



Hrvatska agencija za
poljoprivredu i hranu

Croatian Agency for
Agriculture and Food

L'Agence Croate pour
l'Agriculture et l'Alimentation

ZNANSTVENO IZVJEŠĆE

DOBROBIT MLIJEČNIH KRAVA, POJAVA SUPKLINIČKOG MASTITISA I BROJ SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU

Dražen Knežević, Brigita Hengl, Kristina Matković, Miroslav Benić,
Marcela Šperanda, Drago Solić, Danijela Stručić

CENTAR ZA SIGURNOST HRANE

Ivana Gundulića 36b, 31000 Osijek, tel: +385 31 214 900, e-mail: csh@hapih.hr, www.hapih.hr
MB:2528614, OIB: 35506269186, IBAN: HR1210010051863000160

Dokument izrađen temeljem zahtjeva Centra za sigurnost hrane.
Usvojeno: 13.10.2021
Usvojila: *ad hoc* radna grupa za evaluaciju i usvajanje znanstvenog izvješća
Dostupno na: <https://www.hapih.hr/csh/upisnik-znanstvenih-misljenja/>
DOI: 10.5281/zenodo.5807399
Korespondencija: info.chs@hapih.hr
Klasa: 641-02/20-01/00001
Ur. broj: 396-08-21-34

ČLANOVI AD HOC RADNE GRUPE ZA EVALUACIJU I USVAJANJE ZNANSTVENOG IZVJEŠĆA

1. dr. sc. Dražen Knežević, dr. med. vet., Centar za sigurnost hrane, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
2. dr. sc. Brigita Hengl, dr. med. vet., Centar za sigurnost hrane, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
3. prof.dr.sc. Kristina Matković, Zavod za higijenu, ponašanje i dobrobit životinja, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet
4. prof. dr. sc. Samir Kalit, Zavod za mljekarstvo, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
5. doc. dr.sc. Miroslav Benić, Odjel za bakteriologiju i parazitologiju, Hrvatski veterinarski institut
6. prof. dr. sc. Marcela Šperanda, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku,
7. dr.sc. Drago Solić, Centar za stočarstvo, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
8. Danijela Stručić dipl. ing. agr., Centar za kontrolu kvalitete stočarskih proizvoda, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu

Izjave o sukobu interesa:

Autori nisu bili u izravnom ili neizravnom, financijskom, gospodarskom ili bilo kojem drugom osobnom interesu koji bi se mogao smatrati štetnim za njihovu nepristranost i neovisnost u kontekstu izrade ovog dokumenta.

Zahvale:

Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za sigurnost hrane zahvaljuje se prof. dr. sc. Marceli Šperandi, prof. dr. sc. Vesni Gantner i doc. dr. sc. Misalvu Đidari s Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku na sudjelovanju u istraživačkom dijelu projekta.

Predloženo citiranje:

HAPIH (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu), *Ad hoc* radna grupa, Knežević D, Hengl B, Matković K, Kalit S, Benić M, Šperanda M, Solić D, Stručić D (2021): Znanstveno izvješće Dobrobit mlječnih krava, pojava supkliničkog mastitisa i broj somatskih stanica u mlijeku.

Sažetak

Sigurnost i kvaliteta mlijeka te dobrobit životinja koje se uzgajaju radi proizvodnje mlijeka pobuđuju sve veće zanimanje opće i stručne javnosti (EFSA 2009., 2009a., 2012., 2012a., 2015). Uzimajući u obzir takve okolnosti Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu provela je istraživanje koje je imalo za cilj utvrditi stanje dobrobiti krava na farmama u Republici Hrvatskoj, utvrditi sigurnost i kvalitetu mlijeka te njihovu međusobnu povezanost. Za procjenu dobrobiti korištena je metoda talijanskog nacionalnog referentnog centra za procjenu dobrobiti CReNBA (Bertocchi i Fusi, 2014.). Za provođenje istraživanja odabrano je šest farmi, a uzorci za laboratorijske pretrage uzeti su od životinja u drugoj i trećoj laktaciji. Procijenjena je dobrobit na farmama, analizirano je mlijeko na kemijske i mikrobiološke pokazatelje, utvrđen je broj somatskih stanica u mlijeku brzim testovima i laboratorijskom metodom te su određeni biokemijski pokazatelji u krvi krava. Prema ocjenama dobrobiti dvije farme pripadaju gornjem ocjenskom razredu, a ostale srednjem. S obzirom da protokol procjene dobrobiti uvažava ocjenu o životinji, infrastrukturi i menadžmentu, a broj somatskih stanica samo je jedan od pokazatelja dobrobiti, nije utvrđen utjecaj dobrobiti na broj somatskih stanica. Utvrđeno je da je porasla svijest o važnosti provođenja mjera dobrobiti, dok mnoštvo pokazatelja ukazuje da se implementiraju suvremena znanja o hranidbi, kvaliteti vode i zraka u objektima, kao i o postupanju sa životinjama. Međutim, utvrđeno je da još uvijek ima prostora za poboljšanje u kontekstu povećanja površina ležišta po grlu. Evidentno je da postojeća kontrola kvalitete mlijeka mjerenjem broja somatskih stanica mlijeka iz četiriju četvrti zajedno, može maskirati pravo stanje zdravlja vimena. Visoki broj somatskih stanica u jednoj četvrti može biti prikriven (smanjen) ukupnim brojem somatskih stanica (lažno negativni rezultat), a oboljenje neće biti detektirano na vrijeme. Mikroorganizmi uzročnici mastitisa, identificirani su neovisno o broju zahvaćenih četvrti, podjednako u slučajevima kliničkog i supkliničkog mastitisa. Ako se promatra raspodjela povišenog broja somatskih stanica prema četvrtima (>400 000), vidljivo je kako je 34 % krava imalo zahvaćenu jednu četvrt, 22 % dvije četvrti, 11 % tri četvrti, a 5 % krava imalo je upalu u sve četiri četvrti vimena. Potvrđeno je da su postojeći brzi testovi prikladni za detekciju mastitisa, a u otkrivanju supkliničkog mastitisa valja razviti osjetljivije testove.

Ključne riječi: dobrobit krava, supklinički mastitis, sigurnost i kvaliteta mlijeka, broj somatskih stanica (BSS)

Summary

Safety and quality of dairy cows milk as well as welfare of animals raised for milk production are of growing interest to the general and professional public (EFSA 2009, 2009a, 2012, 2012a, 2015). Taking into account such circumstances, Croatian Agency for Agriculture and Food conducted a study with the aim to determine the state of welfare of cows on farms in the Republic of Croatia, to determine the safety and quality of milk and their interrelationship. The method of the Italian National Reference Center for the Assessment of Welfare CReNBA was used to assess welfare (Bertocchi and Fusi, 2014). Six farms were selected for the study, on which samples for laboratory tests were taken from animals in the second and third lactation. Welfare on farms was assessed, milk was analyzed for chemical and microbiological indicators, the number of somatic cells in milk was determined by rapid tests and laboratory methods, and biochemical indicators in the blood of cows were determined. According to welfare assessments, two farms belong to the upper grade and the others to the middle. Taking into account that welfare assessment protocol is based on animal measures, infrastructure and management, and taking into account that the number of somatic cells is only one of the welfare measures, no strong relationship was found between the overall welfare assessment and the number of somatic cells. Awareness of the importance of implementing welfare measures has been found to increase, while many indicators showing that modern knowledge on feeding, water and air quality in facilities, as well as animal treatment are implemented. Nevertheless, the need for increasing bedding per head was determined. It is evident that existing milk quality control, by measuring the number of somatic milk cells from four quarters together, can mask the true state of udder health; a high number of somatic cells in one quarter may be masked (reduced) by the total number of somatic cells (false negative result), and the disease will not be detected in time. Mastitis-causing microorganisms have been identified independently of the number of affected quarters, both in cases of clinical and subclinical mastitis. Distribution of the increased number of somatic cells by quarters ($> 400,000$), showed that 34% of cows had one quarter affected, 22% two quarters, 11% three quarters, and 5% of cows had inflammation in all four udder quarters. Existing rapid tests have been confirmed to be suitable for the detection of mastitis, and more sensitive tests should be developed in the detection of subclinical mastitis.

Key words: Dairy Cow Welfare, subclinical mastitis, milk safety and quality, somatic cell count (SCC)

SADRŽAJ

Sažetak	1
Summary	2
1. Uvod	4
2. Dobrobit životinja	4
3. Mastitisi	5
4. Provedeno istraživanje	7
4.1. Utvrđivanje razine dobrobiti	8
4.1.1. CReNBA protokol	9
4.2. Laboratorijsko određivanje BSS u mlijeku	11
4.3. Izdvajanje patogenih mikroorganizama u mlijeku	12
4.4. Određivanje metaboličkih pokazatelja u krvi	12
4.5. Utjecaj BSS na istraživane varijable	12
5. Rezultati i rasprava	12
5.1. Razina dobrobiti	13
5.2. BSS u mlijeku	18
5.3. Patogeni mikroorganizmi u mlijeku	21
5.4. Osnovni metabolički pokazatelji u krvi	23
5.5. Povezanost varijabli	29
6. Zaključno	33
7. Preporuke	33
8. Literatura	35

1. Uvod

Dobrobit životinja koje se uzgajaju radi proizvodnje hrane te sigurnost i kvaliteta hrane pobuđuju sve veće zanimanje opće i stručne javnosti (EFSA 2009, 2009a, 2012, 2012a, 2015). Posljednjih je godina stoga zabilježen porast broja studija dizajniranih za ocjenjivanje dobrobiti životinja, posebice onih koje se uzgajaju u proizvodnim sustavima koji su se jako intenzivirali, kao što je, primjerice, uzgoj krava za proizvodnju mlijeka (De Vries i sur., 2013; Suárez i sur., 2017). U takvim intenzivnim uzgojima od iznimne je važnosti utvrditi utjecaj proizvodnih sustava na dobrobit životinja odnosno utjecaj dobrobiti životinja na pokazatelje sigurnosti i kvalitete mlijeka te pokazatelje metabolizma.

Jedan od najvažnijih pokazatelja dobrobiti mliječnih krava je pojava mastitisa (De Vries i sur., 2014, Nyman i sur., 2011), koji je prepoznat kao najčešći patološki proces u mliječnih krava (Nielsen, 2009). Mastitisi imaju veliki utjecaj na dobrobit mliječnih krava zbog boli i nelagode koju uzrokuju, ali su također važni i s ekonomskog aspekta jer uzrokuju negativne učinke na proizvodnju i sastav mlijeka (Seegers i sur., 2003). Broj somatskih stanica mlijeka (BSS) koji ukazuje na prisutnost i kliničkog i supkliničkog mastitisa naveden je kao jedan od pokazatelja dobrobiti životinja u izvješću Europske agencije za sigurnost hrane (Nielsen i sur., 2014).

Iako brojna istraživanja obrađuju problematiku uzročno-posljedičnih veza dobrobiti goveda i mastitisa (Rollin, 1995; Broom, 2001; Bradley, 2002; Milne i sur., 2003; Broom i Fraser, 2007; Suarez i sur., 2017; EC, 2017; IDF, 2018) bitno je proširivati postojeća saznanja o povezanosti dobrobiti životinja i mastitisa odnosno higijenske kvalitete mlijeka.

S obzirom na to da supklinički mastitisi često prolaze neopaženo važno je poduzimati mjere za kontrolu rizičnih čimbenika koji utječu na njihovu pojavnost, a dobrobit životinja svakako se ubraja među takve mjere. Posljedično, smanjenje prevalencije patogena u mlijeku dovest će do smanjenja rizika za zdravlje konzumenata.

2. Dobrobit životinja

U animalnoj populaciji dobrobit se može definirati kao stanje u kojem se jedinka pokušava nositi s okolišem (Broom i Fraser, 2015). Pojam obuhvaća fizičko i mentalno stanje životinja uključujući pritom i pojam zdravlja. Dobrobit u kontekstu stočarske proizvodnje podrazumijeva stanje koje omogućuje ostvarivanje očekivane proizvodnosti životinje temeljene njezinim performansama i u nju uložnim investicijama, a da to stanje ne ugrožava druge životinje ili da ne prijeti zdravlju i sigurnosti ljudi (Matković, 2018).

Dobro zdravlje i proizvodnost osnova su dobrobiti životinja, međutim ne može se jednako procijeniti njihovo emocionalno stanje (primjerice, odsutnost bola i straha) i prirodnost držanja (primjerice, pristup pašnjaku). Veoma subjektivno se ocjenjuje „dobro držanje“ jer razni sustavi držanja imaju svoje prednosti i nedostatke, odnosno različite pokazatelje dobrobiti. Intenzivni sustavi držanja mliječnih krava pretpostavljaju određene rizike koji se moraju pažljivo procijeniti. Način držanja, vrsta opreme, način upravljanja farmom i njega životinja glavni su čimbenici koji utječu na zdravlje i ostale pokazatelje dobrobiti mliječnih krava.

Nekoliko je različitih načina procjene dobrobiti domaćih životinja, ali teško je precizno definirati same postupke, s obzirom na to da se dobrobit u praksi često procjenjuje pod utjecajem subjektivnog iskustva, što ovisi o socioekonomskom, obrazovnom i moralnom statusu osobe koja obavlja procjenu. Svi oni su uglavnom zasnovani na mjerenju, odnosno procjeni različitih pokazatelja, iz čijih se vrijednosti izvodi jedinstvena ocjena dobrobiti. Promatrani i izmjereni pokazatelji dobrobiti uspoređuju se sa standardnim vrijednostima, a dobrobit se ocjenjuje na osnovu odstupanja izmjerenih od standardnih vrijednosti (Vučemilo i sur., 2012, Matković, 2019).

Postojeći načini procjene dobrobiti domaćih životinja imaju i nekoliko nedostataka. Velika je vjerojatnost da nisu dovoljno osjetljivi, nisu lako primjenjivi u svim uvjetima držanja domaćih životinja i ne ukazuju na multidimenzionalnost dobrobiti. Često su od relativnog značaja, obzirom na način mjerenja i ocjene pokazatelja, odnosno, ne oslikavaju opće stanje dobrobiti kada se radi o većem broju životinja koje se drže na farmama.

Selekcija mliječnih krava s ciljem povećanja proizvodnje mlijeka, može dovesti do povećane osjetljivost mliječne žlijezde, i kliničke manifestacije u obliku povećanog i otečenog vimena. Mastitis je upala vimena, općenito uzrokovana bakterijskom infekcijom. Može se očitovati kliničkim simptomima ili ostati sakrivena, bez vidljivih promjena na vimenu ili u mlijeku, ali dolazi do pada proizvodnje i promjene sastava mlijeka. Broj somatskih stanica, kao pokazatelj supkliničkog mastitisa, koristi se za kontrolu higijenske kvalitete mlijeka. Ujedno, može poslužiti kao opći pokazatelj dobrobiti mliječnih krava. Osim toga, podaci dobiveni testovima somatskih stanica u mlijeku s farmi lako su dostupni za korištenje u sklopu nacionalnih kontrolnih sustava.

