

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Anton HOHLER

**VPLIV KETOZE NA MLEČNOST, SESTAVO
MLEKA IN PLODNOST KRAV MOLZNIC V
SLOVENIJI**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Anton HOHLER

**VPLIV KETOZE NA MLEČNOST, SESTAVO MLEKA IN
PLODNOST KRAV MOLZNIC V SLOVENIJI**

MAGISTRSKO DELO

**INFLUENCE OF KETOSIS ON MILK YIELD, MILK COMPOSITION
AND FERTILITY OF DAIRY COWS IN SLOVENIA**

M. Sc. THESIS

Ljubljana, 2016

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani in po sklepu Senata Biotehniške fakultete z dne 28. 1. 2013 je bilo potrjeno, da kandidat Anton Hohler izpolnjuje pogoje za magistrski podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje magisterija znanosti s področja zootehnike. Za mentorja je bil imenovan prof. dr. Andrej Lavrenčič.

Magistrsko delo je bilo opravljeno na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Raziskava je bila opravljena na živalih območja Kmetijsko gozdarskega zavoda Ptuj in Kmetijsko gozdarskega zavoda Celje. Analize mleka so bile opravljene v laboratoriju Kmetijsko gozdarskega zavoda Ptuj in v LKS – Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft mbH, August-Bebel Straße 6, Lichtenwalde, Nemčija. Raziskave krvi so bile opravljene na Veterinarski fakulteti Univerze v Ljubljani in z ročnim merilnikom krvi na terenu. Statistična obdelava je bila opravljena na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: doc. dr. Marija KLOPČIČ,
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Andrej LAVRENČIČ,
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: prof. dr. Martina KLINKON OGRINEC,
Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta

Datum zagovora:

Podpisani izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na Univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Anton HOHLER

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Md
DK UDK 636.2(043.2)=163.6
KG govedo/krave/molznice/zdravje/ketoza/mlečnost/plodnost/FTIR/BHB/acetona/
Slovenija
KK AGRIS L01/L73/5214
AV HOHLER, Anton, univ. dipl. inž. zootehnike
SA LAVRENČIČ, Andrej (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških
biotehniških znanosti, področje zootehnike
LI 2016
IN VPLIV KETOZE NA MLEČNOST, SESTAVO MLEKA IN PLODNOST KRAV
MOLZNIC V SLOVENIJI
TD Magistrsko delo
OP XI, 65 str., 22 pregl., 10 sl., 86 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V magistrski nalogi smo ugotavljali vpliv koncentracije BHB (β -hidroksibutirat) in
razredov BHB (BHB 1: do 0,10 mmol/L mleka; BHB 2: od 0,11 do 0,19 mmol/L
mleka in BHB 3: nad 0,20 mmol/L mleka) na mlečnost, sestavo mleka in plodnost
krav molznic. V raziskavo smo vključili krave z območja kmetijskih zavodov Ptuj in
Celje v obdobju 16 mesecev. V vzorcih mleka smo z analizatorjem Milkoscan
določali vsebnosti mlečne maščobe, beljakovine mleka, laktoze, sečnine, acetona
(Ac) in BHB ter število somatskih celic v mleku. Vsebnosti Ac smo določali s
fizikalno metodo Fourier transform infrared spectrometry (Ac_{FTIR}) in z metodo
Skalar (Ac_{SKALAR}) ter ju med seboj primerjali. Ugotovili smo, da je korelacija med
vsebnostjo Ac_{FTIR} in Ac_{SKALAR} 0,76. Z metodo FTIR smo določali tudi vsebnosti
BHB v mleku (BHB_{FTIR}) in ugotavljali povezave z vsebnostjo BHB v krvi z
prenosnim merilnikom FreeStyle Optium (BHB_{FSO}). Korelacija med njima je bila
0,82. Krave z BHB_{FTIR} nad 0,20 mmol/L imajo v 90 odstotkih vsebnost BHB_{FSO} nad
1,2 mmol/L. Krave v razredu BHB 3 imajo razmerje med mlečnimi maščobami in
beljakovinami (RMB) 1,55 : 1. Na vsebnost BHB_{FTIR} vplivajo ($P < 0,01$) zaporedna
laktacija (L), sezona (S), mlečnost, RMB, stadij laktacije (MD) in število somatskih
celic. Najvišjo koncentracijo BHB_{FTIR} smo določili poleti, najnižjo pozimi. Visoka
koncentracija BHB_{FTIR} zmanjšuje mlečnost, širjenje RMB pa mlečnost v prvih 100
dneh laktacije povečuje. Krave v razredu BHB 3 imajo za 1,7 kg nižjo dnevno
mlečnost kot krave v razredu BHB 1. Najnižjo vsebnost laktoze smo določili v mleku
krav v razredu BHB 3 (4,47 %). Visoka koncentracija BHB v mleku podaljšuje dobo
od telitve do uspešne osemenitve (PP). Tudi širše RMB vpliva na PP negativno.
Molznice v razredu BHB 3 so imele za 18,3 dni daljši PP, tiste v razredu BHB 2 pa
za 4,8 dni daljši PP kot krave v razredu BHB 1

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Md
DC UDC 636.2(043.2)=163.6
CX cattle/dairy cow/health/ketosis/milk yield/fertility/FTIR/BHB/acetone
CC AGRIS L01/L73/5214
AU HOHLER, Anton,
AA LAVRENČIČ, Andrej (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Biological and Biotechnical Sciences, Field: Animal Production
PY 2016
TI INFLUENCE OF KETOSIS ON MILK YIELD, MILK COMPOSITION AND FERTILITY OF DAIRY COWS IN SLOVENIA
DT M. Sc. Thesis
NO XI, 65 p., 22 tab., 10 fig., 86 ref.
LA sl
AL sl/en
AB We researched the influence of BHB (β -hydroxybutyrate) and classes BHB (BHB 1: up to 0.10 mmol/L of milk; BHB 2: between 0.11 and 0.19 mmol/L of milk and BHB 3: above 0.20 mmol/L of milk) on milk production and composition and fertility of dairy cows. In research the data for cows from the Ptuj and Celje area in the period of 16 months were used. With Milcoscan apparatus we determined fat, protein, lactose, urea, acetone (Ac), BHB and number of somatic cells in milk samples. Using Fourier transform infrared spectrometry (Ac_{FTIR}) we determined Ac content in milk and compared its concentration with Scalar method (Ac_{SKALAR}). Correlation between Ac_{FTIR} and Ac_{SKALAR} for acetone contents was 0.76. FTIR method was used also for determination of BHB contents in milk (BHB_{FTIR}) and was compared with the BHB contents in blood using FreeStyle Optium apparatus (BHB_{FSO}). Correlation between BHB_{FTIR} and BHB_{FSO} was 0.82. Ninety percent of cows with BHB_{FTIR} over 0.20 mmol/L in milk had BHB_{FSO} over 1.2 mmol/L in blood. Cows in class BHB 3 had ratio between milk fat and protein (RMB) 1.55: 1. Parity, season, daily milk production, RMB, stage of lactation and number somatic cell influenced BHB_{FTIR} . The highest concentration of BHB_{FTIR} was determined in summer and the lowest in winter. High BHB_{FTIR} concentrations decreased milk production, while widening RMB increases milk production in first 100 days of lactation. Cows in class BHB 3 had for 1.7 kg lower daily milk than cows in class BHB 1. Cows in class BHB 3 had the lowest percentage of lactose (4.47 %). High concentration of BHB_{FTIR} lengthen the time from calving to successful insemination (PP). Wide RMB had negative influence on PP. Cows in class BHB 3 had PP extended for 18.3 days and those in class BHB_2 for 4.8 days in contrast to cows in class BHB 1.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
SLOVARČEK	XI
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 MOTNJE V PRESNOVI MAŠČOB IN OGLJIKOVIH HIDRATOV	3
2.2 VRSTE KETOZE	5
2.2.1 Ketoza tipa I	5
2.2.2 Ketoza tipa II	6
2.2.3 Ruminogena ketogeneza ali ketoza zaradi krmljenja obrokov z veliko vsebnostjo maslene kisline	7
2.2.4 Klinična oblika ketoze	8
2.2.5 Subklinična oblika ketoze	9
2.3 UGOTAVLJANJE OBOLELOSTI ZA KETOZO	10
2.3.1 Metoda ugotavljanja BHB v krvi s prenosnimi merilniki	10
2.3.2 Metode določanja BHB in acetona v mleku in v seču	11
2.3.2.1 Hitre metode za določanje vsebnosti BHB	11
2.3.2.2 Laboratorijske metode	12
2.3.3 Določanje obolelosti krav s ketozo s pomočjo sestavin mleka	12
2.4 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA POJAV KETOZE	14
2.4.1 Vpliv mlečnosti na pojav ketoze	14
2.4.2 Vpliv sezone na pojav ketoze	15
2.4.3 Starost krav	15
2.4.4 Telesna kondicija krav ob porodu	16
2.4.5 Način reje	18
2.4.6 Genetska predispozicija krav za pojav ketoze	19
2.4.7 Plodnost in ketoza	19
2.5 VPLIVI NA POJAV KETOZE	21
2.5.1 Neustrezna prehrana krav v obdobju presušitve	21
2.5.2 Oskrba in prehrana po telitvi	23
2.5.3 Krmljenje krme, ki vsebuje ketogene snovi	25
2.5.4 Nepravilno krmljenje močne krme	25

2.6	KRMNI DODATKI ZA PREPREČEVANJE KETOZE IN NJENO ZDRAVLJENJE	26
2.6.1	Protiketozni dodatki	26
3	MATERIAL IN METODE	29
3.1	METODE ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI BHB IN ACETONA V MLEKU	29
3.1.1	Določanje vsebnosti acetona v mleku	29
3.1.2	Določanje vsebnosti BHB v krvi z avtomatskim biokemijskim analizatorjem (Daytona) in prenosnim merilnikom (FreeStyle Optium)	30
3.2	STATISTIČNA ANALIZA PODATKOV VSEBNOSTI BHB IN DRUGIH PARAMETROV MLEČNOSTI IN PLODNOSTI KRAV	30
3.2.1	Korelacije med metodami za določanje vsebnosti acetona in BHB v mleku in krvi	31
3.2.2	Vplivi na vsebnost BHB_{FTIR}	31
3.2.3	Vplivi vsebnosti BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na količino mleka v prvih 100 dneh laktacije in na kazalnike plodnosti	32
3.2.4	Vpliv razredov BHB na mlečnost in sestavo mleka ter kazalnike plodnosti	33
4	REZULTATI	34
4.1	OSNOVNA STATISTIKA PROUČEVANIH LASTNOSTI	34
4.2	PRIMERJAVA VSEBNOSTI ACETONA, DOLOČENIH Z METODO SKALAR IN FTIR METODO	35
4.3	POVEZAVE MED VSEBNOSTJO BHB V MLEKU (BHB _{FTIR}) IN VSEBNOSTJO BHB V KRVI (BHB _{Daytona} IN BHB _{FSO})	37
4.3.1	Povezave med posameznimi sestavinami v mleku	38
4.3.1.1	Povezava med RMB in vsebnostjo BHB _{FTIR}	39
4.3.1.2	Prikaz povezave RMB in BHB z box-plot grafikonom	40
4.4	VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA VSEBNOSTI BHB _{FTIR} IN VPLIV BHB _{FTIR} NA RAZLIČNE DEJAVNIKE	42
4.4.1	Vplivi različnih dejavnikov na koncentracijo BHB_{FTIR}	42
4.4.2	Vpliv koncentracije BHB_{FTIR} in ostalih dejavnikov na mlečnost v prvih 100 dneh laktacije	43
4.4.3	Vpliv koncentracije BHB_{FTIR} na plodnost	44
4.4.4	Vplivi različnih razredov BHB_{FTIR} in ostali parametri na mlečnost ob kontroli	45
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	50
5.1	RAZPRAVA	50
5.1.1	Splošni statistični podatki preučevanih lastnosti in korelacije med njimi	50

5.1.2	Primerjava metod za določanje vsebnosti acetona v mleku Ac_{FTIR} in Ac_{SKALAR}	50
5.1.3	Primerjava metod za določanje vsebnosti BHB v mleku (BHB_{FTIR}) in v krvi ($BHB_{Daytona}$ in BHB_{FSO})	51
5.1.4	Vplivi različnih dejavnikov na koncentracijo BHB_{FTIR}, na mlečnost, sestavo mleka in plodnost	52
5.1.4.1	Vplivi na BHB_{FTIR}	52
5.1.4.2	Vplivi na mlečnost v prvih 100 dneh	53
5.1.4.3	Vplivi koncentracije BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na plodnost	53
5.1.4.4	Vpliv razredov BHB_{FTIR} na mlečnost, vsebnosti sestavin mleka in RMB ter plodnost	53
5.2	SKLEPI	55
6	POVZETEK (SUMMARY)	57
6.1	POVZETEK	57
6.2	SUMMARY	58
7	VIRI	61
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Regulacijski faktorji v presnovi energije (Holtenius, 1993: 56).....	4
Preglednica 2: Koncentracije acetona v mleku (Fatur, 1990: 169).....	12
Preglednica 3: Korelacijski koeficienti med vsebnostjo acetona, mlečnostjo od 6. do 64. dneva po porodu in sestavinami mleka (prirejeno po Miettinen, 1994: 103).....	14
Preglednica 4: Korelacijski koeficienti med koncentracijo acetona v mleku, mlečnostjo in sestavinami mleka pri subkliničnih ketozah in pri kravah s klinično izraženo ketozo (prirejeno po Miettinen, 1994: 104)	15
Preglednica 5: Vpliv mlečnosti in sezone na pojav ketoze v različnih zaporednih laktacijah (prirejeno po Detilleux in sod., 1994: 3319)	16
Preglednica 6: Število in pasemska sestava krav ter zaporedne laktacije vključenih v obdelavo.....	30
Preglednica 7: Osnovna statistika za proučevane parametre v mleku	34
Preglednica 8: Kazalniki plodnosti v raziskavo vključenih živalih	34
Preglednica 9: Korelacije med posameznimi sestavinami mleka in kazalniki plodnosti	39
Preglednica 10: Ocene razlik in standardne napake za zaporedne laktacije, sezone, sestavin mleka, mlečnosti in stadija laktacije ter logaritma somatskih celic na koncentracijo BHB _{FTIR}	42
Preglednica 11: Analiza variance za vsebnost BHB _{FTIR}	43
Preglednica 12: Vplivi na mlečnost krav v prvih 100 dneh laktacije	43
Preglednica 13: Vpliv BHB _{FTIR} in ostalih lastnosti na dobo od telitve do uspešne osemenitve (PP).....	44
Preglednica 14: Vpliv BHB _{FTIR} in ostalih lastnosti na dobo od prve do uspešne osemenitve (SP).....	45
Preglednica 15: Število meritev po razredih glede na koncentracijo BHB _{FTIR}	45
Preglednica 16: Povprečne dnevne mlečnosti, vsebnosti mlečnih maščob in laktoze ter RMB v mleku krav, razporejenih v razrede glede na vsebnost BHB _{FTIR}	45
Preglednica 17: Vplivi razredov BHB _{FTIR} in drugih dejavnikov na dnevno mlečnost	46
Preglednica 18: Vplivi posameznih razredov BHB in drugih dejavnikov na RMB	47
Preglednica 19: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na mlečno maščobo	48
Preglednica 20: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na beljakovine mleka	48
Preglednica 21: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na laktozo (LA).....	49
Preglednica 22: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na PP.....	49

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Sproščanje NEFA iz maščob in presnovne poti v jetrih (prirejeno po Holtenius, 1993: 56).....	5
Slika 2: Glavne poti porabe NEFA prostih maščobnih kislin v jetrih (prirejeno po Holtenius, 1993: 57).....	5
Slika 3: Vpliv konzumacije pred telitvijo na bilanco energije pred telitvijo in po njej (prirejeno po Wilke, 1998: 10)	17
Slika 4: Vsebnosti acetona v mleku v vzorcih, analiziranih v laboratoriju na Ptuju z metodo FTIR (Ac_{FTIR1} in Ac_{FTIR2}) in tistimi analiziranimi v Nemčiji s Skalar metodo (Ac_{SKALAR})	35
Slika 5: Primerjava vsebnosti acetona z različnimi metodami Ac_{FTIR} in Ac_{SKALAR} (mmol/L mleka)	36
Slika 6: Primerjava vsebnosti acetona v mleku v različnem času Ac_{FTIR1} (13.5.2015) in Ac_{FTIR2} (18.5.2015) (mmol/L v mleku)	36
Slika 7: Povezava med vsebnostjo BHB pri metodah BHB_{FSO} in BHB_{FTIR}	38
Slika 8: RMB vrednosti pri različnih BHB vrednostih. Krivulja je spline - smoothing (spar = 0,7)	40
Slika 9: Boks-plot razmerje med BHB_{FTIR} in RMB v mleku krav v vseh laktacijah med 5. in 100. dnevom laktacije	41
Slika 10: RMB v različnih razredih BHB.....	46

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

BHB	β-hidroksibutirat (ketonsko telo)
Ac	aceton
AcAc	acetoacetat
RMB	razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka
S	sezona mlečne kontrole
L	zaporedna laktacija
MA	odstotek mlečne maščobe
BE	odstotek beljakovin mleka
LA	odstotek laktoze v mleku
PP	poporodni odmor
SI	servisni interval
SP	servis perioda
KGML	dnevna mlečnost
MD	stadij laktacije
FTIR	Fourierjeva infrardeča spektrometrija
NEFA	neesterificirane maščobne kisline
TMR	popolna krmna mešanica
SS	suha snov
NEL/kg	neto energija laktacije na kg
LKS	Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft mbH
SŠSC	skupno število somatskih celic
DS	desna dislokacija siriščnika
GnRH	gonotropni hormon
LH	luteinizirajoči hormon
IGF1	inzulinu podoben rastni faktor
nXP/kg	Nutzbares Rohprotein
CLS	konjugirana linolna kislina
KIS	Kmetijski inštitut Slovenije
LNSSC	naravni logaritem somatskih celic
T3	hormon ščitnice, triiodotironin – prohormon tirozin
T4	hormon ščitnice, tirozin

SLOVARČEK

AcetilCoA	Acetil koencim A, molekula za prenos ogljika in acetilne skupine
Glukagon	hormon trebušne slinavke, ki se sproži pri nizki koncentraciji glukoze
Glikogen	rezervni škrob v jetrih
Lipoliza	razgradnja maščob
Glukogeneza	tvorba glukoze
Glikogeneza	nastanek glikogena v jetrih
Glikoliza	razgradnja glukoze
Glikogenoliza	razgradnja glikogena v jetrih
Ketogeneza	tvorba ketonskih teles
Specifičnost meritve	delež dejansko negativnih meritev glede na standardno meritev
Občutljivost meritve	delež dejansko pozitivnih meritev glede na standardno meritev
Skalar	kemična metoda določanja acetona in BHB v mleku
Hipokalcemija	pomanjkanje kalcija v krvi
β -oksidacija	proces razgradnje maščobnih kislin
Pašna tetanija	bolezen prežvekovalcev zaradi pomanjkanja magnezija v krvi

1 UVOD

V Sloveniji krave mnogo prezgodaj zapustijo hlev. V povprečju dosega le 3,75 laktacije. Najmanjše število laktacij dosega križanke s črno-belimi kravami in črno-bele krave s 3,40 oziroma 3,59 laktacije (Jenko, 2007). Tudi v Nemčiji imajo veliko težav s prerano izločitvijo krav, kajti vsaka četrta zapusti čredo že v prvi laktaciji. Krave, ki dosežejo več laktacij, imajo večjo življenjsko mlečnost in so ekonomsko zanimivejše, saj s tem prinašajo večji zaslužek (Thoralf in Richter, 2012). Zato je za dobro prirejo zelo pomembno zdravje živali, ki poleg življenjske dobe neposredno vpliva na mlečnost (Rajala-Schultz in sod., 1999a). Bolne krave izgubljajo v povprečju tudi do 5,3 kg mleka na dan po postavljeni diagnozi. Na mlečnost vplivajo bolezni, kot so vnetje parkljev in presnovne motnje ter klinični mastitis. Rajala-Schultz in sod. (1999b) poudarjajo, da mastitis nima samo kratkotrajnega vpliva, ampak vpliva tudi na mlečnost v naslednjih laktacijah. Posebno velik vpliv na zmanjšanje mlečnosti imajo patogeni povzročitelji *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyrogenes*, *Escherichia coli* in *Klebsiella sp.* (Gröhn in sod., 2004). Rajala-Schultz in sod. (1999a) ugotavljajo, da povzročajo veliko izgubo mleka presnovne motnje. Največji padec mlečnosti se zgodi okoli drugega tedna po postavitvi diagnoze. Med vsemi presnovnimi boleznimi ima ketoza največji vpliv na znižanje mlečnosti. Prav zaradi tega dejstva smo se v naši raziskavi usmerili predvsem na preučevanje vplivov na pojav ketoze kot zelo pomembne presnovne motnje, ki vpliva na prirejo mleka in zdravje živali ter tudi na samo življenjsko mlečnost.

Presnovne bolezni so zelo pogoste bolezni v čredi krav z visoko prirejo mleka. Vanholder in sod. (2015) ugotavljajo, da sta subklinična in klinična oblika ketoze povezani z visoko mlečnostjo. Zato bi lahko rekli, da je ketoza bolezen moderne intenzivne reje, čeprav so jo poznali že pred dobrimi stotimi leti, saj jo v strokovni literaturi prvič omenjajo že leta 1911 (Zadnik, 1996). Že takrat so navedli, da so prizadete živali oddajale specifičen vonj, podoben tistemu, ki se ustvarja v skladiščih jabolk. Vonj začutimo, če povohamo mleko ali izdihani zrak živali. Nekateri pravijo, da v takšnem hlevu zaznajo vonj po jabolkah. Hudson (cit. po Zadnik, 1996) je delil ketozo na dve obliki že leta 1928.

- Prva je lažja oblika ketoze, ko pri oboleli živali zaznamo vonj po acetonu, konzumacija in mlečnost pa sta še vedno dobri.
- Druga je težja oblika, ko imajo živali izrazit vonj po acetonu, hkrati pa tudi slabo jedo, ne prežvekujejo in imajo povišan srčni utrip.

Navedena spoznanja pomagajo marsikateremu veterinarju in živinorejcu pri ugotavljanju sumljivih živali še danes, čeprav v praksi uporabljamo priročne metode, ki natančneje določijo obolenost krav za ketozo na terenu. V našo raziskavo smo vključili novejšo metodo določanja ketonskih teles v mleku, ki je v Sloveniji še ne uporabljamo, s čimer smo želeli odpraviti subjektivno oceno določitve obolenosti živali. Želeli smo tudi ugotoviti vpliv bolezni na mlečnost in plodnost krav na območju kmetijskih zavodov Celje in Ptuj, kjer je v kontroli mlečnosti okoli 35.000 krav molznic. V raziskavi smo želeli ugotoviti, kakšni sta povezava in točnost analiziranih vrednosti med vsebnostmi β -hidroksibutirata (BHB) in acetona v mleku, določenih z metodo FTIR in drugimi metodami. Želeli smo ugotoviti tudi povezavo med vsebnostmi BHB v mleku in vsebnostmi BHB v krvi.

Poleg ketoze poznamo še druge oblike presnovnih motenj, ki bolj ali manj zmanjšajo prirejo mleka (Rajala-Schultz, 1999a). Zadnik (1996) navaja, da so zelo pogoste presnovne bolezni tudi mlečna mrzlica (hipokalcemija), pašna tetanija in zasuk siriščnika, ki jih v raziskavi sicer nismo preučevali, smo pa njihove značilnosti navedli v pregledu literature. Cilj naše raziskave je bil ugotoviti vpliv ketoze na mlečnost, sestavo mleka in na plodnost.

2 PREGLED OBJAV

2.1 MOTNJE V PRESNOVI MAŠČOB IN OGLJIKOVIH HIDRATOV

V presnovi se maščobe s pomočjo encima lipaze razgradijo do glicerola in višjih maščobnih kislin. Višje maščobne kisline se razgradijo z β -oksidacijo do acetylCoA, ki v nadaljnjih procesih razgradnje vstopa v Krebsov cikel, kjer popolnoma oksidira do CO_2 in vode. Razgradnja in oksidacija maščobe prinašata veliko energije, ki jo organizem izkoristi za vzdrževanje in prirejo.

Pri kravah, obolelih za ketozo, je delovanje Krebsovega cikla omejeno, ker ni na razpolago zadostne količine piruvata. Piruvat se v nadaljnjih procesih spreminja v oksalacetat, ki se v Krebsovem ciklu veže z acetylCoA. Ob pomanjkanju oksalacetata se proces upočasni in iz acetylCoA nastaja ketonska snov acetoacetat (AcAc). Z redukcijo AcAc prehaja v β -hidroksibutirat (BHB), ta pa z dekarboksilacijo v aceton (Ac). Zato pri kravah, obolelih za ketozo, ugotovimo povečano količino ketonskih teles v krvi, pljučih in mleku ter seču (Metzner in sod., 1993; Goff in Horst, 1997). AcAc in BHB vstopata iz jetrnih celic v kri in kasneje v druga tkiva. V teh lahko v normalnih pogojih poteka obratni proces (Cestnik, 1995).

Koncentracija ketonskih snovi v krvi je v ravnotežju med tistimi, nastalimi v jetrih, in tistimi, ki se porabljajo v perifernih tkivih. Najpomembnejše porabnice ketonskih teles so prečno progaste mišice (skeletalne mišice in srčna). Ketonska telesa predstavljajo tudi neke vrste varčevanje z glukozo, da se ta ohrani v koncentraciji, ki zagotavlja normalno (optimalno) tvorbo mleka in normalen razvoj plodu. Organizem prežvekovalcev daje prednost tvorbi glukoze (glukoneogeneza) pred popolno oksidacijo maščob. Da se količina mleka ne zmanjša, lahko glukoza nastane tudi iz oksalacetata (Metzner in sod., 1993; Rossov in sod., 1991).

Pri razgradnji maščob nastane poleg maščobnih kislin še glicerol. Tudi ta ima glukogeno funkcijo, vendar se iz njega tvori le 5 odstotkov skupno potrebne glukoze. Glicerol se pretvarja še v mlečno kislino, ki vstopa v cikel citronske kisline ali se v Corijevega ciklusu v jetrih zopet spreminja v glukozo (Cestnik, 1995).

Zmanjšano delovanje Krebsovega ciklusa sproži tudi počasnejšo β -oksidacijo maščobnih kislin, zaradi česar nastaja presežek maščobnih kislin, ki se veže na serumske albumine ali na lipoproteine. Maščobne kisline potujejo v jetra, da bi se tam porabile kot vir energije. To so proste maščobne kisline (NEFA), iz katerih se lahko v jetrih ponovno sintetizirajo trigliceridi, ki delno prehajajo tudi v kri (Wilke, 1998; Cestnik, 1995).

Pri uravnavanju nivoja glukoze v krvi imata zelo pomembno vlogo hormona trebušne slinavke inzulin in glukagon, ki imata nasprotujoče si delovanje. Glukagon pospešuje glukoneogenezo, inzulin jo zavira (Unger in sod., 1976). Ko je nivo glukoze v krvi nizek (posledica pomanjkanja glukogenih substanc), se v organizmu sproži izločanje glukagona, ki mobilizira glukozo iz glikogena. Kasneje sproži mobilizacijo maščob (Cestnik, 1995). Glukagon torej stimulira mobilizacijo glukoze s stimuliranjem glukoneogeneze in glikogenolize ter povečuje ketogenezo (Schade in Eaton, 1975; De Boer in sod., 1985).

Delovanje inzulina je nasprotno glukagonu. Pospešuje prehod glukoze v celice; presežki se pretvarjajo ter nalagajo v jetrih in mišicah najprej v obliki glikogena, kasneje v obliki maščobnega tkiva. Zaradi zmanjšanega nivoja glukoze v krvi se zmanjša tudi koncentracija inzulina. Insulin ne uravnava samo koncentracije glukoze, ampak ima tudi zelo pomembno vlogo pri metabolizmu maščob (Cestnik, 1995). Tako insulin preprečuje lipolizo in vstop maščobnih kislin v kri (Fürl in sod., 1993), pospešuje sintezo trigliceridov in prenos glukoze v jetrne celice. Znižanje koncentracije inzulina v krvi lahko poveča nastajanje ketonskih teles v krvi in pojav ketoze. Zato se za zdravljenje ketoze lahko dodaja hormon insulin (Fürl in sod., 1993).

Zelo pomembni hormoni pri zdravljenju ketoze so tudi glukokortikoidi (GSC), ki aktivirajo glukogenezo in s tem povečajo vsebnost piruvata (Metzner in sod., 1993). Glukokortikoidi povečujejo koncentracijo glukoze in preprečujejo porabo glukoze pri večji koncentraciji inzulina (Vernon in Taylor, 1988).

Za presnovo energije sta zelo pomembna tudi hormona ščitnice T3 in T4. Hormona vplivata na oksidacijske procese v celicah in na samo oksidacijo maščob (Cestnik, 1995). Tudi kateholamini povečujejo glikogenolizo in lipolizo (Holtenius, 1993).

Delovanje hormonov prikazujemo v preglednici 1 ter na slikah 1 in 2.

