ne utječu na povećanje broja somatskih stanica (Harmon 1994.).

2.3.3.9. Pretjerana fizička aktivnost

Pod određenim okolišnim uvjetima (oskudna hranidba i brdoviti pašnjak) te duže hodanje predstavlja napornu fizičku aktivnost koja povećava hranidbene potrebe i smanjuje proizvodnju mlijeka. Smanjenje proizvodnje uzrokovano dugim hodanjem između 9 i 12 km povećava broj somatskih stanica bez kliničkih znakova mastitisa (Coulon i sur. 1998.). Kako navedeni učinak može stvoriti ekonomske gubitke, spomenuti autori proučavali su učinak hodanja na broj somatskih stanica u mlijeku. Njihovi rezultati su pokazali kako su životinje koje su duže hodale imale smanjenu mliječnost i povećan broj somatskih stanica za $115x10^3$/mL. Broj somatskih stanica značajno je varirao u mlijeku pojedinih životinja već nakon prvog dana hodanja. Osim što utječe na broj somatskih stanica, naporna fizička aktivnost utječe na promjenu vrste stanica, polimorfonuklearni leukociti bili su povišeni u životinja koje su hodale. Pretjerana aktivnost uzrokuje povećanje broja somatskih stanica no autori navode da u potpuno zdravih životinja broj somatskih stanica nije nikada bio veći od $300x10^3$ SS/mL, bez obzira na dužinu hodanja.

2.3.3.10. Mužnja

Mužnja je najvažniji i najosjetljiviji postupak u proizvodnji mlijeka. Ona ne utječe samo na kvalitetu mlijeka, već i na broj somatskih stanica u njemu, odnosno na pojavu mastitisa. Od svih okolišnih čimbenika koji utječu na broj somatskih stanica, mužnja je najvažniji. Način mužnje (ručna ili strojna mužnja) ima značajan utjecaj na povećanje broja somatskih stanica (Blowey i Edmondson 1995.). Veliki utjecaj na broj somatskih stanica ima ručna mužnja koja za razliku od strojne ima daleko niži stupanj higijene. No bez obzira što se strojnom mužnjom osigurava viši stupanj higijene, muzni uređaj može biti izvor kontaminacije, zbog čega ima veliki utjecaj na pojavu infekcije vimena (Blowey i Edmondson 1995.). Ukoliko se oprema pravilno ne čisti, ne dezinficira i ne održava, njome će se prenositi patogeni mikroorganizmi tijekom mužnje. Osim toga, neodgovarajuća visina vakuuma i broj pulzacija, također utječu na povećanje broja somatskih stanica. Stalna izloženost sisa visokom vakuumu uzrokuje oštećenje kože na sisama nakon prestanka istjecanja mlijeka. Povećana je mogućnost ozljede i oštećenja vrha sise, pa često dovode do infekcije, upale i povećanja broja somatskih stanica (Hanuš i Tichaček 1997.) Pulzacije uvjetuju cikličke promjene vakuuma u aparatu. Omjer i broj pulzacija, prekid izravnavanja sisnih guma te neujednačen rad sisnih čaški, glavni su parametri muznog uređaja koji utječu na povećanje broja somatskih stanica. Bartlett i sur. (1992.b) dokazali su da na farmama gdje se provodila stimulacija vimena (vrijeme od prvog kontakta muzača s životinjom do trenutka stavljanja sisnog sklopa), mužnja je trajala manje od 30 sekundi, broj somatskih stanica bio veći u odnosu na farme gdje je stimulacija trajala duže od 30 sekundi.

2.3.3.11. Protok mlijeka

Mijić i sur. (2001.) su utvrdili izravnu proporcionalnu vezu između broja somatskih stanica i protoka mlijeka te zaključuju da se broj somatskih stanica povećava s porastom brzine protoka mlijeka, odnosno kraćim trajanjem mužnje.

2.3.3.12. Vrijeme i način uzorkovanja mlijeka

Istraživanja su pokazala da značajne varijacije broja somatskih stanica ovise o vremenu uzorkovanja, a njihov je broj najviši prilikom izmuzivanja posljednjih mlazeva te 1-3 sata nakon mužnje. Također, zapaženo je da je u poslijepodnevnim uzrocima sadržano dvostruko više somatskih stanica u odnosu na prijepodnevne uzorke, što se može pripisati nejednakim intervalima mužnje. Istraživanja pokazuju da BSS može znatno varirati od dana do dana. Koeficijent varijacije u dnevnim uzorcima skupnog sirovog mlijeka je 24%, a mjesečni koeficijent može varirati između 4 i 46%, te prosječno iznosi 20%. Veće dnevne i mjesečne varijacije u broju somatskih stanica zabilježene su kod stada s učestalijom pojavom mastitisa. Uz to, na njihov broj utječe i uzimanje i čuvanje uzoraka mlijeka, transport i različiti postupci tijekom analize. Upravo iz tog razloga, važno je standardizirati postupke i izvršiti umjeravanje instrumenata za brojanje. Uzorke bi trebalo uzimati u mjesecima kada je proizvodnja najviša (laktacijski vrh) te u intervalima od 4 do 6 tjedana. Uzorci se uzimaju pojedinačno od svake životinje te su rezultati najtočniji, ako se uzimaju iz svake polovice vimena zasebno. Te analize tijekom laktacije ukazuju na indikaciju mastitisa u stadu. U 70–80% životinja s povišenim brojem somatskih stanica inficirana je samo jedna polovina vimena, međutim analize svake polovine posebno su nepraktične i skupe (Reneau 1986.).

2.3.3.13. Educiranost uzgajivača– farmera

Edukacija i informiranost uzgajivača, temelj je svake higijenski kvalitetne proizvodnje mlijeka. Higijenski ispravno mlijeko kao parametar koji određuje cijenu mlijeka diktira mnoga pravila i zahtjeve uzgajivačima. Sami uzgajivači, odnosno farmeri moraju poznavati zdravstveno stanje svojeg stada, biti upoznati sa mogućom pojavom bolesti u njemu, da bi mogao primijeniti prevenciju, a u slučaju pojave bolesti, pravovremeno prepoznati simptome i adekvatno postupiti sa životinjom u korist sprječavanja širenja zaraze te njenom izlječenju u što kraćem vremenskom roku. Kako bi se smanjio broj somatskih stanica, potrebno je izlučiti jedinke s kronično povećanim brojem somatskih stanica (Blowey i Edmondson 1995.), povećati troškove za održavanje i zamjenu dotrajale muzne opreme i poboljšati management u cilju sprječavanja širenja infekcije u stadu. Nužno je permanentno educirati uzgajivače o važnosti praćenja broja somatskih stanica i njihovog smanjenja u mlijeku. Hutton i sur. (1990.)

