

# UČINCI PRIPRAVKA ROGAČA (CERATONIA SILIQUE L.) NA POKAZATELJE ZDRAVLJA I PROIZVODNOSTI U ODBIJENE PRASADI

---

Žderić Savatović, Zrinka

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:196060>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



VETERINARSKI FAKULTET

ZRINKA ŽDERIĆ SAVATOVIĆ

**UČINCI PRIPRAVKA ROGAČA  
(*CERATONIA SILIQUE* L.) NA  
POKAZATELJE ZDRAVLJA I  
PROIZVODNOSTI U  
ODBIJENE PRASADI**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



University of Zagreb Sveučilište u Zagrebu  
VETERINARY FACULTY

ZRINKA ŽDERIĆ SAVATOVIĆ

**EFFECTS OF CAROB PREPARATION  
(*CERATONIA SILIQUE L.*) ON HEALTH AND  
PRODUCTIVITY IN WEANED PIGLETS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2024



Sveučilište u Zagrebu  
VETERINARSKI FAKULTET

ZRINKA ŽDERIĆ SAVATOVIĆ

**UČINCI PRIPRAVKA ROGAČA  
(*CERATONIA SILIQUE* L.) NA  
POKAZATELJE ZDRAVLJA I  
PROIZVODNOSTI U  
ODBIJENE PRASAD**

DOKTORSKI RAD

Mentor:  
Izv. prof. dr. sc. Daniel Špoljarić

Zagreb, 2024.



University of Zagreb  
VETERINARY FACULTY

ZRINKA ŽDERIĆ SAVATOVIĆ

**EFFECTS OF CAROB PREPARATION  
(*CERATONIA SILIQUE L.*) ON HEALTH AND  
PRODUCTIVITY IN WEANED PIGLETS**

DOCTORAL THESIS

Assoc. Prof. Daniel Špoljarić, PhD

Zagreb, 2024



Sveučilište u Zagrebu  
VETERINARSKI FAKULTET

## IZJAVA

Ja, Zrinka Žderić Savatović, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mojega rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima do onih navedenih u radu.

---

(potpis studenta)

Zagreb, 2024

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Danielu Špoljariću na uputstvima, kritičkim primjedbama i poticajima, te svekolikoj pomoći u organizaciji i izvođenju pokusa.

Posebno zahvaljujem prof. dr. sc. Silviju Vince što je sa mnom podijelio svoje veliko umijeće pri statističkoj obradi svih dobivenih podataka ovog rada.

Zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za veterinarsku biologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na potpori i razumijevanju pri izradi ovog doktorskog rada.

Zahvaljujem dr. sc. Siniši Srećecu što mi je u svojstvu voditelja HRZZ projekta “Taxonomy, Ecology and Utilization of Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) and Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.) in Croatia (IP-11-2013-3304)” omogućio istraživanje prikazano u okviru ovog rada.

Na kraju, posebno zahvaljujem suprugu i mojim roditeljima na bezuvjetnoj i iskrenoj podršci, na strpljenju i pomoći kako u ostalim segmentima života tako i pri izradi ovog doktorskog rada.

## POPIS PRILOGA – DIO I. SLIKE

**Slika 1.** Stablo rogača u Komiži na otoku Visu.

**Slika 2.** Plod rogača stabla rogača u Komiži na otoku Visu.

**Slika 3.** Životinje u pokusu.

**Slika 4.** Pokusna biomasa rogača podrijetlom iz uzgoja PZ KOMIŽA (Komiža, otok Vis)

**Slika 5.** Egzenterirani uzorci jejunuma, ileuma i mezenterijski limfni čvorovi žrtvovane pokusne životinje 42 dana pokusa.

**Slika 6.** Vaganje pokusne životinje.

**Slika 7.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) tjelesne mase (kg) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 8.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije eritrocita ( $10^{12}/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 9.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) volumena eritrocita (fL) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 10.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije hemoglobina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 11.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) prosječne mase hemoglobina po eritrocitu (pg) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 12.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) prosječne koncentracije hemoglobina u eritrocitima (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 13.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela hematokrita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 14.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije eritrocita ( $10^{12}/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .



**Slika 15.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 16.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela neutrofilnih granulocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 17.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije trombocita ( $10^9/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 18.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela bazofila (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 19.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela eozinofila (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 20.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela monocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 21.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela  $CD4^+$  leukocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 22.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela  $CD4^+$  pomoćničkih T limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 23.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela  $CD8^+$  citolitičkih T-limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 24.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela dvostruko pozitivnih izvantimusnih  $CD4^+CD8^+$  T-limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak

pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 25.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela CD21<sup>+</sup> B limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 26.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti fagocitoze granulocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 27.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) indeksa ingestije granulocita periferne krvi u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 28.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti mikrobicidnosti granulocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 29.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti fagocitoze monocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 30.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) indeksa ingestije monocita periferne krvi u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 31.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti mikrobicidnosti monocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 32.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije ukupnih proteina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 33.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije albumina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 34.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije imunoglobulina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 35.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije alkalne fosfataze ( $\mu$ /L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 36.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije aspartat aminotransferaze ( $\mu$ /L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 37.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije gama glutamil transferaze ( $\mu$ /L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 38.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije alanin aminotransferaze ( $\mu$ /L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 39.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije glukoze ( $\mu$ mol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 40.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije kolesterola (mmol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 41.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije triglicerida (mmol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 42.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije ureje (mmol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 43.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije C-reaktivnog proteina (mg/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički

značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 44.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije haptoglobina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

## **POPIS PRILOGA – DIO II. TABLICE**

**Tablica 1.** Kemijski sastav ploda rogača (mahune).

**Tablica 2.** Sastav krmnih smjesa za životinje u pokusu prema recepturama tvornice stočne hrane KUŠIĆ PROMET d.o.o. (Sveti Ivan Zelina, Hrvatska).

**Tablica 3.** Prikaz korištenih mišjih monoklonskih protutijela za leukocitne antigene odbijenika i fluorokroma s kojima su obilježena.

**Tablica 4.** Shema citometrijska analize T limfocita ( $CD45^+CD3\epsilon^+CD21^-$ ) i njihovih subpopulacija s obzirom na ekspresiju molekula CD4, CD8 $\alpha$ , i B limfocita ( $CD45^+CD3\epsilon^-CD21^+$ ).

**Tablica 5.** Prikaz mikrobioloških analiza za pripravak suhog rogača korištenog tijekom 6 tjedana pokusa.

**Tablica 6.** Prikaz kemijskog sastava za pripravak suhog rogača korištenog tijekom 6 tjedana pokusa.

**Tablica 7.** Unos hrane, prirast tjelesne mase i konverzija u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa).

**Tablica 8.** Procjena pojavnosti, ozbiljnosti i jačine proljeva u prasadi po danu tijekom 6 tjedana trajanja pokusa.

**Tablica 9.** Bakterijski izolati iz obrisaka sluznice rektuma (o.r.) po kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) tijekom 42 dana trajanja pokusa, te broj bakterija (CFU/mL) 0. i 42. dana pokusa.

**Tablica 10.** Razudbeni nalazi pokusnih životinja žrtvovanih 42 dana pokusa.

**Tablica 11.** Kemijski sastav 100 g uzoraka mesa pokusne prasadi tijekom 6 tjedana trajanja pokusa (- kontrolna skupina prasadi (skupina K); pokusna skupina prasadi (skupina P - prasad hranjenja uz dodatak rogača).

## SAŽETAK

### **Učinci pripravka rogača (*Ceratonia siliqua* L.) na pokazatelje zdravlja i proizvodnosti u odbijene prasad**

Tijekom povijesti osnovni je cilj medicine bio poboljšanje preživljenja te u slučaju bolesti kvalitetno interveniranje. Naime, medicina temeljem razvoja tehnologija i znanosti nastoji poboljšati kvalitetu života te time zauzima središnje mjesto u unaprjeđenju zdravlja populacije. Tako, bitna stavka svakog zdravstvenog sustava postaje prevencija u okviru koje sprječavanjem nastanka bolesti unaprjeđuje se zdravlje ali i šteti novac. Međutim, danas znanstvena zajednica, iako još uvijek nije potvrdila dali je crijevna disbioza uzrok ili rezultat metaboličkih i/ili imunskih poremećaja, dokazala je da se dugotrajnim korištenjem antibiotika u subterapijskim dozama pojavljuju rezistentni bakterijski sojevi koji predstavljaju prijetnju zdravlju životinja i ljudi. Tako je u suvremenoj proizvodnji životinja od 1. siječnja 2006. godine u Europskoj uniji temeljem EU uredbe br. 355/2003 od 20. veljače 2003. godine zabranjena neklinička uporaba antibiotika kao poticatelja rasta u hrani za životinje namijenjenih ljudskoj prehrani. Nadalje, 13. rujna 2018. godine prihvaćena je i rezolucija Europskog parlamenta o europskom akcijskom planu *Jedno zdravlje* (engl. *One Health*) kojom se osim ojačavanja zdravstvenih sustava članica Europske unije želi postići i smanjenje rizika od antimikrobnih rezistencija te upravljati rizicima za sigurnost hrane. Upravo se zato u suvremenom intenzivnom svinjogojstvu znatni naponi ulažu u razumijevanje i dijagnozu crijevnih infekcijskih bolesti, uključujući biologiju uzročnika, otpornost i liječenje domaćina, pri čemu se malo zna o preventivi tih bolesti s pomoću nutritivnih i imunomodulacijskih strategija. Naime, održavanje zdravlja probavnog trakta vrlo je značajno s obzirom da ono ovisi o uspostavljanju ravnoteže između njegove sluznice s jedne strane te hranidbe i mikrobioma s druge strane. Stoga, kada je legislativom regulirana i napuštena uporaba antibiotskih poticatelja rasta u svinjogojskoj proizvodnji, započele su se razvijati alternativne strategije, odnosno znanstveno dokazive preporuke o uvođenju u hranidbu svinja bioloških pripravaka zaštitnih za njihovo zdravlje, održivih za visoku proizvodnju te bez štetnih utjecaja na okoliš. S obzirom na sastav brojnih bioaktivnih komponenti ploda, odnosno mahune rogača, poput jednostavnih fenola, polifenola,

slobodnih flavonoida, glikoziliranih flavonoida, za veterinarsku medicinu je od interesa ispitati rogačev potencijalni učinak nutraceutika s ciljem zaštite zdravlja probavnog trakta i ukupnog imuniteta prasadi po odbiću. Na osnovi činjenice da je rogač uvršten u EU registar dodataka hrani za sve vrste životinja i dostupnih literaturnih podataka o njegovim biološkim svojstvima, u okviru provedenih istraživanja, provjerili smo i definirali njegov mogući modulacijski potencijal kao funkcionalnog dodatka u krmnu smjesu u koncentraciji od 4% u dnevnom obroku na ukupno 30 odbijenika (križanci Švedski Landras/Yorkshire) u dobi od 28. do 70. dana života. Tijekom 6 tjedna pokusa praćeno je i analizirano 9 skupina pokazatelja: proizvodni, zdravstveni, hematološki, imunosni, biokemijski, bakteriološki, patoanatomski, kemijska analiza mesa te analitika pokusnog pripravka. Dodatak pripravka rogača u hranjene prasadi djelovao je na veći prosječni dnevni prirast njihove tjelesne mase, njihovu bolju iskoristivost hrane (konverziju) po jedinici prirasta, njihovu veću prosječnu tjelesnu masu na kraju istraživanog razdoblja, te ne odsutnost patogenih sojeva bakterije *E. coli* i bakterije *Salmonella sp.* u njihovom probavnom traktu, odnosno na pojavnost klinički vrlo blage prosječne ozbiljnosti proljeva. Testirani je pripravak u serumu i mesu tretirane prasadi snizio udjele triglicerida i kolesterola. Nadalje, pripravak je na kraju istraživačkog razdoblja, u tretirana prasadi, pokazao i bolji učinak na rast kinetike udjela CD45<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i CD21<sup>+</sup> limfoidnih stanica periferne krvi te na fagocitozu i mikrobicidnost monocita. Razmatrajući sve promatrane parametre u našem istraživanju, dokazana je hipoteza da u uzgojnim sustavima svinja, rogač (*Ceratonia siliqua* L.) dodan u dnevni obrok za odbijenu prasadi, ima zaštitni učinak na zdravlje te pozitivni učinak na proizvodnost i kvalitetu mesa. Stoga, u ovom istraživanju na modelu odbijene prasadi, utvrđene su znanstveno utemeljene i inovativne preporuke za uvođenje rogača kao fitobiotika u uzgojne sustave za proizvodnju odbijene prasadi, koji moraju funkcionirati bez dodataka antibiotika u hrani.

**Ključne riječi:** prasadi, rogač, zdravlje, proizvodnost

## **EFFECTS OF CAROB PREPARATION (*CERATONIA SILIQUE L.*) ON HEALTH AND PRODUCTIVITY IN WEANED PIGLETS**

**OBJECTIVES:** During the history medicine primary goal was improving rate of survival and in the case of the disease to have quality treatment. Moreover, medicine science on the basis of the developing technologies and science itself is improving life quality and therefore has a central role in improving the population's health. From there most important step of each health system is prevention and through this intervention diseases are avoided and the money is saved. Although today scientific community still hasn't confirmed that gut flora disbiosis is contributor or consequence of the metabolic and or immunity diseases, we know that long term of use of sub therapeutic doses of antibiotic resistance is developed within bacterias and it is dangerous for the health of the people and animals. Since 1<sup>st</sup> of January, 2006. in the modern production of the animals used for food within the EU, based on the declaration 355/2003 from 20<sup>th</sup> February, 2003. it is forbidden to use antibiotics in non clinical cases for the animals as a promotor the growth in the animal's food. In addition to that, 13<sup>th</sup> of September, 2018. resolution of the EU parliament was accepted regarding European action plan "One health". One health presumes improvement of the health systems within the members states with the goals of lowering the risk of diseases caused by resistant bacterias and managing the risks of the food safety. For exactly the same reason pig's farming efforts are increasing to understand better and to diagnose intestinal infection, including biology of the pathogen, residency and immunomodulation strategy of the late mentioned. Healthy digestive tract maintenance is of the utmost importance since it is dependable of the homeostasis within intestinal mucosa and microbiome. Since the law has prohibited the use of the antibiotic growth promoters in pig's farming, alternative strategies are taking place that are with scientific background recommendations including additives of biological nutrients that will have protective impact on the animal health, maintainable for the high production and ecological neutral. in the light of the Carob's fruit and pods' multiple bioactive components, like simple phenols, polyphenols, free flavonoids, glycosilated flavonoids, for veterinarian's medicine it is important to investigate carob potential as nutraceutical with the purpose of intestinal health protection and overall immunity of the weaned piglets. Carob's pharmacological and nutritive potentials are well known since the antic

times. Good nutrient value of the carob's fruit consist of sugar (46%), polyphenols (20%) and proteins (7%) which his why its pleothropic pharmacological impact was easy to confirm in the scientific studies. It is worth to mention that carob is also rich in the fibres (40%) that are, for both animals and humans, healthy and have positive impact against pathophysiological and pathological conditions. Carob is taking more and more central spot in the veterinarian science, mainly as the model of the nutrient modulation of the farmed animals. From the pectins to the lignins positive impact on the gut flora and as a stabiliser of the digestion, carob is a great remedy for combating enteritises and inflammation's of the gut mucosa, dispepsy or constipation. In addition, wast majority of the studies have confirmed that as a food additive, carob, has antiaterogenic, antibacterial, anti microbial, anti fungal, anti diabetic and anti-inflammatory action. As a result of all mentioned above carob is listed, in the EU register of additives, as the additive for all types of animals. Moreover, when the antibiotic usage is forbidden by the law, one of the possible alternative strategy for the prevention and disease control in the farming animals could be adding of the carob in the animal food.

**HYPOTESIS:** Hypothesis of dissertaton is that in production systems of the swine, carob (*Ceratonia Siliqua*) added to the daily meal for the weaned piglets has protective impact on the health and the positive impact on the production and the meat quality.

**MATERIALS AND METHODS:** For the purpose of the investigation on the impact of the dried carob's additive on the health and production of the weaned piglets, sample of 60 weaned piglets (mixed of Swedish Landras/Yorkshire), 30 females and 30 castrated males, equal weight of 7 kg, old from 28 to 70 days from the population of the family farm Živkovic farm, Kvarte, Perušić. During the whole study weaned piglets' food (standard mixture SO-1 up to 50 kg) and water we accessible ad libitum. Animals had their health status assessed before entering the study and they were placed in the experiment confined 48 hours before study started. Animals were further divided in the two groups (control and trial group), each group had 30 animals (15 females and 15 males), and they have been marked with the ear tags. They were hold in the confinement of the intensive breeding. Controlled group (group C) was feed with standard mixture without carob's add, while experimental group (group T) had in the daily meal added 4



(four) % dried carob's additive. During six (6) weeks of the trial all animals were followed by the parameters that have included food conversion, diarrhoea (start, severeness and length) diarrhoea score, chemical analysis of the meat and health (daily clinically follow up on the health of the animals, haematological investigations in two weeks gaps and bacteriological analysis of the rectum mucosa, pathohistology sampling of the jejunum, ileum and mesenteric lymph nodules. Body weight and feed intake were measured weekly at group level to determinate average daily weight gain, feed intake and feed conversion ratio. Mortality and health status were visually observed and recorded daily trough the trial period. Swabs of the rectal mucosa for the bacteriological analysis have been taken with the sterile swabs 0, 14, 28 and 42 days of the trial from seven (7) animals of the each group. For the each sample total number of the bacteria was measured (CFU, colony forming units) with the standard procedure of the double serial dilution from  $10^1$  to  $10^{10}$  in physiological fluid (horizontal method for the evaluation of the number of the microorganism) and cultivating on the selective and non selective feeding dishes. Samples of the peripheral blood from each animal were taken trout vene punction from v. jugular's in the sterile tubes with anticoagulant (for haematological, immunehematological and immune analysis) or without anticoagulants (for serological tests) 0, 14, 28 and 42nd day of the trial. Haematological parameters (erythrocytes, leukocytes, thrombocytes, hemoglobin, haematocrit, MCV, MCH, MCHC) are tested with standard methods with automatic haematology analysator ABACUS JUNIOR (Diatron, MI PLC, SAD). Percentage of the differential blood cells (differential blood count) were measured with microscope (Olympus BX 41 on immerse enlargement) seen with stained weaned piglets' peripheral blood. Biochemical parameters (total serum proteins, blood glucose, urea, cholesterol, triglycerides, albumins, liver enzymes: alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotranspherase (AST), alanine aminotranspherase (ALT), gamma glutamil tranferase (GGT) ) are measured with the standard methods trough biochemistry analyser Beckman Coulter AU 680 (Beckman Coulter Biomedical Ltd Ireland). T lymphocytes ( $CD45^+$  and  $CD3e^+$ ) and B lymphocytes ( $CD45^+$ ,  $CD3e^-$   $CD21^+$ ) we measured with flow citoketer Beckman Coulter Navies (Beckman Coulter Biomedical Ltd Ireland). Phagocytosis and microbiocid properties of monocytes and granulocytes are measured trough modified method after LUKAČ and others (1994.). Spectrophotometric method was used ti measure haptoglobin (HpG) in the serum of the

weaned piglets with the test of the Olympus company (OSR6165). Immunoenzymatic sandwich test was used to measure the level of C reactive protein (CRP) with Trident “Phase”™ reagent for the swine CRP (Tridewlta Ltd Ireland). Chemical meat analysis was sampled from the seven (7) animals from the each group. At the end of the trial during animal slaughter, after processing of the meat and cooling (24 hours to 4 celsius degree) samples were taken from the anatomical position of the m. semimembranaceus, on the right/left side to determinate: water (referent gravimetric method ISO 1442), fat (method ISO 1443), proteins (method ISO 937), dust (method ISO 936), cholesterol (ELISA). Statistic analysis of the data was done trough SAS 9.4 program package (2002-2012 SAS institute Inc, Cary, NC, USA).

**RESULTS:** Adding 4% Carob additives to daily feed during six (6) weeks in weaned piglets has positive impact on the end results of the body mass, growth intensity, feed intake and conversion (transformation of the feed unit into the mass growth). It was confirmed that the piglets from the group T (feed with the 4% Carobs additive added to the feed) has better average daily feed intake (+15%), bigger daily average body mass rise (10%), statistical significant higher body weight in comparison to day 0. (+92%), lower feed usage (conversion) (-9%) in comparison to the piglets from the control group. In the control group during whole time of the trial 13 piglets had diarrhoea that was moderate, except on the 13<sup>th</sup> day of the trial when three (3) piglets had moderate diarrhoea at the same time. In the group T only two (2) animals developed diarrhoea that lasted one (1) day (one animal developed diarrhoea on 15<sup>th</sup> day of the trial) to two days (one animal 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> day of the trial) and it was mild diarrhoea only. Moreover, Carob added to the feed had impact on the diarrhoea occurrence which was only mild and without lethal outcomes in comparison to the control group. In the same time period in the group that was feed with Carob additive, it was recorded lower number of the total number of the bacterias in the digestive tract and negative findings pathogenic *E. coli* and *Salmonella* sp. On 42<sup>nd</sup> day of the trial piglets of the control group had statistically more recognisable number of the CFU/mL in the rectal swab samples ( $10^{-5}$  CFU/ml) in comparison to the group T ( $10^{-4}$  CFU/mL). Secondly positive impact of the Carob additive was confirmed for maintenance of the homeostasis between gut flora in feed weaned piglets. Added Carob to the feed during the whole trial had no impact on the hemogram and erythrocytes

levels, biochemical levels which clearly demonstrates that it has no unwanted side effects. It is worth mentioning that Carob had impact on triglyceride's level (-37.5%) and cholesterol level (-22.7%) in the serum of the weaned piglets fed with Carob additives. During measurements of the proteins of the acute phase as a markers of the health and well being and therefore productivity of the piglets during the trial, in comparison to the weaned piglets from the control group, in the group T treated with Carob it was recorded drop in HpG-a 14<sup>th</sup>, 28<sup>th</sup> and 42<sup>nd</sup> (0.27 – 0.31 g/L) that were still within the normal levels for the weaned piglets. In addition it was recorded rise in the CRP levels in the control group at the end of the trial and drop in the levels of the CRP in the group T. Carob in the meat of the weaned piglets have contributed to lower levels of the total fat (-8.31%) and cholesterol (-7.4%). In the feed added Carob has stimulated number of CD45<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD21<sup>+</sup> lymphoid cells in the peripheral blood, meaning it had good impact on phagocytosis and micropoioicid action of the granulocytes and monocytes in the feed with Carob additives piglets. At the end off the trial piglets that were feed with the Carob additives in the peripheral blood had more typhoid cells in comparison to control group; respectively 18.3% CD45<sup>+</sup>, 27.7% CD4<sup>+</sup>, 20.5% CD8<sup>+</sup> and 21.1% CD21<sup>+</sup>. At the end of the trial monocytes showed better fagocitosis for 14.1%, they showed bigger index of ingestion (+13.07%) and had better microbiocidic properties (+11.8%) in comparison to the non Carob fed group.

**CONCLUSION:** Adding all the parameter in this trial hypothesis was confirmed that in the production breeding systems of the pigs, Carob (*Ceratonia siliqua* L.) added in the daily feed for the weaned piglets has been showed positive nutriceutic and imunomodulator and has positive impact on the health and productivity followed by the meat quality f the weaned piglets.

**KEYWORDS:** piglets, Carob, health, productivity

## POPIS KORIŠTENIH KRATICA I ZNAKOVA

ADCC	mehanizam stanične citotoksičnosti ovisne o protutijelima, Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity, engl.
ALP	alkalna fosfataza
ALT	alanin aminotransferaza
APC	antigen predočne stanice, Antigen Presenting Cells, engl.
APES	tetrametil benzidina
ApoA-I	apolipoprotein A-I
APR	antibiotski poticatelj rasta
AST	aspartat aminotransferaza
BCR	receptora B limfocita, B-cell Receptor, engl.
b.o.	bez osobitosti
cAMP	ciklički adenzin monofosfat
CD	biljeg diferencijacije, cluster of differentiation, engl.
CFU	ukupan broj bakterija, colony forming units, engl.
cm	centimetar
CO <sub>2</sub>	ugljični dioksid
CREB	protein koji veže element odgovora cikličkog adenzin monofosfat, cAMP response element binding protein, engl.
CRP	C-reaktivni protein
DPPH	difenil-1-pikrilhidrazil
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> , lat.
EDTA	dinatrijeva sol etilendiamintetraoctene kiseline
EU	Europska unija
ELISA	imunoenzimska metoda, enzyme-linked immunosorbent assay, engl.
FAO	Faza akutnog odgovora
FOS	frukto-oligosaharid
g	gram
GEA	ekvivalent galne kiseline
GGT	gama glutamil transferaza
GL	globularni leukociti
HpG	haptoglobin
HPLC	metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti, High performance liquid chromatography, engl.
IFN- $\gamma$	interferon gama, Interferon-gamma, engl.
IgA	imunoglobulin klase A, immunoglobulin class A, engl.
IgG	imunoglobulin klase G, immunoglobulin class G, engl.
IgM	imunoglobulin klase M, immunoglobulin class M, engl.
IL	interleukin
IP	intervala pouzdanosti
kg	kilogram
KOP	kolibaciloza odbijene prasadi
LP	lamini proprija
MAP	glavni protein akutne faze upale, major acute phase protein
MEM	medij 199 za stanične kulture
MHC	glavni kompleks histokompatibilnosti, major histocompatibility complex, engl.

min	minuta
mL	mikrolitar
MLČ	mezenterijski limfni čvor
MNL	mononuklearni leukociti
MOS	manan-oligosaharid
NK stanice	Urođenoubilačke stanice, Natural Killer Cells, engl.
NN	Narodne novine
PAF	proteini akutne faze
PKA	protein kinase A
PP	Peyerove ploče
SAD	Sjedinjene Američke države
SAS	serumski amiloid
SLF	solitarni limfni folikuli
spp.	vrsta, species, lat.
TAE	ekvivalent taninske kiseline
TCR	T stanični receptor, T-Cell Receptor, engl.
TE	ekvivalent troloksa
Th limfocit	Helper T-cell, engl.
TMB	tetrametil benzidin
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor Alpha, engl.
UK	Ujedinjeno Kraljevstvo
$\gamma\delta$ TCR	gama delta T stanični receptor, $\gamma\delta$ T cell receptor, engl.
%	postotak
°C	Celzijevih stupnjeva
<	manje

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	1
<b>2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA</b>	5
2.1. Nutritivna modulacija	6
2.1.1. Fitobiotici	8
2.2. Rogač ( <i>Ceratonia sliqua</i> L.)	10
2.1.1. Plod rogača ( <i>Ceratonia sliqua</i> L.)	11
2.3. Odbiće prasadi	16
<b>3. OBRAZLOŽENJE TEME</b>	20
<b>4. MATERIJAL I METODE</b>	23
4.1. Materijal	24
4.1.1. Tehnologijski uvjeti na farmi	24
4.1.2. Životinje	24
4.1.3. Pokusni pripravak	25
4.1.4. Pokusne skupine	25
4.1.5. Monoklonska protutijela za višebojnu protočnu citometriju	26
4.1.6. Plan pokusa	27
4.1.7. Uzorci	28
4.2. Metode	28
4.2.1. Analitičke metode „ <i>ex vivo</i> “ faze pokusa	28
4.2.2. Metode „ <i>in vivo</i> “ faze pokusa	29
4.2.2.1. Praćenje proizvodnih pokazatelja	29
4.2.2.1.1. Određivanje prosječnog dnevnog unosa hrane	30
4.2.2.1.2. Određivanje prosječnog dnevnog prirasta tjelesne mase	30
4.2.2.1.3. Određivanje iskoristivosti hrane (konverzija)	30
4.2.2.1.4. Kemijska analiza mesa	30
4.2.2.2. Praćenje zdravstvenih pokazatelja	31
4.2.2.2.1. Određivanje hematoloških pokazatelja	31
4.2.2.2.2. Određivanje serumskih biokemijskih pokazatelja	32
4.2.2.2.3. Određivanje imunosnih pokazatelja	32
4.2.2.2.3.1. Protočna citometrija	32
4.2.2.2.3.2. Fagocitoza (ingestija) i mikrobicidnost (digestija)	33
4.2.2.2.3.3. Imunohematologija	33
4.2.2.2.4. Proteini akutne faze	34
4.2.2.2.5. Bakteriološka pretraga	34
4.2.2.3. Statistička obrada	34
<b>5. REZULTATI</b>	36
5.1. Analitički pokazatelji pokusnog pripravka	37
5.2. Proizvodni pokazatelji	38
5.3. Zdravstveni pokazatelji	40
5.4. Hematološki pokazatelji	42

5.5 Imunosni pokazatelji	54
5.5.1. Udjeli subpopulacija T- i B-limfocita periferne krvi	55
5.5.2. Sposobnost fagocitoze/mikrobicidnosti granulocita i monocita	62
5.6. Biokemijski pokazatelji	68
5.7. Bakteriološki pokazatelji	81
5.8. Patoanatomski nalaz	83
5.9. Kemijska analiza mesa	83
<b>6. RASPRAVA</b>	85
<b>7. ZAKLJUČCI</b>	97
<b>8. POPIS LITERATURE</b>	99
<b>9. ŽIVOTOPIS SA POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA</b>	115

# **1. UVOD**



Tijekom povijesti osnovni je cilj medicine bio poboljšanje preživljenja te u slučaju bolesti kvalitetno intervenirati. Naime, medicina temeljem razvoja tehnologija i znanosti nastoji poboljšati kvalitetu života te time zauzima središnje mjesto u unaprjeđenju zdravlja populacije. Tako, bitna stavka svakog zdravstvenog sustava postaje prevencija u okviru koje sprječavanjem nastanka bolesti unaprjeđuje se zdravlje ali i štedi novac. Nadalje, već dugo vremena prepoznata je i važnost kvalitetne prehrane čemu u prilog govori i dobro nam poznat citata HIPOKRAT-a: „sve što putem hrane unosimo u organizam gradi nas i mijenja, a o tome što smo unijeli ovisi naše zdravlje, naša snaga i naš život“ (JOTTERAND, 2005.). Upravo zato u današnje vrijeme raste interes za dodatke prehrani dobivenih iz prirodnih, tradicionalnih i netradicionalnih namirnica kao mogućih izvora biološki aktivnih tvari s dokazanim zdravstvenim svojstvima za uključivanje u prehranu ljudi i životinja (BAUMEL i sur., 2018.). Naime, svaka tvar koja se smatra sastojkom hrane te pruža dodanu zdravstvenu korist u odnosu na nutritivnu vrijednost definira se nutraceutikom. Suvremena literatura opisuje njihove znanstveno provjerljive blagotvorne utjecaje na jednu ili više funkcija u organizmu pri čemu poboljšavaju zdravlje i dobrobit čovjeka i/ili životinje. Naime, to su bioaktivne tvari različitog djelovanja i porijekla, ali zajedničkog povoljnog utjecaja na prevenciju i terapiju bolesti. Danas se sve više prepoznaje uloga nutraceutika, odnosno bioaktivnih prirodnih proizvoda, kroz različite učinke na metabolizam čovjeka i životinje (BALLOU i sur., 2019.). Taku su neki od utvrđenih njihovih pozitivnih učinaka modulacija imunskog sustava, poboljšan unos hrane, smanjenje oksidativnog stresa, bolja i apsorpcija i probavljivost hranjivih, odnosno održivost homeostaze mikrobioma probavnog sustava. U veterinarskoj medicini najčešće korišteni nutraceutici su porijeklom iz različitih biljaka i njihovih plodova koje LATA (2021.) razvrstava na bioaktivne grupe poput: glukozamina, antioksidansa, vitamina C, vitamina E, vitamina B kompleksa, S-Adenozil-l-metionin i dimetil sulfoksid spojeva, esencijalnih masnih kiselina (omega 3, linolenska kiselina), minerala (željezo, kalcij, selen, cink), probiotika, prebiotika te simbiotika. Temeljem literaturnih podataka crijevna mikrobiota i domaćin su u simbiotskom odnosu pri čemu je probavni sustav izvor hranjivih tvari za razvoj i rast mikroorganizama koji istovremeno domaćina štite od rasta patogenih bakterija, odnosno povoljno utječu na njegov metabolizam, te na neuroendokrini i imunski odgovor. Međutim, sastav crijevne mikrobite ovisan je o vanjskim čimbenicima poput stresa i

prehrane posljedično čemu može doći do neravnoteže između kolonija te potencijalnog razvoja disbioze. Danas znanstvena zajednica još uvijek nije potvrdila dali je crijevna disbioza uzrok ili rezultat metaboličkih i/ili imunskih poremećaja. U suvremenom intenzivnom svinjogojstvu ulažu se znatni napor za razumijevanje i dijagnozu infektivnih bolesti crijeva, uključujući pri tome biologiju uzročnika, otpornost i liječenje domaćina, pri čemu se o preventivi tih bolesti vrlo malo zna pomoću nutritivnih strategija, odnosno nadopunjavanjem prehrane životinja kvalitetnim nutraceuticima (WASZKIEWICZ-ROBAK i sur., 2017.). Zabrana uporabe antibiotskih promotora rasta (APR) u hrani za životinje (2006.) znatno je utjecala na velike ekonomske gubitke u svinjogojstvu. Stoga u posljednje vrijeme sve se više pažnje pridaje fitobioticima kao dodacima u hranu za životinje, odnosno bioaktivnim sastojcima porijeklom iz biljaka. Prema literaturnim podacima, dodatkom fitobiotika u hranu za životinje bitno se poboljšava njihova proizvodnost i kvaliteta mesa (SENČIĆ i sur., 2021.). RADULOVIĆ i sur. (2015.) u svojim istraživanjima opisuju da pripravak fitobiotika Enviva EO 101 (Danisco Animal Nutrition, SAD) dodan u hranu za odbijenike ima i zaštitni učinak na njihovo zdravlje, odnosno djeluje imunostimulacijski, protuvirusno, protuupalno, protuparazitski i antioksidacijski. Tako temeljem prethodno opisanog bioaktivne supstance iz biljaka, odnosno fitobiotici mogli bi biti dobra alternativa antibioticima kao promotorima rasta u hrani za odbijenike. Naime, tijekom razdoblja odbića mlade životinje izvrnute su stresu koji uzrokuje narušavanje sastava i funkcije crijevne mikroflore i posljedično pad imuniteta i veću podložnost infekcijama. U navedenom razdoblju za narušavanje crijevne homeostaze odbijene prasadi najopasnija je enterotoksigena bakterija *Escherichia coli* (*E. coli*) K88, koja može izazvati visoku smrtnost odojaka po odbiću (GONZÁLEZ-ORTIZ i sur., 2013.). ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.) u svojim istraživanjima opisuju da upravo uvođenjem nutraceutika u dnevni obrok može se prevenirati ili inhibirati prethodno navedeni poremećaji te poboljšati zdravstveni status odbijene prasadi. U novijoj literaturi opisana su brojna istraživanja na modelu odbijenika temeljem vrednovanja nespecifičnih nutritivnih modulacijskih učinaka prirodnih alternativa APR-a poput propolisa i pripravka plemenite pečurke (ŠPOLJARIĆ i sur., 2011.; ŠPIRANEC i sur., 2013.; ŠPOLJARIĆ i sur., 2015.; STOLIĆ i sur., 2019.). S obzirom na sastav brojnih bioaktivnih komponenti ploda, odnosno mahune rogača, poput jednostavnih fenola, polifenola, slobodnih flavonoida, glikoziliranih flavonoida, za

veterinarsku medicinu je od interesa ispitati rogačev potencijalni učinak nutraceutika s ciljem zaštite zdravlja probavnog trakta i ukupnog imuniteta odojaka po odbiću (CAPCANARI i sur., 2022.). Naime, još od antičkog doba za plod, odnosno mahunu zimzelene biljke rogač (*Ceratonia Siliqua*, L.) prepoznat je značajan farmakološki i nutritivni potencijal. Prema istraživanjima NASAR-ABBAS i sur. (2016.) dobra nutritivna vrijednost ploda rogača ističe se značajnim udjelom šećera (46%), polifenola (20%) i proteina (7%) zbog čega je u brojnim znanstvenim istraživanjima i dokazan njegov pleiotropni farmakološki učinak. Također, rogač je vrlo bogat prehranbenim vlaknima (40%) koja u organizmu, kako čovjeka tako i životinje, imaju fiziološki blagotvorne učinke na mnoga patofiziološka i patološka stanja (MARAKIS, 1996.). Naime, plod rogača se sve više istražuje u području od interesa veterinarske medicine, odnosno najčešće na modelu nutritivne modulacije preživača i peradi (RICHANE i sur., 2022.). Naime, zbog povoljnog udjela pektina i lignina rogač je dobar stabilizator probave, odnosno upotrebljivo sredstvo protiv proljeva ili dijareje, kod upale (enteritis) crijevne sluznice, dispepsije ili otežane probave. Također, brojne su studije dokazale da rogač, kao prirodni dodatak hrani, ima protuaterogeno (BOUBLENZA i sur., 2019.) protubakterijsko, protumikrobno, protufungalno, protudijabetičko (AISSANI i sur., 2012.) te protuupalno djelovanje (PILUZZA i sur. 2020.). Temeljem, svega prethodno navedenog rogač je uvršten u EU registar dodataka hrani za sve vrste životinja (BAMPIDIS i sur., 2022.). Zbog prethodno opisanih svojstava rogača, danas, kada je legislativom regulirana i zabranjena uporaba APR-a u suvremenoj animalnoj proizvodnji, jedna od mogućih alternativnih strategija za prevenciju i kontrolu zdravlja konzumnih životinja u intenzivnom uzgoju mogla bi biti i umješavanje pripravka rogača u stočnu hranu. Stoga, temeljem dobivenih rezultata u ovom istraživanju na modelu odbijene prasadi, očekuje se utvrditi znanstveno utemeljene i inovativne preporuke za uvođenje rogača kao fitobiotika u uzgojne sustave za proizvodnju odbijene prasadi, koji moraju funkcionirati bez dodataka APR-a u hrani.

## **2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA**

## 2.1. Nutritivna modulacija

U suvremenoj proizvodnji životinja od 1. siječnja 2006. godine u Europskoj uniji temeljem EU uredbe br. 355/2003 od 20. veljače 2003. godine zabranjeni su antibiotici kao poticatelji rasta u hrani za životinje i to zbog opasnosti njihove uporabe i/ili zlouporabe za zdravlje i životinja i ljudi. Tako je i od 1. srpnja. 2013. godine i u Republici Hrvatskoj zabranjena njihova neklinička uporaba u proizvodnji životinja namijenjenih ljudskoj prehrani. Nadalje, 13. rujana 2018. godine prihvaćena je i rezolucija Europskog parlamenta o europskom akcijskom planu „*Jedno zdravlje*“ (engl. *One Health*) kojom se osim ojačavanja zdravstvenih sustava članica Europske unije želi postići i smanjenje rizika od antimikrobnih rezistencija te upravljati rizicima za sigurnost hrane. Naime, pristup „*Jedno zdravlje*“ podrazumijeva multidisciplinarnu zajedničku suradnju na globalnoj, nacionalnoj i lokalnoj razini u cilju postizanja najboljih rezultata u očuvanju okoliša te zdravlja životinja i ljudi (VILIBIĆ-ČAVLEK i sur., 2022.). Naime, do trenutka donošenja prethodno navedenih regulativa i uredbi, zdravstveni problemi u kontroliranim sustavima uzgoja životinja namijenjenih za prehranu ljudi, uglavnom su se rješavali dodavanjem supertapijskih doza APR-a u hranu kako bi se prevenirale i/ili kontrolirale bolesti te povećavala proizvodnost. Međutim, povlačenje APR-a iz hrane za životinje uzrokovalo je slabiju iskoristivost hrane, smanjenje proizvodnosti, ali i uvećanje oboljenja pa i smrtnosti životinja (VINCE i sur., 2022.). Stoga, je od interesa za veterinarsku medicinu utvrđivanje znanstveno utemeljenih i inovativnih alternativnih strategija održivih metoda kontrola stresnih činitelja na zdravlje životinja u odgovarajućim sustavima hranidbe koji moraju funkcionirati bez dodataka antibiotskih poticatelja rasta. Upravo je zato važno sastaviti recepture dnevnih obroka koje će zaštititi zdravlje životinja, podignuti njihovu proizvodnost i poboljšati njihove klaoničke kvalitete, a ujedno biti i ekonomski isplative. Tako suvremena istraživanja sve više prepoznaju ulogu nutritivne modulacije na zdravlje i proizvodnost životinja poput: poboljšanog unosa hrane, bolje probavljivosti i apsorpcije hranjivih tvari, smanjenja oksidacijskog stresa, modulacije imunskog sustava, te modeliranja sastava crijevne mikrobiote. Pri tome sve se više prepoznaje kao dobra alternativa antibiotskim poticateljima rasta dodatak probiotika, prebiotika i sinbiotika u krmnim smjesama posljedično čemu se postiže dobra produktivnost životinja, sniženi troškovi hrane, povećana hranjiva vrijednost i higijenska sigurnost proizvedene hrane, a sve u cilju

potpunije zaštite okoliša (LOW i sur., 2021.). Probiotici su pojedinačne ili skupine mikroorganizama povoljnog učinka na crijevni mikrobiom domaćina. Njima pripadaju pojedine vrste plijesni, bakterija i gljivica koje se mogu razdijeliti u slobodne nekolonizirajuće vrste poput *Saccharomyces cerevisiae* i *Bacillus. sp.* i u kolonizirajuće kao što su *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.* te *Lactobacillus sp.*. Njihova glavna funkcija je sprječavanje naseljavanja u probavnom sustavu patogenih mikroorganizama. Naime, u probavnom sustavu, uslijed kompeticije za hranjive tvari, stvaraju se uvjeti koji inhibiraju razvoj patogenih, ali istovremeno pogoduju rastu korisnih bakterija. Nadalje, umanjnjem rizika od bolesti i stimuliranjem imunosnog sustava poboljšavaju se parametri proizvodnosti. Značajan utjecaj imaju i na morfofunkcionalna svojstva probavnih organa temeljem čega rezultat je bolji rast i razvoj (BALENOVIĆ i sur., 2018.). Za razliku od probiotika, prebiotici su neprobavljivi sastojci hrane pozitivnog učinka na domaćina. Naime, oni u probavnom traktu domaćina potiču rast prisutnih korisnih bakterija već prilagođenih uvjetima okoline. Najpoznatiji prebiotici oligosaharidi poput manan-oligosaharida (MOS), gluko-oligosaharida i frukto-oligosaharida (FOS). Njihovi pozitivni učinci su poput redukcije fenolnih i amonijevih produkata, te poticanje enzimskih reakcija, kompeticije, antagonizma s patogenim mikroorganizmima odnosno sprečavanje njihove kolonizacije probavnog sustava. Nadalje, pojam sinbiotik odnosi se na prehrambene dodatke koji kombiniraju učinke prebiotika i probiotika te imaju dvojako djelovanje, odnosno poboljšavanjem održivosti probiotika pružaju dodatnu zaštitu zdravlja domaćina. Tako je osnovni razlog za primjenu sinbiotika što pojedini probiotik nije u mogućnosti učinkovito u probavnom sustavu opstati bez sebi svojstvenog prebiotika, odnosno bez sebi specifičnog izvora hrane može imati na kisik povećanu netoleranciju, te nižu vrijednost temperature i pH temeljem čega se smanjuje njegov pozitivan učinak. Prebiotici u stvari osiguravaju poboljšane uvijete za razvoj i rast probiotika u probavnom sustavu. Temeljem literaturnih podataka poznato je, da se u cilju zaštite zdravlja, primjenom kombinacije prebiotika i probiotika u probavnom sustavu udvostručuje broj dobrih bakterija. U posljednje vrijeme, kao novi dodatak hrani, pojavljuju se fitobiotici, odnosno iz biljaka izolirani bioaktivni sastojci koji također utječu na poboljšavanje proizvodnosti životinja i kvalitete njihovih proizvoda ali su i zaštitni za njihovo zdravlje te su od velikog interesa u gospodarstvu u dijelu koji se odnosi na proizvodnju hrane za životinje.