3. Mastitisi

Supklinički mastitisi sa stajališta javnog zdravstva, dobrobiti životinja i prerade mlijeka predstavljaju vrlo značajno patološko stanje i najrašireniju bolest u proizvodnji mlijeka. Supkliničke mastitise karakterizira odsutnost kliničkih znakova ili vrlo rijetki manji i prolazni klinički znakovi, koji se rijetko primjećuju. Kelly (2002) navodi kako se na svaki klinički slučaj mastitisa pojavljuje od 15 do 40 supkliničkih slučajeva. Supklinički mastitisi vrlo često prelaze u kroničan proces koji može trajati i cijelu laktaciju. Pri dijagnostici supkliničkih mastitisa važnu ulogu ima broj somatskih stanica (BSS) u mlijeku. Problematika povećanog BSS zadire ne samo u područje zdravlja životinja, sigurnost hrane i gospodarstvo, nego i u područje vezano za dobrobit životinja (Sharma i sur., 2011).

Klinički i supklinički mastitisi mogu biti ozbiljna patološka stanja, koja ne samo smanjuju količinu proizvedenog mlijeka nego i uznemiruju životinje i nanose im patnju (Sharma i sur., 2011). U Tablici 1 prikazan je odnos BSS i zdravstvenog stanja mliječne žlijezde (Bačić, 2009).

Tablica 1: Broj somatskih stanica i zdravstveno stanje mliječne žlijezde

Broj somatskih stanica/ml	Zdravstveno stanje mliječne žlijezde
Uvijek ispod 200 000	Vjerojatno nije inficirana
Jedan rezultat između 200 000 i 300 000	<ul style="list-style-type: none"> • Nije inficirana • Inficirana slabije patogenim uzročnikom • Inficirana samo jedna četvrt
Jedan rezultat preko 300 000 Više rezultata preko 200 000	<ul style="list-style-type: none"> • Vjerojatno inficirana jedna ili više četvrti • Oporavak od prethodne infekcije

Izvor: Bačić, 2009

Rezultati istraživanja vezanih za utvrđivanje različitih patogenih uzročnika u suvremenoj proizvodnji mlijeka, pokazuju brojne (čak do 20 %) i raznolike pozitivne nalaze (Cvetnić i sur., 2016). S obzirom na to da određeni patogeni uzročnici mogu ugroziti zdravlje ljudi takvi rezultati ukazuju na potrebu daljnjeg utvrđivanja znanstvenih činjenica vezanih za supkliničke mastitise i sigurnost mlijeka kao hrane. Mikrobiološkim analizama izdvojeni su različiti patogeni mikroorganizmi iz mlijeka krava s mastitisom (*Enterococcus* spp., *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalactiae*, *Salmonella* spp. i dr.). Patogeni uzročnici koji se mogu izolirati iz mlijeka u slučajevima povećanog BSS ne mogu se povezati s određenim BSS što je vidljivo iz tablice 2.

Opasnost od ostataka antimikrobnih lijekova (antibiotika) u mlijeku je veća ako se radi o farmama s visokim BSS, nego u mlijeku s farmi gdje se uspješno provode mjere preventivne i kontrole mastitisa.

Tablica 2: Prisutnost različitih uzročnika infekcije utvrđenih u slučajevima povećanja broja somatskih stanica

Uzročnik infekcije	BSS (s/mL) (Boddie i sur., 1987)	BSS (s/mL) (Djabri i sur., 2002)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 200 000	357 000
<i>Streptococcus agalactiae</i>	13 600 000	857 000
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	13 600 000	388 000
<i>Streptococcus uberis</i>	13 600 000	772 000
Koliformne bakterije		1 151 000
Stafilokoki (osim <i>S. aureus</i>)		138 000
<i>Corynebacterium bovis</i>		105 000

*s/mL broj stanica u mililitru

Tijekom mastitisa, najveći broj stanica u mlijeku čine leukociti, što uzrokuje povećanje koncentracije proteolitičkih i lipolitičkih enzima u mlijeku. Glavni nedostaci u kvaliteti mliječnih proizvoda, koji proizlaze iz mastitisa, nastaju zbog enzimske razgradnje mliječnih proteina i masti. Promjene u strukturi proteina u mlijeku krava s kliničkim i supkliničkim mastitisom prvenstveno su posljedica djelovanja enzima plazmina. Plazmin se uobičajeno nalazi i u mlijeku i u krvnoj plazmi, a oštećuje strukturu kazeina u mlijeku već u vimenu prije mužnje. Mastitis se češće javlja u visokoproduktivnih mliječnih krava koje žive pod stalnim stresom. Pojava mastitisa unutar stada dinamično je i teško predvidivo patološko stanje koje se često pojavljuje, širi i postupno povlači (Cergolj, 2003).

Premda se u suvremenoj proizvodnji mlijeka primjenjuje čitava paleta preventivnih mjera u cilju sprječavanja pojave mastitisa, ova je bolest i dalje uzrok najvećih ekonomskih gubitaka u mliječnom govedarstvu (Bačić, 2009). Mastitisi predstavljaju najskuplju bolest u mliječarskoj industriji (Pavičić i sur., 2003; Ruegg, 2003). Štete se očituju smanjenjem proizvodnje mlijeka, lošijom kvalitetom mlijeka, prijevremenim izlučivanjem krava iz uzgoja zbog propadanja četvrti vimena, kao i velikim utroškom lijekova za liječenje upala vimena te konačno neupotrebljivošću mlijeka za prehranu i industrijsku preradu za vrijeme i još nekoliko dana nakon liječenja upala (razdoblje karence).

U ekonomskom smislu supklinički oblici upale vimena opasniji su i učestaliji (20-50 puta) od klinički vidljivih upala. Stoga su i štete od prikrivenih i kroničnih kataralnih upala daleko veće nego od dobro vidljivih upala. Smatra se da krave sa supkliničkim upalama daju prosječno 20 % manje mlijeka, koje može predstavljati opasnost i za zdravlje konzumenta (FAWC, 1997; Havranek i Rupić, 2003).

Tranzicijsko razdoblje najstresnije je razdoblje u životu mliječne krave i 75 % svih bolesti događaju se u tom razdoblju (LeBlanc i sur., 2006). Tijekom početnih dana laktacije sve krave prolaze stanje negativne energetske bilance (NEB) jer unos hrane ne prati iznimno velike energetske zahtjeve za proizvodnjom mlijeka. Takvo stanje posljedica je disproporcije između visoke proizvodnje mlijeka i nemogućnosti konzumacije dovoljnih količina krmiva potrebnih za takvu proizvodnju. Životinje dolaze iz suhostaja u kojemu je količina i kvaliteta obroka manja u punu proizvodnju, što se nastoji pratiti značajnim promjenama u obroku. S obzirom na

složenost probavnog sustava u mlječnih krava, životinja ne može prilagoditi mikrofloru predželudaca koja bi učinkovito preradila supstrate koji dolaze u burag prve dane laktacije. Zadovoljavajuća opskrba energijom brzo nakon porođaja ključna je za proizvodnju mlijeka, reprodukciju i pojavu bolesti. Krave kojima ne uspijemo brzo nadomjestiti nedostatak energije razviju stanje ketoze (povišene koncentracije ketonskih tijela u krvi i izlučevinama). Ubrzo se u takvih krava može razviti dislokacija sirišta. Dokazano je da je primljivost mlječne žlijezde za intramamarne infekcije u tranzicijskom razdoblju posljedica kompromitiranog obrambenog sustava (Sordillo i sur., 2009), kao i negativne energetske bilance. Određivanje tzv. metaboličkog profila uvriježena je metoda monitoringa zdravlja i dobrobiti u tom kritičnom razdoblju (Lager i Jordan, 2012).

Stoga su usluge savjetovanja glede hranidbe životinja, u cilju sprječavanja nastanka mastitisa i gubitka u proizvodnji, temeljene na određivanju metaboličkog profila kao mjere dobrobiti životinja i/ili pojave mastitisa, sastavni dio usluge sveučilišnih i znanstvenih ustanova naročito u SAD (Texas AgriLife Extension Service, Penn State University, Oregon State University).

4. Provedeno istraživanje

Uzimajući u obzir uvodno navedene okolnosti i znanstvene dokaze o važnosti praćenja i procjeni elemenata dobrobiti životinja u kontekstu pojave supkliničkih mastitisa te sigurnosti i kvalitete mlijeka kao hrane, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu provela je istraživanje koje je imalo za cilj procijeniti dobrobit krava na farmama te utvrditi povezanost određenih pokazatelja dobrobiti s pojavnošću supkliničkih mastitisa odnosno pokazateljima sigurnosti i kvalitete mlijeka. Provedenim istraživanjem proširena su postojeća znanja o pojavnosti supkliničkih mastitisa na farmama u odnosu na specifične pokazatelje dobrobiti, čime se doprinijelo boljem razumijevanju povezanosti provođenja sustavne brige za kravu, počevši od smještajnih uvjeta, pristupa i dostupnosti hrane koja kvalitativno odgovara jedinki/proizvodnoj skupini, pristupa vodi i dopuštanju/osiguravanju izražavanja ponašanja primjerenih vrsti i fiziološkom stanju. Provedeno istraživanje moći će poslužiti za daljnje aktivnosti usmjerene ka smanjenju prevalencije supkliničkih mastitisa i rizika od štetnih zdravstvenih učinaka kod konzumenata sirovog kravljeg mlijeka i proizvoda od sirovog kravljeg mlijeka te višoj razini sigurnosti mlijeka i mlječnih proizvoda u Republici Hrvatskoj. U većini slučajeva mastitisa radi se o supkliničkim infekcijama koje se očituju samo povećanjem broja somatskih stanica. Mlijeko s povećanim brojem somatskih stanica (>400 000/ml) nije prihvatljivo za otkup i daljnju preradu te su stoga štete u slučaju zabrane prodaje mlijeka velike. Međutim, puno su veće gospodarske štete koje nastaju zbog smanjene proizvodnje mlijeka u krava s infekcijom mlječne žlijezde. Pored općih i izravnih ciljeva istraživanja, poput podizanja razine zdravlja i dobrobiti životinja i postizanja pozitivnih gospodarskih učinaka u sektoru mljekarstva na nacionalnoj razini, neizravni cilj bio je podizanje razine zaštite zdravlja ljudi.

Istraživanje je provedeno terenskim istraživanjem procjene dobrobiti životinja na farmama mlječnih krava i laboratorijskim utvrđivanjem određenih pokazatelja sigurnosti i kvalitete mlijeka. Postavljeno je 5 specifičnih ciljeva projekta:

1. Utvrditi status dobrobiti životinja na farmama mlječnih krava, temeljem pokazatelja dobrobiti;
2. Odrediti broj somatskih stanica (BSS) u mlijeku;
3. Utvrditi patogene mikroorganizme u mlijeku s povišenim BSS;
4. Odrediti osnovne metaboličke pokazatelje u krvi kako bismo dokazali odgovarajuću hranidbu, odnosno utvrdili grješke u hranidbi koje pogoduju razvoju mastitisa;
5. Utvrditi značajnost povezanosti između pokazatelja dobrobiti, metaboličkog profila i pojavnosti supkliničkih mastitisa odnosno pojavnosti patogenih mikroorganizama u mlijeku s povišenim BSS.

Istraživanjem se nastojala utvrditi povezanost razine dobrobiti na rizik pojave supkliničkog mastitisa te podići svijest o značenju dobrobiti u proizvodnji mlijeka prihvatljive kvalitete. Dobiveni rezultati doprinijet će postizanju povoljnijih gospodarskih učinaka. Statističkim modelom nastojalo se utvrditi one pokazatelje dobrobiti i mikrobiološke kvalitete mlijeka, koji daju najbolju predikciju pojave mastitisa, a time i sigurnosti i kvalitete mlijeka za ljudsku uporabu.

4.1. Utvrđivanje razine dobrobiti

Istraživanje je provedeno na 6 farmi pored Vrbovca, Bjelovara, Potnjana, Budrovaca, Donjeg Miholjca i Đakova. Veličina farmi kretala se od 48 do 424 krave. Pet farmi bilo je srednje veličine s prosječnim brojem krava od 319 u laktaciji, 50 krava u suhostaju, 180 junica i 70 teladi. U istraživanje uključena je i jedna manja farma s 42 krave u laktaciji, 6 krava su suhostaju, 10 junica i 6 teladi (tablica 3). Farme su odabrane na temelju kriterija da su u sustavu kontrole mliječnosti kojeg provodi Središnji laboratorij za kontrolu kvalitete mlijeka u Križevcima. Drugi kriterij je bio da su zastupljene farme iz više županija, a prema veličini farme karakterističnoj za to područje. Tako je s područja Osječko-baranjske i Vukovarsko-srijemske županije odabrano po dvije farme, iz Zagrebačke županije jedna, prema veličini koja je najviše zastupljena u tim županijama. Iz Bjelovarsko-bilogorske odabrana je farma s 48 krava, jer se ta veličina farmi uglavnom nalazi u toj županiji. Osim ovih kriterija, odabrane su farme koje su do sada pokazivale interes za suradnju u znanstvenim istraživanjima.

Tablica 3: Broj životinja po farmama

Farma	Broj krava u laktaciji	Broj krava u suhostaju	Broj junica	Broj teladi	Način držanja
1	42	6	10	6	Slobodno
2	300	44	175	43	Slobodno
3	300	60	176	111	Slobodno
4	384	40	240	95	Slobodno
5	308	60	160	53	Slobodno
6	305	47	150	50	Slobodno

Procjena dobrobiti mliječnih krava u različitim zemljama članicama Europske Unije (EU) provodi se različitim protokolima. Najzastupljeniji je protokol zasnovan na rezultatima Welfare Quality® projekta (Welfare Quality Protocols, 2009). Protokoli zasnovani na Welfare Quality® baziraju se na procjeni dobrobiti s obzirom na pokazatelje na samim životinjama.

Najčešće se primjenjuju četiri osnovna pokazatelja: odgovarajuća hranidba, smještaj, zdravlje životinja i ponašanje svojstveno vrsti, koji su dodatno razrađeni i podijeljeni na dvanaest kriterija kako je prikazano u tablici 4.

Tablica 4: Pokazatelji i kriteriji dobrobiti koji se razmatraju pri procjeni dobrobiti životinja po Welfare Quality® protokolu

Pokazatelji dobrobiti		Kriteriji dobrobiti	
1.	Odgovarajuća hranidba	1.	odsutnost gladi
		2.	odsutnost žeđi
2.	Odgovarajući smještaj	3.	ugoda prilikom odmora
		4.	temperaturna uгода (odgovarajuća temperatura)
		5.	moгуćnost kretanja
3.	Dobro zdravstveno stanje	6.	odsutnost povreda
		7.	odsutnost bolesti
		8.	odsutnost bola i patnje izazvanih sustavom uzgoja
4.	Vrsti svojstveno ponašanje	9.	izražavanje društvenog ponašanja
		10.	izražavanje drugih oblika ponašanja
		11.	dobar odnos čovjeka i životinje
		12.	pozitivno emotivno stanje

Međutim, primjena Welfare Quality® protokola, kako je opisano, pokazala je određena ograničenja u pogledu vremenskih razmjera, troškova i jednostavnosti upotrebe. Stoga je u provedenom istraživanju odabran CReNBA protokol kojeg se drži jednostavnijim za provedbu u farmskim uvjetima i za različite kategorije životinja.