razmatranjem stada sa visokim i niskim brojem somatskih stanica, zaključuju da su uzgajivači mlijeka s nižim brojem somatskih stanica u njemu, bolje educirani, zbog redovitog pohađanja različitih stručnih skupova. Tako je od analiziranih proizvođača 79% pohađalo tečaj managementa u mljekarstvu, dok je iste tečajeve pohađalo samo 28% proizvođača koji su proizvodili mlijeko s visokim brojem somatskih stanica. Uzgajivači mlijeka čije mlijeko sadrži niski broj somatskih stanica redovito prate stručne časopise, veterinar ih informira o zdravlju vimena, dok druge izvore informacija kao što je suradnja s drugim farmama, koriste povremeno. Općenito, broj somatskih stanica niži je na farmama gdje su uzgajivači mlijeka svjesni nužnosti provođenja kontrole mastitisa.

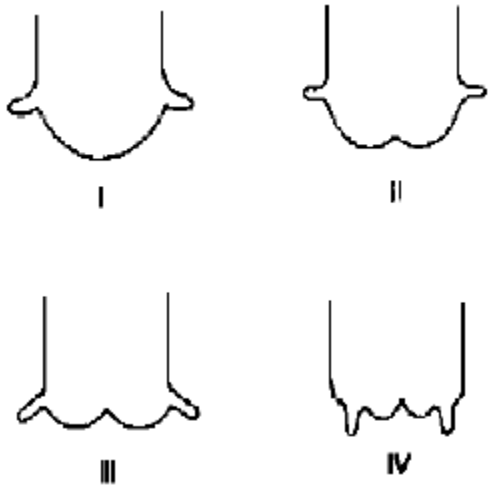
2.3.4. Genetski čimbenici

Genetski čimbenici su skupina čimbenika na koje čovjek može utjecati selekcijom no heritabilitet za broj somatskih stanica iznimno je nizak zbog čega je postupak selekcije na smanjenje broja somatskih stanica dugotrajan i teško ostvariv. Ipak, postoji mogućnost poboljšanja otpornosti na mastitis neizravnom selekcijom morfoloških karakteristika vimena i sisa. Odnosno dubine vimena, osobito zadnje četvrti (II i III) te razmaknutosti sisa. Takva selekcija može smanjiti pojavu mastitisa (Monardes i sur. 1990.).

Poželjan oblik i izgled vimena ovaca nije jednoznačno određen te je ponajviše uvjetovan proizvodnim ciljem i genotipom, odnosno pasminom. Tako u pasmina koje se koriste za proizvodnju mesa te držanih na lošim, nepristupačnim i zakorovljenim pašnjacima, poželjno je dobro pričvršćeno i ne previše obješeno vime kako bi rizik od ozljeda bio što manji (Casu i sur. 2006.). Dok je kod mliječni pasmina ovaca, osobito visoko-mliječnih pasmina, kod kojih je primjena strojne mužnje sve prisutnija, poželjno pravilno razvijeno i zdravo vime, velikog volumena i okruglog oblika, dobro pričvršćeno za trbuh, osrednje dubine, ne prelazeći visinu skočnog zgloba, sise srednje veličine (duljina i širina), da su postavljene vertikalno ili barem što više vertikalno s mekim i elastičnim tkivom i dobro izraženim intermamarnim žlijebom (Caja i sur. 1999.).

Vime ovaca pojavljuje se u nekoliko oblika (tipova). Od neprikladnog do idealnog vimena za mužnju (slika 1). Praktična klasifikacija prikladnosti ovčjeg vimena prema strojnoj mužnji dijeli oblik vimena u četiri tipa. Najpoželjniji (najprikladniji) oblik vimena je tip IV. Ovaj tip

vimena obilježava vertikalno postavljene sise te dobro izraženi intermamarni žlijeb. Najmanje poželjan (neprikladan) tip je I, koji obilježava horizontalno postavljene sise , obješeno vime, odnosno velik dio vimena ispod razine sisnih baza (slika 1).



Slika 1. Tipovi ovčjeg vimena s obzirom na prikladnost strojnoj mužnji
(Izvor: Sagi i Morag 1974.).

2.4. Svrha i razlozi određivanja broja somatskih stanica

S obzirom da se ovčje mlijeko koristi isključivo za preradu u sir, u tom slučaju iznimno je važno poznavanje mogućnosti promjena mlijeka do kojih dolazi s povećanjem broja somatskih stanica. Kako je njihovo određivanje važno za uzgajivače, tako je važno i za prerađivače. Uzgajivačima broj somatskih stanica služi kao indikator zdravlja vimena, indikator subkliničkog mastitisa pojedinih jedinki, kliničkog mastitisa u stadu te za detekciju jedinki koje treba podvrgnuti liječenju ili izlječenju. Također, jedan od razloga su i provođenje redovite kontrole zdravlja vimena prije zasušenja te prije izlaska iz porodilišta, zatim kontrola terapijskog učinka i prilikom kupoprodaje i procjene zdravstvenog stanja vimena životinja koje su u laktaciji. Sveobuhvatno, za provođenje edukativnih programa obuke proizvođača mlijeka. S druge strane, prerađivačima mlijeka broj somatskih stanica predstavlja osnovu za indikaciju kvalitete mlijeka kao sirovine za preradu. Osim toga broj somatskih stanica može se koristiti i u selekciji, gdje služi kao pomoć u ocjeni učinkovitosti različitih postupaka koji se koriste u programima smanjenja njihovog broja (Antunac 2003., Rupić i Havranek 2003.).

2.5. Proizvodnja ovčjeg mlijeka (dnevna količina mlijeka)

Od ukupnog broja ovaca samo 10-12% uzgaja se radi proizvodnje mlijeka (Mioč i sur. 2017.). Proizvodnja ovčjeg mlijeka u Hrvatskoj je sezonskog karaktera i bazira se uglavnom na izvornim pasminama ovaca, priviknutim na oskudnu vegetaciju i hranidbu, različite klimatske uvjete i nedostatak oborina. Među najvažnije pasmine ovaca koje se u Hrvatskoj koriste za proizvodnju mlijeka, uz istočnofrizijsku ovcu su još i paška ovca, dalmatinska pramenka, creska ovca, krčka ovca, istarska ovca i travnička pramenka. Velike razlike u učinkovitosti proizvodnje mlijeka uvjetovane su brojnim genetskim i negenetskim čimbenicima (Mioč i sur. 2004.a).