### 2.1.1. Fitobiotici

Fitobiotici su prirodni dodaci hrani za životinje, koji osim što poboljšavaju njihovo zdravlje, proizvodnost i svojstva njihovih proizvoda, mogu biti i dobra alternativa antibiotskim poticateljima rasta jer se u proizvodima (meso) ne javljaju u obliku ostataka (rezidua) i ne uzrokuju rezistenciju mikroorganizama (SENČIĆ i sur., 2022.). Naime, i za razliku od antibiotika, fitobiotici se životinjama mogu davati trajno. Regulativom Europske unije br. 1831/2003 o dodatcima hrani za životinje od 22. rujna 2003. godine fitobiotici su uvršteni kao senzitivni dodatci druge kategorije. Prema prethodno navedenoj regulativi senzitivnim dodacima hrani za životinje opisuju se svi pripravci koji nakon dodatka u hranu proizvodima porijeklom od hranjenih životinja poboljšavaju njihova senzorička i organoleptička svojstva. Upravo je zato od velikog interesa uredba Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA, 2009.) kojom je regulirano da svi fitobiotici, odnosno svi dodatci u hranu za životinje biljnog porijekla podliježu regulativi o senzornim aditivima, odnosno aromama. HENGL i sur. (2011.) opisuju da fitobiotici zbog svojih biopoticajnih učinaka poput: poboljšanja okusa hrane, antioksidacijskog, antimikrobnog, poboljšanja funkcije imunosnog i probavnog sustava od velikog su interesa u okviru nutritivne modulacije za veterinarsku medicinu. Nadalje, fitogeni se mogu razvrstati u četiri podgrupe temeljem načina njihovog dobivanja i porijekla (WINDISCH i sur., 2008.):

- biljke (biljke nalik travi, cvjetajuće biljke, jednogodišnje biljke);
- začini-botanici dio biljke (lišće, sjeme, kora s intenzivnim okusom ili mirisom, korijen) ili cijela biljka;
- eterična ulja (lipofilne hlapive komponente dobivene hladnom ekstrakcijom, odnosno ekstrakcijom vodenom parom te alkoholnom destilacijom);
- uljne komponente (ekstrakti dobiveni nevodnim otapalima).

Najčešća podgrupa fitogena koja se dodaje u hranu za životinje su eterična ulja, odnosno mirisne, koncentrirane lako hlapive tekućine vrlo složenog kemijskog sastava u kojem prevladavaju fenilpropen i terpeni. Njihov kemijski sastav varira ovisno o dijelu biljke iz kojeg se dobiva (list, kora, cvijet, usplođe ili cijela biljka), fazi vegetacije biljke, godišnjem dobu te o načinu uzgoja. Prema dostupnoj literaturi cjelovita eterična ulja ili njihove komponente poput: cinamaldehida, karvakrola, karvana, citrala, eugenola, limonena, p-cimena, mentola i timola opisuju se prirodnim poticateljima rasta u hrani za

životinje. Naime, dodatkom u hranu poboljšavaju okus i unos hrane, stimuliraju izlučivanje probavnih enzima, motilitet želuca i crijeva, imunosni i endokrini sustav, te djeluju antioksidativno, protuupalno, kokcidiostatsko, antiviralno i antimikrobno. Tako su RADULOVIĆ i sur. (2015.) zabilježili kod odbijenika hranjenih 40 dana (0,1 kg/t hrane) pripravkom fitobiotika Enviva EO 101 (Danisco Animal Nutrition, SAD), kojeg su aktivne tvari cinamaldehyd i timol, veću tjelesnu masu, bolji dnevni prirast te bolju iskoristivost (konverzija) hrane u odnosu na kontrolnu prasad. Nadalje, u izmetu odbijenika hranjenih 28 dana uz dodatak fitobiotskog pripravka Patente Herba® (Plus Patent Co. d.o.o, Srbija) (2 kg/t) utvrđen je njegov antimikrobni učinak (DELIĆ i sur., 2018.). Patente Herba® (Plus Patent Co. d.o.o, Srbija) je bioaktivna smjesa timola, karvakrola, eukaliptola, p-cimena, mentola i eugenola porijeklom iz biljaka ružmarin (*Rosmarinus officinalis*), timijan (*Thymus vulgaris*) i origana (*Origanum vulgare*). DRAŠKOVIĆ i sur. (2018.) za pripravak Patente Herba® (Plus Patent Co. d.o.o., Srbija) zabilježili su i protudijareični učinak u odbijenika. Rezultate sličnim prethodno navedenim, opisali su i PAPATSIROS i sur. (2009.), ali na modelu odbijenika kojima je u hranu dodavan biljni pripravak porijeklom iz origana (*Origanum vulgare*) i bijelog luka (*Alium sativum*). Nadalje za monoterpe eteričnih ulja biljaka iz porodice usnače (*Labiatae*) poput:  $\alpha$ -pinena,  $\beta$ -pinena, mircena, p-cimena, limonena, kamfora, timola, karvakrola, mentola te  $\alpha$ -terpinen u literaturi su opisani i njihovi potencijalni imunomodulacijski učinak u poligastričnih i monogastričnih životinja (BALENOVIĆ i sur., 2018., RIBEIRO i sur., 2019., VALDIVIESO-UGARTE i sur., 2019., YANG i sur., 2019.). Tako su ZENG i sur. (2015.) zabilježili više udjele CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> limfocita u perifernoj krvi odbijenika hranjenih 28 dana uz dodatak iz origana izoliranih karvakrola (60 g/kg) i timola (55 g/kg). U suglasju sa prethodnim su rezultati istraživanja PETERFALVI i sur. (2019.) koji su pokazali da eterična ulja dodana u hranu poboljšavaju imunosni status odbijenika na što ukazuje povećanje proliferacije limfocita, fagocitoze, kao i razina IgG, IgA, IgM u serumu. Nadalje, dodatkom 4,5% cinamaldehyda porijeklom iz cimeta u hranu za odbijenike tijekom 14 dana poboljšana je njihov antioksidacijski status (SU i sur., 2018.). Međutim, DURMIC i BLACHE (2012.) napominju da prevelike količine u hranu dodanih fitobiotika, odnosno eteričnih ulja i/ili njihovih aktivnih tvari mogu imati i negativan utjecaj na probavni sustav životinja u



dijelu koji se odnosi na smanjenje enzimatskih aktivnosti odnosno na promijene u anatomiji i fiziologiji što može uzrokovati probavne poremećaje.

## 2.2. Rogač (*Ceratonía siliqua* L.)

Rogač je biljka pripadna porodici mahunarki (*Fabaceae*), podporodici *Caesalpinioideae*, te rodu *Ceratonía*. Kao višegodišnja biljka može rasti u obliku zimzelenog stabla ili grma i to većinom na zemljopisnom području sjeverne geografske širine približno između 30°–45° te južne geografske širine 30°–40°. Tako je područje njegove geografske rasprostranjenosti su zemlje sredozemnog bazena, Arizona, Kalifornija, Australija, Čile te Južnoafrička Republika. U R. Hrvatskoj rogač je najrasprostranjeniji na području Dalmacije, dok se sjevernije od Zadra pojavljuje tek sporadično. Porijeklo imena *Ceratonía siliqua* L. je od grčke riječi „keras“ čije je značenje rog i od latinske riječi „siliqua“ koja opisuje oblik i tvrdoću gondole. Od hebrejske riječi „kharuv“ porijeklo je narodnog imena iz kojeg su kasnije izvedena nazivlja na brojnim drugim jezicima poput: „harruba“ na arapskom, „algarrobo“ odnosno „garrofero“ na španjolskom, „garrover“ ili „garrofer“ na katalonskom, „alfarrobeira“ na portugalskom, „caroubier“ na francuskom, „carrubo“ na talijanskom, „Karubenbaum“ na njemačkom, „charaoupi“ na grčkom te „charnup“. Primjerice u zemljama dalekog istoka nazivlja za rogač su poput „chum het Tai“ u Tajlandu, „Chiao-tou-shu“ u Kini te „gelenggang“ u Maleziji. Za rogač u R. Hrvatskoj koriste se brojni nazivi poput: rožičak, rožić, rohoc, kaluber, rožki, rožiček, slatka korica, karuba i sl. Prema legendi rogač je bio hrana u pustinji Ivanu Krstitelju temeljem čega je danas opisan za rogač i naziv kruh sv. Ivana. Tijekom povijesti poznata je vrlo značajna uloga rogača u zlatarstvu. Naime, u antičko doba sjemenke rogača, zbog svoje ujednačene prosječne mase od 0,190 do 0,215 g, koristile su se kao mjerne jedinice mase, odnosno karat, za zlato, dijamante, bisere i drugo drago kamenje. Tako je današnji karat međunarodno normiran 1905. godine pod nazivom metarski karat (engl. *metric carat*), vrijednosti 0,2 g. Od 2007. godine rogač je u Tunisu uvršten na nacionalnu listu prioriteta genetskih resursa za očuvanje i upravljanje. Nažalost, u R. Hrvatskoj uzgoj rogača je zanemaren, iako je njegov plod mahuna visoke ljekovite i hranidbene vrijednosti od interesa humane ali i veterinarske medicine. Iznimka je Komiža na otoku Visu u kojoj uzgaja i prerađuje autohtona sorta rogača narodnog imena "komiški Veliki ili Tusti

rogač" (Slika 1.). Naime na području Komiže nalaze se stoljetni nasadi za koje je poznato da su se tradicionalno sadili prilikom svetkovina. Danas zahvaljujući u Komiži mlinu za mljevenje rogača dnevnog kapaciteta od 1000 kg, na otoku Visu uz badem, smokvu i maslinu rogač predstavlja vrlo značajnu poljoprivrednu i gospodarsku i kulturu (SREČEC i MILIĆEVIĆ BRADAČ, 2020.).



**Slika 1.** Stablo rogača u Komiži na otoku Visu.  
(izvor slike: Katarina Popović)

Rogač je vazdazelena diecijska ili dvodomna biljka kojoj se prema floralnoj morfologiji razlikuju ženske, muške ali i hermafroditne biljke. Njegov životni vijek je do 150 godina. Kožnati listovi dužine do 7 cm postavljeni su parno perasto te svake druge godine otpadaju tijekom srpnja. U jesen biljka cvijeta malim, mnogobrojnim jednospolnim cvjetovima. Biljka ženskog spola razvija plodove u obliku mahune koje se danas osim u prehrambene svrhe koriste i u proizvodnji farmaceutskih i kozmetičkih pripravaka. Danas, zahvaljujući brojnim istraživanjima u području biomedicine opisani su vrlo značajni učinci bioaktivnih sastojaka ploda rogača na zdravlje čovjeka i životinja poput. antioksidacijskog, antibakterijskog, protugljivičnog, protuupalnog, protudijarejnog, antidijabetičkog te hepatoprotektivnog i antiproliferativnog (MAHMOUDI i sur., 2022.).

#### 2.1.1. Plod rogača (*Ceratonia sliqua* L.)

Plod rogača je mahuna (Slika 2.). Mahuna može biti izduženo ravnog ili zakrivljenog oblika dužine od 10 do 30 cm i širine od 1,5 do 3,5 cm. 90% mahune izgrađuje pulpa, a tek 10% sjemenke. Sama pulpa izgrađena je kožnatog vanjskog sloja

perikarpa i unutarnjeg sloja mekšeg mezokarpa koji razdvaja i okružuje sjemenke. Sjemenka je građena od tri dijela: ljuska (30-33%), endosperm (42-46%) i embrij ili klica (23-25%) PAPAEFSTATHIOU i sur. (2018.).



**Slika 2.** Plod rogača stabla rogača u Komiži na otoku Visu.  
(izvor slike: Zrinka Žderić Savatović)

Po svom kemijskom sastavu pulpa i sjemenke se znatno razlikuju temeljem čega je i svrha njihove primjene različita (Tablica 1.).

**Tablica 1.** Kemijski sastav ploda rogača (mahune) (PAPAEFSTATHIOU i sur., 2018.).

<b>MAHUNA</b>	<b>PULPA</b>	šećeri ciklitol vlakna	
		polifenoli	folne kiseline flavanoidi tanini
	aminokiseline minerali		
<b>SJEMENKA</b>	guma polifenoli proteini		

U dostupnoj literaturi opisano je da se plod rogača kao prehrambena namirnica koristi još iz antičkog doba tijekom kojeg su ga Egipćani i Stari Grci konzumirali kao vodene ekstrakte ili pečene sjemenke (MARAKIS, 1996). Danas se mahuna rogača zbog bogatog sastava bioaktivnih supstanci u svom sastavu ne koristi samo kao hrana za čovjeka već i kao obećavajući funkcionalni i nutraceutski dodatak stočnoj hrani za životinje (IOANNOU i sur., 2023.). Prema istraživanjima NASAR-ABBAS i sur. (2016.) dobra nutritivna vrijednost mahune rogača ističe se značajnim udjelom šećera (46%), prehrambenih vlakana (40%), polifenola (20%) i proteina (7%). Zahvaljujući prethodno

opisanom nutritivnom sastavu, mahuna rogača ima niski glikemijski indeks te značajan antioksidativni potencijal koji je posljedica visokih udjela polifenolnih komponenti, odnosno flavonolnih glikozida (kvercetin, miricetin i kemferol te njihovi derivatima) i hidrolizabilnog tanina. Također, mahuna rogača sadrži i niske koncentracije masti (0,9–1,3%) i masnih kiselina od kojih su najzastupljenije linolenske i oleinske kiseline (STAVROU i sur., 2018.). Mahuna rogača uz minerale poput kalija (993–1089 mg/100g), kalcija (266–319 mg/100g), fosfora (76–79 mg/100g) i magnezija (55–56 mg/100g), željeza (18–20 µg/g), cinka (7–8,5 µg/g) i bakra (5–8 µg/g) također sadrži i vitamine A, C, B6, E, riboflavin, tiamin, folat, niacin te pantotensku kiselinu (SREČEC i MILIĆEVIĆ BRADAČ, 2020.). Tako HIGAZY i sur. (2018.) opisuje da rogač, kao dobar izvor mikro- i makroelemenata, ima učinak koenzima antioksidacijskim enzimima pri čemu može zaštititi organizma od nakupljanja slobodnih radikala. Nadalje, PAPAEFSTATHIOU i sur. (2018.) navode da se mahuna rogača temeljem standarda Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) smatra dobrim izvorom aminokiselina. Naime, dokazano je da sadrži 17 aminokiselina (serin, asparaginska kiselina, glicin, glutaminska kiselina, treonin, alanin, valin, histidin, arginin, tirozin, izoleucin, prolin, izoleucin, metionin, izoleucin, leucin, cistein, izoleucin, fenilalanin, lizin) od kojih glutaminska kiselina, leucin, valin i alanin čine 57%. Također sadrži svih sedam esencijalnih aminokiselina (lizin, metionin, izoleucin, treonin, leucin, valin, fenilalanin) (GIOXARI i sur., 2022.). KIŠ i sur. (2014.) opisuju da mahuna rogača zbog udjela od oko 35% saharoze, 7% fruktoze te 4% glukoze u ukupnom šećeru ima visoku energetska vrijednost što je u nedostatku žitarica čini alternativnim krmivom za životinje. Naime, kao alternativna hrana sve se više koristi u hranidbi konja i pasa koji su intolerantni na škrob i žitarice. Međutim, zbog visokog udjela tanina u sjemenkama (15–20%) preporuka je da se usitnjena sa sjemenkama mahuna rogača u dnevni obrok za životinje umješava u udjelu ne višem od 5% (SILANIKOVE i sur., 2006.). Naime, prema istraživanjima MARISCAL-LANDIN i sur. (2004.) mahune rogača zbog sadržaja tanina u sjemenkama djeluju protunutritivno, odnosno smanjuju sposobnosti probavljivosti proteina u obrocima za životinje posljedično čemu se smanjuju njihovi parametri proizvodnosti. U suglasju sa prethodno navedenim su rezultati istraživanja PELEGRIN-VALLS i sur. (2022.) u kojima mahuna rogača dodana u koncentraciji od 30% u dnevni obrok za sisajuću janjad tijekom 54 dana, ima pozitivan učinak na zdravstvene parametre, ali istovremeno i negativan učinak na promatrane

parametre proizvodnosti. Međutim, dobiveni rezultati u dijelu prethodno opisanog istraživanja, u kojem je u dnevni obrok umješavana 50% niža koncentracija mahune rogača tijekom istog vremenskog perioda, pokazali su da tako pripremljen energetski bogat dnevni obrok ima zaštitni učinak na zdravlje te pozitivni učinak na proizvodnost hranjene sisajuće janjadi. Rezultate sličnim prethodno navedenim, opisali su OBEIDAT i sur. (2011.) ali na modelu nesisajuće janjadi hranjene uz dodatak rogača. BARAK i MUDGIL (2014.) na modelu tovnog pileta dodatkom rogača u koncentraciji od 10% do 12% u dnevni obrok, opisali su pozitivne učinke rogača na njihove proizvodne osobine i zdravstveni status, pri čemu nisu zabilježeni njegovi štetni učinci niti na njihovo meso koje je u cijelosti bilo upotrebljivo za potrebe tržišta nakon klaoničke obrade. MAHMOUDI i sur. (2022.), temeljem pozitivnog djelovanja na mikrobiom crijeva i kemijsku kvalitetu mesa tovnih pilića, suhi pripravak ploda rogača preporučuju kao izvediv, održiv i učinkovit probiotik u koncentraciji od 3 do 7%. Nadalje, tanini rogača održavaju i dobro zdravlje i funkcije probavnog sustava djelujući protudijareično i antibakterijski i to sa posebnim osvrtom na *Enterococcus* sp., *Listeria monocytogenes*, te *Pectobacterium atrosepticum*. Tako BASHARAT i sur. (2023.) opisuje da tanini iz ploda rogača u koncentraciji od 2% u tankom crijevu onemogućeno vezanje bakterija *E. coli* na njihove resice. AWUCHI i OKPALA (2022.) opisali su protugljivičnu i protuvirusnu aktivnost rogača i to za gljivicu *Geotrichum candidum*, te za RNA virus iz porodice *Paramyxoviridae*, odnosno uzročnika Newcastleške bolesti ptica. Nadalje, tanini, trjeslovine i prehrambena vlakna poput pektina i lignina ploda rogača dobri su stabilizatori probave, odnosno često se koriste kao pripravak za smirivanje proljeva, upale crijevne sluznice te otežane probave, ali i pri liječenju želučanih tegoba. Njihovo adstrigeno djelovanje nastaju uslijed njihove interakcije s proteinima posljedično čemu se proteini talože pri čemu stvaraju zaštitni polisaharidni sloj na sluznici probavnog trakta koji smanjuje samu podražljivost crijeva (GIOXARI i sur., 2022.). Plod rogača prepoznat je i kao vrlo bogat izvor netopivih, topivih te ukupnih prehrambenih vlakana na što dokazuju brojni rezultati znanstvenih studija. Nastavno na prethodno navedeno, prehrambena vlakna rogača, zbog nemogućnosti njihove probavljivosti od strane enzima probavnog sustava, osim pozitivnih učinaka na probavni trakt poboljšavaju i apsorpciju kalcija te jačaju imunosti odgovor (AISSA i sur., 2021.). Dodatni zaštitni učinka na zdravlje, mahuna rogača ima zahvaljujući i sadržaju ciklitolu, odnosno 5-7% D-pinitola

za kojeg je poznato učinak sličan inzulinu. Naime, na modelu štakora i majmuna oboljelih od dijabetesa dodatkom iz mahune rogača izoliranog D-pinitola u koncentraciji od 1,5% u dnevni obrok tijekom 4 tjedna zabilježeni su sniženi udjeli glukoze, kolesterola i triglicerida u serumu (AZAB, 2022.). YILMAZ i sur. (2018.). slične rezultate zabilježili su na modelu ribe tilapije (*Oreochromis mossambicus*) nakon umješavanja u dnevni obrok tijekom 60 dana 1,5% sirupa od ploda rogača. Također zabilježili su pozitivan učinak na istraživane imunosne parametre, odnosno zabilježena je povećana sposobnost razgradnje fagocitnih tvari te fagocitna aktivnost. Opisana imunomodulacijska svojstva mahune rogača mogu se pripisati značajnom sadržaju polifenola, odnosno flavanoida. Tako je u novijoj literaturi za flavanoide rogača poput hesperidina, apigenina, luteolina i kvercetin opisan njihov pozitivan utjecaj na imunosni sustav (MARTÍNEZ i sur., 2019.; CAPCANARI i sur., 2022.). Nadalje, za kvercetin iz rogača dokazano je protubakterijsko, protufungalno i protuvirusno djelovanje (PAZIR i ALPER, 2018.). U istraživanju KISHAWY i sur. (2020.) provedenom na modelu ribe tilapia (*Oreochromis niloticus*) koje su hranjene uz dodatak manana iz rogača zabilježen je povećan dnevni prirast, bolja konverzija hrane, te pojačanu aktivnost humoralne imunosti temeljem lizozimske aktivnosti i ukupnog IgM-a. Nadalje, IOANNOU i sur. (2023.) opisuju da konzumacija mahune rogača smanjuje rizik od zdravstvenih poremećaja i to zbog povoljnog udjela antioksidacijski aktivnih polifenola. Prema istraživanjima STAVROU i sur., (2018.) glavni polifenolni spojevi rogača su galna kiselina, katehin, epikatehin, epikatehingalat, epigalokatehin, epigalokatehingalat, miricetin i kvercetin. Na modelu štakora za kvercetin, miricetin i katehin iz ploda rogača osim antioksidativnih, utvrđena su zadovoljavajuća antihiperlipidemijska, protuupalna te protutumorska svojstva (GARCÍA-DÍEZ i sur., 2022.). Naime, u suvremenoj literaturi opisano je da kvercetin pojačava apoptozu (programirana stanična smrt) T-leukemičnih stanica izravnom inhibicijom aktivnosti antiapoptotskog protein BCL-XL proteina. Također na modelu miša dokazano je da galna kiselina izolirana iz ploda rogača inhibira proliferaciju stanica osteosarkoma te stimulira njihovu apoptozu (BASHARAT i sur., 2023.). Danas u suvremenom svinjogojstvu odbiće je glavni kritični period uzgoja svinja zbog povećane podložnosti infekcijama, posebice probavnim poremećajima i proljevima. Prevencija i kontrola proljeva povezanih s odbićem posljednjih se desetljeća održavala uporabom antibiotika i metala (poput bakra) uklopljenih u hranu. Međutim, povećana otpornost bakterija na

antibiotike i ekološki problemi povezani sa uporabom visokih razina bakra i cinka u hrani doveli su i do zabrane istih. Zato se radi održavanje visoke proizvodnosti i dobrog zdravstvenog stanja prasadi, danas intenzivno traga za pogodnijim pripravcima, koji nisu štetni za zdravlje životinja i čovjeka, a ekološki su prihvatljivi za okoliš. Tako su ŽDERIĆ SAVATOVIĆ i sur. (2017.) opisali da rogač umješavan u komercijalnu hranu za odbijenike nije značajno utjecao na fiziološke vrijednosti hemograma pokusnih životinja tijekom 42 dana hranjenja. ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.) utvrdili su u odbijenika hranjenih uz dodatak rogačeve pogače između 14. i 42. dana hranjenja znakovito povećanje udjela CD45<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD21<sup>+</sup> limfoidnih stanica iz periferne krvi. Prethodno istraživanje se može povezati i s činjenicom da je rogač bogat cinkom, koji kao mineral od izrazitog je značaja za funkciju imunskog sustava (CAPCANARI i sur., 2022.). S obzirom da nema novijih podataka o učinku rogača na kinetiku promjena pojedinih subpopulacija T limfocita u perifernoj krvi domaće svinje, potrebno je taj učinak istražiti u skladu s preporukama istraživanja koja su proveli ANDRIŠIĆ i sur. (2020.). Međutim, INSERRA i sur., (2015.) u mesu odrasle svinje, hranjenih dodatkom rogača u koncentraciji od 8% i 15% u dnevni obrok, zabilježili su smanjenu koncentraciju zasićenih masnih kiselina, a povećanu koncentraciju nezasićenih masnih kiselina.

### 2.3. Odbiće prasadi

Danas u suvremenom svinjogojstvu i nadalje je odbiće prasadi kritični trenutak uzgoja svinja zbog povećanih probavnih poremećaja, odnosno proljeva, te povećane podložnosti brojnim infekcijama. Naime tijekom odbića vrlo složeni socijalni, nutritivni, fiziološki i okolišni stresovi interferiraju s adaptacijom i razvojem probavnog sustava odbijenika. Tako, HOLMAN i sur. (2021.) opisuju razvoj velikih promjena u morfologiji crijeva u oko 10% prasadi odbijenih u dobi od 28 dana koji u razdoblju od 48 sati po odbiću nisu konzumirali krutu hranu. Nadalje, KARASOVA i sur. (2021.) oštećenja crijevnih resica u odbijenika, poput povećanja njihove širine i smanjenja visine, odnosno povećanja dubine kripte, te smanjenja njihovog resorptivnog kapaciteta, odnosno aktivnosti enzima njihovih četkastih poruba, i nadalje objašnjavaju kao posljedicu smanjenog unosa hrane te razvoja pothranjenosti i zaostajanja u rastu. TANG i sur. (2022.) napominju da samo pravilna prehrana u fazi odbića podržava optimalan razvoj crijeva i jaku crijevnu barijeru protiv patogena, dok smanjen unos hrane ima značajan učinak na proizvodne parametre

u kasnijim fazama tova. Također, dostupni literaturni podaci opisuju da stresni uvjeti odbića značajno utječu i na funkciju imunosnog sustava odbijenika pri čemu je značajno oslabljena, kako humoralna tako i stanična imunost (SOUTHEY i sur., 2021.). Naime, vrijeme komercijalnog odbića (u dobi od oko 28 dan) podudara se s razdobljem opadanja pasivnog imuniteta odbijenika, odnosno s vremenom kada se njihova pasivna laktealna imunost stečena od majke značajno smanjuje. Upravo zato GROOT i sur. (2021.) napominju da su odbijenici u razdoblju odbića imunodeficientne životinje jer njihov imunosni sustav nije u potpunosti razvijen. Sama činjenica da aktivna imunost odbijenika još nije sasvim razvijena do dobi od 7–9 tjedana, a da prestaje njihova pasivna imunosna zaštita upućuje na mogućnost povećane pojavnosti infekcijskih bolesti. Nadalje, tijekom razdoblja odbića dolazi i do slabljenja imunosne funkcije tankog crijeva odbijenika, što rezultira padom imunosne funkcije limfocita, ali povećanjem aktivnosti intestinalnih pro- i protuupalnih citokina te povećane ekspresije njihovih gena što posljedično utječe na promjenu morfologije crijeva (DING i sur., 2022.). Prethodno navedeno može nepovoljno utjecati na probavu i apsorpciju hranjivih tvari, izlučivanje protutijela i održavanje funkcije crijevne barijere, čime se smanjuje učinak rasta svinja nakon odbijanja Naime, odbijenici u stanju stresa, podložni su infekciji tankog crijeva brojnim patogenim mikroorganizmima, od kojih je najčešća uzrokovana enterotoksigenim sojem bakterije *E. coli*. Kolonizacija tankog crijeva *E. coli* najčešće 5. do 10. nakon odbića u odbijenika uzrokuje opsežan proljev, odnosno povećano izlučivanje H<sub>2</sub>O, Na<sup>+</sup> i Cl<sup>-</sup> iona, smanjenu apsorpciju tekućine, dehidraciju, acidozu kao posljedicu prekomjernog gubitka tekućine i NaHCO<sub>3</sub> iz organizma, odnosno oboljenje naziva kolibaciloza odbijene prasadi (KOP) koja često ima i smrtni ishod. Prema KWANGWOOK i sur. (2022.) patogenost enteropatogenih sojeva *E. coli* u probavnom traktu odbijenika posljedica je ekspresije dva osnovna čimbenika virulencije poput:

- prisutnosti fimbrija, odnosno struktura na površini stanice bakterijske pomoću kojih adheriraju uz epitelne stanice sluznice crijeva;
- sposobnosti stvaranja enterotoksina.

Zabrana korištenja APR-a u hrani za životinje potaknula je pronalaženje novih gospodarsko opravdanih rješenja za uspostavu uzgojno ujednačenih sustava svinja zaštitnih za dobrobit svih životinja u proizvodnji, prihvatljivih za okoliš, te kompatibilnih sa propisima EU-a, odnosno prihvatljivih za tržišta u okviru javnog (konzumenti),



javnozdravstvenog (populacija) i poljoprivrednog sektora (proizvođači svinjetine/stočne hrane). Temeljem toga i sami proizvođači hrane za svinje moraju pronaći alternativne načine da upravo hranidbom optimiziraju imunost i proizvodnost svinja. Težište prethodno spomenutih rješenja mogle bi biti nove hranidbene strategije koje moduliraju imunostni sustav, odnosno održavaju dobro zdravstveno stanje čime nadalje preveniraju nastanak bolesti. Tako, RODRIGUES i sur. (2022.) opisuju interakcije između hranidbe i imunostnog sustava životinja koje utječu na njihovu proizvodnost, odnosno na njihove potrebe za hranjivim tvarima na način da: imunostni odgovor na patogene mikrobe usporava rast i mijenja metabolizam pri čemu se mijenjaju potrebe za hranjivim tvarima; hranidba utječe na imunokompetenciju svinje i njenu otpornost na zarazne bolesti. PENG i sur. (2021.) napominju da je u odbijenika upravo probavni sustav mjesto najbitnije interakcije stanica sluzničke imunosti domaćina i antigena unesenog hranom pri čemu je vrlo značajna uloga mikrobioma. Nadalje, u svojim istraživanjima ukazuju da u crijevima prasadi prije i poslije odbića 95% mikrobioma čine anaerobne bakterije koljena *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Proteobacteria*. Prije odbića prasadi zabilježili su 54% *Firmicutes*, 38,7% *Bacteroidetes* i 4,2% *Proteobacteria*. Međutim, poslije odbića, uslijed prelaska s tekuće na krutu hranu odnos se mijenja u korist *Bacteroidetes* (59,6%), dok se udjeli *Firmicutes* (35,8%) i *Proteobacteria* (1%) smanjuju. Nadalje, ŽGOMBA MAKSIMOVIĆ i sur. (2019.) napominju da se nakon odbića u crijevima prasadi smanjuje broj bakterija roda *Lactobacillus*, dok se brojnost bakterija rodova *Clostridium* spp., *Prevotella* spp. i *E. coli* povećava. Temeljem toga, pripravci od odabira za alternativnu nekliničku uporabu antibiotika u hrani odbijenika, moraju prvenstveno djelovati kao regulatori crijevne mikrobiote, ali i kao preventivna sredstva za suzbijanje i kontrolu infekcija, posebno onih izazvanih enterotoksigenim sojevima bakterije *E. coli*. Nastavno na prethodno navedeno, strategije prevencije i kontrole proljeva odbijenika, radi održavanja njihove visoke proizvodnosti i dobrog zdravstvenog statusa, nužno je intenzivno tragati upravo za prirodnim pripravcima koji će promicati zdravlje njihovog probavnog sustava, pri čemu neće biti štetni za zdravlje ni čovjeka ni životinja, ekološki biti prihvatljivi za okoliš i to sve u skladu sa danas aktualnom strategijom „*Jednog zdravlja – Jedne dobrobiti*“ (PINILLOS i sur., 2016.). Nadalje, istraživanja GROOT-a i sur. (2021.) ukazuju da crijevna mikrobiota odbijenika osim što ima pozitivan utjecaj na iskoristivost hranjivih tvari, poboljšavaju fiziološka i morfološka svojstva probavnog

sustava, sprečavaju prodor patogenih bakterijskih vrsta, imaju i vrlo značajnu imunosnu ulogu. Upravo je iz tog razloga od velikog interesa razumjeti imunobiološki status odbijenika temeljem prethodnog uvida u njihovu prenatalnu i perinatalnu ontogenezu imunosnog sustava. Temeljem najnovijih istraživanja, PABST (2020.) objašnjava da je upravo dobna kategorija odbijenika najbolji pokusni model za biomedicinska istraživanja od interesa za humanu medicinu i to sa posebnim osvrtom na imunosni sustav, odnosno njegovih molekularnih i staničnih sastavnica. Naime, imunosni sustav odbijenika jedinstven je u odnosu na ostale sisavce pa i čovjeka i to zbog: neuobičajene građe limfnih čvorova kojima je izvana smještena mala srž, dok su korteks i parakorteks veći te dosežu do središnjeg dijela limfnog čvora; izavne emigracije iz limfnih čvorova u cirkulaciju T i B limfocita i to putem venula visokog endotela, umjesto eferentnim limfnim žilama; neuobičajene građe Payerovih ploča i tonzila, odnosno ilealne Payerove ploče dužine od 1 do 3,5 metra u kojoj nema interfolikularnih područja niti T stanica; vrlo visokog udjela izvantimuskularnih dvostrukopozitivnih  $CD4^+CD8^+$  T-limfocita (10-60%); vrlo visokog udjela gama delta limfocita T ( $\gamma\delta TCR^+$ ); raznolikosti genskog sustava koji regulira ekspresiju T staničnog receptora (TCR). Osim svega prethodno navedenog, odbijenici zaslužuju veliku istraživačku pozornost i zbog svog komercijalnog značaja kao izvora hrane širom svijeta. Godišnje u svijetu ugine preko 10 milijuna odbijenika i to pretežito od crijevnih bolesti bakterijske etiologije. Zbog te činjenice, znanstvenici u području od interesa za zdravlje i uzgoj odbijenika, razdoblje odbića prasadi smatraju ciljem, a ne sredstvom svojih istraživanja.

### **3. OBRAZLOŽENJE TEME**

U suvremenom intenzivnom svinjogojstvu znatni se naponi ulažu u razumijevanje i dijagnozu crijevnih infekcijskih bolesti, uključujući biologiju uzročnika, otpornost i liječenje domaćina, pri čemu se malo zna o preventivi tih bolesti s pomoću nutritivnih i imunomodulacijskih strategija. Stoga, danas, kada je legislativom regulirana i napuštena uporaba APR-a u svinjogojskoj proizvodnji, jedna od mogućih alternativnih strategija za preventivu/kontrolu očuvanja zdravlja i proizvodnosti odbijene prasadi u intenzivnom uzgoju moglo bi biti umješavanje u hranu i povoljno djelovanje pripravka rogača. Naime, iako je poznat pozitivan učinak dodanog rogača u hranu za određene dobne kategorije nekih vrsta životinja, u dostupnoj literaturi nema podataka o povezanosti pripravaka rogača s zdravljem i proizvodnosti odbijenika, te na parametre ocjene kemijske kvalitete i higijenske ispravnosti njihovog mesa.

Stoga, temeljem dobivenih preliminarnih rezultata predloženog istraživanja na modelu odbijenika, opći cilj je utvrditi znanstveno utemeljene pokazatelje za potencijalno uvođenje rogača kao alternativnog dodatka hrani u uzgojne sustave za proizvodnju svinja, koji sada moraju funkcionirati bez APR, te bi stoga i zbog toga, trebao biti neškodljiv za zdravlje konzumenata, po okoliš, kao i po dobrobit odbijene prasadi. Stoga, će se u okviru predloženih istraživanja nastojati utvrditi u uzgojnim sustavima svinja, dali rogač (*Ceratonía siliqua* L.) dodan u dnevni obrok za odbijenu prasad, ima zaštitni učinak na zdravlje te pozitivan učinak na proizvodnost i kvalitetu mesa.

Tako su specifični ciljevi ovog istraživanja su odrediti učinak rogača (*Ceratonía siliqua* L.) na:

- prosječni dnevni prirast, konverziju hrane po jedinici prirasta, pojavu i intenzitet proljeva (*diarrhea score*), gubitke zbog oboljevanja i zaostajanja u rastu te mortalitet do ulaska u predtov;
- razine serumskih koncentracija kolesterola i glukoze, razine stanične i humoralne imunosti, sposobnost fagocitoze/mikrobicidnosti granulocita i monocita te broj bakterija u obrisku sluznice rektuma;
- udjele u mesu vode, bjelančevina, kolagena, masti i ukupnog pepela.

Dobiveni rezultati predloženog istraživanja, ukoliko ga prepozna znanstvena zajednica, mogli bi doprinijeti dodatnim spoznajama i to:

(a) kratkoročno, da se preveniraju/kontroliraju zdravstveni problemi u intenzivnom uzgoju svinja, napose u odbijene prasadi primjenom nutritivne modulacije s pomoću

pripravka rogača, što je u skladu s propisom EU o zabrani dodavanja APR u hranu životinjama namijenjenim ljudskoj prehrani, i

(b) dugoročno, da se održi ili oporavi zdravlje i proizvodnost svinja uporabom gospodarski kompetitivnih alternativa APR u hrani, koje bi bile prihvatljive uzgajivačima, proizvođačima stočne hrane i konzumentima.

Također, dobiveni rezultati koristiti će za daljnja istraživanja modulacijskog potencijala pripravka rogača kao funkcionalnog dodatka krmnim smjesama u dnevnom obroku u drugih vrsta domaćih životinja u kontroliranom uzgoju, napose u vrsta u kojih je želudac složene građe (preživači).

## **4. MATERIJAL I METODE**

## 4.1. Materijal

### 4.1.1. Tehnologijski uvjeti na farmi

Istraživanje je provedeno na svinjogojskoj farmi vlasništva OPG Živković, Kvarte, Perušić na kojoj su poštivani tehnološko-tehnički uvjeti za pravilan smještaj i hranidbu prasadi, te nesmetan rad uzgajivača i istraživača. Na farmi se prasilište i odgajalište nalaze unutar jednog objekta, dok se kilometar udaljeno nalazi tovilište. *In vivo* pokus proveden je u boksovima odgajališta. Svaki boks je bio opremljen podnim valovom i pojilicom. Izvor vanjskog prirodnog svjetla su bili prozori smješteni na vanjskom zidu objekta, dok su izvori umjetne rasvjete bili smješteni na sredini stropa. Prostor odgajališta je 48 sati prije smještaja pokusnih životinja očišćen i dezinficiran.

### 4.1.2. Životinje

U svrhu istraživanja utjecaja suhog pripravka rogača (*Ceratonia siliqua L.*) na zdravlje i proizvodnost odbijenika, u okviru planiranog pokusa korišten je uzorak od 60 odbijenika (križanci Švedski Landras/Yorkshire), odnosno 30 ženki i 30 kastrata, ujednačene mase oko 7 kg, u dobi od 28. do 70. dana života iz populacije istovrsnih životinja svinjogojske farme vlasništva OPG Živković, Kvarte, Perušić (Slika 3.). Tijekom cijelog pokusa prasadi su hrana (standardna krmna smjesa SO-1 za odbijenike do 20 kg) i voda bili dostupni *ad libitum*. Životinjama je procijenjen zdravstveni status prije uključivanja u pokus te su 48 sati prije početka pokusa bili smješteni u pokusne prostore. Ovo istraživanje dio je HRZZ projekta "Taxonomy, Ecology and Utilization of Carob Tree (*Ceratonia siliqua L.*) and Bay Laurel (*Laurus nobilis L.*) in Croatia (IP-11-2013-3304) za koje je dobivena Odluka Etičkog povjerenstva u veterinarstvu (klasa: 640-01/16-17/81; ur. broj: 251-61-01/430-16-2) od strane Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.



**Slika 3.** Životinje u pokusu  
(izvor slike: Zrinka Žderić Savatović).

#### 4.1.3. Pokusni pripravak

U pokusu je korišten kao biološki pripravak suha biomasa rogača podrijetlom iz uzgoja PZ KOMIŽA (Komiža, otok Vis) (Slika 4.). Uzorci pripravka rogača, prije umješavanja u komercijalnu hranu, uzeti su za analitičku i mikrobiološku analizu. Potom je suha biomasa rogača umješavana u tvornici stočne hrane KUŠIĆ PROMET d.o.o. (Sveti Ivan Zelina, Hrvatska) u komercijalnu hranu za odbijenu prasad u koncentraciju od 4%.



**Slika 4.** Pokusna biomasa rogača podrijetlom iz uzgoja PZ KOMIŽA (Komiža, otok Vis) (izvor slike: Zrinka Žderić Savatović).

#### 4.1.4. Pokusne skupine

U prostoru odgajališta farme, pokusne su životinje odvojene u dvije skupine (kontrolna i pokusna skupina) od kojih je svaka imala po 30 životinja (15 ženskog i 15 muškog spola), te su označene ušnim markicama i 6 tjedana držane podno u uvjetima



intenzivnog uzgoja i hranjene. Kontrolna prasad (skupina K) tijekom cijelog pokusa hranjena je standardnom smjesom bez umješavanja suhe biomase rogača, dok je pokusnoj skupini prasadi (skupina P) u dnevni obrok tijekom cijelog pokusa umješavan 4% suhi pripravak rogača (Tablica 2.).

**Tablica 2.** Sastav krmnih smjesa za životinje u pokusu prema recepturama tvornice stočne hrane KUŠIĆ PROMET d.o.o. (Sveti Ivan Zelina, Hrvatska).

<b>Krmivo (%)</b>	<b>Kontrolna - krmna smjesa</b>	<b>Pokusna - krmna smjesa</b>
<b>Kukuruz</b>	66,50	60,00
<b>Sojina sačma 44,5% SP</b>	25,00	26,50
<b>Kvasac VPC 70% SP</b>	3,00	4,00
<b>Rogač</b>	0,00	4,00
<b>Repičino ulje</b>	1,50	1,50
<b>Vapnenac</b>	1,50	1,50
<b>MonoCaP</b>	1,00	1,00
<b>Sol</b>	0,50	0,50
<b>DL - Metionin</b>	0,10	0,10
<b>L- Lizin</b>	0,40	0,40
<b>Premiks*</b>	0,50	0,50
<b>Nutritivna vrijednost (100g/1000g ST)</b>		
<b>Sirovi protein</b>	18,98	18,94
<b>Sirova mast</b>	4,52	4,46
<b>Sirova vlakna</b>	3,06	3,37
<b>Kalcij</b>	0,79	0,81
<b>Fosfor</b>	0,60	0,59
<b>Natrij</b>	0,21	0,22
<b>Lizin</b>	1,30	1,40
<b>Metionin</b>	0,38	0,40
<b>Metabolička energija, MJ/kg</b>	13,49	13,33

#### 4.1.5. Monoklonska protutijela za višebojnu protočnu citometriju

Za citometrijska istraživanja subpopulacija leukocita periferne krvi odbijenika korištena su mišja monoklonska protutijela (mPt) obilježena florokromima tvrtki: Abcam (Cambridge, UK), AbD Serotec (Kidlington, Oxford, UK), Novus Biologicals (Colorado, SAD), Southern Biotech (Birmingham, SAD) (Tablica 3.).