4.1.1. CReNBA protokol

CReNBA protokol osmislio je talijanski nacionalni referentni centar za procjenu dobrobiti CReNBA (Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale) (Bertocchi i Fusi, 2014). Ne bazira se samo na pokazateljima na životinjama, već u obzir uzima i pokazatelje menadžmenta, osoblja, objekata i opreme, koji bi mogli imati utjecaja na fiziološko, fizičko i mentalno stanje životinja. CReNBA protokol uzima u obzir sve objekte na farmi i dobrobit svih kategorija goveda prisutnih na farmi mlječnih krava, i onih koje su trenutno u proizvodnji i onih mlađih poput teladi i junica, koje su namijenjene budućoj proizvodnji mlijeka. CReNBA protokol predviđa da markicu (oznaku) poštivanja dobrobiti životinja dobije farma s najmanjom ukupnom ocjenom 60 %.

CReNBA protokolom je predviđen i monitoring biosigurnosnih mjera i sigurnosti na farmi, ali oni ne ulaze u algoritam za izračun dobrobiti, već se koriste kao zasebni pokazatelji sigurnosnih mjera na farmama mlječnih krava.

Procjena dobrobiti uključivala je sve životinje na farmi, a sadržavala je 90 pitanja (glavni pokazatelji, kategorije i potkategorije) svrstanih u 3 kategorije:

1. Procjena temeljena na životinjama obuhvaćala je sljedeće ocjene:

- a) odnos čovjek - životinja
- b) tjelesna kondicija
- c) čistoća životinje
- d) pozicioniranost životinja u staji kao pokazatelj prikladnosti ležaja
- e) odsutnost bolesti
- f) lokomotorni problemi (šepavost)

- g) lezije (ozljede) na koži
- h) zdravlje vimena
- i) mortalitet životinja
- j) zahvati na životinjama.

2. Procjena vezana za infrastrukturu (objekte i opremu):

- k) površina ležišta
- l) materijal za ležišta
- m) prikladnost pojedinačnih ležišta
- n) podovi
- o) kupka za papke
- p) prostor u kojem životinja čeka mužnju
- q) hranidbeni stol
- r) pojilice
- s) smještaj teladi
- t) prostor za teljenje
- u) boks za bolesne životinje.

3. Procjena vezana uz menadžment i osoblje sadrži sljedeće podatke:

- a) broj i edukacija osoblja koja se brine o životinjama
- b) nadzor životinja
- c) vođenje životinja
- d) formiranje skupina
- e) čistoća podova i ležišta
- f) prevencija bolesti papaka

4. ukupna ocjena dobrobiti

Različiti su pokazatelji dobivali određene numeričke vrijednosti dok se konačna ocjena dobivala algoritamskim izračunom u skladu s navedenim protokolom. Procijenjene su i zabilježene sve točke protokola jer svaka ima određeni udio u ukupnoj ocjeni.

Za statističku obradu podataka korištene su 3 ocjene dobrobiti, koje su uključivale provjeru postojanja određene mjere dobrobiti i njeno kvantitativno vrednovanje (*Za detaljnije objašnjenje vidjeti u priručniku Đidara (2019), Domaćinović i sur. (2019).*):

- Neprihvatljivo - 1
- Prihvatljivo - 2
- Izvrsno – 3

4.2. Laboratorijsko određivanje BSS u mlijeku

Uzorkovano je mlijeko od krava koje su odabrane prema rezultatima prethodne kontrole mliječnosti, kako bi se dobio podjednaki broj uzoraka s niskim BSS u mlijeku (<200 000), s umjereno povišenim BSS (200-400 000) i s visokim BSS (>400 000). Međutim, BSS je podložan neplaniranim i naglim promjenama, te se nakon uzorkovanja morao korigirati raspored krava po razredima, te broj krava prema BSS nije bio podjednako zastupljen u razredima, što je posebno vidljivo za farme 5. i 6. (tablica 5.).

Tablica 5: Broj uzoraka po farmi i razredu prema broju somatskih stanica (BSS)

Redni broj farme	Broj uzoraka mlijeka i krvi po farmi	Broj uzoraka u 1. razredu BSS<200.000	Broj uzoraka u 2. razredu BSS 200-400.000	Broj uzoraka u 3. razredu BSS>400.000
1	22	8	7	7
2	30	10	9	11
3	26	6	10	10
4	28	12	8	8
5	25	2	11	12
6	20	4	5	11

Uzorci su uzimani od krava u 2. laktaciji, a prosječno su bile od 189. do 215. dana laktacije. Uzorkovanje je provedeno prije redovne jutarnje mužnje na način da je vime priređeno za mužnju na uobičajen način (oprano i dezinficirano), te je ispušteno prvih nekoliko mlazova mlijeka. Za pojedinačnu, laboratorijsku analizu mlijeka uzorkovano je mlijeko od 151 krave, dok se broj uzoraka po farmi kretao od 20 do 30 krava (Tablica 9). Na svakoj farmi uzorkovani su uzorci mlijeka, iz svake četvrti, za određivanje broja somatskih stanica i pretraženi mikroskopskom metodom HRV EN ISO 13366-1:1999. Testovi utvrđivanja BSS provedeni su na sve četiri četvrti, kako bi se utvrdilo zdravlje vimena po četvrti.

Mlijeko iz svake četvrti testirano je pomoću dvaju terenskih testova: Zagrebačkim mastitis testom (ZMT) i Draminski testom (DT), kako bi se provjerila točnost pojavnosti kliničkog i supkliničkog mastitisa s obzirom na to koji su testovi primijenjeni.

- ZMT jednostavni je brzi test koji razara membrane stanica u mlijeku prilikom čega deoksiribonukleinske kiseline (DNA) iz oštećenih stanica reagiraju s reagensom tvoreći gel. Prema stupnju stvaranja gela mlijeko je ocijenjeno sljedećim ocjenama 0- nepromijenjeno, 1-slabo promijenjeno, 2- umjereno promijenjeno, 3- jako promijenjeno.
- DT osmišljen je kao brzi test detekcije supkliničkog mastitisa, kada još nisu vidljivi znakovi bolesti. Metoda se temelji na mjerenju električne provodljivosti mlijeka kod koje promjena otpora znači odstupanje, tj. postojanje mastitisa. U slučaju mastitisa više je elektrolita u mlijeku i uređaj to bilježi kao veću provodljivosti. Kod DT korištene su dvije vrijednosti: 0 - nepromijenjen otpor i 1 - promijenjeni otpor uzrokovan mastitisom.

Podudarnost rezultata CMZ i DT razlikuje se ovisno o broju somatskih stanica u pojedinoj četvrti vimena. U statističku obradu podataka uključeni su i podatci ocjene čistoće vimena i čistoće krava, ocijenjene ocjenama 0-3 (0- čisto, 1-malo zaprljano, 2-umjereno zaprljano, 3- jako zaprljano).

Na uzorcima mlijeka napravljena je u Središnjem laboratoriju u Križevcima analiza na mliječnu mast i proteine u mlijeku na uređaju MilkoScan FT6000.

4.3. Izdvajanje patogenih mikroorganizama u mlijeku

Skupni uzorak mlijeka uzet je iz sve četiri četvrti vimena odabranih krava za bakteriološku pretragu mlijeka kod sumnje na mastitis, istovremeno i na način kako je pisano u poglavlju 4.2., te u istom broju. Pretraga je provedena u skladu s Laboratory handbook on bovine mastitis (National mastitis council 2017.).

4.4. Određivanje metaboličkih pokazatelja u krvi

Određivanje osnovnih metaboličkih pokazatelja u krvi obavljeno je u cilju dokazivanja odgovarajuće hranidbe, odnosno utvrđivanja greški u hranidbi koje pogoduju razvoju mastitisa. Životinjama odabranim za testiranje broja somatskih stanica u mlijeku uzeti su uzorci krvi za biokemijsku analizu i metabolički profil neposredno prije uzorkovanja mlijeka (poglavlje 3.2.). Odabrane su krave koje su na prethodnoj mjesečnoj kontroli mliječnosti imale nizak broj somatskih stanica (ispod 200 000), malo povišen broj (200 000 - 400 000) i one s visokim brojem somatskih stanica (>400 000 u ml). Analize su određene biokemijskim automatskim analizatorom Becman Coulter AU 400. Utvrđeni su sljedeći pokazatelji: enzimi aspartat aminotransferaza (AST), alkalna fosfataza (ALP), gama glutamiltransferaza (GGT), te metaboliti glukoza, ukupni protein, albumin, beta hidroksimaslačna kiselina (BHB), minerali kalcij (Ca), fosfor (P) i željezo (Fe). Glukoza, ukupni protein, albumini i beta hidroksibutirat (BHB) indikatori su energetske opskrbe organizma, a aktivnost enzima ukazuje na stanje jetre, a minerali pomažu u dijagnostici zdravlja i kontroli hranidbenih normativa.

4.5. Utjecaj BSS na istraživane varijable

Najvažniji korak u provedenom istraživanju bio je utvrđivanje povezanosti između pokazatelja dobrobiti i pojavnosti supkliničkih mastitisa odnosno pokazatelja kvalitete i sigurnosti mlijeka. Za statističku obradu krave su podijeljene u tri razreda po broju somatskih stanica:

1. razred - do 200 000 somatskih stanica,
2. razred - 200 000 - 400 000 somatskih stanica,
3. razred – više od 400 000 somatskih stanica.

Rezultati su prikazani kao rasponi vrijednosti pojedinih pokazatelja metabolita i enzima prema razredu somatskih stanica. Kako niti jedna farma nije ocijenjena ukupnom ocijenim dobrobiti „loše“, krave su podijeljene u dva razreda prema ocjeni dobrobiti farme (srednje i odlično). Utjecaj razreda dobrobiti i broja somatskih stanica na ostale ispitivane pokazatelje testiran je analizom varijance koristeći PROC GLM procedure u SAS program (SAS Institute Inc., 2000). Povezanost pojedinih pokazatelja iskazana je kao Piersonov korelacijski koeficijent. Značajnost razlika testirana je Fisherovim testom. Ukoliko je $p < 0,01$ smatrao se statistički značajnim. Koeficijenti korelacije prikazani su u skladu s Roemer- Orphalovom ljestvicom (Rebekić i sur., 2015).

5. Rezultati i rasprava

Nakon terenske procjene dobrobiti životinja na farmama mliječnih krava i laboratorijskog utvrđivanja biokemijskih i metaboličkih pokazatelja, te određenih pokazatelja sigurnosti (patogeni mikroorganizmi) i kvalitete mlijeka (BSS), statistička obrada podatka provedena je sukladno specifičnim ciljevima projekta.

5.1. Razina dobrobiti

Procjena dobrobiti utvrđivana je u 90 točaka, svrstanih u opisane tri skupine pokazatelja. Pokazatelj dobrobiti u svakoj točki procjene svrstan je u jednu kategoriju (loše, srednje ili odlično stanje). Ukupna ocjena izražena je u postotku te su najbolje farme smještene u gornjoj trećini, odnosno iznad 66 % ukupne ocjene, a najlošije u donjoj trećini, odnosno ispod 33 % ocjene. U ovom istraživanju dvije farme pripadaju gornjem ocjenskom razredu, a ostale srednjem. Rezultati utvrđivanja statusa dobrobiti mliječnih krava na 6 ispitivanih farmi prikazani su u tablici 6.

Tablica 6: Procjena dobrobiti na farmama prema IZSLER/CRenBA protokolu

Farma	Mjerenja vezana uz životinju	Menadžment	Infrastruktura	Ukupna ocjena dobrobiti
1	36,54%	50,28%	32,50%	38,75%
2	72,74%	66,64%	53,11%	66,15%
3	46,43%	67,28%	62,50%	55,61%
4	54,17%	77,88%	74,42%	65,12%
5	67,76%	57,78%	46,39%	59,78%
6	58,99%	53,54%	34,83%	51,36%

% - jedinica vrijednosti koja se koristi u CRenBA protokolu

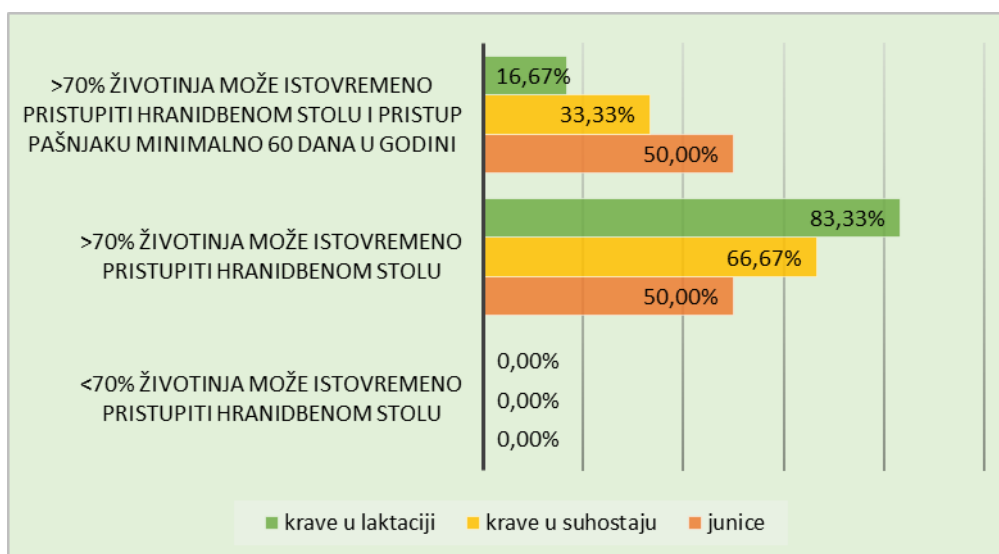
Prilikom procjene dobrobiti mliječnih krava detektirano je dosta pozitivnih pokazatelja koji upućuju da su farmeri educirani i primjenjuju postulate dobre proizvođačke prakse, ali su istovremeno detektirane i slabe točke koje se trebaju i mogu popraviti:

- Na 2/3 farmi osoblje zaduženo za brigu o životinjama se kontinuirano educira te je u posljednje 3 godine bilo na priznatom tečaju/edukaciji vezanoj za proizvodnju na farmama mliječnih krava.
- Na 5 od 6 farmi radi dostatan broj uposlenih s obzirom na ukupan broj životinja odnosno životinja u mužnji.
- Niti na jednoj farmi se ne koriste opasni alati (elektrogoniči, oštri alati) za manipulaciju sa životinjama.
- Na 5 od 6 farmi smrtnost teladi u dobi 2-30 dana je manja od 4 %.
- Na 2/3 farmi postoji dvostruki izvor vode (vodovod i bunar ili dva bunara).
- Na 2/3 farmi postoji i pričuvni generator u slučaju nestanka struje.
- Na 2/3 farmi postoji sustav grupiranja životinja prema proizvodnim kategorijama (ili prema proizvodnji ili prema stanju tjelesne kondicije).
- Na 5 od 6 farmi obrok sastavlja stručnjak iz područja hranidbe.
- Na svim farmama udio koncentrata je manji od 50 % u TMR-u.
- Na tri farme opremu u izmuzištu održavaju farmeri, a u slučaju kvara servisiraju je stručnjaci, a na drugoj polovici redovito ju održavaju i servisiraju ovlašteni serviseri.
- Na 5 od 6 farmi odrožnjavanje se provodi sukladno nacionalnoj legislativi (primjerena dob).
- Na svim farmama prisutna je dostatna količina slame na ležištima za telad.
- Na 2/3 farmi veličina individualnih ležišta za telad je minimalno 10 % veća od 130x80 cm.
- Na svim farmama konstrukcija individualnih ležišta omogućava međusobni fizički kontakt individualno držane teladi.
- Na 3 od 6 farmi test mirnoće životinja pokazuje da se junicama može gotovo pristupiti, i na 3 od 6 farmi može im se u potpunosti pristupiti.