U posljednja dva desetljeća zbog neprekidnog sve većeg interesa za proizvodnjom i preradom ovčjeg mlijeka, mijenja se trend, ne samo u industrijskim uvjetima već i na malim obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. U skladu s time, Hrvatskoj su uzor zemlje s razvijenim mliječnim ovčarstvom (Novi Zeland, Švicarska, Australija, Canada (Kelly 2002.)), zbog čega se i kod nas nastoji primjenjivati uzgojna i tehnološka rješenja za što učinkovitijom proizvodnjom ovčjeg mlijeka, kako bi proizvodni (genetski) potencijal mliječnih ovaca bio što bolje iskorišten (Mioč i Prpić 2014.).

Pod uzorna uzgojna i tehnološka rješenja podrazumijevaju se uzgojni programi, koji se, osim na korištenju odgovarajućeg genotipa (pasmine), baziraju i na prilagođavanju cjelokupne tehnologije proizvodnom cilju, što je u ovom slučaju proizvodnja mlijeka (Mioč i sur. 2007.).

Paška ovca najbrojnija je hrvatska izvorna pasmina ovaca (Mioč i sur. 2007.). Prema Godišnjem izvješću Hrvatske Poljoprivredne Agencije (2018.), broj uzgojno valjanih grla paške ovce u posljednjih deset godina je u porastu. Prosječna veličina stada je 113 ovaca. Veličina sveukupne populacije ovaca na otoku Pagu je ≈30.000 grla, a u proizvodnji mlijeka koristi se ≈24.000 rasplodnih ovaca.

Antunac i Havranek (1999.) navode mliječnost paških ovaca od 100 L u laktaciji u ekstenzivnoj proizvodnji (bez količine koju posiše janjad), a u intenzivnoj i do 350 L/ovci, ovisno o uvjetima uzgoja i načinu držanja. Paška ovca je kombiniranog uzgojnog cilja mlijeko-meso. Posljednjih nekoliko desetljeća uzgajaju se prvenstveno radi proizvodnje mlijeka koje se prerađuje u punomasni, tvrdi ovčji Paški sir. Uz mlijeko, paška ovaca uzgaja se i radi janjadi koja je prepoznatljiva po maloj masi trupa te mesu izvrsne kakvoće, izuzetno traženom na

domaćem tržištu (Pavić i sur. 2005.). Uslijed specifičnih agroklimatskih uvjeta otoka Paga, posebnosti biljnog pokrova (vegetacije), mnogobrojnih vrsta aromatičnog i ljekovitog mediteranskog bilja, ovčji proizvodi (mlijeko, sir i meso) posebnog su okusa. Česte posolice i visoke koncentracije soli u tlu izravno utječu na strukturu biljnog pokrova, preko kojega i na kvalitetu mlijeka i mesa (Mioč i sur. 2007.).

Antunac i sur. (2011.) utvrdili su utjecaj stadija i redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka paških ovaca. Ustanovili su prosječnu dnevnu količinu mlijeka paških ovaca od 773 g, te je sredinom laktacije bila viša u odnosu na početak (655 g) odnosno kraj (606 g) laktacije. Proizvedene dnevne količine mlijeka tijekom jutarnje mužnje bile su veće u odnosu na količine mlijeka prikupljene tijekom večernje mužnje. Redoslijed laktacije značajno je utjecao na dnevnu količinu mlijeka. Najniža dnevna količina mlijeka (559 mL) utvrđena je u 1., a najviša (712 mL) u 3. laktaciji. Varijabilnost ukupne dnevne količine mlijeka bila je od 40-44% (Antunac 2011.), dok Mioč i sur. (2004.b) navode da je u istočnofrizijskih ovaca bila niža (38%), iako je dnevna količina mlijeka bila gotovo dvostruko viša.

3. Cilj istraživanja

Cilj rada je utvrditi utjecaj stadija (rani, srednji i kasni) i redoslijeda laktacije (1., 2., 3., 4., 5. i ostale), na promjene dnevnih količina mlijeka i promjene broja somatskih stanica u mlijeku paških ovaca.

4. Materijali i metode

4.1. Stado

Odabrana stada uzgajana su na području Kolana i Caske. Pri odabiru vodilo se računa o ujednačenosti veličine stada i tehnologiji uzgoja, hranidbi i početku laktacija. Dnevni obrok ovaca sastojao se od paše konzumirane s prirodnih pašnjaka. U ljetnim mjesecima paša je bila jedina hrana ovcama, dok se zimski obrok sastojao od livadnog sijena (1,3-1,5 kg/grlu/dan) i kukuruzne prekrupe (200-300 g/grlu/dan). Stadij laktacije bio je podijeljen na rani (do 50. dana), srednji (od 51.-100. dana) i kasni (>101. dana do kraja laktacije). Ovce su tijekom pojedinih laktacija bile razvrstane u 1. laktaciju (A), 2. laktaciju (B), 3. laktaciju (C), 4. laktaciju (D) i 5. i ostale laktacije (E). Istraživanjem je bilo obuhvaćeno ukupno 213 paških ovaca, od kojih je 18 bilo u prvoj (1.), 25 u drugoj (2.), 48 u trećoj (3.), 32 u četvrtoj (4.) i 90 ovaca u petoj (5.) i ostalim laktacijama.

4.2. Opis paške ovce

Paška ovca nastala je na području istoimenog otoka, gdje se i danas uzgaja. Izvorno, ona je križanac autohtone otočne pramenke i merina. Čvrste je i skladne tjelesne građe, s osrednje izraženim širinama i dubinama. Noge su čvrste i jake, besprijekorno koordiniranih pokreta. Tijelo je prekriveno zatvorenim do poluzatvorenim runom miješanom vunom. Najčešće su bijele boje, ali se mogu naći i grla sive te crne boje. Ovce za proizvodnju mlijeka pripuštaju se od srpnja do kolovoza, a janjad od kraja prosinca do veljače. Janjad se kolje vrlo rano, u dobi od 25 do 45 dana, nakon čega se ovce muzu. Laktacija paške ovce traje oko 172 dana, tijekom koje proizvedu oko 150 kg mlijeka s 8,0% mliječne mast i 6,03% bjelančevina. Ovce se janje jednom godišnje, dajući najčešće jedno janje, a dvojci se javljaju u oko 20% slučajeva. Porodna masa janjadi je od 2,5 do 3,5 kg, a klaonička masa od 8 do 14 kg (Mioč i sur. 2007.).