**Tablica 3.** Prikaz korištenih mišjih monoklonskih protutijela za leukocitne antigene odbijenika i fluorokroma s kojima su obilježena.

mPt specifična za molekularni biljeg	Klon	Izotip	Konjugat	Stanična specifičnost	Izvor
CD45	K252-1E4	IgG1	Fluorescein-izotiocijanat (FITC)	Ukupni leukociti	AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK
CD3 $\epsilon$	PPT3	IgG1 $\kappa$	Alexa Fluor® 405*	T-limfociti	Novus Biologicals, Colorado, SAD
CD4	74-12-4	IgG2b	Streptavidin	Subpopulacija pomoćničkih T-limfocita (T <sub>h</sub> )	Abcam, Cambridge, UK
CD8 $\alpha$	76-2-11	IgG2a	Fikoeritrin	Subpopulacija citolitičkih T-stanica (T <sub>c</sub> )	
CD21	BB6-11C9.6	IgG1 $\kappa$	R-fikoeritrin*	B-limfociti	Southern Biotech, Birmingham, SAD

#### 4.1.6. Plan pokusa

Pokus je proveden kroz dvije faze:

- tijekom prve *ex vivo* faze tri tjedna prije početka druge faze rađena su istraživanja vezana uz sastavljanje receptura dnevnog obroka. U navedenom periodu za suhi pripravak rogača analizirani su kemijski sastav i mikrobiološka ispravnost.
- tijekom druge *in vivo* faze šest je tjedana rađeno istraživanje na pokusnim životinjama, odnosno odbijenicama. Pokus je započet 48 sati nakon što su životinje smještene u pokusne prostorije te su formirane skupine. U navedenom periode pokusnim životinjama praćeni su pokazatelji proizvodnosti (prosječni dnevni unos hrane; prosječni dnevni prirast tjelesne mase; iskoristivost hrane (konverzija); pojava, jačina i trajanje proljeva (*diarrhea score*); kemijska analiza mesa) i zdravlja (dnevno kliničko praćenje općeg zdravstvenog stanja životinja; hematološka pretraga u dvotjednim razmacima; bakteriološka analiza sluznice rektuma; patohistološka analiza sluznice tankog crijeva (jejunum, ileum) i mezenterijskih limfnih čvorova). Pokus je u cijelosti sproveden sukladno Zakonu o dobrobiti životinja (Narodne novine, NN 135/06, NN 37/13) i Pravilniku o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN 55/13).

#### 4.1.7. Uzorci

Uzorci periferne krvi od svake životinje uzeti su venepunkcijom iz *v. jugularis* u sterilnim epruvetama s antikoagulansom dinatrijeva sol etilendiamintetraoctene kiseline (EDTA, Sigma SAD) ili bez antikoagulansa (za serološke pretrage) 0., 14., 28. te 42. dana pokusa. Na kraju pokusa od po sedam nasumično odabrane životinje iz svake skupine napravljena je patoanatomska analiza te su tijekom razudbe uzeti uzorci tkiva tankog crijeva (jejunum, ileum) i mezenterijskih limfnih čvorova za histopatološku analizu (Slika 5.).



**Slika 5.** Egzenterirani uzorci jejunuma, ileuma i mezenterijski limfni čvorovi žrtvovane pokusne životinje 42 dana pokusa (izvor slike: Daniel Špoljarić).

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Analitičke metode „*ex vivo*“ faze pokusa

Za suhi pripravak rogača temeljem odabranih parametara određen je:

a) kemijski sastav: pepeo/HRN ISO 5984:2004; sirovi protein/HRN EN ISO 5983-2:2010; mast/HRN ISO 6492:2001 modificirana prema uputama sustava za ekstrakciju ANKOM XT15; sirova vlakna/HRN EN ISO 6865:2001 modificirana prema uputama FOSS Fiber Cap manual, kalcij/RU-5.4.2-11, 1. izdanje; ugljikohidrati i polifenoli/metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) prema

uputama BELŠČAK-CVITANOVIĆ i sur. (2011.); natrij/HRN ISO 7485:2001; kalij/HRN ISO 7485:2001

b) mikrobiološka ispravnost: horizontalna metoda za detekciju, brojenje i serotipizaciju bakterija *Salmonella* spp./HRN EN ISO 6579-1:2017; horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja bakterija *Listeria monocytogenes* i drugih vrsta *Listeria* spp./HRN EN ISO 11290-1:2017, vodoravni postupak brojenja koagulaza-pozitivnih stafilokoka (*Staphylococcus aureus* i drugih vrsta)/HRN EN ISO 6888-1:2003, horizontalna metoda za brojenje sulfitreducirajućih bakterija u anaerobnim uvjetima/HRN ISO 15213:2004, horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Enterobacteriaceae*/HRN ISO 21528-2:2017, horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama/HRN EN ISO 4833-1:2013.

#### 4.2.2. Metode *in vivo* faze pokusa

##### 4.2.2.1. Praćenje proizvodnih pokazatelja

Tijekom istraživanja provedeno je ukupno 4 pojedinačnih vaganja prasadi u dvotjednim razmacima: 0., 14., 28. te 42. dana istraživanja (Slika 6.). Pri prosuđivanju proizvodnih parametara prasadi u pokusu korišteni su dobiveni podatci za prosječni dnevni unos hrane, prosječni dnevni prirast tjelesne mase, iskoristivost hrane (konverzija), te kemijske analize mesa.



**Slika 6.** Vaganje pokusne životinje (izvor slike: Daniel Špoljarić).

#### 4.2.2.1.1. Određivanje prosječnog dnevnog unosa hrane

Prosječni dnevni unos hrane određivan je na kraju svakog razdoblja vaganja tijekom istraživanja. Od mase ukupne ponuđene hrane oduzeta je preostala hrana u hranilicama i ostatak u vrećama, te je dobiven ukupni unos hrane. Kako bi se izračunao dnevni unos hrane pojedinog razdoblja po životinji, ukupni unos hrane podijeljen je s trajanjem razdoblja istraživanja u danima i brojem prasadi u podskupini. Tako je prosječni dnevni unos hrane, za cijeli period istraživanja dobiven prema formuli: prosječni dnevni unos hrane = (ukupna ponuđena hrana - ostatak hrane u hranilicama i vrećama)/dani trajanja istraživanja/broj životinja u istraživanju.

#### 4.2.2.1.2. Određivanje prosječnog dnevnog prirasta tjelesne mase

Prosječni dnevni prirast tjelesne mase izračunat je iz podataka o tjelesnim masama i duljini pojedinog razdoblja u pojedinim razdobljima i to po formuli: dnevni prirast = (završna tjelesna masa - početna tjelesna masa)/trajanje razdoblja u danima.

#### 4.2.2.1.3. Određivanje iskoristivosti hrane (konverzija)

Iskoristivost hrane (konverzija) izračunata je na osnovi dnevnog prirasta tjelesne mase i dnevnog unosa hrane i to prema formuli: iskoristivost hrane = dnevni unos/dnevni prirast.

#### 4.2.2.1.4. Kemijska analiza mesa

Kemijska analiza mesa napravljena je od po 7 prasadi iz svake skupine životinja. Na kraju pokusa na liniji klanja (Klaonica 25 sitne i krupne stoke, 10380 Sv. Ivan Zelina, Črečan 10 - ugovorna klaonica OPG Živković, Kvarte, Perušić), nakon klaoničke obrade i hlađenja (24h, temperatura 4°C), uzeti su uzorci s anatomske pozicije *m. semimembranaceus*, na desnoj/lijevoj polovici trupa i to za određivanje: vode (referentna gravimetrijska metoda ISO 1442), masti (metoda ISO 1443), bjelančevina (metoda ISO 937), pepela (metoda ISO 936), kolesterola (ELISA).

#### 4.2.2.2. Praćenje zdravstvenih pokazatelja

Prasadi u pokusu svakodnevno je općim kliničkim pregledom praćeno njihovo opće zdravstveno stanje (pregled vidljivih sluznica, površinskih limfnih čvorova i dlačnog pokrova te utvrđivanje stanja periferne cirkulacije). Također, u prostoru u kojem su bile smještene životinje, tijekom cijelog pokusa je svakodnevno po dva sata, uvijek u isto vrijeme, procjenjivana konzistencija isključivo svježeg izmeta. Naime, radi kliničkih znakova koji bi upućivali na pojavu bolesti praćena je pojava, jačina i trajanje proljeva (*diarrhea score*, dostupno na: <https://www.alltech.com.>). Za procjenu ozbiljnosti proljeva korišteni su bročani stupnjevi od 1 do 5: 1- čvrsti formiran izmet, 2 - blago mekani umjereno formiran izmet; 3 - mekani djelomično formirani izmet, 4 - polutekući izmet; 5- vodenasti sluzav izmet. Za procjenu jačine proljeva po skupini životinja korištena je slijedeća metoda: ukoliko je manje od 10% životinja u grupi imalo konzistenciju izmeta 1. do 2. stupnja ne duže od tri dana definirana je normalna pojavnost proljeva kod odbijene prasadi; ukoliko je 10 od 20% životinja u grupi imalo konzistenciju izmeta 2. do 3. stupnja u trajanju od tri do pet dana definirana je umjerena pojavnost proljeva kod odbijene prasadi; ukoliko je 10 od 20% životinja u grupi imalo konzistenciju izmeta 4. do 5. stupnja u trajanju više od pet dana definirana je ozbiljna pojavnost proljeva kod odbijene prasadi. 14., 28. i 42. dana pokusa izračunat je omjer prosječne ozbiljnosti proljeva (zbroy svih bročanih stupnjeva životinja jedne skupine podijeljen je brojem životinja skupine). Osim oboljenja praćena su i uginuća životinja. Pri prosuđivanju zdravstvenog stanja prasadi u pokusu korišteni su, uz spomenute, i podatci hematoloških, biokemijskih, imunskih, bakterioloških, patoanatomskih te histoloških analiza.

##### 4.2.2.2.1. Određivanje hematoloških pokazatelja

Hematološki pokazatelji (eritrociti, leukociti, trombociti, hemoglobin, hematokrit, prosječni volumen eritrocita, prosječna masa hemoglobina u eritrocitu, prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu) određivani su u dvotjednim razmacima (0., 14., 28., i 42. dana pokusa) u uzorcima periferne krvi odbijenika, dobivenim venepunkcijom iz *v. jugularis* u sterilnim epruvetama EDTA (Sigma) standardnim metodama pomoću automatskog hematološkog analizatora ABACUS JUNIOR (Diatron, MI PLC, SAD). Udjeli pojedinih populacija leukocita (diferencijalna krvna slika) određivani su mikroskopskim (Olympus BX 41 na imerznom povećanju) pregledom obojanih razmaza

periferne krvi prasadi metodom po May Grunwald-Giemsu. Dobivene su vrijednosti procjenjivane usporedbom s referentnim vrijednostima za domaću svinju.

#### 4.2.2.2.2. Određivanje serumskih biokemijskih pokazatelja

Biokemijski pokazatelji (ukupni serumski proteini, glukoza, urea, kolesterol, trigliceridi, albumini, jetreni enzimi: alkalna fosfataza (ALP); aspartat aminotransferaza (AST); alanin aminotransferaza (ALT); gama glutamil transferaza (GGT)), određivani su u dvotjednim razmacima (0., 14., 28., i 42. dana pokusa) u uzorcima periferne krvi odbijenika, dobivenim venepunkcijom iz *v. jugularis* u sterilnim epruvetama bez antikoagulansa standardnim metodama pomoću biokemijskog analizatorg Beckman Coulter AU 680 (Beckman Coulter Biomedical Ltd., Irska). Dobivene su vrijednosti procjenjivane usporedbom s referentnim vrijednostima za domaću svinju.

#### 4.2.2.2.3. Određivanje imunskih pokazatelja

Imunosni pokazatelji određivani su postupkom imunofenotipizacije i kvantifikacije svinjskih CD<sup>+</sup> subpopulacija T i B limfocita, procjenom funkcionalne *ex vivo* i *in vitro* sposobnost fagocitoze i mikrobicidnosti monocita/granulocita, te udjela imunoglobulina u serumu iz periferne krvi prasadi.

##### 4.2.2.2.3.1. Protočna citometrija (metoda modificirana prema POPOVIĆ i VALPOTIĆ, 2004.)

U dvotjednim razmacima (0., 14., 28., i 42. dana pokusa) u uzorcima periferne krvi odbijenika, dobivenim venepunkcijom iz *v. jugularis* u sterilnim epruvetama s EDTA, unutar 24 sata od venpunkcije, na protočnom citometru Beckman Coulter Navios (Beckman Coulter Biomedical Ltd., Irska) određivani su udjeli T limfocita (CD45<sup>+</sup>CD3ε<sup>+</sup>) i B limfocita (CD45<sup>+</sup>CD3ε<sup>-</sup>CD21<sup>+</sup>) (Tablica 4.).

**Tablica 4.** Shema citometrijska analize T limfocita (CD45<sup>+</sup>CD3ε<sup>+</sup>CD21<sup>-</sup>) i njihovih subpopulacija s obzirom na ekspresiju molekula CD4, CD8α, i B limfocita (CD45<sup>+</sup>CD3ε<sup>-</sup>CD21<sup>+</sup>).

Limfociti CD45 <sup>+</sup>	CD3ε <sup>+</sup> CD21 <sup>-</sup>	CD4 <sup>-</sup> D8α <sup>+</sup>
		CD4 <sup>-</sup> D8α <sup>+</sup>
		CD4 <sup>+</sup> CD8α <sup>+</sup>
		CD4 <sup>-</sup> D8α <sup>-</sup>
	CD3ε <sup>-</sup> CD21 <sup>+</sup>	

4.2.2.2.3.2. Fagocitoza (ingestija) i mikrobicidnost (digestija) (metoda modificirana po LUKAČ i sur., 1994.)

U dvotjednim razmacima (0., 14., 28., i 42. dana pokusa) u uzorcima periferne krvi odbijenika, dobivenim venepunkcijom iz *v. jugularis* u sterilnim epruветama s antikoagulansom (natrijevog heparina) eritrociti su istaloženi te je plazma odvojena. Potom je iz plazme izdvojen sloj stanica kojima je broj nakon tri ispiranja medijem 199 (MEM, Imunološki zavod, Zagreb) podešen na  $1 \times 10^6/\text{mL}$ . Tako pripremljena suspenzija stanica je razdijeljena u komorice (volumen 0,25 mL, promjer 1,5 cm) te su 30 min. bili inkubirani na temperaturi od  $37^\circ\text{C}$  i 5%  $\text{CO}_2$ . Nakon toga je odliven supernatant, a MEM-om zagrijanim na  $37^\circ\text{C}$  su isprane stanice koje se nisu priliјepile za stjenku komorice. Potom je 30 min. inkubirana komorica u koju je na adherirane fagocite dodano 0,25 mL suspenzije  $40 \times 10^6/\text{mL}$  živih stanica kvašćeve gljivice *Saccharomyces cerevisiae*. Nakon inkubacije, komorica je isprana te su stanice u MEM-u tretirane s 0,05% narančastim akridinom (Sigma, St. Louis, SAD). Po isteku jedne minute stanice su MEM-om isprane, te je pokrovnicom pokrivena komorica i fluorescentnim je mikroskopom mikroskopirano pri povećanju od 800x. Potom je po komorici ukupno pregledano 100 granulocita i monocita s fagocitiranim gljivicama. Rezultati fagocitoze su iskazani kao postotak stanica koje su fagocitirale, a izračunati su prema formuli: postotak fagocitne aktivnosti = broju stanica koje su fagocitirale/ukupan broj stanica  $\times 100$ , odnosno kao indeks ingestije (ii), pri čemu je  $ii = \text{broj fagocitiranih gljivica}/\text{broj fagocita}$ . Sposobnost mikrobicidnosti (unutarstanično ubijanje gljivica) je određena temeljem razlikovanja crveno obojanih mrtvih i zeleno obojanih živih fagocitiranih gljivica, a iskazana je u postotnim vrijednostima i to prema formuli: postotak mikrobicidnosti = broj fagocitiranih mrtvih gljivica/broj ukupno fagocitiranih gljivica.

4.2.2.2.3.3. Imunohematologija

U dvotjednim razmacima (0., 14., 28., i 42. dana pokusa) u uzorcima periferne krvi odbijenika, dobivenim venepunkcijom iz *v. jugularis* u sterilnim epruветama bez antikoagulansa standardnim metodama pomoću biokemijskog analizatorg Beckman Coulter AU 680 (Beckman Coulter Biomedical Ltd., Irska) određene su serumske razine imunoglobulina (zbog prisutnih alfa-globulina) tako što su od dobivenih vrijednosti za



ukupne proteine oduzete vrijednosti dobivene za albumine. Dobivene su vrijednosti procjenjivane usporedbom s referentnim vrijednostima za domaću svinju.

#### 4.2.2.2.4. Proteini akutne faze (PAF)

Spektrofotometrijski je u serumu odbijenika određivana razina haptoglobina (HpG) pomoću testova tvrtke Olympus (OSR6165). Imunoenzimnim sendvič testom u serumu odbijenika je određivana razina C-reaktivnog proteina (CRP) pomoću Tridelta "Phase"™ reagensa za svinjski CRP (Tridelta Ltd., Irska). Na mikrotitracijske pločice nanoseni su uzorci seruma. Nevezane molekule CRP-a uklonjene su ispiranjem te je potom dodan peroksidazom, odnosno specifično protutijelo za svinjski CRP. Zatim su pločice ispirane kako bi se uklonila nevezana protutijela i potom je dodana otopina substrata tetrametil benzidina (TMB). Nakon toga je pomoću aparata BioTek Absorbance Microplate Reader ELx808 (BioTek Instruments, Inc., Highland Park, VT, SAD) očitana intenzitet obojenja. Koncentracija CRP-a u uzorku istraživanog seruma bila je proporcionalna dobivenim podacima za intenzitet obojenja.

#### 4.2.2.2.5. Bakteriološka pretraga

Obrisci rektuma sluznice za bakteriološku analizu uzimani su sterilnim štapićem 0., 14., 28., i 42. dana pokusa i to od po 7 životinja iz svake skupine. Za svaki uzorak određivan je ukupan broj bakterija (CFU, colony forming units, engl.) (sa posebnom osvrtom *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Proteus* sp., *Bacillus cereus*) standardnim postupkom dvostrukih serijskih razrjeđenja od  $10^1$  do  $10^{10}$  u fiziološkoj otopini (horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama), te naciepljivanjem na selektivne i neselektivne hranjive podloge prema opisanom postupku HABRUN (2014.).

### 4.2.3 Statistička obrada

Za procjenu odgovarajućeg broja životinja korišten je program G-power test 3.1.9.4. Kao adekvatan test korišten je F-test s analizom varijance, uključenim ponavljajućim mjerenjima u 4 različita perioda te interakcijama unutar i između grupa i perioda. Za određivanje veličine efekta ( $f$ ) uzeta je direktna metoda - parcijalna eta<sup>2</sup> ( $\eta^2$ ) što je alternativna mjera povezanosti za uzorak koja opisuje udio ukupne varijacije objašnjene prediktorskom varijablom, nakon isključivanja (djelomičnog izdvajanja)

varijance iz drugih prediktorskih varijabli iz ukupne varijance. Uzeta je velika konvencija  $\eta^2$  od 0.14 te je veličina efekta iznosila 0.40. Postavljena  $\alpha$  vrijednost (error probability) iznosila je 0,05, a snaga testa ( $1-\beta$  error probability) 90% ( $P=0,90$ ). Izračunato je da ukupna veličina uzoraka odnosno broj životinja mora iznositi minimalno 14, odnosno 7 životinja po skupini po svakom periodu. Statistička analiza dobivenih podataka odrađena je pomoću programskog paketa SAS 9.4. (2002-2012 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Deskriptivna statistika učinjena je pomoću SAS modula PROC MEANS i PROC FREQ. Normalna raspodjela podataka testirana je pomoću procedure TRANSREG. Ukoliko su pretpostavke normalne distribucije analiziranih zavisnih varijabli bile narušene te u slučaju pojave heterogenosti varijanci, provedena je transformacija varijabli pomoću BOX-COX transformacije. Za testiranje prisutnosti ekstremnih vrijednosti korištena je robusna metoda (PROC ROBUSTREG) s opcijom procjene prema HUBER-u (M estimation). Generalni linearni mješoviti model (PROC GLIMMIX) korišten je za analizu pokazatelja između skupina i vremenskih perioda, a u model je uključen i slučajni efekt životinje na ponavljajuće mjerenje tijekom vremena. Grafikoni su napravljeni pomoću procedure SGPLOT u rezoluciji od 500 točaka po inču.

## **5. REZULTATI**

Dobiveni rezultati razvrstani su u 9 skupina: analitika pokusnog pripravka, proizvodni pokazatelji, zdravstveni pokazatelji, hematološki pokazatelji, imunosni pokazatelji, biokemijski pokazatelji, bakteriološki pokazatelji, patoanatomski pokazatelji, pokazatelji kemijske analize mesa i te su kao takvi prikazani u ovom poglavlju:

### 5.1. Analitički pokazatelji pokusnog pripravka

Temeljem rezultata mikrobioloških analiza u 25 g uzorka suhog pripravka rogača nisu izolirane bakterije *Salmonella spp.* i *Listeria monocytogenes* te temeljem rezultata ukupne mikrobiološke analize tijekom cijelog pokusa korišten je mikrobiološki ispravan pripravak kao dodatak u dnevni obrok za pokusnu prasad. (Tablica 5. ).

**Tablica 5.** Prikaz mikrobioloških analiza za pripravak suhog rogača korištenog tijekom 6 tjedana pokusa.

<b>Pokazatelji/ granične vrijednosti (m*, M**)</b>	<b>CFU u uzorku suhog pripravka rogača (25 g)</b>
<i>Salmonella spp.</i> / n.n. u 25 g	n.n. / zadovoljava
<i>Listeria monocytogenes</i> / n.n. u 25 g	n.n. / zadovoljava
Aerobne mezofilne bakterije / m=10 <sup>4</sup> CFU/g; M=10 <sup>5</sup> CFU/g	< 10 <sup>4</sup> / zadovoljava
<i>Staphylococcus aureus</i> / m=10CFU/g; M=10 <sup>2</sup> CFU/g	< 10 / zadovoljava
Sulfitreducirajuće klostridije / m=10CFU/g; M=10 <sup>2</sup> CFU/g	< 10 / zadovoljava
<i>Enterobacteriaceae</i> / m=10 <sup>2</sup> CFU/g; M=10 <sup>3</sup> CFU/g	< 10 <sup>2</sup> / zadovoljava

CFU/g- (engl. colony forming unit) broj kolonija u gramu uzorka;

n.n. – nije nađeno;

m\* - granična vrijednost ispod koje se svi rezultati smatraju zadovoljavajućim;

M\* - granična dopuštena vrijednost iznad koje se rezultati smatraju zadovoljavajući

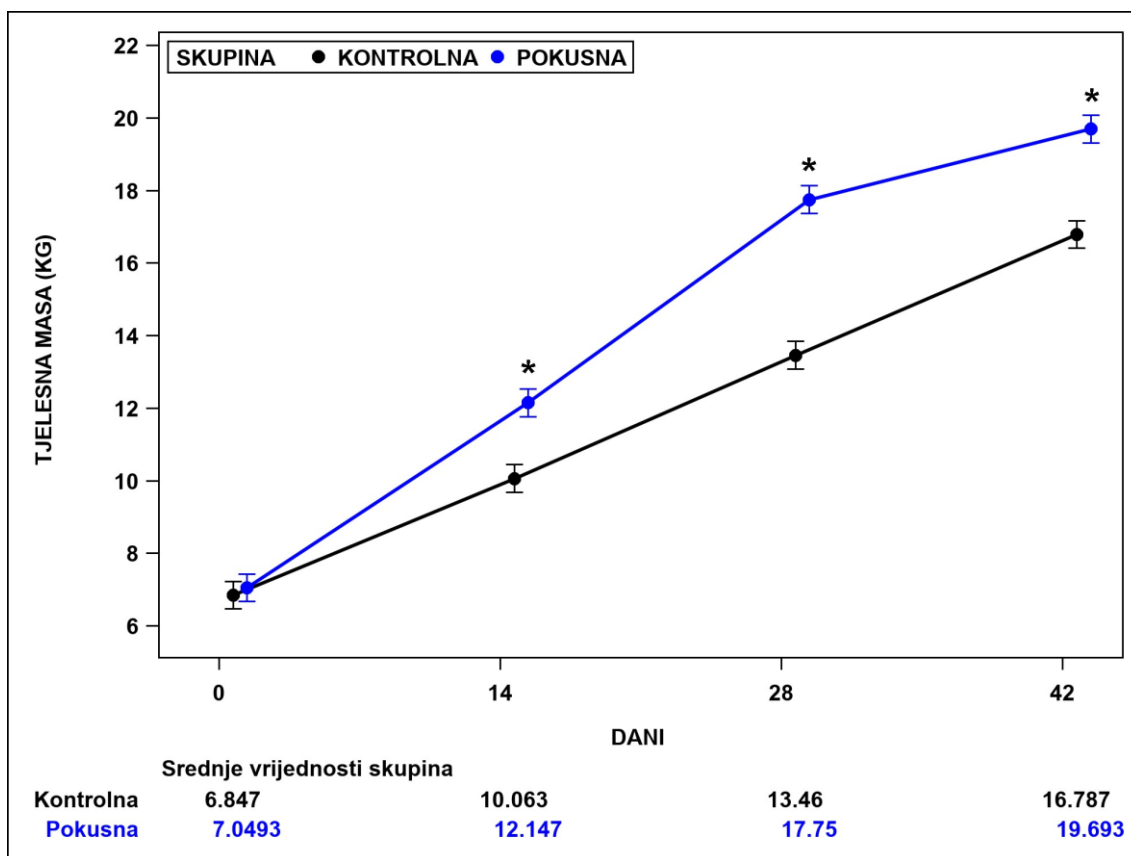
Temeljem rezultata kemijske analize 100 g uzorka suhog pripravka rogača tijekom cijelog pokusa u dnevni obrok za pokusnu prasad dodavan je pripravak kojeg su glavne sastavnice ugljikohidrati i prehrambena vlakna. (Tablica 6.)

**Tablica 6.** Prikaz kemijskog sastava za pripravak suhog rogača (cijela mahuna sa sjemenkama) korištenog tijekom 6 tjedana pokusa.

<b>Hranjiva vrijednost</b>	<b>100g/1000g ST</b>
Suha tvar	92,00
Pepeo	3,00
Sirovi protein	7,00
Sirova vlakna	10,00
Neutralna detergent vlakna	46,00
Kisela detergent vlakna	34,00
Lignin	23,60
Eterni ekstrakt	2,00
Ukupni šećeri	11,00
Tanini, kondenzirani (ekv. katehina)	1,60
Kalcij	0,49
Fosfor	0,15
Bruto energija (MJ/kg ST)	18,00
Probavljiva energija za svinje (MJ/kg ST)	9,90
Metabolička energija za svinje (MJ/kg ST)	9,70

## 5.2. Proizvodni pokazatelji

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu životinja (skupina K) statistički značajno veću tjelesnu masu (kg) 14. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 12,14 95% IP [11,76, 12,52] vs 10,06 [9,68, 10,44], 28. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 17,75 95% IP [17,36, 18,13] vs 13,46 [13,07, 13,84] i 42. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 19,69 95% IP [13,31, 20,07] vs 16,78 [16,40, 17,16]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju tjelesnu masu (kg) nultog dana 6,84 95% IP [6,46, 7,22] u odnosu na 14., 28. i 42 dan pokusa ( $p < 0,0001$ ). Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju tjelesnu masu (kg) 14. dana u odnosu na 28. i 42 dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) te 28. dana u odnosu na 42. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ). Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manju tjelesnu masu (kg) nultog dana 7,04 95% IP [6,66, 7,42] u odnosu na 14., 28. i 42 dan pokusa ( $p < 0,0001$ ). Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manju tjelesnu masu (kg) 14. dana u odnosu na 28. i 42 dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) te 28. dana u odnosu na 42. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) (Slika 7.).



**Slika 7.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) tjelesne mase (kg) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Iz Tablice 7. je vidljivo da prasad iz skupine P (hranjena uz dodatak 4% rogača) ima bolji prosječni dnevni unos hrane (+ 9,7%), veći prosječni dnevni prirast tjelesne mase (+ 21,4%), te bolju iskoristivosti hrane (konverzija) (- 12,7%) od one u kontrolne prasadi (skupina K).

**Tablica 7.** Unos hrane, prirast tjelesne mase i konverzija u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa).

Proizvodni parametri po skupinama	skupina K	skupina P
Srednja vrijednost tjelesne mase 0. dana u kg	6,847	7,0493
Srednja vrijednost prirasta tjelesne mase 42. dana	9,94	12,64
Ukupan unos hrane u kg	945	1050
Srednje vrijednosti prosječnog dnevnog unosa hrane u kg	0,75	0,83
Srednje vrijednosti prosječnog dnevnog prirast tjelesne mase u kg	0,236	0,300
Konverzija	3,16	2,76

### 5.3. Zdravstveni pokazatelji

Procjena pojavnosti, ozbiljnosti i jačine proljeva u prasadi po danima tijekom 6 tjedana trajanja pokusa, prikazani su u Tablice 8. U kontrolnoj skupini tijekom cijelog pokusa 13 prasadi imalo je proljev umjerene jačine izuzev 13. dana pokusa kada je za troje prasadi utvrđena umjerena jačina proljeva. U istom pokusnom razdoblju u skupini prasadi hranjenih uz dodatak pripravka rogača samo su dvije životinje razvile proljev u trajanju od jednog (jedna životinja 15. dana pokusa) do dva dana (jedna životinja 12. i 13. dana pokusa) normalne jačine. Temeljem prethodno navedenog u prasadi skupine kojoj je u dnevni obrok umješavan pripravak rogača zabilježena je manja prosječna ozbiljnosti proljeva za 90,44% 14. dana pokusa, odnosno za 90% 28. dana pokusa u odnosu na kontrolnu prasad. U ni jednoj od skupina nisu zabilježena uginuća prasadi.

**Tablica 8.** Procjena pojavnosti, ozbiljnosti i jačine proljeva u prasadi po danu tijekom 6 tjedana trajanja pokusa.

Dan pokusa	broj životinja sa proljevom	*brojčani stupnjevi procjene jačine proljeva	***prosječna jačina proljeva	**jačina proljeva
	skupina K/skupina P	skupina K/skupina P	skupina K/skupina P	skupina K/skupina P
1.	-/-	-/-		-/-
2.	-/-	-/-		-/-
3.	1/-	2/-		normalna/-
4.	2/-	2-2/-		normalna/-
5.	2/-	2-2/-		normalna/-
6.	-/-	-/-		-/-
7.	-/-	-/-		-/-
8.	-/-	-/-		-/-
9.	2/-	3-3/-		normalna/-
10.	2/-	3-3/-		normalna/-
11.	2/-	3-3/-		normalna/-
12.	2/1	2-2/2		normalna/-
13.	3/1	2-3-2/2		umjerena/normalna
14.	1/-	2/-	1,36 / 0,13	normalna/-
15.	1/1	2/2		normalna/normalna
16.	1/-	2/-		normalna/-
17.	1/-	2/-		normalna/-
18.	1/-	2/-		normalna/-
19.	1/-	2/-		normalna/-
20.	-/-	-/-		-/-
21.	-/-	-/-		-/-
22.	2/-	2-2/-		normalna/-
23.	1/-	2/-		normalna/-
24.	1/-	2/-		normalna/-
25.	-/-	-/-		-/-
26.	-/-	-/-		-/-
27.	-/-	-/-		-/-
28.	-/-	-/-	0,6/0,06	-/-
29.	-/-	-/-		-/-
30.	1/-	2/-		normalna/-
31.	1/-	2/-		normalna/-
32.	1/-	2/-		normalna/-
33.	-/-	-/-		-/-
34.	-/-	-/-		-/-
35.	1/-	2/-		normalna/-
36.	1/-	2/-		normalna/-
37.	1/-	2/-		normalna/-
38.	-/-	-/-		-/-
39.	-/-	-/-		-/-
40.	-/-	-/-		-/-
41.	-/-	-/-		-/-
42.	-/-	-/-	0,4/0	-/-

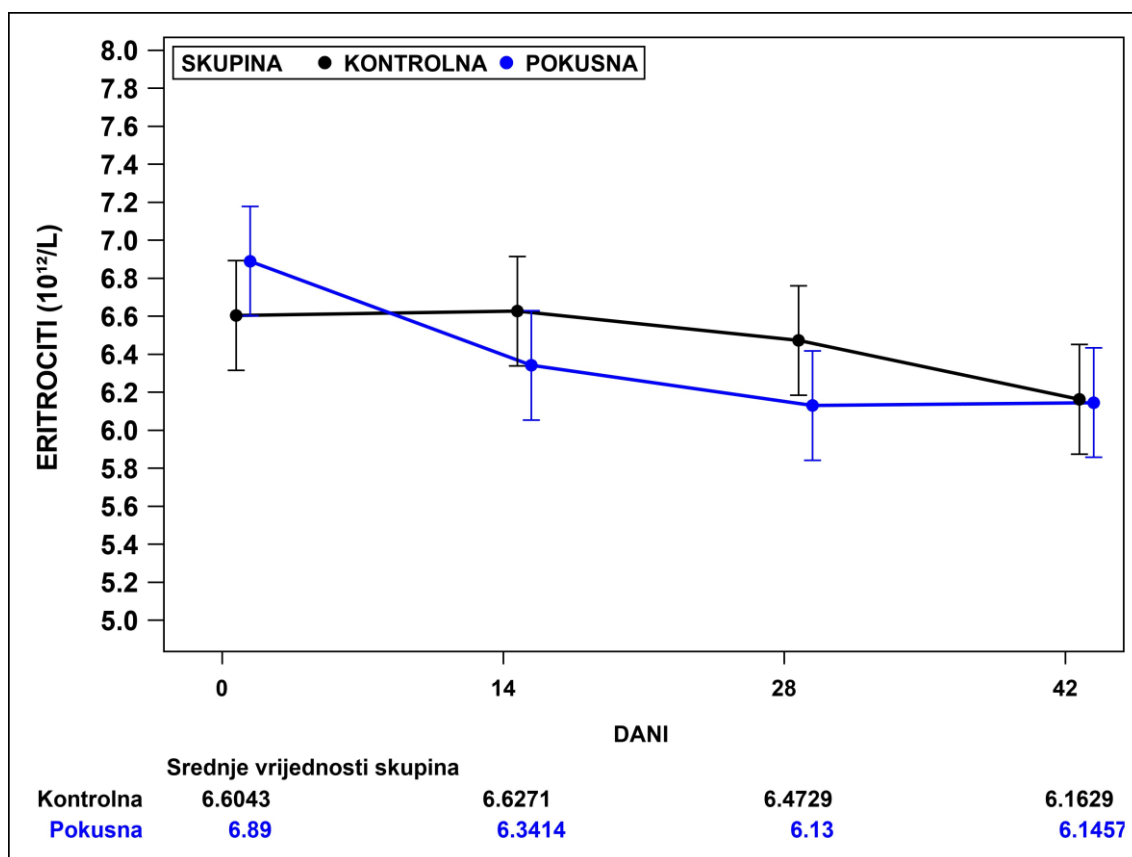
nije zabilježen proljev; \*procjena ozbiljnosti proljeva: 1- čvrsti formiran izmet, 2 - blago mekani umjereno formiran izmet; 3 - mekani djelomično formirani izmet, 4 - polutekući izmet; 5- vodenasti sluzav izmet; \*\*pojavnost proljeva: normalna pojava (manje od 10% životinja u grupi ima konzistenciju izmeta 1. do 2. stupnja ne duže od tri dana); umjerena pojava (10 od 20 % životinja u grupi ima konzistenciju izmeta 2. do 3. stupnja u trajanju od tri do pet dana); ozbiljna pojava (10 od 20 % životinja u grupi ima konzistenciju izmeta 4. do 5. stupnja u trajanju više od pet dana).



## 5.4. Hematološki pokazatelji

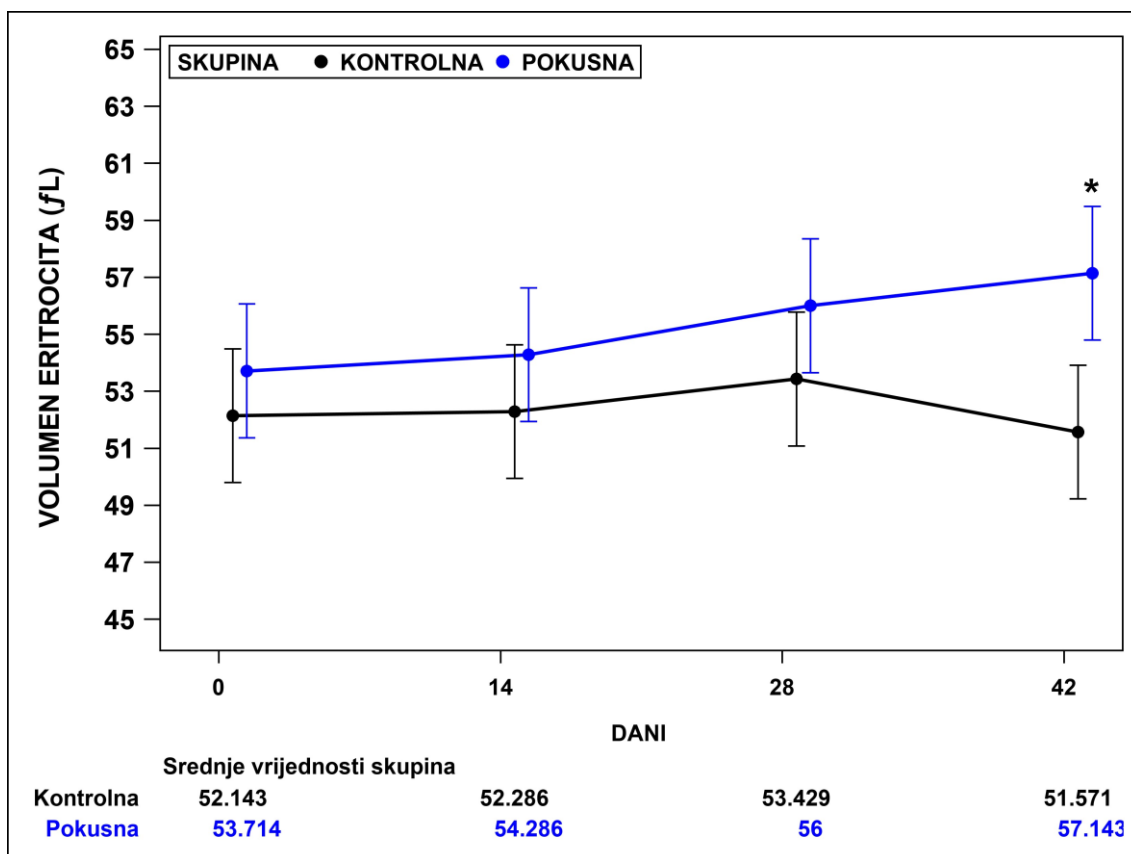
Istraživani pripravak (suhi pripravak rogača) nije prouzročio značajan utjecaj na fiziološke vrijednosti hemograma pokusne prasadi tijekom 6 tjedana trajanja pokusa, naime sve dobivene vrijednosti nalazile su se unutar fizioloških granica za prasad starosti od 28 do 70. dana života.

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veću koncentraciju eritrocita ( $10^{12}/L$ ) nultog dana 6,89 95% IP [6,59, 7,18] u odnosu na 14. dan ( $p<0,05$ ) 6,34 95% IP [6,05, 6,63], 28. dan ( $p<0,01$ ) 6,13 95% IP [5,58, 6,42] i 42. dan pokusa ( $p<0,01$ ) 6,14 95% IP [5,85, 6,43] (Slika 8.).



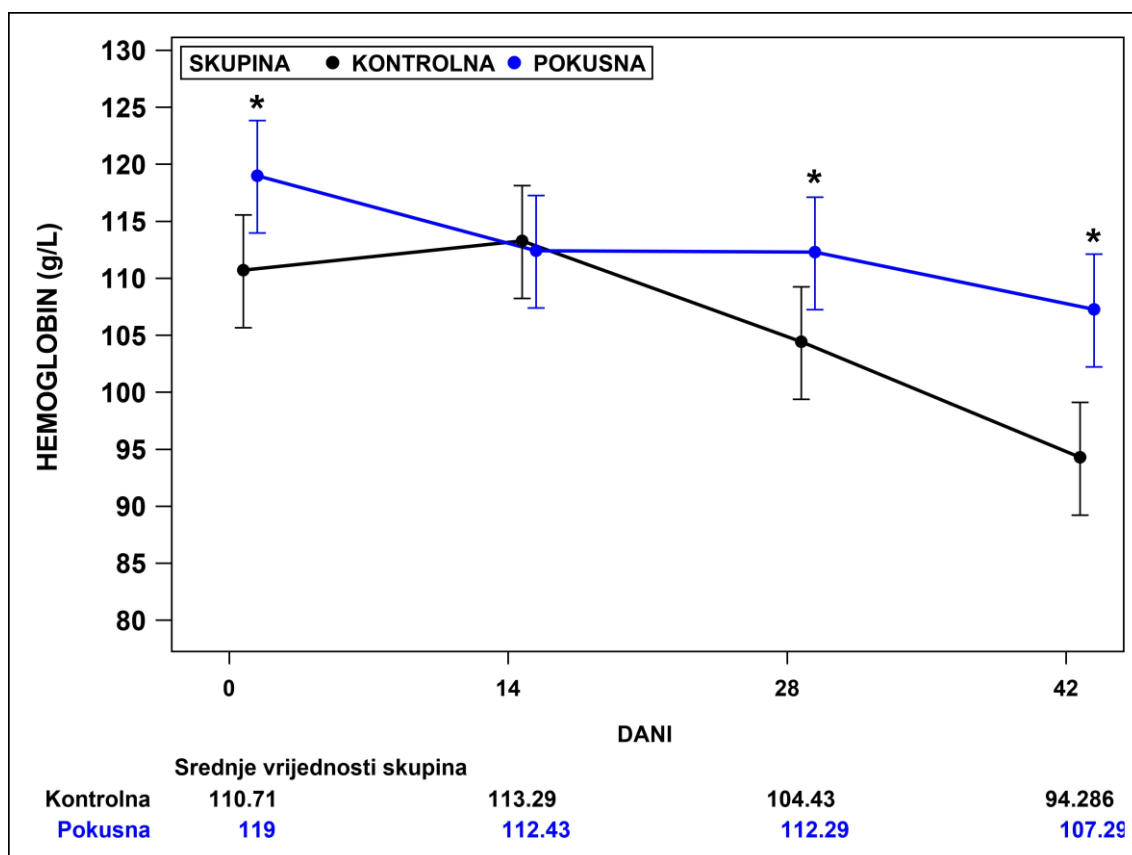
**Slika 8.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije eritrocita ( $10^{12}/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veći volumen eritrocita (fL) 42. dana pokusa ( $p < 0,01$ ) 57,14 95% IP [54,77, 59,50] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 51,57 95% IP [49,20, 53,93]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći volumen eritrocita (fL) 42. dana ( $p < 0,05$ ) u odnosu na nulti dan pokusa 53,71 95% IP [51,34, 56,08] (Slika 9.).