Preglednica 1: Regulacijski faktorji v presnovi energije (Holtenius, 1993: 56)

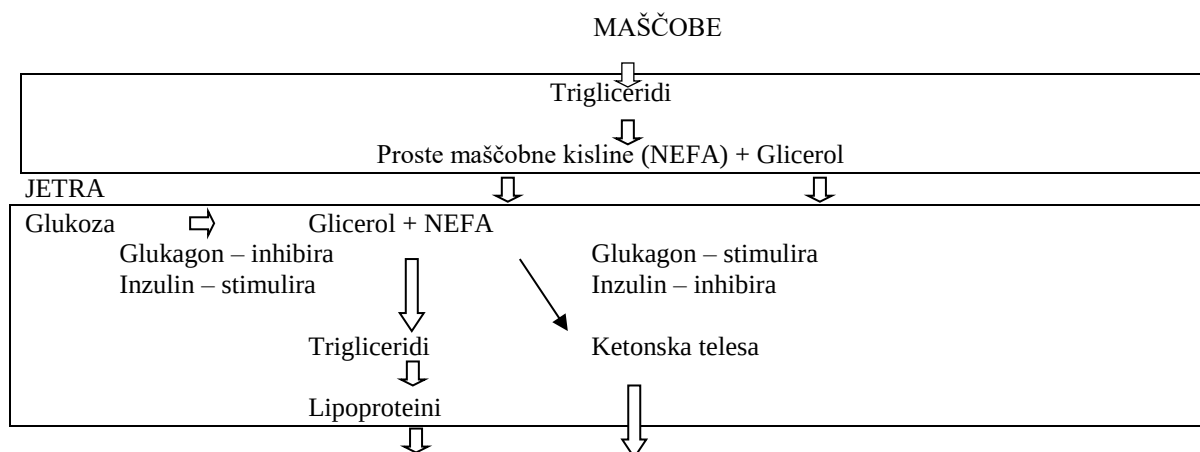
Table 1: Regulating factors in energy metabolism (Holtenius, 1993: 56)

	Inzulin	Glukagon	Kateholamini	Glukokortikoidi
Glukoneogeneza	---	+++		++
Glikoliza	+++			
Glikogeneza	+++	---		
Glikogenoliza	---	+++	+++	++
Lipogeneza				
Maščobno tkivo	(+++)*			
Jetra	+++			
Lipoliza	-	+++	---	
Ketogeneza	---	+++		

+ pospešuje (več kot je znakov intenzivnejši je proces)

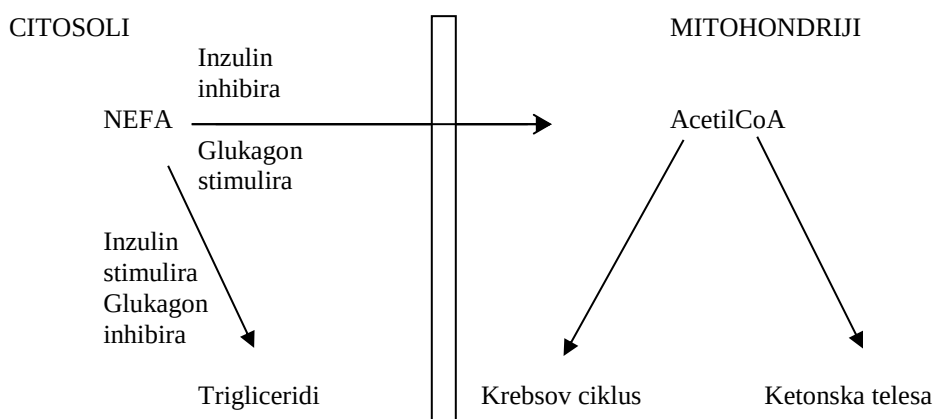
- zavira

* ne delujejo pred porodom



Slika 1: Sproščanje NEFA iz maščob in presnovne poti v jetrih (prirejeno po Holtenius, 1993: 56)

Figure 1: Release of NEFA from fat and metabolic pathways in liver (modified after Holtenius, 1993: 56)



Slika 2: Glavne poti porabe NEFA prostih maščobnih kislin v jetrih (prirejeno po Holtenius, 1993: 57)

Figure 2: Major disposal routes of NEFA in liver (modified after Holtenius, 1993: 57)

Slika 1 nam kaže sproščanje NEFA iz maščob ter presnovne poti teh v jetrih. Na sliki 2 je prikazan prehod NEFA iz citosolov v mitohondrije.

2.2 VRSTE KETOZE

Oetzel (2007) loči tri oblike ketoze: primarno ketozo ali ketozo v tipu II, nepravo ketozo ali ketozo v tipu I in ketozo zaradi krmljenja velikih količin maslene kisline.

Ketozi tipa I in II se pojavljata v poporodnem obdobju, druge oblike ketoze (lačna ali sekundarna ketoza) lahko nastanejo tudi kasneje (Zadnik, 1996).

2.2.1 Ketoza tipa I

Ta oblika ketoze prizadene krave, ki so ob porodu sicer v normalni kondiciji, ne uspejo pa pokriti povečanih potreb po energiji po porodu. Zaradi neustreznega krmnega obroka, to je skromnega krmljenja in preslabe kakovosti krme, nastane ketoza tipa I. Ketoza tipa I je po

svojih značilnostih zelo podobna tipu I sladkorne bolezni pri ljudeh, ker je pri obeh oblikah v krvi zelo nizka raven inzulina. Pri sladkornih bolnikih je vzrok za to slabo delovanje trebušne slinavke, pri kravah pa nizka koncentracija glukoze v krvi (kronično pomanjkanje glukoze). Za ta tip ketoze je značilna nizka raven inzulina na začetku laktacije, in to tudi ob dodatku glukoze. Živali imajo zelo visoke vsebnosti BHB in NEFA v krvi. Zelo visoka vsebnost BHB v krvi je pokazatelj obolenja tega tipa. Najpogosteje se pojavi od treh do šestih tednov po telitvi. To je obdobje, ko se mlečnost krav povečuje, zaradi česar zelo narastejo potrebe po energiji, ki jih z obrokom ne moremo pokriti. Krave, obbolele za ketozo tipa I, običajno nimajo težav v dobi presušitve in ob telitvi. V začetku laktacije imajo visoko mlečnost. Kondicija teh živali je skromna. Ta tip ketoze je lažje ozdravljiv, saj protiketozna zdravila in ostali prehranski dodatki učinkujejo dobro. Težav je več pri čredah s ketozo tipa I, v katerih ne krmijo enolončnic (TMR), saj pri takšnem načinu krmljenja dosegamo višjo konzumacijo in manj prebiranja krme. S tem naj bi se izognili acidozi vampa, ki posredno, to je preko poslabšanja konzumacije krme, vpliva na možnost pojava ketoze. Ketoza tipa I se lahko pojavi tudi zaradi visoke vsebnosti beljakovin v obroku (več kot 19 % v sušini (SS) obroka) in hkrati nizke koncentracije energije obroka (manj kot 6,3 MJ NEL/kg SS; Oetzel, 2007).

Ketoza tipa I imenujemo tudi lačna ketoza, in to zlasti takrat, ko so živali v zelo slabi kondiciji po porodu, čeprav se lahko lačna ketoza pojavlja tudi v kasnejši fazi laktacije, ko je vzrok za nastanek druga bolezen. Ketoza tega tipa imenujemo tudi sekundarna ketoza. Ta oblika ketoze zelo zniža mlečnost, saj s tem organizem varuje pred velikim energijskim deficitom in zavira lipolizo, ki je pri tej obliki manj intenzivna. Za to obliko ketoze sta značilna nizek odstotek beljakovin in visoka vsebnost sečnine v mleku. Vsebnost mlečne maščobe je v začetku laktacije povečana zaradi prekomernega hujšanja oziroma povečanega dotoka maščobnih kislin iz maščobnih depojev. Sekundarno ketozo povzročijo torej druge bolezni, ki zmanjšujejo konzumacijo in s tem pomanjkanje energije in prekomerno hujšanje (Rossow in sod., 1991).

2.2.2 Ketoza tipa II

Ketoza tipa II je bolezen debelih krav, vzroki za nastanek pa se običajno začnejo že pred porodom. Zanj so zelo dovzetne debele krave, pri katerih poteka posebej močna razgradnja maščob že pred telitvijo. Pogosto gre za sintezo maščob v jetrih pred porodom, kar vodi do nastanka zamaščenih jeter (hepatogena ketogeneza). Ketoza se pojavi med prvim in drugim tednom po telitvi ter je posledica negativne energijske bilance. Selekcija na visoko mlečnost ni prinesla hkrati tudi večje konzumacije krme. Koncentracija ketonskih teles v krvi znižuje konzumacijo krme. Zato je povečana ketogeneza v tem obdobju pomembna reakcija na te procese. Prežvekovalci imajo sposobnost, da lahko v nekaterih organih dobro izkoriščajo ketonska telesa kot vir energije. Visoka koncentracija ketonskih teles do neke mere varčuje porabo glukoze v teh organih. To potrjujejo tudi primeri, ko se intenzivna ketogeneza pojavlja pri kravah, ki so zelo dobro oskrbljene z žiti, kajti nastali propionati, ki so glavni produkt razgradnje ogljikovih hidratov v vampu in najpomembnejši vir za glukoneogenezo, povečujejo mlečnost, negativne energijske bilance pa ne zmanjšujejo (Gürtler, 1988, cit. po Rossow in sod., 1991).

Za obliko ketoze tipa II je značilna nizka koncentracija inzulina (Oetzel, 2007; Herdt, 2000).

Ketoza tipa II je v svojih lastnostih podobna sladkorni bolezni tipa II pri človeku. Značilno je, da sta tako koncentracija inzulina in glukoze v začetku laktacije visoki, kasneje se vsebnosti močno zmanjšata. Zaradi prevelike telesne mase živali se pojavlja rezistenca na inzulin. Predebele krave močno razgrajujejo telesno maščobo zaradi negativne energijske bilance ali zaradi drugih stresnih okoliščin. Za to obliko sta značilna povečanje koncentracije trigliceridov v jetrih in tvorba ketonskih teles. Zlasti je povečana koncentracija NEFA v krvi (Oetzel, 2007).

Ketoza tipa II se torej pojavlja pri kravah, ki so predebele pred porodom, saj posebej močno zmanjšajo konzumacijo že pred telitvijo in po njej. Je težje ozdravljiva kot ketoza tipa I. Zdravljenje je pogosto neuspešno in se konča s poginom živali. Krave s ketozo tipa II lahko zbolijo tudi za vnetjem maternice, mastitisom in pljučnico ali imajo zamaščena jetra. Krave s ketozo tipa II so torej dovzetnejše za druge bolezni, saj imajo oslavljen imunski sistem (Van Knegsel in sod., 2007).

Za zmanjšanje možnosti nastanka ketoze tipa II moramo še posebej paziti na ustrezen krmni obrok v času presušitve in po porodu ter na ustrezno oskrbo živali. Vzroki za to obliko ketoze so še:

- visok delež maščob v krmi pred porodom, ki pospešuje poporodno lipolizo;
- različna obolenja, ki zmanjšajo konzumacijo krme;
- genetsko nagnjenje k povečani lipolizi in slabemu izkoriščanju (oksidaciji) maščob;
- krmljenje krme slabe kakovosti in krme z nizko vsebnostjo energije in
- energijsko pomanjkljiva prehrana pred porodom, ki poveča lipolizo že pred porodom (Rossow in sod., 1991).

Pri ketozi tipa II imajo živali pogosto zamaščena jetra, ki so predhodnica ketoze (Pevec, 2008). Pri bolezni zamaščenih jeter lahko maščobe zavzamejo do 60 odstotkov prostornine jeter. Zaradi tega je moteno delovanje jeter, motena je presnova acetoacetata in sinteza glukoze (Cestnik, 1995).

Smith in sod. (1997) ugotavljajo, da so krave z razmerjem med jetrnimi trigliceridi in glikogenom 2 : 1 ob telitvi razmeroma nedovzetne za ketozo, pri širšem razmerju pa se pojavi ketoza. Pomemben vzrok za nastanek zamaščenih jeter je lahko močno zmanjšana konzumacija obroka pred porodom. Zmanjšanje konzumacije se lahko dogodi že dva tedna pred porodom, saj se takrat zmanjša prostornina vampa, na katero vpliva povečanje velikosti plodu. Na konzumacijo vplivajo tudi hormonalne spremembe, prilagajanje na novo krmo in spremembe v vampovi mikroflori (Pevec, 2008). Zamastitev jeter je pogosto povezana s prekomerno izgubo telesne kondicije po porodu (Moore in Ishler, 1997).

2.2.3 Ruminogena ketogeneza ali ketoza zaradi krmljenja obrokov z veliko vsebnostjo maslene kisline

Pri ruminogeni ketogenezi sta vzroka za nastanek ketoze krmljenje obrokov z veliko vsebnostjo maslene kisline (slaba silaža) ali v vampu sintetizirana maslena kislina, ki se potem v vampovi sluznici spremeni v BHB. Ta prehaja v kri in se v presnovi porablja za sintezo mlečne maščobe ali deluje kot ketonsko telo. Vzrok za to ketogenezo je lahko tudi visok delež maščob v obroku. Rossow in sod. (1991) navajajo, da je krmljenje silaže z visoko

vsebnostjo maslene kisline za zdravje živali škodljivo in lahko pri večji količine le-te privede do ketoze.

Lavrenčič (2008) ne priporoča obroka, v katerem je prisotnih več kot 50 g maslene kisline/kg suhe snovi obroka. Takšnega obroka, v katerem je prisotna maslena kislina, živali tudi manj zaužijejo, kar je še posebej neugodno na začetku laktacije.

Rossow in sod. (1991) so ketozo, povzročeno zaradi velike vsebnosti maslene kisline v obroku, poimenovali ruminogena ketoza. Trdijo, da ta ne povzroča zamaščenih jeter, ker v krvi ni prostih maščobnih kislin, nivo glukoze je normalen. Pojavlja se le občasno.

Na splošno velja, da so silaže, ki vsebujejo veliko maslene kisline, tudi slabše kakovosti in z vidika koncentracije energije manj primerne za krmljenje. Zato Rossow in sod. (1991) ter Zieger (2001) menijo, da vzrok za nastanek tega tipa ketoze ni v sami škodljivosti maslene kisline, ampak na splošno v slabi kakovosti silaže, ki je hkrati tudi energijsko revna.

Značilnosti ruminogene ketogeneze so:

- pojavlja se občasno;
- ni povečane koncentracije NEFA v krvi (ni lipolize, ni negativne energijske bilance);
- ni hipoglikemije;
- ni pojava zamaščenih jeter;
- opazna je tendenca povečanja izločanja inzulina (Rossow in sod., 1991).

Ruminogena ketoza, ki jo imenujejo tudi alimentirana ketoza, se torej pojavi pri krmljenju silaže, ki vsebujejo veliko maslene kisline. Zadnik in sod. (1994) so ugotovili, da so imele krave povišano vsebnost acetona, če je bilo v silaži med 0,20 in 1,07 odstotka maslene kisline.

2.2.4 Klinična oblika ketoze

Ketoza lahko poteka v prikriti (subklinični) ali klinični obliki z vidnimi zunanji znaki bolezni. Za klinično obliko zbolijo približno od 4 do 5 odstotkov krav (Oetzel, 2007; Zieger, 2001).

Posledice klinične ketoze so naslednje:

- manjša ješčnost;
- zmanjšanje mlečnosti (z od 20 do 30 kg mleka/dan na od 1 do 2 kg mleka; mleko je podobno smetani in diši po ketonih);
- izguba telesne kondicije (hujšanje za 50 kg in več na teden, lahko do popolne izčrpanosti);
- prežvekovanje je prizadeto in povsem preneha;
- živali imajo zadah po acetonu;
- živali pijejo malo ali zelo veliko;
- živali redko blatijo;

- iztrebki so trdi in obdani s sluzjo;
- dlaka postane resasta in ne bleščeča, koža je suha in neprožna;
- vime je mlahavo (Detilleux in sod., 1994).

Krave s klinično ketozo imajo statistično značilno manjšo mlečnost (Lean in sod., 1994) in statistično značilno manjše zauživanje suhe snovi. Klinična oblika ketoze lahko prizadene samo prebavila ali tudi živčni sistem. Tako ločimo:

- digestivno obliko, pri kateri so prizadeta samo prebavila, in
- živčno obliko, pri kateri je prizadet živčni sistem (Gregorovič, 1982).

Pri živčni obliki ketoze se pojavljajo motnje v delovanju živčevja, kar se pozna na gibanju živali in njeni drži, ki je nenaravna. Živčni napadi so po navadi kratkotrajni (vsakih 8 do 12 ur). Klinična oblika ketoze lahko privede do večje pogostosti:

- mastitisa,
- zasuka siriščnika (dislokacije siriščnika),
- cist na jajčnikih,
- infekcij reproduktivnih poti,
- bolezni nog in sklepov (Lean in sod., 1994).

Za rejca in veterinarja je pojav klinične ketoze opozorilo, da je pri molznicah v zgodnjem laktacijskem obdobju v čredi prisotna še subklinična ketoza (Lean in sod., 1994).

2.2.5 Subklinična oblika ketoze

V mnogih obratih skoraj vsaka tretja krava boleha za subklinično ketozo. Devetdeset odstotkov subklinične ketoze se pojavi v prvih šestih tednih laktacije. V prvih dveh tednih laktacije kaže povečanje vsebnosti ketonskih teles v krvi že skoraj ena tretjina krav (34 %) (Zieger, 2001).

Suthar in sod. (2013) navajajo različno razširjenost subklinične ketoze po posameznih evropskih državah. Povprečna razširjenost subklinične ketoze (koncentracija BHB v krvi nad 1,2 mmol/L) je bila v državah, v katerih so opravili študijo, 21,8-odstotna. Najbolj je bila razširjena v Italiji (36,6 %), medtem ko je bilo v Turčiji le 11,2 odstotka krav, obolenih s subklinično ketozo. V Sloveniji so ugotovili subklinično ketozo pri 24 odstotkih krav po telitvi (2 do 15 dni po telitvi), na Hrvaškem pa le pri 14,8 odstotka.

Traulsen (2012) navaja, da znakov subklinične ketoze pogosto ne prepoznamo, čeprav je leta prisotna pri kar 30 odstotkih krav v zgodnji fazi laktacije. Takšne krave pogosto spregledamo. Krave s subklinično ketozo imajo vedno povečano vsebnost ketonskih teles, ki imajo negativni ekonomski učinek zaradi zmanjšanja mlečnosti in plodnostnih problemov; imajo pa tudi večjo občutljivost na druge bolezni, kot so zasuk siriščnika, zaostajanje posteljice, vnetja maternice in cist na jajčniku ter obolenja parkljev.

Pri subklinični ketozi zunanji znaki niso opazni, zmanjšana je mlečnost, manjša je vsebnost beljakovin mleka, plodnost je slabša, živali izgubljajo telesno maso. Subklinična oblika ketoze lahko zelo hitro preide v težjo obliko, v klinično ketozo (Oetzel, 2007; Zieger, 2001).

O subklinični ketozi torej govorimo takrat, ko še ni opaznih zunanjih znakov, povečane pa so koncentracije ketonov v krvi ali mleku (Lean in sod., 1994). O subklinični ketozi govorimo takrat, ko je prekoračena koncentracija 1,2 mmol/L BHB v krvi, pri koncentraciji BHB v krvi nad 2,9 mmol/L pa o klinični obliki ketoze (Oetzel, 2013). Prav tako govorimo o subklinični ketozi takrat, ko je v krvi več kot 0,70 mmol/L NEFA (Krempasky in sod., 2014).

Subklinična ketoza povečuje verjetnost dislokacije siriščnika, še zlasti če se ta začne zgodaj po porodu. Krave, ki so zbolele za ketozo med tretjim in petim dnevom po porodu, so bile 6,1-krat dovzetnejše za dislokacijo siriščnika kot krave, ki so bile pozitivne po šestem dnevu (Mcart in sod., 2012).

2.3 UGOTAVLJANJE OBOLELOSTI ZA KETOZO

Ketoza moramo odkriti pravočasno. Ker bolezen poteka večinoma subklinično in neopazno, jo pogosto spregledamo. Posledice subklinične ketoze so zasuk siriščnika, zaostajanje posteljice, vnetje maternice, zmanjšanje mlečnosti, slaba plodnost in mastitis (Suthar in sod., 2013).

V Sloveniji v praksi nimamo razširjenih natančnih metod za določanje subklinične ali klinične oblike ketoze. Mnogi kmetijski svetovalci in drugi strokovnjaki si pomagajo na osnovi razmerja med vsebnostjo mlečnih maščob in beljakovin mleka (Mahlkow-Nerge, 2006). Mahlkow-Nerge (2006) opozarja, da je sum na ketozo pri razmerju med vsebnostjo mlečnih maščob in beljakovin mleka, širšem od 1,5 : 1. Vendar so te ocene razmeroma nenatančne, podatke pa pogosto dobimo s precejšnjim časovnim zamikom. Zato se v praksi uvajajo nove metode, ki so natančnejše in hitrejše (Oetzel, 2013).

2.3.1 Metoda ugotavljanja BHB v krvi s prenosnimi merilniki

Vzorci za analizo vsebnosti BHB v krvi je bilo treba še pred nekaj leti pošiljati izključno v laboratorij, kar je predstavljalo strošek in zakasnele rezultate analize. Zato se v zadnjih letih vse bolj uveljavljajo hitre metode določanja BHB v krvi z elektronskimi mobilnimi testnimi aparati, ki se uporabljajo v humani medicini za sladkorne bolnike (Struck, 2014).

Z ročnimi merilniki merimo vsebnost glukoze in BHB v krvi ljudi. V zadnjih letih se enaki merilniki uporabljajo tudi za meritve vsebnosti BHB v krvi živali. Za uporabo pri živalih niso potrebne posebne nastavitve, saj lahko od merjenja glukoze hitro (takoj) preidemo k meritvam BHB. V tem primeru spremenimo le kalibracijsko kodo; nekateri novejši aparati pa so umerjeni že avtomatsko. Obstajajo tudi aparati, ki jih moramo ob vsaki novi pošiljki testnih lističev kalibrirati na novo. Sistem upravljanja merilnikov je enostaven. Test deluje na osnovi dodanega encima in na osnovi spremembe elektronov pri reakciji. Listič vsebuje encim β -hidroksibutirat dehidrogenazo. BHB dehidrogenaza sproži oksidacijo BHB v acetoacetat. Pri tem se NAD^+ reducira v NADH in kasneje ponovno oksidira v NAD^+ . To izmenjavo elektronov zmeri merilnik. Izmenjava elektronov je v sorazmerju s koncentracijo BHB (Oetzel, 2013).

Prenosni merilniki za določanje vsebnosti BHB v krvi so zelo natančni. Iwersen in sod. (2009) so dobili koeficient determinacije v primerjavi z analizo krvi v laboratoriju 0,94 ($r^2 = 0,94$). Oetzel (2010) ter Krempasky in sod. (2014) so določili koeficient determinacije med 0,86 in 0,88. Utemeljujejo ga z nizkimi temperaturami v času merjenja, ki poslabšajo občutljivost lističa. Iwersen in sod. (2013) tega ne potrjujejo. V Sloveniji so Ježek in sod. (2011) preskušali prenosni merilnik za določanje vsebnosti BHB v krvi (Optium Xceed). To metodo so primerjali z UV-kinetično encimatsko metodo na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX Daytona za določanje vsebnosti BHB v krvi in ugotovili, da je korelacija med metodama 0,974. Za določanje koncentracije BHB v krvi z ročnimi merilniki potrebujemo le kapljico krvi, ki jo vzamemo iz repne vene. Na trgu so tudi posebne iglice, s katerimi dobimo kri iz kapilar v predelu sramnice ali ušes. Težava nastopi ob premajhni količini krvi za analizo. Pri tem hitrem testu kapljico krvi naneseemo na listič, počakamo 8 do 10 sekund in rezultat odčitamo na zaslonu (Hohler, 2015).

Vsebnosti BHB nad 0,6 mmol/L krvi so prvo opozorilo, da se v organizmu dogajajo nezaželeni procesi; ko pa je vsebnost BHB med 1 in 1,4 mmol/L, že govorimo o subklinični ketozi. Ko koncentracija BHB v krvi preseže 1,5 mmol/L, moramo krave že zdraviti (Mahlkow-Nerge, 2013).

2.3.2 Metode določanja BHB in acetona v mleku in v seču

2.3.2.1 Hitre metode za določanje vsebnosti BHB

Hitri testi za določanja ketonov v mleku in urinu so znani že dolgo. Na trgu je nekaj ponudnikov za test urina in mleka (npr. test Rothera, ki določa vsebnosti acetona in acetoacetata v seču). Določanje ketonov v seču je sicer po Strucku (2014) dokaj zanesljivo; problem je v jemanju seča, ki je razmeroma zahteven proces. Nekateri veterinarji jemljejo seč s pomočjo stimulacije okolice vulve, kar pa ni vedno uspešno.

Za določanje vsebnosti ketonov je prav gotovo najprimernejše mleko, ki ga je razmeroma lahko pridobiti. Določanje ketonov v mleku z lističi je običajno manj zanesljivo kot v krvi. Po navedbi Mahlkow-Nerge (2013) je sicer na tržišču nova metoda hitrega določanja s keto lističi (Ketotest), ki je dokaj zanesljiva za hitro določanje vsebnosti BHB v mleku. Pri testu Milk Ketone delimo dobljene podatke na naslednje skupine:

- od 0 do 99 $\mu\text{mol/L}$ je območje normalnih vrednosti (–);
 - od 100 do 199 $\mu\text{mol/L}$ je območje suma na ketozo (+);
 - od 200 do 499 $\mu\text{mol/L}$ je območje za ketozo obolelih živali (+);
 - od 500 in več $\mu\text{mol/L}$ je območje za ketozo zanesljivo obolelih živali (++)
- (Mahlkow-Nerge, 2013).

Iwersen in sod. (2009) ugotavljajo, da je območje subklinične ketoze v mleku nad 200 $\mu\text{mol/L}$ BHB. Pri tej vsebnosti BHB v mleku je bila specifičnost glede na krvne preiskave kar 98-odstotna, kar pomeni, da sta bila le 2 odstotka krav lažno obolela (»false positive«). Občutljivost tega testa je bila slabša, saj veliko dejansko pozitivnih živali niso odkrili.

V Sloveniji uporabljajo za določanje acetona v mleku na veterinarski fakulteti semikvantitativno metodo, pri kateri merijo čas do pojava motnosti po dodajanju reagenta. Dobljene rezultate razdelimo v naslednje skupine (preglednica 2).

Preglednica 2: Koncentracije acetona v mleku (Fatur, 1990: 169)

Table 2: Acetone concentrations in milk (Fatur, 1990: 169)

Čas v sekundah	Aceton (mmol/L)	Rezultat
360	0	negativen (–)
221 do 360	do 0,15498	sumljiv (+ –)
121 do 220	0,1722 do 0,4133	slabo pozitiven (+)
60 do 120	0,430 do 1,7220	zmerno pozitiven (+ +)
pod 60	nad 1,722	močno pozitiven (+ + +)

2.3.2.2 Laboratorijske metode

Pri semikvantitativnih hitrih metodah je težava v tem, da lahko vsebnosti ketonskih teles razvrstimo po obarvanosti v razrede, dejanske koncentracije pa ne moremo določiti. Tako dobljenih razredov ne moremo uporabljati v raziskavah, saj je lahko ocena vsebnosti ketonskih teles precej subjektivna. Zato raziskovalci iščejo nove metode za kvalitativno določanje ketonskih teles v mleku. V nekaterih državah že rutinsko določajo vsebnost acetona s kemično metodo. Zelo pogosto uporabljajo metodo Skalar, s katero določamo vsebnost acetona v mleku. Takšne analize opravljajo v laboratoriju Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft (LKS) iz Lichtenwalda. V zadnjih letih se v Evropi širi spektrometrična metoda (FTIR – Fourier transform infrared spectrometry) za določanje koncentracije BHB in acetona v mleku. Metoda FTIR uporablja infrardečo spektrometrijo s Fourierjevo transformacijo. Molekule acetona in BHB različno absorbirajo infrardeče sevanje. Za vsako molekulo je značilen infrardeči absorpcijski spekter. Tako lahko vsebnosti acetona in BHB določimo na osnovi primerjanja spektra spojine z znano strukturo. Spektrometer FTIR meri na valovni dolžini 900 in 4.000 cm^{-1} (Heuer in sod., 2001). Po tej metodi zadnji dve leti določamo vsebnosti acetona in BHB v mleku na Kmetijsko gozdarskih zavodih Ptuj in Ljubljana. Zanesljivost metode FTIR so preučevali Roos in sod. (2007) Med metodo FTIR in kemično metodo Skalar za določanje vsebnosti acetona in BHB so izračunali korelacijo 0,82. Če je bila koncentracija BHB v mleku nad 0,10 mmol/L in vsebnost acetona nad 0,15 mmol/L, potem so bile krave v subklinični ketozi. Pri teh vsebnostih je bilo po njihovih ugotovitvah od 25 do 27 odstotkov živali lažno pozitivnih in od 6 do 7 odstotkov lažno negativnih. Navedli so občutljivost meritve, ki je 69- do 70-odstotna, in specifičnost meritve, ki je 95-odstotna. Roos in sod. (2007) menijo, da je ta metoda ustrezna za ugotavljanje prisotnosti subklinične ketoze v čredi. Prednost te metode je tudi v tem, da z njo določamo tako vsebnosti BHB kot acetona, ki se pojavljata v različnih koncentracijah v posameznih obdobjih po telitvi. Vsebnost acetona v mleku je največja prvi teden, vsebnost BHB v mleku pa tretji teden po telitvi. Po petem tednu po telitvi imajo krave le še povišano vsebnost BHB, medtem ko je vsebnost acetona že v normalnih mejah.

2.3.3 Določanje obolenosti krav s ketozo s pomočjo sestavin mleka

Kot smo omenili že v predhodnih poglavjih, krave po porodu hujšajo zaradi omejene konzumacije energije in na drugi strani visoke mlečnosti. Do določene mere je ta proces

popolnoma normalen. Težave nastopijo pri velikem primanjkljaju energije (visoka mlečnost in slaba konzumacija krme), ki povzroči povečano koncentracijo ketonov v krvi in ketozno obolenje. Če ne določamo vsebnosti ketonskih snovi neposredno v krvi ali v mleku, si lahko pomagamo z opazovanjem naslednjih znakov:

- konzumacije krme (najlažje jo ugotavljamo pri TMR, kjer merimo ponujene količine in ostanek);
- napolnjenosti vampa;
- dnevne mlečnosti krav;
- vsebnosti sestavin v mleku (mlečnih maščob, beljakovin mleka ter razmerja med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka);
- sprememb telesne kondicije krav (Engelhard, 2014).