Slika 2. Paška ovca

(Izvor: http://www.ovce-koze.hr/ovcarstvo-kozarstvo/ovcarstvo-i-kozarstvo-u-rh/ovcarstvo-i-kozarstvo-u-rh/pasmine-ovaca/paska-ovca/)

4.3. Kontrola mliječnosti ovaca

Mlijeko paških ovaca prikupljeno je na dva gospodarstva koja se bave uzgojem paških ovaca. Uzorci mlijeka prikupljeni su jednom mjesečno, tj. nakon odbića janjadi pa do zasušenja ovaca. Nakon završenog razdoblja sisanja janjadi (oko 50.-og dana) uslijedilo je dojno razdoblje, tijekom kojeg su provedene četiri kontrole mliječnosti, prva u ožujku a posljednja u lipnju. Nakon odbića janjadi, uslijedilo je muzno razdoblje: početak (do 50. dana); sredina (od 51. do 100. dana) i kraj (od 101. dana do zasušenja). Kontrole mliječnosti provedene su svakih 28-34 dana, ručnim izmuzivanjem, ujutro i uvečer. Dnevna količina mlijeka (DKM) utvrđena je mjerenjem volumne zapremine (mL), u graduiranoj menzuri, a preračunata je na masu (g) pomoću faktora konverzije (1,036). Proporcionalni dnevni uzorak mlijeka sastavljen je od uzoraka jutarnje i večernje mužnje. Broj ovaca u svakoj pojedinoj kontroli bio je promjenjiv a ovisio je o zdravlju vimena i dužini laktacije.

4.4. Analize mlijeka

Analize ukupnog broja mikroorganizama (UBM) provedene su metodom protočne citometrije na instrumentu BactoScan, prema normi HRN EN ISO 21187:2008., dok je određivanje broja somatskih stanica (BSS) provedeno fluoro-opto-elektronskom metodom, na instrumentu Fossomatic 90 prema normi HRN EN ISO 13366-2:2007. Vrijednosti su logaritmirane prema bazi 10 radi dobivanja ujednačene raspodjele vrijednosti. Analize mlijeka izvršene su u Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.5. Statistička obrada podataka

Za svaki sastojak mlijeka izračunata je korigirana srednja vrijednost (LSM – *eng. Least Square Means*), standardna greška (SE) i koeficijent varijacije (CV). Izračunati su koeficijenti korelacija između pojedinih sastojaka. Testiranje značajnosti razlika između korigiranih srednjih vrijednosti stadija i redoslijeda laktacije provedeno je uz pomoć općeg linearnog modela (proc glm) i Tukey-evog testa značajnosti razlika. Statistička obrada podataka izvršena je primjenom statističkog paketa SAS (1999.). Analiza podataka obavljena je jednosmjernom analizom varijance (one way ANOVA), dok je za testiranje homogenosti varijance korišten Bartlett-ov test. Tukey test je korišten za višestruke usporedbe pri 95% intervalu pouzdanosti. Podaci su analizirani pomoću računalnog programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, San Diego CA).

5. Rezultati istraživanja i rasprava

Srednje korigirane vrijednosti dnevnih količina mlijeka koje su proizvele paške ovce tijekom laktacija, prikazane su u tablici 1. Ukupna dnevna količina mlijeka prikazana je i kao količina mlijeka dobivena pri jutarnjoj mužnji odnosno večernjoj mužnji.

Tablica 1. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu mlijeka

Stadij laktacije	DKM Jutro (mL)	DKM Jutro (%)	DKM Večer (mL)	DKM Večer (%)	DKM Ukupno (mL)
	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE
Rani (< 50 d.) (n=56)	369^{a} ±14,1	$59,50^{a}$ ±1,28	256^{a} ±16,8	$40,14^{a}$ ±1,28	633^{a} ±26,9
Srednji (51. do 100. d.) (n=215)	396^{a} ±8,6	$54,4^{b}$ ±0,65	349^{b} ±11,3	$45,50^{b}$ ±0,65	746^{b} ±17,6
Kasni (> 101 d.) (n=228)	311^{b} ±7,2	$52,5^{c}$ ±0,35	274^{a} ±5,9	$47,52^{c}$ ±0,36	585^{a} ±12,4

Različiti eksponenti označeni malim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P<0,05)

Količine mlijeka koju su paške ovce proizvele tijekom jutarnje mužnje varirale su od ≈311 mL (kasni stadij) do ≈400 mL (srednji stadij). Treba istaknuti da su paške ovce u ranoj i srednjoj fazi laktacije proizvele značajno (P<0,05) više mlijeka u odnosu na kasnu fazu tj. završetak laktacije. U odnosu na ukupnu dnevnu količinu proizvedenoga mlijeka, paške ovce su tijekom jutarnje mužnje proizvele od ≈52 do 60% mlijeka. Tijekom večernje mužnje, količine proizvedenog mlijeka bile su niže u odnosu na jutarnju mužnju tj. varirale su od ≈260 mL (rani stadij) do ≈350 mL (srednji stadij). Ukupna dnevna količina proizvedenog mlijeka paških ovaca bila je sredinom laktacije značajno (P<0,05) viša i iznosila je ≈750 g u odnosu na rani stadij (≈630 g) odnosno kasni stadij (≈590 g).

Višu dnevnu količinu ovčjeg mlijeka navode Bianchi i sur. (2004.) u prvom stadiju laktacije (≈1110 g), dok je najnižu dnevna količina mlijeka (≈455 g) zabilježena na kraju laktacije u sardinijskih ovaca.

Promjene ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih stanica u mlijeku paških ovaca tijekom stadija laktacije, prikazane su u tablici 2.

Tablica 2. Promjene ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih stanica u mlijeku tijekom stadija laktacije

Stadij laktacije	UBM (/mL)	log_{10}UBM	SS (/mL)	log_{10}SS
	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE
Rani (< 50 d.) (n=59)	39.034±7040	$4,34^{a}$ ±0,06	337.474±98.223	$5,21^{a}$ ±0,06
Srednji (51. do 100. d.) (n=253)	160.594±61.593	$4,32^{aA}$ ±0,03	285.712±58.386	$5,04^{b}$ ±0,03
Kasni (> 101 d.) (n=426)	126.340±34.635	$4,49^{aB}$ ±0,02	319.721±42.807	$5,15^{a}$ ±0,02

UBM = ukupan broj mikroorganizama
SS = broj somatskih stanica
n = broj mjerenja
Različiti eksponenti označeni malim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P<0,05)
Različiti eksponenti označeni velikim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P <0,05)

Ukupan broj mikroorganizama u mlijeku paških ovaca tijekom laktacije, varirao je od ≈40x10^3/mL (rani stadij) do ≈160x10^3/mL (srednji stadij). Treba naglasiti kako je logaritmirana vrijednost ukupnog broja mikroorganizama u kasnom stadiju laktacije (4,49) bila značajno viša (P<0,05) u odnosu na srednji stadij (4,32). U pogledu ukupnog broja somatskih stanica u mlijeku paških ovaca, njihov broj je varirao od ≈285x10^3/mL (srednji stadij) do 337x10^3/mL (rani stadij). Treba naglasiti kako je logaritmirana vrijednost ukupnog broja somatskih stanica u srednjem stadiju bila značajno (P<0,05) niža (5,04) u odnosu na rani stadij (5,21) odnosno kasni stadij (5,15).