- Na 2/3 farmi veličina hranidbenog stola omogućava istovremeni pristup 70 % krava u suhostaju u boksu, a na 1/3 životinje imaju i mogućnost pristupa pašnjaku tijekom 60 dana.
- Na svim farmama pristup izmužištu je jednostavan, bez velikih prepreka, skliskoga poda ili krivina većih od 180°.
- Na svim farmama prisutnost koncentracija štetnih plinova je niska ($\text{NH}_3 < 10$ ppm; $\text{CO}_2 < 1500$ ppm; $\text{H}_2\text{S} < 0,5$ ppm).

• Hranidba životinja

Rezultati ocjene mogućnosti pristupanja hranidbenom stolu junica, krava u suhostaju i laktaciji pokazuju dostatnost prostora hranidbenog stola, a napredak se može ostvariti u stvaranju uvjeta za pristup pašnjaku. U najvećem broju slučajeva hranidbeni stol je prikladne dužine, što podrazumijeva da kod hranidbe životinja TMR-om (*engl.* Total Mixed Ratio = ukupni dnevni obrok, zamiješan od svih komponenti - voluminoznih krmiva, koncentriranih krmiva i aditiva), minimalno 70 % životinja u boksu može istovremeno pristupiti hranidbenom stolu (slika 1). Idealna situacija za dobrobit podrazumijevala bi da životinje imaju pristup pašnjaku tijekom minimalno 60 dana u godini. Rezultati vezani za način sastavljanja obroka pokazuju educiranost o važnosti pravilno sastavljenog obroka za proizvodnju. S obzirom na to da poticaji Ministarstva poljoprivrede u sklopu mjere 14 – Dobrobit životinja (Pravilnik o provedbi izravne potpore poljoprivredi i IAKS mjera ruralnog razvoja za 2021. godinu, NN 23/2021, NN 67/2021) za pretpostaviti je da će se stanje u tom pogledu popraviti, jer trenutno mali broj farmi iskorištava pozitivni utjecaj boravka životinja na pašnjaku. Mjera 14 uključuje primjenu visokih standarda dobrobiti životinja, koji prelaze važeće zakonske propise, a čine ju sljedeća područja: osiguranje vode, hrane i brige o životinjama u skladu sa njihovim prirodnim potrebama, osiguranje uvjeta držanja na način da imaju dovoljno prostora, odgovarajuću stelju, prirodno osvjetljenje i pristup otvorenom prostoru (ispust i/ili pašnjak). Ovako dizajniran sustav potpore trebao bi rezultirati većim brojem farmi koje će omogućiti mlječnim kravama pristup otvorenom prostoru.



Slika 1: Pristup životinja hranidbenom stolu

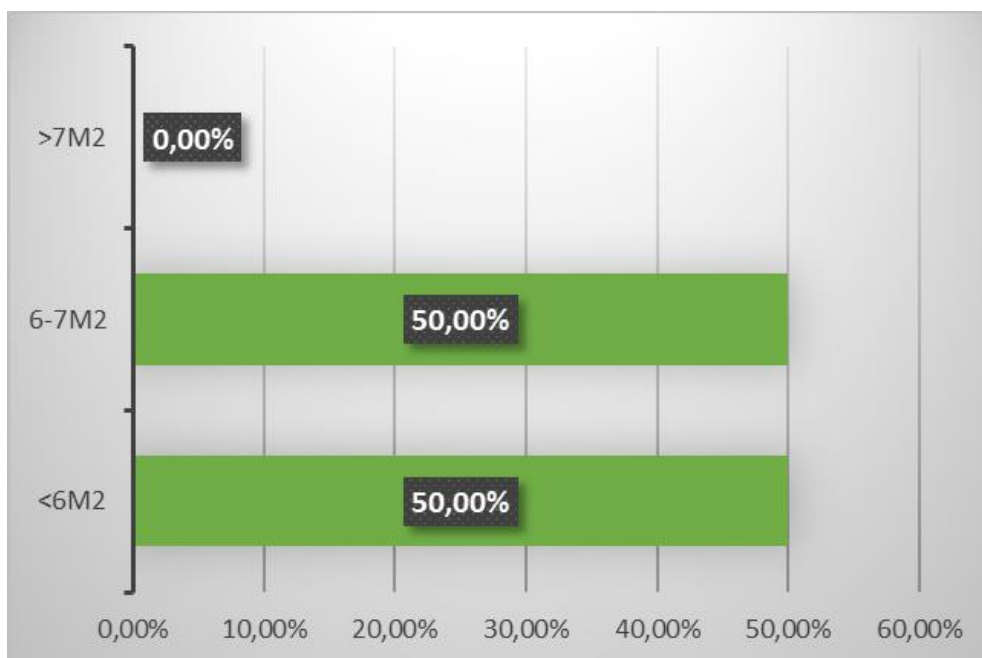
Istraživanjem je utvrđeno da je specifični obrok za svaku skupinu životinja sastavljao stručnjak iz područja hranidbe životinja u 83,33 % slučajeva, dok je 16,67 % slučajeva empirijski sastavljen obrok nije odgovarao hranidbenim potrebama.

- **Čistoća životinja**

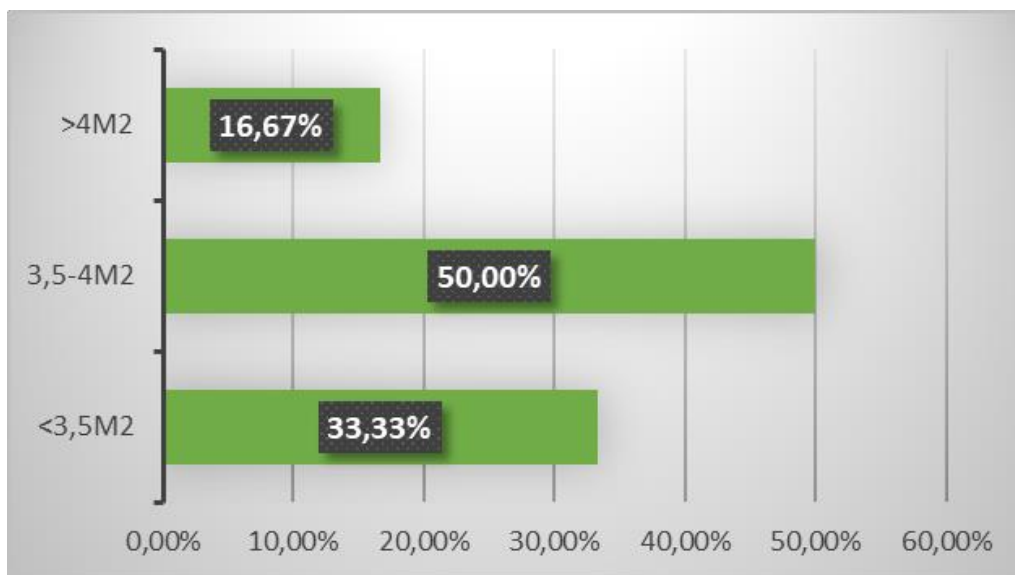
U slučaju ocjene čistoće životinja, najbolje stanje dobrobiti podrazumijeva da je manje od 10% životinja u proizvodnoj skupini prljavo, a najgore da je više od 20 % životinja prljavo. Na posjećenim farmama stanje vezano za čistoću životinja bilo je loše. Najmanje pažnje posvećuje se životinjama koje još nisu ušle u proizvodnju mlijeka (junice) te životinjama u laktaciji. U kategoriju čistoće „više od 20 % prljavih životinja“ pripadaju sve krave u laktaciji i junice, a iz suhostaja je u toj kategoriji bilo 83,33 % životinja. U kategoriji čistoće „manje od 10% prljavih životinja“ bilo je samo 16,67 % krava u suhostaju. Nije bilo slučajeva za kategoriju čistoće „10 – 20 % prljavih životinja“.

Prjavost životinja posljedica je neprikladnog smještaja u smislu prjavog ležišta ili manjka mjesta za ležanje, zbog čega su pojedine životinje primorane leći i izvan ležišta, na prolazima, koji pak također mogu biti prljavi. Rezultati ovoga istraživanja pokazuju da je optimalna veličina ležišta značajan problem. Slike 2, 3 i 4 prikazuju prikladnost površine za pojedine proizvodne kategorije na šest posjećenih farmi. U kategoriji krava u laktaciji praktički nema farmi s optimalnim brojem životinja na određenoj površini, što znači da su odjeljci za životinje nedostadni, a samim time održavanje čistoće ležišta je teže (slika 2).

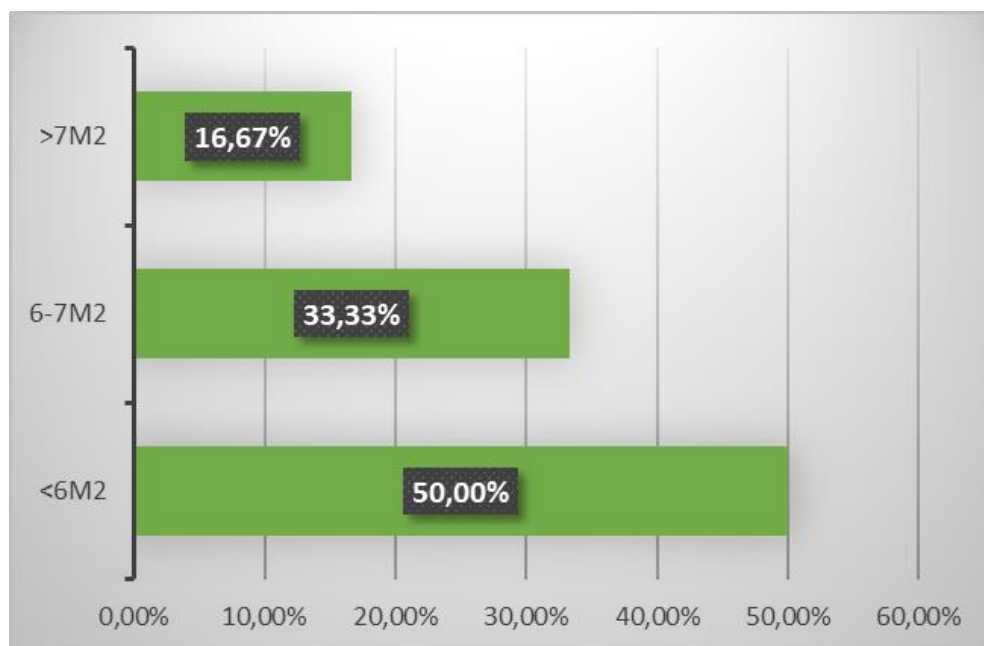
U smjeru povećanja veličine ležišta, iako posredno kroz povećanje podne površine, idu i poticaji ministarstva poljoprivrede u sklopu mjere 14 vezane za dobrobit životinja, što bi se trebalo pozitivno odraziti na poboljšanje smještajnih uvjeta, a time i dobrobiti.



Slika 2: Ocjena farmi s obzirom na udio površine ležišta (m2) za krave u laktaciji



Slika 3: Ocjena farmi s obzirom na udio površine (m²) ležišta za junice

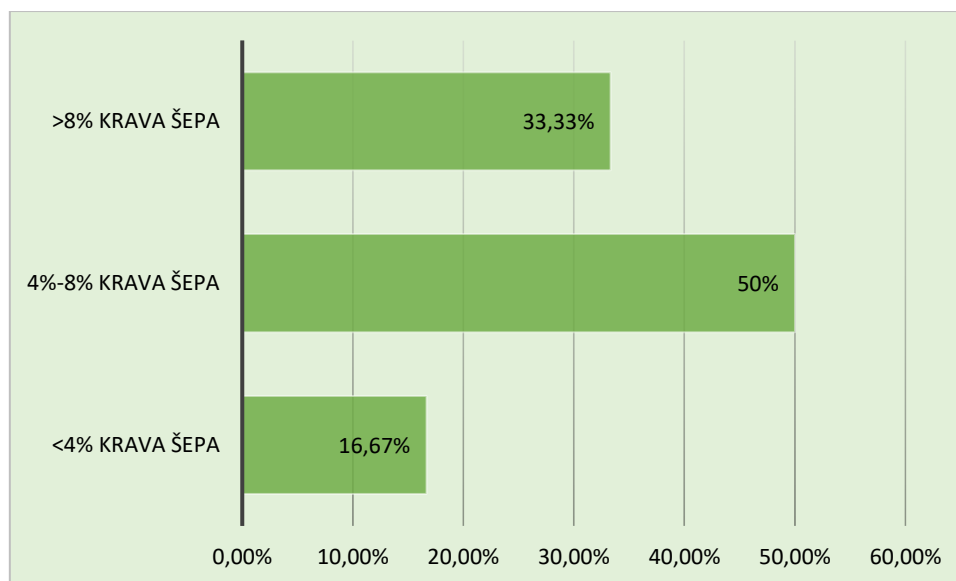


Slika 4: Ocjena farmi s obzirom na površinu ležišta za krave u suhostaju

- **Šepavost**

Loši higijenski uvjeti na ležištu, prolazima i mjestima kretanja životinja, utječu na stanje papaka, i posljedičnu pojavu šepavosti. Uzroka šepavosti ima više. Podaci iz našeg istraživanja pokazuju da većina farmi provodi redovito obrezivanje papaka i navodi da provode redovite kupke, no u stvarnosti je šepavost značajno zastupljena, a uvelike se podcjenjuje, što nije slučaj samo u Hrvatskoj. Postotak šepavosti koju procjenjuje vlasnik obično je manji u odnosu na stvarno stanje koje se utvrdi na životinjama. U ovom istraživanju utvrđeno je da na polovini

ispitivanih farmi šepa između 4 % i 8 % krava, dok je na dvije farme udio šepavih životinja iznad 8 %. Najbolja situacija ja samo na jednoj farmi gdje šepa manje od 4 % krava (slika 5).