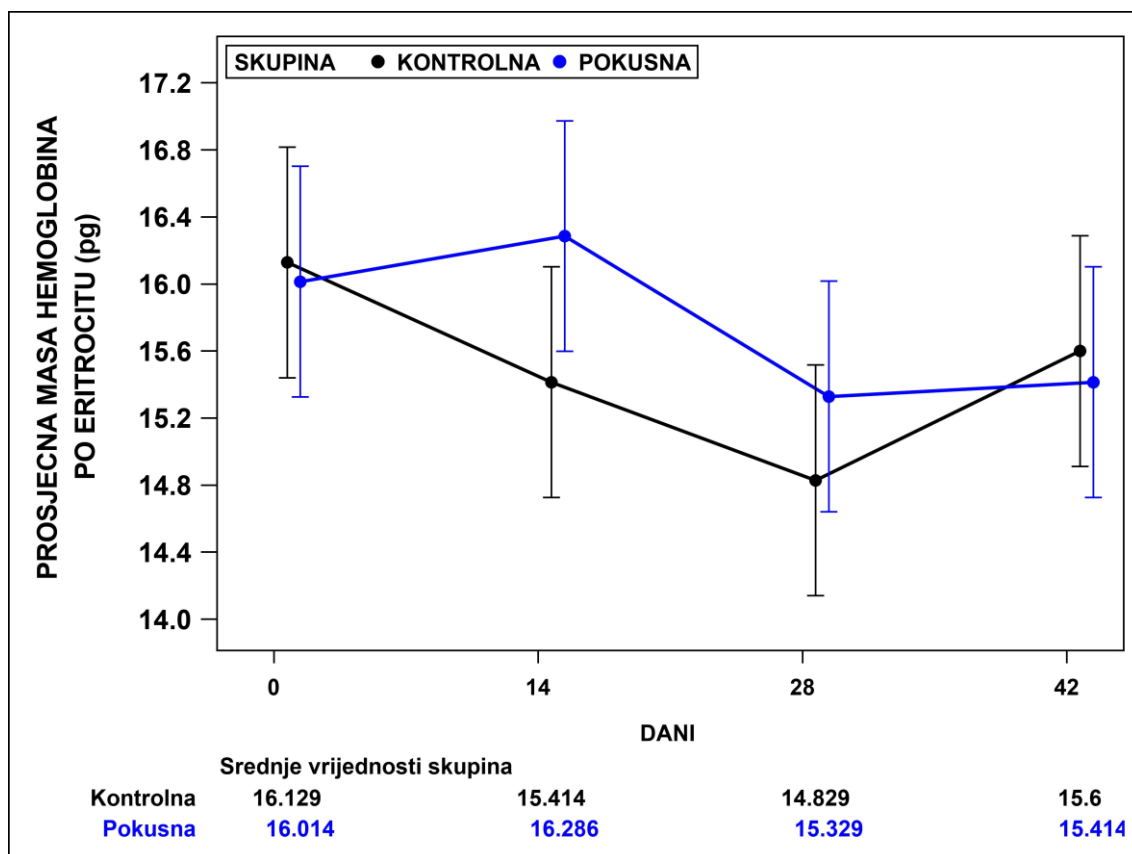
**Slika 9.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) volumena eritrocita (fL) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu životinja (skupina K) statistički značajno veću koncentraciju hemoglobina (g/L) nultog dana ( $p < 0,05$ ) 119,0 95% IP [113,9, 123,8] vs 110,7 95% IP [105,6, 115,6], 28. dana ( $p < 0,05$ ) 112,3 95% IP [107,2, 117,1] vs 104,4 95% IP [99,3, 109,3] i 42. dana pokusa ( $p < 0,001$ ) 107,3 95% IP [102,2, 112,1] vs 94,2 95% IP [89,1, 99,1]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju hemoglobina (g/L) 42. dana u odnosu na nulti dan pokusa ( $p < 0,0001$ ), 14. dan ( $p < 0,0001$ ) 113,3 95% IP [108,2, 118,1] i 28. dan pokusa ( $p < 0,05$ ). Isto tako, kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju hemoglobina (g/L) 28. dan pokusa u odnosu na 14. dan pokusa ( $p < 0,05$ ). Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju hemoglobina (g/L) 42. dana u odnosu na nulti dan pokusa ( $p < 0,01$ ) (Slika 10.).



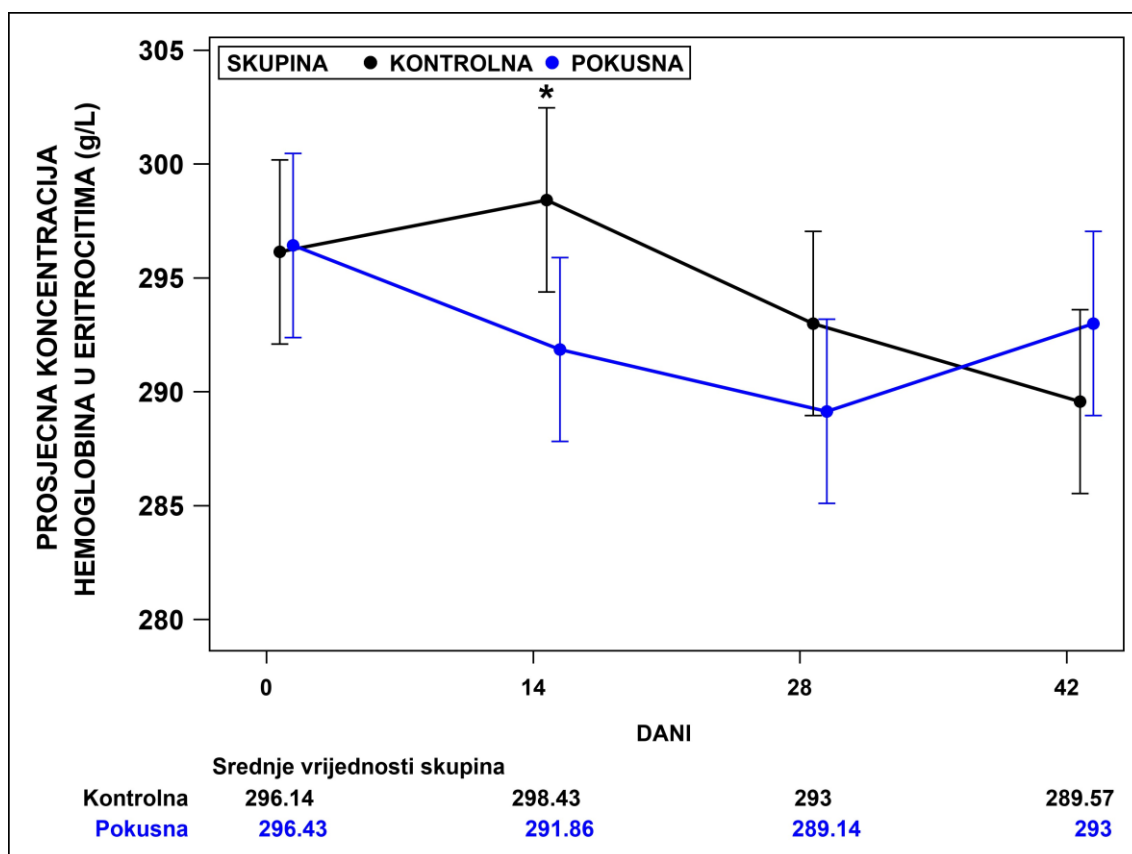
**Slika 10.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije hemoglobina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika između skupina prasadi po periodu za prosječne mase hemoglobina po eritrocitu (pg). Kontrolna skupina prasadi (skupina K) imala je statistički značajno manju prosječnu masu hemoglobina po eritrocitu (pg) 28. dana ( $p < 0,05$ ) 14,82 95% IP [14,13, 15,52] u odnosu na nulti dan pokusa 16,12 95% IP [15,43, 16,82] (Slika 11.).



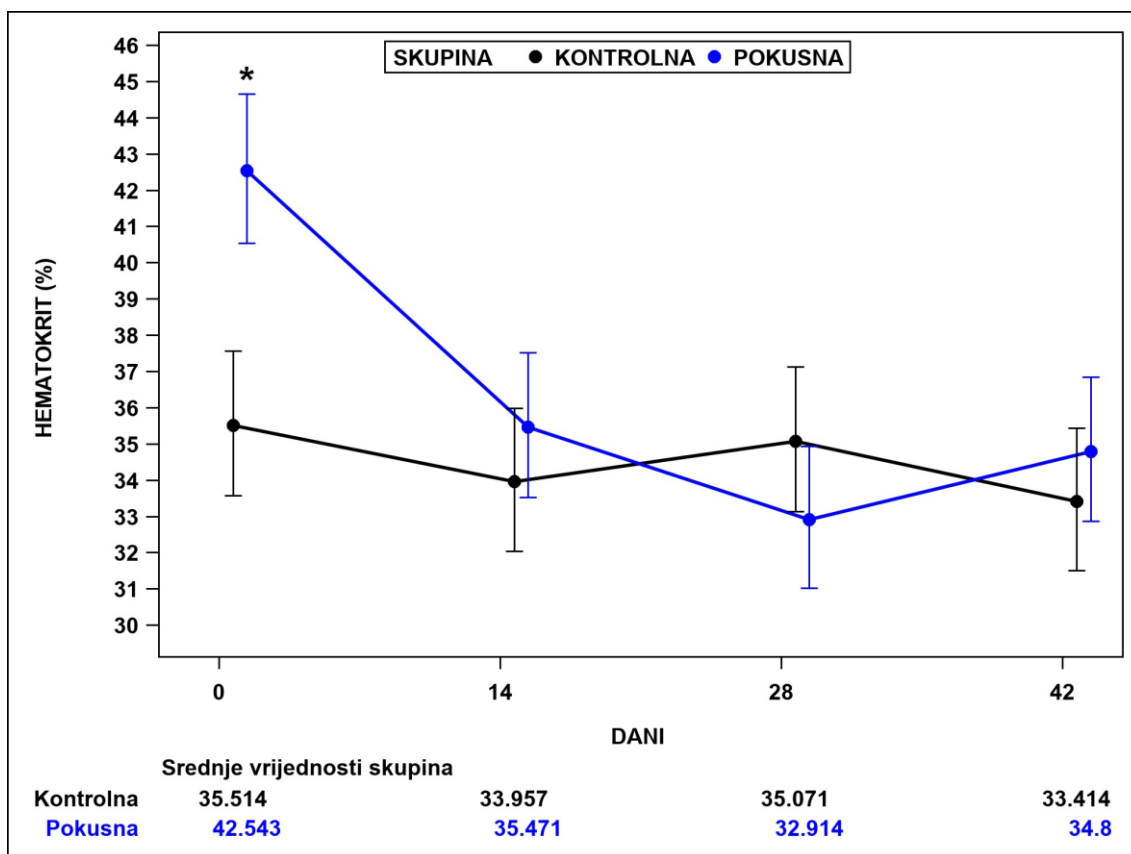
**Slika 11.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) prosječne mase hemoglobina po eritrocitu (pg) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno manju koncentraciju hemoglobina u eritrocitima (g/L) 14. dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 291,8 95% IP [287,7, 295,9] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 298,4 95% IP [294,3, 302,5]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju hemoglobina u eritrocitima (g/L) 42. dana ( $p < 0,05$ ) 289,5 95% IP [285,5, 293,6] u odnosu na 14. dan pokusa (Slika 12.).



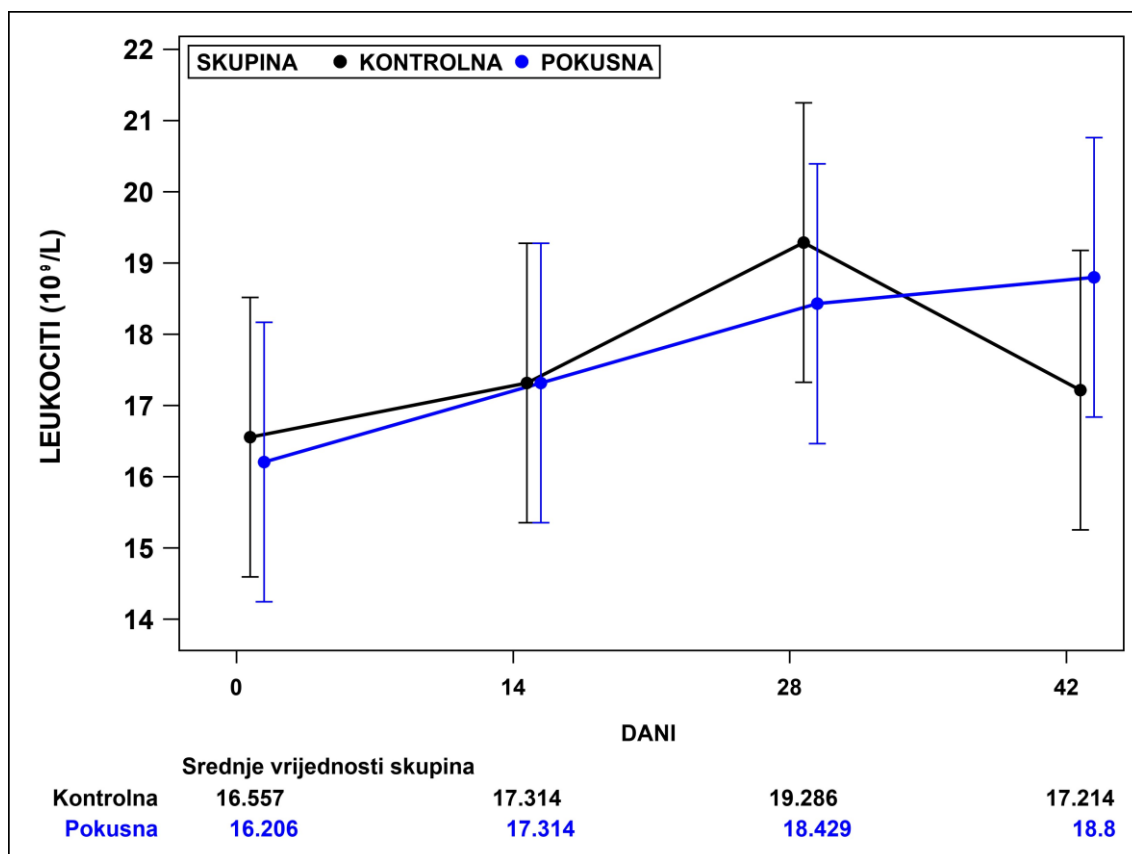
**Slika 12.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) prosječne koncentracije hemoglobina u eritrocitima (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veći udio hematokrita (%) nultog dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 42,5 95% IP [40,5, 44,6] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 35,5 95% IP [33,5, 37,5]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio hematokrita (%) nultog dana u odnosu na 14. dan ( $p < 0,0001$ ) 35,4 95% IP [33,5, 37,5], 28. dan ( $p < 0,0001$ ) 32,9 95% IP [31,0, 34,9] i 42. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) 34,8 95% IP [32,8, 36,8] (Slika 13.).



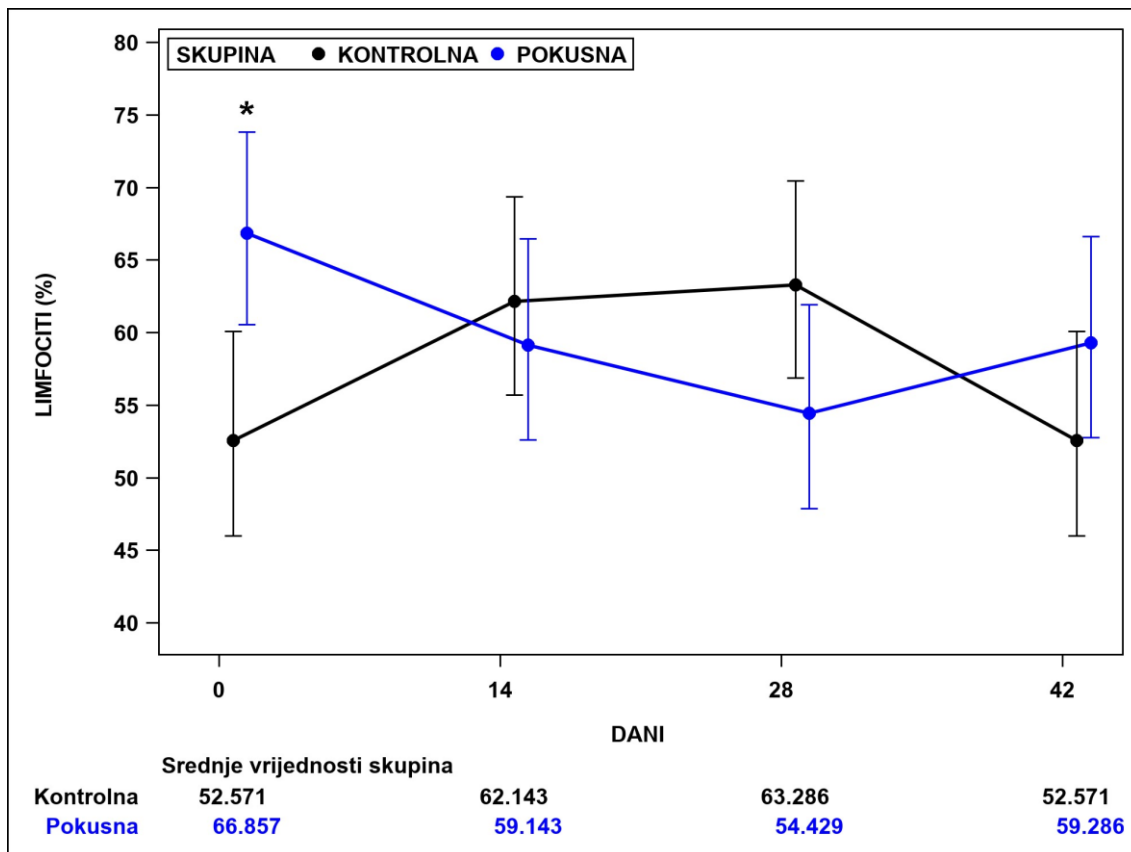
**Slika 13.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela hematokrita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika u koncentraciji leukocita ( $10^9/L$ ) između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi te između perioda pokusa unutar pojedine skupine (Slika 14.).



**Slika 14.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije eritrocita ( $10^{12}/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

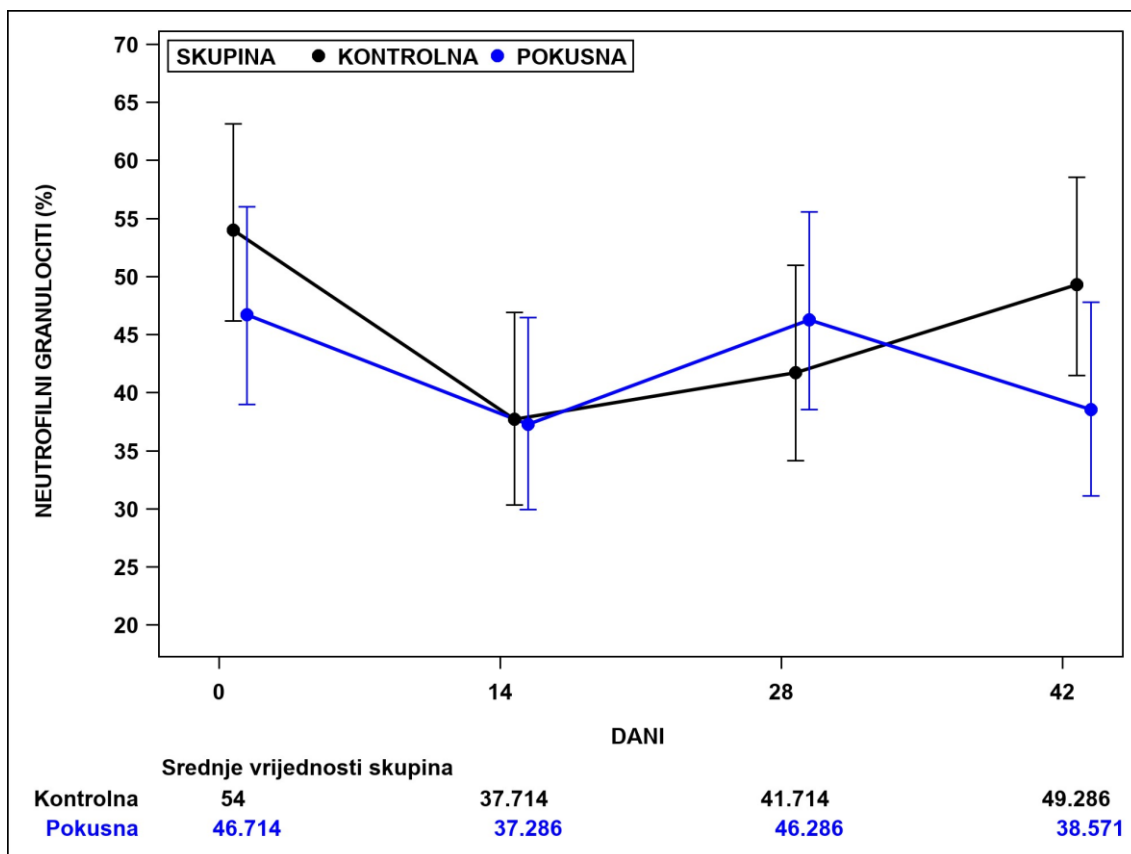
Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veći udio limfocita (%) multog dana ( $p < 0,01$ ) 66,8 95% IP [60,5, 73,8] nasuprot kontrolne skupine prasadi (skupina K) 52,5 95% IP [45,9, 60,1]. Nije bilo statistički značajnih razlika u udjelu limfocita (%) unutar perioda po skupini životinja (Slika 15.).



**Slika 15.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

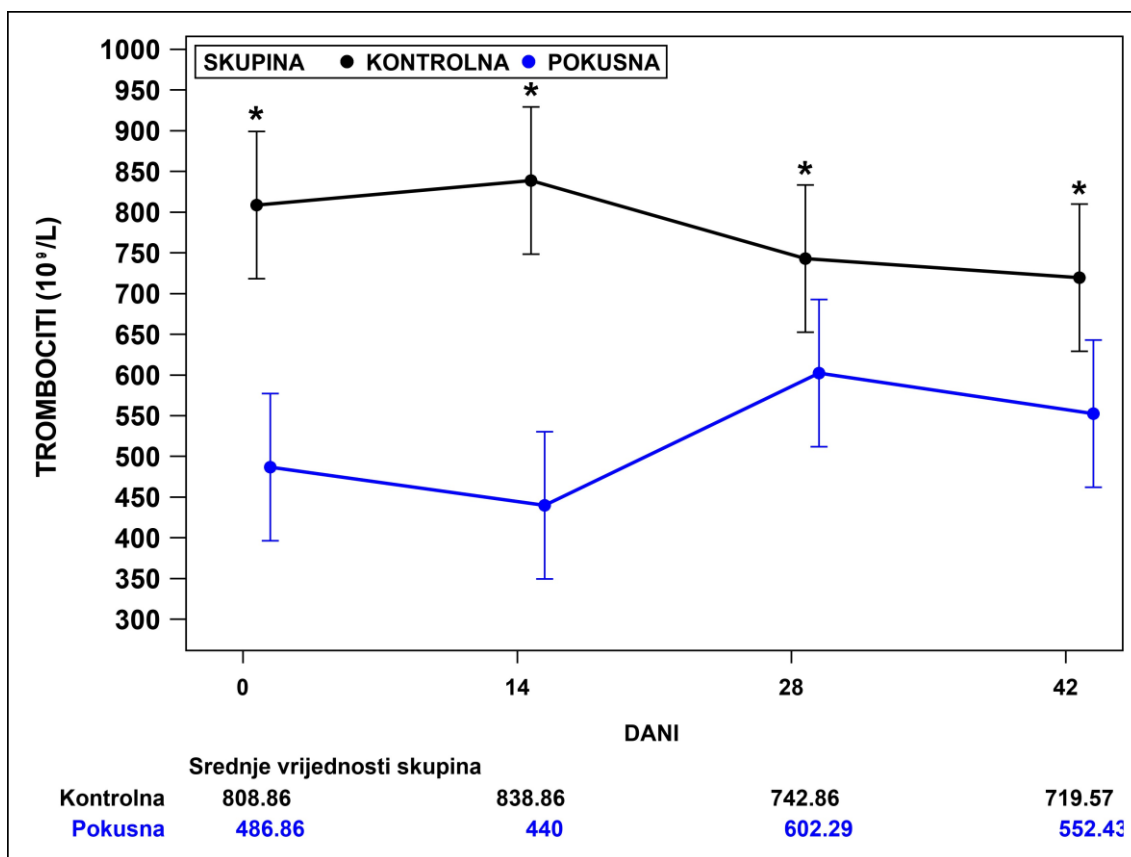


Nije bilo statistički značajnih razlika u udjelu neutrofilnih granulocita (%) između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi te između perioda pokusa unutar pojedine skupine (Slika 16.).



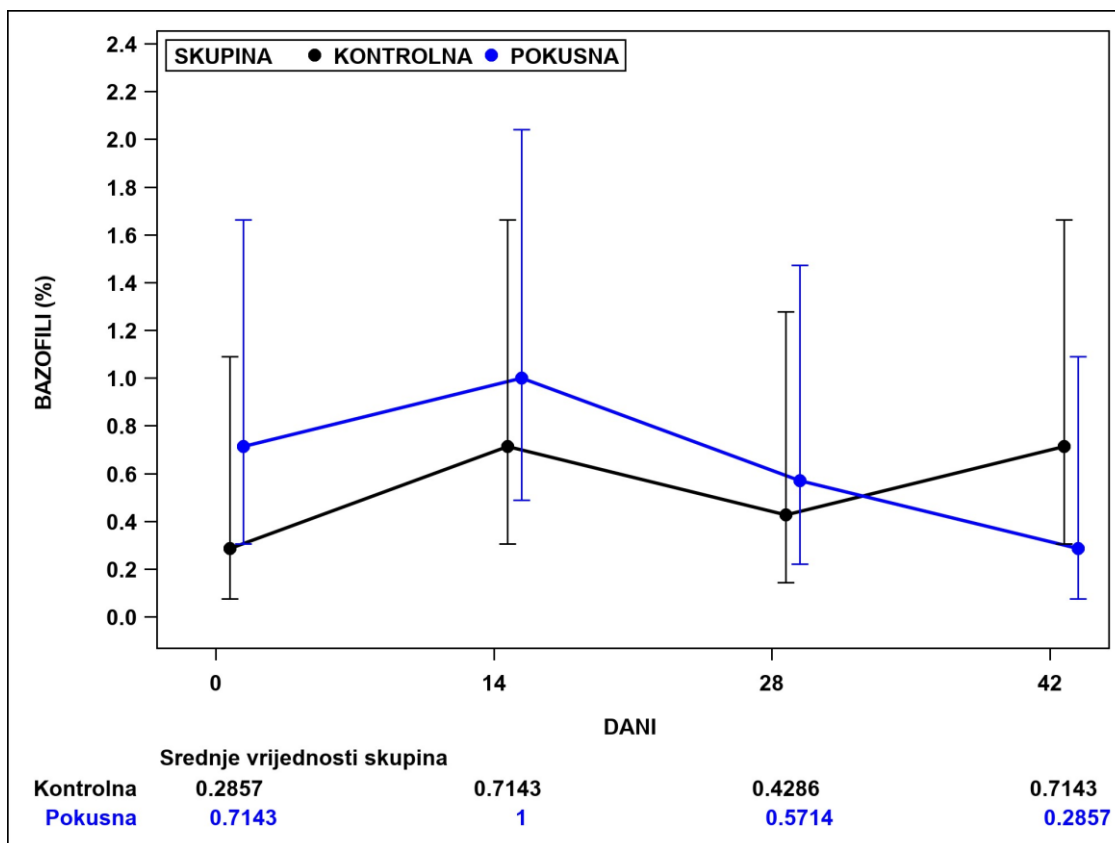
**Slika 16.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela neutrofilnih granulocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu životinja (skupina K) statistički značajno manju koncentraciju trombocita ( $10^9/L$ ) nultog dana pokusa ( $p<0,0001$ ) 486,86 95% IP [395,68, 578,04] vs 808,86 [717,68, 900,04], 14. dana pokusa ( $p<0,0001$ ) 440,00 95% IP [348,82, 531,18] vs 838,86 [747,68, 930,04], 28. dana pokusa ( $p<0,05$ ) 602,29 95% IP [511,11, 693,47] vs 742,86 [651,68, 834,04] i 42. dana pokusa ( $p<0,05$ ) 552,43 95% IP [461,25, 643,61] vs 719,57 [628,39, 810,75]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veću koncentraciju trombocita ( $10^9/L$ ) 28. dana ( $p<0,05$ ) u odnosu na 14. dan pokusa (Slika 17.).



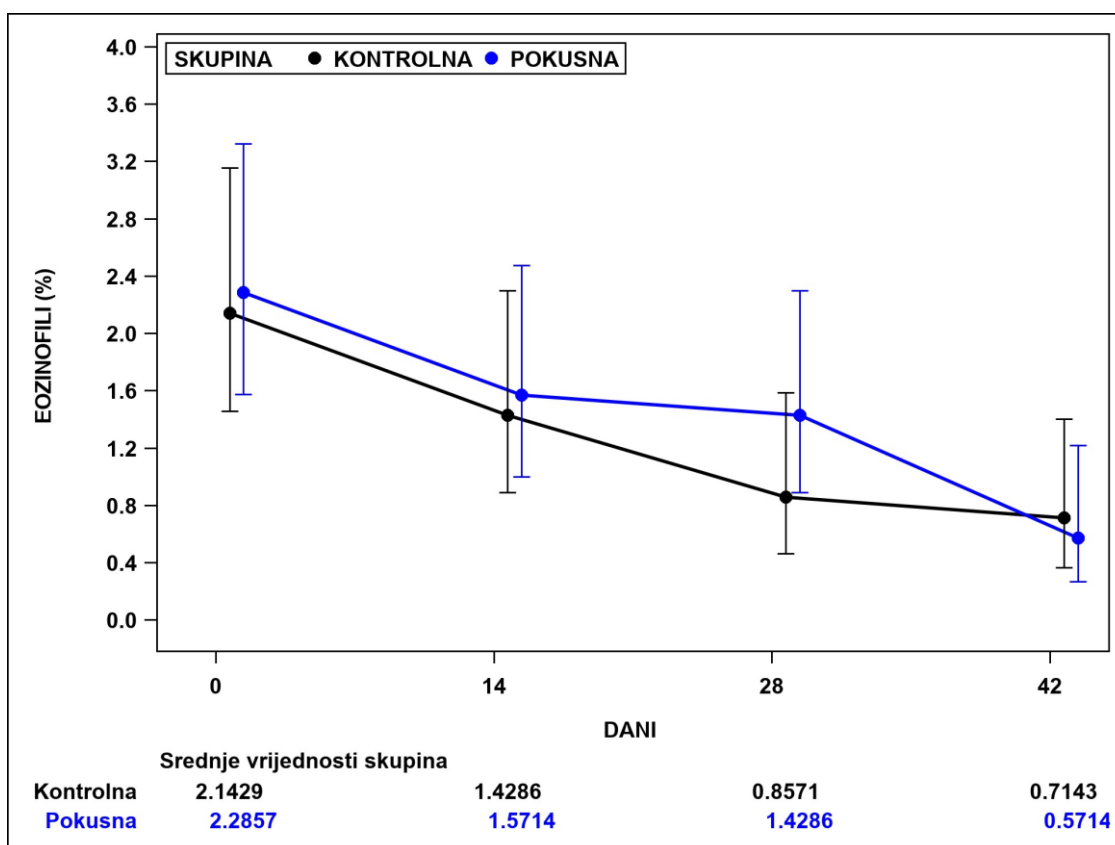
**Slika 17.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije trombocita ( $10^9/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika udjela bazofila između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi tijekom perioda od 6 tjedana kao ni statistički značajnih razlika unutar perioda po skupini životinja (Slika 18.).



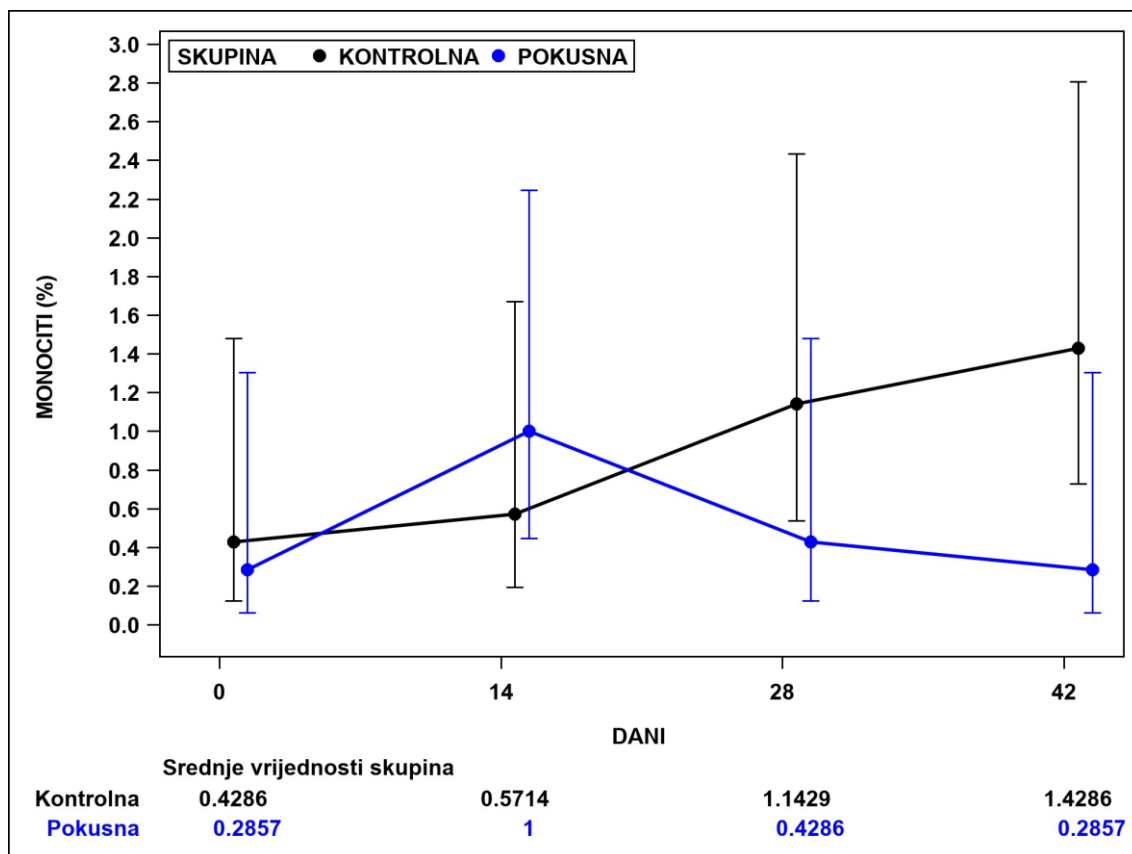
**Slika 18.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela bazofila (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika udjela eozinofila (%) između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi tijekom perioda od 6 tjedana. Pokusna skupina svinja imala je statistički značajno manji udio eozinofila (%) 42. dana ( $p < 0,05$ ) 0,57 95% IP [0,26, 1,22] u odnosu na nulti dan pokusa 2,28 95% IP [1,56, 3,33] (Slika 19.).



**Slika 19.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela eozinofila (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika u udjelu monocita (%) između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi te između perioda pokusa unutar pojedine skupine (Slika 20.).



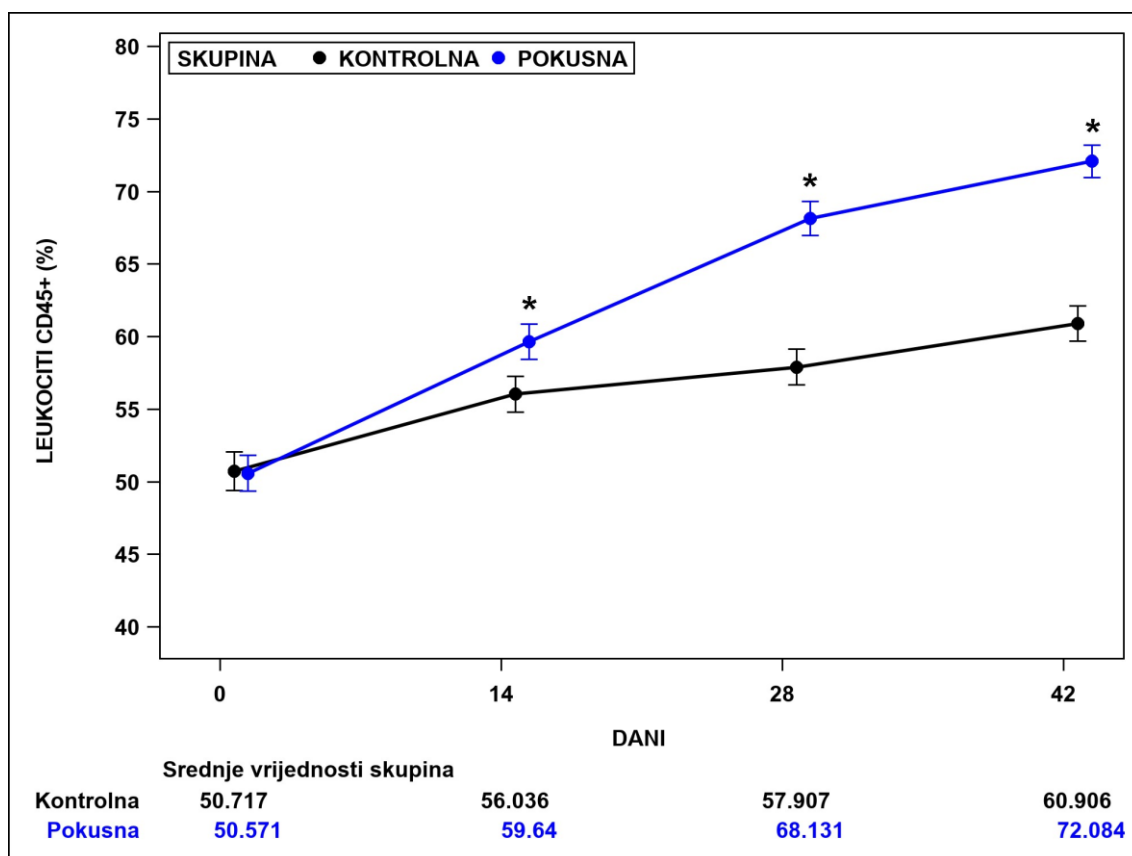
**Slika 20.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela monocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

## 5.5 Imunosni pokazatelji

Imunomodulacijski učinak testiranog pripravka (suhi pripravak rogača) u pokusne prasad utvrđen je slijedećim pokazateljima kao što su: udjeli citolitičkih T limfocita, B limfocita u populaciji leukocita periferne krvi te fagocitna i mikrobicidna aktivnost granulocita i monocita periferne krvi.

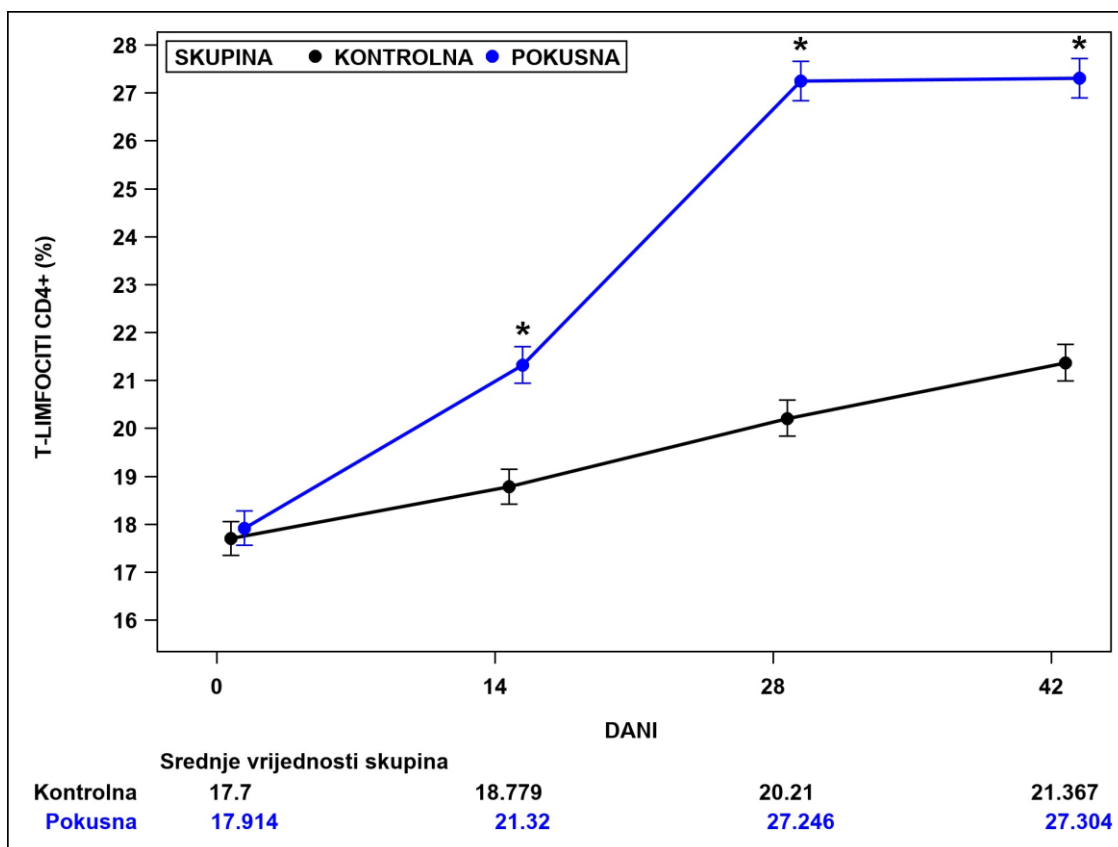
### 5.5.1. Udjeli subpopulacija T i B limfocita periferne krvi

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu životinja (skupina K) statistički značajno veći udio CD45<sup>+</sup> leukocita (%) 14. dana ( $p < 0,001$ ) 59,6 95% IP [58,4, 60,8] vs 56,0 95% IP [54,8, 57,3], 28. dana ( $p < 0,0001$ ) 68,1 95% IP [66,9, 69,3] vs 57,9 95% IP [56,6, 59,1] i 42. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 72,0 95% IP [70,9, 73,2] vs 60,9 95% IP [59,7, 62,1]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD45<sup>+</sup> leukocita (%) 14. dana pokusa u odnosu na nulti dan ( $p < 0,0001$ ) 50,7 95% IP [49,3, 52,0], 28. dan pokusa u odnosu na nulti dan ( $p < 0,0001$ ) te 42 dan pokusa u odnosu na nulti dan ( $p < 0,0001$ ), 14. dan ( $p < 0,0001$ ) i 28. dan pokusa ( $p < 0,01$ ). Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD45<sup>+</sup> leukocita (%) 14., 28., i 42. dana u odnosu na nulti dan ( $p < 0,0001$ ) 50,5 95% IP [49,3, 51,8], 28. i 42. dana u odnosu na 14. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) te 42. dana u odnosu na 28. dan pokusa ( $p < 0,001$ ) (Slika 21.).



**Slika 21.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela CD45<sup>+</sup> leukocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veći udio CD4<sup>+</sup> pomoćničkih T limfocita (%) 14. dana pokusa (p<0,0001) 21,3 95% IP [20,9, 21,7] vs 18,8 [18,4, 19,1], 28 dana (p<0,0001) 27,2 95% IP [26,8, 27,6] vs 20,2 [19,8, 20,6] i 42. dana pokusa (p<0,0001) 27,3 95% IP [26,9, 27,7] vs 21,3 [21,0, 21,7]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD4<sup>+</sup> pomoćničkih T limfocita (%) 14. dana (p<0,001), 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na nulti dan pokusa 17,7 95% IP [17,3, 18,0]. Isto tako, kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD4<sup>+</sup> pomoćničkih T limfocita (%) 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na 14. dan pokusa te 42. dana (p<0,001) u odnosu na 28. dan pokusa. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD4<sup>+</sup> pomoćničkih T limfocita (%) 14. dana (p<0,0001), 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na nulti dan pokusa 17,9 95% IP [17,5, 18,2]. Isto tako, kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD4<sup>+</sup> pomoćničkih T limfocita (%) 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na 14. dan pokusa (Slika 22.).