Še posebej je razširjen način, pri katerem ugotavljamo domnevno obolele krave s pomočjo izračunavanja razmerja med vsebnostjo mlečnih maščob in beljakovinami mleka. Veliko avtorjev meni, da živali, ki imajo razmerje med vsebnostjo mlečnih maščob in beljakovinami mleka širše od 1,5 : 1, prekomerno črpajo telesne rezerve in so domnevno obolele za ketozo (Hoffmann, 2015; Mahlkow-Nerge, 2006; Engelhard, 2014). Engelhard (2014) v svoji študiji ugotavlja, da so imele krave, ki so imele v drugem in tretjem tednu po telitvi razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka širše od 1,4 : 1, statistično značilno višje koncentracije BHB v krvi kot tiste, ki so imele razmerje ožje od 1,4 : 1. Največjo koncentracijo BHB v krvi je imela ta skupina drugi teden po porodu (1,26 mmol/L). Tudi spremembe telesne mase so bile največje v drugem tednu po porodu. Te so bile statistično značilne še osmi teden po porodu. Engelhard (2014) zaključuje, da je razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka v čredah z dobro kondicijo dober pokazatelj energijske bilance pri živalih do 60. dneva laktacije. Upoštevati moramo še preostale parametre, kot so konzumacija obroka, vsebnost mlečne maščobe in beljakovin mleka v prvih 60 dneh laktacije. Hoffman (2015) navaja, da lahko pri razmerju med mlečno maščobo in beljakovinami mleka, ki je širše od 1,5 : 1, sumimo na presnovne motnje, zlasti če so beljakovine mleka nižje od 3,2 odstotka.

Tudi na osnovi visoke vsebnosti mlečnih maščob (nad 5 %) v prvih treh tednih po telitvi lahko sumimo na obolelost s ketozo, še zlasti če je vsebnost beljakovin mleka nižja od 3,25 odstotka (Lotthammer, 1991).

Prav tako lahko iz poteka krivulje mlečnosti domnevamo, katere krave so obolele s ketozo. Če krivulja mlečnosti po porodu ne narašča oziroma če se mlečnost v petem oziroma šestem tednu laktacije ne poveča vsaj za 5 odstotkov glede na mlečnost iz drugega tedna laktacije, lahko sumimo na ketozo (Gustafsson in Emanuelson, 1996).

Razmerja med vsebnostjo posameznih sestavin v mleku in vsebnostjo acetona v mleku prikazujemo v preglednici 3.

Preglednica 3: Korelacijski koeficienti med vsebnostjo acetona, mlečnostjo od 6. do 64. dneva po porodu in sestavinami mleka (prirejeno po Miettinen, 1994: 103)

Table 3: Correlation coefficients between acetone content, milk production from 6 to 64 days postpartum and milk constituents (modified after Miettinen, 1994: 103)

	r*	p-vrednost
Mlečnost (kg)	-0,47	0,0001
Mlečne maščobe (%)	0,34	0,0001
Beljakovine mleka (%)	0,02	0,83
Laktoza v mleku (%)	-0,31	0,0001
Sečnina v mleku (mg/100 ml)	0,01	0,93
Število somatskih celic (/ml)	0,25	0,01

*r = korelacija med posameznimi kazalniki

Iz preglednice 3 vidimo, da je vsebnost acetona v mleku v pozitivni korelaciji z odstotkom mlečnih maščob in s številom somatskih celic ter v negativni korelaciji z mlečnostjo in odstotkom laktoze. Vsebnost beljakovin mleka in vsebnost sečnine nista v statistično značilni povezavi z vsebnostjo acetona v mleku.

2.4 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA POJAV KETOZE

Ketoza prizadene mlečnost, odpornost organizma in plodnost živali. Uspeh zdravljenja je odvisen od pravočasne postavitve diagnoze subklinične ali klinične oblike ketoze (Oetzel, 2013). Na razvoj ketoze vplivajo dejavniki, kot so mlečnost, sezona telitve, starost, kondicija živali in drugo (Vanholder in sod., 2015).

2.4.1 Vpliv mlečnosti na pojav ketoze

Številni avtorji (Detilleux in sod., 1994; Pevec, 2008; Vanholder in sod., 2015) navajajo, da so krave z večjo mlečnostjo dovzetnejše za pojav ketoze. Še zlasti Vanholder in sod. (2015) dokazujejo, da sta subklinična in klinična ketoza povezani z visoko mlečnostjo, še posebej s količino kolostruma pri prvi molži. Duffield in sod. (2009) ugotavljajo, da so krave zmanjšale količino mleka zaradi previsoke koncentracije BHB v krvi (nad 1,4 mmol/L) za 5,5 odstotka. Po Ospina in sod. (2010) je bila mlečnost zmanjšana za 7 odstotkov pri koncentraciji BHB nad 1 mmol/L, po Mcart in sod. (2012) pa za 3,4 odstotka. Razlage za različna zmanjšanja mlečnosti pri subklinični ketozi povzema Oetzel (2013), ki meni, da je zmanjšanje mlečnosti odvisno od stopnje obolevnosti krave za ketozo. Zelo pomembna je koncentracija BHB v prvih 30 dneh po porodu. Če je koncentracija rahlo povišana, je zmanjšanje mlečnosti le neznatno; če pa je koncentracija BHB v krvi že okoli 2,4 mmol/L, je zmanjšanje že 17-odstotno. Zmanjšanje mlečnosti je torej sorazmerno koncentraciji BHB v krvi. Večje zmanjšanje mlečnosti opazimo, tudi če se subklinična ketoza pojavi zelo zgodaj v laktaciji (po 3 do 7 dneh po porodu), kot če se pojavi kasneje v laktaciji (po 8 do 16 dneh) (Oetzel, 2013).

Miettinen (1994) pravi, da je bila mlečnost pri kravah s subklinično ketozo za 2 do 9 odstotka, pri kravah s klinično ketozo pa celo za več kot 26 odstotkov manjša. Mlečnost je prav tako v negativni povezavi z vsebnostjo acetona v mleku v zgodnji laktaciji. Tako je v obdobju od treh do štirih tednov po porodu negativna povezava med vsebnostjo acetona v

mleku in mlečnostjo, prirejo beljakovin mleka in prirejo mlečnih maščob, v obdobju okoli osmega tedna po porodu pa med vsebnostjo acetona in mlečnostjo ter beljakovinami mleka. V tem obdobju lahko opazimo pozitivno povezavo med vsebnostjo acetona in odstotkom mlečnih maščob ter negativno povezavo med vsebnostjo acetona in odstotkom beljakovin mleka. Povezavo med mlečnostjo in vsebnostjo sestavin mleka ter koncentracijo acetona v mleku pri kliničnih in subkliničnih ketozah podajamo v preglednici 4, v kateri so navedene statistično značilne povezave med subklinično in klinično ketozo ter mlečnostjo in sestavinami mleka.

Preglednica 4: Korelacijski koeficienti med koncentracijo acetona v mleku, mlečnostjo in sestavinami mleka pri subkliničnih ketozah in pri kravah s klinično izraženo ketozo (prirejeno po Miettinen, 1994: 104)

Table 4: Correlation coefficients between acetone concentrations in milk and milk yield and milk composition of subclinically ketotic cows and clinically ketotic cows (modified after Miettinen, 1994: 104)

Parameter	Subklinična ketoza		Klinična ketoza	
	r ¹	p	r ¹	p
Mlečnost (kg)	-0,32	0,001	-0,82	0,0001
Mlečne maščobe (%)	0,06	0,53	0,47	0,07
Beljakovine mleka (%)	0,23	0,01	-0,39	0,14
Laktoza (%)	-0,05	0,56	-0,63	0,01
Sečnina (mg/100 ml)	-0,33	0,001	0,53	0,03
SŠSC ² (/ml)	-0,07	0,43	0,54	0,03

¹ Korelacija med parametri, ² Skupno število somatskih celic

Tudi Detilleux in sod. (1994) so ugotovili, da se pogostost pojava ketoze povečuje s povečanjem mlečnosti. Tveganje za pojav tako subklinične kot klinične oblike ketoze je večje pri drugi in naslednjih laktacijah v primerjavi s prvesnicami (Vanholder in sod., 2015).

Po Gröhn in sod. (1995) visoka mlečnost v predhodni laktaciji ni povezana z večjim tveganjem za pojav bolezni po porodu, razen z mastitisom, čeprav so Detilleux in sod. (1994) ugotovili prav nasprotno, namreč da so imele ketotične krave značilno večjo mlečnost v prejšnji laktaciji kot krave, ki niso obolele za ketozo.

2.4.2 Vpliv sezone na pojav ketoze

Najugodnejša sezona za manjšo obolelost s subklinično in klinično ketozo je na nizozemskih kmetijah od oktobra do decembra (Vanholder in sod., 2015), medtem ko je na Finskem med februarjem in marcem ter med oktobrom in decembrom (Detilleux in sod., 1994). V Sloveniji sta Nemec in Zadnik (1997) ugotovila, da se največ subklinične in klinične ketoze pojavlja v zimski mesecih. Detilleux in sod. (1994) navajajo, da so tveganje za pojav ketoze povečale telitve v obdobju med marcem in avgustom.

2.4.3 Starost krav

Detilleux in sod. (1994) so ugotovili, da se s starostjo krav večja pogostost obolenja s ketozo (preglednica 5). V raziskavo so bile vključene krave finske Ayrshire pasme. Krave v višji laktaciji imajo dvakrat višje tveganje za pojav ketoze kot krave v drugi laktaciji in 1,5-krat višje tveganje za pojav dislokacije sirišnika (Gröhn in sod., 1995). Beaudeau in sod. (1994)

ter Vanholder in sod. (2015) so ugotovili, da krave, ki zbolijo za ketozo kot prvesnice, pogosteje zbolevajo tudi v poznejših laktacijah.

Preglednica 5: Vpliv mlečnosti in sezone na pojav ketoze v različnih zaporednih laktacijah (prirejeno po Detilleux in sod., 1994: 3319)

Table 5: Effect of lactation and season on the incidence of clinical ketosis in different parities (modified after Detilleux et al., 1994: 3319)

	Zaporedna laktacija					
	1	2	3	4	5	6
Krave s klinično ketozo (%)	4,8	5,1	7,1	7,7	7,1	6,1
Čas do prve diagnoze (dni)	33,4	33,6	33,0	29,1	29,6	33,2
Ketoza (%)						
– glede na mlečnost v laktaciji (%)						
Pod 5.100 kg	4,0	3,7	5,2	6,5	5,0	4,0
5.100–6.300 kg	4,6	5,5	7,2	8,1	6,7	6,1
Nad 6.300 kg	5,0	6,7	9,3	8,9	9,5	7,6
– glede na sezono telitve (%)						
od januarja do marca	13,4	15,2	18,2	20,4	17,8	14,6
od aprila do maja	6,1	6,7	10,2	10,6	9,7	7,5
od julija do septembra	4,2	3,0	4,5	4,6	3,6	4,6
od oktobra do decembra	9,2	9,0	13,6	13,3	13,5	12,3
Krave s ketozo v predhodni laktaciji in zdravljene v tekoči laktaciji (%)		4,6	6,2	6,0	7,9	9,9

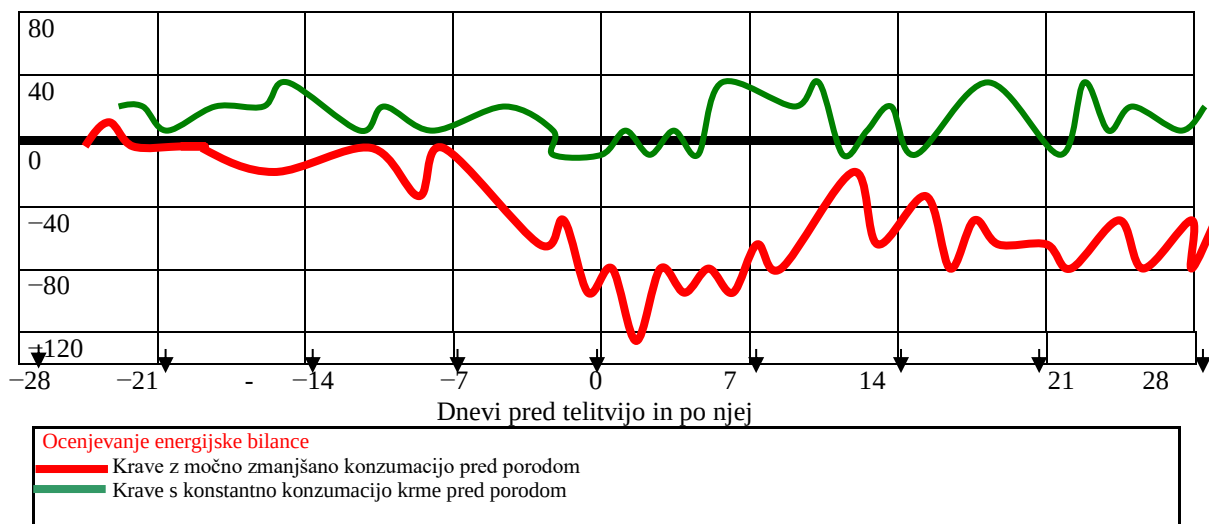
Pestevšek (1985) in Fatur (1990) pojav razlagata tako, da se s starostjo krav poveča sposobnost mobilizacije maščob v poporodnem obdobju, zaradi česar je dovzetnost za ketozo večja. Fatur (1990) je proučeval krave na Tolminskem. Ugotovil je, da so najpogosteje zbolevale za ketozo v tretji in četrti laktaciji.

2.4.4 Telesna kondicija krav ob porodu

Krmljenje krav v predhodni laktaciji vpliva na zdravje živali in količino mleka v tekoči laktaciji. Posebno moramo biti pozorni na ustrezno kondicijo živali ob koncu laktacije in ob porodu (Wilke, 1998; Pevec, 2008). Kot pravi Pestevšek (1985), so v predporodnem obdobju najnevarnejše zamastitve, saj so takšne krave dovzетnejše za klinično in subklinično ketozo. Zato naj bodo krave ob porodu v primerni kondiciji. Zieger (2001) priporoča kondicijo med 3,5 do 4 točkami na pet točkovni skali. Prevelika telesna kondicija ob porodu je privedla do izgube telesne mase, zmanjšanja konzumacije in mlečnosti (Smith in sod., 1997). Velika izguba telesne mase (nad 69 kg) je povezana z levo dislokacijo siriščnika (Østergaard in Gröhn, 1999). Staufenbiel in sod. (1993) navajajo, da lahko ugotavljamo kondicijo oziroma količino naloženih telesnih maščob s pomočjo meritev debeline hrbtnega loja. Tako naj bi bila debelina hrbtnega loja v času presušitve in ob telitvi med 20 in 30 mm, dva tedna po telitvi pa med 19 in 27 mm. Debelina hrbtnega loja naj se v tem obdobju ne zmanjša za več kot 3 mm in do obdobja 16 tednov po telitvi ne več kot za 16 mm. Izguba telesne mase v zadnjih treh tednih pred telitvijo poveča tveganje za pojav presnovnih bolezni in zmanjša mlečnost, zaradi česar prihaja do povečanja vsebnosti NEFA v krvi že pred telitvijo. Preskromno krmljenje krav povzroči hujšanje že v tem obdobju. Nizka koncentracija energije obroka tudi dodatno zmanjša konzumacijo krme (Moore in Ishler, 1997). S povečanjem koncentracije energije obroka v obdobju med drugim in tretjim tednom pred telitvijo se povečata konzumacija krme v tem obdobju in mlečnost po porodu. Prav tako je koncentracija glukoze v krvi višja, nižja pa koncentracija NEFA in BHB v krvi. Zaradi

prenizke koncentracije energije pred porodom prihaja do izgube telesne mase že pred porodom, posledica pa je močno hujšanje po porodu.

Energijska bilanca (MJ NEL/dan)



Slika 3: Vpliv konzumacije pred telitvijo na bilanco energije pred telitvijo in po njej (prirejeno po Wilke, 1998: 10)

Figure 3: Influence of feed intake before calving on energy balance before and after calving (modified after Wilke, 1998: 10)

Krave, ki slabo jedo pred porodom, slabo jedo tudi po njem. Takšne živali so bile v negativni energijski bilanci že pred porodom in so v še izrazitejši negativni bilanci po porodu (slika 3). Pri takšnih kravah se pogosteje pojavljata ketoza in zasuk siriščnika, poveča pa se tudi tveganje za zamastitev jeter (Wilke, 1998). Predobro kondicija pred porodom negativno vpliva na konzumacijo krme po porodu, vendar pa ugotovitve Smith in sod. (1997) tega ne potrjujejo; ugotavljajo namreč, da kondicija živali ni vplivala na zauživanje krme, mlečnost, koncentracijo NEFA in BHB v krvi, prav tako pa tudi ni vplivala na pojav subklinične in klinične oblike ketoze. Istočasno ugotavljajo, da so bile razlike v kondiciji ob porodu in kasneje po telitvi (najnižja kondicija) razmeroma majhne (manj kot 1 točka v 5-točkovnem sistemu ocenjevanja telesne kondicije) tako pri debelih kravah kot pri kravah z normalno kondicijo. Tako je že Mils (1986, cit. po Smith in sod., 1997) ugotovil, da so le krave, ki so po porodu izgubile več kot 1 točko telesne kondicije, dovzetne za nastanek ketoze.

Vsekakor je telesna kondicija eden izmed pomembnih vzrokov za pojav zamaščenih jeter in ketoze (Moor in Ishler, 1997). Avtorja potrjujeta, da predobro kondicija ob porodu pogosto zmanjša apetit, kar se kaže v povečani in podaljšani mobilizaciji maščob ter s tem prekomerni izgubi telesne mase po telitvi. To potrjujejo tudi Vanholder in sod. (2015), ki ugotavljajo, da so krave, ki so imele po porodu oceno kondicije 4, pogosteje zbolele za subklinično in klinično ketozo kot krave, ki so bile suhe (ocena kondicije okoli 3). Prekomerno hujšanje po porodu povzroči tudi izločanje velike količine progesterona in leptina, posledica česar je izostanek pojatvenega ciklusa (Reil, 2010a).

2.4.5 Način reje

Sistem reje in udobje živali v hlevu sta pomembna dejavnika, ki vplivata tudi na pojav dislokacije siriščnika in ketoze. Posebej moramo paziti na zmanjšanje različnih stresnih okoliščin (Fürrl in sod., 1993; Valde in sod., 1997). Navedeni avtorji so ugotovili, da so imele črede z vezano rejo značilno večjo pogostost ketoze in slabšo plodnost ter večjo pogostost mastitisa kot črede s prosto rejo. To potrjujejo tudi norveške raziskave (Simensen in sod., 2010). Avtorji poudarjajo, da sistem proste reje na manjših kmetijah ne pomeni vedno boljšega zdravja, kajti vzrok za nastanek ketoze je lahko predvsem drugačna prehrana. Pri prostih rejah je namreč več krmljenja s krmilnimi avtomati kot pri vezani reji. Zaradi tega so Valde in sod. (1997) v preučevanje pogostosti ketoze vključili le črede, ki so bile krmljene s krmnimi avtomati tako v vezani kot v prosti reji. Kljub temu so več ketoznih obolenj ugotovili v vezanih rejah. Tudi sistem reje, v katerem je pri jaslih nameščena krmna pregrada, poveča tveganje za ketozo (Gustafsson in sod., 1995).

Da bi zmanjšali pogostost presnovnih obolenj, kot je ketoza, moramo biti pazljivi na naslednje kazalnike:

- neoviran dostop do krme za vse živali (tako lahko vse živali jedo hkrati);
- vsaj 75 cm širine prostora na krmilni mizi za posamezno žival;
- ležalni prostor, v katerem lahko živali vsaj od 11 do 12 ur dnevno počivajo (najmanj en ležalni boks za vsako žival oziroma pri globokem nastilju vsaj 10 m² prostora na žival);
- čim bolj omejiti preseljevanje krav iz skupine v skupino;
- bokse za presušene krave in krave po telitvi načrtovati tako, da je za 30 do 40 odstotkov več boksov, kot je mesečnih telitev;
- urediti hlajenje krav (ventilacija, šobe za hlajenje) pri povišani temperaturi hleva oziroma pri temperaturno-vlažnostnem indeksu nad 68;
- krmiti glede na kondicijo krav (Wechselbeziehungen, 2014).

Za zmanjševanje pogostosti ketoz bi morali krave po telitvi, če je le možno, rediti ločeno od ostalih krav molznic, saj so takšne živali običajno oslabele in je zanje vsako prerivanje pred krmilno mizo in pred molziščem velik stres. Ležalni boksi morajo biti zelo udobni, da se lahko živali nemoteno ulegajo in vstajajo. Krave takoj po telitvi bi bilo najbolje rediti na globokem nastilju. Tla morajo biti ne drseča, prostor za bivanje in ležanje dovolj velik. Tako preprečimo socialni stres, ki je, zlasti pri ozkih hodnikih in prehodih, pri kravah po porodu in prvesnicah pogosto prisoten. Zato morajo biti hodniki in prehodi dovolj široki. Če so boksi preobremenjeni, živali premalo ležijo in tudi konzumirajo premalo krme. Že pri 100-odstotni zasedenosti ležalnih boksov se pri prvesnicah konzumacija po telitvi zmanjša za 10 odstotkov, čas ležanja pa za kar 20 odstotkov. Zato bi morale biti v oddelku za krave po porodu vedno več ležalnih boksov, kot je v njem živali, kajti ti dejavniki dodatno vplivajo na nastanek ketoze (Reil, 2010c).

2.4.6 Genetska predispozicija krav za pojav ketoze

Povečanje mlečnosti v zadnjih dveh desetletjih na farmah in kmetijah ni prineslo vedno pričakovanega dobička. Krave z visoko mlečnostjo imajo namreč več težav z različnimi boleznimi. Zato vse več strokovnjakov razmišlja o tem, ali bi selekcija na odpornost proti boleznim lahko prinesla tudi več dobička na kmetijo. Dednostni deleži so za večino bolezni zelo nizki, in to od 0 do 0,15, razen za dislokacijo siriščnika, pri kateri je 0,28. Do sedaj znana dognanja niso optimistična, saj je med mlečnostjo in dovzetnostjo za pojav ketoze tudi visoka genetska korelacija ($r = 0,77$) (Uribe in sod., 1995), hkrati pa je heritabiliteta zelo majhna. Uribe in sod. (1995) so ugotovili, da je dednostni delež za ketozo 0,08, medtem ko so Koeck in sod. (2013) ugotovili, da je dednostni delež za ketozo zgolj 0,02, za dislokacijo siriščnika pa 0,04. Genetska korelacija med odstotkom mlečne maščobe in dovzetnostjo za pojav ketoze je 0,33. Povezava med ketozo in razmerjem med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka (RMB) v mleku je 0,30; če je to razmerje širše od 1,5 : 1, pa 0,35 (Koeck in sod., 2013). Uribe in sod. (1995) ugotavljajo, da je povezava med prirejo beljakovin mleka in pojavom ketoze negativna ($r = -0,30$). Nadalje so izračunali, da je negativna povezava tudi med pojavom ketoze in odstotkom beljakovin mleka ($r = -0,79$). Okoliška povezava med vsemi naštetimi parametri je zelo majhna ($r =$ od $-0,02$ do $+0,09$). Ti podatki kažejo, da bi z upoštevanjem presnovnih bolezni v selekciji verjetno zmanjšali selekcijski napredek pri mlečnosti in vsebnosti mlečne maščobe, medtem ko bi povečali prirejo in odstotek beljakovin mleka. Genetska povezava med dislokacijo siriščnika (DS) in RMB v mleku je 0,26; če je RMB širše od 1,5 : 1, pa 0,28. Korelacija med DS in odstotkom beljakovin mleka znaša $-0,19$. Visok odstotek mlečnih maščob in široko RMB ter nizek odstotek beljakovin mleka so vedno povezani s sumom na presnovne bolezni (Koeck in sod., 2013).

2.4.7 Plodnost in ketoza

Plodnost se v zadnjih letih stalno poslabšuje. Znano je, da so plodnostne težave povezane z negativno energijsko bilanco po telitvi. Zaradi vse večje prirojene sposobnosti krav za sintezo mleka živali na začetku laktacije ne moremo dovolj dobro oskrbeti s hranljivimi snovmi. Kljub velikemu primanjkljaju energije dajejo živali vseeno veliko mleka. Živali zaradi tega vse bolj hujšajo. Zaradi potrebe po laktozi se znižuje koncentracija glukoze v ostalih organih. Zato se sproščajo v kri NEFA, ki še dodatno zavirajo oksidacijo maščobnih kislin, s čimer se ustvarja vse več ketonskih teles v krvi in jetrih. Visoka koncentracija ketonskih snovi v krvi daje organizmu napačne signale, kot da gre za presežek energije, zaradi česar se še dodatno zniža konzumacija krme. To sicer pomaga znižati izločanje glukagona in nastajanje novih ketonskih snovi, vendar ne rešuje pomanjkanja glukoze (Bruckmaier in Bollwein, 2015).

Zaradi pomanjkanja glukoze in presnovnih motenj je vse več živali, ki zbolijo za tako imenovanimi proizvodnimi boleznimi, kot so mastitis, metritis, zamaščena jetra in obolenja parkljev. Krave na pomanjkanje energije reagirajo različno. Kot navajata Bruckmaier in Bollwein (2015), imajo nekatere krave kljub pomanjkanju energije lipolizo v mejah normale. Zato ne moremo vedno avtomatsko reči, da visoka mlečnost krav vedno pomeni tudi slabo plodnost.

Za slednjo sta pomembna dva vzroka. Prvi je, da že sama laktacija zmanjšuje dejavnost jajčnikov, še posebej če opravljamo večkratno molžo na dan. To pojavni cikel zamakne. Vzrok za to je, da hormon prolaktin (za tvorbo mleka) vpliva na izločanje gonotropina (GnRH) in luteinizirajočega hormona (LH). Presnovna obremenitev, ki je največkrat velika pri visoki mlečnosti, je drugi pomemben vzrok plodnostnih motenj. Negativna energijska bilanca vpliva na dejavnost jajčnikov in uspešnost osemenitve kot tudi na odpornost živali (pojav metritisa in endometritisa). Pri kravah, ki so v globoki negativni energijski bilanci, prihaja do neaktivnih jajčnikov in do zakasnele pojavitve. Vzrok za to je nizka koncentracija inzulina in IGF-1 (inzulinu podoben rastni faktor). Zadostna koncentracija teh hormonov je zelo pomembna za normalen razvoj jajčnikov in njihovo delovanje. Za izločanje jajčeca je IGF-1, ki se tvori v jetrih, nujno potreben. Pomanjkanje energije in omejeno delovanje jeter ima uničujoči vpliv na razvoj jajčnikov (Bruckmaier in Bollwein, 2015). Že negativna energijska bilanca pred porodom negativno vpliva na izločanje jajčeca po telitvi. Zaradi bojazni pred zamastitvijo namreč krave v obdobju presušitve zelo skromno krmimo; v osmem in devetem mesecu brejosti potrebuje krava za razvoj plodu veliko energije, zaradi česar lahko prihaja do negativne energijske bilance že pred telitvijo. Poleg tega močna presnovna obremenitev jeter v začetku laktacije vpliva na koncentracijo estrogenov. Ti vplivajo na razvoj jajčnikov, skrajšajo čas gonjenja in njegovo intenzivnost (tiha gonjenja). Vzrok za znižanje koncentracije estrogena je premočna prekrvavitev jeter in s tem istočasna razgradnja hormonov estradiol in progesteron, ki prihajata v nižjih koncentracijah v kri. Tudi zgodnja embrionalna smrtnost, ki se pojavlja v prvih šestih tednih po osemenitvi, je povezana z motnjami delovanja hormonov (progesteron). Embrionalna smrtnost je danes okoli 35-odstotna in se še vedno povečuje. V zadnjih desetih letih letno narašča za 0,5 do 1 odstotka. Tako ima progesteron zelo pomembno funkcijo pri oskrbi plodu s hranljivimi snovmi, ne smemo pa pozabiti, da koncentracija progesterona že v dnevih pred pojavitvijo pomembno vpliva na samo kakovost jajčeca (Bruckmaier in Bollwein, 2015).

Krave, ki imajo povišano vsebnost BHB v krvi nad 1,2 mmol/L (so v subklinični ketozi), imajo 3,4-krat večje tveganje za metritis, kot če je koncentracija pod 1,2 mmol/L (Duffield in sod., 2009). Zanimive so trditve Ospin in sod. (2010), da že koncentracija BHB v krvi nad 0,7 mmol/L poveča tveganje za vnetje maternice (metritis), čeprav Oetzel (2013) zatrjuje, da le koncentracija BHB v krvi nad 1 mmol/L negativno vpliva na plodnost oziroma na uspešnost prve osemenitve. Po njegovem sta zelo pomembna pravočasno odkrivanje ketoze in ustrezno ukrepanje. Pravočasno odkrivanje in dodajanje propilen glikola izboljša uspeh osemenitve za 1,3-krat. Negativni vpliv ketoze na plodnost potrjujejo tudi drugi avtorji (Andersson in sod., 1991; Gustafsson in Emanuelson, 1996; Miettinen, 1995; Pevec, 2008), ki so dokazali, da je plodnost v negativni povezavi s koncentracijo ketonskih teles v krvi ali v mleku. Tudi Zieger (2001) poudarja, da imajo po ugotovitvah kanadskih znanstvenikov krave s subklinično ketozo dvakrat pogostejša vnetja maternice in povečano tveganje za razvoj cist na jajčnikih, čeprav po navedbah Fourichon in sod. (2000) znanstveniki iz ZDA in Kanade negativne povezave niso potrdili. Večina študij vsekakor kaže negativni vpliv presnovnih motenj na reprodukcijo (Pevec, 2008). Andersson in sod. (1991) navajajo, da so imele črede prvesnic z visoko koncentracijo acetona v mleku šest dni daljše obdobje od telitve do osemenitve (servisni interval) in dvanajst dni daljše obdobje od telitve do uspešne osemenitve (poporodni odmor). Povečana pogostost krmljenja je skrajšala obdobje od telitve do prve osemenitve in od telitve do zadnje osemenitve za pet do šest dni. Vsak MJ dodane presnovne energije je v zgodnjem obdobju laktacije skrajšal obdobje od telitve do uspešne

osemenitve za 0,3 dni pri privesnicah in za 0,1 dni pri starejših kravah. Obdobje od telitve do uspešne osemenitve (poporodni premor) je v pozitivni povezavi s prirejo beljakovin mleka, mlečnih maščob in mlečnostjo ter v negativni povezavi z odstotkom beljakovin ($r = -0,22$) (Fourichon in sod., 2000). Slednji prav tako trdi, da pojav klinične ketoze zaostale posteljice povzroča za od 4 do 10 odstotkov slabšo oploditev, kar pomeni v povprečju šest do dvanajst dni daljše obdobje od telitve do uspešne osemenitve. Tudi prva osemenitev je kasnejša v povprečju za dva do tri dni, še poudarjajo Fourichon in sod. (2000). Miettinen (1995) ugotavlja, da preventivno dodajanje glikogenih substanc kravam molznicam skrajša obdobje od telitve do prve osemenitve in do uspešne osemenitve. Visoka mlečnost ter prireja mlečnih maščob in beljakovin mleka v celotni laktaciji so povezani z daljšim obdobjem od telitve do uspešne osemenitve (korelacija med PP in mlečnostjo je 0,50, z mlečno maščobo 0,37, z beljakovinami mleka 0,47). Nizek odstotek beljakovin mleka je značilno povezan z daljšim obdobjem od telitve do uspešne osemenitve ($r = -0,45$). Odstotek mlečne maščobe je prav tako v negativni povezavi z dolžino poporodnega odmora (Miettinen, 1995).