Slika 5: Ocjena farmi obzirom na postotak krava koje šepaju

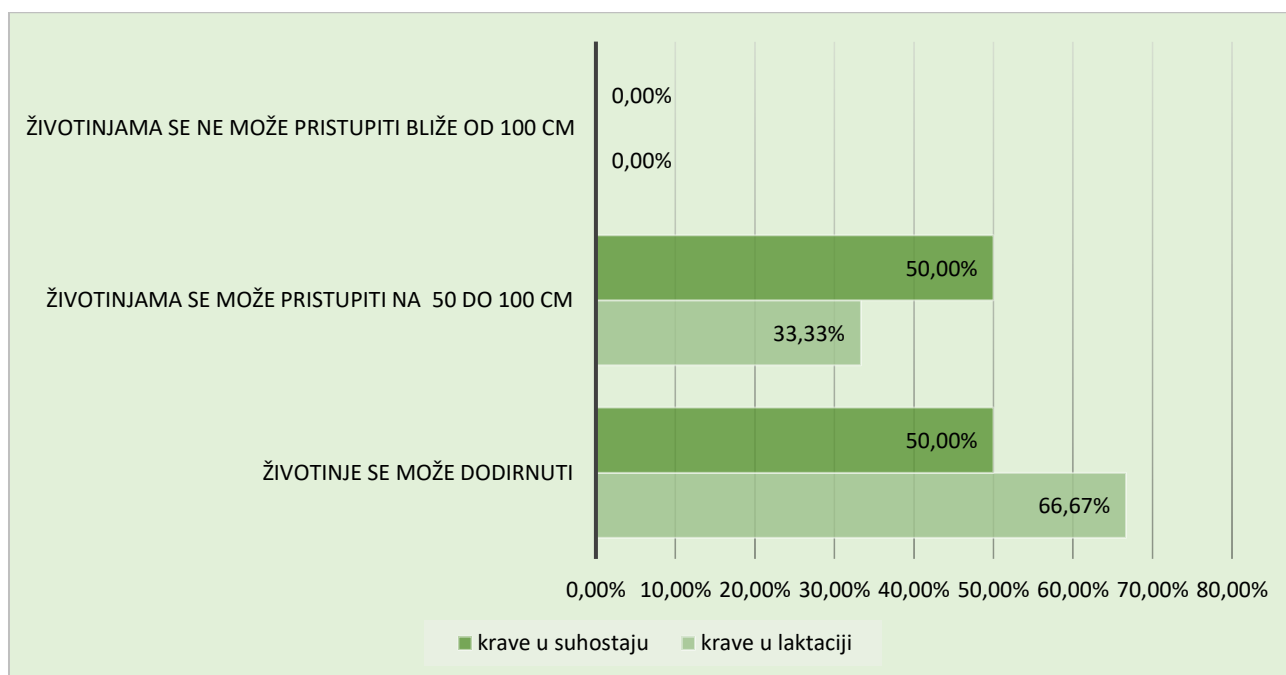
• Ozljede kože

Pokazatelj dobrobiti vezan za kvalitetu ležišta su lezije ili različita oštećenja kože. Na najvećem broju farmi ozljede kože su manje zastupljene u kategoriji junica, a kod krava u laktaciji i suhostaju na trećini farmi nalazimo ozljede kod više od 30 % životinja. Jedan dio ozljeda podrazumijevaju i ozljede vratne maramice zbog neprimjerene visine pregrade hranidbenog stola kod odraslih životinja, no i u kategoriji teladi mogu se naći slučajevi kada životinja ima otežani pristup hrani ili vodi. Ocjena promatranih farmi s obzirom na udio životinja s ozljedama na koži iznosila je 33,33 % za sve tri navedene kategorije, tj, za kategorije:

- „<15% životinja s ozljedama“,
- „15-30 % životinja s ozljedama“ i
- „>30 % životinja s ozljedama“.

• Odnos čovjek - životinja

Rezultati testa mirnoće pokazuju da životinje nisu izložene nepotrebnom fizičkom stresu od strane osoba zaduženih za brigu o njima (slika 6).



Slika 6: Rezultati testa odnos čovjek - životinja

5.2. BSS u mlijeku

Uzorci mlijeka iz svake četvrti pretraženi su najprije brzim ZMT i DT, a zatim je BSS utvrđen mikroskopskom metodom. Na taj je način testirana podudarnost brzih testova i njihova pouzdanost u slučajevima kliničkog i supkliničkog mastitisa. Podudarnost ovih metoda razlikovala se ovisno o BSS u pojedinim četvrtima vimena. Najveći stupanj podudaranja rezultata vidljiv je između mikroskopske metode i ZMT u uzorcima s niskim BSS, odnosno u slučajevima kada nije bilo mastitisa (od 77,97 do 81,91% slučajeva).

Podudarnost detekcije visokog BSS (mastitis) iznosila je od 68,75 do 94,74%. Najmanje se pouzdanim pokazao u slučajevima sumnje na supklinički mastitis. Postotak uspješnosti detekcije promjena u mlijeku ZMT u odnosu na BSS u mlijeku dobivenih referentnom metodom prikazan je u tablici 7.

Tablica 7: Uspješnost detekcije promjena u mlijeku ZMT u odnosu na BSS u mlijeku dobivenih referentnom metodom

Razred somatskih stanica	PD, %	PL,%	SD, %	SL, %
ZMT=0				
1-do 200 000	81,40	81,91	79,01	77,97
2- od 200-400 000	9,30	9,57	8,64	9,09
3 >400 000	9,30	8,51	12,35	12,99
ZMT=1				
1-do 200 000	39,13	35,00	59,26	29,63
2- od 200-400 000	26,09	20,00	11,11	14,81
3 >400 000	34,78	45,00	29,63	55,56
ZMT=2				
1-do 200 000	25,00	25,00	39,33	25,93
2- od 200-400 000	10,00	8,33	4,76	3,70
3 >400 000	65,00	66,67	61,90	70,37
ZMT=3				
1-do 200 000	25,00	-	-	11,76
2- od 200-400 000	6,25	5,26	13,33	5,88
3 >400 000	68,75	94,74	86,67	82,35

PD-prednja desna četvrt, PL-prednja lijeva, SD-stražnja desna, SL-stražnja lijeva, ZMT- Zagrebački mastitis test 0- nepromijenjeno, 1-slabo promijenjeno, 2- umjereno promijenjeno, 3- jako promijenjeno.

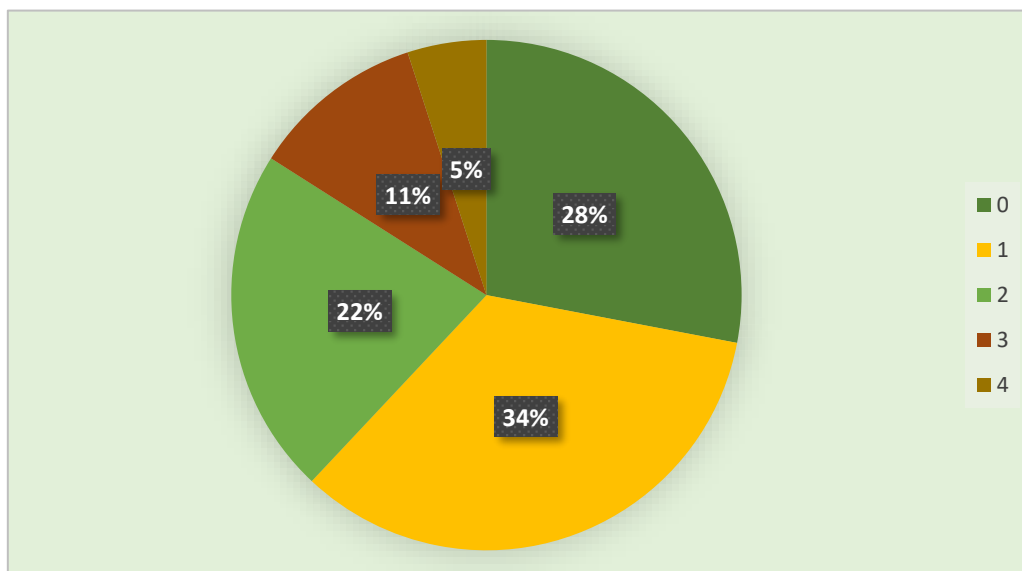
DT mjeri električnu provodljivost mlijeka, a tek promjena otpora znači odstupanje, tj. postojanje mastitisa. Stoga su radi prikazivanja rezultata u obzir uzete dvije vrijednosti: 0 = kao nepromijenjen otpor i 1- kao promijenjeni otpor uzrokovan promjenom sastava mlijeka. Ovaj test pokazao je manju pouzdanost u odnosu na ZMT. Detektirano je do 70 % uzoraka koji su proglašeni porijeklom iz zdravih četvrti, dok je postotak pozitivnih, preko 400 000 stanica u mL utvrđen najviše 82 % u stražnjoj lijevoj četvrti. Pouzdanost u supkliničkim slučajevima nije bila zadovoljavajuća (do 27,68 %). Postotak uspješnosti detekcije promjena u mlijeku DT-om u odnosu na BSS u mlijeku dobivenih referentnom metodom prikazan je u tablici 8.

Tablica 8: Uspješnost detekcije promjena u mlijeku DT u odnosu na broj somatskih stanica u mlijeku dobivenih referentnom metodom

Razred somatskih stanica	PD, %	PL, %	SD, %	SL, %
DT=0				
1-do 200 000	66,96	65,25	70,09	62,50
2- od 200-400 000	12,17	11,86	6,84	9,82
3> 400 000	20,87	22,88	23,08	27,68
DT=1				
1-do 200 000	28,57	29,17	7,69	11,76
2- od 200-400 000	14,29	4,17	19,23	5,88
3> 400 000	57,14	66,67	73,08	82,35

PD-prednja desna četvrt, PL-prednja lijeva, SD-stražnja desna, SL-stražnja lijeva, DT- Draminski test; 0 označava bez promjene; 1 označava promjenu otpora

Ako se promatra raspodjela povišenog BSS prema četvrtima (>400 000), vidljivo je kako je 34 % krava imalo zahvaćenu jednu četvrt, 22 % dvije četvrti, 11 % tri četvrti, a 5 % krava imalo je upalu u sve četiri četvrti vimena, dok 28 % krava nije imalo zahvaćeno niti jednu četvrt (slika 7).



0 = 0 zahvaćenih četvrti; 1 = jedna zahvaćena četvrt; 2 = dvije zahvaćene četvrti;

3 – tri zahvaćene četvrti; 4 = četiri zahvaćene četvrti

Slika 7: Udio krava s povišenim brojem somatskih stanica prema broju zahvaćenih četvrti vimena

5.3. Patogeni mikroorganizmi u mlijeku

Tijekom istraživanja obavljeno je uzorkovanje mlijeka te je ukupno 151 uzorak mlijeka pretražen na mastitis. Od toga je u 20 slučajeva (13,25 %) utvrđen jedan ili više mikrobioloških uzročnika mastitisa, te je uzročnik identificiran. Negativnih je rezultata bilo 86,75 %. Pojavnost identificiranih uzročnika mastitisa u pozitivnim uzorcima prikazan je u tablici 9.

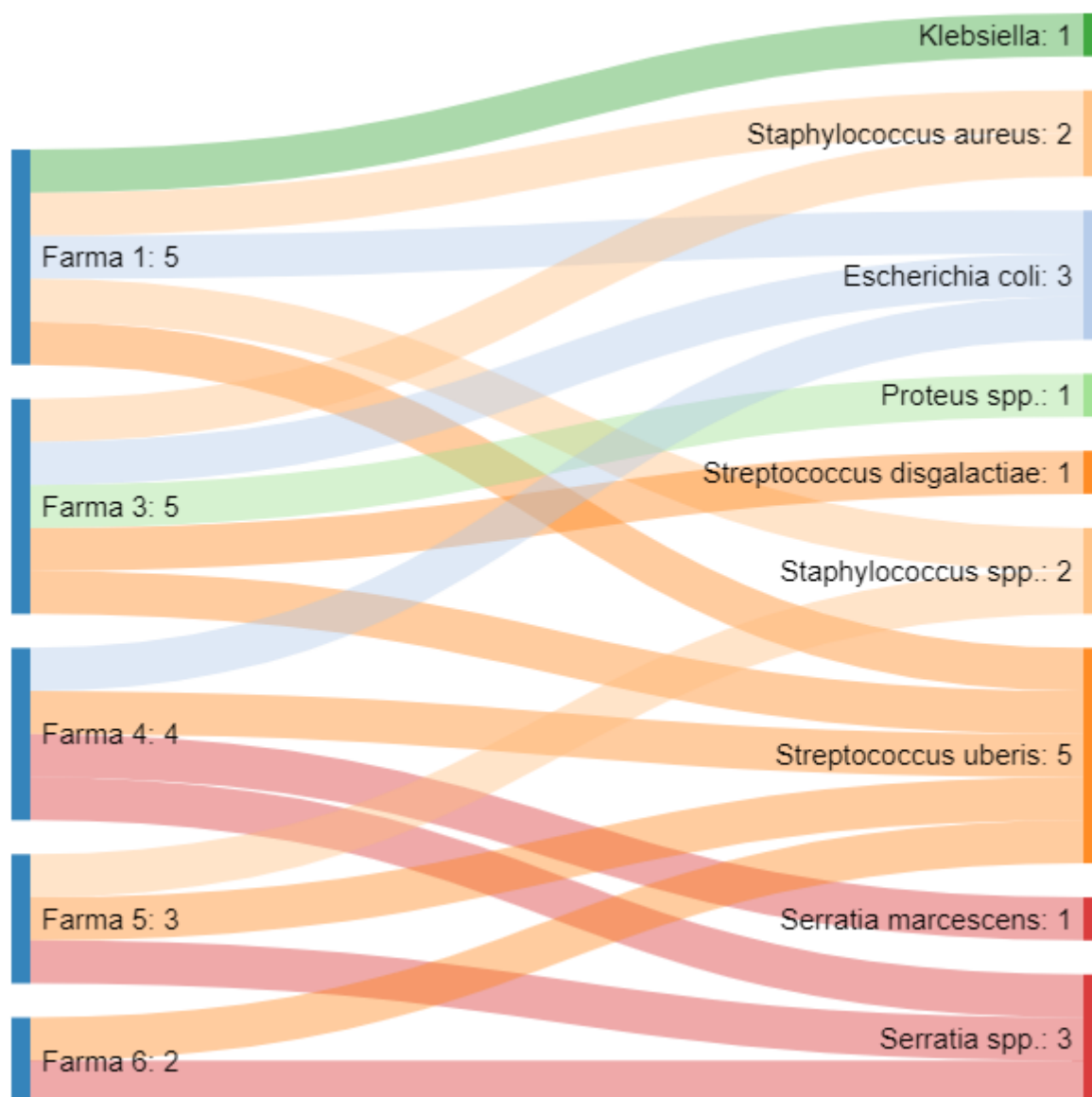
Tablica 9: Pojavnost uzročnika mastitisa u uzorcima mlijeka (n=151)

Uzročnik	Broj pozitivnih
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
<i>Streptococcus uberis</i>	6
<i>Proteus</i> spp.	1
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Staphylococcus</i> spp.	2
<i>Klebsiella</i>	1
<i>Serratia</i> spp.	3

U mlijeku krava sa svih farmi *S. uberis* pojavljuje se na 5 farmi, *E. coli* i *Serratia* spp. na 3 farme, *S. aureus* i *Staphylococcus* spp. na 2 farme, dok se ostali uzročnici pojavljuju samo na po jednoj farmi (tablica 10, slika 8).