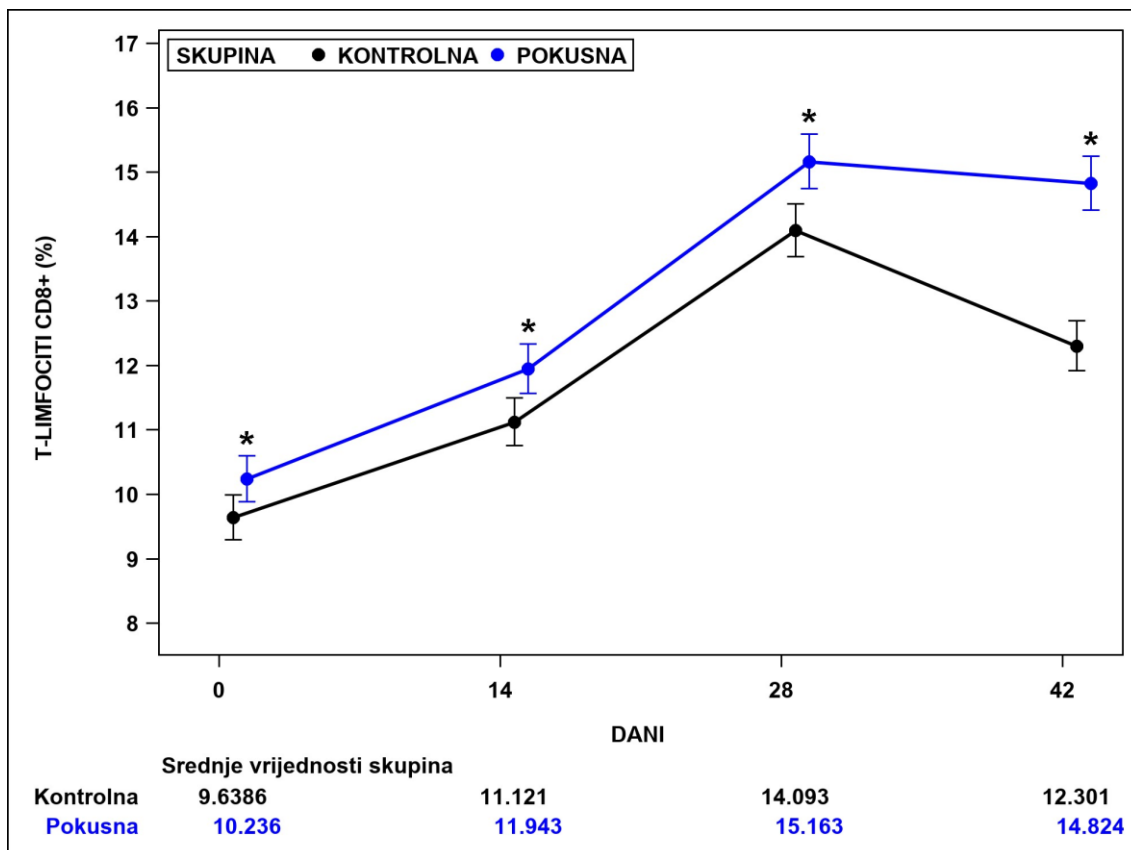


**Slika 22.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela CD4<sup>+</sup> pomoćničkih T limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001.

Pokusna skupina prasadi (skupina P) u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veći udio CD8<sup>+</sup> citolitičkih T limfocita (Tc) (%) nultog dana pokusa (p<0,05) 10,2 95% IP [9,8, 10,6] vs 9,6 [9,2, 9,9], 14. dana pokusa (p<0,01) 11,9 95% IP [11,5, 12,3] vs 11,1 [10,7, 11,5], 28 dana (p<0,001) 15,1 95% IP [14,7, 15,6] vs 14,1 [13,6, 14,5] i 42. dana pokusa (p<0,0001) 14,8 95% IP [14,1, 15,2] vs 12,3 [11,9, 12,7]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD8<sup>+</sup> citolitičkih T limfocita (%) 14. dana (p<0,0001), 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na nulti dan pokusa. Isto tako, kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD8<sup>+</sup> citolitičkih T limfocita (%) 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,01) u odnosu na 14. dan pokusa te 42. dana (p<0,0001) u odnosu na 28. dan pokusa. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD8<sup>+</sup> citolitičkih T limfocita (%) 14. dana (p<0,0001), 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na nulti dan pokusa. Isto

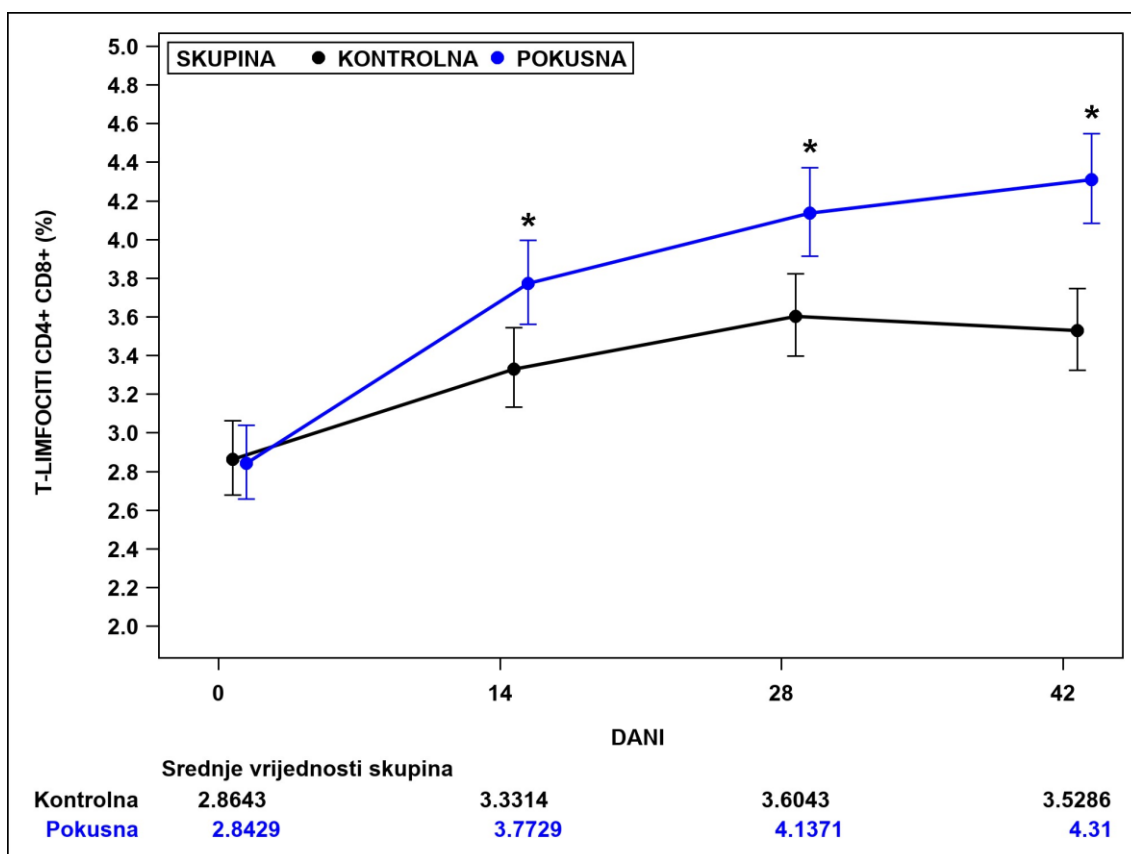


tako, pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD8<sup>+</sup> citolitičkih T limfocita (%) 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na 14. dan pokusa (Slika 23.).



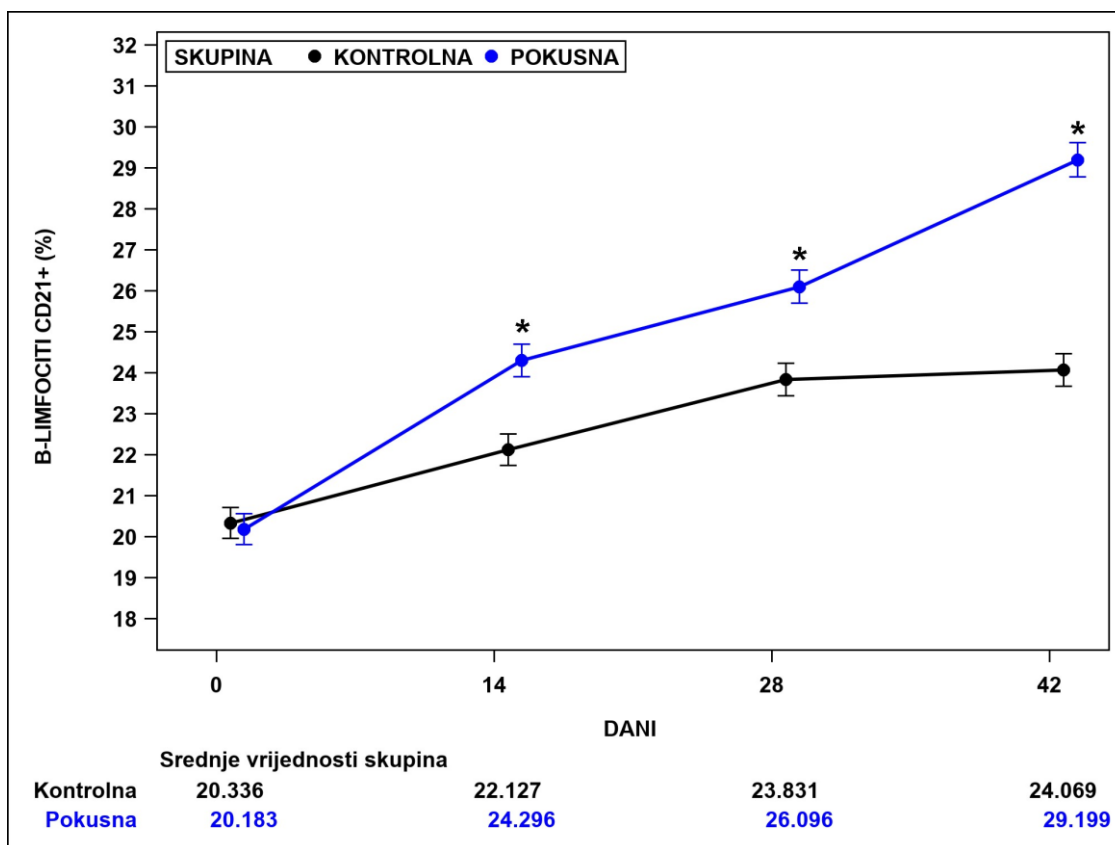
**Slika 23.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela CD8<sup>+</sup> citolitičkih T limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001.

Pokusna skupina prasadi (skupina P) u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veći udio dvostruko pozitivnih izvantimusnih CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T limfocita (%) 14. dana pokusa (p<0,01) 3,7 95% IP [3,5, 4,0] vs 3,3 [3,1, 3,5], 28 dana (p<0,01) 4,1 95% IP [3,9, 4,3] vs 3,6 [3,4, 3,8] i 42. dana pokusa (p<0,0001) 4,3 95% IP [4,0, 4,5] vs 3,5 [3,3, 3,7]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio dvostruko pozitivnih izvantimusnih CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T limfocita (%) 14. dana (p<0,01), 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,001) u odnosu na nulti dan pokusa 2,8 95% IP [2,6, 3,0]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio dvostruko pozitivnih izvantimusnih CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T limfocita (%) 14. dana (p<0,0001), 28. dana (p<0,0001) i 42. dana (p<0,0001) u odnosu na nulti dan pokusa 2,8 95% IP [2,6, 3,0]. Isto tako, pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio dvostruko pozitivnih izvantimusnih CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T limfocita (%) 42. dana (p<0,01) u odnosu na 14. dan pokusa (Slika 24.).



**Slika 24.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela dvostruko pozitivnih izvantimusnih CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001.

Pokusna skupina prasadi (skupina P) u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veći udio CD21<sup>+</sup> B limfocita (%) 14. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 24,3 95% IP [23,9, 24,7] vs 22,1 [21,7, 22,5], 28 dana ( $p < 0,0001$ ) 26,1 95% IP [25,7, 26,5] vs 23,8 [23,4, 24,2] i 42. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 29,2 95% IP [28,7, 29,6] vs 24,0 [23,6, 24,4]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD21<sup>+</sup> B limfocita (%) 14. dana ( $p < 0,0001$ ), 28. dana ( $p < 0,0001$ ) i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) u odnosu na nulti dan pokusa 20,34 95% IP [19,9, 20,7]. Isto tako, kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD21<sup>+</sup> B limfocita (%), 28. dana ( $p < 0,0001$ ) i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) u odnosu na 14. dan pokusa. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD21<sup>+</sup> B limfocita (%) 14. dana ( $p < 0,0001$ ), 28. dana ( $p < 0,0001$ ) i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) u odnosu na nulti dan pokusa 20,1 95% IP [19,8, 20,5]. Isto tako, pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veći udio CD21<sup>+</sup> B limfocita (%) 28. dana ( $p < 0,0001$ ) i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) u odnosu na 14. dan pokusa te 42. dana ( $p < 0,0001$ ) u odnosu na 28. dan pokusa (Slika 25.).

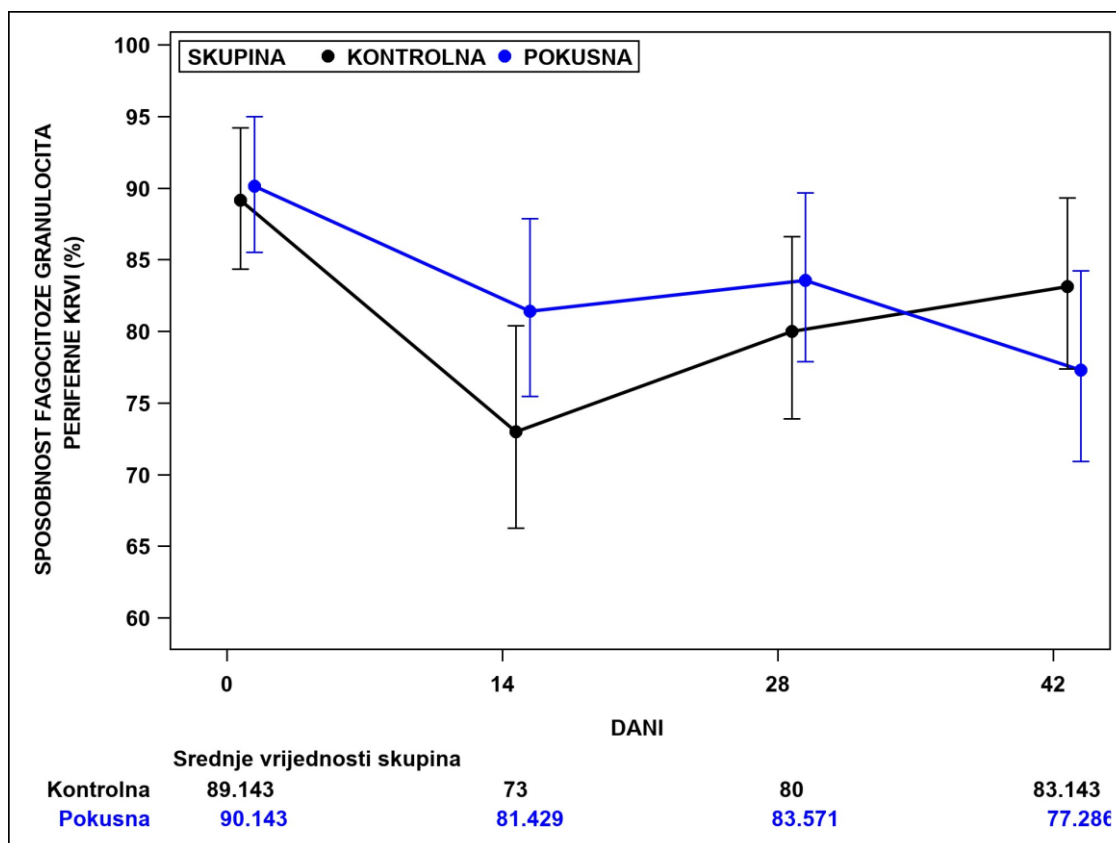


**Slika 25.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela CD21<sup>+</sup> B limfocita (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001.

### 5.5.2. Sposobnost fagocitoze/mikrobicidnosti granulocita i monocita

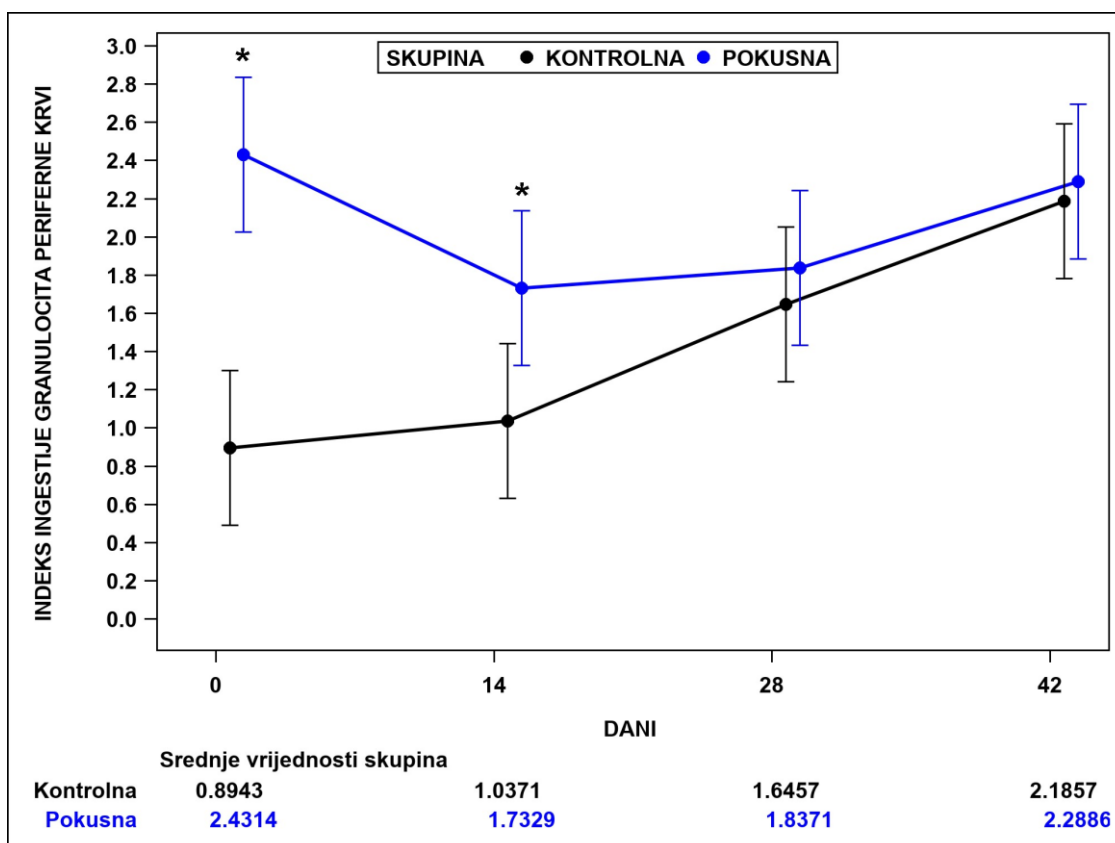
Ingestija (sposobnost fagocitoze) i mikrobicidnosti (unutarstanično ubijanje) granulocita i monocita pokusne prasadi tijekom 6 tjedana tretiranja pripravkom suhog rogača prikazani su na Slikama 26.-31..

Nije bilo statistički značajnih razlika udjela sposobnosti fagocitoze granulocita periferne krvi (%) između kontrolne (skupina P) i pokusne skupine (skupina P) prasadi tijekom perioda od 6 tjedana. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manji udio sposobnosti fagocitoze granulocita periferne krvi (%) 14. dana ( $p < 0,01$ ) 73,0 95% IP [66,2, 80,4] u odnosu na nulti dan pokusa 89,1 95% IP [84,3, 94,2]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manji udio sposobnosti fagocitoze granulocita periferne krvi (%) 42. dana ( $p < 0,05$ ) 77,3 95% IP [70,8, 84,3] u odnosu na nulti dan pokusa 90,1 95% IP [85,5, 95,0] (Slika 26.).



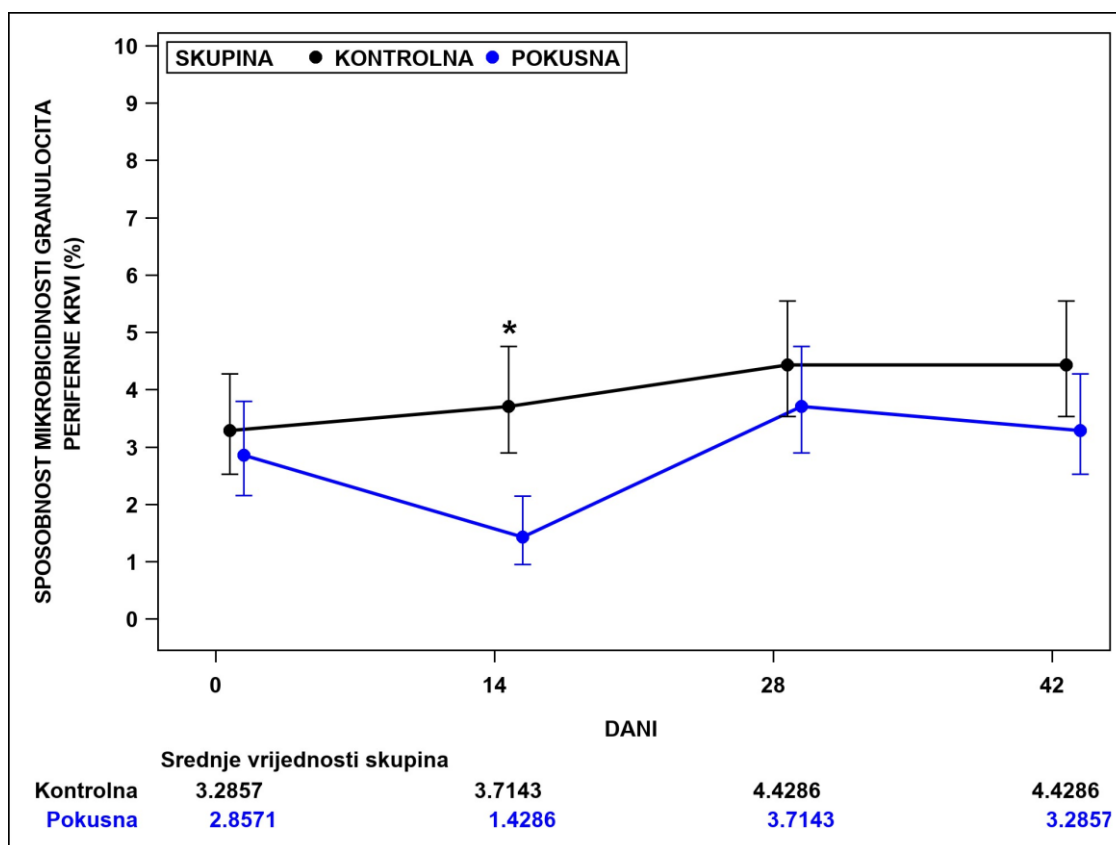
**Slika 26.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti fagocitoze granulocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu (skupina K) statistički značajno veći indeks ingestije granulocita periferne krvi nultog dana pokusa ( $p<0,0001$ ) 2,43 95% IP [2,02, 2,84] vs 0,89 [0,48, 1,30] i 14. dana pokusa ( $p<0,05$ ) 1,73 95% IP [1,32, 2,14] vs 1,03 [0,62, 1,44]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći indeks ingestije granulocita periferne krvi 28. dana ( $p<0,05$ ) 1,64 95% IP [1,23, 2,05] i 42. dana ( $p<0,001$ ) 2,18 95% IP [1,77, 2,59] u odnosu na nulti dan te 42 dan pokusa ( $p<0,01$ ) u odnosu na 14. dan pokusa (Slika 27.).



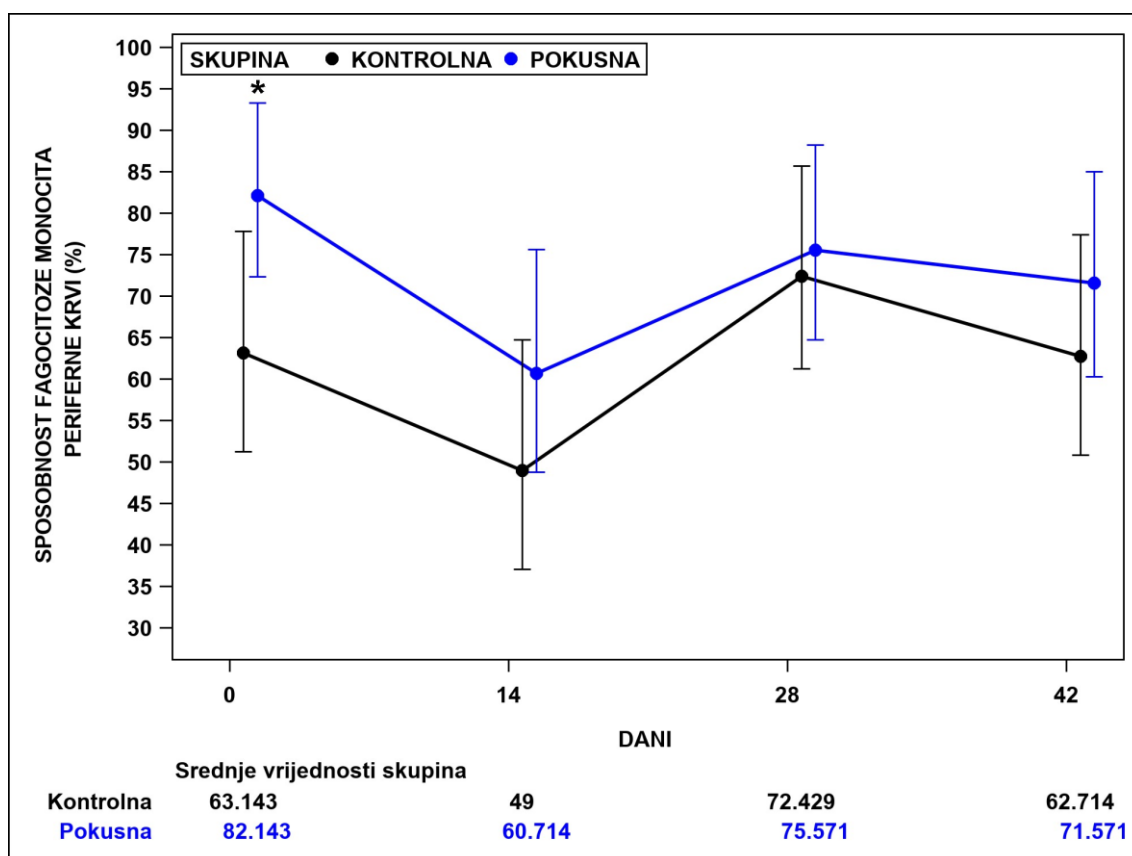
**Slika 27.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) indeksa ingestije granulocita periferne krvi u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno manji udio sposobnosti mikrobicidnosti granulocita periferne krvi (%) 14. dana pokusa ( $p < 0,001$ ) 1,43 95% IP [0,95, 2,14] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 3,71 95% IP [2,89, 4,77]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manji udio sposobnosti mikrobicidnosti granulocita periferne krvi (%) 14. dana pokusa u odnosu na nulti dan ( $p < 0,05$ ) 2,85 95% IP [2,14, 3,80], 28. dan ( $p < 0,001$ ) 3,71 95% IP [2,89, 4,77] i 42. dan pokusa ( $p < 0,01$ ) 3,28 95% IP [2,51, 4,28] (Slika 28.).



**Slika 28.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti mikrobicidnosti granulocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

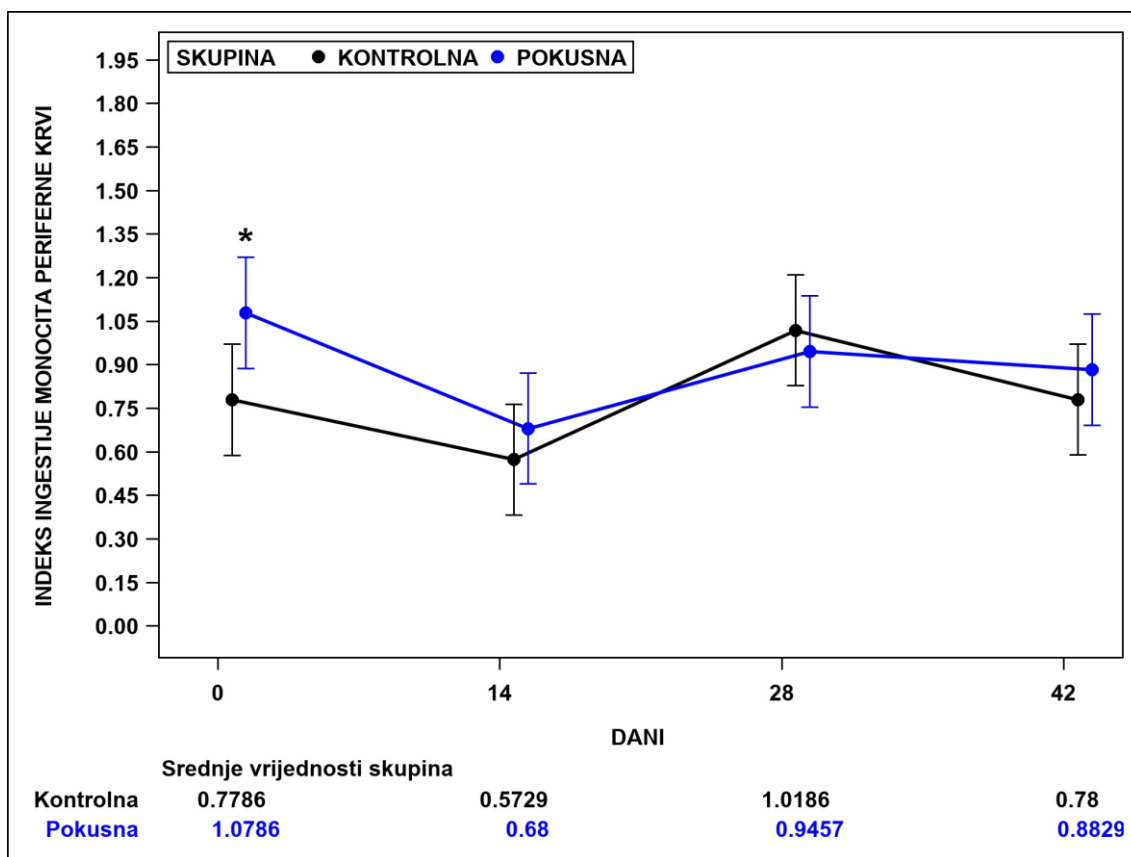
Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veći udio sposobnosti fagocitoze monocita periferne krvi (%) nultog dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 82,1 95% IP [72,2, 93,4] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 63,1 95% IP [51,1, 77,9]. Nije bilo statistički značajnih razlika u udjelu sposobnosti fagocitoze monocita periferne krvi (%) unutar perioda po skupini životinja (Slika 29.).



**Slika 29.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti fagocitoze monocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

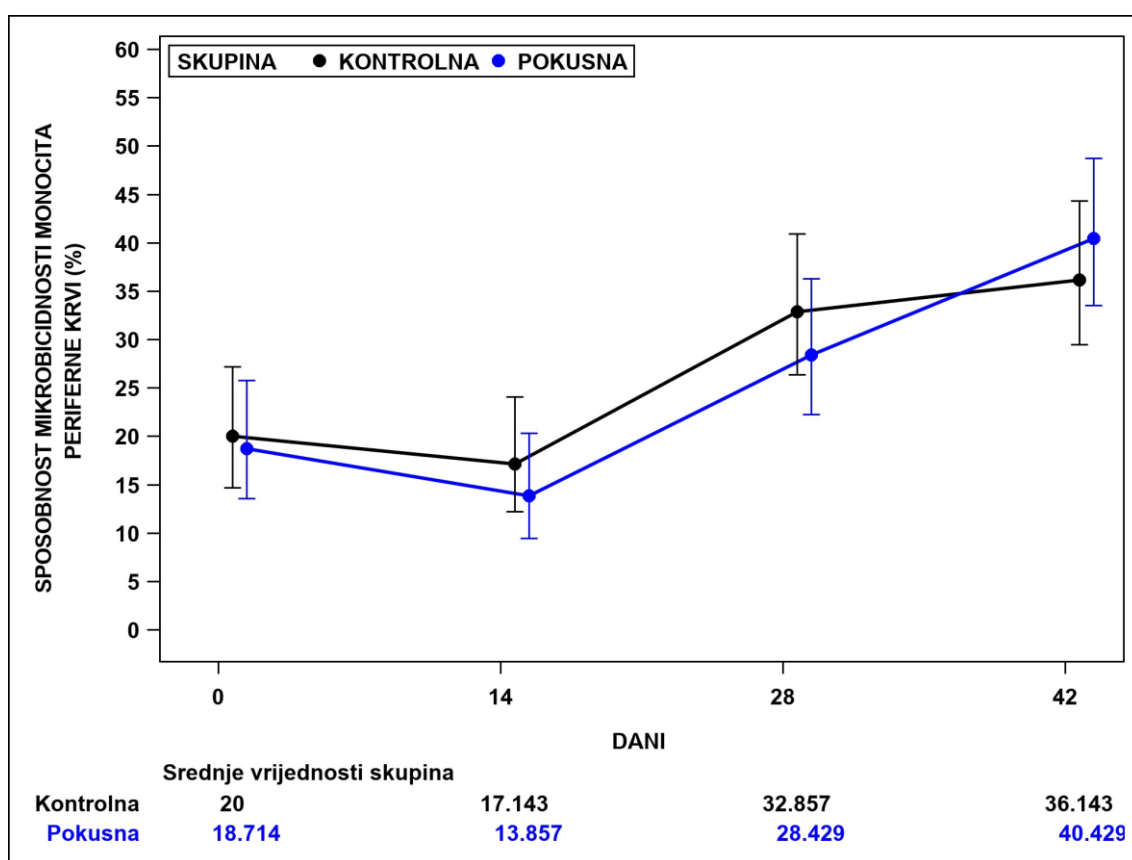


Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veći indeks ingestije monocita periferne krvi nultog dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 1,07 95% IP [0,88, 1,27] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 0,77 95% IP [0,58, 0,97]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veći indeks ingestije monocita periferne krvi 28. dana ( $p < 0,01$ ) 1,01 95% IP [0,82, 1,21] u odnosu na 14. dan pokusa 0,57 95% IP [0,37, 0,76]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manji indeks ingestije monocita periferne krvi 14. dana ( $p < 0,05$ ) 0,68 95% IP [0,48, 0,87] u odnosu na nulti dan pokusa (Slika 30.).



**Slika 30.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) indeksa ingestije monocita periferne krvi u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

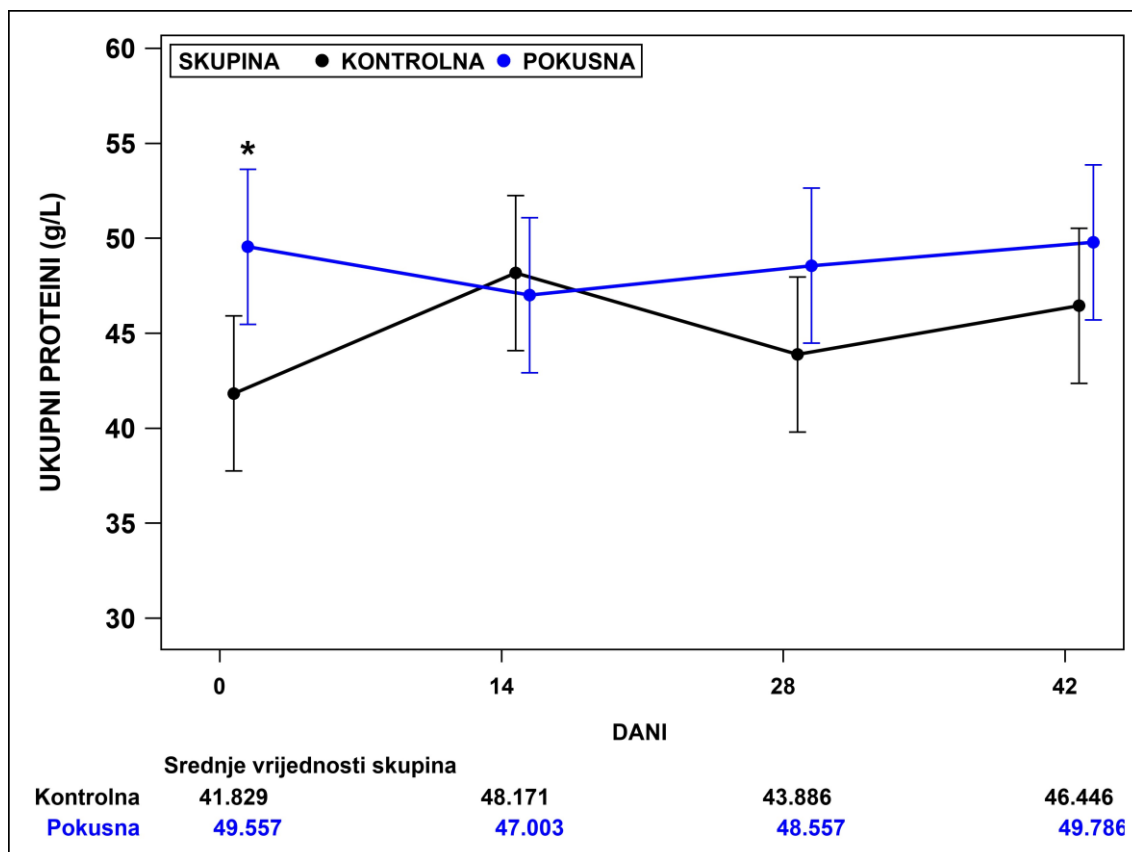
Kontrolna skupina prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veći udio sposobnosti mikrobicidnosti monocita periferne krvi (%) 42. dana 36,1 95% IP [29,4, 44,4] u odnosu na nulti dan ( $p < 0,05$ ) 20,0 95% IP [14,6, 27,3] i 14. dan pokusa ( $p < 0,01$ ) 17,1 95% IP [12,1, 24,1] te 28. dana pokusa 32,8 95% IP [26,3, 41,0] u odnosu na 14. dan pokusa ( $p < 0,05$ ). Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veći udio sposobnosti mikrobicidnosti monocita periferne krvi (%) 42. dana 40,4 95% IP [33,4, 48,8] u odnosu na nulti dan ( $p < 0,01$ ) 18,7 95% IP [13,5 25,8] i 14. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) 13,8 95% IP [9,4, 20,4] te 28. dana pokusa 28,4 95% IP [22,2, 36,3] u odnosu na 14. dan pokusa ( $p < 0,05$ ) (Slika 31.).



**Slika 31.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) udjela sposobnosti mikrobicidnosti monocita periferne krvi (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

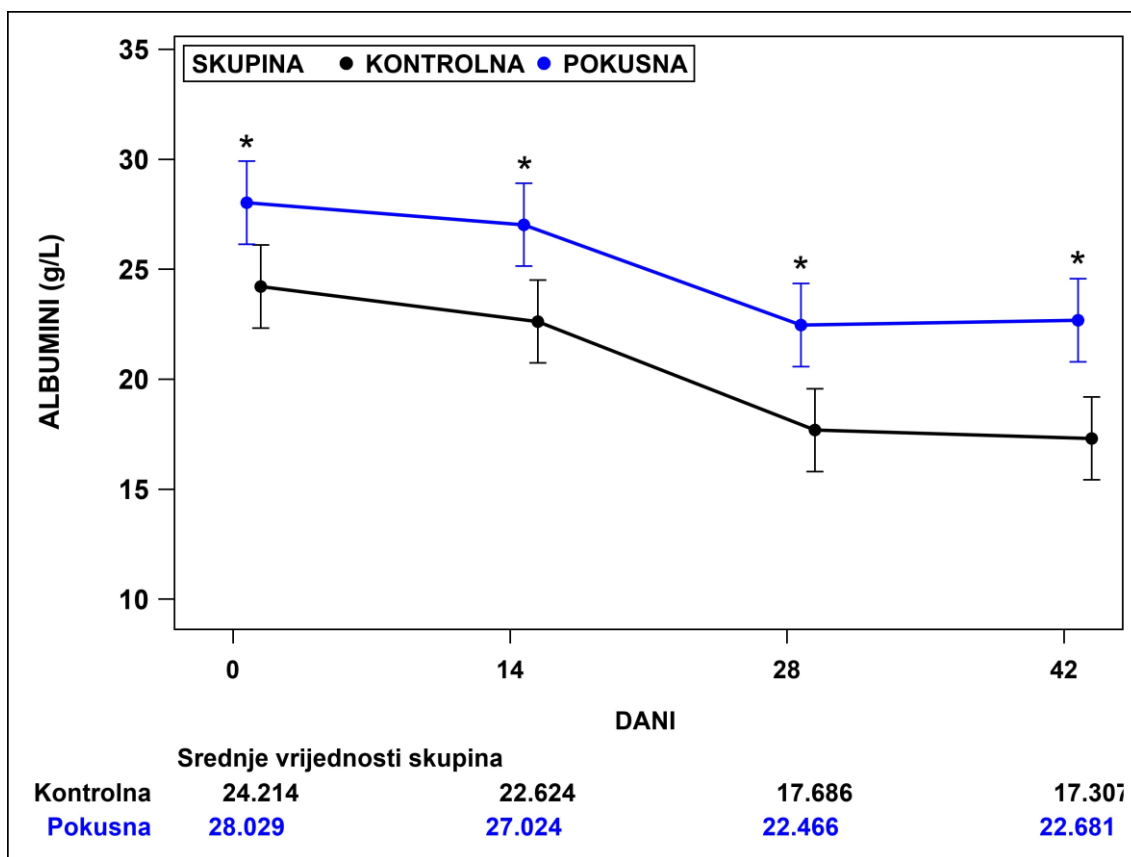
## 5.6. Biokemijski pokazatelji

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veću koncentraciju ukupnih proteina (g/L) nultog dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 49,55 95% IP [45,43, 53,67] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 41,82 95% IP [37,71, 45,94]. Nije bilo statistički značajnih razlika u koncentraciji ukupnih proteina (g/L) između perioda pokusa unutar pojedine skupine (Slika 32.).