Utjecaj stadija laktacije na promjenu broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku navode Králíčková i sur. (2011.), budući su u prvom stadiju laktacije utvrdili viši broj SS (≈762x10^3/mL) u odnosu na kasni stadij (340x10^3/mL). Između ranog i kasnog stadija laktacije, autori su utvrdili značajnu razliku (P<0,05) broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku.

Antunac i sur. (2002.) značajno viši broj somatskih stanica u mlijeku travničke pramenke utvrdili su na početku i u sredini laktacije u odnosu na kraj. U mlijeku paških ovaca Antunac i sur. (2004.) utvrdili su viši broj somatskih stanica na početku i kraju laktacije u odnosu na sredinu (P<0,01) dok je ukupan broj mikroorganizama bio je značajno viši u sredini laktacije u odnosu na početak i kraj.

Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu i pojedine komponente ovčjeg mlijeka, prikazan je u tablici 3.

Tablica 3. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu mlijeka, ukupan broj bakterija i broj somatskih stanica ovčjeg mlijeka

Komponenta ovčjeg mlijeka	**P vrijednost**
Ukupan broj bakterija (log_{10}UBM)	P<0,0001****
Broj somatskih stanica (log_{10}SS)	P=0,0018**
Dnevna količina mlijeka (DKM) - Jutro	P<0,0001****
DKM - Jutro (%)	P<0,0001****
DKM - Večer	P<0,0001****
DKM – Večer (%)	P<0,0001****
DKM - Ukupno	P<0,0001****

UBM = ukupan broj mikroorganizama
SS = broj somatskih stanica
ns nije značajno (P≥0,05)
*značajan utjecaj 0,01≤P<0,05
**značajan utjecaj 0,001≤P<0,01
***značajan utjecaj 0,0001≤P<0,001
****značajan utjecaj P<0,0001

Dnevne količine mlijeka paških ovaca u pojedinim laktacijama, prikazane su u tablici 4. Dnevne količine mlijeka prikazane su odvojeno za jutarnju odnosno večernju mužnju kao i ukupne dnevne količine.

Tablica 4. Utjecaj redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka

Redoslijed laktacije	DKM Jutro (mL)	DKM Jutro (%)	DKM Večer (mL)	DKM Večer (%)	DKM Ukupno (mL)
	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE
A (1.) (n=60)	291^{a} ±14,1	$55,74^{a}$ ±1,16	248^{a} ±18,8	$44,27^{a}$ ±1,16	539^{a} ±30,5
B (2.) (n=80)	$367^{b,A}$ ±16,1	$58,02^{a,A}$ ±1,02	$274^{a,A}$ ±17,3	$41,75^{a,A}$±1,01	$643^{a,A}$ ±30,6
C (3.) (n=170)	$371^{b,A}$ ±11,8	$54,11^{a,B}$ ±0,65	$315^{b,A}$ ±11,9	$45,99^{a,B}$±0,66	$686^{b,A}$ ±21,8
D (4.) (n=118)	$347^{a,A}$ ±14,5	$52,25^{a,B}$ ±0,73	$314^{b,A}$ ±13,8	$49,01^{a,B}$±0,76	$661^{b,A}$ ±26,7
E (5.) (n=310)	$334^{a,A}$ ±8,2	$52,68^{a,B}$ ±0,50	$300^{a,A}$ ±8,1	$47,32^{a,B}$±0,50	$634^{a,A}$ ±14,6

n= broj mjerenja
Različiti eksponenti označeni malim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P<0,05)
Različiti eksponenti označeni velikim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P<0,05)

Dnevne količine mlijeka kojeg su paške ovce proizvele tijekom jutarnje mužnje varirale su od ≈290 mL (1.) do ≈370 mL (3.). Potrebno je naglasiti kako su paške ovce u 2. i 3. laktaciji proizvede značajno (P<0,05) više mlijeka u odnosu na 1., 4. i 5. laktaciju. Od ukupne dnevne količine proizvedenog mlijeka, paške ovce su tijekom jutarnje mužnje proizvele od ≈52% (4.) do 58% (2.) mlijeka, dok su tijekom večernje mužnje proizvele od ≈42% (2.) do 49% (4.) mlijeka. Dnevne količine mlijeka tijekom večernje mužnje varirale su od 250 mL (1.) do ≈315 mL (3.). Najviša dnevna količina mlijeka paških ovaca od ≈690 mL utvrđena je u 3. laktaciji te je bila značajno viša (P<0,05) u odnosu na 1. (≈540 mL) , 2. (≈640 mL) i 5 (≈630 mL) laktaciju.

Antunac i sur. (2011.) su utvrdili značajan utjecaj redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka paških ovaca, pa je tako npr. najniža dnevna količina mlijeka (≈550 mL) utvrđena u 1., a najviša (≈712 mL) u 3. laktaciji. Suprotno tome, Vršková i sur. (2015.) navode značajno višu ($P<0,05$) dnevnu količinu mlijeka u cigaja ovaca, proizvedenog u 2. laktaciji (≈450 mL) u odnosu na 1. laktaciju (≈400 mL). Oravcová i sur. (2018.) nisu utvrdili značajne razlike ($P>0,05$) za dnevnu količinu mlijeka između 1. (≈510 mL), 2. (≈507 mL) i 3. (≈499 mL) laktacije.

Utjecaj redoslijeda laktacije na promjene ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih stanica u mlijeku paških ovaca, prikazan je u tablici 5.