Tablica 10: Dijagnosticirani uzročnici mastitisa po farmama

Farma	Broj uzoraka mlijeka	Broj pozitivnih uzoraka	Vrsta patogenog mikroorganizma
1	22	5	<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus uberis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Klebsiella</i>
2	30	0	-
3	26	6	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus uberis</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i>
4	28	3	<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus uberis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Serratia</i> spp.
5	25	3	<i>Streptococcus uberis</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Serratia</i> spp.
6	20	3	<i>Serratia</i> spp., <i>Streptococcus uberis</i>
Ukupno	151	20	



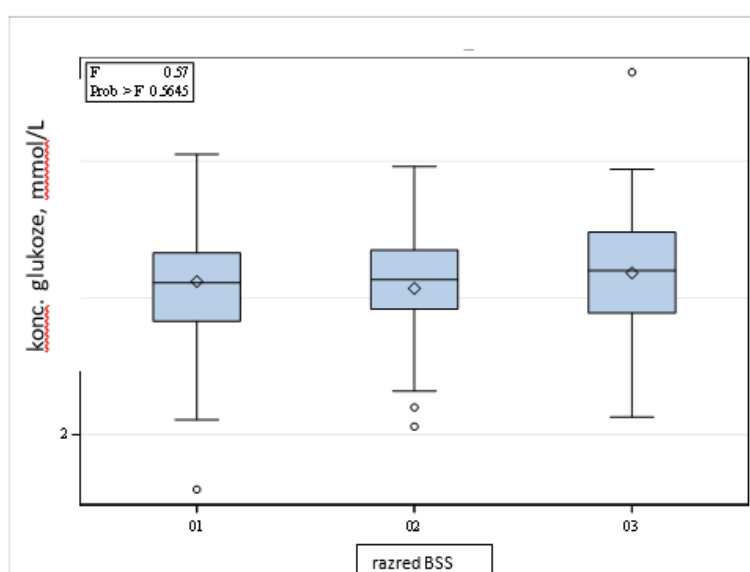
Slika 8: Pojavnost utvrđenih uzročnika mastitisa po farmama

5.4. Osnovni metabolički pokazatelji u krvi

Za statističku obradu podataka krave su podijeljene u tri razreda s obzirom na BSS iz svih četvrti, kako bi se utvrdile promjene biokemijskih pokazatelja u slučajevima supkliničkog i kliničkog mastitisa:

- 01 - < 200 000/mL,
- 02 - 200 000 - 400 000/MI,
- 03 - > 400 000/mL.

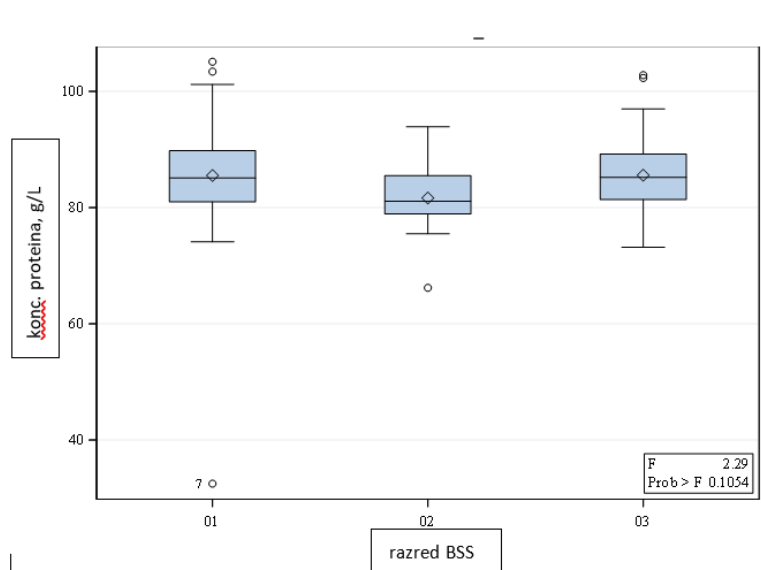
Vrijednosti metabolita nisu se značajno razlikovale prema razredima BSS. Koncentracija glukoze bila je neznatno niža u uzorcima krava sa supkliničkim mastitisom, ali nije bilo razlika u odnosu na one s kliničkim mastitisom (slika 9).



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml

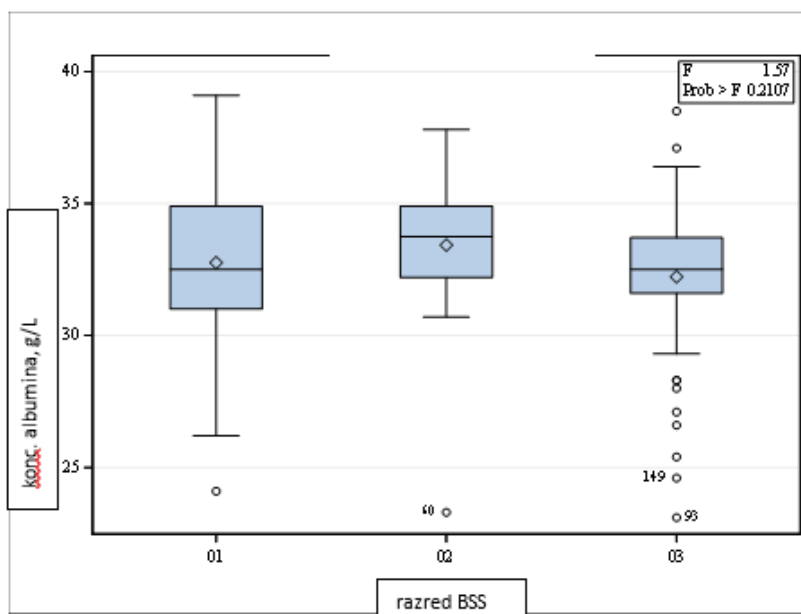
Slika 9: Prikaz vrijednosti koncentracije glukoze u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica

Koncentracija ukupnih proteina bila je numerički niža u skupini krava sa supkliničkim mastitisom, dok je vrijednost albumina bila nepromijenjena (slika 10, 11).



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml

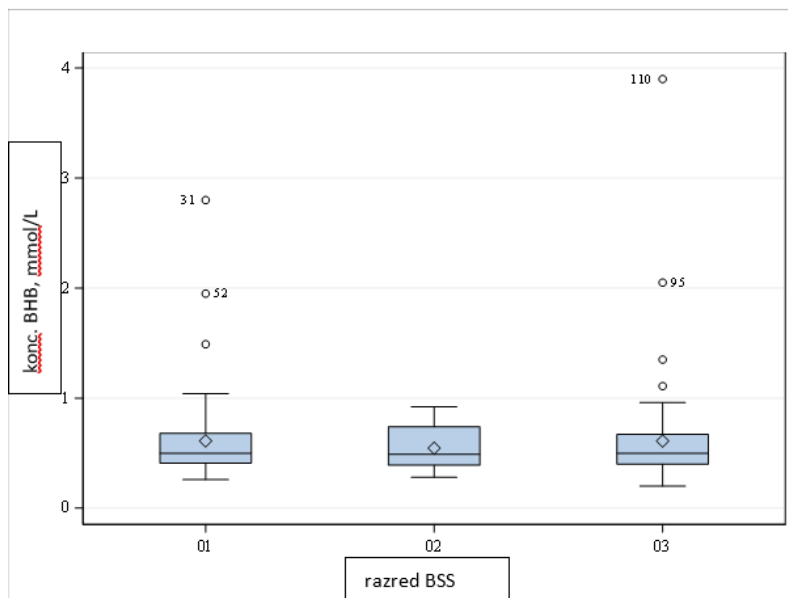
Slika 10: Prikaz vrijednosti koncentracije proteina u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml

Slika 11: Prikaz vrijednosti koncentracije albumina u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica

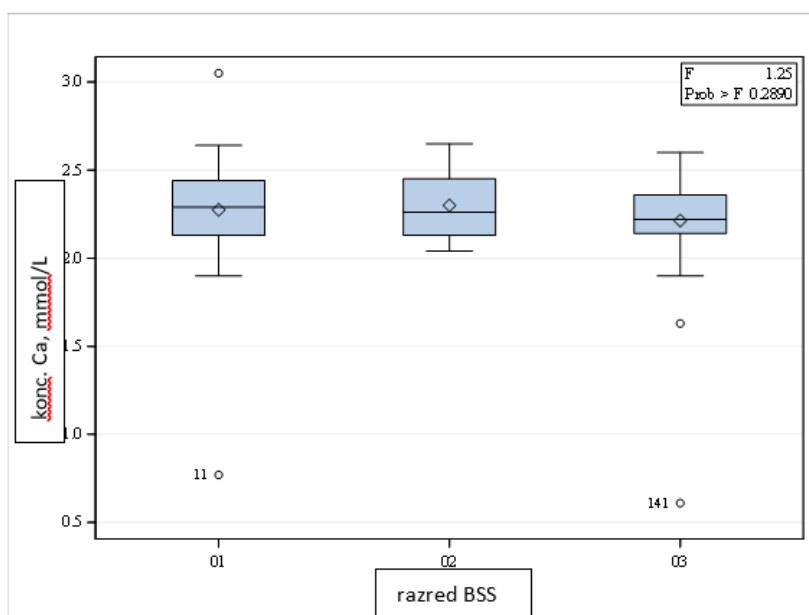
Srednje vrijednosti beta hidroksimaslačna kiselina (BHB) bile su niske i nisu se razlikovale u promatranim razredima, bez obzira na BSS, što znači da je hranidba bila prilagođena proizvodnji (slika 12).



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; BHB-betahidroksimaslačna kiselina

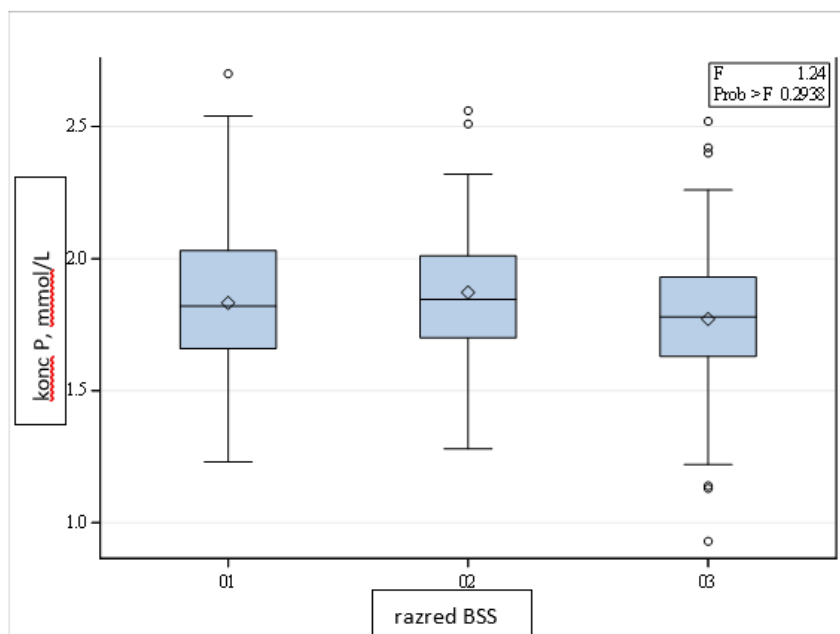
Slika 12: Prikaz vrijednosti koncentracije betahidroksimaslačne (BHB) kiseline u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica

Analizom minerala utvrđeno je nepostojanje značajnih razlika u koncentracija kalcija i fosfora u serumu krava, bez obzira na BSS (slika 13, 14). Uspoređujući koncentracije željeza u serumu krava vidljivo je kako je utvrđena niža vrijednost koncentracije željeza u krava s visokim BSS (slika 15). Poznato je smanjenje koncentracije željeza u slučajevima infekcije (Senturk i sur., 2009; Baydar i Dabak, 2014), ali u literaturi su poznati i suprotni rezultati, snižena je bila koncentracija željeza u mlijeku, ali ne u serumu (Schnell i sur., 2015).



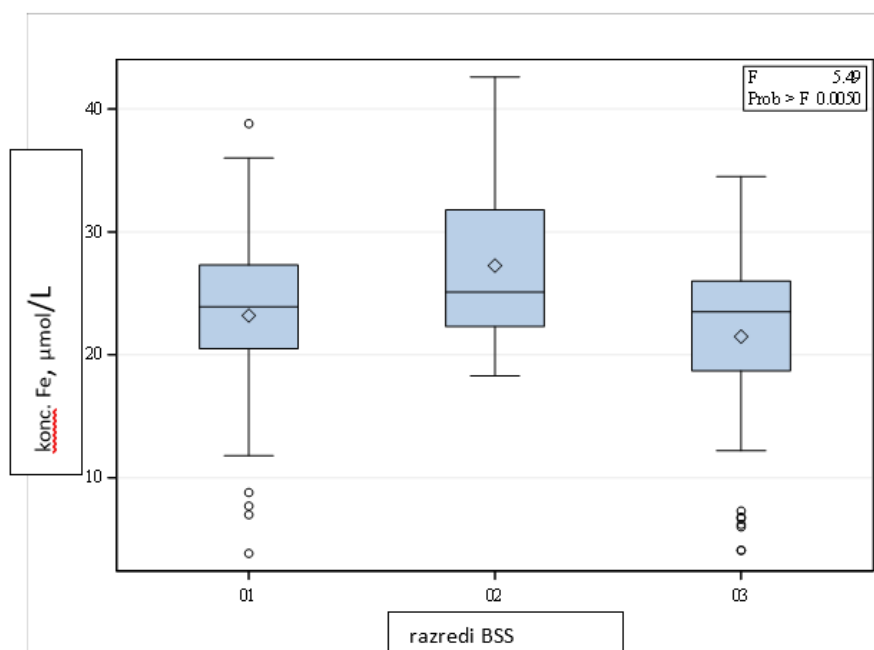
01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; Ca-kalcij

Slika 13: Prikaz vrijednosti koncentracije kalcija u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; P-fosfor