2.5 VPLIVI NA POJAV KETOZE

2.5.1 Neustrezna prehrana krav v obdobju presušitve

Pravilna prehrana se ne začne šele v obdobju po telitvi, ampak že mnogo prej, v zadnji fazi predhodne laktacije, v presušitvenem obdobju in pred telitvijo s pravilno pripravo krav na laktacijo. Neustrezno krmljenje pred telitvijo je eden glavnih vzrokov za pojav ketoze. Krave ob porodu naj zato ne bodo ne predebele ne presuhe (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Tako Rossow in sod. (1990) priporočajo, naj bo obrok v presušeni dobi le za vzdrževalne potrebe in rast posteljice, plodu in plodovnih ovojnic ter za nalaganje manjše količine rezervnih maščob. Avtorji navajajo, da je treba že pri 200 dneh predhodne laktacije redno spremljati kondicijo živali, da so krave v zadnji tretjini laktacije že v optimalni kondiciji. Takšno kondicijo naj ohranjajo vse presušitveno obdobje in se ne sme povečati ali zmanjšati. V tem obdobju krmimo za vzdrževanje in za od 4 do 6 kg mleka.

Hinnerk-Alberti in sod. (2012) priporočajo koncentracijo energije v času zgodnje presušitvene dobe od 5,4 do 5,8 NEL/kg suhe snovi obroka; dva do tri tedne pred porodom pa 6,4 do 6,8 NEL/kg SS.

Reil (2010 a) prav tako priporoča podobne normative za zgodnjo presušitveno dobo, ko bi morali obroki vsebovati med 5,5 in 5,7 MJ NEL/kg suhe snovi (SS), za pripravljalno skupino dva do tri tedne pred telitvijo pa 6,5 do 6,8 MJ NEL/kg SS. Reil (2010 a) priporoča za zgodnjo presušitveno dobo med 120 in 130 g izkoristljivih beljakovin (nXP)/kg SS, okoli 3,5 g kalcija/kg SS in 2,2 g fosforja/kg SS ter 1,5 g magnezija/kg SS. V obroku ne sme biti s kalcijem bogate krme, kot so detelja, listje pese, pesni rezanci, lucerna in repica. Krma tudi ne sme biti bogata s kalijem in z natrijem. Kalija ne sme biti več kot 15 g/kg SS obroka. Ne dodajamo melase, pufrov ali sode bikarbone, dodamo pa ustrezno količino vitaminov in mikroelementov (Reil, 2010 a).

Naylor in Ralston (1991) pišeta, da je največja napaka številnih kmetov, ker v dobi presušitve krave krmijo preobilno. Žival sme v tem obdobju dobiti le toliko močnih krmil, da se prebavila nanje navadijo. Krave bi se v obdobju presušenosti smele zrediti za največ 70 kg, kar predstavlja maso posteljice in teleta ter nekaj maščobnih rezerv.

Pred porodom (2 do 3 tedne) moramo krave krmiti obilneje, kajti takrat so potrebe zaradi rasti plodu večje. Preprečiti moramo močno znižanje konzumacije pred telitvijo, ki vpliva na konzumacijo po telitvi. Zato mora biti koncentracija energije v obroku višja. V obroku naj bo tudi že del krme, ki jo bomo pokladali po porodu, da se živali nanjo navadijo (vampovi mikroorganizmi). Obrok naj bo dovolj bogat s škrobom (vsaj 15 % škroba v SS obroka), ki pozitivno vpliva na razvoj aktivnega dela vampa (daljše resice v vampu), hkrati pa vpliva na izločanje inzulina, ki preprečuje hujšanje živali pred porodom. Obrok mora biti torej dovolj koncentriran, istočasno mora biti v njem dovolj fizikalno učinkovite vlaknine, da ne pride do zakisanja vsebine vampa in tveganja za dislokacijo siriščnika (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Razlogi za nižjo ješčnost v tem obdobju so:

- omejena prostornina vampa zaradi velikosti fetusa,
- hormonalne spremembe,
- prilagajanje na nov obrok in spremembe v vampu (Moore in Ishler, 1997).

Glavni cilj vodenja prehrane je doseči optimalno konzumacijo krme v celotni suhi dobi brez povečanja kondicije živali. To dosežemo z visokim deležem travniškega sena v obroku (nad 85 % SS obroka) in z omejeno količino koruzne in travne silaže. V obdobju zgodnje suhe dobe živalim ponudimo več voluminozne krme, proti koncu suhe dobe povečujemo delež močnih krmil. V obroku moramo omejiti tudi delež metuljnic, kajti le-te vsebujejo velik odstotek beljakovin, kalcija in natrija, ki lahko povzročajo poporodno mrzlico. Poporodna mrzlica vpliva na večjo pogostost pojava ketoze (Moore in Ishler, 1997). Mnogi strokovnjaki priporočajo, naj bi presušene krave razdelili v dve skupini (Hulsen, 2012; Moore in Ishler, 1997; Naylor in Ralston, 1991):

- od šest ali osem tednov do treh tednov pred telitvijo (prva skupina),
- od treh tednov pred telitvijo do telitve (druga skupina).

Po Hulsen (2012) moramo pri presušениh kravah kontrolirati naslednje:

- obnašanje pri zauživanju krme;
- polnost vampa: povprečna ocena polnosti vampa v čredi bi morala biti od 3,5 do 4 (med kravami čim bolj izenačena);
- konsistenco blata: dobro formirano, tudi ne predebelo, prav tako naj bo ocena med kravami čim bolj izenačena.

Če konzumacija krme ni zadovoljiva in krave v tem obdobju hujšajo, pogosto prihaja do presnovnih motenj že ob porodu ali takoj po njem. Velik pomen imajo v tem obdobju tudi kationsko-anionska bilanca in krmni dodatki, kot so kvasovke, aminokisline in maščobe (Hulsen, 2012). Preveč kalija v tem obdobju povzroča poporodno mrzlico po telitvi. Prav tako v tem obdobju ne sme biti v obroku preveč beljakovin (ne več kot 14 %), saj le-te

vzpodbuje sintezo kolostruma po porodu. Velika količina kolostruma pomembno vpliva na pojav poporodne mrzlice in ketoze po porodu (Hulsen, 2012; Vanholder in sod., 2015).

Presušene krave morajo imeti možnost istočasnega zauživanja obroka. Zato morajo imeti vse dovolj prostora na krmilni mizi. Optimalna širina prostora na krmilni mizi je nad 80 cm, za manjše pasme, kot je na primer Jersey, pa 0,65 m. Boksi naj bodo suhi in dobro nastlani. Pri globokem nastilju potrebujemo 10 m² prostora na kravo. Če imamo sistem ležalnih boksov, naj bodo ti dovolj dolgi in široki. Dolžina ležalnega boksa naj bo 3,25 m, njegova širina 1,35 m, nastavitev cevi temenske zapore naj bo na višini 1,25 m, deske, ki omejujejo ležalni prostor, naj bodo na dolžini 1,90 m. V tem obdobju moramo preprečiti stres živali, zato jih ne prestavljamo in v hlevu ne povzročamo prekomernega hrupa. Vsaka žival mora imeti na razpolago pitno vodo in dovolj zraka ter prostora. Reja v neugodnih pogojih lahko povzroča stres, ki vpliva na slabšo konzumacijo krme in možnost pojava presnovnih bolezni (Hulsen, 2012).

V obdobju priprave krav (2 do 3 tedne pred porodom) poleg povečanja vsebnosti energije povečamo še koncentracijo beljakovin (od 140 do 150 g nXP na kg suhe snovi). Kalcija naj bo 4,5 g, P 3 g in Mg 2 g na kg suhe snovi. V obrok že vključujemo komponente obroka krav v laktaciji. Delež močne krme omejimo na 25 do 30 odstotkov SS obroka. Preventivno lahko dodajamo propilen glikol in niacin ter vitamin E. Še posebej moramo biti pazljivi na količino kalija in natrija v obroku. Za to obdobje sestavimo krmni obrok za 20 do 24 kg mleka (Reil, 2010a).

Kondicija naj se v času presušitve ne spreminja, kljub temu da so živali prišle v presušitev preveč zamaščene (Moore in Ishler, 1997; Rossow in sod., 1990). Pravilna prehrana v času presušitve je najboljša preventiva tudi pri pojavu poporodne mrzlice, ki povzroča ohromelost telesa (klinična oblika), povečuje pa tudi tveganje za pojav ketoze za 8,9-krat in tveganje za zasuk sirišnika za 4,8-krat (Reil, 2010a).

2.5.2 Oskrba in prehrana po telitvi

Kar 75 odstotkov zdravstvenih težav nastopi v prvem mesecu po porodu. Zato se za to obdobje zahteva, da imajo živali čim več udobja in da jih oskrbujemo intenzivno. Najbolje je, da jih redimo ločeno od ostalih živali, in to v tistem delu hleva, v katerem jih lahko najbolje kontroliramo, saj lahko le tako pravočasno opazimo spremembe v njihovem obnašanju in zdravstvenem stanju. Krave v začetku laktacije ne sodijo v skupino bolnih krav, morajo pa biti v bližini molzišča. Molzemo jih vedno prve, saj to rejcu omogoča, da je nanje še posebej pozoren. Krave morajo imeti istočasen dostop do krme, vode in ležišča. Preprečiti moramo vsak stres, ki ga povzročajo ostale živali, vročina in muhe. Večina bolezni nastopi v prvih 14 dneh po porodu. Pogosto je vzrok zanje slaba konzumacija krme zaradi slabe kakovosti krme, ovir, ki preprečujejo dostop do krmilne mize, omejenega prostora na krmilni mizi ter zaradi premajhnih količin krme, pojava presnovnih motenj, vnetja parkljev, poporodne mrzlice, težkih telitev, socialnega stresa, vročinskega stresa in zakisanja vampove vsebine. V vseh naštetih primerih moramo ukrepati pravočasno. Tako začnemo npr. pri presnovnih boleznih čim prej dodajati propilen glikol in/ali druge energijske dodatke (Hulsen, 2012).

Krava ima prvi dan po telitvi zelo velike potrebe. Zaradi poroda izgubi veliko tekočine, elektrolitov in energije. Zato jo moramo oskrbeti s tekočino, z elektroliti, vitamini in mikroelementi ter energijskimi napitki. Najprej jo moramo napojiti s čim večjo količino vode. Krave zaužijejo takoj po porodu tudi do 80 litrov vode, saj le-ta stimulira delovanje vampa in pospeši krvni obtok. Kravo lahko napojimo še z energijskimi dodatki, kot so propilen glikol, glicerol, natrijev propionat, grozdni sladkor, laktoza ali sirotka v prahu. Prav tako lahko dodamo še vitamine in mikroelemente (Reil, 2010b).

Po porodu moramo poskrbeti za optimalno oskrbo krav z energijo in drugimi hranljivimi snovmi. Zaradi omejene konzumacije moramo povečati koncentracijo energije v obroku, hkrati pa moramo v obroku zagotoviti dovolj fizikalno učinkovite vlaknine. Kravam v tem obdobju dodajamo s škrobom bogato krmo, iz katere se v vampu tvori propionat in kasneje v jetrih glukoza. Pomembno je, da ohranjamo optimalno delovanje vampa in da vsebine vampa ne zakisamo. Še posebej moramo paziti na konzumacijo krme, saj poje krava po porodu ekstremno nizko količino krme (okoli 10 kg suhe snovi na dan). Kasneje v sredini prvega tedna zaužije sicer nekoliko več suhe snovi, a še vedno manj kot 15 kg suhe snovi na dan, prvesnice pa še 1 do 2 kg manj. Zato prihaja prav v tem obdobju do velike negativne energijske bilance, saj začnejo krave na začetku laktacije s prirejo velikih količin mleka, ki lahko presežejo 30 kg mleka na dan, kar je glede na konzumacijo relativno visoko. Na vrhu laktacije lahko takšne krave dosežejo 45 kg mleka in pojedjo 20 do 21 kg suhe snovi. Zaradi velike razlike med zaužito in potrebno energijo krave črpajo telesne rezerve, ki lahko vodijo do presnovnih motenj. Po osmih tednih večina krav izravna količine zaužitih in potrebnih hranljivih snovi. V krmnem obroku krav v začetku laktacije mora biti dovolj energije, beljakovin in ostalih hranljivih snovi. Živali krmimo s posebnim obrokom za krave po porodu. Najbolje jih je krmiti po skupinah z obrokom, pripravljenim v mešalni prikolici (TMR oziroma enolončnica). Specialne krmne mešanice, kot so protiketozna krmila ali protiketozni dodatki, lahko krmimo s krmilnimi avtomati (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Pomembno je tudi, da imajo krave dovolj prostora na krmilni mizi in dobre pogoje reje (Management ..., 2013). Vsaka žival naj ima svoj prostor pri jaslilih, torej mora biti razmerje med številom živali in številom prostorov na krmilni mizi 1 : 1. Živalim moramo krmo večkrat dnevno potiskati na prostor, kjer jo lahko dosežejo. Povprečno krava obišče jaslili 7,3-krat na dan in preživi ob njih šest ur. Živali največ krme konzumirajo zjutraj in zvečer po molži. Zvečer po molži naj bi pojedle kar 60 odstotkov vse krme. Potiskanje krme ponoči (med pol eno in tretjo uro) ni imelo bistvenega učinka na konzumacijo krme. Zelo pa se konzumacija krme poveča pri avtomatskem večkratnem krmljenju obroka (za 1,1 kg suhe snovi na dan), kar pomeni, da ima večkratno pokladanje sveže krme bistveno večji učinek na konzumacijo krme kot samo potiskanje krme k jaslim (Management ..., 2013).

V zgodnji laktaciji mora obrok vsebovati:

- dovolj fizikalno učinkovite vlaknine;
- dovolj lahko prebavljivih ogljikovih hidratov, vendar ne preveč, da ne zakisamo vsebine vampa;
- dodatke, ki pospešujejo izločanje inzulina;
- visoko učinkovite specialne krmne mešanice (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Zaradi napak v prehrani in zaradi pomanjkanja energije lahko krave v tem obdobju pogosto hujšajo. Hujšanje traja, vse dokler se poraba in zauživanje hranljivih snovi ne izenači. Smith in sod. (1997) so ugotovili, da so krave obbolele za ketozo predvsem zaradi energijsko preskromnega krmnega obroka ali zaradi dodatka ketogenih snovi (7 % 1,3-butanediola). Takšne krave so pojedle v povprečju 9 kg manj silaže kot kontrolna skupina, njihova mlečnost se je zmanjšala za 15 odstotkov, izgubile so telesno maso. Energijsko preskromen obrok v tem obdobju je lahko vzrok za nastanek ketoze. Krmljenje ketogenih snovi še dodatno poslabša stanje (Smith in sod., 1997). Podobno ugotavljata tudi Naylor in Ralston (1991), ki navajata, da je pogosta napaka v prehrani krav na kmetijah energijsko preskromen obrok v času laktacije, kar ima za posledico hujšanje živali, zmanjšanje mlečnosti in pojav ketoze.

Tudi Engelhard in Meyer (2009) sta ugotovila, da so ob zmanjševanju deleža močnih krmil krave zaužile manj krme, dosegle slabšo mlečnost in neugodno RMB, ki se je širilo od 1,31 na 1,53 : 1. Koncentracija BHB v krvi je narastla nad 1 mmol/L (več subklinične ketoze), poslabšal se je indeks osemenitev, za sedem dni se je podaljšala doba od telitve do prve osemenitve. Skromna prehrana ne prizadene samo mlečnosti, ampak povzroča tudi več zdravstvenih težav in poslabša plodnost.

2.5.3 Krmljenje krme, ki vsebuje ketogene snovi

Krmljenje silaž, ki vsebuje veliko maslene kisline, lahko predstavlja nevarnost za pojav ketoze (ketoza zaradi krmnega obroka). Maslena kislina, ki je v silaži, je ketogena, torej zvišuje koncentracijo ketonskih snovi v krvi in mleku. Andrews in sod. (1991) navajajo, da je lahko krmljenje obrokov, ki vsebujejo velike količine maslene kisline, vzrok za pojav ketoze. To so potrdili tudi Smith in sod. (1997), ki so v obroke za krave molznice dodajali butandiol, ki je ketogena snov. V silazah z veliko maslene kisline je običajno tudi veliko toksičnih aminov, ki še dodatno zastrupljajo jetra (Zadnik, 1996). Strokovnjaki torej menijo, da so molznice v zgodnjem obdobju laktacije še posebej občutljive na krmljenje s silazami, ki vsebujejo večje koncentracije maslene kisline, saj ta pospešuje tvorbo ketonskih teles in povzroča presnovno neravnovesje v organizmu. Za krmljenje krav molznic v tem obdobju moramo uporabljati le silaže odlične kakovosti, ki ne vsebujejo velikih količin maslene kisline (Lavrenčič, 2008; Rossow in sod., 1991; Smith in sod., 1997; Zadnik, 1996).

2.5.4 Nepravilno krmljenje močne krme

Vpliv pogostosti krmljenja na pojav ketoze so preučevali Gustafsson in sod. (1995). Iz njihove študije je razvidno, da je pogostejše krmljenje zmanjšalo tveganje za pojav ketoze. Pozitivni učinek večje pogostosti krmljenja je večji pri pokladanju večjih količin močnih krmil na dan. Krmljenje močne krme 2- do 3-krat na dan je bilo, če upoštevamo konzumacijo krme in pojav ketoze, manj ugodno kot štirikratno krmljenje. Zato količine močnih krmil, še zlasti če je njihova količina večja od 10 kg, razdelimo na vsaj štiri obroke, s čimer preprečimo tudi zakisanje v ampove vsebine. S pogostejšim krmljenjem močnih krmil povečamo konzumacijo krme, ki je pomemben element pri preprečevanju pojava ketoze. Za pogostost krmljenja je pomembno razmerje med močnimi krmili in voluminozno krmo. Pri visokem deležu močne krme je potrebno pogostejše krmljenje močnih krmil kot pri manjšem deležu. Posebej moramo biti pozorni na pogostost krmljenja močnih krmil v začetku

laktacije, to je do petnajstega dneva po porodu. Takrat lahko visoke količine krmil pri nepravilnem krmljenju povečajo obolenje za ketozo, namesto da bi jo zmanjšale (Gustafsson in sod., 1995). Frekvenca krmljenja je po mnenju Nielsen in Jensen (1991) pri kravah v laktaciji pomemben dejavnik preprečevanja pojava ketoze. Tudi krmljenje voluminozne krme pred močnimi krmili in krmljenje krav pred molžo zmanjša tveganje za pojav ketoze. Tudi za eno uro daljši presledek med krmljenjem voluminozne krme in močnih krmil znižuje tveganje za pojav ketoze (Gustafsson in sod., 1995).

2.6 KRMNI DODATKI ZA PREPREČEVANJE KETOZE IN NJENO ZDRAVLJENJE

Za preprečevanje ketoze in njeno zdravljenje uporabljamo različne protiketozne dodatke (Wilke, 1998; Pevec, 2008).

2.6.1 Protiketozni dodatki

Propilen glikol (1,2-propandiol)

Propilen glikol je običajno v tekoči obliki. Vpliva na fermentacijo v vampu in na presnovo v jetrih. Velik del propilen glikola se v vampu spremeni v propionat; del, ki se direktno absorbira v kri, pa podpira glukoneogenezo v jetrih. Po dodajanju propilen glikola se povečata koncentracija glukoze in inzulina v krvi, koncentracija BHB v krvi in trigliceridov v jetrih pa se zmanjša. Propilen glikol zmanjša tveganje za pojav ketoze. V obdobju ovimljanja krav strokovnjaki priporočajo uporabo 150 ml, takoj po telitvi uporabo od 300 do 400 ml, potem pa uporabo 250 ml propilen glikola za žival na dan (Hinnerk-Alberti in sod., 2012). V starejših navedbah (Wilke, 1998) so priporočljive dnevne doze propilen glikola kar 300 ml zadnjih deset dni pred telitvijo, v obdobju po telitvi pa 400 ml. Zieger (2001) priporoča ob pojavu bolezni celo dvakrat dnevno po 250 ml propilen glikola. Tudi v Rationsgestaltung ... (2013) priporočajo 300 do 400 ml propilen glikola na začetku laktacije, kasneje pa 250 ml dnevno. Vsi navedeni avtorji navajajo, da se po dodajanju propilen glikola zniža koncentracija ketonskih teles v krvi in mleku. Prav tako ima propilen glikol, pomešan v krmilo, pozitiven učinek na presnovo energije.

Natrijev propionat

Poleg protiketoznega učinka Na-propionat zmanjšuje tudi pogostost acidoze vampa (Bigner in sod., 1997). Zieger (2001) priporoča dodajanje Na-propionata pri ketoznih kravah dvakrat na dan po 150 g.

Glicerol (1,2,3-propantriol, glicerol)

Glicerol se v zadnjih letih vse pogosteje uporablja kot protiketozni dodatek, čeprav ga mnogi uvrščajo med energijske dodatke. Prednost glicerina je predvsem v boljši konzumaciji samega dodatka in povečanju celotne konzumacije obroka. Glicerol za prehrano živali naj vsebuje več kot 80 odstotkov čistega glicerola, saj sta od tega odvisni njegova kakovost in učinkovitost. Posebno pazljivi moramo biti pri vsebnosti kontaminantov. V glicerolu ne sme biti več kot 0,2 odstotka metanola, kalija in natrija pa mora biti manj kot 1 odstotek. Glicerol

se v vampu v večjem deležu pretvori v propionsko in masleno kislino. Z njim lahko nadomestimo del škroba v obroku. Običajno glicerol poveča konzumacijo krme, saj ima slahek okus. Če je v surovem glicerinu prisoten večji delež natrijevih in kalijevih soli, ima glicerin grenak okus, zato ga živali ne uživajo radi (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Glicerin ima podoben učinek kot propilen glikol. V težji primerih ketoznih obolenj dajemo prednost propilen glikolu (Hinnerk-Alberti in sod., 2012). Mahlkow-Nerge in Engelhard (2006) poročata o večji konzumaciji krme ob dodajanju glicerina. V poskusu sta ugotovila tudi za 1 kg večjo konzumacijo krme pri starejših kravah kot v skupini s propilen glikolom. Vendar sta v poskusu uporabila razmeroma visoko dozo glicerina (800 g) in nizko dozo propilen glikola (250 g). V poskusu Kmetijske zbornice Schleswig Holstein (Fitter ..., 2010) so primerjali učinek propilen glikola, glicerina in glicerina z dodatkom L-karnitina. Učinek propilen glikola za preprečevanje ketoze je bil najboljši, sledila je kombinacija glicerina in L-karnitina, najslabše pa je ketozo preprečeval čisti glicerin.

Niacin (nikotinska kislina)

Niacin spada med vitamine, ki ga dodajamo v odmerku 6 do 12 g na dan 14 dni do tri tedne po telitvi (Fürl in sod., 1993; Zieger, 2001). Niacin zmanjšuje lipolizo in koncentracijo ketonskih teles ter zmanjšuje zamaščenost jeter. Zdrave krave v primerni kondiciji in optimalnem delovanju vampa ga lahko same tvorijo v zadostnih količinah. Pri čredah v potencialni nevarnosti za pojav ketoze ga dodajamo v količini 6 g na dan (Hinnerk-Alberti in sod., 2012). Miettinen (1995) je ugotovil, da niacin v kombinaciji s propilen glikolom znižuje koncentracije acetona v mleku.

L-karnitin

L-karnitin je vitaminom podobna substanca, ki se lahko tvori v telesu iz aminokislin lizin in metionin. Vpliva na presnovo maščob. Dodajamo ga le v obliki, ki se v vampu ne razgradi. Poznana je funkcija L-karnitina pri prenosu maščobnih kislin v mitohondrije, kjer oksidirajo. L-karnitin zavira lipogenezo in preprečujejo zamastitev jeter. Največji učinek L-karnitina je v količini 2 g na dan (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Holin (holinklorid)

Holin spada med vitamine skupine B. Pri normalni prireji in obsegu prebave živali tvorijo v vampu dovolj holina. Pri povečanem obsegu prebave sinteza v vampu ne zadostuje. Pomembno funkcijo ima pri tvorbi lipoproteinov in prenosu maščob iz jeter. Največji učinek holina je v količini 6 g na žival na dan (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Metionin

Metionin dodajamo samo v vampu nerazgradljivi obliki. Je ena od esencialnih aminokislin, ki ima pomembno funkcijo pri nastanku beljakovin mleka. Metionin ima podobno kot holin nalogo donatorja metilne skupine in pomembno vlogo pri zaščiti funkcij jeter ter tako zmanjšuje tveganje za pojav ketoze. Največji učinek metionina je v količini 5 g na žival na dan (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Žive kvasovke

Pri dodajanju 10 g komercialnega proizvoda kvasovk v obdobju 14 dni pred porodom in 90 dni po porodu so krave izgubile manj telesne mase. V krvi je bilo manj NEFA, nivo glukoze je bil večji. Kvasovke so povečevale delež propionske kisline v vampu predvsem v prvem in drugem mesecu laktacije. Takoj po porodu so pozitivno vplivale na razvoj celulitičnih bakterij (Miettinen, 1995).

Konjugirana linolna kislina (CLA)

Konjugirana linolna kislina povečuje mlečnost, zaradi nižje vsebnosti mlečnih maščob pa izboljšuje energijsko bilanco in na ta način vpliva na zmanjšanje pojava ketoze v čredi (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

Zaščitene maščobe

Zaščitene maščobe povečujejo mlečnost, vendar nimajo učinka na izločanje inzulina. Velika količina zaščitnih maščob povečuje tveganje za pojav ketoze. Zato v času priprave krav na novo laktacijo in v začetku laktacije odsvetujemo krmljenje vseh vrst maščob, tudi zaščitnih, v večjih količinah (Hinnerk-Alberti in sod., 2012).

3 MATERIAL IN METODE

V obdelavo podatkov smo zajeli rezultate analize mleka AT4 kontrole z območja Kmetijskego gozdarskega zavoda Ptuj in Celje. V raziskavo smo zajeli vse krave teh dveh območij, ki so bile vključene v kontrolo mlečnosti, to je okoli 35.000 krav mesečno. Vzorce mleka smo analizirali na območni enoti Kmetijskega zavoda Ptuj in jih poslali na Kmetijski inštitut Slovenije (KIS), kjer so jih obdelali. Na KIS-u so zbrali tudi podatke o telitvah in osemenitvah. V obdelavo smo vključili podatke o mlečnosti in sestavi mleka v prvih 100 dnevih laktacije v obdobju 16 mesecev, od junija 2014 do septembra 2015.

3.1 METODE ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI BHB IN ACETONA V MLEKU

Pri redni mesečni kontroli mlečnosti smo poleg ugotavljanja količine mleka določili še vsebnosti maščob, beljakovin, laktoze, sečnine in število somatskih celic. Dodatno pa smo v teh vzorcih mleka določili še koncentraciji BHB in acetona v mleku s spektrometrično metodo (FTIR - Fourier transform infrared spectrometry metodo). Metoda FTIR je razmeroma nova in nepoznana v Sloveniji. Tako določamo vsebnosti BHB in acetona na Kmetijsko gozdarskem zavodu Ptuj (KGZ Ptuj) in Kmetijsko gozdarskem zavodu Ljubljana (KGZ Ljubljana). Na KGZ Ptuj določamo aceton in BHB s pomočjo FTIR metode slabi dve leti, vendar smo prve umeritve opravili šele v maju 2014.

Vsebnosti BHB in acetona v mleku (BHB_{FTIR} in Ac_{FTIR}) smo določili z aparatom Milcoscan firme Foss, s katerim določamo tudi druge sestavine mleka.

Vsebnosti acetona smo določali tudi z metodo Skalar (Ac_{SKALAR}). Vsebnost Ac_{SKALAR} so določili v laboratoriju Landwirtschaftliche Kommunikations und Servicegesellschaft (LKS) iz Lichtenwalda v Nemčiji.

V Evropi nismo našli laboratorija, ki bi rutinsko določal vsebnosti BHB v mleku s kemičnimi metodami. Zato smo določali vsebnosti BHB v krvi z UV kinetično encimsko metodo na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX Daytona, ki jo opravljajo na Veterinarski fakulteti v Ljubljani ($BHB_{Daytona}$) in s prenosnim merilnikom FreeStyle Optium (BHB_{FSO}).