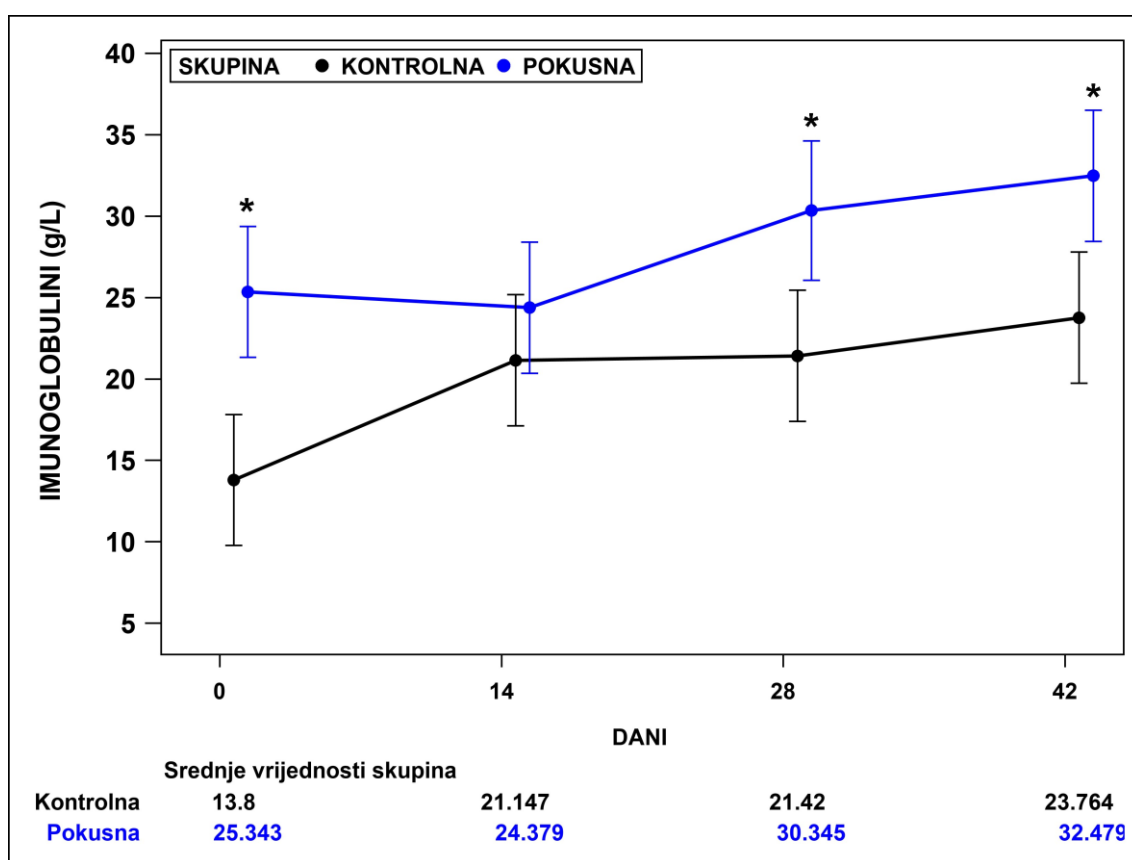
**Slika 32.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije ukupnih proteina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veću razinu albumina (g/L) nultog dana ( $p < 0,01$ ) 28,03 95% IP [26,12, 29,93] vs 24,21 [22,31, 26,11], 14. dana ( $p < 0,01$ ) 27,02 95% IP [25,12, 28,92] vs 22,62 [20,72, 24,52], 28. dana ( $p < 0,001$ ) 22,46 95% IP [20,56, 24,36] vs 17,68 [15,78, 19,58] te 42 dana ( $p < 0,001$ ) 22,68 95% IP [20,77, 24,58] vs 17,30 [15,40, 19,21]. U obje skupine razine albumina su bile statistički značajno veće nultog i 14 dana ( $p < 0,001$ ) u odnosu na 28. i 42. dan (Slika 33.).



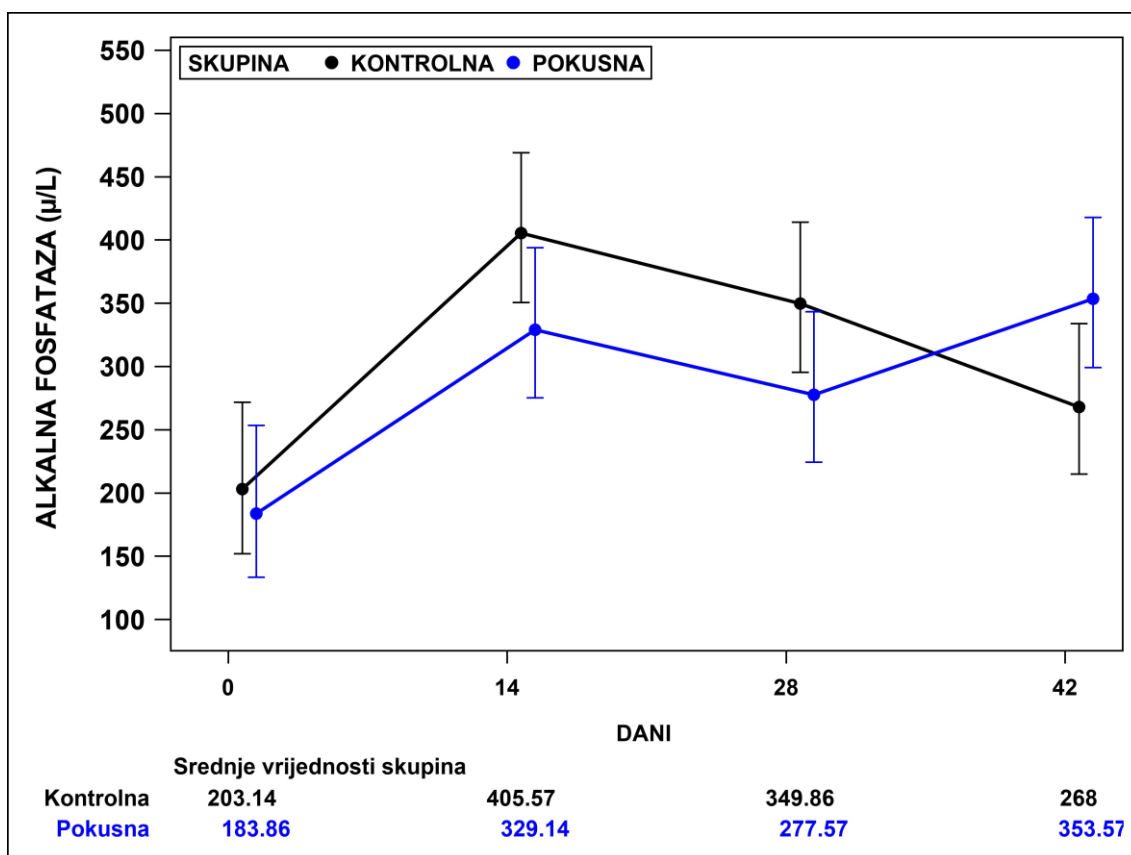
**Slika 33.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti(IP) koncentracije albumina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu životinja (skupina K) statistički značajno veću koncentraciju imunoglobulina (g/L) nultog dana ( $p < 0,01$ ) 25,34 95% IP [21,28, 29,40] vs 13,80 95% IP [9,73, 17,86], 28. dana ( $p < 0,01$ ) 30,34 95% IP [26,02, 34,66] vs 21,42 95% IP [17,35, 25,48] i 42. dana pokusa ( $p < 0,001$ ) 32,47 95% IP [28,41, 36,53] vs 23,76 95% IP [19,70, 27,82]. Kontrolna skupina svinja imala je statistički značajno manju koncentraciju imunoglobulina (g/L) nultog dana u odnosu na 42. dan pokusa ( $p < 0,05$ ) (Slika 34.).



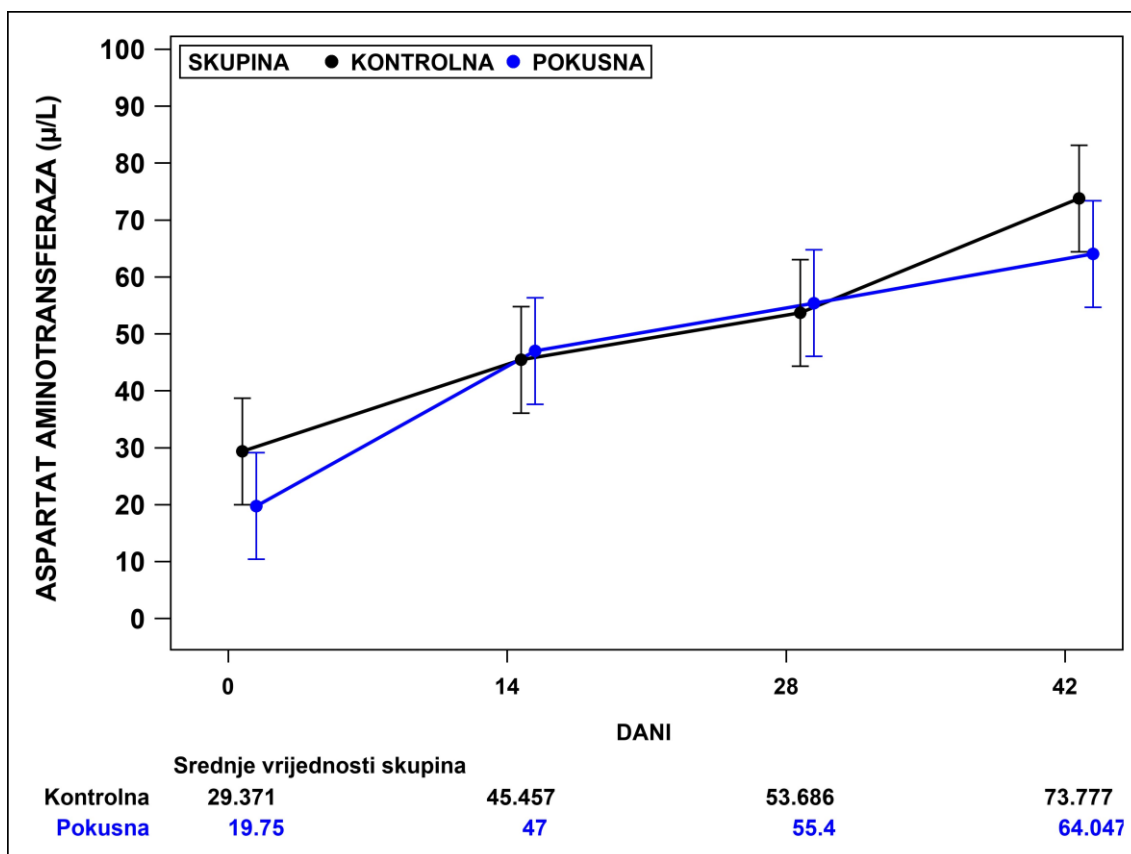
**Slika 34.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije imunoglobulina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika koncentracije alkalne fosfataze između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi tijekom perioda od 6 tjedana. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije alkalne fosfataze 14. dana ( $p < 0,001$ ) 405,57 95% IP [350,21, 469,69] i 28. dana ( $p < 0,05$ ) 349,86 95% IP [295,12, 414,75] u odnosu na nulti dan pokusa 203,14 95% IP [151,54, 272,31]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije alkalne fosfataze 14. dana ( $p < 0,05$ ) 329,14 95% IP [274,69, 394,39] i 42. dana ( $p < 0,01$ ) 353,57 95% IP [298,78, 418,40] u odnosu na nulti dan pokusa 183,86 95% IP [133,00, 254,15] (Slika 35.).



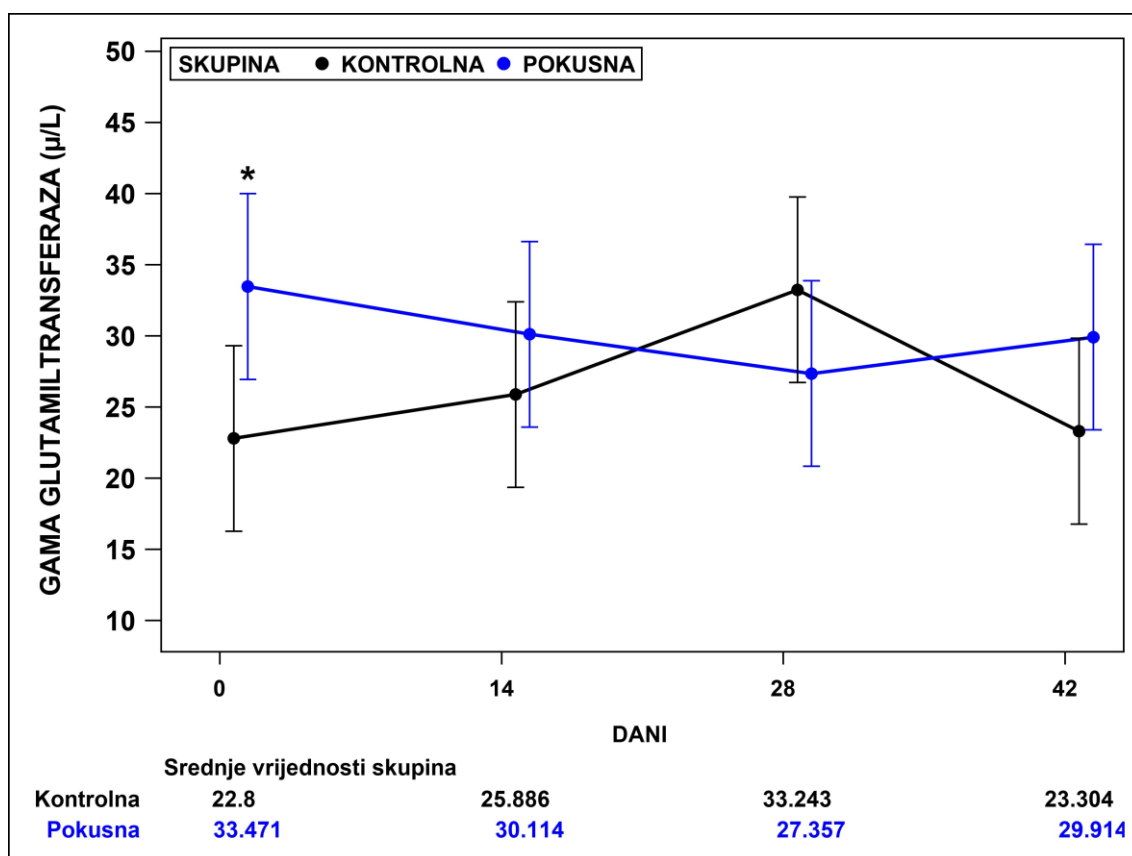
**Slika 35.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije alkalne fosfataze ( $\mu/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Nije bilo statistički značajnih razlika koncentracije aspartat aminotransferaze između kontrolne (skupina K) i pokusne skupine (skupina P) prasadi tijekom perioda od 6 tjedana. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije aspartat aminotransferaze 14. dana ( $p < 0,05$ ) 45,45 95% IP [36,16, 54,89], 28. dana ( $p < 0,01$ ) 53,68 95% IP [44,24, 63,12] i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) 73,77 95% IP [64,33, 83,21] u odnosu na nulti dan pokusa 29,37 95% IP [19,93, 38,81]. Isto tako, kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije aspartat aminotransferaze 42. dana u odnosu na 14. dan ( $p < 0,001$ ) i 28. dan pokusa ( $p < 0,01$ ). Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije aspartat aminotransferaze 14. dana ( $p < 0,001$ ) 47,00 95% IP [37,55, 56,44], 28. dana ( $p < 0,0001$ ) 55,40 95% IP [45,95, 64,84] i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) 64,04 95% IP [54,60, 73,48] u odnosu na nulti dan pokusa 19,75 95% IP [10,30, 29,19]. Isto tako, pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije aspartat aminotransferaze 42. dana u odnosu na 14. dan pokusa ( $p < 0,05$ ) (Slika 36.).



**Slika 36.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije aspartat aminotransferaze ( $\mu/L$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

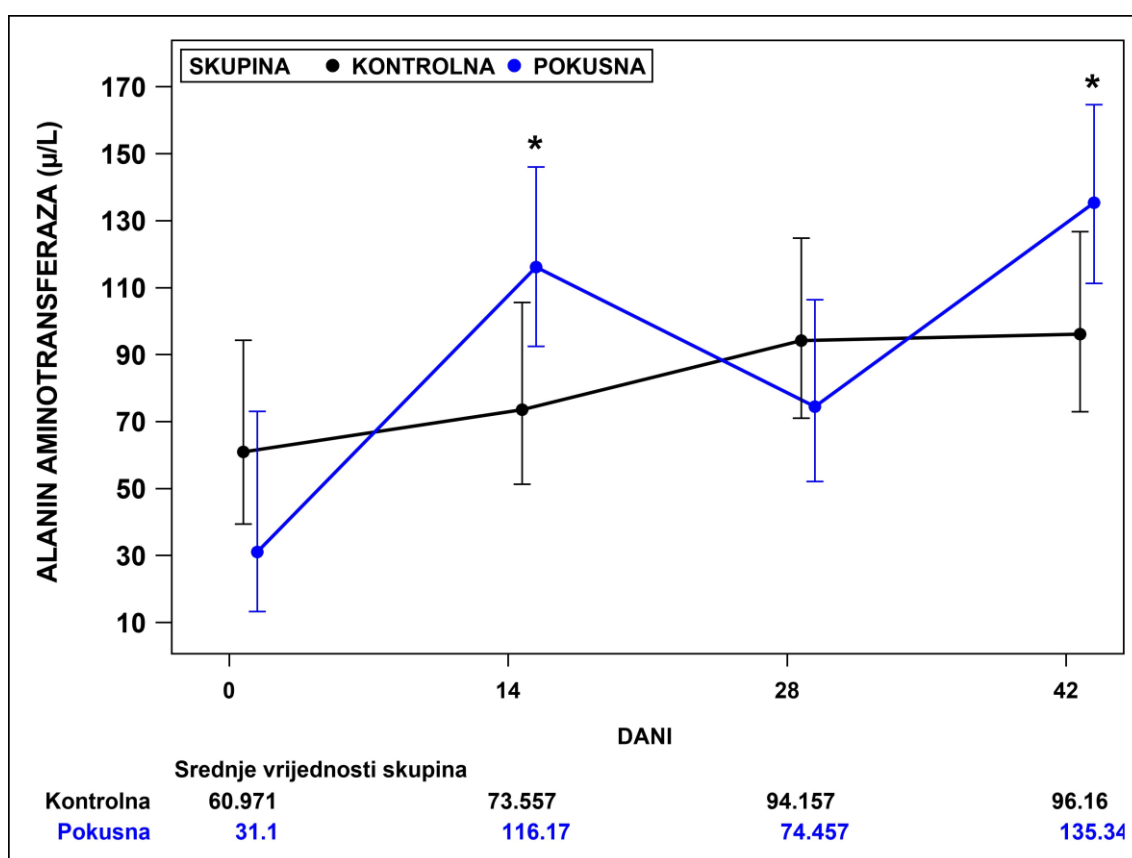
Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veće koncentracije gama glutamil transferaze ( $\mu\text{L}$ ) nultog dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 33,47 95% IP [26,89, 40,04] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 22,80 95% IP [16,22, 29,37]. Nije bilo statistički značajnih razlika u koncentraciji gama glutamil transferaze ( $\mu\text{L}$ ) unutar perioda po skupini životinja (Slika 37.).



**Slika 37.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije gama glutamil transferaze ( $\mu\text{L}$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

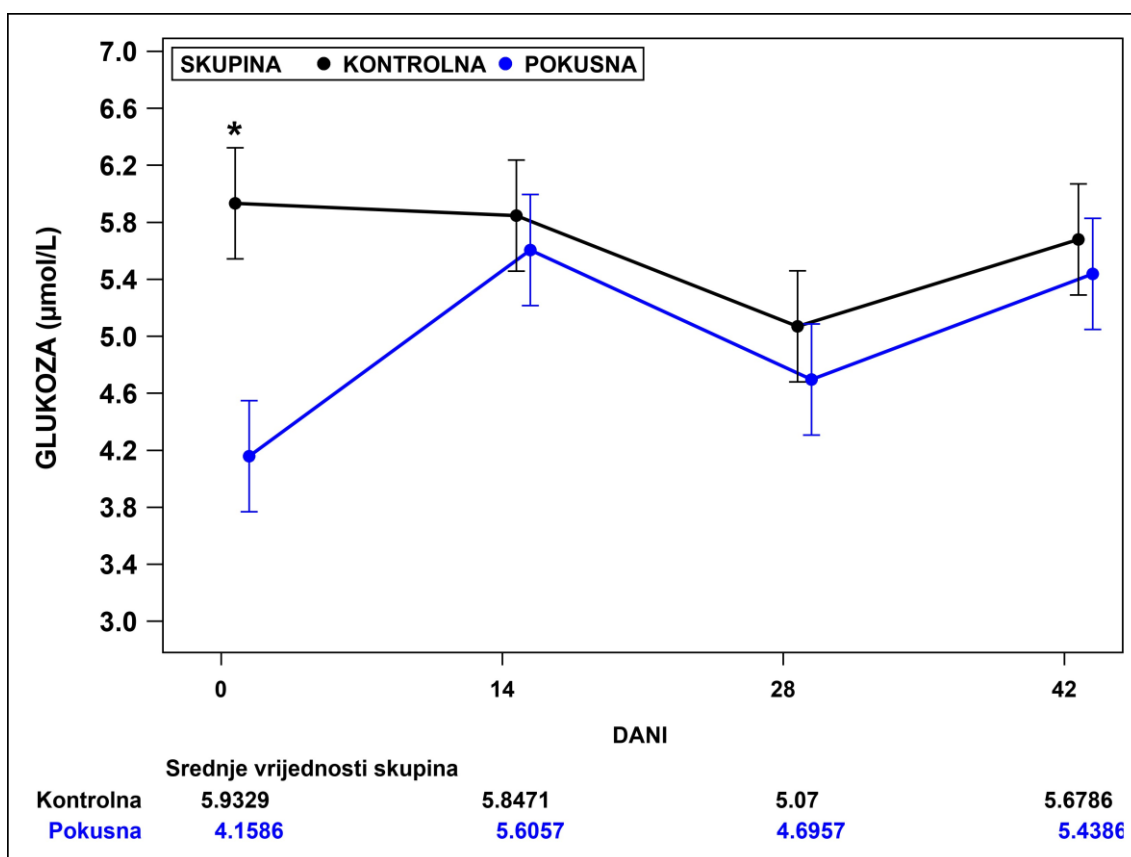


Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veću razinu alanin aminotransferaze ( $\mu\text{L}$ ) 14. dana pokusa ( $p<0,05$ ) 116,17 95% IP [92,24, 146,31] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 73,55 95% IP [51,10, 105,88]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veću razinu alanin aminotransferaze 14. dana ( $p<0,05$ ) 116,17 95% IP [92,24, 146,31] i 42. dana ( $p<0,01$ ) 135,34 95% IP [111,04, 164,97] u odnosu na nulti dan pokusa 31,10 95% IP [13,14, 73,60] te 28. dana ( $p<0,05$ ) 74,45 95% IP [51,95, 106,71] u odnosu na 42. dan pokusa 135,34 95% IP [111,04, 164,97] (Slika 38.).



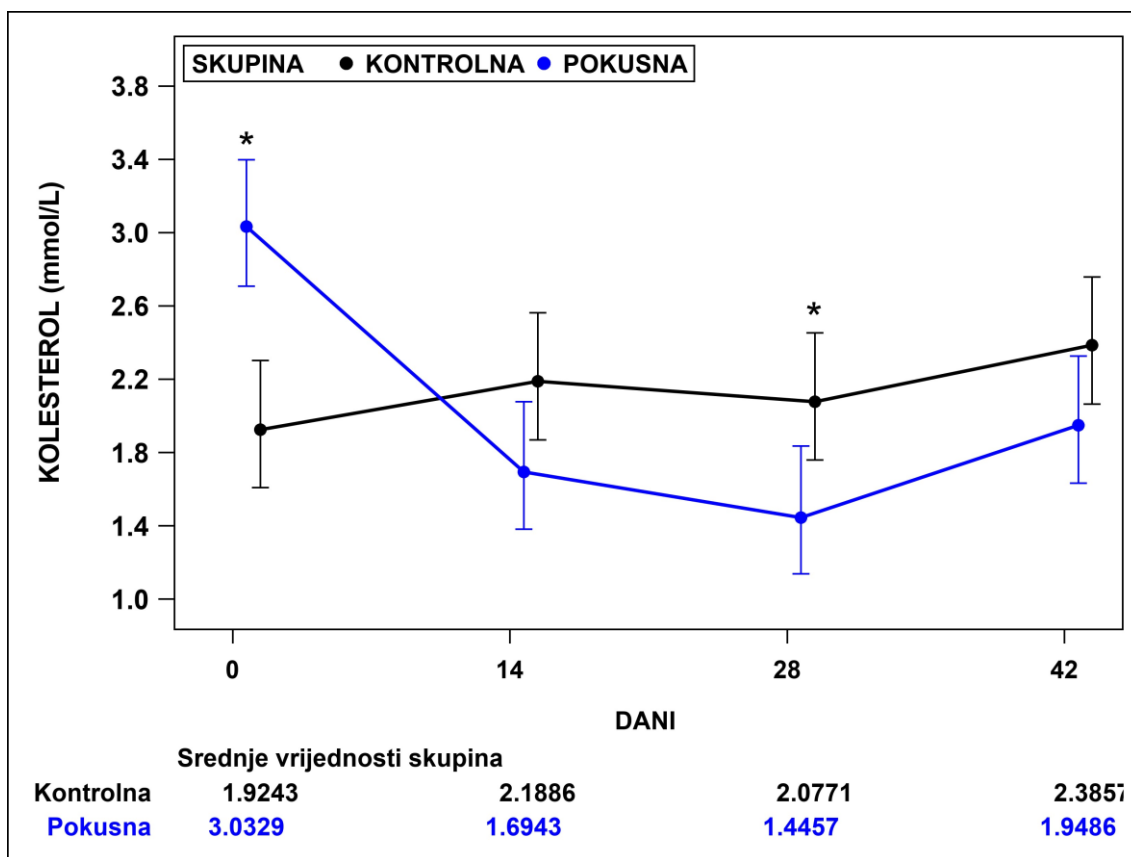
**Slika 38.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije alanin aminotransferaze ( $\mu\text{L}$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno manje koncentracije glukoze ( $\mu\text{mol/L}$ ) nultog dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 4,15 95% IP [3,76, 4,55] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 5,93 95% IP [5,53, 6,32]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju glukoze 28. dana 5,07 95% IP [4,67, 5,46] u odnosu na nulti dan ( $p < 0,05$ ) i u odnosu na 14. dan pokusa ( $p < 0,05$ ) 5,84 95% IP [5,45, 6,24]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju glukoze nultog dana u odnosu na 14. dan ( $p < 0,0001$ ) 5,60 95% IP [5,21, 5,99] i u odnosu na 42. dan pokusa ( $p < 0,001$ ) 5,43 95% IP [5,04, 5,83] te 28. dana 4,69 95% [4,30, 5,08] u odnosu na 14. dan ( $p < 0,01$ ) i na 42. dan pokusa ( $p < 0,05$ ) (Slika 39).



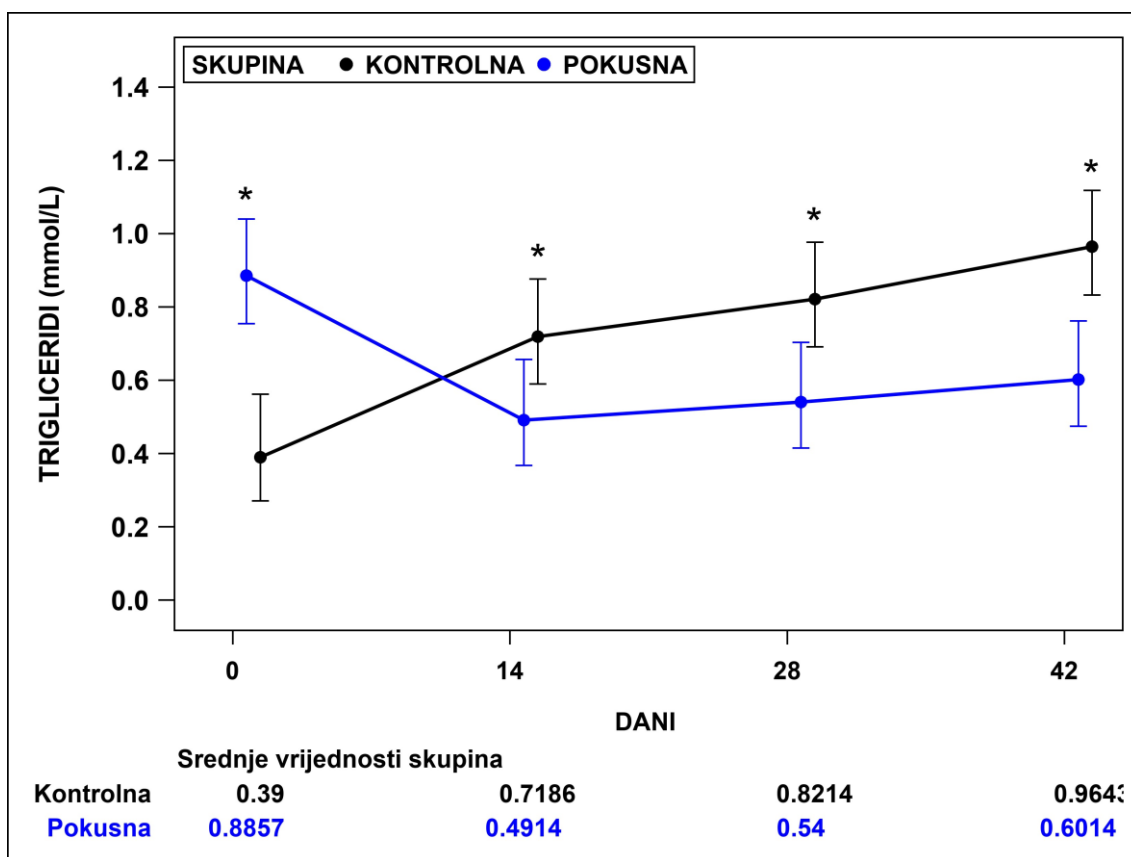
**Slika 39.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije glukoze ( $\mu\text{mol/L}$ ) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veće koncentracije kolesterola (mmol/L) nultog dana pokusa ( $p < 0,001$ ) 3,03 95% IP [2,70, 3,40] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 1,92 95% IP [1,60, 2,30], ali i statistički značajno manje koncentracije 28. dana ( $p < 0,05$ ) 1,44 95% IP [1,13, 1,83] vs 2,07 [1,75, 2,45]. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manje koncentracije kolesterola (mmol/L) 14. dana ( $p < 0,0001$ ) 1,69 95% IP [1,37, 2,08], 28 dana ( $p < 0,0001$ ) i 42. dana ( $p < 0,001$ ) 1,94 95% IP [1,63, 2,33] u odnosu na nulti dan pokusa (Slika 40.).



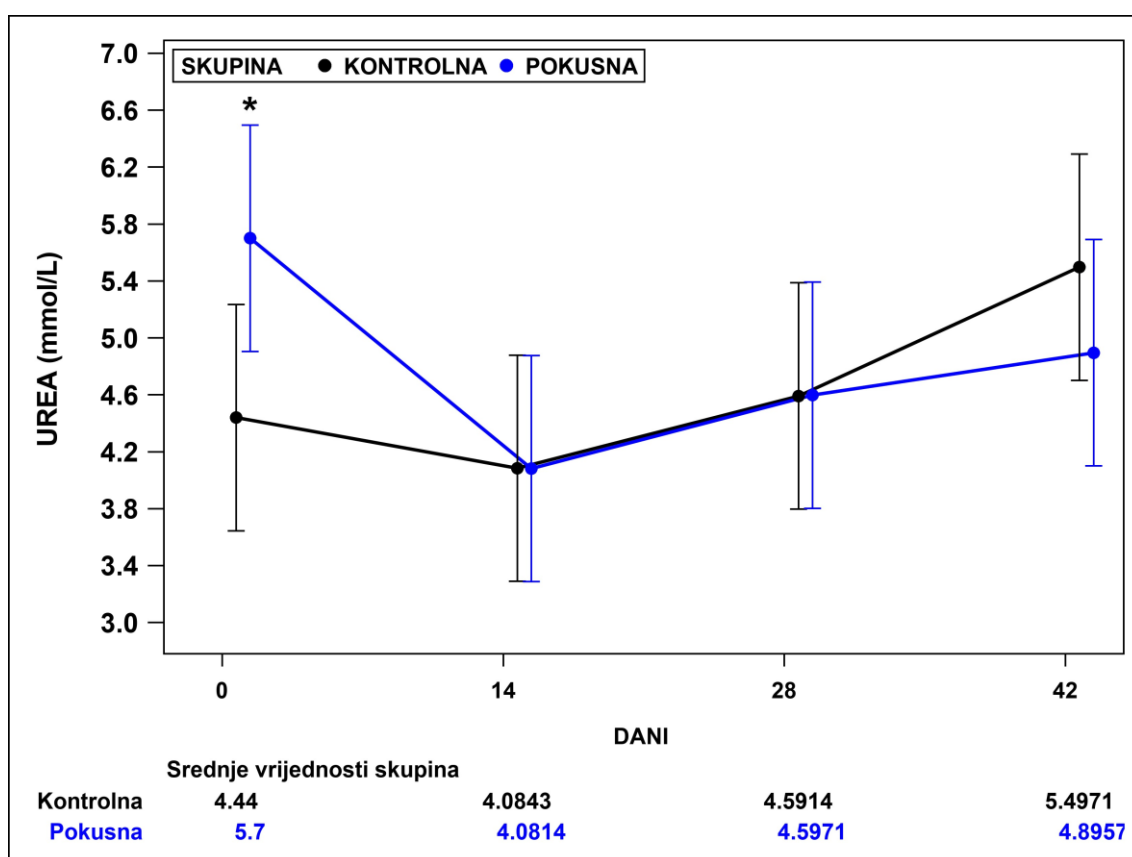
**Slika 40.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije kolesterola (mmol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) imala je statistički značajno veću koncentraciju triglicerida (mmol/L) nultog dana pokusa ( $p < 0,001$ ) 0,88 95% IP [0,75, 1,04] vs 0,39 [0,27, 0,56], te statistički značajno manju koncentraciju 14. dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 0,49 95% IP [0,36, 0,65] vs 0,71 [0,58, 0,87], 28 dana ( $p < 0,05$ ) 0,54 95% IP [0,41, 0,70] vs 0,82 [0,69, 0,97] i 42. dana pokusa ( $p < 0,01$ ) 0,60 95% IP [0,47, 0,76] vs 0,96 [0,83, 1,12]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veću koncentraciju triglicerida (mmol/L) 14. dana ( $p < 0,01$ ), 28. dana ( $p < 0,001$ ) i 42. dana ( $p < 0,0001$ ) u odnosu na nulti dan pokusa te 42. dana ( $p < 0,05$ ) u odnosu na 14. dan pokusa. Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju triglicerida (mmol/L) 14. dana ( $p < 0,001$ ), 28. dana ( $p < 0,01$ ) i 42. dana ( $p < 0,01$ ) u odnosu na nulti dan pokusa (Slika 41.).



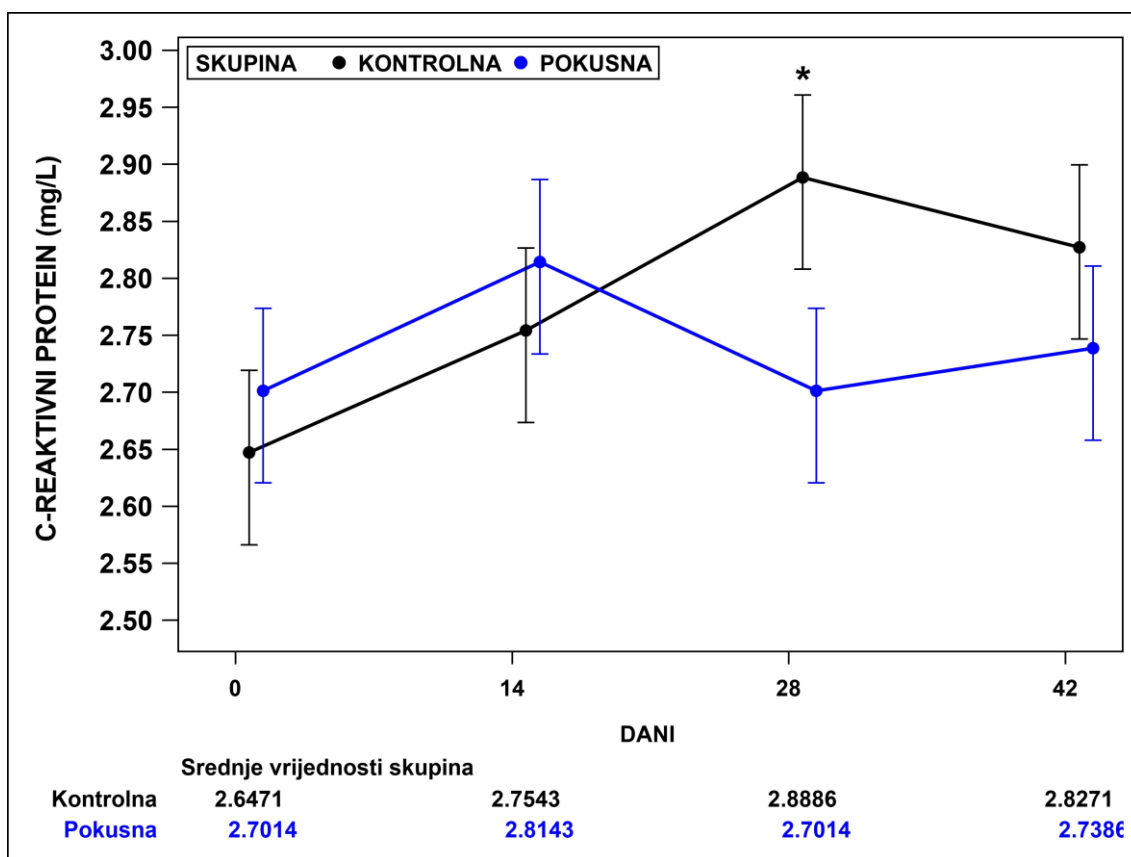
**Slika 41.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije triglicerida (mmol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno veću koncentraciju ureje (mmol/L) nultog dana pokusa ( $p < 0,05$ ) 5,70 95% IP [4,89, 6,50] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 4,44 95% IP [3,63, 5,24]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veću koncentraciju ureje (mmol/L) 42. dana ( $p < 0,05$ ) 5,49 95% IP [4,69, 6,29] u odnosu na 14. dan pokusa 4,08 95% IP [3,28, 4,88] (Slika 42.).



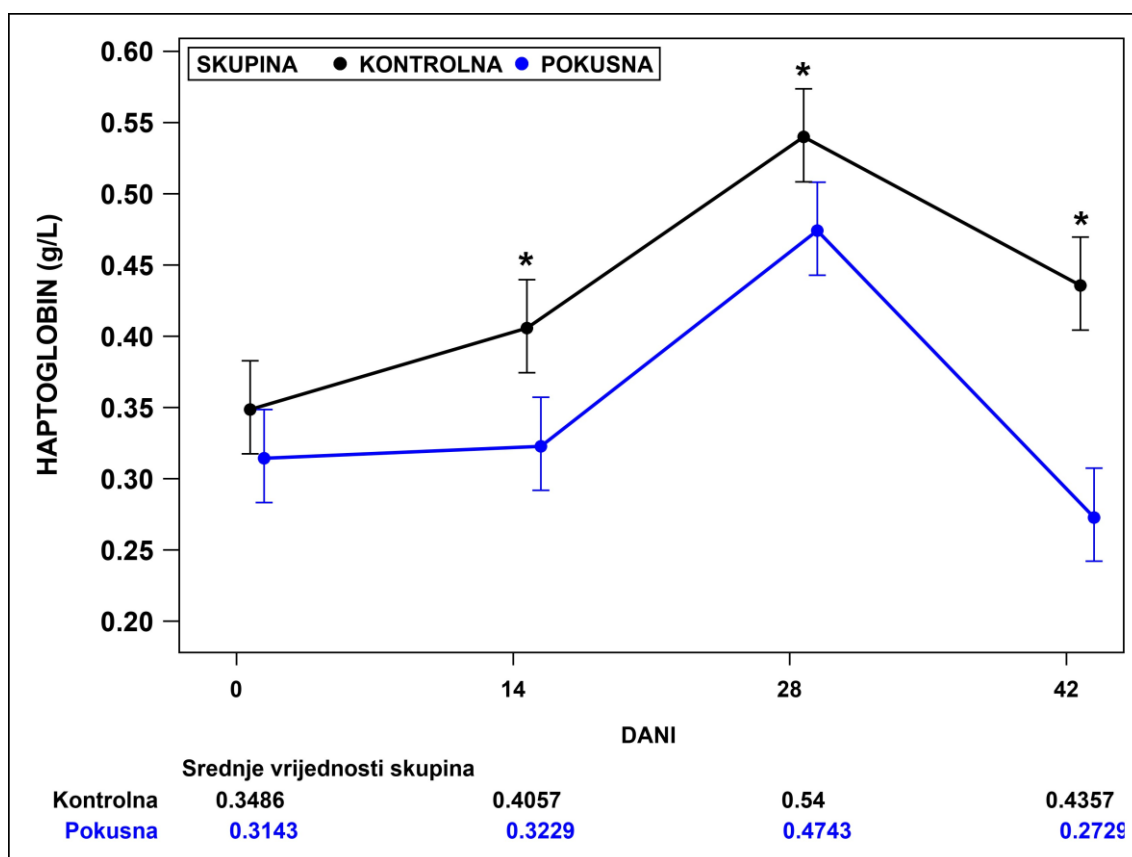
**Slika 42.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije ureje (mmol/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je statistički značajno manje koncentracije C-reaktivnog proteina (mg/L) 28. dana pokusa ( $p < 0,01$ ) 2,70 95% IP [2,61, 2,77] u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) 2,88 95% IP [2,80, 2,96]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno veće koncentracije C-reaktivnog proteina (mg/L) 28. dana ( $p < 0,001$ ) i 42. dana ( $p < 0,01$ ) 2,82 95% IP [2,74, 2,90] u odnosu na nulti dan pokusa 2,64 95% IP [2,56, 2,72] te 28. dana ( $p < 0,05$ ) u odnosu na 14. dan pokusa 2,75 95% IP [2,67, 2,82] (Slika 43.).



**Slika 43.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije C-reaktivnog proteina (mg/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina prasadi (skupina P) imala je u odnosu na kontrolnu skupinu prasadi (skupina K) životinja statistički značajno manju koncentraciju haptoglobina (g/L) 14. dana ( $p < 0,01$ ) 0,32 95% IP [0,29, 0,35] vs 0,40 95% IP [0,37, 0,44], 28. dana ( $p < 0,01$ ) 0,47 95% IP [0,44, 0,50] vs 0,54 95% IP [0,50, 0,57] i 42. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) 0,27 95% IP [0,24, 0,30] vs 0,43 95% IP [0,40, 0,46]. Kontrolna skupina prasadi imala je statistički značajno manju koncentraciju haptoglobina (g/L) nultog dana 0,34 95% IP [0,31, 0,38] u odnosu na 28. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) i 42. dan pokusa ( $p < 0,01$ ) te značajno veću koncentraciju 28. dana u odnosu na 14. dan ( $p < 0,0001$ ) i 42. dan pokusa ( $p < 0,001$ ). Pokusna skupina prasadi imala je statistički značajno veću koncentraciju haptoglobina (g/L) 28. dana u odnosu na nulti. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) 0,31 95% IP [0,28, 0,34], 14. dan ( $p < 0,0001$ ) i 42. dan pokusa ( $p < 0,0001$ ) (Slika 44.).