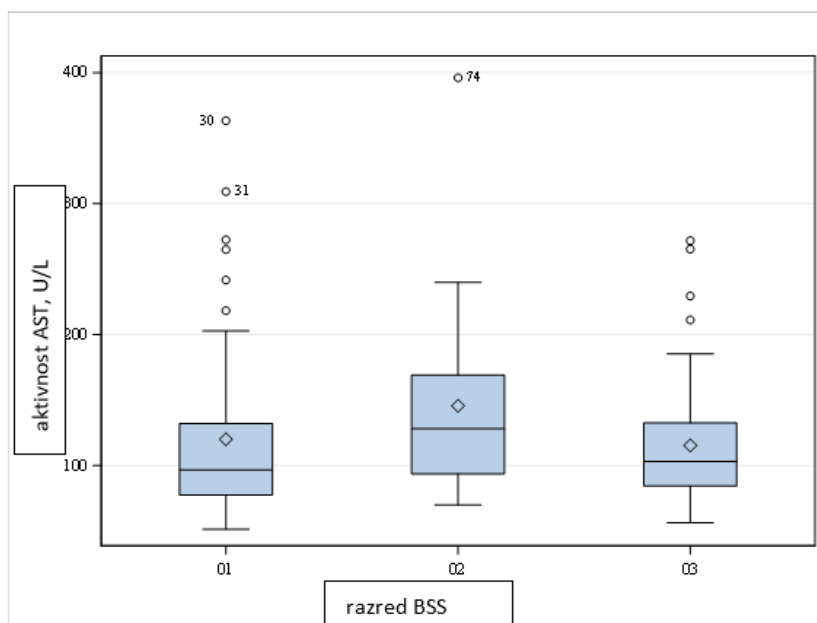
Slika 14: Prikaz vrijednosti koncentracije fosfora u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; Fe-Željezo

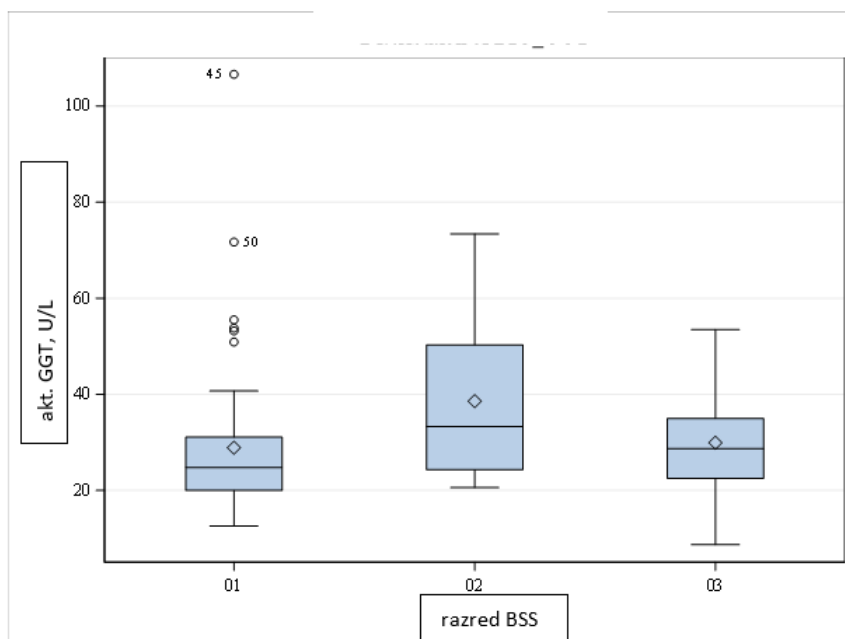
Slika 15: Prikaz vrijednosti koncentracije željeza u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica

Aktivnost aspartat aminotransferaze (AST) povišena je u slučajevima oštećenja jetre. To se u krava događa zbog velikih metaboličkih napora uslijed visoke proizvodnje, a nedostatka energije iz obroka, zbog čega životinja troši masne zalihe pa nastaje zamašćenje jetre. Drugi izvor povišenja aktivnosti AST je oštećenje mišićnog tkiva do kojeg u krava dolazi u puerperiju, uslijed transformacije karunkula i degradacije mišićnog tkiva zbog mobilizacije tjelesnih rezervi. U svim uzorcima aktivnost enzima bila je u granicama referentnog, ali je utvrđeno značajno veća aktivnost u skupini krava sa supkliničkim mastitisom u odnosu na zdrave krave (slika 16). U krava s najvećim BSS aktivnost enzima bila je niža, vjerojatno jer je došlo do kompenzacije manjka energije snižavanjem proizvodnje mlijeka. Taj nalaz potvrđuje i aktivnost gama glutamiltransferaze (GGT), enzima koji je također pokazatelj zdravlja jetre. Aktivnost GGT bila je najviša u krava sa supkliničkim mastitisom (Slika 17).



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; AST-aspartataminotferaza; U/L – jedinica po litri

Slika 16: Prikaz vrijednosti aktivnosti enzima aspartataminotferaze (AST) u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; GGT gama glutamiltransferaza; U/L – jedinica po litri

Slika 17: Prikaz vrijednosti koncentracije gama glutamiltransferaza (GGT) u serumu za razrede krava prema broju somatskih stanica

Aktivnost GGT bila je značajno viša u skupini krava s povišenim BSS u odnosu na krave s niskim BSS (slika 17), što odgovara stanju upalnog procesa zbog čega je veće opterećenje jetre. Pokazatelji metaboličkog stanja nalaze se u granicama prihvatljivoga. Pokazatelji proteinskog (albumin, ukupni proteini) i energetskeg statusa (glukoza, BHB) ukazuju da odabrane farme imaju pravilan pristup slaganja obroka i da se koriste raspoloživim sustavima kontrole mliječnosti. Ipak, pretraženi pokazatelji upućuju na potrebu usmjeravanja veće pažnje izbalansiranosti obroka. Zajedničko je promatranim farmama nedostatak kvalitetnih izvora sirove vlaknine, a ponekad i neprikladan unos suhe tvari, što je opet povezano s kvalitetom obroka.

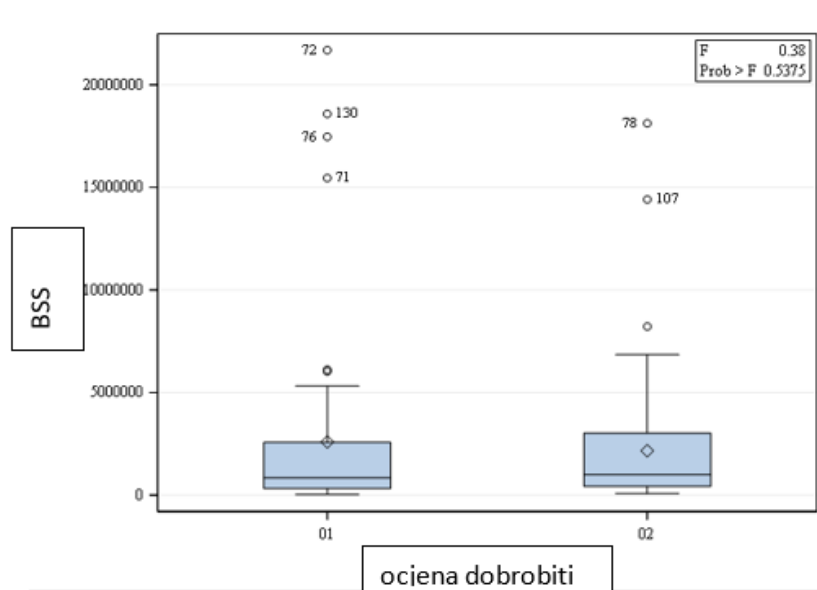
5.5. Povezanost varijabli

S ciljem utvrđivanja biomarkera koji su dobri prediktori pojave i razvoja mastitisa, napravljene su korelacije između svih promatranih pokazatelja/varijabli. U statističkome smislu, nisu utvrđene jake povezanosti između promatranih obilježja. Utvrđena je umjereno jaka povezanost svojstava kvalitete mlijeka utvrđenih ZMT po četvrtima s BSS u tim istim četvrtima. Također je utvrđena značajna ($P < 0,0001$), ali umjereno do slaba ($r < 0,50$) povezanost otpora mlijeka utvrđenog DT i BSS.

Zbog bolje procjene povezanosti svojstava krave su razvrstane u 3 razreda prema broju somatskih stanica:

- 01. razred: $< 200\ 000/\text{mL}$,
- 02. razred: $200\ 000 - 400\ 000/\text{mL}$,
- 03. razred: $> 400\ 000/\text{mL}$.

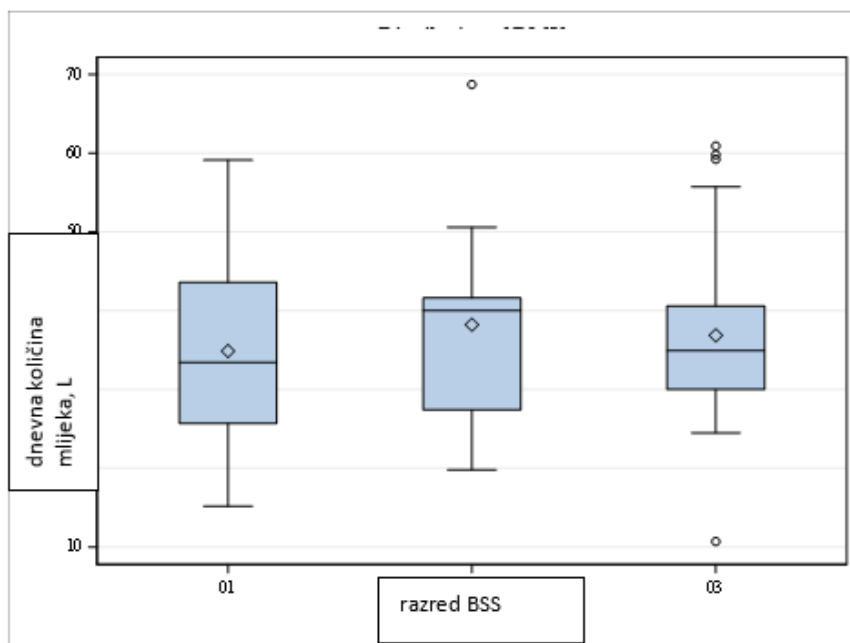
U krava s malim BSS (razred 1) utvrđena je značajna i jaka veza između ukupnog BSS cijelog vimena s BSS u pojedinim četvrtima ($r = 0,74\ \text{PL}, 0,74\ \text{SL}, 0,83\ \text{SD}, 0,63\ \text{PD}$). U ovom razredu nije utvrđena značajna ni jaka povezanost između brzih testova za određivanje kvalitete mlijeka. Tako su slabo povezani BSS i DT, ali je DT pokazao povezanost između pojedinih četvrti vimena, što samo potvrđuje ponovljivost metode. U drugom razredu prema BSS nisu utvrđene niti značajne niti jake povezanosti u promatranim pokazateljima. Predmet istraživanja bio je utvrditi utjecaj dobrobiti krava na pojavu supkliničkog mastitisa te sigurnost i kvalitetu mlijeka. Nije bilo statistički značajne razlike u BSS stanica kod krava s ukupnom ocjenom farme srednje i s ocjenom odlično ($P > 0,05$, slika 18).



BSS – broj somatskih stanica, 01-srednje, 02- odlično

Slika 18: Prikaz vrijednosti broja somatskih stanica u mlijeku prema ukupnoj ocjeni dobrobiti farmi

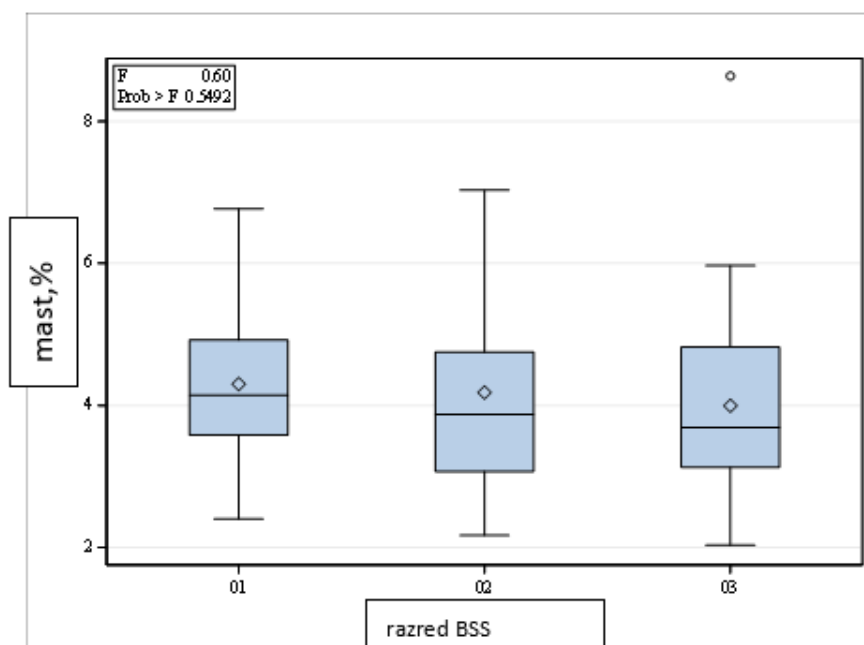
Gledano po razredima prema BSS, proizvodnja mlijeka nije se značajno razlikovala (slika 19), iako je numerički najniža proizvodnja bila u skupini s najmanje somatskih stanica, a najveća proizvodnja u skupini sa sumnjom na supklinički mastitis. Upravo su krave s visokom proizvodnjom mlijeka osjetljivije na infekciju - zbog genetskih predispozicija za visoku proizvodnju mlijeka njihov je imunostni sustav manje djelotvoran, odnosno porast BSS u mlijeku može biti posljedica visokih zahtjeva mliječne žlijezde te ne mora uvijek biti izazvan mikrobiološkim uzročnicima (Van Kneegsel i sur., 2014).



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml; BSS – broj somatskih stanica; L - litra

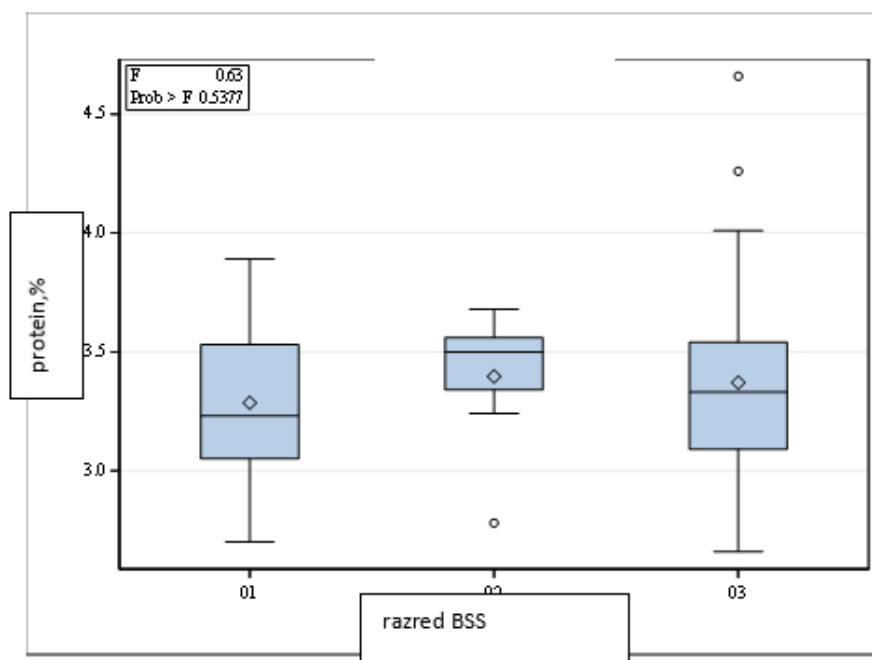
Slika 19: Prikaz prosječne dnevne proizvodnje mlijeka za razrede krava prema broju somatskih stanica

Količina masti i proteina u mlijeku nije se značajno razlikovala po razredima. Iz rezultata se vidi negativna korelacija BSS s proteinima i masti u mlijeku, što znači da porast BSS utječe na pad njihove količine u mlijeku. Međutim, faktor korelacije za oba pokazatelja u našem istraživanju je bio slab ($r < 0,50$) (slika 20, 21).