3.1.1 Določanje vsebnosti acetona v mleku

Na terenu smo zbrali 900 vzorcev mleka v treh paralelkah. V prvi paralelki, to je v prvih 900 vzorcih mleka, smo vsebnosti acetona (Ac_{FTIR}) določili še isti dan (13. 5. 2015; Ac_{FTIR1}). Pri določanju vsebnosti Ac_{FTIR} smo izbrali 15 vzorcev, v katerih je bila vsebnost Ac_{FTIR1} večja od 0,15 mmol/L; 18 vzorcev, v katerih je bila vsebnost Ac_{FTIR1} med 0,10 in 0,15 mmol/L; in 12 vzorcev, v katerih je bila vsebnost Ac_{FTIR1} manjša od 0,10 mmol/L. Izbranih vzorcev je bilo skupno 45. Dne 18. 5. 2015 smo določili vsebnosti acetona v vzorcih druge in tretje paralelke, ki so bili isti kot tisti, ki smo ji izbrali v prvi paralelki. Vsebnosti acetona v drugi paralelki (45 vzorcev) so določili v laboratoriju LKS iz Lichtenwalda (Nemčija; Ac_{SKALAR}), kamor smo poslali zamrznjene vzorce mleka. Vzorce tretje paralelke smo tega dne analizirali tudi na KGZ Ptuj z metodo FTIR (Ac_{FTIR2}).

3.1.2 Določanje vsebnosti BHB v krvi z avtomatskim biokemijskim analizatorjem (Daytona) in prenosnim merilnikom (FreeStyle Optium)

Vsebnost BHB v krvi ($BHB_{Daytona}$) smo ugotavljali v kliničnem laboratoriju Klinike za prežvekovalce Veterinarske fakultete v Ljubljani, kjer merijo vsebnost BHB z UV-kinetično encimsko metodo na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX Daytona. V ta namen smo odvzeli vzorce krvi 26 živalim, za katere smo sumili, da so obbolele za ketozo, neposredno po porodu. V mleku teh živali smo določili tudi vsebnost BHB_{FTIR} .

V nadaljevanju smo določali vsebnosti BHB v krvi tudi s prenosnim merilnikom FreeStyle Optium (BHB_{FSO}). Na ta način smo analizirali kri 63 krav, od katerih je bilo 48 krav v prvi tretjini laktacije, pri 15 molznicah pa smo določili vsebnost BHB_{FSO} šele, ko je bila vsebnost BHB_{FTIR} višja od 0,10 ali od 0,20 mmol/L. Te določitve smo izvedli med junijem in oktobrom 2015.

3.2 STATISTIČNA ANALIZA PODATKOV VSEBNOSTI BHB IN DRUGIH PARAMETROV MLEČNOSTI IN PLODNOSTI KRAV

Podatke smo obdelali s statističnim programom R (R development Core Team) na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Pred obdelavo podatkov smo združili rezultate analiz mleka, dobljenih z aparatom Milkoscan ter podatke o mlečnosti in plodnosti, ki jih zbiramo ob redni mesečni kontroli mleka. Podatke o vsebnostih BHB_{FTIR} in Ac_{FTIR} smo zbirali na KGZ Ptuj in smo jih dobili istočasno z drugimi sestavinami mleka. V obdelavo smo vključili vse podatke kontrole mlečnosti in vsebnosti BHB ter Ac z območja KGZ Ptuj in Celje pri živalih med 5. in 100. dnevom laktacije v obdobju med junijem 2014 in avgustom 2015. Tako smo v obdelavo vključili 144.162 podatkov o mlečnosti in sestavi mleka, 75.400 podatkov o trajanju obdobja od telitve do uspešne osemenitve (poporodni premor; PP), 83.306 podatkov o trajanju obdobja od telitve do 1. osemenitve (servisni interval; SI), 31.840 podatkov o trajanju obdobja od prve osemenitve do uspešne osemenitve (SP) in 84.118 podatkov o indeksu osemenitve (preglednica 8). Struktura v obdelavo vključenih podatkov glede na pasmo in zaporedno laktacijo je prikazana v preglednici 6, kjer vidimo, da sta črnobela in lisasta pasma zajeti približno v enakem številu, rjava pasma, križanke s lisasto ter ostale križanke pa manj. Število vključenih krav v obdelavo je bilo 45.225, ki so bile v največjem številu razporejene v skupino tretje laktacije in več.

Preglednica 6: Število in pasemska sestava krav ter zaporedne laktacije vključenih v obdelavo
Table 6: Quantity and breed structure with parity of all dairy cows included in data

Pasma	Število kontrol	Štev. krav	Laktacije			Vseh laktacij
			1	2	3+več	
Rjava	15954	4775	1495	1292	2594	5381
Lisasta	49301	15258	5132	4353	7890	17375
Črnobela	51001	16497	6243	5080	7315	18638
Križanke s lisasto	15509	4894	1474	1260	2779	5513
Ostale križanke	12397	3801	1442	1113	1779	4334
Skupaj	144162	45225	15786	13098	22357	51241

Podatki, ki smo jih vključili v obdelavo, so zajemali vsebnosti BHB (BHB_{FTIR} , $BHB_{Daytona}$, BHB_{FSO}) in acetona v mleku (AC_{FTIR} in AC_{SKALAR}), količino mleka (KGML), odstotek mlečnih maščob (MA), odstotek beljakovin mleka (BE), odstotek laktoze (LA), razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka (RMB), vsebnost sečnine v mleku (UREA_MG), število somatskih celic v mleku (SŠSC), izraženih kot naravni logaritem števila somatskih celic (LnSSC), število molznih dni od telitve do kontrole (stadij laktacije; MD), število dni od telitve do uspešne osemenitve (poporodni premor; PP), število dni do prve osemenitve (servisni interval; SI), število dni od prve osemenitve do uspešne osemenitve (servisna perioda; SP), sezona, v kateri je bila izvedena kontrola mlečnosti (pomlad, poletje, jesen in zima; S) in zaporedna laktacija (L).

3.2.1 Korelacije med metodami za določanje vsebnosti acetona in BHB v mleku in krvi

Izračunali smo korelacije med vsebnostmi acetona, določenih z metodo FTIR in Skalar, ter med vsebnostmi BHB, določenih z metodami FTIR (BHB_{FTIR}), UV kinetično encimatsko metodo Daytona ($BHB_{Daytona}$) in s prenosnim merilnikom FreeStyle Optium (BHB_{FSO}).

3.2.2 Vplivi na vsebnost BHB_{FTIR}

Za proučevanje vplivov na vsebnost BHB v mleku (BHB_{FTIR}) smo uporabili modela (1). Želeli smo ugotoviti vpliv posameznih parametrov na koncentracijo BHB v mleku. Ugotavljali smo tudi ali se vplivi laktacije in sezone med seboj razlikujejo. V model smo vključili vplive, kot so zaporedna laktacija (L),) in sezona (S) kot fiksna vpliva ter, razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka (RMB), stadij laktacije, in logaritem somatskih celic in urejo v mleku kot regresije. V izogib multikolinearnosti (močne povezave med spremenljivkami) v model nismo vključili mlečne maščobe in beljakovine mleka, saj sta zajeta že v razmerju med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka. V model prav tako nismo vključili laktoze, ampak zgolj naravni logaritem somatskih celic, ki nam podobno kot laktoza kaže na možnost obolenja vimen. Izbrali smo naslednji model:

$$y_{ijk} = \mu + L_i + S_j + b_1(x_{1ijk} - \bar{x}) + b_2(x_{2ijk} - \bar{x}) + b_3(x_{3ijk} - \bar{x}) + b_4(x_{4ijk} - \bar{x}) + b_5(x_{5ijk} - \bar{x}) + e_{ijk}, \quad (1)$$

kjer pomeni:

- y_{ijk} - BHB_{FTIR} (mmol/L mleka)
- μ - srednja vrednost
- L_i - zaporedna laktacija (1, 2, 3 in naslednje)
- S_j - sezona meritve (pomlad, poletje, jesen, zima)
- x_{1ijk} - razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka (RMB)
- x_{2ijk} - mlečnost na kontrolni dan
- x_{3ijk} - stadij laktacije
- x_{4ijk} - naravni logaritem somatskih celic
- x_{5ijk} - ureo v mleku
- b_1 - regresijski koeficient za RMB
- b_2 - regresijski koeficient. mlečnost na kontrolni dan
- b_3 - regresijski koeficient za stadij laktacije
- b_4 - regresijski koeficient naravni logaritem somatskih celic

b_5 - regresijski koeficient za ureo v mleku
 e_{ijk} - ostanek

Zaporedne laktacije in sezone smo testirali med seboj s kontrasti (Tukey Contrasts)

3.2.3 Vplivi vsebnosti BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na količino mleka v prvih 100 dneh laktacije in na kazalnike plodnosti

Vplive BHB_{FTIR}, RMB, MD in LnSSC na količino mleka, prirejeno v prvih 100 dneh laktacije, smo ocenili z modelom:

$$y_{ijk} = \mu + L_i + S_j + b_1(x_{1ijk} - \bar{x}) + b_2(x_{2ijk} - \bar{x}) + b_3(x_{3ijk} - \bar{x}) + b_4(x_{4ijk} - \bar{x}) + e_{ijk}, \quad (2)$$

kjer pomeni:

y_{ijk} - mlečnost v prvih 100 dneh laktacije
 μ - srednja vrednost
 L_i - zaporedna laktacija (1, 2, 3 in naslednje)
 S_j - sezona meritve (pomlad, poletje, jesen, zima)
 x_{1ijk} - razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka(RMB)
 x_{2ijk} - BHB_{FTIR} (mmol/L mleka)
 x_{3ijk} - stadij laktacije
 x_{4ijk} - naravni logaritem somatskih celic
 b_1 - regresijski koeficient za RMB
 b_2 - regresijski koeficient BHB_{FTIR} (mmol/L mleka)
 b_3 - regresijski koeficient za stadij laktacije
 b_4 - regresijski koeficient naravni logaritem somatskih celic
 e_{ijk} - ostanek

Analizirali smo vpliv koncentracije BHB_{FTIR} na kazalnike plodnosti, kot so doba od telitve do uspešne osemenitve (PP) in doba od prve osemenitve do uspešne osemenitve (SP). Dobo od telitve do prve osemenitve (SI) nismo testirali, saj je bila korelacija med BHB_{FTIR} in SI zelo nizka. Za analiziranje vplivov PP in SP smo uporabili naslednji model:

$$y_{ij} = \mu + L_i + b_1(x_{1ijk} - \bar{x}) + b_2(x_{2ijk} - \bar{x}) + b_3(x_{3ijk} - \bar{x}) + b_4(x_{4ijk} - \bar{x}) + b_5(x_{5ijk} - \bar{x}) + e_{ij}, \quad (3)$$

kjer pomeni:

y_{ij} - poporodni odmor oz. servis perioda
 μ - srednja vrednost
 L_i - zaporedna laktacija
 x_{1ijk} - mlečnost na kontrolni dan
 x_{2ijk} - stadij laktacije
 x_{3ijk} - naravni logaritem somatskih celic
 x_{4ijk} - RMB
 x_{5ijk} - BHB_{FTIR}, (β -hidroksi butirat)
 b_1 - regresijski koeficient za mlečnost na kontrolni dan
 b_2 - regresijski koeficient za stadij laktacije

- b_3 - regresijski koeficient za naravni logaritem somatskih celic
- b_4 - regresijski koeficient za RMB
- b_5 - regresijski koeficient za BHB_{FTIR}, (β -hidroksi butirat)
- e_{ij} - ostanek

3.2.4 Vpliv razredov BHB na mlečnost in sestavo mleka ter kazalnike plodnosti

Podatke smo glede na koncentracijo BHB_{FTIR} razvrstili v 3 razrede:

- 1. razred (BHB1): vsebnosti BHB_{FTIR} so manjše ali enake 0,10 mmol/L mleka. V tem razredu so krave, ki niso obolele s subklinično ketozo (Roos in sod., 2007).
- 2. razred (BHB2): vsebnosti BHB_{FTIR} so med 0,11 in 0,19 mmol/L mleka. V tem razredu so krave, ki so lahko že v subklinični ketozi.
- 3. razred (BHB3): vsebnosti BHB_{FTIR} so višje ali enake 0,20 mmol/L mleka. V tem razredu so krave, ki so v subklinični ketozi (Iwersen in sod., 2009).

Vpliv razredov BHB_{FTIR}, zaporedne laktacije in stadija laktacije na mlečnost, RMB, odstotek mlečne maščobe (MA) in beljakovin mleka (BE) ter laktoze (LA) smo analizirali z modelom:

$$y_{ijk} = \mu + L_i + B_j + b_1(x_{1ijk} - \bar{x}) + e_{ijk}, \quad (4)$$

kjer pomeni:

- y_{ijk} - dnevna mlečnost, RMB, mlečne maščobe, beljakovine mleka, laktoza
- L_i - zaporedna laktacija
- B_j - razred BHB
- x_{1ijk} - stadij laktacije
- b_1 - regresijski koeficient za stadij laktacije

Vpliv razredov BHB, zaporedne laktacije (L), mlečnosti na dan kontrole (KGML) in stadija laktacije (MD) na trajanje poporodnega premora in servisne periode

$$y_{ijk} = \mu + L_i + B_j + b_1(x_{1ijk} - \bar{x}) + b_2(x_{2ijk} - \bar{x}) + b_3(x_{3ijk} - \bar{x}) + b_4(x_{4ijk} - \bar{x}) + e_{ijk} \quad (5)$$

kjer je:

- y_{ijk} - poporodni odmor, servis perioda
- L_1 - zaporedna laktacija
- B_j - razred BHB
- x_{1ijk} - mlečnost na kontrolni dan
- x_{2ijk} - stadij laktacije
- x_{3ijk} - naravni logaritem somatskih celic
- x_{4ijk} - RMB
- b_1 - regresijski koeficient mlečnost na kontrolni dan
- b_2 - regresijski koeficient stadij laktacije
- b_3 - regresijski koeficient za naravni logaritem somatskih celic
- b_4 - regresijski koeficient za RMB

4 REZULTATI

4.1 OSNOVNA STATISTIKA PROUČEVANIH LASTNOSTI

V preglednici 7 prikazujemo osnovno statistiko za preučevane lastnosti.

Preglednica 7: Osnovna statistika za preučevane parametre v mleku

Table 7: Descriptive statistics for parameters used in research

	BHB _{FTIR} (mmol/L)	Aceton (mmol/L)	KGML (kg)	MA (%)	BE (%)	LA (%)	RMB	Ln(SSC)	Urea (mg/dl) ²	MD (dni)
Povprečje	0,04	0,04	24,9	3,88	3,15	4,63	1,24	4,49	18	52
SD ³	0,1059	0,1444	8,0253	0,8132	0,3547	0,1974	0,2663	1,47	8,6706	27,868
CV ⁴ (%)	2,39	3,94	0,32	0,21	0,11	0,04	0,21	0,33	0,49	0,54
Najmanj	-0,53	-0,57	1,8	1,40	1,23	1,69	0,30	0,00	1	5
Največ	3,65	3,56	75,0	9,17	7,00	6,81	3,94	10,24	70	100
Mediana	0,02	0,01	24,1	3,80	3,11	4,65	1,21	4,25	17	51

KGML = dnevna mlečnost, MA = mlečna maščoba, BE = beljakovine mleka, MD = dni laktacije, BHB_{FTIR} = β -hidroksibutirat, RMB = razmerje med mlečno maščobo in beljakovinami mleka, Ln(SSC) = logaritem števila somatskih celic, SD³ = standardna deviacija, CV⁴ = koeficient variabilnosti

N = 144.159

V preglednici 7 vidimo, da je bila mediana za vsebnost BHB_{FTIR} vseh v obdelavo vključenih podatkov 0,02 mmol/L, kar je v mejah normalnih vrednosti, ki jih navaja proizvajalec (Foss ..., 2014). Foss ... (2014) kot največjo vrednost za vsebnost BHB_{FTIR} navaja mediano 0,03 mmol/L. Povprečna mlečnost na dan kontrole (KGML) krav je bila 24,9 kg mleka in je vsebovala 3,88 % MA in 3,14 % BE. Povprečno RMB je bilo 1,24: 1. Povprečna vsebnost sečnine v mleku je bila 18 mg/100 ml mleka, kar je znotraj območja, ki ga navajajo Babnik in sod. (2004). Krave so bile v povprečju 52 dni po porodu. Podatki o RMB, vsebnosti BHB_{FTIR} in AC_{FTIR} ter številu somatskih celic kažejo, da so bile živali v povprečju zdrave.

Preglednica 8: Kazalniki plodnosti v raziskavo vključenih živalih

Table 8: Reproductive parameters of animals used in research

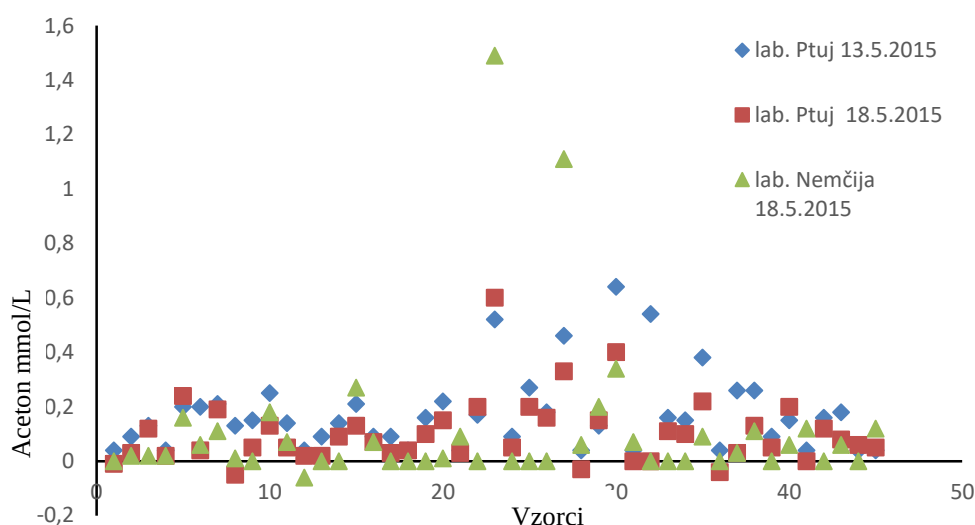
parameter	SI (dni)	SP (dni)	PP (dni)	Indeks osemenitve
Število podatkov	83.306	31.840	75.400	84.118
Povprečje	87,8	50,7	118,8	1,6
SD	44,18	44,14	70,85	0,90
CV (%)	0,50	0,87	0,60	0,56
Najmanj	16	1	16	1
Največ	300	411	500	13

PP = število dni od telitve do uspešne osemenitve (poporodni premor), SP = število dni od prve do uspešne osemenitve (servisna perioda), SI = število dni od telitve do prve osemenitve (servisni interval), SD = standardna deviacija, CV = koeficient variabilnosti

Iz preglednice 8 je razvidno, da je bilo obdobje od telitve do prve osemenitve (SI) dolgo v povprečju 87,8 dni, obdobje od prve osemenitve do uspešne osemenitve (SP) 50,7 dni in poporodni odmor (PP) 119 dni. Povprečni indeks osemenitve je bil 1,6.

4.2 PRIMERJAVA VSEBNOSTI ACETONA, DOLOČENIH Z METODO SKALAR IN FTIR METODO

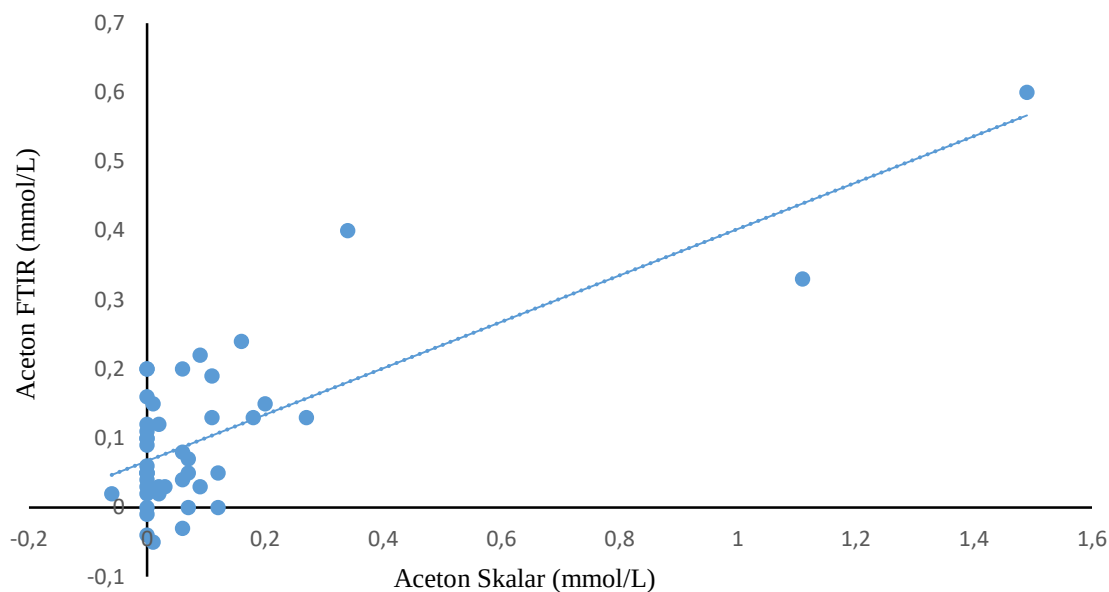
Povprečna vsebnost acetona je bila v vzorcih mleka, analiziranih 18. 5. 2015 v laboratoriju LKS v Nemčiji (AC_{SKALAR}), 0,108 mmol/L; v istih vzorcih, analiziranih v Sloveniji na KGZ Ptuj (AC_{FTIR2}), pa 0,104 mmol/L. V vzorcih, ki smo jih analizirali na KGZ Ptuj 13. 5. 2015 (AC_{FTIR1}), je bila povprečna vsebnost acetona 0,17 mmol/L mleka.



Slika 4: Vsebnosti acetona v mleku v vzorcih, analiziranih v laboratoriju na Ptuj z metodo FTIR, 13.5.2015 (AC_{FTIR1}) in 18.5.2015 (AC_{FTIR2}) in tistimi analiziranimi v Nemčiji s Skalar metodo, 18.5.2015 (AC_{SKALAR})

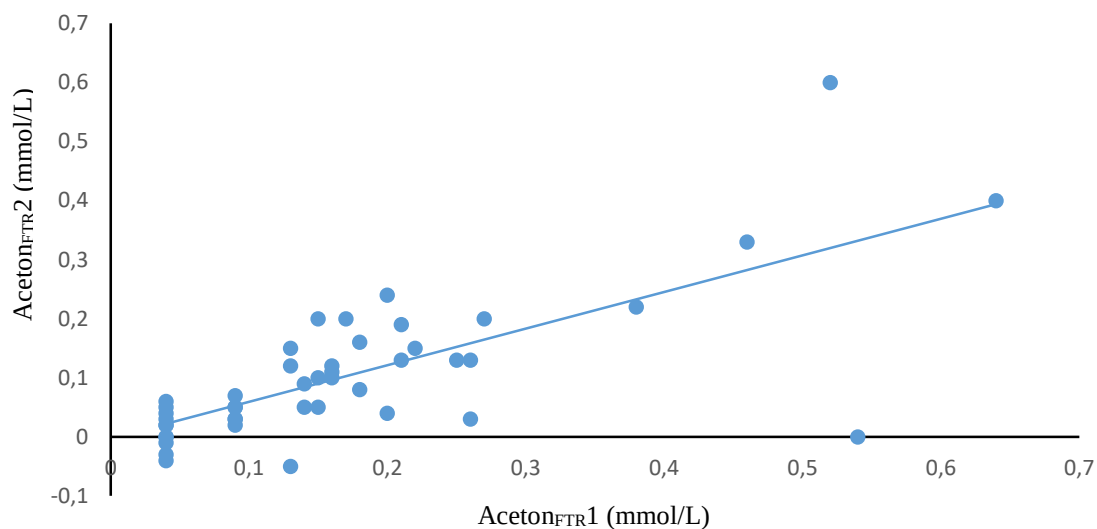
Figure 4: Acetone concentration in milk samples analysed in Ptuj laboratory with FTIR method on 13.5.2015 (AC_{FTIR1}) and 18.5.2015 (AC_{FTIR2}) and those analysed in Germany with Skalar method (on 18.5.2015 (AC_{SKALAR}))

Povprečne vsebnosti acetona so se med analiziranimi paralelkami 13.5.2015 (AC_{FTIR1}) in 18.5.2015 (AC_{FTIR2} in AC_{SKALAR}) razlikovale za kar 0,07. Vsebnosti AC_{FTIR1} , AC_{FTIR2} in AC_{SKALAR} prikazujemo na sliki 4. Na sliki 4 vidimo, da se vsebnosti AC_{FTIR1} , AC_{FTIR2} in AC_{SKALAR} ne ujemajo. Obstaja visoka povezava med vsebnostmi AC_{FTIR2} in AC_{SKALAR} ($r = 0,76$), kar se ujema s korelacijo ($r = 0,82$), ki jo navajajo Roos in sod. (2007). Povezavo med AC_{FTIR2} in AC_{SKALAR} prikazujemo na sliki 5.



Slika 5: Primerjava vsebnosti acetona z različnimi metodami Ac_{FTIR} in Ac_{SKALAR} (mmol/L mleka)
Figure 5: Comparison of acetone concentration with different methods Ac_{FTIR} in Ac_{SKALAR} (mmol/L of milk)

Korelacija med vsebnostmi Ac_{FTIR1} in Ac_{FTIR2} (analize opravljene 13.05.2015 in 18.05.2015), določenimi v istem laboratoriju na Ptuj (KGZ) je bila manjša ($r = 0,73$; slika 6). Na podlagi te primerjave lahko sklenemo, da je aceton v času skladiščenja, čeprav so bili vzorci mleka globoko zamrznjeni, izhlapeval.



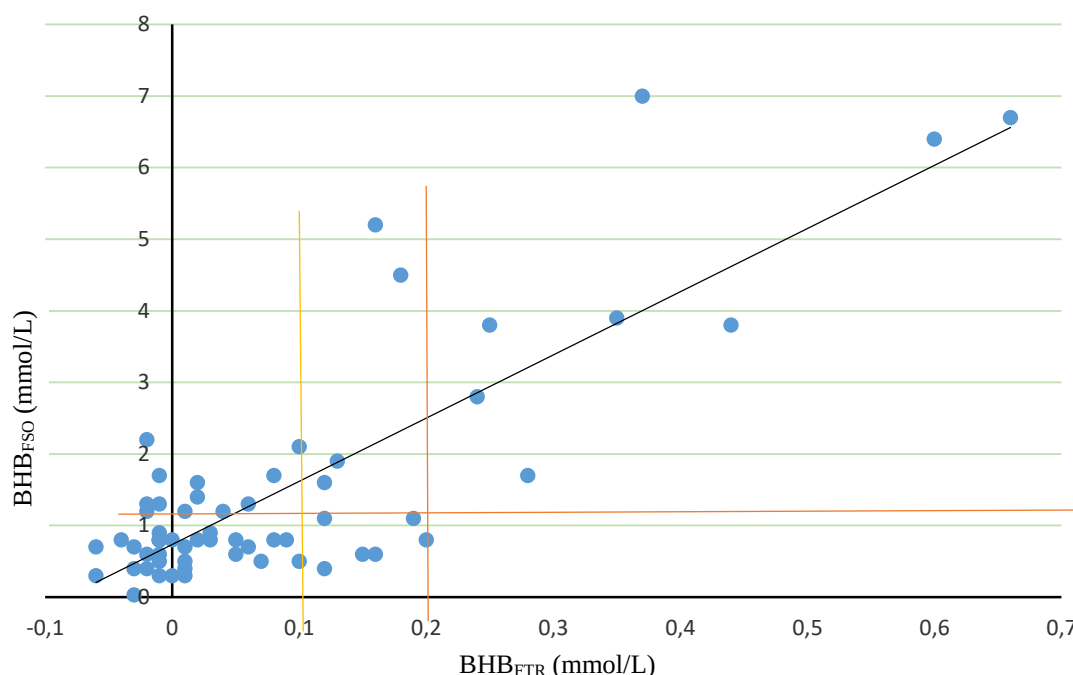
Slika 6: Primerjava vsebnosti acetona v mleku v različnem času Ac_{FTIR1} (13.5.2015) in Ac_{FTIR2} (18.5.2015) (mmol/L v mleku)
Figure 6: Comparison between Ac_{FTIR1} (13.5.2015) and Ac_{FTIR2} (18.5.2015) (mmol/L of milk)

4.3 POVEZAVE MED VSEBNOSTJO BHB V MLEKU (BHB_{FTIR}) IN VSEBNOSTJO BHB V KRVI ($BHB_{Daytona}$ IN BHB_{FSO})

Analiza vsebnosti BHB v krvi ($BHB_{Daytona}$) je pokazala, da je kri vseh živali (razen ene) vsebovala manj kot 1,2 mmol BHB/L. Veliko živali je sicer imelo koncentracijo $BHB_{Daytona}$ nad 0,6 ali celo blizu 1 mmol/L, vendar še vedno pod vrednostjo, značilno za subklinično ketozo, ki je 1,2 mmol/L (Oetzel, 2013). Koncentracija BHB v mleku (BHB_{FTIR}) je bila pri vseh kravah manjša od 0,10 mmol/L, kar je zgornja mejna vrednost pri zdravih kravah (Roos in sod., 2007). Korelacija med $BHB_{Daytona}$ in BHB_{FTIR} je bila 0,48.