**Slika 44.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti (IP) koncentracije haptoglobina (g/L) u kontrolnoj i pokusnoj skupini prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

## 5.7. Bakteriološki pokazatelji

Iz Tablice 9. vidljivo je da su iz uzoraka obrisaka rektuma prasadi iz oba dvije skupine najčešće dobiveni izolati bakterije *E. coli*. tijekom cijelog pokusa. Također, osim prethodno navedenih izolata, tijekom cijelog pokusa, neovisno o skupini prasadi, iz manjeg broja uzoraka rektalnih obrisaka prasadi izdvojeni su i dokazani nepatogeni izolati bakterija *Proteus sp.* i *Enterococcus spp.*. Serotipizacijom patogenih hemolitičkih izolata bakterije *E. coli* utvrđena je prisutnost F4 i F5 fimbrija. Tijekom 6 tjedana trajanja pokusa u izolatima 5 prasadi kontrolne skupine (skupina K) pronađena je enterotoksigena *E. coli* F4<sup>+</sup>. Za razliku od kontrolna skupine u pokusnoj skupini prasadi (skupina P) u svega jednom uzorku izolirani su hemolitički izolati bakterije *E. Coli*. Nadalje, neovisno o skupini, nalaz pozitivnih uzoraka na nehemolitičke izolate bakterije *E. coli* utvrđen je u prosjeku u jednom do četiri uzorka po danu pokusa. Iz Tablice 11. također je vidljivo da je u rektalnom obrisku prasadi iz kontrolne skupine smanjen prosječni broj CFU/mL 42. dana pokusa u odnosu na 0. dan pokusa. Međutim, 42. dana pokusa broj bakterija je bitno manji iz uzoraka obrisaka prasadi pokusne skupine ( $10^{-4}$  CFU/mL) u odnosu na broj bakterija prasadi iz kontrolne skupine na kraju pokusa ( $10^{-5}$  CFU/mL).



**Tablica 9.** Bakterijski izolati iz uzoraka obrisaka sluznica rektuma kontrolne i pokusne prasadi (prasad hranjenja uz dodatak rogača) tijekom 42 dana trajanja pokusa, te broj bakterija (CFU/mL) 0. i 42. dana pokusa.

Dani pokusa	Izolat*	Skupina K (kontrola)	Skupina P (pripravak suhog rogača)
	<i>E. coli</i> (apatogena)	++	++
	<i>E. coli</i> (apatogena) i <i>Proteus sp.</i>		+
	<i>E. coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Proteus sp.</i>	+	+
	<i>E. coli</i> i <i>Enterococcus spp.</i>	++++	+++
	<i>Bacillus cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i>		
	Enterotoksigena <i>E. coli</i> F4+		
	<i>Enterococcus sp.</i> , <i>Bacillus cereus</i> ,		
	<b>CFU/mL</b>	<b>* 10<sup>-6</sup></b>	<b>* 10<sup>-3</sup></b>
14.	<i>E. coli</i> (apatogena)		++
	<i>E. coli</i> (apatogena) + <i>Enterococcus spp.</i>	++	++++
	<i>E. coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Proteus sp.</i>	+	
	<i>E. coli</i> , <i>Proteus sp.</i>	++	+
	<i>Bacillus cereus</i> , <i>E. coli</i>	+	
	<i>Proteus sp.</i>	+	
	<i>Enterococcus spp.</i>		
28.	<i>E. coli</i> (apatogena)	+	+
	<i>E. coli</i> (apatogena)+, <i>Enterococcus spp.</i>	++	++++
	<i>Enterococcus sp.</i>	+++	+
	Enterotoksigena <i>E. coli</i> F4+		+
	<i>Enterococcus sp.</i> , Enterotoksigena <i>E. coli</i> F4+		
	<i>Proteus sp.</i>	+	
42.	<i>E. coli</i> (apatogena)		
	<i>E. coli</i> (apatogena)+, <i>Enterococcus spp.</i>		+
	<i>Enterococcus sp.</i>		+
	<i>Proteus sp.</i> , <i>E. coli</i> (apatogena)		++
	<i>Bacillus sp.</i> , <i>E. coli</i> (apatogena)		+
	<i>E. coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Proteus sp.</i>		+
	<i>Enterococcus sp.</i> , <i>Proteus sp.</i>		+
	<i>Enterococcus sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>		
	<b>CFU/mL</b>	<b>* 10<sup>-5</sup></b>	<b>* 10<sup>-4</sup></b>

- kontrolna skupina prasadi (skupina K); pokusna skupina prasadi (skupina P - prasad hranjenja uz dodatak rogača);

\*porast kolonija do razrjeđenja (CFU/ml).

## 5.8. Patoanatomski nalaz

Patoanatomski nalazi pri razudbi sedam prasadi po skupini 42. dana pokusa (prasad 1-7 iz skupine K; prasad 8-14 iz skupine P) nisu pokazali značajne makroskopski vidljive patološke promijene (Tablica 10.).

**Tablica 10.** Razudbeni nalazi pokusnih životinja žrtvovanih 42 dana pokusa.

Žrtvovana prasad 42. dana pokusa	RAZUDBENI NALAZ PRASADI	
Skupina P	1	muški spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	2	prase ženskog splola: hiperemija i edem pluća, nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	3	ženski spol: hiperplastični limfadenitis većine mezenterijalnih i potkožnih limfnih čvorova, nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	4	muški spol: erozija po žljezdanoj sluznici želuca, nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	5	ženski spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	6	muški spol: ascites niskog stupnja, nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	7	ženski spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
Skupina K	8	muški spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	9	ženski spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	10	ženski spol: erozija po žljezdanoj sluznici želuca, nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	11	muški spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	12	ženski spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	13	muški spol: hiperplazija slezene, nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima
	14	ženski spol: nalaz bez osobitosti (b.o.) na svim organima

- kontrolna skupina prasadi (skupina K); pokusna skupina prasadi (skupina P - prasad hranjenja uz dodatak rogača).

## 5.10. Kemijska analiza mesa

Kemijskom analizom uzorka mesa buta prasadi iz pokusne (skupina P) i kontrolne (skupina K) skupine nije zabilježeno odstupanje u odnosu na referentne vrijednosti za svinjsko meso (Tablica 11.). Međutim, meso prasadi skupine P (suhi pripravak rogača) sadržavalo je manju količinu masti i nižu razinu kolesterola u uzorku u odnosu na meso prasadi iz skupine K.

**Tablica 11.** Kemijski sastav 100 g uzoraka mesa pokusne prasadi tijekom 6 tjedana trajanja pokusa (- kontrolna skupina prasadi (skupina K); pokusna skupina prasadi (skupina P - prasad hranjenja uz dodatak rogača).

	Skupina A (kontrola)	Skupina B (pripravak suhog rogača)
Voda (%)	79,1	79,3
Ukupne bjelančevine (%)	16,12	16,27
Ukupne masti (%)	65,0	59,6
Ukupni pepeo (%)	1,27	1,19
Kolesterol (mg/100 g)	82,4	76,3

## **6. RASPRAVA**

Danas je u Republici Hrvatskoj brojno stanje svinja nezadovoljavajuće, iako je tradicija svinjogojske proizvodnje vrlo duga te ujedno i jedna od najvažnijih grana poljoprivredne proizvodnje. Prema podacima koje je objavila Glavna uprava za poljoprivredu i ruralni razvoj Europske unije za 2022. godinu (The Commission's Directorate-General for Agriculture and Rural Development) broj krmača u Republici Hrvatskoj za kalendarsku godinu 2022. je za 13,5 posto manji u odnosu na prethodnu godinu (dostupno na: [https://commission.europa.eu/about-european-commission/departments-and-executive-agencies/agriculture-and-rural-development\\_hr](https://commission.europa.eu/about-european-commission/departments-and-executive-agencies/agriculture-and-rural-development_hr)). Navedeno proizlazi prije svega iz situacije tržišne nestabilnosti, odnosno nekontroliranog uvoza svinjskog mesa zbog čega dolazi do stagnacije i/ili prestanka proizvodnje, i to većinom u okviru manjih proizvodnih jedinica. Također, unatoč ogromnim poticajima i ulaganjima u poljoprivredu, svinjogojska proizvodnja u Republici Hrvatskoj suočena je i s problemima uzrokovanim pandemijom bolesti COVID-19, ratom u Ukrajini i pojasu Gaze te visokim cijenama stočne hrane i energije. Nadalje, pojava afričke svinjske kuge dodatno je pridonijela poremećaju i strahu od desetkovanja stočnog fonda u svinjogojstvu Republike Hrvatske, što je ujedno i velik izazov prilagodbi proizvodnje na nove ekološke standarde. Tako društveno ekonomske i socijalne promjene, odnosno ekološke ugroze, i na globalnoj i na nacionalnoj razini, postavljajući kriterije održivog stočarenja, usmjeravaju svinjogojsku proizvodnju prema znatnim promjenama, i to u okviru provedbe tehnoloških procesa, ali i same organizacije. Naime, MARGETA i sur. (2022.) napominju da u bliskoj budućnosti, u okviru preduvjeta ekonomske dobrobiti i dobiti, svinjogojska se proizvodnja više neće moći oslanjati samo na proizvodnju životinja, odnosno svinjskog mesa i proizvoda, već će se morati početi razvijati i tržišno dokazivati temeljem strategija za održivi razvoj, zaštite okoliša, čistoće proizvodnje, ekološke svijesti potrošača, visokog stupanja finalizacije krajnjih proizvoda te ponovne uporabe biootpada. Sve je to navedeno u okviru strateških smjernica Europske unije, odnosno u dokumentu Zeleni plan (Green Deal) (dostupno na: [https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/europeangreen-deal\\_hr](https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/europeangreen-deal_hr)). Također, za unapređenje svinjogojske proizvodnje vrlo je važan i dokument o Europskom akcijskom planu borbe protiv antimikrobne otpornosti „*Jedno zdravlje*“, koji je usvojen u Strasbourgu 2018. godine. Nadalje, neizostavan su doprinos napretku suvremenog svinjogojstva i brojne druge smjernice Europske unije (engl. European Union), Svjetske

zdravstvene organizacije (engl. World Health Organization, WHO), Saveza veterinara Europe pri Europskoj agenciji za lijekove (engl. European Medicines Agency, EMA) i Europske agencije za sigurnost hrane (engl. European Food Safety Authority, EFSA) koji zajedno reguliraju uporabu medicinski važnih antimikrobnih sredstava u životinja koje se koriste za proizvodnju hrane (MENČIK i sur., 2022.).

Danas je u suvremenom svinjogojstvu odbiće i dalje glavni kritični period uzgoja svinja. Nezreo imunostni sustav, stres povezan s odvajanjem od majke te promjene u hranidbi i okolišu nepovoljno utječu na endokrine funkcije, rast i dobrobit odbijene prasadi. Svi ti čimbenici u prasadi mogu dovesti do crijevnih disfunkcija zbog proliferacije patogenih bakterija (*E. coli*) i upale sluznice, što rezultira smanjenjem probavnih svojstava, odnosno smanjenjem apsorpcije hranjivih tvari, znatnog zastoja u rastu te velikih ekonomskih gubitaka zbog povećane podložnosti infekcijama, posebice probavnih poremećaja i proljeva (LÓPEZ-COLOM i sur., 2019.). Prevencija i kontrola proljeva povezanih s odbićem posljednjih se desetljeća održavala uporabom antibiotika i metala (poput bakra) uklopljenih u hranu. Povećana otpornost bakterija na antibiotike i ekološki problemi povezani s uporabom visokih razina bakra i cinka u hrani doveli su i do njihove zabrane. Naime, u suvremenoj proizvodnji životinja od 1. siječnja 2006. godine u Europskoj uniji temeljem EU uredbe br. 355/2003 od 20. veljače 2003. godine zabranjeni su antibiotici kao poticatelji rasta u hrani za životinje, i to zbog opasnosti njihove uporabe i/ili zlouporabe za zdravlje i životinja i ljudi. Tako je i od 1. srpnja. 2013. godine i u Republici Hrvatskoj zabranjena njihova neklinička uporaba u proizvodnji životinja namijenjenih ljudskoj prehrani (VILIBIĆ-ČAVLEK i sur., 2022.). Međutim, povlačenje APR-a iz hrane za odbijenike uzrokovalo je slabiju iskoristivost hrane, smanjenje proizvodnosti, ali i porast obolijevanja, pa i smrtnosti životinja (VINCE i sur., 2022.). Stoga, od interesa je za veterinarsku medicinu utvrđivanje znanstveno utemeljenih i inovativnih alternativnih strategija održivih metoda kontrola stresnih činitelja za zdravlje životinja, pa tako i odbijenika, u odgovarajućim sustavima hranidbe koji moraju funkcionirati bez dodataka antibiotskih poticatelja rasta. Upravo je zato važno sastaviti recepture dnevnih obroka koje će zaštititi zdravlje odbijenika, podignuti njihovu proizvodnost i poboljšati njihovu klaoničku kvalitetu te ujedno biti i ekonomski isplative. Tako današnja istraživanja sve više prepoznaju utjecaj nutritivne modulacije na zdravlje i proizvodnost odbijenika, poput poboljšanog unosa hrane, bolje probavljivosti i

apsorpcije hranjivih tvari, smanjenja oksidacijskog stresa, modulacije imunosnog sustava te modeliranja sastava crijevne mikrobiote. Pritom se sve više prepoznaje kao dobra alternativa antibiotskim poticateljima rasta dodatak probiotika, prebiotika i sinbiotika u krmnim smjesama čime se postiže dobra produktivnost odbijenika, smanjeni troškovi hrane, povećana hranjiva vrijednost i higijenska sigurnost proizvedene hrane, a sve u cilju potpunije zaštite okoliša (ŠPIRANEC i sur., 2013.; ŠPOLJARIĆ i sur., 2015.; STOLIĆ i sur., 2019.; JUHÁSZ, i sur., 2023.). Prethodno potvrđuju u najnovijim istraživanjima AYAD i sur. (2024.) koji preporučuju umješavanje pripravka rogača u hranu za čovjeka ali i životinje i to sve u cilju razvoja funkcionalne hrane.

Na osnovi činjenice da je rogač uvršten u EU registar (dodataka hrani za sve vrste životinja (EU direktiva 85/429/EEC, dostupno na: <https://ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/feed-additives/search/details/POL-FEED-IMPORT-251>) i dostupnih literaturnih podataka o njegovim biološkim svojstvima (BAMPIDIS i sur., 2022.), u okviru provedenih istraživanja, provjerili smo i definirali njegov mogući modulacijski potencijal kao funkcionalnog dodatka krmnim smjesama u dnevnom obroku prasadi u dobi od 26 do 70 dana. Iz istraživanja drugih autora možemo zaključiti da je plod rogača zbog bogatog sastava bioaktivnih supstancija u svom sastavu obećavajući funkcionalni i nutraceutski dodatak stočnoj hrani za životinje (IOANNOU i sur., 2023.). Njegove blagotvorne učinke opisuju brojni autori (AISSANI i sur., 2012.; BOUBLENZIA i sur., 2019.; PILUZZA i sur. 2020; JUHÁSZ, i sur., 2023.), što su potvrdili i rezultati naših istraživanja. ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.) za pripravak sorte rogača narodnog imena *komiški Veliki*, podrijetlom iz uzgoja PZ KOMIŽA, Komiža, otok Vis, sorte i izvora kojeg smo i mi testirali u ovom istraživanju, zabilježili su znatan antioksidacijski potencijal temeljem kojeg su ga preporučili kao prirodan izvor biološki aktivnih tvari koji se može koristiti u ishrani prasadi. Njihovi su rezultati pokazali da pripravak rogača, testiran i u našim istraživanjima, ima snažnu antioksidacijsku aktivnost prema difenil-1-pikrilhidrazilu (DPPH) od  $56,87 \pm 0,66 \mu\text{mol TE/g}$  uzorka (TE – ekvivalent troloksa /vodotopljivi analog vitamina E/) koja je i statistički značajno korelirala s njegovim vrlo bogatim sadržajem ukupnih fenola ( $9,98 \pm 0,18 \text{ mg GAE/g}$  u suhoj tvar) i flavonoida ( $6,56 \pm 0,19 \text{ mg GAE/g}$  u suhoj tvari) (GEA – ekvivalent galne kiseline). Naši rezultati kemijskih analiza potvrdili su vrlo visok sadržaj ukupnih fenola u testiranom pripravku rogača, čija je vrijednost u skladu s istraživanjima ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.). DJEBARI i sur. (2024.) opisuju da

fenolni spojevi posjeduju širok raspon bioloških aktivnosti poput: antioksidativno, antimikrobno, protuupalno, antitumorsko, antikancerogeno, antilipidemska i neuroprotektivno djelovanje. Tako, iz istraživanja drugih autora možemo zaključiti da umješavanje u hranu bioloških pripravaka, poput rogača, bogatih fenolima, smanjuje oksidacijski stres hranjenih životinja, koje su onda boljeg zdravstvenog i proizvodnog statusa (VILAS-BOAS i sur., 2022.). U našim smo istraživanjima za testirani pripravak rogača utvrdili mikrobiološku ispravnost te dobre nutritivne i energetske vrijednosti koje su u skladu s rezultatima NASAR-ABBAS i sur. (2016.). Naime, u testiranom pripravku rogača zabilježili smo vrlo visoku koncentraciju sirovih vlakana (10,00 g u 100g/1000 g suhe tvari) i sirovih proteina (7,00 g u 100g/1000 g suhe tvari) što ga prema navodima KIŠA i sur. (2014.) zaista čini alternativnim krmivom za životinje u slučaju nedostatka žitarica. Iz istraživanja drugih autora također se može zaključiti da je rogač vrlo vrijedno krmivo za životinje zbog vrlo visokog sadržaja aminokiseline lizin (SIANO i sur., 2023.). Nadalje, SILANIKOVE i sur. (2006.) preporučuju da se pripravak sjemenke rogača zbog visokih udjela tanina (oko 15–20%) u dnevni obrok za životinje dodaje u udjelu ne većem od 5%. Pritom je važno napomenuti da visok sadržaj tanina ima protunutritivni učinak, odnosno smanjuje sposobnost probavljivosti proteina iz obroka (VILAS-BOAS i sur., 2022.). To potvrđuju i rezultati MARISCAL-LANDIN i sur. (2004.) koji su zabilježili smanjenje proizvodnih parametara odbijenika nakon umješavanja u dnevni obrok 6% rogača. Za pripravak testiran u ovom radu ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.) prethodno su utvrdili vrlo visok udio tanina ( $658,75 \pm 18,75 \mu\text{g TAE/g}$ ; TAE – ekvivalent taninske kiseline) što su potvrdili i naši rezultati. Stoga, u skladu s prethodno navedenim, tijekom našeg istraživanja u dnevni obrok za prasid umješavali smo svega 4% rogača, pri čemu dobiveni rezultati njihove proizvodnosti nisu bili u skladu s rezultatima MARISCAL-LANDIN i sur. (2004.). Promatrajući utjecaj testiranog pripravka na proizvodne pokazatelje, izravno smo mjerili/izračunavali (unos hrane, prirast tjelesne mase i konverziju) za svu pokusnu prasid istodobno, u tjednim razmacima prema planu pokusa. Utvrdili smo da prasidi iz skupine P (hranjena uz dodatak 4% rogača) ima bolji prosječni dnevni unos hrane (+9,7%), veći prosječni dnevni prirast tjelesne mase (+21,4%), statistički značajno veću prosječnu tjelesnu masu na kraju istraživanog razdoblja (+14,8% u odnosu na kontrolu ) te bolju iskoristivost hrane (konverzija) (-12,7%) od one u kontrolne prasidi. Poboljšanje iskoristivosti hrane moglo bi biti posljedica stimulacije



želučane sekrecije i aktivnosti žlijezda slinovnica, što smanjuje broj patogenih mikroorganizama te općenito smanjuje mikrobnu fermentaciju u crijevu poboljšavajući pritom probavni i resorptivni kapacitet crijeva odbijenika (JUHÁSZ, i sur., 2023.). Slične rezultate, ali na modelu ribe tilapija (*Oreochromis niloticus*), KISHAWY i sur. (2020.) pripisuju visokom udjelu manana u pripravku rogača koji su umješavali u dnevni obrok. Sličan trend, primijećen i u našim istraživanjima, mogao bi biti povezan s prethodno utvrđenim visokim udjelom galaktomanana u pripravku rogača (41,5 g u 100 g suhe tvari) koji smo umješavali u hranu (SREČEC i MILIĆEVIĆ BRADAČ, 2020.). Nadalje, s obzirom na to da su proizvodni pokazatelji u izravnoj vezi s pokazateljima zdravlja, posebice s zdravljem probavnog sustava, zajednički smo ih procjenjivali temeljem pojavnosti, ozbiljnosti i jačine proljeva u životinja, a prema ranije opisanom stupnjevanju i izračunu (ŽDERIĆ SAVATOVIĆ i sur., 2023.). Tako smo zabilježili da je u kontrolnoj skupini tijekom cijelog pokusa 13 prasadi imalo proljev umjerene jačine, izuzev 13. dana pokusa kada je za troje prasadi istodobno utvrđena umjerena jačina proljeva. U istom pokusnom razdoblju u skupini prasadi hranjene uz dodatak pripravka rogača primijetili smo da su samo dvije životinje razvile proljev u trajanju od jednog (jedna životinja 15. dana pokusa) do dva dana (jedna životinja 12. i 13. dana pokusa) normalne jačine. Temeljem navedenog u prasadi skupine kojoj je u dnevni obrok umješavan pripravak rogača zabilježili smo manju prosječnu ozbiljnost proljeva za 90,44% 14. dana pokusa, odnosno za 90% 28. dana pokusa u odnosu na kontrolnu prasad. Prethodno opisani protuproljevni učinak rogača potvrđuje tvrdnje drugih autora koji smatraju da je rogač dobar stabilizator probave zahvaljujući sadržaju tanina, pektina i lignina (BOUBLENZA i sur., 2019.; PILUZZA i sur. 2020.; AISSANI i sur., 2021.). Za tanine iz rogača uvrđeno je da djeluju adstringentno na sluznicu crijeva, odnosno da vežu toksine i bakterije (JUHÁSZ, i sur., 2023.). Adstringentno se djelovanje pojavljuje uslijed reakcije taloženja proteina pomoću treslovina, zbog čega dolazi do stvaranja zaštitnog polisaharidnog sloja na sluznici koju potom oblaže sluz, te se tako smanjuju podražaji u crijevima (BOUBLENZA i sur., 2019.; PILUZZA i sur. 2020.; AISSANI i sur., 2021.). LIU i sur. (2014.) u *in vivo* i *in vitro* uvjetima istraživanja dokazali su da tanini inhibiraju PKA/p-CREB put (put protein-kinaza – protein koji veže element odgovora cikličkog adenozin-monofosfata) te posljedično i ekspresiju akvaporina 2 i 3 koji kontroliraju prijenos vode unutar stanica (VLASIOS i sur., 2016.). Nadalje, OH i sur. (2021.) opisuju da mineral

cink ima vrlo značajnu ulogu u razvoju i održavanju zdravlja probavnog trakta u odbijenika kojem su u ovom radu testiranom rogaču SREČEC i MILIĆEVIĆ BRADAČ (2020.) u prethodnim istraživanjima utvrdili sadržaj od 7-8,5 µg/g. Iz dobivenih naših rezultata, koji su suprotni navodima VILAS-BOAS i sur. (2022.), možemo zaključiti da je rogač dodan u koncentraciji od 4% u dnevni obrok optimalnog sadržaja tanina i cinka koji djeluju kao promotori zdravstvenog stanja hranjenih odbijenika.

U uvjetima farmskih pokusa logično je za očekivati izloženost prasadi uzročnicima prirodnih infekcija crijevnih bolesti, osobito patogenim ETEC sojevima. Analizom crijevne mikropopulacije pokazali smo da u prasadi hranjene uz dodatak pripravka rogača tijekom cijelog pokusa nije dokazana prisutnost patogenog soja bakterije *E. coli* niti bakterije *Salmonella* sp. Dobiveni su rezultati u skladu s rezultatima *in vitro* istraživanja VLASIOS i sur., (2016.) koji smatraju da 2%-tna otopina rogača blokira hemaglutinaciju i adheziju *E. coli* na izoliranim crijevnim epitelnim stanicama. Istraživanje JUHÁSZ i sur. (2023.) opisuje da se zbog bolje iskoristivosti hrane pojačava želučana sekrecija i aktivnost žlijezda slinovnica zbog čega se smanjuje broj patogenih mikroorganizama u crijevu. Sličan smo trend primijetili i u našem istraživanju. Naime, 42. dana pokusa u tretirane prasadi zabilježili smo za 12,7% bolju konverziju te znatno niži ukupni broj bakterija u crijevu ( $10^{-4}$  CFU/mL) u odnosu na netretiranu prasadi, što dodatno upućuje na zaključak da istraživani pripravak rogača ima važnu ulogu u održavanju zdravstvenog, ali i proizvodnog statusa domaćina. Iz istraživanja drugih autora može se zaključiti da rogač poput prebiotika, zahvaljujući visokom sadržaju ugljikohidrata koji su supstrat za crijevni mikrobiom, dodan u hranu za svinje je dobra alternativa APR-ima (JUHÁSZ i sur., 2023.). Temeljem literaturnih podataka, prebiotici, poput pulpe rogača i cikorijske, uglavnom su složeni ugljikohidrati koji kao dodaci hrani, bogati polifenolima, odnosno taninima, snižavaju udjele lipida i kolesterola u krvi i mesu hranjenih životinja (MAHFUZ et al., 2021.; JUHÁSZ, i sur., 2023.). Slične smo rezultate zabilježili i u našim istraživanjima, koji su pokazali da rogač u mesu ima sposobnost snižavanja masti (za 8,31%) i kolesterola (za 7,4%). Dobiveni rezultati odgovaraju rezultatima MAHMOUDI i sur. (2022.) koji su također dobili snižene koncentracije masti i kolesterola, ali u mesu brojlera hranjenih 42 dana uz dodatak pripravka rogača u dnevni obrok u koncentraciji od 3 do 7%. Nadalje, i na osnovi zabilježenih udjela vode, bjelancevina, masti i pepela u mesu tretirane prasadi možemo zaključiti da se ono odlikuje

niskom energetsom vrijednosti te se ono kao takvim može smatrati povoljnim dijetetskim proizvodom namijenjenim za ljudsku prehranu, što je u skladu s KRALIK i sur. (2008.).

U našim smo istraživanjima primijetili i snižene udjele triglicerida (37,5%), kolesterola (22,7%) i glukoze (3,7%) u serumu tretirane prasadi u odnosu na kontrolnu prasadu. Opisani rezultati ne iznenađuju jer pripravak testiran u ovim istraživanjima sadržava vrlo visoke vrijednosti za ukupne polifenole ( $9,98 \pm 0,18$  mg GAE/g u suhoj tvar) za koje su brojni autori opisali protudijabetički učinak (ŠPOLJARIĆ i sur., 2019.; GARCÍA-DÍEZ i sur., 2022.). Naši rezultati su u suglasju s rezultatima SIANO i sur. (2023.) koji su također primijetili niže koncentracije serumske glukoze uslijed inhibicije enzima  $\alpha$ -amliaze svinjske gušterače i  $\alpha$ -glikozidaze tankog crijeva u svinja hranjenih uz dodatak rogača. Prema sličnim istraživanjima koje je proveo AZAB (2022.), ali na modelu štakora i majmuna, smanjeni udjeli glukoze, kolesterola i triglicerida u serumu tretirane prasadi mogli bi se pripisati sadržaju ciklitolu, odnosno D-pinitolu iz rogača.

Nadalje, za ostale praćene biokemijske parametre u ovom istraživanju možemo reći da smo utvrdili samo fiziološke oscilacije tijekom pokusa, odnosno da su sve zabilježene promjene bile unutar raspona normalnih (referentnih) vrijednosti za domaću svinju (KANEKO i sur., 1997.; COOPER i sur., 2014.). Opće zdravstveno stanje prasadi procjenjivali smo praćenjem i odabranih hematoloških parametara čije su zabilježene vrijednosti bile unutar fizioloških raspona za svinje u tovu, što je u skladu s opisanim rezultatima tijekom prethodnih istraživanja ŽDERIĆ SAVATOVIĆ i sur. (2017.). Naime, s obzirom na to da pripravak rogača nije znatnije utjecao na hematološke pokazatelje zdravstvenog stanja tretirane prasadi, odnosno na njihove na hemograme i eritrocitne konstante, smatramo da ne izaziva štetne popratne pojave.

Pri procjeni zdravstvenog stanja životinje vrlo je važna i procjena njezina imunosnog statusa. U našim smo istraživanjima za testirani pripravak rogača zabilježili i imunostimulacijski učinak koji bi mogao biti povezan s njegovim sadržajem farmakološko bioaktivnih tvari čiji su učinci važni za regulaciju imunosnog sustava. Naime, utvrdili smo u testiranom pripravku vrlo visok sadržaj prehrambenih vlakana (10,00 g u 100 g/1000 g suhe tvari), polisaharida (11,00 g u 100 g/1000 g suhe tvari) te polifenola ( $9,98 \pm 0,18$  mg GAE/g u suhoj tvar) za koje se u literaturi opisuje imunostimulacijska aktivnost (KAO i sur., 2013.; AISSA i sur., 2021.; ZHAN i sur.,

2024.). Nadalje, u novijoj literaturi za flavonoide rogača, poput hesperidina, apigenina, luteolina i kvarcetina, pripisuje se pozitivan utjecaj na funkcije imunskih stanica kao što su B-stanice, T-stanice, makrofagi, neutrofili, bazofili i mastociti (MARTÍNEZ i sur., 2019.; CAPCANARI i sur., 2022.). Također, CAPCANARI i sur. (2022.) naglašavaju da je i cink iznimno važan za funkciju imunskog sustava, čiji je sadržaj u rogaču vrlo visok. Poznato je da bioaktivne tvari velike molekularne mase u okviru egzogene imunostimulacije ponajprije potiču stimulaciju nespecifične ili urođene imunosti, čiji su glavni stanični elementi monociti/makrofagi, neutrofilni granulociti, NK stanice i  $\gamma\delta$  TCR+ T limfociti. Stoga smo u našim istraživanjima posebno provjerili utjecaj pripravka rogača na neutrofilne granulocite, monocite, proteine akutne faze i ukupne imunoglobuline. YILMAZ i sur. (2018.) u svojim su istraživanjima zabilježili povećanu fagocitnu aktivnost te sposobnost razgradnje fagocitnih tvari u riba hranjenih pripravkom rogača. Iako su istraživanja utvrđena na drugom pokusnom modelu u odnosu na naša istraživanja i kao takva ih je teško uspoređivati, ali s obzirom na pozitivnu aktivnost u skladu su s našim istraživanjima. Naime, iako smo utvrdili veću sposobnost fagocitoze i viši indeks ingestije granulocita od 14. do 28. dana pokusa u tretirane prasadi, na kraju istraživačkog razdoblja granulocitna se fagocitna i mikrobicidna sposobnost nije znatno razlikovala između pokusnih i kontrolne skupine. Ovi rezultati mogu biti također indikatori za procjenu zdravlja probavnog sustava prasadi ako se promatraju zajedno s histopatološkim pokazateljima i rezultatima bakterioloških pretraga obrisaka sluznica rektuma prasadi hranjene uz dodatak pripravka rogača. Naime, još su davne 1974. godine BELLAMY i NIELSEN opisali da neutrofilni granulociti zbog inokulacije crijeva bakterijskim stanicama migriraju kroz epitel sluznice crijeva u lumen te svojom mikrobicidnom sposobnošću štite sluznicu crijeva fagocitozom ili otpuštanjem lizosomnog sadržaja s lizozimom i laktoferinom. Nadalje, na kraju istraživačkog razdoblja, u prasadi tretirane pripravkom rogača monociti su zamjetno bolje fagocitirali (+14,1% u odnosu na kontrolu), imali viši indeks ingestije (+13,07% u odnosu na kontrolu) i veću sposobnost mikrobicidnosti (+11,8% u odnosu na kontrolu). Potom, iako smo od 28. do 42 dana pokusa zabilježili za u prosjeku 39% povišene ukupne imunoglobuline u tretirane prasadi u odnosu na netretiranu prasadu, zabilježeno je bilo unutar raspona normalnih (referentnih) vrijednosti za odbijenu prasadu (FRIENDSHIP i sur., 1984.), odnosno za domaći svinju (THORN, 2000.). S obzirom na to da smo u

dostupnoj literaturi pronašli samo podatke o učinku pripravka rogača na kinetiku promjena udjela CD45<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i CD21<sup>+</sup> limfoidnih stanica periferne krvi prasadi koje su objavili ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.), nismo mogli sasvim objektivno uspoređivati naše podatke niti u potpunosti vrednovati njihovo značenje. Međutim, rezultati su indikativni i pokazuju da smo uporabom pripravka rogača u našem istraživanju vrlo vjerojatno postigli optimalnu razinu imunosne reaktivnosti, koja nije negativno utjecala na rast, unos hrane i konverziju, već naprotiv, unaprijedila je proizvodnost i zdravlje pokusne prasadi. Nadalje, VERDONCK i sur. (2008.) napominju da u životinja uspostavljanje trajnijeg i jačeg imunosnog odgovora može umanjiti prirast i iskoristivost hrane uzrokujući pritom velike gubitke u proizvodnosti, što nije u skladu s našim rezultatima. Naime, prasad hranjena dodatkom pripravka rogača imala je na kraju pokusa veću tjelesnu masu u odnosu na kontrolnu prasad u prosjeku za 17,3 %. Također, na kraju pokusa prasad koja je bila hranjena dodatkom istraživanog pripravka rogača u perifernoj krvi imala je veći udio limfoidnih stanica u usporedbi s prasadi iz kontrolne skupine, i to za: 18,3% CD45<sup>+</sup>, 27,7% CD4<sup>+</sup>, 20,5% CD8<sup>+</sup>, 22,1% CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> i 21,2% CD21<sup>+</sup>. Blaga odstupanja od dobivenih vrijednosti u odnosu na vrijednosti koje su objavili ŠPOLJARIĆ i sur. (2019.) treba promatrati u kontekstu različitosti uvjeta držanja, odnosno činitelja okoliša, ali i samog načina hranjenja.

Faza akutnog odgovora (FAO) rani je obrambeni sustav organizma protiv raznih uzroka, prije nego što se aktiviraju ili razviju specifične adaptivne ili imunosne reakcije. Jedna je od ključnih značajki pojačana ili, rjeđe, smanjena regulacija sinteze određenog broja proteina plazme u jetri. Kvalitativnim i kvantitativnim podacima o tim proteinima akutne faze (PAF) nedostaje specifičnost za identifikaciju bilo kojeg specifičnog stresnog/traumatskog/upalnog stanja, ali kao ključni biološki biljezi adaptivne reakcije oni pridonose njezinu prepoznavanju i onda su iznimno korisni za praćenje. Danas se PAF opisuje ne samo kao pokazatelj vrednovanja izloženosti imunosnim poremećajima, stresorima, toksinima, supkliničkim infekcijama, ozljedama tkiva, nego i kao relevantan parametar procjene zdravlja i dobrobiti životinja, a time i njihove proizvodnosti (SACO i BASSOLS, 2022.). Naime, PAF-ovi su elementi zaštite nespecifičnog imunosnog odgovora na upalu, odnosno na otpuštanje upalnih medijatora u cirkulaciju. Nadalje, sintetizira ih jetra kao odgovor na protuupalne citokine, pri čemu njihove koncentracije u plazmi mogu rasti ili padati (pozitivni ili negativni PAF). Promjene u koncentraciji PAF-

a kao sastavnica urođene imunosti posredovane citokinima, kao što su IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$ , u domaćina sprječava daljnje oštećenje tkiva, izolira i uništava infektivne patogene i aktivira procese popravka. Slično većini drugih sisavaca, i u svinja su glavni pozitivni PAF-ovi (povišena koncentracija u upali) CRP, serumski amiloid A (SAA) i HpG. Osim toga, posebno je za svinju izražena regulacija inhibitora inter- $\alpha$ -tripsina teškog lanca H4 (ITIH4), koji se prije nazivao glavnim proteinom akutne upalne faze (engl. *pig major acute phase protein*, pig-MAP). Negativni proteini akutne faze (snižena koncentracija u upali) jesu apolipoprotein A-I (ApoA-I) i albumin (MILLER I GIANAZZA, 2023.). Utvrđeno je da se stupanj regulacije razlikuje ovisno o vrsti uzročnika infekcije ili vanjskom utjecaju (transport, smještaj, hranjenje) ili fiziološkom stanju (odbijanje, trudnoća, prašenje). Tako LÓPEZ-COLOM i sur. (2019.) opisuju da su proteini akutne faze kod odbijenika vrlo korisni neinvazivni upalni biomarkeri za procjenu gastrointestinalnog oštećenja u prasadi oboljele od probavnih bakterijskih infekcija. Od istraživanih najvažnijih PAF-ova prasadi kao pokazatelja zdravlja i dobrobiti, a time i proizvodnosti, u odnosu na netretiranu prasadi, u prasadi tretirane pripravkom rogača zabilježili smo pad razine HpG-a 14., 28. i 42. (0,27–0,31 g/L) koje su bile unutar raspona normalnih vrijednosti za odbijenu prasadi (HISS i sur., 2003.). Nadalje, testirani pripravak rogača u prasadi nije izazvao porast koncentracije CRP-a u serumu. Naime, tijekom istraživačkog razdoblja zabilježili smo trend rasta razine CRP-a i HpG-a u netretirane prasadi prema kraju pokusa, dok smo u tretirane prasadi zabilježili trend pada. Suprotno našim rezultatima BADIA i sur. (2012.) u prasadi hranjenih uz dodatak rogača u koncentraciji od 5% tijekom 4 tjedna zabilježili su pad CRP-a. Temeljem dobivenih rezultata za PAF-ove istraživane u ovom radu možemo zaključiti da prasadi hranjena uz dodatak rogača nije bila izložena infekciji ili stresu niti da je bila u akutnoj fazi imunskog odgovora, što je rezultiralo održavanjem dobrog zdravlja njihova probavnog sustava, kao i njihova općeg zdravstvenog statusa. Nadalje, prema navodima MILLER I GIANAZZA (2023.), tijekom odgovora akutne faze jetra smanjuje proizvodnju albumina u prosjeku za oko 10–30% u korist proizvodnje pozitivnog PAF-a, što je u skladu s rezultatima dobivenima u našim istraživanjima. Naime, na kraju istraživačkog razdoblja u prasadi tretirane pripravkom rogača zabilježili smo pad koncentracije albumina za 31% u odnosu na kontrolnu prasadi.

Razmatrajući imunosne i proizvodne pokazatelje zabilježene u našem istraživanju, vrlo je vjerojatno da smo uporabom pripravka rogača postigli optimalnu razinu stanične i humoralne imunosne reaktivnosti, što nije negativno utjecalo na rast, unos hrane i iskoristivost hrane, već naprotiv, unaprijedilo je proizvodnost i zdravlje pokusne prasadi. Dobiveni bi rezultati osim toga mogli poslužiti kao model za nespecifičnu imunoprofilaksu u intenzivnoj svinjogojskoj proizvodnji uporabom tvari poput pripravka rogača, koja ima osobitosti i nutraceutika i imunomodulatora, a ti bi rezultati mogli biti važni i u širem kontekstu preventivne veterinarske medicine i animalne proizvodnje.

## **7. ZAKLJUČCI**



S obzirom na brojnost istraživanih pokazatelja i množinu podataka dobivenih u ovom radu, stekli smo dobar uvid, kako u potencijale, tako i u ograničenja istraživanog pripravaka rogača kao prirodne alternative antibiotskim poticateljima rasta u hrani za odbijenike. Temeljem prikazanih rezultata možemo zaključiti da je dodatak pripravka rogača u koncentraciji od 4 % u dnevni obrok tijekom 6 tjedana:

- pozitivno djelovao na završne mase i na intenzitet rasta odbijenika u pokusu;
- pozitivno djelovao na unos hrane odbijenika;
- pozitivno djelovao na konverziju, odnosno na pretvorbu hrane u jedinicu prirasta;
- djelovao na pojavnost klinički vrlo blage prosječne ozbiljnosti proljeva te nije uzrokovao smrtnost tretiranih odbijenika u odnosu na netretiranu skupinu odbijenika;
- djelovao na smanjenje ukupnog broja bakterija u probavnom traktu hranjenih odbijenika, odnosno na odsutnost patogenih sojeva bakterije *E. coli* i bakterije *Salmonella sp.*;
- pozitivno djelovao na održavanje poželjne ravnoteže crijevnih bakterija u hranjenih odbijenika;
- poboljšao hemogram i eritrocitne konstante te konstante biokemijskih parametara unutar fizioloških raspona za dobnu kategoriju vrste svinja što pokazuje da nije izazvao štetne popratne pojave;
- doprinio sniženju razine CRP-a i HpG-a u tetretirane prasadi;
- doprinio sniženju udjela triglicerida i kolesterola u serumu hranjenih odbijenika;
- doprinio sniženju udjela ukupnih masti i kolesterola u mesu hranjenih odbijenika;
- znatno stimulirao porast brojnosti CD45<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i CD21<sup>+</sup> limfoidnih stanica u perifernoj krvi tretiranih odbijenika;
- pozitivno djelovao na fagozitozu i mikrobicidnost granulocita i monocita hranjenih odbijenika.
- uzevši u obzir sve promatrane parametre ovog istraživanja slobodni smo zaključiti da je pripravak rogača umješan u hranu za odbijenike djelotvoran i nutraceutik i imunomodulator, odnosno da ima zaštitni učinak na zdravlje te pozitivni učinak na proizvodnost i kvalitetu mesa hranjene prasadi.

## **8. POPIS LITERATURE**

1. AISSANI, A., I. CHAKROUN, R. REJEB, M. H. AYED (2021): Effect of partial dietary substitution of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) to barley grains on diet digestibility in growing rabbits. *J. New Sci.* 79, 4580-4585.
2. AISSANI, N., V. CORONEO, S. FATTOUCH, P. CABONI (2012): Inhibitory effect of carob (*Ceratonia siliqua*) leaves methanolic extract on *Listeria monocytogenes*. *J. Agricul. Food Chem.* 60, 9954–9958.
3. AYAD, R., AYAD R., ZINEDDINE L., BERGHI N. H. (2024): Algerian wild green carob (*Ceratonia Siliqua* L.): physicochemical characteristics and antioxidant. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 38, 187-198. DOI:10.4314/bcse.v38i1.14.
4. ÁKOS, J., V. MOLNÁR-NAGY, Z. BATA, K. H. TSO, K. POSTA (2023): Phytobiotic-Prebiotic Feed Additive Containing a Combination of Carob Pulp, Chicory, and Fenugreek Improve Growth Performance, Carcass Traits, and Fecal Microbiota of Fattening Pigs. *Animal*, 13; 3621. DOI:10.3390/ani13233621.
5. ANDRIŠIĆ, M., I. ŽARKOVIĆ, K. ŠANDOR, A. VUJNOVIĆ, E. PERAK JUNAKOVIĆ, H. VALPOTIĆ, K. BENDELJA, Ž. CVETIĆ, F. BOŽIĆ, S. TERZIĆ (2022): Phenotype analysis of CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> lymphocytes in the peripheral blood of pigs. *Vet. st.* 51,|117-128.
6. ANONYMOUS (2019): Strategy of europeangreen. [https://commission.europa.eu/strategy/priorities-2019-2024/europeangreen-deal\\_hr](https://commission.europa.eu/strategy/priorities-2019-2024/europeangreen-deal_hr). Zadnji pristup 13. travnja 2023.
7. ANONYMOUS (2020): Guide to Pig Diarrhea Poster. <https://www.alltech.com/> Zadnji pristup 5. prosinca 2023.
8. ANONYMOUS (2022): Poljoprivreda i ruralni razvoj. [https://commission.europa.eu/about-european-commission/departments-and-executive-agencies/agriculture-and-rural-development\\_hr](https://commission.europa.eu/about-european-commission/departments-and-executive-agencies/agriculture-and-rural-development_hr). Zadnji pristup 23. rujna 2023.
9. AGUIRRE-GAMBOA, R., I. JOOSTEN, P. C. M. URBANO, R. G. van der MOLEN, E. van RIJSSEN E, B. van CRANENBROEK, M. OOSTING, S. SMEEKENS, M. JAEGER, M. ZORRO, S. WITHOFF, A. E VAN HERWAARDEN, F. C. G. J. SWEEP, R. T. NETEA, M. A. SWERTZ, L. FRANKE, R. J. XAVIER, L. A. B. JOOSTEN, M. G. NETEA, C. WIJMENGA, V. KUMAR, Y. LI, H. J. P. M.