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml

Slika 20: Prikaz prosječnog udjela mliječne masti u mlijeku za razrede krava prema broju somatskih stanica



01- razred broja somatskih stanica <200 000/ml; 02-razred broja somatskih stanica 200 000-400 000/ml; 03-razred broja somatskih stanica > 400 000/ml

Slika 21: Prikaz prosječnog udjela proteina u mlijeku za razrede krava prema broju somatskih stanica

6. Zaključno

U odnosu na znanstvene podatke vezane za utvrđivanje povezanosti dobrobiti životinja i pojave kliničkog mastitisa, evidentan je nedostatak podataka o povezanosti razine dobrobiti životinja i supkliničkog mastitisa. Zbog takvog nedostatka znanstvenih podataka Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu provela je istraživanje povezanosti dobrobiti krava i pojave supkliničkog mastitisa te sigurnosti i kvalitete mlijeka. Istraživanje je provedeno na 6 farmi čiji su se uzgojni kapaciteti kretali od 48 do 424 krave. Sve su farme u sustavu kontrole mliječnosti kojeg provodi Središnji laboratorij za kontrolu kvalitete mlijeka u Križevcima. Istraživanjem su ciljano odabrane životinje u drugoj i trećoj laktaciji, kada je proizvodnja mlijeka u porastu. Nakon analize podataka doneseni su sljedeći zaključci:

1. Ukupna ocjena dobrobiti pokazuje da dvije farme pripadaju gornjem razredu dobrobiti, a četiri srednjem razredu. Prema ocjenama menadžmenta tri farme pripadaju gornjem razredu, a prema ocjenama infrastrukture i ocjene na životinjama po dvije farme pripadaju gornjem ocjenskom razredu.
2. Broj somatskih stanica u četvrtima vimena premašuje prosječni ukupni broj stanica u uzorku mlijeka, ali to na razini farme ne umanjuje kvalitetu ni sigurnost mlijeka.
3. Postojeća kontrola kvalitete mlijeka mjerenjem broja somatskih stanica iz svih četvrti koje se muzu ne daje pravo stanje zdravlja vimena, jer manji broj somatskih stanica u dvjema četvrtima može sniziti ukupni broj, iako ostale dvije četvrti mogu imati visoki broj somatskih stanica.
4. Brzi testovi pokazali su pouzdanost u otkrivanju kliničkog mastitisa, ali nedovoljnu točnost u otkrivanju supkliničkog mastitisa te bi zbog toga bilo poželjno razviti osjetljivije testove.
5. Bakteriološkom pretragom mlijeka utvrđeno je nekoliko bakterijskih vrsta (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Proteus* spp., *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus* spp., *Klebsiella*, *Serratia* spp.), neovisno o broju zahvaćenih četvrti, podjednako u slučajevima kliničkog i supkliničkog mastitisa. Na utvrđene mikroorganizme djeluju različiti antibiotici te je stoga poželjno raditi antibiogram zbog preciznog liječenja i smanjenja rizika od nastanka antimikrobne rezistencije.
6. Ocjena dobrobiti cjelokupne farme nije pouzdan indikator pojavnosti mastitisa, nego je potreban individualan pristup dijagnostici i liječenju mastitisa s obzirom da pojedini čimbenici nemaju jednako značenje u procjeni dobrobiti, a uzroci nastanka mastitisa su brojni.

7. Preporuke

U kontekstu protokola procjene dobrobiti životinja na farmama podaci o supkliničkim i kliničkim mastitisima predstavljaju važne podatke vezane za mjere temeljene na životinjama (*engl. animal-based measures*). Takvi su podaci s jedne strane povezani s pokazateljima higijene okoliša mliječnih farmi kroz razinu čistoće krava, a s druge s proizvodnim pokazateljima i općim zdravljem mliječnih krava.

U takvom kontekstu učinak dobrobiti životinja na pojavu supkliničkog mastitisa, prikazanog povećanjem broja somatskih stanica bez vidljivih promjena u mlijeku ili vimenu, potrebno je nadalje istraživati. Također su potrebna daljnja istraživanja vezana za nastanak ostalih štetnih posljedica uzrokovanim niskim razinama dobrobiti na farmama.

S obzirom na to da ukupna ocjena dobrobiti pokazuje da dvije farme pripadaju gornjem razredu dobrobiti, a četiri srednjem razredu, potrebno je težiti podizanju standarda dobrobiti mliječnih

krava. To je moguće postići većim ulaganjima u obrazovanje, obučavanje i profesionalni razvoj poljoprivrednika i stočara.

Rezultate provedenog istraživanja moguće je implementirati u Program ruralnog razvoja Republike Hrvatske u kojeg je uvrštena mjera Dobrobit životinja, kako bi se poboljšali uvjeti držanja i uzgoja u intenzivnim stočarskim sustavima, njenim proširenjem. Mjera Dobrobit životinja, zasada, uključuje primjenu visokih standarda dobrobiti životinja koji nadilaze važeće zakonske propise, a čine ju sljedeća područja: osiguranje vode, hrane i brige o životinjama u skladu s njihovim prirodnim potrebama; osiguranje uvjeta držanja na način da imaju dovoljno prostora, odgovarajuću stelju, prirodno osvjetljenje; pristup na otvoreno te prakse koje izbjegavaju sakaćenje i/ili kastraciju životinja, a ako je to zaista neophodno upotrebu anestetika, analgetika te protuupalnih lijekova ili imuno kastraciju.

S obzirom na uočenu problematiku prisutnosti različitih protokola dobrobiti životinja, u kojima su predloženi različiti metodološki pristupi, koji imaju različiti razinu osjetljivosti i koji nisu jednako lako primjenjivi u svim uvjetima držanja domaćih životinja te koji stoga posljedično polučuju različite rezultate, čija je usporedba otežana, preporuča se pokretanje inicijative vezane za izradu nacionalnog protokola o dobrobiti životinja u kojem bi HAPIH mogao biti referentno nacionalno tijelo u području dobrobiti životinja.

8. Literatura

Antunac N, Lukač-Havranek J, Samardžija D (1997): Somatske stanice i njihov utjecaj na kakvoću i preradu mlijeka. *Mljekarstvo* 47 (3): 183-193.

Bačić G (2009): Dijagnostika i liječenje mastitisa. (Ur. Bačić G, Vince S, Maćešić N). Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Baydar E, Dabak M (2014): Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle. *J. Dairy Sci.* 97: 222-228.

Bertocchi L, Fusi F (2014): Guidelines for the assessment of welfare and biosecurity in dairy cattle in loose housing systems. Brescia, Italy: Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini".

Boddie RL, Nickerson, SC, Owens WE, Watts JL, (1987): Udder microflora in non-lactating heifers. *Agri-Practice* 8: 22– 25.

Bradley AJ (2002): Bovine mastitis: An evolving disease. *Vet. J.*, 164: 116-128.

Broom D (2001): Effects of dairy cattle breeding and production methods on animal welfare. Conference: Proc. 21st World Buiatrics Congress, 1-7., At Punta del Este, Uruguay: World Association for Buiatrics.

Broom DM, Fraser AF (2015): *Domestic Animal Behaviour and Welfare*, 5th edn, pp. 472. Wallingford: CABI.

Cergolj M (2003): Čimbenici koji sudjeluju pri nastanku mastitisa. *Veterinarski dani* (Šibenik, 9.- 12. listopada 2003.). Zbornik radova str. 99-105.

Cvetnić L, Benić M, Habrun B, Kompes G, Stepanić M, Samardžija M (2016): Najčešći uzročnici mastitisa u krava i koza u Republici Hrvatskoj. *Veterinarska stanica*, br. 47 (2).

De Vries M, Bokkers EAM, Van Schaik G, Engel B, Dijkstra T, de Boer IJM (2016): Improving the time efficiency of identifying dairy herds with poorer welfare in a population. *J Dairy Sci* 99(10): 8282-8296.

Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H (2002): Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta analysis. *Vet. Res.* 33:335-357.

Đidara M (2019): Procjena dobrobiti na farmama mliječnih krava. U: Domaćinović M., Đidara M., Solić D., Šperanda M. *Dobra proizvođačka praksa u animalnoj proizvodnji*, Sveučilišni priručnik, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek, 61-85.

EC (European Commission Directorate-General for health and food safety) (2017): Overview report of the directorate-general for health and food safety on a series of audits carried out in 2016 in order to evaluate member state controls and use of indicators to ensure the welfare of cattle on dairy farms. Ref. Ares(2017)5623870 - 17/11/2017.

EFSA (European Food Safety Authority) (2009): Food safety aspects of dairy cow housing and husbandry systems. *The EFSA Journal* 1189: 4-27.

EFSA (European Food Safety Authority) (2009a): Scientific report on the effects of farming systems on dairy cow welfare and disease. Annex to the EFSA Journal (2009) 1143: 1-38.

EFSA (European Food Safety Authority) (2012): Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), Scientific Opinion on the use of animal-based measures to assess welfare of dairy cows. EFSA Journal EFSA Journal 2012; 10(1):2554. [81 pp.].

EFSA (European Food Safety Authority) (2012a): Guidance on Risk Assessment for Animal Welfare. EFSA Journal 2012;10(1):2513.

EFSA (European Food Safety Authority) (2015): AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Animal Welfare), Scientific Opinion on the assessment of dairy cow welfare in small-scale farming systems. EFSA Journal 2015;13(6):4137, 102 pp.

FAWC (Farm Animal Welfare Council) (1997): Report on the welfare of dairy cattle. MAFF Publication, UK.

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

IDF (International Dairy Federation) (2018): Animal health report. Issue N° 12.

Ivemeyer S, Walkenhorst M, Heil F, Notz C, Maeschli A, Butler G, Klocke P (2009): Management factors affecting udder health and effects of a one-year extension program in organic dairy herds. *Animal* 3:1596 –1604.

Kelly AL (2002): Test methods and standards. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press. 3: 1995 – 2002.

Lager K, Jordan E (2012): The Metabolic Profile for the Modern Transition Dairy Cow. 2012 Mid-South Ruminant Nutrition Conference, 9-16.

LeBlanc SJ, Lissemore DD, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE (2006): Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1267-1279.

Matković K (2018): Mjera 14 Programa ruralnog razvoja. *Mljekarski list*, 5: 36-37.

Matković K (2019): Procjena dobrobiti. *Mljekarski list*, 1: 36-38.

Milne MH, AM Nolan, PJ Cripps, Fitzpatrick JL (2003): Assessment and alleviation of pain in dairy cows with clinical mastitis. *Cattle Pract.* 11:289–293.

Nielsen C (2009): Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, p.81.

Nielsen BH, Angelucci A, Scalvenzi A, Forkman B, Fusi F, Tuytens F, Houe H, Blokhuis H, Sørensen JT, Rothmann J, Matthews L, Mounier L, Bertocchi L, Richard MM, Donati M, Nielsen PP, Salini R, de Graaf S, Hild S, Messori S, Nielsen SS, Lorenzi V, Boivin X, Thomsen PT (2014): Use of animal based measures for the assessment of dairy cow welfare (ANIBAM). External Scientific Report EN-659. EFSA Supporting Publications, Parma, Italy 11(9): p.340.

Nyman AK, Linberg A, Sandgren CH (2011): Can pre-collected register data be used to identify dairy herds with good cattle welfare? *Acta Vet Scand* 53(1): S8.

Pavičić Ž, Vučemilo M, Tofant A, Cergolj M, Balenović T, Matković K (2003): Značenje primijenjene dezinfekcije u smanjenju onečišćenja mlijeka mikroorganizmima i sprječavanju upala mliječne žlijezde. Zbornik radova Veterinarski dani, Šibenik, 132–142.

Pravilnik o provedbi izravne potpore poljoprivredi i IAKS mjera ruralnog razvoja za 2021. godinu (Narodne novine 23/2021, 67/2021)

Rebekić A, Lončarić Z, Petrović S, Marić S (2015): Pearson's or spearman's correlation coefficient – which one to use?. Agriculture 21 (2): 47-54.

Ruegg P (2003): Investigation of mastitis problems on farms. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice. 19: 47-73.

SAS Institute Inc. (2000): SAS User's guide. Version 8.2 Cary, NC: SAS Institute Inc.

Schnell SA, Ohtsuka H, Kakinuma S, Yoshikawa Y, Watanabe K, Orino K (2015): Iron and ferritin levels in the serum and milk of bovine leukemia virus-infected dairy cows. Front. Vet. Sci., 26 May, 1-5.

Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F (2003): Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. Vet Res 34(5): 475-491.

Senturk S, Metcitoglu Z, Ulgen M, Borum E, Temiziel E, Kasap S (2009): Evaluation of serum iron and iron binding capacity in cows with paratuberculosis. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 37:375–8.

Sharma Singh NNK, Bhadwal MS (2011): Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview Asian Aust. J. Anim. Sci. Vol. 24, No. 3: 429 - 438.

Sordillo LM (2009): Current concepts on immunity and mastitis. Western Canadian Dairy Seminar Advanced in Dairy Technologies., 21: 111-119.

Sordillo LM, Contreras GA, Aitken SL (2009): Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. Animal Health Research Reviews 10: 53-63.

Suárez VH, Gabriela MM, Emiliano AB (2017): Mastitis, a Health- Related Indicator of Dairy Cow Welfare and Productivity. Dairy and Vet Sci J 4(5).

Štoković I, Kostelić A, Benić M, Matković K (2014): Novi način borbe protiv mastitisa na farmama mliječnih krava. Zbornik radova 10. savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj. ISSN 1845-5263, str. 69 – 74.

TIBCO Software Inc. (2018): Statistica (data analysis software system), version 13.

Tremetsberger T, Leeb C, Winckler C (2015): Animal health and welfare planning improves udder health and cleanliness but not leg health in Austrian dairy herds. J. Dairy Sci. 98:1–11.

Van Knegsel AT, Hammon HM, Bernabucci U, Bertoni G, Bruckmaier RM, Goselink RM, Gross JJ, Kuhla B, Metges CC, Parmentier HK (2014): Metabolic adaptation during early lactation: Key to cow health, longevity and a sustainable dairy production chain CAB Rev., 9 (2014), p. 15.

Welfare Quality Protocols (2009): Cattle Protocol without Veal Calves. Welfare Quality Consortium, Lelystad, Netherlands.

Vučemilo M, Matković K, Štoković I, Kovačević S, Benić M (2012): Welfare assessment of dairy cows housed in a tie-stall system. *Mljekarstvo*, 62: 62-67.