Tablica 5. Utjecaj redoslijeda laktacije na ukupan broj mikroorganizama i broj somatskih stanica u mlijeku

Redoslijed laktacije	UBM (/mL)	log_{10}UBM	SS (/mL)	log_{10}SS
	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE	LSM±SE
A (1.) (n=60)	20.058±2.834	4,16^{a} ±0,05	168.867±26.797	5,09^{a} ±0,04
B (2.) (n=80)	26.779±4.698	4,21^{a} ±0,04	195.850±28.513	5,11^{a} ±0,04
C (3.) (n=170)	140.450±70.908	4,41^{b} ±0,04	219.383±39.756	5,05^{a} ±0,04
D (4.) (n=118)	183.731±78.625	4,46^{b} ±0,05	460.007±149.558	5,14^{a} ±0,05
E (5.) (n=310)	153.290±48.366	4,52^{b} ±0,03	358.132±47.370	5,15^{a} ±0,03

UBM = ukupan broj mikroorganizama
SS = broj somatskih stanica
n= broj mjerenja
Različiti eksponenti označeni malim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P<0,05)
Različiti eksponenti označeni velikim slovima u istoj koloni ukazuju da postoji statistički značajna razlika (P<0,05)

Ukupan broj mikroorganizama u mlijeku paških ovaca, s obzirom na redoslijed laktacije, varirao je od ≈20x10^{3}/mL (1. laktacija) do ≈180x10^{3}/mL (4. laktacija). Treba naglasiti kako je logaritmirana vrijednost ukupnog broja mikroorganizama u 1. i 2. laktaciji bila značajno niža (P<0,05) u odnosu na ostale tri laktacije. Broj somatskih stanica u mlijeku paških ovaca, varirao je od ≈170x10^{3}/mL (1. laktacija) do ≈460x10^{3}/mL (4. laktacija). Nisu utvrđene značajne razlike između logaritmiranih vrijednosti broja somatskih stanica s obzirom na redoslijed laktacije, a vrijednosti su varirale od ≈5,0 do ≈5,15.

Tančin i sur. (2017.) navode veće oscilacije logaritmiranih vrijednosti broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku, od ≈3,0 do ≈7,4. Vrškova i sur. (2015.) utvrdili su jednaku logaritmiranu vrijednost (5,30) za broj somatskih stanica u mlijeku cigaja ovaca u 1. i 2. laktaciji.

Suprotno gore navedenom, Oravcová i sur. (2018.) ističu značajnu razliku između logaritmiranih vrijednosti broja somatskih stanica u pojedinim laktacijama. Najviša logaritmirana vrijednost (5,38) broja somatskih stanica utvrđena je u 3. laktaciji, dok je najniža bila u 1. laktaciji (≈5,04) mliječnih ovaca u Slovačkoj.

Utjecaj redoslijeda laktacije na pojedine komponente ovčjeg mlijeka i na dnevnu količinu mlijeka, prikazan je u tablici 6.

Tablica 6. Utjecaj redoslijeda laktacije na pojedine komponente ovčjeg mlijeka i na dnevnu količinu mlijeka

Komponenta ovčjeg mlijeka	**P vrijednost**
Ukupan broj mikroorganizama (log_{10}UBM)	P<0,0001****
Broj somatskih stanica (log_{10}SS)	P=0,2936^{ns}
Dnevna količina mlijeka (DKM) - Jutro	P=0,0018**
DKM - Jutro %	P<0,0001****
DKM - Večer	P=0,0142*
DKM - Večer %	P<0,0001****
DKM - Ukupno	P=0,0073**

UBM = ukupan broj mikroorganizama
SS = broj somatskih stanica
^{ns} nije značajno (P≥0,05)
*značajan utjecaj 0,01≤P<0,05
**značajan utjecaj 0,001≤P<0,01
***značajan utjecaj 0,0001≤P<0,001
****značajan utjecaj P<0,0001

Utvrđeni koeficijenti korelacija Između pojedinih parametara mlijeka prikazani su u tablici 7.

Tablica 7. Koeficijenti korelacija (r)

	log_{10}SS	DKM Jutro	DKM Večer	DKM Ukupno
log_{10}UBM	0,08*	-0,08*		-0,03ns
log_{10}SS		-0,12**	-0,08*	-0,11**
DKM Jutro			0,67****	0,91****
DKM Večer				0,91****
DKM Ukupno				-

UBM = ukupan broj mikroorganizama
SS = broj somatskih stanica
nsnije značajno (P≥0,05)
*značajan utjecaj 0,01≤P<0,05
**značajan utjecaj 0,001≤P<0,01
***značajan utjecaj 0,0001≤P<0,001
****značajan utjecaj P<0,0001

Značajni i negativni koeficijenti korelacija utvrđeni su između logaritmirane vrijednosti ukupnog broja somatskih stanica i: dnevne količine mlijeka (-0,11), jutarnje količine mlijeka (-0,12) i večernje količine mlijeka (-0,08). Također, između logaritmirane vrijednosti ukupnog broja mikroorganizama i ukupne jutarnje količine mlijeka (-0,08).

Značajni i pozitivni koeficijenti korelacija utvrđeni su između dnevne količine mlijeka i: jutarnje količine mlijeka (0,91) i večernje količine mlijeka (0,91). Također, između jutarnje i večernje količine mlijeka (0,67), te između logaritmirane vrijednosti ukupnog broja mikroorganizama i logaritmirane vrijednosti broja somatskih stanica utvrđene su značajne i pozitivne korelacije (0,08).

Interpretacija r	
1,0	Idealna korelacija
0 to 1	Dvije varijable se zajedno smanjuju ili povećavaju
0.0	Nema korelacije.
0 to -1	Jedna varijabla se povećava dok se druga smanjuje.
-1,0	Savršena negativna ili inverzna korelacija.

6. Zaključak

1. Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da su stadij i redoslijed laktacije značajno utjecali na promjene dnevne količine mlijeka i broj somatskih stanica u mlijeku paških ovaca.

2. Sredinom laktacije utvrđena je značajno ($P<0,05$) viša dnevna količina mlijeka u odnosu na početak i kraj laktacije.

3. Najviši broj somatskih stanica (log_{10}) bio je na početku (5,21), a najniži sredinom laktacije (5,04).

4. Najviša dnevna količina mlijeka utvrđena je u 3. laktaciji nakon čega je zabilježeno postupno smanjivanje, a povećanje broja somatskih stanica zabilježeno je do 4. laktacije nakon čega slijedi smanjivanje.

5. Između pojedinih parametara mlijeka utvrđeni su značajni koeficijenti korelacija.

7. Literatura

1. Anifantakis E. M., Vastardis J. G., Gardika A. A., Giannakopoulo K., Fiskatoris M. (1996). Somatic cell counts in ewe and goat milk produced in two regions of Greece. *Somatic cells and milk of small ruminates-Proceedings of International Symposium Eaap Publication* No. 77.