Korelacija med vsebnostjo BHB_{FSO} in BHB_{FTIR} je bila 0,82 (slika 7). Krave, ki so imele vsebnosti BHB_{FTIR} nad 0,20 mmol/L, so imele pogosto tudi vsebnosti BHB_{FSO} nad 1,2 mmol/L. Samo 10 odstotkov krav, ki so imele vsebnosti BHB_{FTIR} nad 0,20 mmol/L, ni presegalo vsebnosti BHB_{FSO} 1,2 mmol/L. Te živali so bile lažno pozitivne. Za kar 90 % vzorcev mleka krav, ki so vsebovali več kot 0,20 mmol/L BHB_{FTIR} (Iwersen in sod., 2009), je analiza vsebnosti BHB_{FSO} pokazala, da so živali obbolele za ketozo, saj so vsebovale več kot 1,2 mmol/L BHB_{FSO} (Oetzel, 2013). Kljub temu pa je bilo kar 26 odstotkov od vseh negativnih vzorcev lažno negativnih, oziroma 26 odstotkov zdravih krav je bilo dejansko bolnih, saj smo zanje ugotovili, da je bila vsebnost BHB_{FSO} večja od 1,2 mmol/L, vsebnost BHB_{FTIR} pa manjša od 0,20 mmol/L.

Pri postavljeni meji za subklinično ketozo nad 0,10 mmol/L BHB mleka (Roos in sod., 2007) in nad 1,2 mmol/L BHB krvi (Oetzel, 2013) smo v naši raziskavi dobili 22 % lažno pozitivnih in 21,5 % lažno negativnih vzorcev. Torej nam meja 0,10 mmol/L BHB mleka pokaže, da je 22 % živali v subklinični ketozi, če pri teh živalih upoštevamo zgolj vsebnosti BHB v krvi, potem so te živali zdrave. Tudi če kot spodnjo mejo obolenosti postavimo vsebnost BHB v mleku 0,20 mmol/L BHB, potem smo dejansko kar za 26 % živali postavili napačno diagnozo. Če bi povečali mejno vrednost BHB pri kravah obolenih za ketozo, na 1,4 mmol/L BHB krvi (Ospina in sod., 2010), potem je glede na vsebnosti BHB v mleku lažno obolenih le 11,9 % živali. Iz naše primerjave vsebnosti BHB v mleku in krvi lahko sklenemo, da so krave, ki so imele BHB_{FTIR} višji od 0,20 mmol/L, dejansko obbolele za subklinično ketozo, čeprav s to metodo ne najdemo vseh obolenih živali, zlasti tistih, ki so v krvi le malenkostno presegle vsebnosti 1,2 mmol/L BHB.



Slika 7: Povezava med vsebnostjo BHB pri metodah BHB_{FSO} in BHB_{FTIR}
Figure 7: Relationship between contents of BHB at method BHB_{FSO} and BHB_{FTIR}

4.3.1 Povezave med posameznimi sestavinami v mleku

V raziskavi nas je zanimala predvsem povezava med vsebnostjo BHB v mleku (BHB_{FTIR}) in drugimi sestavinami v mleku. Korelacije med posameznimi parametri prikazujemo na sliki 8, na kateri je vidno, da je korelacija med vsebnostjo BHB_{FTIR} in RMB 0,35, prav takšna pa je tudi povezava med BHB_{FTIR} in MA ($r = 0,32$). Korelacija med vsebnostjo BHB_{FTIR} in BE je negativna ($r = -0,04$). Nekoliko večja in negativna ($r = -0,21$) je korelacija med koncentracijo BHB_{FTIR} in LA. Povezava med KGML in vsebnostjo BHB_{FTIR} je negativna, vendar zelo nizka ($r = -0,06$). Je pa povezava med vsebnostjo BHB_{FTIR} in stadijem laktacije (MD) nekoliko višja, a vendar negativna, kar pomeni, da več kot je dni po telitvi, nižja je vsebnost BHB v mleku. Zelo visoka povezava je med RMB in MA ($r = 0,85$) ter negativna med RMB in BE ($r = -0,28$). Srednje velika negativna povezava je tudi med odstotkom LA in $\ln(SSC)$ ($r = -0,40$). Zanimivo je, da smo izračunali pozitivno povezavo med MA in BE ($r = 0,25$). Vse navedene korelacije so statistično značilne ($p = 0,001$).

Preglednica 9: Korelacije med posameznimi sestavinami mleka in kazalniki plodnosti
Table 9 Correlations between milk contents and parameters of reproduction

¹	BHB	KGML	MA	BE	LA	Ln(SSC)	RMB	PP	SP	SI
BHB		-0,06	0,32	-0,04	-0,21	0,11	0,35	0,07	0,05	0,03
KGML	-0,06		-0,04	-0,12	0,04	-0,12	0,02	0,09	0	0,08
MA	0,32	-0,04		0,25	-0,12	0,08	0,85	0,04	0,02	0,02
BE	-0,04	-0,12	0,25		-0,07	0,12	-0,28	-0,14	-0,08	-0,09
LA	-0,21	0,04	-0,12	-0,07		-0,40	-0,08	-0,03	-0,03	-0,03
Ln(SSC)	0,11	-0,12	0,08	0,12	-0,40		0,02	/	/	/
RMB	0,35	0,02	0,85	-0,28	-0,08	0,02		0,12	0,07	0,06
PP	0,07	0,09	0,04	-0,14	-0,03	/	0,12		0,66	
SP	0,05	0	0,02	-0,08	-0,03	/	0,07	0,66		0,07
SI	0,03	0,08	0,02	-0,09	-0,03	/	0,06	0,63	0,07	

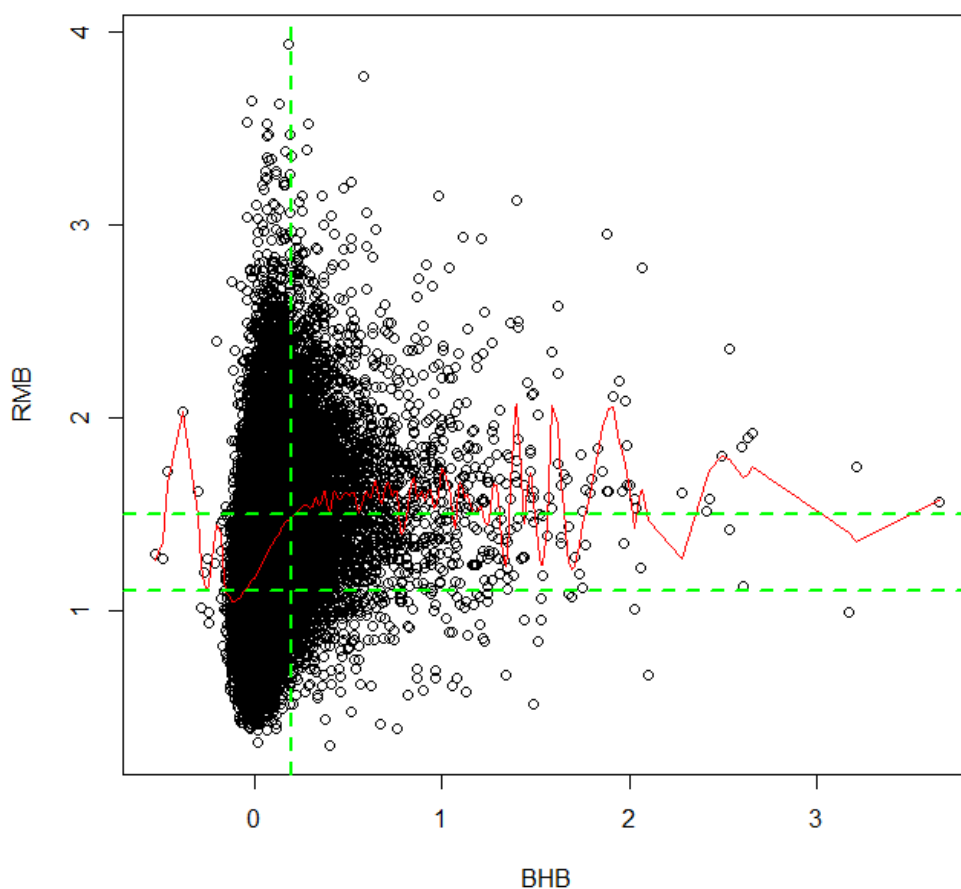
Vse korelacije so statistično značilne ($p < 0,001$, razen med SP in KGML,

¹BHB – β -hidroksibutirat, KGML - mlečnost, MA - maščobe, BE - beljakovine, LA - laktoza, Ln(SSC) - naravni logaritem števila somatskih celic, RMB – razmerje mlečne maščobe in beljakovine, PP - poporodni odmor, SP - servis perioda, SI - servisni interval

Na sliki 9 prikazujemo korelacije med vsebnostjo BHB_{FTIR} in plodnostnimi parametri. Korelacije med koncentracijo BHB v mleku ter SI, SP in PP so sicer pozitivne, vendar zelo nizke ($r =$ med 0,03 in 0,07). Vse te korelacije so razmeroma majhne, vendar statistično značilne. Iz slike 9 je razvidna tudi visoka korelacija med SI in PP ($r = 0,63$), kar pomeni, da je doba od telitve do uspešne osemenitve odvisna tudi od časa prve osemenitve. Prav tako je visoka korelacija med SP in PP ($r = 0,66$).

4.3.1.1 Povezava med RMB in vsebnostjo BHB_{FTIR}

Na sliki 8 prikazujemo povezavo med BHB_{FTIR} in RMB. S širjenjem RMB od 1,1 do 1,5: 1 se povečuje tudi vsebnost BHB_{FTIR}, kar nakazuje jasen trend povečevanja (rdeča črta), nato povezava ni tako zelo premosorazmerna, saj ni več vidnega trenda naraščanja. Nihanja pri višjih vrednostih BHB so posledica majhnega števila meritev v tem območju. Visoke vsebnosti BHB_{FTIR} naj bi praviloma kazale na pojav ketoze, enako kot široko RMB.



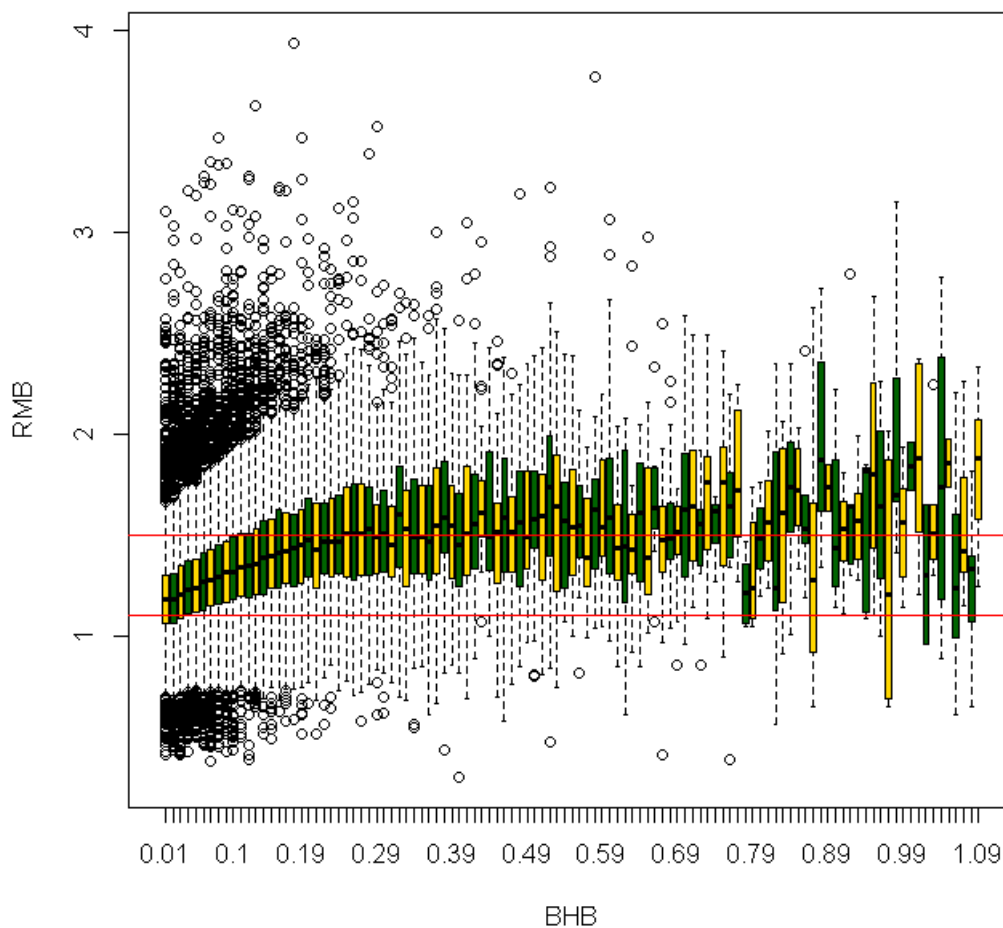
Legenda: Horizontalni pas med črtama označuje območje RMB med 1,1 in 1,5. Vertikalna črta označuje BHB pri vrednosti 0,20 mmol/L. BHB je na x osi v mmol/L.

Slika 8: RMB vrednosti pri različnih BHB vrednostih. Krivulja je spline - smoothing (spar = 0,7)
Figure 8: RMB value by different BHB value. Curved line is spline - smoothing (spar = 0, 7)

4.3.1.2 Prikaz povezave RMB in BHB z box-plot grafikonom

Na sliki 9 prikazujemo razpršenost porazdelitev BHB_{FTIR} znotraj njihovih posameznih vsebnosti (asimetrije). Segmenti so predstavljeni v zeleno – rumeni barvi zaradi lažje ločljivosti. V škatli so zajete vrednosti med prvim in tretjim kvartilom (IQ) z označeno mediano. Navzgor in navzdol razširjeni pravokotniki predstavljajo maksimalno in minimalno vrednost, ki obsega $1,5 \times IQ$. Vrednosti izven tega (krogci) označujejo osamelce. Zaradi majhnega števila meritev pri visokih vsebnostih BHB_{FTIR} so podatki zelo variabilni in asimetrični.

Naraščanje vsebnosti BHB_{FTIR} do 0,3 mmol/L kaže na širjenje RMB. Nad to vsebnostjo BHB_{FTIR} je široko RMB nezanesljiv pokazatelj povečane vsebnosti BHB (slika 9).



Legenda: Horizontalne črte predstavljajo vrednosti RMB 1,1 in 1,5. Vrednost BHB je na x osi (mmol/L)

Slika 9: Boks-plot razmerje med BHB_{FTIR} in RMB v mleku krav v vseh laktacijah med 5. in 100. dnevom laktacije

Figure 9: Box-plot relationship between BHB_{FTIR} and RMB in the milk of all parity cows from 5 to 100 days

4.4 VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA VSEBNOSTI BHB_{FTIR} IN VPLIV BHB_{FTIR} NA RAZLIČNE DEJAVNIKE

4.4.1 Vplivi različnih dejavnikov na koncentracijo BHB_{FTIR}

Vplive zaporedne laktacije, sezone vzorčenja mlečnosti, RMB, števila somatskih celic, stadija laktacije in vsebnosti sečnine v mleku na vsebnosti BHB_{FTIR} (enačbe 1; poglavje 3.2.2) prikazujemo v preglednici 10.

Preglednica 10: Ocene razlik in standardne napake za zaporedne laktacije, sezone, sestavin mleka, mlečnosti in stadija laktacije ter logaritma somatskih celic na koncentracijo BHB_{FTIR}

Table 10: Effect of parity, season, milk components, milk production, stage of lactation and somatic cell count on BHB_{FTIR} concentration

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
Povprečje	-8,97e-02	1,979e-03	< 0,001
L2 – L1	8,49e-03	7,308e-04	
L3 – L1	1,22e-02	6,364e-04	
S2 – S1	1,01e-02	7,422e-04	
S3 – S1	-2,72e-03	7,457e-04	
S4 – S1	-1,40e-02	9,630e-04	
Reg. koeficient za RMB	1,34e-01	9,671e-04	
Reg. koeficient za KGML	-1,05e-03	3,356e-05	
Reg. koeficient za MD	-4,51e-04	9,283e-06	
Reg. koeficient za Ln(SSC)	5,73e-03	1,796e-04	
Reg. koeficient za sečnino	-9,53e-04	3,007e-05	

¹L1 = prva laktacija, L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije; S1 = spomlad. S2 = poletje, S3 = jesen, S4 = zima, RMB = razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka; KGML = dnevna mlečnost, MD = stadij laktacije, Ln(SSC) = naravni logaritem števila somatskih celic,

²SEM = standardna napaka, Ocena SV = ocena srednje vrednosti parametra modela

Iz preglednice 10 vidimo, da vsi v model vključeni dejavniki statistično značilno vplivajo na vsebnost BHB_{FTIR}. Krave v drugi in tretji laktaciji (L2 in L3) imajo značilno večjo koncentracijo BHB_{FTIR} kot krave v prvi laktaciji (L1). Tudi sezona, v kateri je bila opravljena mlečna kontrola, značilno vpliva na koncentracijo BHB_{FTIR}. V primerjavi s pomladjo (S1) se BHB_{FTIR} poleti (S2) zviša, v jeseni (S3) in pozimi (S4) pa se zniža. Vse razlike med sezonami so statistično značilne, vendar izredno majhne.

Tudi RMB vpliva na povečanje BHB_{FTIR}. Širši kot je RMB, večja je koncentracija BHB_{FTIR}. Široko RMB statistično značilno vpliva na koncentracijo BHB_{FTIR}. Dnevna mlečnost prav tako značilno vpliva na BHB_{FTIR}, saj če se mlečnost zmanjša, se poveča tudi koncentracija BHB_{FTIR}, kar kaže na negativni vpliv BHB_{FTIR} na mlečnost.

Tudi stadij laktacije (MD) tudi statistično značilno vpliva na koncentracijo BHB_{FTIR}. Daljše kot je obdobje po telitvi, nižja je koncentracija BHB_{FTIR}. Rezultati iz preglednice 10 nam tudi kažejo, da večji, kot je logaritem somatskih celic v mleku (LnSSC), večja je vsebnost BHB_{FTIR}.

Prav tako vsebnost sečnine v mleku statistično značilno vpliva na BHB_{FTIR} . Višja kot je vsebnost sečnine, višja je vsebnost BHB_{FTIR} , vendar je ta vpliv izredno majhen (če se poveča koncentracija sečnine za 10 mg/dL se BHB poveča za 0,01 mmol/L).

V preglednici 11 prikazujemo analizo variance za vplive na vsebnost BHB_{FTIR} . Vidimo lahko, da z modelom pojasnimo 16,23 odstotka vse variabilnosti. Največ variabilnosti za vsebnost BHB_{FTIR} lahko pojasnimo z RMB, 12,07 %, medtem ko z vsakim od ostalih parametrov manj kot 2 %.

Preglednica 11: Analiza variance za vsebnost BHB_{FTIR}

Table 11: Analyse of variance for BHB_{FTIR}

Vplivi	R ²
Zaporedna laktacija	0,21
Sezona meritve	0,38
Regresijski koeficient za RMB	12,07
Regresijski koeficient za mlečnost na molzni dan	0,75
Regresijski koeficient za stadij laktacije	1,60
Regresijski koeficient za logaritem somatskih celic	0,64
Regresijski koeficient za sečnino v mleku	0,58

R² = delež pojasnjene variance, RMB razmerje med mlečno maščobo in beljakovinami mleka

4.4.2 Vpliv koncentracije BHB_{FTIR} in ostalih dejavnikov na mlečnost v prvih 100 dneh laktacije

Vpliv koncentracije BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na mlečnost krav v prvih 100 dnevih laktacije prikazujemo v preglednici 12.

Preglednica 12: Vplivi na mlečnost krav v prvih 100 dneh laktacije

Table 12: Influence on milk production in first 100 days of lactation

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
povprečje	2353,08	12,6688	<0,001
L2 – L1	427,44	5,1746	
L3 – L1	465,48	4,4571	
S2 – S1	-80,25	5,3072	
S3 – S1	-212,37	5,3710	
S4 – S1	-130,77	6,8832	
Reg. koeficient za RMB	132,36	7,5256	
Reg. koeficient za BHB	-431,96	19,2547	
Reg. koeficient za stadij laktacije	-0,074	0,0676	0,271
Reg. koeficient za Ln(SSC)	-59,26	1,2964	<0,001

²SEM = standardna napaka, Ocena SV = ocena srednje vrednosti parametra modela

¹L1 = prva laktacija L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije; S1 = spomlad, S2 = poletje, S3 = jesen, S4 = zima, RMB = razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka; Ln(SSC) = naravni logaritem števila somatskih celic

Podatki v preglednici 12 nam kažejo, da koncentracija BHB_{FTIR} značilno vpliva na mlečnost v prvih 100 dneh. Višja kot je koncentracija BHB_{FTIR} , manjša je mlečnost. Če se BHB_{FTIR} poveča za 0,10 mmol/L mleka, se mlečnost v prvih 100 dnevih laktacije zmanjša za 43,2 kg.

Kot je razvidno iz preglednice 12, na mlečnost v prvih 100 dneh laktacije vplivajo še zaporedna laktacija, sezona meritve in RMB ter število somatskih celic. Širše kot je RMB, večja je mlečnost v prvih 100 dneh laktacije, čeprav je povečanje količine mleka v prvih 100 dneh laktacije zaradi širšega RMB majhno (za 0,25 širši RMB pomeni za 33 kg več mleka v prvih 100 dneh laktacije).

4.4.3 Vpliv koncentracije BHB_{FTIR} na plodnost

Vplive vseh preučevanih lastnosti, še zlasti koncentracije BHB_{FTIR} na parametre plodnosti (PP in SP) prikazujemo v preglednicah 13 in 14.

V preglednici 13 lahko vidimo, da koncentracija BHB_{FTIR} značilno vpliva na dolžino PP. Prav tako široko RMB podaljša PP. Tudi ostali proučevani parametri, kot so dnevna mlečnost, število somatskih celic podaljšajo PP.

Preglednica 13: Vpliv BHB_{FTIR} in ostalih lastnosti na dobo od telitve do uspešne osemenitve (PP)

Table 13: Influence BHB_{FTIR} in other properties on calving to conception interval (days open)

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
Povprečje	48,30	1,8346	} < 0,001
L3	-9,32	0,5515	
Reg. koeficient za KGML	0,90	0,0317	
Reg. koeficient za stadij laktacije	0,067	0,0093	
Reg. koeficient za Ln(SSC)	3,5273	0,1718	
Reg. koeficient za BHB	28,32	2,6266	
Reg. koeficient za RMB	26,44	1,0036	

¹ L3 = tretja in naslednje laktacije, RMB = razmerje med maščobami in beljakovinami, KGML = dnevna mlečnost, Ln(SSC) = naravni logaritem števila somatskih celic,

²SEM = standardna napaka, Ocena SV= ocena srednje vrednosti parametra modela

Rezultati, ki jih prikazujemo v preglednici 14, kažejo, da se z večanjem BHB_{FTIR} v mleku, podaljšuje SP. Vpliv BHB_{FTIR}, RMB in zaporedne laktacije ter števila somatskih celic na dolžino SP je statistično značilen. Dnevna mlečnost in stadij laktacije nimata vpliva na dolžino SP.

Preglednica 14: Vpliv BHB_{FTIR} in ostalih lastnosti na dobo od prve do uspešne osemenitve (SP)

Table 14: Influence BHB_{FTIR} in other properties on period from first till successful insemination (SP)

Parameter ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
povprečje	32,37	1,7678	< 0,001
L3 – L2	3,20	0,5270	
Reg. koeficient za KGML	0,04	0,0302	
Reg. koeficient za stadij laktacije	0,02	0,0091	0,150
Reg. koeficient za Ln(SCC)	1,44	0,1661	< 0,001
Reg. koeficient za BHB	11,00	2,3753	
Reg. koeficient za RMB	9,08	0,9487	

¹L2 druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, RMB = razmerje med mlečnimi maščobami in beljakovinami mleka, KGML = dnevna mlečnost, MD = dni laktacije, Ln (SCC) = naravni logaritem števila somatskih celic

²SEM = standardna napaka, Ocena SV= ocena srednje vrednosti parametra modela

4.4.4 Vplivi različnih razredov BHB_{FTIR} in ostali parametri na mlečnost ob kontroli

Razporeditev živali po posameznih razredih BHB_{FTIR} prikazujemo v preglednici 15.

Preglednica 15: Število meritev po razredih glede na koncentracijo BHB_{FTIR}

Table 15: Number of measurements in classes of BHB_{FTIR} concentration

Razred	Št. meritev	%
1. enako ali pod 0,10 mmol/L (BHB 1)	124.373	86,27
2. med 0,11 in 0,19 mmol/L (BHB 2)	13.155	9,13
3. večje ali enako 0,20 mmol/L (BHB 3)	6.631	4,60
Skupaj	144.159	100

Največ meritev je bilo razporejenih v razred BHB 1 (manj ali enako 0,10 mmol/L; 86,27 %). V razredu BHB 2 je bilo 9,13 odstotka meritev, v razredu BHB3 pa 4,6 odstotka.

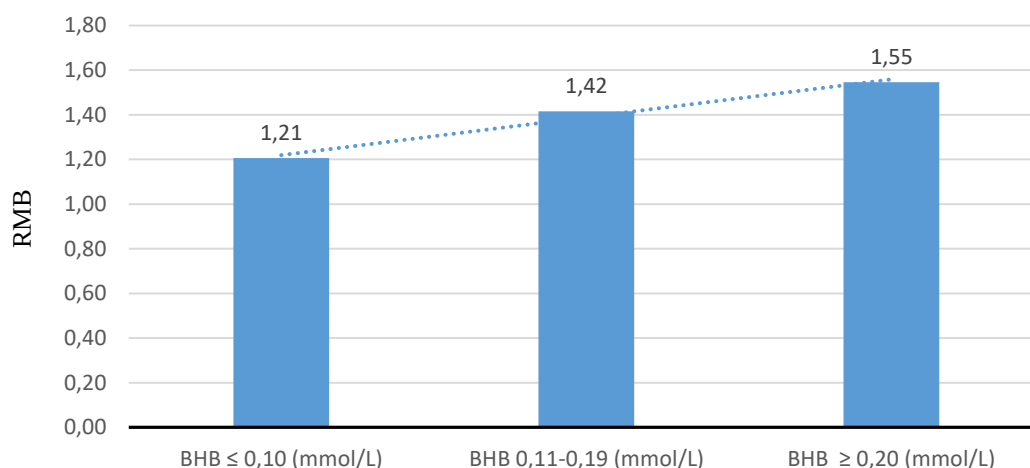
Preglednica 16: Povprečne dnevne mlečnosti, vsebnosti mlečnih maščob in laktoze ter RMB v mleku krav, razporejenih v razrede glede na vsebnost BHB_{FTIR}

Table 16: Mean daily milk production, milk fat, lactose and RMB in milk of cows, classified according to the BHB_{FTIR} contents

Parameter	Razred BHB 1	Razred BHB 2	Razred BHB 3
	BHB ≤ 0,10 mmol/L zdrave živali	BHB 0,11 - 0,19 mmol/L sumljive živali	BHB ≥ 0,20 mmol/L subklinična ketoza
Mlečnost v kontroli	24,96	24,71	23,91
Mlečne maščobe	3,78	4,33	4,76
Laktoza	4,64	4,57	4,47
RMB ¹	1,21	1,42	1,55

¹RMB = razmerje med mlečno maščobo in beljakovinami mleka,

Iz preglednice 16 vidimo, da sta mlečnost na kontrolni dan in laktoza v razredu BHB 3 najmanjša, mlečne maščobe pa največje. Zelo opazna je razlika v RMB, ki je v razredu BHB 3 kar 1,55: 1 (preglednica 16 in slika 10).



Slika 10: RMB v različnih razredih BHB

Figure 10: RMB in different BHB classes

Na sliki 10 vidimo, da je v razredu BHB 1 povprečna vrednost za RMB 1,21: 1, v razredu BHB 2 je povprečna vrednost za RMB 1,42: 1 in v razredu BHB3 1,55: 1.

Vplivi razredov BHB na mlečnost na dan kontrole (KGML)

V preglednici 17 prikazujemo vpliv razreda BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na mlečnost na dan kontrole.

Preglednica 17: Vplivi razredov BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na dnevno mlečnost

Table 17: Influence of BHB classes and other factors on daily milk production

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
povprečje	23,42	0,0565	} < 0,001
L2 – L1	4,11	0,0573	
L3 – L2	4,18	0,0486	
Reg. koeficient za stadij laktacije	-0,03	0,0007	
Razred BHB 2 – razred BHB 1	-0,70	0,0717	
Razred BHB 3 – razred BHB 1	-1,74	0,0991	

¹L1 = prva laktacija, L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, BHB 1 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,10 ali manj mmol/L, BHB 2 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} med 0,11 in 0,19 mmol/L, BHB 3 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,20 ali več mmol/L mleka

²SEM = standardna napaka, Ocena SV= ocena srednje vrednosti parametra modela

V preglednici 17 lahko vidimo, da imajo živali v razredu BHB 2 za 0,70 kg mleka manjšo mlečnost, kot živali v razredu BHB 1, medtem ko imajo živali v razredu BHB3 za 1,74 kg manjšo mlečnost kot živali v razredu BHB 1 (p = 0,001). Krave druge laktacije imajo za 4,10

kg več, krave tretje in višje laktacije za 4,18 kg več mleka kot krave v prvi laktaciji. Kravam se za vsak dan laktacije mlečnost v povprečju zmanjša za 0,03 kg mleka.

Vplivi razredov BHB na RMB

Vpliv razredov BHB in drugih dejavnikov na RMB prikazujemo v preglednici 18.

Preglednica 18: Vplivi posameznih razredov BHB in drugih dejavnikov na RMB
Table 18: Influences individual BHB classes and other parameters on RMB

Parameter ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
povprečje	1,25e+00	1,818e-03	<0,001
L2 – L1	-2,60e-02	1,844e-03	
L3 – L1	-2,40e-02	1,566e-03	
Reg. koeficient za stadij laktacije	-4,98e-04	2,403e-05	
Razred BHB 2 – razred BHB 1	2,05e-01	2,308e-03	
Razred BHB 3 – razred BHB 1	3,30e-01	3,190e-03	

¹ L1 = prva laktacija, L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, BHB 1= razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 10 ali manj mmol/L, BHB 2 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} med 0 11 in 0,19 mmol/L BHB v mleku, BHB 3 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,20 ali več mmol/L v mleku

²SEM = standardna napaka, Ocena SV= ocena srednje vrednosti parametra modela

Iz preglednice 18 vidimo, da ima razred BHB2 za 0,20 in razred BHB 3 za 0,33 širši RMB kot razred BHB 1. Vpliv razredov BHB_{FTIR} na RMB je statistično značilen. Živali razreda BHB3 imajo najširši RMB. Krave tega razreda (subklinična ketoza) imajo statistično značilni širši RMB kot krave razreda BHB 1 (zdrave krave). Posamezni razredi testirani med seboj s Tukey kontrasti so pokazali, da so razlike med razredi BHB statistično značilne.