- KOENEN (2016). Differential effects of environmental and genetic factors on T and B cell immune traits. *Cell Rep.* 17, 2474–87. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.10.053.
10. AURAY, G., S. C. TALKER, I. KELLER, S. PYTHON, M. GERBER, M. LINIGER, L. GANGES, R. BRUGGMANN, N. RUGGLI, A. SUMMERFIELD (2020): High-Resolution Profiling of Innate Immune Responses by Porcine Dendritic Cell Subsets *in vitro* and *in vivo*. *Front. Immunol.* 11. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01429.
  11. AZAB, A. (2022): D-Pinitol- active natural product from Carob with notable insulin regulation. *Nutrients.*14, 1453. DOI: 10.3390/nu14071453.
  12. AWUCHIA, C. G., C. O. R. OKPALA (2022): Natural nutraceuticals, especially functional foods, their major bioactive components, formulation, and health benefits for disease prevention: an overview. *J. Food Bioact.* 19, 97-123. DOI: 10.31665/JFB.2022.18317.
  13. BADIA, R., R. LIZARDO, P. MARTINEZ, I. BADIOLA, J. BRUFAU (2012): The influence of dietary locust bean gum and live yeast on some digestive immunological parameters of piglets experimentally challenged with *Escherichia coli*. *J. Animal Sci.*, 90, 260 -262, DOI:10.2527/jas.53894.
  14. BAI, X. i G. S. PLASTOW (2022): Breeding for disease resilience: opportunities to manage polymicrobial challenge and improve commercial performance in the pig industry. *Agric. Biosci.* 6. DOI: 10.1186/S43170-022-00073-Y.
  15. BALENOVIĆ, M., V. SAVIĆ, Z. JANJEČIĆ, M. POPOVIĆ, B. ŠIMPRAGA, K. CAROVIĆ- STANKO, KLAUDIJA, D. BEDEKOVIĆ, T. AMŠEL ZELENIKA (2018): Immunomodulatory and antimicrobial effects of selected herbs on laying hens. *Vet. arhiv* 5; 673-686.
  16. BELLAMY, J. E., N. O. NIELSEN (1974): Immune-mediated emigration of neutrophils into the lumen of the small intestine. *Infect. Immun.* 9, 615-619.
  17. BALLESTER, M., Y. RAMAYO-CALDAS, O. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. PASCUAL, J. REIXACH, M. DÍAZ, B. F. S. LÓPEZ-SERRANO, T. JOAN, R. QUINTANILLA (2020): Genetic parameters and associated genomic regions for global immunocompetence and other health-related traits in pigs. *Sci. Repro.* 10:18462. DOI: 10.1038/s41598-020-75417-7.
  18. BALLESTER, M., T. JOVE-JUNCÀ, A. PASCUAL, S. LOPEZ-SERRANO, D. CRESPO-PIAZUELO, C. HERNANDEZ-BANQUE, O. GONZALEZ-

- RODRIGUEZ, Y. RAMAYO-CALDAS, R. QUINTANILLA (2023): Genetic architecture of innate and adaptive immune cells in pigs. *Front. Immunol.* 14. DOI:/10.3389/fimmu.2023.1058346.
19. BALLOU, M. A., E. M. DAVIS, B. A. KASL (2019): Nutraceuticals an alternative strategy for the use of antimicrobials. *Vet. Clin. Food Anim.* 35, 507–534. DOI:/10.1016/j.cvfa.2019.08.004.
20. BAMPIDIS, V., G. AZIMONTI, M. DE LOURDES BASTOS, H. CHRISTENSEN, B. DUSEMUND, M. FAŠMON DURJAVA, M. KOUBA, M. LOPEZ-ALONSO, S. LOPEZ PUENTE, F. MARCON, B. MAYO, A. PECHOVA, M. PETKOVA, F. RAMOS, Y. SANZ, R. EDOARDO VILLA, R. WOUTERSEN, P. BRANTOM, R. BROZZI, J. GALOBART, M. LORENZO INNOCENTI, M. VITTORIA VETTORI, A. AMADUZ (2022): Safety and efficacy of a feed additive consisting of locust bean gum for all animal species (Dupont Nutrition and Health). *EFSA J.* doi: 10.2903/j.efsa.2022.7435
21. BARAK, S., D. MUDGIL (2014): Locust bean gum: processing, properties and food applications--a review. *Int. J. Biol. Macromol.* 66, 74-80.
22. BASHARATA, Z., M. AFZAAL, F. SAEED, F. ISLAM, M. HUSSAIN, A. IKRAM, M. U. PERVAIZ, C. G. AWUCHI (2023): Nutritional and functional profile of carob bean (*Ceratonia siliqua*): a comprehensive review. *Int. J. Food Prop* 26, 389–413. DOI: 10.1080/10942912.2022.2164590
23. BAUMEL, A., P. MIRLEAU, J. VIRUEL, M.B.D. KHARRAT, S. LA MALFA, L. OUAHMAN, K. DIADEMA, M. MOAKHAR, H. SANGUIN, F. MÉDAIL (2018): Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (*Ceratonia siliqua*, *Fabaceae*) at the Mediterranean scale. *Plant Ecol. Evol.* 151,185–193.
24. BEAK, O., S. REN, A. BRUNSE, P. T. SANGILD, D. N. NGUYEN (2022): Impaired neonatal immunity and infection resistance following fetal growth restriction in preterm pigs. *Front. Immunol.* 11. DOI:10.3389/fimmu.2020.01808.
25. BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A., R. STOJANOVIĆ, V. MANOJLOVIĆ, D. KOMES, I. JURANOVIĆ CINDRIĆ, V. NEDOVIĆ, B. BUGARSKI (2011): Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate-chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Res. Int.* 44, 1094-1101. DOI:10.1016/j.foodres.2011.03.030.

26. BOUBLENZA, I., S. GHEZLAOUI, M. MAHDAD, F. VASAÏ, F. CHEMAT (2019): Algerian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations. Morphological and chemical variability of their fruits and seeds. *Sci. Horticult.* 256, 108 -137.
27. CAPCANARI, T., A. CHIRSANOVA, O. RADU, E. COVALIOV, V. POPOVICI, R. SIMINIUC (2022): Functional profile of carob (*Ceratonia siliqua* L.) beans and pod pulp originated from the Republic of Moldova. *C. J. F.Sci.* 40, 465–473.
28. COOPER, C. A., L. E. MORAES, J. D. MURRAY, S. D. OWENS (2014): Hematologic and biochemical reference intervals for specific pathogen free 6-week-old Hampshire-Yorkshire crossbred pigs. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 5, 5. DOI:10.1186/2049-1891-5-5.
29. DAWSON, H. D. I J. K. LUNNEY (2018): Porcine cluster of differentiation (CD) marker. *Res. Vet. Sci.* 118, 199-246. DOI:10.1016/j.rvsc.2018.02.007.
30. DELIĆ N., V. DRAŠKOVIĆ, J. STEVANOVIĆ, B. SAVIĆ, N. LAKIĆ, J. BOŠNJAK-NEUMÜLLER, Z. STANIMIROVIĆ (2018): The efficacy of two phytogetic feed additives in the control of swine dysentery. *Ac. Vet. Bg.* 68, 178-189. DOI: 10.2478/acve-2018-0016.
31. DING, S., Y. CHENG, A. K. AZAD, Q. ZHU, P. HUANG, X. KONG (2022): Developmental changes of immunity and different responses to weaning stress of chinese indigenous piglets and duroc piglets during suckling and weaning periods. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 15781. DOI:10.3390/ijms232415781.
32. DJEBARI, S., M. WRONA, C. NERÍN, O. DJAOUDENE, S. GUEMOUNI, A. BOUDRIA, K. MADANI (2024): Phenolic compounds profile of macerates of different edible parts of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) using UPLC-ESI-Q-TOF-MSE: Phytochemical screening and biological activities. *Fitoter.* 172, 105696. DOI: 10.1016/j.fitote.2023.105696.
33. DRASKOVIĆ, V., J. BOŠNJAK-NEUMULLER, M. VASILJEVIĆ, B. PETRUJKIĆ, N. ALEKSIĆ, V. KUKOLJ, Z. STANIMIROVIĆ (2018): Influence of phytogetic feed additive on *Lawsonia intracellularis* infection in pigs. *Prev. Ve.t Med.* 151, 46-51.
34. DURMIC, Z., D. BLACHE (2012): Bioactive plants and plant products: effects on animal function, health and welfare. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 176, 150 – 162.

35. FRIENDSHIP, R. M., J. H. LUMSDEN, I. McMILLAN, M. R. WILSON (1984): Hematology and biochemistry reference values for Ontario swine. *Can. J. Comp. Med.* 48, 390-393.
36. GARCÍA-DÍEZ, E., M. E. LÓPEZ-OLIVA, A. CARO-VADILLO, F. PÉREZ-VIZCAÍNO, J. PÉREZ-JIMÉNEZ, S. RAMOS, M. ÁNGELES MARTÍN (2022): Supplementation with a cocoa-carob blend, alone or in combination with metformin, attenuates diabetic cardiomyopathy, cardiac oxidative stress and inflammation in zucker diabetic rats. *Antiox.* 11, 432. DOI:10.3390/antiox11020432.
37. GIOXARI, A., C. AMERIKANOU, I. NESTORIDI, E. GOURGARI, H. PRATSINIS, N. KALOGEROPOULOS, N. K. ANDRIKOPOULOS, A. C. KALIORA (2022): Carob: A sustainable opportunity for metabolic. *Health. Foods* 11, 2154. DOI:10.3390/foods11142154.
38. GONZÁLEZ-ORTIZ, G., R. G. HERMES, R. JIMÉNEZ-DÍAZ, J. F. PÉREZ (2013): Creening of extracts from natural feed ingredients for their ability to reduce enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K88 adhesion to porcine intestinal epithelial cell-line IPEC-J2. *Vet. Microbiol.* 167, 494–499.
39. GROOT, N., F. FARIÑAS, C. G. CABRERA-GÓMEZ, F. J. PALLARES, G. RAMIS (2021): Weaning causes a prolonged but transient change in immune gene expression in the intestine of piglets. *J. Animal Sci.* 4, 1–12. DOI:10.1093/jas/skab065.
40. HABRUN, B. (2014): Klinička veterinarska bakteriologija. ur. Željko Cvetnić, prvo izdanje. Medicinska naklada, Hrvatski veterinarski institut. Zagreb
41. HENGL, B., M. ŠPERANDA, G. KRALIK (2011): Podizanje proizvodnih osobina i kvalitete mesa brojlera korištenjem eteričnih ulja. *Meso* 5, 328-336.
42. HERNANDEZ J., Y. LI, E. MATEU (2021): Swine dendritic cell response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus: An update. *Front. Immunol.*, 12. DOI: 10.3389/fimmu.2021.712109.
43. HIGAZY, M. M. E., A. A. M. DIFFRAWY, M. A. M. ZEITOUN, O. E. SHALTOUT, A. M. ABOU EL-YAZEED (2018): Nutrients of Carob and Seed Powders and Its Application in Some Food Products. *J. Adv. Agric. Res.* 23, 130-147.
44. HISS, S., M. HENNIES, S. GYMNICH, B. PETERSEN, H. SAUERWEIN (2003): Haptoglobin in pigs: Development and validation of an enzyme immunoassay for

- various body fluids and establishment of physiological reference levels. *Acta Vet. Scand.* 44 (suppl. 1) pp. 34.
45. HOLMAN, D. B., K. E. GZYL, K. T. MOU, H. K. ALLENB (2021): Weaning age and its effect on the development of the swine gut microbiome and resistome. *American Soc. Microbiol.* 6, e00682-21. DOI:10.1128/mSystems.00682-21
  46. HU, W., R. SHANG, J. YANG, C. CHEN, Z. LIU, G. LIANG, W. HE, G. LUO (2022): Skin  $\gamma\delta$  T cells and their function in wound healing. *Front. Immunol.* 13. DOI: 0.3389/fimmu.2022.875076.
  47. INSERRAA, L., G. LUCIANOA, M. BELLAA, M. SCERRAB, C. CILIONE, P. BASILEA, M. LANZAA, A. PRIOLOA (2015): Effect of including carob pulp in the diet of fattening pigs on the fatty acid composition and oxidative stability of pork. *Meat Sci.* 100, 256-261.
  48. IOANNOU, G. D., I. K. SAVVA, A. CHRISTOU, I. J. STAVROU, C. P. KAPNISSI-CHRISTODOULOU (2023): Phenolic profile, antioxidant activity, and chemometric classification of carob pulp and products. *Molecules* 8, 2269. DOI: 10.3390/molecules28052269.
  49. JANG, K.B., S.W. KIM (2019): Supplemental effects of dietary nucleotides on intestinal health and growth performance of newly weaned pigs. *J. Anim Sci.* 12, 4875–4882.
  50. JOTTERAND, F. (2005): The Hippocratic Oath and Contemporary Medicine: Dialectic Between Past Ideals and Present Reality? *J. Med. Phil.* 30,107–128.
  51. JUHÁSZ, A., V. MOLNÁR-NAGY, Z. BATA, K. H. TSO, K. POSTA (2023): Phytobiotic-Prebiotic Feed Additive Containing a Combination of Carob Pulp, Chicory, and Fenugreek Improve Growth Performance, Carcass Traits, and Fecal Microbiota of Fattening Pigs. *Animal.* 13, 3621. DOI:10.3390/ani13233621.
  52. KANEKO, J. J., J. W. HARVEY, M. L. BRUSS (1997): *Clinical biochemistry of domestic animals.* 5th ed., Academic Press, San Diego, CA, SAD, pp. 890-894.
  53. KAO, C. H. J., JESUTHASAN, A. C., BISHOP, K. S., GLUCINA, M. P., FERGUSON, L. R. (2013) Anticancer activities of *Ganoderma lucidum*: active ingredients and pathways. *Funct. Foods Health Dis.* 3, 48-65.
  - KARASOVA, D., M. CRHANOVA, V. BABAK, M. JERABEK, L. BRZOBOHATY, Z. MATESOVA, I. RYCHLIK (2021): Development of piglet gut



- microbiota at the time of weaning influences development of postweaning diarrhea - A field study. *Res. Vet. Sci.* 135, 59-65. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.12.022.
54. KISHAWY, A. T. Y., A. H. SEWID, H. S. NADA, M. A. KAMEL, S.A.M. EL-MANDRAWY, T.M.N. ABDELHAKIM, A.E.I. EL-MURR 7, N. EL NAHHAS, W. N. HOZZEIN, D. IBRAHIM (2020): Mannanooligosaccharides as a Carbon Source in Biofloc Boost Dietary Plant Protein and Water Quality, Growth, Immunity and *Aeromonas hydrophila* Resistance in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals* 10, 1724. DOI: 10.3390/ani10101724.
55. KIŠ, G., J. PINTAR, K. KLJAK, D. BEDEKOVIĆ (2014): Upotreba ploda rogača (*Ceratonia siliqua* L.) u hranidbi životinja. Zbornik sažetaka s XXI međunarodnog savjetovanja "Krmiva 2014". ur. Lulić, Slavko. Krmiva, Zagreb, 81-82.
56. KRALIK G., E. HAS-SCHOT, D. KRALIK, M. ŠPERANDA (2008.): Peradarstvo: Biološki i zootehnički principi. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek.
57. KWANGWOOK K., M. SONG, Y. LIU, P. JI (2022): Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection of weaned pigs: Intestinal challenges and nutritional intervention to enhance disease resistance. *Front. Immunol.* 13. DOI: 10.3389/fimmu.2022.885253.
58. LEE, J., N. GU, S. LEE, S. LEE, Y. LEE, B. HYUN (2020): Isolation and activation of porcine natural killer cells. *Cytotherapy* 5, 128-129. DOI: 10.1016/j.jcyt.2020.03.246.
59. LIU C., Y. ZHENG, W. XU, H. WANG, N. LIN (2014): Rhubarb tannins extract inhibits the expression of aquaporins 2 and 3 in magnesium sulphate-induced diarrhoea model. *Bio. Med. Res. Int.*, 619465. DOI: 10.1155/2014/619465.
60. LÓPEZ-COLOM, P. K. YU, E. BARBA-VIDAL, Y. SACO, S. M. MARTÍN-ORÚE, L. CASTILLEJOS, D. SOLÀ-ORIOI, A. BASSOLS (2019): I-FABP, Pig-MAP and TNF- $\alpha$  as biomarkers for monitoring gut-wall integrity in front of *Salmonella Typhimurium* and ETEC K88 infection in a weaned piglet model. *Res. Vet. Sci.* 124, 426-432. DOI: 10.1016/j.rvsc.2019.05.004.
61. LOW, C. X., L. TENG-HERN, A. B. M. NURUL-SYAKIMA, P. PUSPARAJAH, B. H. GOH, C. KOK-GAN, V. LETCHUMANAN, L. LEARN-HAN (2021): Unveiling the Impact of Antibiotics and Alternative Methods for Animal Husbandry: A Review. *Antibiot.* 10, 578. DOI:10.3390/antibiotics1005057.

62. MAHMOUDI, S., N. MAHMOUDI, K. BENAMIROUCHE, M. ESTAVEZ, M.A. MUSTAPHA, K. BOUGOUTAIA, N. H. BEN DJOUDI (2022): Effect of feeding carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp powder to broiler chicken on growth performance, intestinal microbiota, carcass traits, and meat quality. *Poult. Sci.* 101, DOI:/10.1016/j.psj.2022.102186
63. MAKRIS, D.P., P. KEFALAS (2004): Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *FTB* 42, 105-108.
64. MAHFUZ, S., Q. SHANG, X. PIAO (2021): Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: a review. *J. Animal Sci. Biotech.* 12:48. *otechnology* (2021) 12:48. DOI: 10.1186/s40104-021-00565-3.
65. MARAKIS, S.G. (1996): Carob bean in food and feed: status and future potentials – A critical appraisal. *JFST* 33(5), 365-383.
66. MARGETA, V., D. GALOVIĆ, K. GVOZDANOVIĆ (2022): Cirkularne farme – budućnost svinjogojstva u Republici Hrvatskoj. *Zbornik radova Savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj*, ur. Sokolić, Darja: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za stočarstvo, Osijek, 109-115.
67. MARISCAL-LANDIN G., J. H. AVELLANEDA, T. C. REIS DE SOUZA, A. AGUILERA, G. A. BORBOLLA, B. MAR (2004): Effect of tannins in sorghum on amino acid ileal digestibility and on trypsin (E.C.2.4.21.4) and chymotrypsin (E.C.2.4.21.1) activity of growing pigs. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 117, 245–264.
68. MARTÍNEZ, G., M.R. MIJARES, J.B. De SANCTIS (2019): Effects of Flavonoids and Its Derivatives on Immune Cell Response. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug. Discov.* 13, 84-104.
69. MENČIK, S., M. OSTOVIĆ, V. SUŠIĆ, A. EKERT KABALIN (2022): Svinjogojstva proizvodnja i koncept »Jednog zdravlja«. *Zbornik radova Savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj*, ur. Sokolić, Darja: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za stočarstvo, Osijek, 57-63.
70. MILLER I., E. GIANAZZA (2023): Proteomic methods for the study of porcine acute phase proteins—anything new to detect? *Vet. Res. Com.* DOI:10.1007/s11259-023-10170-6.

71. NASAR-ABBAS, S. M., Z. V. HUMA, M. K. KHAN, , H. ESBENDSHADE, V. JAYASENA (2016): Carob kibble: a bioactive-rich food ingredient. *Food Sci. Food Saf.* 15, 63–72.
72. OBEIDAT, B.S., M.A. ALRABABAHB, A.Y. ABDULLAHA, M.N. ALHAMADB, M.A. GHARAIBEHB, T.M. RABABAHC, M.A. ABU ISHMAIS (2011): Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs fed diets containing carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Small Rum. Res.* 96, 149–154.
73. OH, H. J., Y. J. PARK, J. H. CHO, M. H. SONG, B. H. GU, W. YUN, J. H. LEE, J. S. AN, Y. J. KIM, J. S. LEE, S. KIM, H. KIM, E. S. KIM, B. K. LEE, B. W. KIM, H. B. KIM, J. H. CHO, M. H. KIM (2021): Changes in Diarrhea Score, Nutrient Digestibility, Zinc Utilization, Intestinal Immune Profiles, and Fecal Microbiome in Weaned Piglets by Different Forms of Zinc. *Animal.* 11, 1356. DOI:10.3390/ani11051356.
74. PABST, R. (2020): The pig as a model for immunology research. *Cell Tissue Res.* 380, 287–304. DOI: 10.1007/s00441-020-03206-9.
75. PAPAESTATHIOU, E., A. AGAPIOU, S. GIANNOPOULOS, R. KOKKINOFTA (2018): Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food Sci. Nutr.* 6, 2151–2161.
76. PAPATSIROS, V. G., E.D. TZIKA, D. S. PAPAIOANNOU, S. C. KYRIAKIS, P.D. TASSIS, C. S. KYRIAKIS, C. S. (2009): Effect of *Origanum vulgare* and *Allium sativum* extracts for the control of proliferative enteropathy in weaning pigs. *Pol. J. Vet. Sci.* 12, 407-414.
77. PARRILLA, I., M. A. GIL1, C. CUELLO, J. M. CAMBRA, A. GONZALEZ-PLAZA, X. LUCAS, | J. L. VAZQUEZ (2022): | Immunological uterine response to pig embryos before and during implantation. *Reprod. Dom. Anim.* 00:1–10. DOI: 10.1111/rda.14142.
78. Juan M. Vazquez<sup>1,2</sup> | Heriberto Rodriguez-Martinez<sup>3</sup> | Emilio A. Martinez
79. PAZIR, T., Y. ALPER (2018): Carob Bean (*Ceratonia siliqua* L.) and Its Products. *JAARI* 28, 108 – 112.
80. PELEGRIN-VALLS, J., B. SERRANO-PÉREZ, D. VILLALBA, E. MOLINA, J. ESPINAL, M. JOY, J. ALVAREZ-RODRÍGUEZ (2022): Is the inclusion of carob

- (*Ceratonia siliqua* L.) pulp in the concentrate of weaned light lambs worth it? *Anim. Feed Sci. Technol.* 293. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2022.115452.
81. PENGGA, J., Y. TANGA, Y. HUANGA (2021): Gut health: The results of microbial and mucosal immune interactions in pigs. *Animal Nutrit.* 7, 282-294. DOI:10.1016/j.aninu.2021.01.001.
  82. PETERFALVI, A., E. MIKO, T. NAGY, B. REGER, D. SIMON, A. MISETA, B. CZÉH L. SZEREDAY (2019): Much more than a pleasant scent: a review on essential oils supporting the immune system. *Mol.* 24, 4530. DOI:10.3390/molecules24244530.
  83. PIETRASINA, O., J. MILLER, A. RZĄSA (2020): Differences in the relative counts of peripheral blood lymphocyte subsets in various age groups of pigs. *Can. J. Vet. Res.* 84, 52-59.
  84. PILUZZA, G., M.G. MOLINU, G. A. RE, L. SULAS (2020): Phenolic compounds content and antioxidant capacity in cardoon achenes from different head orders. *Nat. Prod. Res.* 34, 2071–2075.
  85. PINILLOS, R. G., M. C. APPLEBY, X. MANTECA, F. SCOTT-PARK, C. SMITH, A. VELARDE (2016): One Welfare – a platform for improving human and animal welfare. *Vet. Rec.* 6 179: 412-413. DOI: 10.1136/vr.i5470.
  86. POPOVIĆ, M., I. VALPOTIĆ (2004): Primjena protočne citometrije u veterinarskoj medicini. *H. vet. vjes.* 12, 3-4.
  87. RIBEIRO, A. D. B., M. V. C. FERRAZ JUNIOR, D. M. POLIZEL, A. A. MISZURA, L. G. M. GOBATO1, J. P. R. BARROSO, I. SUSIN A. V. PIRES (2019): Thyme essential oil for sheep: effect on rumen fermentation, nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and growth. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootech.* 71, 2065-2074.
  88. RADULOVIĆ S., R. MARKOVIĆ, D. JAKIĆ DIMIĆ, D. ŠEFER (2015): Upotreba fitobiotika u stimulaciji rasta odbijene prasadi. *Vet. glasnik* 69, 63 – 74.
  89. RICHANE, A., H. B. ISMAIL, C. DAREJ, K. ATTIA, N. MOUJAHED (2022): Potential of Tunisian carob pulp as feed for ruminants: chemical composition and *in vitro* assessment. *Trop. Anim. Health. Prod.* 15, 54-58. DOI:10.1007/s11250-022-03071-4.

90. RODRIGUES, L. A., B. KOO, M. NYACHOTI, D. A. COLUMBUS (2022): Formulating diets for improved health status of pigs: current knowledge and perspectives. *Animal*. 12, 2877. DOI:10.3390/ani12202877.
91. SENČIĆ, Đ., Z. ANTUNOVIĆ, D. SAMAC (2021): Biopoticajni učinak fitobiotika u proizvodnji pilećeg mesa. *Meso* 1, 67-73.
92. SIANO, F., G. MAMONE, E. VASCA, M. C. PUPPO, G. PICARIELLO (2023): Pasta fortified with C-glycosides-rich carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ flour: Inhibitory activity against carbohydrate digesting enzymes. *Food Res.Internat.*170, 112962. DOI:10.1016/j.foodres.2023.112962.
93. SILANIKOVE N., S. LANDAU, D. OR, D. KABABYA, I. BRUCKENTAL, Z. NITSAN (2006): Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids. *Livest. Sci.* 99, 29-38.
94. SOUTHEY, B. R., C. R. BOLT, H. E. RYMUT, M. R. KEEVER, A. V. ULANOV, Z. LI, L. A. RUND, R. W. JOHNSON, S. L. RODRIGUEZ-ZAS (2021): Impact of Weaning and Maternal Immune Activation on the Metabolism of Pigs. *Front. Mol. Biosci.* 8. DOI: 10.3389/fmolb.2021.660764
95. SREČEC, S., M. MILIĆEVIĆ BRADAČ (2020): Podrijetlo rogača, domestikacija, širenje i fitogeografska rasprostranjenost. U: Taksonomija, ekologija i uporaba rogača (*Ceratonia siliqua* L.) i lovora (*Laurus nobilis* L.) u Hrvatskoj (Tomić, F., Ur.), Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb, str. 15-23.
96. STAVROU, I. J., A. CHRISTOU, C. P. KAPNISSI-CHRISTODOULOU (2018): Polyphenols in carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. *Food Chem.* 269, 355–374.
97. SU, G., X. ZHOU, Y. WANG, D. CHEN, G. CHEN, Y. LI, J. HE (2018): Effects of plant essential oil supplementation on growth performance, immune function and antioxidant activities in weaned pigs. *Lip. Heal. Dis.* 17, 139. DOI:10.1186/s12944-018-0788-3.
98. STOLIĆ, I., M. POPOVIĆ, G. MRŠIĆ, K. VLAHOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2019): The effect of native propolis on serum biochemical parameters in weaned piglets. *Vet. Arh.* 89 (2), 201-210. DOI:10.24099/vet.arhiv.0096.

99. ŠINKORA, M., J. E. BUTLER (2009): The ontogeny of the porcine immune system. *Develip. Comp. Immunol.* 33, 273-283. DOI:10.1016/j.dci.2008.07.011.
100. ŠPIRANEC, K., M. POPOVIĆ, M. ŽIVKOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, M. J. PETEK, H. BRZICA, V. VRKIĆ, G. MRŠIĆ, D. MIHELIĆ (2013): *Agaricus bisporus* supplement as applicable replacement for antibiotic growth promotors in food for animals. *Proceedings of Veterinarski dani 2013*, 09-12. October, Opatija, Croatia, pp. 101-106.
101. ŠPOLJARIĆ, D., T. FUMIĆ, D. KEZIĆ, H. VALPOTIĆ, V. FABIJANIĆ, M. POPOVIĆ, S. SLADOLJEV, G. MRŠIĆ, I. VALPOTIĆ (2011):  $\beta$ -glucans: natural immune response modifiers insufficiently known in veterinary medicine. *Vet. Stanica* 42, 361-376.
102. ŠPOLJARIĆ, D., S. SREČEC, M. M. KARDUM PARO, M. J. ČOP, G. MRŠIĆ, B. ŠIMPRAGA, M. SOKOLOVIĆ, J. CRNJAC, K. ŠPIRANEC, M. POPOVIĆ (2015): The effects of feed supplemented with *Agaricus bisporus* on health and performance of fattening broilers. *Vet. arhiv* 85, 309-322.
103. ŠPOLJARIĆ, D., D. MARENČIĆ, M. BENKOVIĆ, B. ŠPOLJARIĆ, A. CVITANOVIĆ BELŠČAK, G. MRŠIĆ, M. POPOVIĆ, S. SREČEC, I. STOLIĆ (2019): Effect of dietary carob wholemeal on blood parameters in weaned pigs. *Vet. Arh.* 89 (3), 351-366. DOI:10.24099/vet.arhiv.0314.
104. TAKAMATSU, H. H., M. S. DENYER, C. STIRLING, S. COX, N. AGGARWAL, P. DASH, T. E. WILEMAN, P. V. BARNETT (2006): Porcine  $\gamma\delta$  T cells: Possible roles on the innate and adaptive immune responses following virus infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 112, 49-61.
105. TAKATO, T., K. MASUJIN, A. MIYAZAKI, S. SUZUKI, M. TAKAGI, T. KOKUHO, H. UENIS (2022): Isolation and immortalization of macrophages derived from fetal porcine small intestine and their susceptibility to porcine viral pathogen infections. *Front. Vet. Sci.* 9. DOI:10.3389/fvets.2022.919077.
106. TINGTING, C., Y. ZHANG, G. QIN, Y. WEI, J. YANG, Y. HUANG, J. REN, X. QU (2023): A neutrophil mimicking metal-porphyrinbased nanodevice loaded with porcine pancreatic elastase for cancer therapy. *Nat. Comm.* 14:1974. DOI:10.1038/s41467-023-37580.

107. THORN, C. E. (2000): Normal hematology of the pig. U: Schalm's Veterinary Hematology II, (ur. B. F. Feldman, J. G. Zinkl, N. C. Jain,) Lippincott, Williams, Willkins, Philadelphia, SAD, pp. 1089-1095.
108. VALDIVIESO-UGARTE, M., C. GOMEZLLORENTE, J. PLAZA-DÍAZ, Á. GIL (2019): Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A Systematic Review. *Nutrients* 11. DOI: 10.3390/nu11112786.
109. VLASIOS, G., E. STYLOS, M. V. CHATZIATHANASIADOU, T. MAVROMOUSTAKOS, A. G. TZAKOS (2016): Functional Components of Carob Fruit: Linking the Chemical and Biological Space. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1875. DOI: 10.3390/ijms17111875.
110. VALPOTIĆ, H., M. ŠPERANDA, A. KOVŠCA-JANJATOVIĆE, M. ĐIDARA, G. LACKOVIĆ, F. BOŽIĆ, B. HABRUN, S. SREČEC, M. MATAUŠIĆ-PIŠL, I. VALPOTIĆ (2014): Levamisole stimulates proliferation of circulating and intestinal immune cell subsets, gut health and performance in weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 94, 43-53.
111. VÉLEZ, C., M. CLAUZURE, D. WILLIAMSON, M. A. KONCURAT, C. BARBEITO (2023): IFN- $\gamma$  and IL-10: seric and placental profile during pig gestation. Seric and placental cytokines in pig gestation. *An. Acad. Bras. Cienc.* 95, e20201160. DOI: 10.1590/0001-3765202320201160.
112. VILAS-BOAS, A. M., M. E. BRASSESCO, A. C. QUINTINO, M. C. VIEIRA, T. R. S. BRANDÃO, C. L. M. SILVA, M. AZEVEDO, M. PINTADO (2022): Particle Size Effect of Integral Carob Flour on Bioaccessibility of Bioactive Compounds during Simulated Gastrointestinal Digestion. *Foods* 11(9), 1272. DOI:10.3390/foods11091272.
113. VILIBIĆ-ČAVLEK, T., T. FERENC, V. STEVANOVIĆ, M. VUJICA, M. BOGDANIĆ, S. ALI, T. SAFDAR; I. TABAIN, LJ. BARBIĆ (2022): Human coronaviruses in the 'One Health' context. *Infektol. Gla.* 42, 9-15.
114. VINCE, S., A. M. VEČKOVEC, H. VALPOTIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, I. ŽURA ŽAJA, D. ĐURIČIĆ, D. LEINER, J. ŠAVORIĆ, I. BUTKOVIĆ, B. HABRUN, B. NJARI, A. KOVŠCA JANJATOVIĆ, M. EFENDIĆ, M. SAMARDŽIJA, M. POPOVIĆ, I. VALPOTIĆ, B. ŠPOLJARIĆ (2022): Immunogenicity of a live bivalent non enterotoxigenic *Escherichia coli* (non-ETEC) vaccine and dietary clinoptilolite

- efficacy against postweaning diarrheal disease of pigs due to F4<sup>+</sup> and F18<sup>+</sup> ETEC strain. *Vet. Arh.* 92, 259-276.
115. VODOLAZSKA, D., T. FEYERA, C. LAURIDSEN (2023): The impact of birth weight, birth order, birth asphyxia, and colostrum intake per se on growth and immunity of the suckling piglets. *Sci. Rep.*13:8057. DOI:10.1038/s41598-023-35277-3
  116. WASZKIEWICZ-ROBAK, B., M. W. OBIEDZIŃSKI, E. BILLER, A. OBIEDZIŃSKA (2017): Nutraceuticals in animal nutrition and their effect on selected quality characteristics of beef, A review article. *Pol. J. Appl. Sci.* 3, 73-77.
  117. WIARDA, J. E., J. M. TRACHSEL, S. K. SIVASANKARAN, C. K. TUGGLE, C. L. LOVING (2022): Porcine intestinal innate lymphoid cells and lymphocyte spatial context revealed through single-1 cell RNA sequencing. *Life Sci. Allian.* DOI: 10.26508/lisa.202201442.
  118. WINDISCH, W., K., SCHEDLER, C. PLITZNER, A. KROISMAYR (2008): Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *J. of Animal. Sci.* 86, 140-148.
  119. WORRARAK, N., G. LIU, T. TELTATHUM, P. SUPAKANKUL, K. SRINGARM, W. NARABALLOBH, T. KHAMLOR, S. CHOMDEJ, K. NGANVONGPANIT, P. KRUTMUANG, S. MEKCHAY (2021): Association of IL-4 and IL-4R polymorphisms with litter size traits in pigs. *Animal.* 11, 1154. DOI:10.3390/ani11041154.
  120. YANG, C., L. ZHANG, G. CAO, J. FENG, M. YUE, Y. XU, B. DAI, Q. HAN, X. GUO (2019): Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97, 133- 143.
  121. YAO, L., J. YAO, C. HAN, J. YANG, M. TABASSUM CHAUDHRY, S. WANG, H. LIU, Y. YIN (2016): Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutri.* 8, 167; DOI:10.3390/nu8030167
  122. YILMAZ, S., S. ERGÜN, E. Ş. ÇELİK (2018): The effect of dietary carob (*Ceratonia siliqua*) syrup on growth performance, haematological, serum biochemical and immunological parameters in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Turk. J. Agricul. - Food Sci. Technol.* 6, 1820-1826.



123. ZENG, Z., X. XU, Q. ZHANG, P. LI, P. ZHAO, Q. LI, J. LIU, X. PIAO (2015): Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. *Anim. Sci. J.* 86, 279-85. DOI: 10.1111/asj.12277.
124. ZHAN L., G. LAN, Y. WANG, S. XIE, S. CAI, Q. LIU, P. CHEN, F. XIE (2024): Mastering textural control in multi-polysaccharide gels: Effect of  $\kappa$ -carrageenan, konjac glucomannan, locust bean gum, low-acyl gellan gum, and sodium alginate. *I. J. Biol. Macromol.* 254, 127885. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127885.
125. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ, Z., L. PAJURIN, D. JELENČIĆ, G. MRŠIĆ, D. MIHELIĆ, M. M. PARO KARDUM, K. VLAHOVIĆ, I. STOLIĆ, M. POPOVIĆ, S. SREČEC, D. MARENČIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2017): Modulacijski učinak dodatka rogača u krmnu smjesu na pojedine hematološke parametare u odbijene prasadi. Zbornik radova Veterinarski dani 2017. ur. Harapin, Ivica - Zagreb: Hrvatska veterinarska komora, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 279-286.
126. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ, Z., ŠPOLJARIĆ, B. S. VINCE, M. POPOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2023): Protuproljevni učinak rogača u odbijene prasadi. Zbornik radova Veterinarski dani 2023. ur. Harapin, Ivica - Zagreb: Hrvatska veterinarska komora, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 204-207.

## **9. ŽIVOTOPIS SA POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA**

Zrinka Žderić Savatović, liječnica stara 45 godina, rođena je u Osijeku, RH. U gimnaziju Marienberg je krenula u Neuss, Njemačka, a završila je Jezičnu Gimnaziju u Osijeku, RH, gdje je i započela studij medicine. Nakon završetka prve godine studija seli se u Zagreb gdje nastavlja studirati i gdje i završava studij te započinje svoju karijeru. Nakon završetka Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu upisuje postdiplomski studij na Pridoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, nakon završetka kojega upisuje doktorski studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagreb.

Zrinka Zderić Savatović posjeduje hrvatsku i DHA (Dubai) licencu te je upisana u registar liječnika u Engleskoj. Također je internacionalni pridruženi član RCGP, Engleska. U svojoj izobrazbi Zrinka Zderić Savatović posjeduje amerčki certifikat za liječnika estetske medicine te je SCOPE certificirani liječnik za pretilost.

Karijeru liječnice je započela u Hrvatskoj gdje je prije preseljenja u Dubai, 2013. godine, radila u svojoj ambulanti s 2200 upisanih pacijenata. Od 2013. Zrinka Zderić Savatović živi i radi u Dubai-u, UAE.

Zrinka Zderić Savatović je privrzena svom poslu. Njena etika i medicinska praksa su je oblikovali u brižnu i savjesnu osobu s ciljem osnaživanja zdravlja i dobrobiti pacijenata. Njena etika rada je usmjerena, organizirana, komunikativna, odgovorna i ciljana, a kao priznanje toga bila je Predsjednica Etičkog Povjerenstva Doma zdravlja Zagrebačke županije od 2010.-2013. godine.

#### **Popis objavljenih znanstvenih radova**

1. JURAK, M., G. MRŠIĆ, J. CRNJAC, I. POPOVIĆ, **Z. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ**, M. LOZANČIĆ, D. RABIĆ, M. RATKO, M. POPOVIĆ, K. VLAHOVIĆ, D. MIHELIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2015): Određivanje humanog DNA profila na osnovi izuzetog traga s dlake psa. Zbornik radova znanstveno-stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem Veterinarski dani 2015, 20.-23. listopada, Opatija, Hrvatska, pp. 157-168.
2. LEROTIĆ, I., D. ŠPOLJARIĆ, I. POPOVIĆ, **Z. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ**, G. MRŠIĆ, D. RABIĆ, M. POPOVIĆ, D. VNUK (2015): Utjecaj višednevne ponovljene primjene anestetika izoflurana i permanentnog plina dušikovog oksidula na vrijednosti biokemijskih parametara prasadi. Zbornik radova znanstveno-stručnog

- skupa s međunarodnim sudjelovanjem Veterinarski dani 2015, 20.-23. listopada, Opatija, Hrvatska, pp. 175-185.
3. **ŽDERIĆ SAVATOVIĆ, Z.**, T. HERCEG, G. MRŠIĆ, M. LOZANČIĆ, M. RATKO, D. MIHELIĆ, P. ŠEGOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, M. M. KARDUM PARO, K. VLAHOVIĆ, K. ŠPIRANEC, D. ŠPOLJARIĆ, M. POPOVIĆ (2015): Procjena hematoloških parametara tovnih pilića hranjenih uz dodatak kukuruznog tropa. Zbornik radova znanstveno-stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem Veterinarski dani 2015, 20.-23. listopada, Opatija, Hrvatska, pp. 169-174.
  4. ABAFFY, M., M. TOMINAC TRCIN, B. PIRKIĆ, D. RABIĆ, B. MIJOVIĆ, **Z. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ**, G. MRŠIĆ, I. POPOVIĆ, D. CAPAK, T. KARADJOLE, M. BUJIĆ, T. DOLENEC, I. KIŠ, K. VLAHOVIĆ, I. ŠPOLJARIĆ, D. VNUK, D. ŠPOLJARIĆ, M. POPOVIĆ (2015): Vijabilnost limbalnih stanica ovaca „*in vitro*“ uzgojenih na nosaču od nanovlakana poliuretana. Zbornik radova znanstveno-stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem Veterinarski dani 2015, 20.-23. listopada, Opatija, Hrvatska, pp. 187-194.
  5. ŠPOLJARIĆ, B., M. POPOVIĆ, J. CRNJAC, Z. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ, M. RATKO, M. LOZANČIĆ, M. JURAK, I. ŠPOLJARIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, G. MRŠIĆ (2016): Gleaning a human DNA profile from trace swabs collected from animal hairs. *Acta veterinaria Beograd* 66 (2), 187-202. DOI:10.1515/acve-2016-0016
  6. **ŽDERIĆ SAVATOVIĆ, Z.**, L. PAJURIN, D. JELENČIĆ, G. MRŠIĆ, D. MIHELIĆ, M. M. PARO KARDUM, K. VLAHOVIĆ, I. STOLIĆ, M. POPOVIĆ, S. SREČEC, D. MARENČIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2017): Modulacijski učinak dodatka rogača u krmnu smjesu na pojedine hematološke parametare u odbijene prasadi. Zbornik radova Veterinarski dani 2017. ur. Harapin, Ivica - Zagreb: Hrvatska veterinarska komora, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 279-286.
  7. SHEK VUGROVEČKI, A., M. POPOVIĆ, Ž. CVRTILA, M. KARDUM, G. KIŠ, L. KOZAČINSKI, T. MIKUŠ, S. MILINKOVIĆ TUR, A. VIDOŠEVIĆ, G. MRŠIĆ, B. NJARI, L. PAJURIN, N. POLJIČAK MILAS, **Z. ŽDERIĆ SAVATOVIĆ**, M. ŠIMPRAGA, B. ŠPOLJARIĆ, M. ŽIVKOVIĆ, A. HRKOVIĆ POROBIJA, S. VINCE, I. ŽURA ŽAJA, D. ŠPOLJARIĆ (2023): Inovacija proizvoda HRZZ projekta “Inovativni funkcionalni proizvodi od janječeg mesa. “Meso : prvi hrvatski časopis o mesu 5, 55-61.

8. **ŽDERIĆ SAVATOVIĆ, Z.**, ŠPOLJARIĆ, B. S. VINCE, M. POPOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ (2023): Protuproljevni učinak rogača u odbijene prasadi. Zbornik radova Veterinarski dani 2023. ur. Harapin, Ivica - Zagreb: Hrvatska veterinarska komora, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 204-207.