2. Antunac N., Lukač-Havranek J. (1999). Proizvodnja, sastav i osobine ovčjeg mlijeka, *Mljekarstvo*. 49 (4), 241-254.

3. Antunac N., Mioč B., Pavić V., Lukač-Havranek J., Samaržija D. (2002). The effect of stage of lactation on milk quatity and number of somatic cells in sheep milk. *Milchwissenschaft-Milk Science International*. 57 (6), 310-311.

4. Antunac N. (2003). Somatske stanice u ovčjem i kozjem mlijeku. Zbornik predavanja, „Peto savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj“, 83-93, Opatija.

5. Antunac N., Samaržija D., Mioč B., Pecina M., Pavić V., Barać Z. (2004). Physiological threshold of somatic cell count in diagnosis of subclinical mastitis of Paška sheep. The future of the Sheep and Goat Dairy Sector. International Symposium, Zaragoza, (Spain).

6. Antunac N., Samaržija D., Mioč B., Pecina M., Bendelja D., Barać Z. (2011). Utjecaj paragenetskih čimbenika na proizvodnju i kemijski sastav mlijeka paških ovaca. *Mljekarstvo*. 61 (3), 226-233.

7. Barać Z., Mioč B., Špehar M. (2013). Utjecaj stadija i redoslijeda laktacije, sezone janjenja i stada na udjele mliječne masti i bjelančevina u mlijeku paške ovce. *Mljekarstvo*. 63 (2), 81-90.

8. Barlett P. C., Miller G. Y., Lance S. E., Heider L. E. (1992a). The most important environmental and management factor an SCC and incidence of cliical mastitis in Ohio Dairy Herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 14, 195–207.

9. Barlett P. C., Miller G. Y., Lance S. E., Heider L. E., Anderson C. Y. (1992b). Environmental and manager risk factors of intramammary infection with coagulase–negative Staphylococci in Ohio Dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine.* 14, 129–142.

10. Bianchi L., Casoli C., Pauselli M., Budelli E., Caroli A., Bolla A., Duranti E. (2004). Effect of somatic cell count and lactation stage on sheep milk quality. *Italian Journal of Animal Science*. 3:2, 147-156.

11. Blowey R., Edmondson P. (1995). Mastitis–causes, epidemiology and control. U: *Mastitis Control in Dairy Herds.* Farming Press, 27-45.

12. Burvenich C., Detilleux J., Paape M. J., Massart-Leen A. M. (2000). Physiological and genetic factors that influence the cows resisitance to mastitis, especially during early lactation. U: Proceedings of IDF Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland. Stresa, Italy. 9-20.

13. Caja G., Such X., Ruberte J., Carretero A., Navarro M. (1999). The use of ultrasonography in the study of mammary gland cisterns during lactation in sheep. Milking and Milk Production of Dairy Sheep and Goats. Barillet, F., Zervas, N.P. (Ed.), Wageningen, The Netherlands, 91-96.

14. Casu S., Pernazza I., Carta A. (2006). Feasibility of a linear scoring method of udder morphology for the selection scheme in Sardinian sheep. *Journal of Dairy Science*. 89, 2200-2209.

15. Cosseddu A. M., Spissu A., De Santies E. P. L., Mazzete R., Lai G., Scordo T. (1995). Total and differential somatic sell count in sheep correlated with the health of the udder. Production and utilization of ewe and goat milk-Proceedings of the IDF/Greece-CIRVAL Seminar hold in Creta 19-21.

16. Coulon J. B., Pradel P., Cochard T., Poutrel B. (1998). Effect of extreme walking conditions for dairy cows on milk yield, chemical compositions and somatic cell count. *Journal of Dairy Science.* 81, 994–1003.

17. Cruz M., Serrano E., Morrono V., Marco J., Romeo M., Beselga R., Albizu I., Amorena B. (1994). Subclinical mastitis in the Manchega sheep breed: etiology and prevalence at mid late lactation. *Small Ruminant Research.* 14, 175-180.

18. Čačić Z., Kalit S., Antunac N., Čačić M. (2003). Somatske stanice i čimbenici koji utječu na njihov broj u mlijeku. *Mljekarstvo*. 53 (1), 23-36.

19. Fthenakis G. C. (1996). Somatic cell counts in milk of Welsh-Mountain, Dorset-Horn and Chios ewes throughout lactation. *Small Ruminant Research.* 20, 155-162.

20. Godišnje izvješće HPA (2018). Godišnje izvješće za 2017. godinu. Ovčarstvo, kozarstvo i male životinje. Hrvatska poljoprivredna agencija. Križevci.

21. Gonzalo C. (1995). Microbiological and hygienic quality of ewe and goat milk. Somatic cells and pathogens-Production and utilization of ewe and goat milk-Proceedings of the IDF/Greece-CIRVAL Seminar hold in Creta 19-21.

22. Hanuš O., Tichaček A. (1997). Analysis of milking technique effect on somatic cell count. *Stočarstvo.* 51, 121–128.

23. Harmon R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell count. *Journal of Dairy Science.* 77, 2103-2112.

24. Harmon R. J. (2001). Somatic cell counts: A primer. University of Kentucky, Lexington, Kentucky. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings.

25. HRN EN ISO (2008). Milk–Quantitative determination of bacteriological quality–Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results-modificirana metoda. Broj 21187. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

26. HRN EN ISO (2007). Mlijeko–Brojanje somatskih stanica–2. dio: Uputa za rad na fluoro-opto-elektronskim brojačima. Broj 13366-2. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

27. Hrvatski savez uzgajivača ovca i koza http://www.ovce-koze.hr/ovcarstvo-kozarstvo/ovcarstvo-i-kozarstvo-u-rh/ovcarstvo-i-kozarstvo-u-rh/pasmine-ovaca/paska-ovca/ (Pristupljeno: 15.5.2019.)

28. Hutton C. T., Fox L. K., Hancock D. D. (1990). Mastitis control practise: Differneces between herds with high and low milk somatic cell counts. *Journal of Dairy Science.* 73, 1135–1143.

29. Ipsiladis S., Sarris K., Papadodoulos O. (1988). Microbiological studies on subclinical mastitis in sheep. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society.* 39, 266-275.

30. Kalit S., Lukač Haavranek J. (1999). Incidence of subclinical mastitis on the farms with various number of cows. *Mljekarstvo.* 49, 9-14.

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

32. Králíčková Š., Pokorná M., Kuchtík J., Filipčík R. (2011). Eff ect of parity and stage of lactation on milk yield, composition and quality of organic sheep milk. *Acta universitas agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*. 1, 71–78.