Vpliv posameznih razredov BHB na mlečne maščobe (MA) in beljakovine mleka (BE)

Mlečne maščobe naraščajo s povečanjem vsebnosti BHB v mleku. V razredu BHB1 je mlečnih maščob v povprečju 3,78 odstotka v razredu BHB 3 pa 4,76 odstotka (preglednica 16).

Vpliv razredov BHB na odstotek mlečne maščobe prikazujemo v preglednici 19. Razredi BHB statistično značilno vplivajo na mlečno maščobo. Največji vpliv ima razred BHB3, v katerem se mlečna maščoba poveča za kar 0,92 odstotka glede na razred BHB1. Mlečna maščoba se tudi med razredi BHB statistično značilno razlikuje ($p = 0,001$), kar smo dokazali s Tukey testom. V preglednici 19 lahko vidimo, da imajo krave drugega in tretjega razreda značilno večjo vsebnost mlečne maščobe kot krave prvega razreda. Prav tako imajo krave tretjega razreda statistično značilno večjo vsebnost mlečne maščobe kot krave drugega razreda.

Preglednica 19: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na mlečno maščobo
Table 19: Influences individual classes of BHB and other parameters of milk fat

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
Povprečje	3,99e+00	5,575e-03	< 0,001
L2 – L1	1,63e-02	5,655e-03	0,00392
L3 – L1	-5,35e-02	4,802e-03	< 0,001
Reg. koeficient za stadij laktacije	-3,56e-03	7,369e-05	
Razred BHB 2 – razred BHB 1	5,17e-01	7,077e-03	
Razred BHB 3 - razred BHB 1	9,17e-01	9,783e-03	

¹ L1 = prva laktacija, L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, BHB 1 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,10 ali manj mmol/L, BHB 2 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} med 0,11 in 0,19 mmol/L, BHB 3 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,20 ali več mmol/L

²SEM = standardna napaka, Ocena SV= ocena srednje vrednosti parametra modela

Vpliv razredov BHB in drugih dejavnikov prikazujemo v preglednici 20.

Uporabili smo model enačbe 4, poglavje 3.2.4.

Preglednica 20: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na beljakovine mleka
Table 20: Influences individual classes of BHB and other parameters of milk protein

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
povprečje	3,22e+00	2,542e-03	< 0,001
L2 – L1	8,57e-02	2,578e-03	
L3 – L1	1,78e-02	2,189e-03	
Reg. koeficient za stadij laktacije	-1,73e-03	3,359e-05	
Razred BHB 2 – razred BHB 1	-8,11e-02	3,227e-03	
Razred BHB 3 - razred BHB 1	-6,36e-02	4,460e-03	

¹L1 = prva laktacija, L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, BHB 1 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,10 ali manj mmol/L, BHB 2 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} med 0,11 in 0,19 mmol/L, BHB 3 = razred s konc. BHB_{FTIR} enako ali več kot 0,20 mmol/L

²SEM = standardna napaka, Ocena SV= ocena srednje vrednosti parametra modela

Iz preglednice 20 vidimo, da imajo živali v različnih razredih BHB statistično značilno različne beljakovine mleka. Tudi razlike med razredi BHB so statistično značilne. So pa razlike razmeroma majhne, razred BHB2 ima najnižje beljakovine mleka (za 0,08 % manj kot BHB 1). Korelacija med BHB in beljakovinami mleka je zelo majhna ($r = -0,04$). Na model statistično značilno vplivata še zaporedna laktacija in stadij laktacije.

Vpliv posameznih razredov BHB na laktozo (LA)

Razred BHB 2 ima nekoliko manjšo vsebnost LA kot razred BHB 1, medtem ko je zmanjšanje LA še izrazitejše v razredu BHB3, v katerem je LA statistično značilno nižji kot pri kravah v razredu BHB 1 (za 0,16 %). Tudi v razredu BHB 2 imajo krave statistično značilno nižji LA kot krave v razredu BHB1 (za 0,07 %). Razlike med razredi so statistično značilne. Iz tega lahko sklenemo, da subklinična ketoza (razred BHB 3) statistično značilno zmanjša vsebnost laktoze. LA se zmanjšuje tudi z zaporedno laktacijo (preglednica 21).

Preglednica 21: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na laktozo (LA)

Table 21: Influences individual classes of BHB and other parameters on lactose (LA)

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
Povprečje	4,70e+00	1,349e-03	<0,001
L2 – L1	-6,99e-02	1,368e-03	
L3 – L1	-1,26e-01	1,162e-03	
Reg. koeficient za stadij laktacije	3,35e-04	1,782e-05	
Razred BHB 2 – razred BHB 1	-6,69e-02	1,712e-03	
Razred BHB 3 – razred BHB 1	-1,60e-01	2,366e-03	

¹L1 = prva laktacija, L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, BHB 1 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,10 ali manj mmol/L, BHB 2 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} med 0,11 in 0,19 mmol/L mleka, BHB 3 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,20 ali več mmol/L mleka

²SEM = standardna napaka, Ocena SV = ocena srednje vrednosti parametra modela

Vplivi razredov BHB in ostalih parametrov na lastnosti plodnosti

Vplive razredov BHB in drugih dejavnikov prikazujemo v preglednici 22.

Preglednica 22: Vplivi posameznih razredov BHB in ostalih parametrov na PP

Table 22: Influences individual classes of BHB and other parameters on days open

Vplivi ¹	Ocena SV ²	SEM ²	P vrednost
Povprečje	49,17	1,8363	< 0,001
L3 – L2	-9,42	0,5512	
Razred BHB 2 – razred BHB 1	4,79	0,9046	
Razred BHB 3 - razred BHB 1	18,27	1,2830	
Reg. koeficient za mlečnost na dan kontrole	0,89	0,0316	
Reg. koeficient za stadij laktacije	0,07	0,0093	
Regresijski koeficient za Ln(SSC)	3,4893	0,1718	
Regresijski koeficient za RMB	25,85	0,9959	

¹L2 = druga laktacija, L3 = tretja in naslednje laktacije, Ln(SSC) = naravni logaritem somatskih celic, RMB = razmerje med maščobami in beljakovinami, BHB 1 = razred BHB s konc. 10 ali manj mmol/L, BHB 2 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} med 0 10 in 0,19 mmol/L BHB, BHB 3 = razred BHB s konc. BHB_{FTIR} 0,20 in več mmol/L BHB v mleku

²SEM = standardna napaka, Ocena SV = ocena srednje vrednosti parametra modela

V preglednici 22 lahko vidimo, da na dolžino PP statistično značilno vpliva razred BHB. Krave v razredu BHB 2 so imele za 4,8 dni, krave v razredu BHB 3 pa za 18,3 dni daljši PP. Razlike so si med seboj statistično značilne, kar pomeni, da imajo krave s subklinično ketozo značilno daljši PP.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Splošni statistični podatki preučevanih lastnosti in korelacije med njimi

Analiza vzorcev mleka, odvzetih med 5. in 100. dnevom po telitvi, je pokazala v povprečju razmeroma nizki vsebnosti mlečne maščobe (MA; 3,88 %) in beljakovin mleka (BE; 3,11 %). Zlasti nizek odstotek beljakovin kaže, da je živalim v tem obdobju primanjkovalo presnovljivih beljakovin oziroma energije (Babnik in sod., 2004). Tudi vsebnosti sečnine (18 mg/100 ml) kažejo na preslabo izkoriščanje hranljivih snovi krmnega obroka in manjšo mlečnost. Vsebnost BE pod 3,2 % kaže, da bi živali lahko imele presnovne motnje (Hoffmann, 2015). RMB 1,24: 1 (preglednica 7) potrjuje, da so bile živali v povprečju zdrave in niso obolevale za obporodnimi boleznimi, še posebej za subklinično ketozo, kar potrujeta tudi povprečni vsebnosti Ac_{FTIR} in BHB_{FTIR} . Do podobnih ugotovitev je prišel tudi Engelhard (2014).

V preglednici 8 vidimo, da je SI razmeroma dolg, kar pomeni, da so bile živali prvič zelo pozno osemenjene, šele po 87,8 dneh. Vzroke za tako dolg SI ne moremo pripisati zgolj koncentraciji BHB_{FTIR} , saj je korelacija med BHB in SI zelo nizka ($r = 0,03$; preglednica 9). Za dolg SI je verjetno vzrok v slabem odkrivanju pojatev pri kravah molznicah.

Največje pozitivne povezave med koncentracijo BHB_{FTIR} so med MA in RMB, kar pomeni, da se s povečevanjem vsebnosti BHB povečuje tudi MA in širi RMB. Presenetljivo nizka in negativna povezava je bila med vsebnostjo BHB_{FTIR} in BE ($r = -0,04$). Prav tako smo izračunali negativno povezavo med koncentracijo BHB in LA ($r = -0,21$), ki pa je vendarle nekoliko izrazitejša kot povezava med vsebnostjo BHB_{FTIR} in BE, kar pomeni, da se s povečevanjem koncentracije BHB_{FTIR} znižuje LA (preglednica 9).

Številni avtorji (Engelhard, 2014; Hoffmann, 2015; Mahlkow-Nerge, 2006) omenjajo, da lahko postavimo utemeljen sum na prisotnost ketoze v čredi, če je RMB širše od 1,5:1. Zato smo proučevali povezavo med RMB in vsebnostjo BHB_{FTIR} , ki ne potrujeta zgoraj navedenih trditev, da je ob visoki koncentraciji BHB_{FTIR} tudi RMB široko, čeprav je na sliki 9 prikazan trend, da se z naraščanjem BHB_{FTIR} širi tudi RMB. Ta trend je dobro viden vse do vsebnosti BHB_{FTIR} 0,3 mmol/L, nad to vsebnostjo BHB_{FTIR} pa se z naraščanjem BHB_{FTIR} RMB ne širi. To je razumljivo, saj imamo v mejnih območjih malo meritev in zaradi tega tudi slabo povezanost teh dveh lastnosti ($r = 0,35$).

5.1.2 Primerjava metod za določanje vsebnosti acetona v mleku Ac_{FTIR} in Ac_{SKALAR}

Zaradi večje koncentracije acetona kot BHB v mleku in s tem večje natančnosti analize (Roos in sod., 2007) so bile študije za ugotavljanje obolelosti krav za ketozo v preteklosti usmerjene predvsem v določanje vsebnosti acetona v mleku (Miettinen, 1994). Naša raziskava pa je pokazala, da se vsebnost acetona v mleku zelo spreminja. Koncentracija acetona se s časom, ki poteče od jemanja vzorca do analize zmanjšuje, saj najverjetneje hlapi. Korelacija med paralelkami (Ac_{FTIR1} in Ac_{FTIR2}) je bila, kljub temu, da smo vzorce takoj po odvzemu zamrznili, le 0,73 (slika 6). Predvidevamo, da se je aceton na vrhu vzorčka

najverjetneje skoncentriral in pri odtalitvi in odpiranju epruvet izhlapel. Zato je lahko zanesljivost določitve vsebnosti acetona pri redni mesečni kontroli vprašljiva, saj lahko vzorci z določenih območij do laboratorija potujejo tudi do tri dni ali so pred analizo shranjeni dalj časa. Če so vzorci mleka odvzeti in analizirani na vsebnost acetona še isti dan, bi bili rezultati analiz zanesljivejši in bi vsebnost acetona v mleku lahko služila za merilo za določanje subklinične ketoze v čredi. V naši raziskavi smo to potrdili, ko smo na osnovi povečane vsebnosti Ac_{FTIR} pri istih živalih ugotovili tudi povečane vsebnosti BHB_{FSO} v krvi ter tako potrdili prisotnost subklinične ali klinične oblike ketoze pri teh živali.

5.1.3 Primerjava metod za določanje vsebnosti BHB v mleku (BHB_{FTIR}) in v krvi ($\text{BHB}_{\text{Daytona}}$ in BHB_{FSO})

Zaradi zelo neobstojnega acetona v mleku smo v nadaljevanju raziskave proučevali vsebnost BHB v mleku in v krvi. Primerjava vsebnosti BHB v mleku z metodo FTIR (BHB_{FTIR}) in v krvi z UV kinetično encimatsko metodo ($\text{BHB}_{\text{Daytona}}$) je dala korelacijo med metodama 0,48. Razmeroma nizka korelacija je verjetno predvsem posledica izbire živali (slučajna izbira), ki so imele nizke vsebnosti BHB tako v krvi kot v mleku. Večina analiziranih vzorcev krvi je imela vsebnost $\text{BHB}_{\text{Daytona}}$ pod 1 mmol/L, razen enega vzorca, ki je vseboval več kot 1 mmol/L $\text{BHB}_{\text{Daytona}}$ krvi. Prav tako so bile v teh vzorcih vsebnosti BHB_{FTIR} zelo nizke, pod 0,10 mmol/L. Pri tako nizkih vsebnostih BHB_{FTIR} je točnost meritve njegove vsebnosti z Milskoscan aparatom slabša. Zato smo v nadaljevanju raziskavo razširili tudi na tiste živali, ki so vsebovale več BHB_{FTIR} in $\text{BHB}_{\text{Daytona}}$. V nadaljevanju smo koncentracijo BHB_{FTIR} primerjali s koncentracijo BHB, določenim z prenosnim merilnikom FreeStyle Optium (BHB_{FSO}) in dobili korelacijo 0,82 (slika 7). Ta je bila enaka tisti, ki so jo izračunali tudi Roos in sod. (2007) med vsebnostjo BHB_{FTIR} in acetonom (FTIR) ter vsebnostjo $\text{BHB}_{\text{SKALAR}}$ in acetonom (SKALAR) v mleku.

V primerjavi, v katero smo vključili živali, ki so imele v analizi mleka vsebnost BHB_{FTIR} nad 0,20 mmol/L in tistih, ki so imele vsebnost BHB v krvi nad 1,2 mmol/L, smo ugotovili, da je vsebnost BHB_{FTIR} nad 0,20 mmol/L dokaj zanesljiv pokazatelj subklinične ketoze. Z mejo nad 0,20 mmol/L BHB_{FTIR} smo zajeli kar 90 odstotkov živali s subklinično ketozo. Do podobnih rezultatov so prišli tudi Iwersen in sod. (2009), ki so v podobni raziskavi ugotovili, da ima kar 98 krav subklinično ketozo, če so imele vsebnost BHB v mleku več kot 0,20 mmol/L. Pri postavitvi meje na vsebnost BHB v mleku na 0,20 mmol/L pa veliko dejansko pozitivnih živali ne odkrijemo. V naši raziskavi je bilo kar 26 odstotkov vzorcev lažno negativnih. Te živali so bile glede na vsebnost BHB_{FTIR} zdrave, glede na vsebnost BHB v krvi pa obbolele. Če bi mejo za določitev subklinične ketoze zvišali na 1,4 mmol/L BHB krvi (Ospina in sod., 2010), kar je tudi priporočilo prodajalca prenosnih merilnikov Abbott, bi dobili le še 11,9 % lažno obolelih živali. Ker večina raziskovalcev priporoča mejo za določitev subklinične ketoze 1,2 mmol/L BHB krvi (Duffield, 2009; Oetzel, 2013), nekateri pa celo na 1 mmol/L krvi (Hoffmann, 2015) menimo, da bi bilo zvišanje meje za potrjevanje diagnoze na subklinično ketozo neutemeljeno.

Pri mejah za sum na subklinično ketozo med 0,11 in 0,19 mmol/L BHB_{FTIR} mleka, kot jo priporočajo Roos in sod. (2007) in pri meji vsebnosti BHB v krvi nad 1,2 mmol/L BHB krvi smo v naši raziskavi ugotovili 22 odstotka lažno pozitivnih in 21 odstotka lažno negativnih živali. Pri teh mejah je bilo torej 21 % živali s subklinično ketozo, ki pa glede na vsebnosti

BHB v krvi ni bila potrjena. Podobno kot pri zgornji meji pri vsebnosti 0,20 mmol/L ne zagajemo vseh dejansko obolelih. Zato je smiselno, da postavimo tri območja za vsebnost BHB v mleku in sicer za živali, katerih mleko vsebuje manj ali enako kot 0,10 mmol/L BHB, (neobolele živali), za tiste, katerih mleko vsebuje med 0,11 in 0,19 mmol/L BHB (sumljive) in za tiste, katerih mleko vsebuje 0,20 ali več mmol/L BHB mleka (živali, ki so dejansko obolele za subklinično ketozo). Sumljive živali, torej tiste, katerih mleko vsebuje med 0,11 in 0,19 mmol/L BHB mleka, moramo še dodatno preveriti z drugimi metodami, kot je na primer prenosni merilnik za določanje BHB v krvi, ali z drugimi posrednimi metodami.

5.1.4 Vplivi različnih dejavnikov na koncentracijo BHB_{FTIR}, na mlečnost, sestavo mleka in plodnost

5.1.4.1 Vplivi na BHB_{FTIR}

V preglednici 10 so prikazani vplivi na BHB_{FTIR}. Ti so sezona mlečne kontrole, zaporedna laktacija, mlečnost na dan kontrole, stadij laktacije in število somatskih celic. Vsi vplivi so statistično značilni. Rezultati nam kažejo, da se z zaporedno laktacijo povečuje koncentracija BHB_{FTIR}. Številni avtorji (Beaudeau in sod., 1994; Dettileux in sod., 1994; Fatur, 1993; Vanholder in sod., 2015) dokazujejo, da se z zaporedno laktacijo večja pogostnost obolenja s ketozo, prav tako pa tudi delež izločitev krav.

Na pojav ketoze pomembno vpliva tudi sezona telitve. Vanholder in sod. (2015) so na nizozemskih kmetijah ugotovili najnižjo obolevnost za subklinično ketozo od oktobra do decembra, torej konec jeseni in v začetku zime. Naši rezultati kažejo, da je bila najnižja koncentracija BHB_{FTIR} v zimskih mesecih. Tudi jeseni je bila koncentracija BHB_{FTIR} statistično značilno nižja kot spomladi in poleti. Najvišja koncentracija BHB_{FTIR} je bila v poletnih mesecih. Glede na koncentracije BHB_{FTIR} bi lahko sklepali, da se pojavlja največ subklinične ketoze prav v poletnih mesecih. Raziskava Dettileux in sod. (1994) kaže na največji pojav ketoze ob spomladanskih in poletnih telitvah. Nemec in Zadnik (1997) sta ugotovila, da se največ subklinične in klinične ketoze pojavlja pozimi, kar je v nasprotju z našimi ugotovitvami. Zagotovo lahko rečemo, da so se razmere v zadnjih dvajsetih letih na področju prireje mleka močno spremenile. Povečala se je prireja mleka po kravi, izboljšale pa so se tudi genetske sposobnosti živali za prirejo mleka. Zato so razmere v naši raziskavi podobnejše državam zahodne Evrope kot tistim, v katerih sta opravljala raziskavo Nemec in Zadnik (1997).

Tudi RMB vpliva na povečanje koncentracije BHB_{FTIR}. Širši kot je RMB, višja je koncentracija BHB_{FTIR}. Mlečnost značilno vpliva na BHB_{FTIR}. Večja kot je mlečnost, nižja je koncentracija BHB_{FTIR}. Torej so imele krave, ki so imele večjo mlečnost, imele nižjo vsebnost BHB_{FTIR}. Iz tega lahko zaključimo, da živali z višjo mlečnostjo niso imele povečane pogostnosti presnovnih motenj, ampak celo obratno. Engelhard in Meyer (2009) navajata, da sta se v obroku z malo močnimi krmili poslabšala tako mlečnost kot zdravstveno stanje, povečala se je pogostnost subkliničnih ketoz. Naša raziskava potrjuje navedena dejstva, vendar je vpliv mlečnosti na koncentracijo BHB_{FTIR} razmeroma majhen. Če se dnevna mlečnost poveča za 10 kg, se koncentracija BHB_{FTIR} zmanjša za 0,015 mmol/L (preglednica 10).

5.1.4.2 Vplivi na mlečnost v prvih 100 dneh

Rezultati analize variance, ki so podani v preglednici 11, nam kažejo, da koncentracija BHB_{FTIR}, ki posledica presnovnih bolezni, statistično značilno vpliva na mlečnost v prvih 100 dneh. Če se vsebnost BHB_{FTIR} poveča za 0,10 mmol/L, se mlečnost v prvih 100 dneh zmanjša za 43,2 kg (preglednica 12). Na mlečnost vplivajo še drugi dejavniki, kot so zaporedna laktacija, sezona mlečne kontrole in RMB. Model s temi vplivi sicer ne pojasni veliko variabilnosti, saj pomembnih vplivov, kot so genetska sposobnost živali za prirejo mleka, pasma, prehrana in drugi, v model nismo zajeli, ker niso bili predmet preučevanja. Na mlečnost v prvih 100 dneh pomembno vpliva tudi zaporedna laktacija, saj imajo krave v tretji in kasnejših laktacijah ter krave druge laktacije več prirejenega mleka v prvih 100 dneh kot krave v prvi laktaciji. Največ namolzenega mleka v prvih 100 dneh dajejo krave spomladi, najmanj jeseni.

5.1.4.3 Vplivi koncentracije BHB_{FTIR} in drugih dejavnikov na plodnost

Na plodnost krav vplivajo številni dejavniki. Zajeli smo le tiste, ki smo jih lahko določili ali izračunali iz podatkov kontrole mlečnosti. Preučevali smo parametre plodnosti, kot so SI, SP in PP. Korelacija med vsebnostjo BHB_{FTIR} in SI je zelo nizka ($r = 0,03$), zato tega parametra v nadaljevanju nismo podrobneje preučevali. Nekoliko višja je bila korelacija med SP in vsebnostjo BHB_{FTIR}, najvišja pa med BHB_{FTIR} in PP, ki pa je bila še vedno razmeroma majhna, kar pomeni, da z vsebnostjo BHB_{FTIR} zelo slabo pojasnimo dolžino PP (preglednici 13 in 14). Na plodnost vpliva še veliko drugih dejavnikov, kot so vodenje reprodukcije in prehrana.

V preglednici 13 prikazujemo vplive zaporedne laktacije, dnevne mlečnosti, logaritma števila somatskih celic, RMB in vsebnost BHB_{FTIR}, ki imajo statistično značilen vpliv na dolžino PP. Stadij laktacije nima statistično značilnega vpliva na PP. Iz rezultatov preglednice 13 lahko jasno zaključimo, da višja, kot je koncentracija BHB_{FTIR}, daljši je PP.

Večja mlečnost na molzni dan ima za posledico podaljšanje PP (preglednica 13), kar je verjetno povezano z izločanjem hormona prolaktina, ki se pri večji mlečnosti izloča v večjih koncentracijah in vpliva na hormona gonotropin in na LH (Bruckmaier in Bollwein, 2015).

Tudi na trajanje SP statistično značilno vplivajo zaporedna laktacija, logaritem števila somatskih celic, RMB ter BHB_{FTIR}. Dnevna mlečnost in stadij laktacije ne vplivata na SP. Povečana koncentracija BHB_{FTIR} ima za posledico daljšo SP.

5.1.4.4 Vpliv razredov BHB_{FTIR} na mlečnost, vsebnosti sestavin mleka in RMB ter plodnost

V naši raziskavi je bilo 4,6 odstotkov (6.631) meritev, ki so imele BHB_{FTIR} večji ali enak 0,20 mmol/L. Za te živali lahko z veliko verjetnostjo trdimo, da so obbolele s subklinično ketozo (Iwersen in sod., 2009).

Živali v razredu BHB2 in BHB3 imajo statistično značilno manjšo mlečnost kot krave v razredu BHB1. Ta razlika je še zlasti očitna med razredoma BHB 3 in BHB 1, saj so krave v razredu BHB3 imele za 1,7 kg manjšo mlečnost (6,8 %) (preglednica 17). Zmanjšanje

mlečnosti je skoraj enako ugotovitvam Ospina in sod. (2010), ki so ugotovili, da se mlečnost za ketozo subklinično obolelih živali zmanjša za 74,6 odstotkov, Duffield in sod. (2009) ugotavljajo nekoliko manjše zmanjšanje mlečnosti, če je bila meja za obolelost postavljena na 1,4 mmol/L BHB krvi (5,5 %). Ostali avtorji navajajo večje ali manjše zmanjšanje mlečnosti zaradi subklinične ketoze, kar je predvsem odvisno od obdobja pojava bolezni in koncentracije BHB v krvi (Oetzel, 2013; Mcart in sod, 2012; Miettinen, 1994). Kravam s subklinično ketozo se mlečnost lahko zmanjša od 3,4 do 17 odstotkov, kravam s klinično obliko ketoze pa tudi za več kot četrtino (26 %).

Krave v tretji in višji zaporedni laktaciji imajo za 3,93 kg več mleka na molzni dan kot krave prve laktacije. Krave druge laktacije imajo 2,79 kg več mleka kot krave prve laktacije.

Vsebnost mlečne maščobe (MA) je med posameznimi razredi BHB statistično značilno različna. Največjo MA smo določili v razredu BHB 3, to je 4,76 odstotka. V povprečju je MA v razredu BHB 3 manjša kot 5 odstotkov, kar je vsebnost, pri kateri sumimo na obolelost za ketozo (Lotthamer, 1991). MA je v razredu BHB 3 za skoraj 1 odstotek višja kot v razredu BHB 1 (preglednica 14). Odstotek mlečne maščobe je statistično značilno povezan z BHB_{FTIR}. Tudi razlike v vsebnosti beljakovin med razredi BHB so statistično značilne, vendar razmeroma majhne (preglednici 19 in 20).

V razredu BHB 3 je bilo RMB 1,55: 1, kar je po Engelhardu (2014) in Hoffmanu (2015) razmerje, pri katerem lahko sumimo na pojav ketoze. V preglednici 18 vidimo, da razredi BHB značilno vplivajo na RMB, ki je za 0,30 širše v razredu BHB3 kot v razredu BHB 1 in za 0,21 širše v razredu BHB 2 kot v razredu BHB1. Tako razred BHB 2 kot razred BHB 3 kažeta na verjetnost subklinične ketoze krav v teh skupinah (Engelhard, 2014).

Vsebnost laktoze se s večanjem BHB_{FTIR} zmanjšuje. Vsebnost laktoze je v razredu BHB 3 za 0,16 odstotka nižja kot v razredu BHB1. Odstotek laktoze v razredu BHB 3 je pod mejo 4,5 odstotka, pri kateri sumimo na bolezen vimena (Babnik in sod., 2004). Če pogledamo vpliv logaritma števila somatskih celic (preglednica 10) vidimo, da logaritem števila somatskih celic statistično značilno vpliva na vsebnost BHB_{FTIR}, prav tako je povezava med številom somatskih celic in vsebnostjo laktoze negativna ($r = -0,40$; $P < 0,001$). Zaradi tega menimo, da je nižja vsebnost laktoze posledica predvsem slabše odpornosti organizma, ki jo je povzročila subklinična ketoza (Oetzel, 2013).

Preglednica 22 nam kaže, da razredi BHB statistično značilno vplivajo na dolžino PP. Krave v razredu BHB 3 imajo za 18,3 dni daljši PP, kar pomeni, da imajo krave s subklinično ketozo ugotovljeno ob času kontrole mleka slabšo plodnost. Rezultati plodnosti so slabši, kot ugotavljajo Andersson in sod. (1991). Ti ugotavljajo, da so imele krave z visoko koncentracijo acetona, za 12 dni daljši PP. Tudi Fourichon in sod. (2000) potrjujejo, da je pri pojavu ketoze PP za 6 do 12 dni daljši.

5.2 SKLEPI

1. Vsebnosti acetona smo določali z dvema metodama, s FTIR metodo (Ac_{FTIR}) in Skalar metodo (Ac_{SKALAR}). Vsebnosti sta med seboj korelirani 76-odstotno. Korelacija med Ac_{FTIR1} (analiza 13.3.2015) in Ac_{FTIR2} (analiza 18.5.2015) je bila le 73-odstotna, čeprav smo vzorce do analize 18.5.2015 zamrznili. Menimo, da je do razlik prišlo zaradi hlapnosti acetona.
2. Na osnovi primerjave vsebnosti BHB v mleku s FTIR metodo (BHB_{FTIR}) in vsebnosti BHB v krvi, določeni prenosnim merilnikom FreeStyle Optium (BHB_{FSO}) smo dobili korelacijo 0,82.
3. Krave, ki so imele v mleku enako ali več kot 0,20 mmol/L BHB_{FTIR} , so imele v krvi 90 odstotkih več kot 1,2 mmol/L BHB.
4. Metoda BHB_{FTIR} je po našem mnenju primerna za ugotavljanje subklinične ketoze krav molznic v čredi, manj zanesljiva pa je pri določanju vsebnosti ketonov v mleku pri posamezni živali.
5. Na koncentracijo BHB_{FTIR} vplivajo številni dejavniki, kot so zaporedna laktacija, sezona mlečne kontrole, mlečnost ob kontroli, RMB in stadij laktacije ter logaritem števila somatskih celic. Vsi vplivi so statistično značilni. Najvišja koncentracija BHB_{FTIR} v mleku je bila ugotovljena v poletnem, najnižja v zimskem obdobju. Glede na koncentracijo BHB_{FTIR} v mleku je jesensko obdobje ugodnejše od spomladanskega.
6. Korelacija med vsebnostjo BHB_{FTIR} in RMB je bila 0,35. Na podlagi porazdelitve RMB in BHB_{FTIR} smo ugotovili, da nam široko RMB ne daje vedno tudi visoke vsebnosti BHB_{FTIR} ali obratno. Ugotovili smo, da imajo krave v razredu BHB 3 (nad 0,20 mmol/L) RMB 1,55 : 1.
7. Na mlečnost krav v prvih 100 dneh laktacije vplivajo poleg zaporedne laktacije še sezona mlečne kontrole, logaritem števila somatskih celic in RMB ter BHB_{FTIR} . Visoka koncentracija BHB_{FTIR} mlečnost zmanjšuje, širše RMB pa povečuje. Pri povečanju BHB_{FTIR} za 0,10 mmol/L se mlečnost v prvih 100 dneh zmanjša za 43,2 kg.
8. Krave v razredu BHB 3 (enako ali več kot 0,20 mmol/L BHB_{FTIR}) imajo za 1,7 kg manjšo dnevno mlečnost, kot krave v razredu BHB 1 (enako ali manj kot 0,10 mmol/L BHB_{FTIR}). Krave razreda BHB 2 pa imajo za 0,7 kg nižjo dnevno mlečnost kot krave v razredu BHB 1.
9. Krave razreda BHB 3 imajo tudi statistično značilno višji odstotek maščob (za 0,92 %) in značilno nižjo laktozo kot krave razreda BHB 1 (za 0,16 %).