33. Mijić P., Knežević I., Caput P., Baban M. (2001) Protok mlijeka pri strojnoj mužnji holštajn–frizijskih i simentalskih krava u Hrvatskoj. *Stočarstvo.* 55 (3), 163-170.

34. Mioč B., Pavić V., Havranek D., Vnučec I. (2004.a). Čimbenici proizvodnosti i kemijskog sastava ovčjeg mlijeka. *Stočarstvo*. 58, 103-115.

35. Mioč B., Antunac N., Čičko M., Pavić V., Barać Z., Sušić V. (2004b). Proizvodnja i kemijski sastav mlijeka istočnofrizijskih ovaca. *Mljekarstvo.* 54 (1), 19-26.

36. Mioč B., Pavić V., Sušić V. (2007). Ovčarstvo. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

37. Mioč B., Prpić Z. (2014). Važnost ranog odvajanja mladunčadi u proizvodnji ovčjeg i kozjeg mlijeka. XVI. savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj. Zbornik predavanja, 39-48.

38. Monardes H. G., Cure R. I., Hayes J. F. (1990). Correlations between udder conformation traits and somatic cell count in Canadian Holstein cows. *Journal of Dairy Science.* 73, 1337–1342.

39. Oravcová M., Mačuhová L, Tančin V. (2018). The relationship between somatic cells and milk traits, and their variation in dairy sheep breeds in Slovakia. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 27, 97–104.

40. Paape M. J., Poutrel B., Contreras A., Marco J. C., Capuco A. V. (2001). Milk Somatic Cells and Lactation in Small Ruminants. *Journal of Dairy Science.* 84, 237-244.

41. Pavić V., Mioč B., Barać Z., Vnučec I., Sušić V., Antunac N., Samardžija D. (2005). Vanština paške ovce. *Stočarstvo*. 59 (2), 83-90.

42. Pengov A. (2001). The Role of Coagulase-Negative *Staphylococcus* spp. and Associated Somatic Cell Counts in the Ovine Mammary Gland. *Journal of Dairy Science.* 84 (3), 572-574.

43. Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017). Narodne novine. Broj 27. Zagreb.

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

45. Reneau J. K. (1986). Effective use of dairy herd improvement somatic cell count in mastitis control. *Agricultural Extension Service.* 1-7.

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

47. Sagi R., Morag M. (1974). Udder conformation, milk fractionation in the dairy ewe. *Annales de Zootecnie*, 23 (2), 185-192.

48. SAS (1999): SAS System Software Ver. 8.02. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

49. Schultz M. M., Hansen L. B., Steuernagel G. R. (1990). Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 73, 484–493.

50. Talukder M., Ahmed H. M. M. (2017). Effect of somatic cell count on dairy products: a review. *Asian Journal of Medical and Biological Research*. 3 (1), 1-9.

51. Tančin V., Baranovič Š., Uhrinča M., Mačuhová L., Vršková M., Oravcová M. (2017). Somatic cell counts in raw ewes' milk in dairy practice: frequency of distribution and possible effect on milk yield and composition. *Mljekarstvo.* 67 (4), 253-260.

52. Ubertalle A., Battaglini L.M., Fortina R., Blanchi M. (1996). Effect of some variation factors on somatis cell count in Della Langhe sheep milk. U: *Somatic cells and milk of small ruminants-Proceedings of International Symposium Eaap Publication.* No. 77., 187-192.

53. Vecht U., Wisselink H. J., Defize P. R. (1989). Dutch National mastitis survey. *Netherlands Milk Dairy Journal*. 43, 425–435.

54. Vršková M., Tančin V., Kirchnerová K., Sláma P. (2015). Evaluation of milk yield in tsigai ewes by somatic cell count. *Potravinarstvo Scientific Journal for Food Industry.* 9 (1), 206-210.

55. Vukašinović Z., Antunac N., Mikulec N., Mioč B., Barać Z. (2008). Proizvodnja i kvaliteta mlijeka paških ovaca. *Mljekarstvo.* 58 (1), 5-20.

Popis slika

Slika 1. Tipovi ovčjeg vimena s obzirom na prikladnost strojnoj mužnji (Izvor: Sagi i Morag 1974.). .. 17
Slika 2. Paška ovca 22

Popis Tablica

Tablica 1. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu mlijeka 24
Tablica 2. Promjene ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih stanica u mlijeku tijekom stadija laktacije 25
Tablica 3. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu i pojedine komponente ovčjeg mlijeka: 26
Tablica 4. Utjecaj redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka 27
Tablica 5. Utjecaj redoslijeda laktacije na ukupan broj mikroorganizama i broj somatskih stanica u mlijeku. 29
Tablica 6. Utjecaj redoslijeda laktacije na pojedine komponente ovčjeg mlijeka i na dnevnu količinu mlijeka 31
Tablica 7. Koeficijenti korelacija (r) 32

Životopis

Martina Počekal rođena je 28. lipnja 1994. godine u Zagrebu, gdje je završila osnovnu školu i gimnaziju prirodoslovnog smjera. Godine 2013. upisuje preddiplomski studij (Bs) „Animalne znanosti“ na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu preddiplomskog studija obavlja u obiteljskoj sirani OPG-a Romina Zadravec na imanju u Kusanovcu u trajanu od 120 sati. Završni rad naslova „Dodaci u proizvodnji sira“, pod mentorstvom prof. dr. sc Nevena Antunca, obranila je 19. rujna 2016. godine. Preddiplomski studij završava s prosjekom ocjena (4,23) te stječe akademski naziv prvostupnica inženjerka agronomije (univ. bacc. ing.). Godine 2016. upisuje diplomski studij (Ms) „Proizvodnja i prerada mlijeka“ na istoimenom fakultetu. Tijekom studija stručnu praksu obavlja u mljekarskoj industriji DUKAT d.o.o u trajanju od 90 sati. Osim obavezne stručne prakse dobrovoljno volontira u Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode u Zavodu za mljekarstvo. Tijekom studija osim redovitog izvršavanja studentskih obaveza, aktivno sudjeluje u promoviranju fakulteta, fakultetskim radionicama, StartUp konferencijama, karijernim radionicama, fakultetskoj udruzi te je i student tutor. Proglašena je najboljom studenticom 2018./2019. akademske godine te od Zaklade Agronomskog fakulteta dobiva stipendiju. Aktivno se koristi računalom i Microsoft Office alatima (Word, Excel, PowerPoint), poznaje rad u programima za statističke analize i obradu podataka (SAS) te služi se engleskim jezikom (B2) u govoru i pismu. U slobodno vrijeme bavi se aerobikom, trčanjem, vrtlarenjem, fotografiranjem te izradom rukotvorina.