10. Koncentracija BHB_{FTIR} in širše RMB negativno vplivata na dobo od telitve do uspešne osemenitve (PP). Ugotovili smo tudi, da na plodnost statistično značilno vplivajo parametri, kot so zaporedna laktacija, dnevna mlečnost in stadij laktacije ter logaritem števila somatskih celic. Krave razreda BHB 3 imajo za 18,3 dni in krave razred BHB2 za 4,8 daljši PP kot krave razreda BHB1.

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

V magistrski nalogi smo ugotavljali vpliv zdravja krav molznic (presnovnih bolezni) na proizvodne lastnosti in plodnost. Zlasti nas je zanimal vpliv ketoze na proizvodne lastnosti in sestavine v mleku.

V raziskavo smo vključili krave molznice iz območja kmetijskega zavoda Ptuj in območja kmetijskega zavoda Celje, kjer je v kontrolo proizvodnosti zajetih 35.000 krav. Zajeli smo podatke za obdobje 16 mesecev, ko smo imeli na Kmetijskem zavodu možnost analizirati vsebnosti acetona in β -hidroksi butirata (BHB) v mleku po FTIR (Fourier transform infrared spectrometry) metodi. Podatke smo obdelali s statističnim programom R, s katerim običajno opravljajo statistično obdelavo podatkov na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

V začetku raziskave smo preverjali vsebnost acetona, ki smo ga določali z metodo FTIR (Ptuj, Slovenija) in Skalar metodo (Lichtenwalde, Nemčija). Rezultate za vsebnost BHB v mleku s FTIR metodo (BHB_{FTIR}) smo preverjali z UV-kinetično encimsko metodo na avtomatskem analizatorju RX Daytona BHB v krvi ($BHB_{Daytona}$) in s prenosnim merilnikom FreeStyle Optium za določanje BHB v krvi (BHB_{FSO}).

Ugotovili smo, da je korelacija med vsebnostmi AC_{FTIR} in AC_{SKALAR} 0,76, korelacija med AC_{FTIR1} (analizirano 13.5.2015) in AC_{FTIR2} (analizirano 18.5.2015) pa 0,73. Ugotovili smo, da je korelacija med BHB_{FTIR} in BHB_{FSO} 0,82. Devetdeset odstotkov krav, ki je imelo v mleku višji ali enak BHB kot 0,20 mmol/L, je imelo v krvi vsebnosti BHB nad 1,2 mmol/L. Pri tej meji v mleku in v krvi je bilo 26 odstotkov živali lažno negativnih (glede na vsebnost BHB v krvi pozitivne, glede na vsebnost BHB v mleku pa negativne). Pri enaki meji BHB v mleku in meji 1,4 mmol/L pa je bilo 11,9 % lažno negativnih. Delež lažno negativnih bistveno zmanjšamo s povišanjem meje vsebnosti BHB v krvi.

Pri postavitvi meje 0,10 mmol/L BHB v mleku (primerjana s BHB v krvi nad 1,2 mmol/L) zajamemo 78 odstotkov pozitivnih živali (22 % pa je lažno pozitivnih), ne zajamemo pa 21 odstotkov živali, ki so lažno negativne.

Za vse preučevane parametre v mleku smo izračunali Pearsonov korelacijski koeficient in za posamezne vplive naredili analizo variance ter vplive med posameznimi razredi testirali s kontrasti Tukey.

Na podlagi navedenih analiz smo ugotovili, da so bile korelacije med parametri v mleku, kot so vsebnost BHB, mlečnost na kontrolni dan, odstotek mlečne maščobe, beljakovin mleka in laktoze, število somatskih celic, sečnina, stadij laktacije ter razmerje med mlečno maščobo in beljakovinami mleka (RMB) razmeroma nizke. Najvišje so bile med odstotkom mlečne maščobe in RMB ($r = 0,85$), med BHB_{FTIR} in RMB ($r = 0,35$) ter med odstotkom mlečne maščobe in BHB_{FTIR} ($r = 0,32$). Iz porazdelitve RMB in BHB_{FTIR} smo ugotovili, da nam široko RMB ne daje vedno tudi visoke vsebnosti BHB_{FTIR} ali obratno, a smo dokazali, da imajo krave v razredu BHB 3 (z vsebnostjo BHB_{FTIR} 0,20 ali več mmol/L) RMB 1,55 : 1.

Statistična analiza je pokazala, da vplivajo na koncentracijo BHB_{FTIR} številni dejavniki, ki smo jih vključili v obdelavo: zaporedna laktacija, sezona mlečne kontrole, mlečnost ob kontroli, RMB v mleku in stadij laktacije ter število somatskih celic. Vsi vplivi so statistično značilni. Najvišjo koncentracijo BHB_{FTIR} smo analizirali v poletnih mesecih, nekoliko nižjo v spomladanskem obdobju, še nižjo v jesenskem času in najnižjo pozimi. Iz tega lahko sklepamo, da je pojav subklinične ketoze v Sloveniji največji v poletnem ter spomladanskem času, vendar so razlika med sezonami zelo majhne.

Na mlečnost krav v prvih 100 dni laktacije vplivajo poleg zaporedne laktacije, sezone mlečne kontrole, logaritma števila somatskih celic tudi RMB in BHB_{FTIR} . Visoka koncentracija BHB_{FTIR} zmanjšuje, široko RMB pa povečuje mlečnost. Pri povečanju BHB_{FTIR} za 0,10 mmol/L se mlečnost v prvih 100 dni zmanjša za 43,2 kg. Krave v razredu BHB3 (vsebnost BHB_{FTIR} enako ali več kot ad 0,20 mmol/L) imajo za 1,7 kg (6,8 %) nižjo dnevno mlečnost, kot krave v razredu BHB 1 (vsebnost BHB_{FTIR} pod ali enako 0,10 mmol/L). Prav tako imajo krave BHB 2 nižjo mlečnost kot krave razreda BHB 1 (razlika je 0,7 kg mleka).

Krave razreda BHB 3 imajo tudi statistično značilno višji odstotek maščob in značilno nižjo vsebnost laktoze v mleku, kot krave razreda BHB 1. Razlika med razredom BHB3 in BHB1 je 0,98 odstotka laktoze.

Skupina krav v razredu BHB 3 ima tudi statistično značilne nižje beljakovine mleka, vendar so te razlike zelo majhne. Razredi BHB imajo statistično značilen vpliv tudi na odstotek laktoze. Najnižja vsebnost laktoze je bila v razredu BHB 3. Razlike med razredi BHB so v vsebnosti laktoze statistično značilne.

Višja koncentracija BHB_{FTIR} ima za posledico podaljšano dobo od telitve do uspešne osemenitve (PP). Tudi širše RMB negativno vpliva na dolžino PP. Ugotovili smo tudi, da na plodnost statistično značilno vplivajo naslednji parametri, kot so zaporedna laktacija, dnevna mlečnost in stadij laktacije ter logaritem števila somatskih celic. Visoka mlečnost na kontrolni dan podaljšuje dobo od telitve do uspešne osemenitve. Za vsak kg višje mlečnosti se ta doba podaljša za 0,9 dneva. Razred BHB 3 podaljša PP za 18,3 dni, razred BHB 2 pa za 4,8 dni. Torej imajo krave s subklinično ketozo in krave, za katere sumimo da so obolele za ketozo, daljši PP.

Iz raziskave je tudi razvidno, da povečana koncentracija BHB_{FTIR} , ugotovljena v času kontrole produktivnosti krav molznic, podaljšuje tudi dobo od prve do uspešne osemenitve (SP). Na SP vplivajo še RMB, število somatskih celic in zaporedna laktacija. Ti parametri statistično značilno vplivajo na daljšo SP.

6.2 SUMMARY

For the Master thesis, we were examining the influence of dairy health (especially for metabolic diseases) on production characteristics and fertility. We were especially interested for the influence of ketosis on production characteristics and content in the milk. The study

included cows from the area of Regional Agricultural Institute Ptuj and Celje, who having about 35.000 cows in milk recording (AT4).

For our work, we have taken data from 16-month period; because we had a chance in that period for analysing acetone and β -hydroxybutyrate (BHB) with Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) method. We have analysed the data with statistical program R, which is used on Agricultural Institute of Slovenia for majority of statistical analyses.

In our research, firstly we compared acetone contents, analysed with FTIR in laboratory Ptuj and with Scalar method analysed in Germany (Lichtwienwalde). We have also compared the contents for BHB in milk (FTIR) with its contents in blood (by laboratory analysis (XR Dytona) in blood and with manual meter (FreeStyle Optium)).

We found out that the correlation between the FTIR and Scalar method for acetone is 0.76. The correlation between recurrences of the acetone in the same FTIR method was 0.73. We found that, the correlation between BHB in milk and BHB in blood (Freestyle Optium) is 0.82. Ninety percent of cows who have had milk BHB higher than 0.20 mmol/L, had blood BHB higher than 1.2 mmol/L. By this limit in the milk and blood the 26 % of the animals were false negative (positive in blood in negative in milk). At the same limit in the milk and with limit 1.4 mmol/L in blood 11.9 % of cows were false negative. The limit of 0.10 mmol BHB/L of milk and in over 1.2 mmol BHB/L of blood 22 % cows were false positive and 21 % were false negative. The proportion of false negative cows is significantly reduced by increasing the BHB limit in the blood.

For all the studied parameters in milk Person correlation coefficient was calculated and we have calculated an analysis of variance and the interactions between different classes of BHB contents with Tukey contrasts. These analyses revealed that the correlations between the milk constituents, such as BHB, contents of fat, protein, lactose, urea, somatic cells, ratio between fat and protein (RMB), days in milk and stage of lactation were relatively low.

The correlation between the percentage of fat and RMB was 0.85, between the BHB and RMB 0.35 and between percentage of fat and BHB 0.32. Widening RMB does not always increases BHB or vice versa. However, we demonstrated that cows in the class BHB 3 (with over 0.20 mmol BHB/L of milk) had RMB of 1.55 : 1.

Statistical analysis showed that the concentration of BHB is affected by many factors that were included in the statistical analyses. These were parity, season, milk yield on milk recording day, RMB, stage of lactation and somatic cell count. All these parameters significantly influenced BHB content in milk. The highest concentration of BHB in milk was determined during the summer months, slightly lower in the spring period, lower in autumn and the lowest in winter. We can conclude that the occurrence of subclinical ketosis in Slovenia is the highest in summer and springtime.

In the milk yield of cows during the first 100 days of lactation was affected by lactation, season, somatic cell count, RMB and BHB content in milk. Increasing the concentration of BHB in milk reduces milk yield. On contrary, widening RMB increases milk yield. By

increasing BHB in milk for 0.10 mmol/L, milk yield in the first 100 days decreases for 43.2 kg.

Cows in the class BHB 3 (above 0.20 mmol BHB/L of milk) have 1.7 kg (6.8 %) lower daily milk yield than cows in the class BHB 1 (below 0.10 mmol BHB/L of milk). Cows in class BHB 2 (between 0.10 and 0.19 mmol BHB/L of milk) class have 0.70 kg lower milk yield than cows from BHB 1 class.

Cows from class BHB 3 have a significantly higher percentage of fat and significantly reduced lactose contents in milk, compared with cows in the class BHB 1. Cows in class BHB 3 had for 0.98 higher fat contents than those in class BHB 1. Group of cows in the class BHB 3 had a statistically significant lower protein content, but differences were very small. Classes of BHB have a statistically significant impact on the percentage of lactose. Lowest lactose content was found in the class BHB 3, which is below the limits of 4.5 %. The differences between classes in the BHB lactose are statistically significant.

Increasing the concentration of BHB in milk extended the period from calving to a conception. Wider RMB has a negative impact on the period from calving to successful insemination too. We have also found that fertility was significantly affected by the following parameters: parity, daily milk yield, stage of lactation and somatic cell count. High daily milk yield extended the time from calving to successful insemination. Increasing the milk yield for 1 kg extended the period from calving to successful insemination by 0.9 days.

We found that classes of BHB have significant effects on period from calving to successful insemination. Class BHB 3 extends the days open for 18.3 days, while the class BHB 2 extends this period for only 4.8 days.

Our research also showed that increasing concentration of BHB lengthened the period from first insemination to successful inseminations (SP). SP is influenced by RMB, somatic cell count and parity. These parameters significantly affect the SP.

7 VIRI

- Andersson L., Gustafsson A.H., Emanuelson U. 1991. Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 36, 4: 521-536
- Andrews A.H., Laven R., Maisey I. 1991. Treatment and control of an outbreak of fat cow syndrome in large dairy herd. *Veterinary Record*, 129, 10: 216-219
- Babnik D., Verbič J., Podgoršek P., Jeretina J., Perpar T., Logar B., Sadar M., Ivanovič B. 2004. Priročnik za vodenje prehrane krav molznic ob pomoči rezultatov mlečne kontrole. Raziskave in študije 79. Ljubljana, Kmetijski Inštitut Slovenije: 84 str.
- Beaudeau F., Frankena K., Fourichon C., Seegers H., Faye B., Noordhuizen J.P.T.M. 1994. Associations between health disorder of French dairy cows and early and late culling within the lactation. *Preventive Veterinary Medicine*, 19, 3-4: 213-2331
- Bigner D.R., Goff J.P., Faust M.A., Tyler H.D., Horst R.L. 1997. Comparison of oral sodium compounds for the correction of acidosis. *Journal of Dairy Science*, 80, 9: 2162-2166
- Bruckmaier R.M., Bollwein H. 2015. Energiedefizit hemmt die Fruchtbarkeit. *Elite*, 6: 48-50
- Cestnik V. 1995. Metabolizem pri domačih živalih. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta: 167 str.
- Detilleux J. C., Gröhn Y. T., Quaas R. L. 1994. Effects of clinical ketosis on test day milk yields in Finnish Ayrshire cattle. *Journal of Dairy Science*, 77, 11: 3316-3323
- De Boer G., Trenkle A., Young J.W. 1985. Glucagon, insulin, growth hormone and some blood metabolites during energy restriction ketonemia of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 68, 2: 326-337
- Duffield T.F., Lissemore J., McBride B.W., Leslie K.E. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cow on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92: 571-580
- Engelhard T. 2014. Wie aussagekräftig ist der Fett: Eiweiß-Quotient. *Elite*, 2: 28-30
- Engelhard T., Meyer A. 2009: Kosten sparen Kraftfutter reduzieren. *Elite*, 2: 28-31
- Fatur B. 1990. Razširjenost klinično zaznane in subklinične ketoze pri molznicah v poporodnem obdobju in vpliv krmljenja na njen pojav. Zbornik Veterinarske Fakultete, Univerza Ljubljana, 27, 2: 167-178
- Fitter mit Propylenglykol. 2010. *Elite Magazin für Micherzeuger*, 5: 36
- Foss Application Note 2014. Ketosis prediction models: Acetone and BHB. Customer Support, 7: 13 str.
- Fourichon C., Seegers H., Malher X. 2000. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: Meta-analysis. *Theriogenology*, 53, 9: 1729-1759
- Fürll M., Schafer M., Dabbagh M.N., Bier H. 1993. Hormonal reactions in fattening bulls and cows during a 3-week butyric acid load. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 106, 11: 364-370
- Goff J.P., Horst R.L. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80, 7: 1260-1268
- Gröhn Y.T., Eicker S.W., Hertl J.A. 1995. The association between previous 305 day milk yield and disease in New York State dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 8: 1693-1702
- Gröhn Y.T., Wilson D.J., Gonzalez R.N., Hertl J.A., Schulte H., Bennett G. 2004. Effect of Pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 10: 3358-3374

- Gregorovič V. 1982. Bolezni in zdravstveno varstvo prežvekovalcev. 3. izdaja. Ljubljana, Veterinarska fakulteta: 635 str.
- Gustafsson A.H., Andersson L., Emanuelson U. 1995. Influence of feeding management, concentrate intake and energy intake on the risk of hyperketonemia in Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 22, 4: 237-248
- Gustafsson A.H., Emanuelson U. 1996. Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonaemia in dairy cows: the critical value revised. *Animal Science*, 63, 2: 183-188
- Herd T.H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 16, 2: 215-231
- Heur C., Luinge H.J., Lutz E.T.G., Schukken Y.H., Van der Maas J.H., Wilmink H., Noordhuizen J.P.T.M. 2001. Determination of Acetone in Cow Milk by Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Detection of Subclinical Ketosis. *Journal of Dairy Science*, 84, 3: 575-582
- Hinnerk-Alberti J., Engelhard T., Glatz J., Losand B., Mahlkow-Nerge K., Naumann A., Pries M., Prützmann D., Schuster H., Staudacher W. 2012. Fütterungsempfehlungen für Milchkühe im geburtsnahen Zeitraum, Versorgung während des Trockenstehens und Frühlaktation. Frankfurt, DLG Verlag: 75 str.
- Hoffmann M. 2015. Abspecken mit Plan. *DLZ Primus Rind*, 8: 26-39
- Hohler A. 2015. Nove metode za ugotavljanje subklinične ketoze v Sloveniji. V: 24. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali »Zadavčevi-Erjavčevi dnevi«. Mednarodni znanstveni simpozij, Radenci, 12.-13. nov. 2015. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod. <http://www.kgzs-ms.si/wp-content/uploads/2016/01/06-ZED2015.pdf> (20. dec. 2015)
- Holtenius, P. 1993. Hormonal regulation related to the development of fatty liver and ketosis. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Supplement 89: 55-60
- Hulsen J. 2012. Trockenstehzeit, Special Needs - Kühe und Behandlungen. Zutphen, Niederlande, Roodbont Verlag: 72 str.
- Iwersen M., Falkenber R., Voigtsberger R., Forderung D.; Heuwieser W. 2009. Evaluation of electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 2: 2618-2624
- Iwersen M., Klein-Jöbstl D., Pichler M., Roland L., Fildschuster B., Schwendenwein M. 2013. Comparison of 2 electronic cowside tests to detect subclinical ketosis in dairy cows and the influence of the temperature and type of blood sample on the test. *Journal of Dairy Science*, 96, 12: 7719-7730
- Jenko J., Moljk B., Perpar T. 2007. Analiza dolgoživosti krav molznic in njen vpliv na ekonomiko prireje mleka. V: 16. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali "Zadavčevi-Erjavčevi dnevi", Radenci, 8.-9. nov. 2007. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod. https://www.govedo.si/datoteke/File/kis/SLO/Publikacije/drugo/2007_analiza_dolgozivi_osti_krav_molznic_in_njen_vpliv_na_ekonomiko_prireje_mleka.pdf (12. nov. 2015)
- Ježek J., Starič J., Klinkon M., Nemec M. 2011. Merjenje koncentracije beta hidroksibutirata v krvi z biokemijskim analizatorjem in merilnikom Optium Xceed- primerjava metod. V: Program in zbornik referatov, 4. slovenski veterinarski kongres 2011, Portorož, 18.-19. nov. 2011. Ljubljana, Veterinarska fakulteta. (Slovenski veterinarski zbornik, Supplement 13: 253-255)

- Koeck A., Miglior F., Jamrozik J., Kelton D.F., Schenkel F.S. 2013. Genetic associations of ketosis and displaced abomasum with milk production traits in early first lactation of Canadian Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 96, 7: 4688-4696
- Krepasky M., Maskalova I., Bujnak L., Vajda V. 2014. Ketone bodies in blood of dairy cows: Prevalence and monitoring of subclinical ketosis, *Acta Veterinaria Brno*, 83: 411-416
- Lavrenčič A. 2008. Preprečevanje pojava ketoze pri kravah molznicah. V: 17. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali "Zadavrčevi-Erjavčevi dnevi 2008" Mednarodni znanstveni simpozij, Radenci, 13.-14. nov. 2008. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod.
<http://www.kgzs-ms.si/slike/ZED08/13Lavrencic.pdf> (10. nov. 2015)
- Lotthammer K.H. 1991. Beziehung zwischen einigen Blut und Milchinhaltsstoffen als Indikator der Energieversorgung und Fruchtbarkeit sowie Euter und Stoffwechselstörungen bei Milchrinder. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 46, 18: 639-343
- Lean I.J., Bruss M.L., Troutt H.F., Galland J.C., Farver T.B., Rostami J., Holmberg C.A., Weaver L.D. 1994. Bovine ketosis and somatotropin: risk factors for ketosis and effects of ketosis on health and production. *Research in Veterinary Science*, 57, 2: 200-209
- Management von Silo und Futtertisch. 2013. Veauthier G. (ur.). *Elite Best Practise*, Supplement, Fütterung, november: 28-33
- Mcart J.A.A., Nydam D.V., Oetzel G.R. 2012. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95, 9: 5056-5066
- Mahlkow-Nerge K. 2013. Mit Schnelltests Ketose auf Spur. *Bauerblatt*, 13. jul. 2013.
www.lksh.de/fileadmin/dokumente/Bauernblatt/PDF_Toepper_2013/BB_28_13.07/49-50_Mahlkow-Nerge.pdf (10. sep. 2015)
- Mahlkow-Nerge K. 2006. Effektive Betriebsberatung. *Milchpraxis*, 4: 149-154
- Mahlkow-Nerge K., Engelhard T. 2006. Glycerin oder Propylenglykol? *Elite*, 4: 24-27
- Metzner M., Hoffmann W., Laiblin Ch. 1993. Untersuchung zur Wirksamkeit intravenös verabreichter hoher Glukosemengen bei Behandlung der Ketose des Rindes. *Tierärztliche Praxis*, 21, 4: 289-293
- Miettinen P.V.A. 1994. Relationships between milk acetone and milk yield in individual cows. *Journal of Veterinary Medicine*, 41, 2: 102-109
- Miettinen P.V.A. 1995. Prevention of bovine ketosis with glucogenic substance and its effect on fertility in Finnish dairy cows. *Berlin und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 108, 1: 14-19
- Moore D. A., Ishler V. 1997. Managing dairy cows during the transition period: focus on ketosis. *Veterinary Medicine*, 92, 12: 1061-1072
- Naylor M. J., Ralston L.S. 1991. Large animal clinical nutrition. St. Luis, Mosby Year Book: 576 str.
- Nemec M., Zadnik T. 1997. Koncentracija acetona v vzorcih mleka iz bazena. *Zbornik Veterinarske fakultete, Univerza Ljubljana*, 34, 19: 55-61
- Nielsen T.K., Jensen K. 1991. Influence of feeding intensity on blood concentrations of glucose, ketone bodies and free fatty acids in nutritionally adapted dairy cows fed 24 times daily. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 32, 3: 301-306
- Oetzel G.R. 2007. Herd level ketosis- diagnosis and risk factors. V: Preconference Seminar 7c: Dairy herd problem investigation strategies: Transition cow troubleshooting. 40th

- Annual Conference, Vancouver, BC, Canada, 19. sept. 2007. American Association of Bovine Practitioners: 67-91
- Oetzel G.R. 2010. Evaluation of the hand-held Precision Xtra® system for diagnosing ketosis in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93, Supplement 1: 526-526
- Oetzel G.R. 2013. Understanding the impact of subclinical ketosis. University of Florida, IFAS Extension.
http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2013/2_oetzel.pdf (15. okt. 2015)
- Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. 2010. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hidroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate and milk production at the level. *Journal of Dairy Science*, 93, 8: 3595-36
- Østergaard S., Gröhn Y.T. 1999. Effect of diseases on test day milk yield and body weight of dairy cows from Danish research herds. *Journal of Dairy Science*, 82, 6: 1188-1201
- Pestevšek U. 1985. Prehranski dejavniki v etiologiji prebavnih in presnovnih motenj pri molznicah v poporodnem obdobju. Doktorska disertacija. Ljubljana, BF, VTOZD za veterinarstvo: 87 str.
- Pevec T. 2008. Labmagenverlagerung, Ketose und puerperale Sepsis bei Kühen. Saarbrücken, Deutschland, VDM Verlag Dr. Müller Aktiengesellschaft & Co. KG: 148 str.
- Rajala-Schultz P.J., Gröhn Y.T., McCulloch C.E. 1999a. Effect of milk fever, ketosis, lameness on milk yield in Dairy Cow. *Journal of Dairy Science*, 82, 2: 288-294
- Rajala-Schultz P.J., Gröhn Y.T., McCulloch C.E., Guard C.L. 1999b. Effect of clinical mastitis on milk yield dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 6: 1213-1220
- Rationsgestaltung für Hochleistungskühe 2013. Veathier G. (ur.). Elite Best Practice, november: 12-28
- Reil R. 2010a. Trockenstellen und vorbereiten Elite Best Practice Fruchtbarkeitsmanagement, november: 4-14
- Reil R. 2010b. Die Abkalbung richtig managen. Elite Best Practice Fruchtbarkeitsmanagement, november: 14-23
- Reil R. 2010c. Den perfekten Start in die Laktation sicherstellen. Elite Best Practice Fruchtbarkeitsmanagement, november: 24-36
- Roos A.P.W., Bijgaart H.C.J.M., Horlik J., Jong G. 2007. Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 90: 1761-1766
- Rossow N., Staufienbiel R., Schulz J. 1990. Gestaltung der der Trockenstehperiode zur Verhütung von Stoffwechsel und Fertilitätsstörungen bei Milchkühe. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 46, 1: 11-17
- Rossow N., Stufenbiel B., Staufienbiel R., Gürtler H., Dargel D., Neuer R. 1991. Evaluation of increased ketone body concentrations in dairy cows. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 46, 1: 11-17
- Schade D.S., Eaton R.P. 1975. Glucagon regulation of plasma ketone body concentration in human diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 56: 1340-1344.
<http://www.jci.org/articles/view/108212/pdf> (29. nov. 2015)
- Simensen E., Østerås O., Bøe K.E., Kielland C., Ruud L.E., Naess G. 2010. Housing system and herd size interactions in Norwegian dairy herds: associations with performance and disease incidence. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52, 14: 1-9
- Struck A. 2014. Tropfen für Tropfen. *DLZ Agrarmagazin. Primus Rind*, 11: 22-25

- Smith T.R., Hippen A.R., Beitz D.C., Young J.W. 1997. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 8: 1569-1581
- Staufenbiel R., Staufenbiel B., Lachmann I. 1993. Fat metabolism, fertility and health of dairy cow. *Archiv für Tierzucht*, 36, 2: 121-137
- Suthar V.S., Canelas Raposo J., Deniz A., Heuwer W. 2013. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 5: 2925-2938
- Traulsen K. 2012. Ketose ja oder nein? *Milchpraxis*, 4: 40-41
- Thoralf M., Richter T. 2012. Kühe verlassen die Herde oft viel zu früh! *Elite*, 3: 22-25
- Unger R.H., Orci L. 1976. Physiology and pathophysiology of glucagon. *Physiological Reviews*, 56, 4: 778-826
- Uribe H.A., Kenedy B.W., Martin S.W., Kelton D.F. 1995. Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 2: 421-430
- Valde J.P., Hird D.W., Thurmond M.C., Østerås O. 1997. Comparison of ketosis, clinical mastitis, somatic cell count and reproductive performance between free stall and tie stall barns in Norwegian dairy herds with automatic feeding. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 38, 2: 181-192
- Vanholder T., Papen J., Bernal R., Vertenten G., Berge A.C. 2015. Risk factor for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of Dairy Science*, 98, 2: 880-888
- Van Knegsel A.T.M., de Vries Reilingh G., Meulenberg S., van den Brand H. 2007. Natural antibodies related to energy balance in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 12: 5490-5498
- Wechselbeziehungen 2014. Was Gebärmutterentzündungen befördert? *Dlz Primus Rind*, 8: 20-23
- Vernon R.G., Taylor E. 1988. Insulin, dexamethasone and their interactions in the control of glucose metabolism in adipose tissue from lactating and nonlactating sheep. *Biochemical Journal*, 256, 2: 509-514
- Wilke G. 1998. Vor dem Kalben die Energiedichte steigern! *Top Agrar*, 4: 8-10
- Zadnik T. 1996. Presnovne bolezni pri prežvekovalcih. *Zapiski s predavanj*. Ljubljana, Veterinarska fakulteta: 107 str.
- Zadnik T., Pirc B., Fatur B., Jazbec I. 1994. Maslena kislina v travni silaži in pojav acetona v mleku. V: *Zbornik predavanj 3. mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali »Zadravčevi-Erjavčevi dnevi«*, Radenci, november 1994. Pen A. (ur.). Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod: 130-137
- Zieger P. 2001. So bekommen Sie die Ketose in den Griff. *Top Agrar*, 10: 26-29

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Andreju Lavrenčiču za vodenje in usmerjenje pri izdelavi magistrske naloge obema članicama komisije prof. dr. Klinkonovi in doc. dr. Klopčičevi za pregled in pripombe.

Še posebna zahvala mag. Janezu Jeretini iz Kmetijskega inštituta za pomoč pri statistični obdelavi podatkov in sodelavkam iz knjižnice Oddelka za zootehniko dr. Nataši Siard in Jerneji Bogataj za pregled in pomoč pri oblikovanju.

Zahvala tudi Veterinarski bolnici Slovenska Bistrica za jemanje krvi za raziskavo.

Zahvala Lidiji Ličen, profesorici slovenščine za lektoriranje magistrskega dela.

Zahvala moji družini za vso strpnost, pomoč in razumevanje ter Bogu za zdravje