

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Damjan Džakula

Referentne vrijednosti hematoloških i biokemijskih parametara u neonatalne teladi  
simentalske pasmine držane u sustavu krava-tele

Diplomski rad

Zagreb, 2023.

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Klinika za unutarnje bolesti

Predstojnik: Doc. dr. sc. Iva Šmit

Mentori: Doc. dr. sc. Darko Grden

Doc. dr. sc. Jelena Gotić

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv.prof.dr.sc. Martina Crnogaj (prvi član)

2. Prof.dr.sc. Vladimir Mrljak

3. Dr.sc. Blanka Beer, mag.med.biochem.

4. Doc.dr.sc. Iva Šmit (zamjena)

*Zahvaljujem mentorima doc.dr.sc. Darku Grdenu i doc.dr.sc. Jeleni Gotić na stručnoj podršci te razumijevanju i pomoći koju su mi pružili tijekom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem svim prijateljima i kolegama s fakulteta koji su uvijek bili tu za mene.*

*Zahvaljujem svojoj obitelji na svemu što mi je pružila i omogućila, uključujući i beskrajno povjerenje koje sam, nadam se, opravdao.*

*Hvala Petri, ona zna zbog čega.*

## SADRŽAJ

POPIS SLIKA.....	IV
POPIS TABLICA .....	V
POPIS KRATICA.....	VI
1. UVOD .....	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA .....	3
2.1. Simentalska pasmina .....	3
2.2. Sustav krava-tele.....	3
2.3. Hematološki parametri .....	5
2.4. Biokemijski parametri .....	6
3. MATERIJALI I METODE .....	9
3.1. Prikupljanje uzoraka .....	9
3.2. Kriteriji odabira životinja .....	11
3.3. Uzimanje uzoraka teladi .....	12
3.4. Analiza uzoraka .....	12
4. REZULTATI.....	14
5. RASPRAVA .....	18
6. ZAKLJUČCI.....	23
7. LITERATURA .....	24
8. SAŽETAK .....	27
9. SUMMARY.....	28
10. ŽIVOTOPIS .....	29

## POPIS SLIKA

Slika 1. Irski tip simentalskog goveda

Slika 2. Simentalske krave s teladi na ispaši

Slika 3. Krava s novorođenim teletom u pojedinačnom odjeljku, na dubokoj stelji

Slika 4. Položaj OPG-a Džakula u Sisačko-moslavačkoj županiji.

Slika 5. Venepunkcija *v.jugularis dextrae* teleta u stojećem položaju, pri manualnoj fiksaciji

## POPIS TABLICA

Tablica 1. Hematološke referentne vrijednosti za simentalSKU telad starosti 1-5 dana, opisna statistika, 90%tni interval pouzdanosti za vrijednosti donje i gornje granice

Tablica 2. Biokemijske referentne vrijednosti za simentalSKU telad starosti 1-5dana, opisna statistika, 90%tni interval pouzdanosti za vrijednosti donje i gornje granice

Tablica 3. Hematološke referentne vrijednosti za neonatalnu simentalSKU telad držanu u sustavu krava-tele, referentne vrijednosti za neonatalnu holstein telad, telad hanwoo pasmine, i za telad križanih mliječnih pasmina te referentne vrijednosti za odrasla goveda Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu.

Tablica 4. Referentne vrijednosti biokemijskih parametara za neonatalnu simentalSKU telad držanu u sustavu krava-tele, referentne vrijednosti za neonatalnu holstein telad, telad križanih mliječnih pasmina te referentne vrijednosti za odrasla goveda Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu.

## POPIS KRATICA

RBC-broj eritrocita

HB-hemoglobin

HCT-hematokrit

MCV- prosječan volumen eritrocita ( eng. *mean corpuscular volume*)

MCH-prosječan hemoglobin u eritocitu (eng. *mean corpuscular hemoglobin*)

MCHC-prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitu (eng. *mean corpuscular hemoglobin concentration*)

RDW- širina distribucije zapremnine eritrocita

PLT-trombociti

WBC-leukociti

NESEG-nesegmentirani neutrofil

SEG-segmentirani neutrofil

LYM-limfociti

MON-monociti

EOS-eozinofili

BAS-bazofili

AST- aspartat aminotransferaza

GGT-gama glutamiltransferaza

GLDH-glutamat dehidrogenaza

LDH-laktat dehidrogenaza

CK-kreatin kinaza

BHB-beta hidroksibutirat

GLUK-glukoza

BIL-bilirubin

KREAT-kreatinin

UP-ukupni proteini

ALB-albumini

KOL-kolesterol

TRIG-trigliceridi

Ca-kalcij

Cl-klor

Mg-magnezij

Na-natrij

K-kalij

P-fosfor

RV-referentne vrijednosti

RI-referentni interval



## 1. UVOD

Cilj uzgoja u sustavu krava-tele je „proizvesti“ tele u zadovoljavajućoj tjelesnoj kondiciji i optimalnom zdravlju. U tom procesu, kao najkritičnija točka označen je neonatalni period (MOTUS i EMANUELSON, 2017) koji karakterizira visok morbiditet i mortalitet. Glavni uzročnici visokog morbiditeta i posljedičnog mortaliteta su kombinacija metaboličke i respiratorne acidoze, porođajnih trauma, hipoglobulinemije, kongenitalnih infekcija i deficita te omfaloflebitis teladi (MEE, 2008). Relativno visoki postotak šteta u neonatalnom razdoblju, koji u pojedinim uzgojima može premašiti i 25%, predstavlja ne samo problem sa stanovišta dobrobiti, već uzrokuje i naknadne poremećaje proizvodnosti, zdravlja i reprodukcije, ali i same održivosti proizvodnje (MEE, 2008).

Sustav krava-tele jedinstven je po slobodnom načinu držanja teleta uz majku te *ad libitum* hranidbu teleta, što za posljedicu uzrokuje značajna odstupanja hematoloških, metaboličkih i drugih pokazatelja u odnosu na telad držanu u drugim proizvodnim sustavima (EGLI i BLUM, 1998). U ovoj proizvodnji znatno je otežan ili katkad potpuno nemoguć individualni pristup, nadzor i kontrola jedinke, što je uobičajeno u stajskom držanju goveda. Pretragom publikacija o biokemijskim i hematološkim krvnim parametrima u teladi, znatno više radova publicirano je iz istraživanja u intenzivnim sustavima uzgoja teladi (BOUDA i JAGOŠ, 1984; BRUN-HANSEN i sur., 2006; PANOUSIS i sur., 2018; ROADKNIGHT i sur., 2021), dok su dostupni podaci o ekstenzivno držanoj teladi ograničeni (EGLI i BLUM, 1998; KNOWLES i sur., 2000). Publicirana istraživanja provedena na teladi iz sustava krava-tele većinom su bazirana na grlima iz komercijalnih stada sastavljenih od križanih pasmina (KNOWLES i sur., 2000), što je čest način uzgoja u ovom sustavu. Veličina uzoraka u istraživanjima ovog tipa provedena nad teladi mesnih pasmina uglavnom je ispod 20 jedinki (EGLI i BLUM, 1998; KNOWLES i sur., 2000), što je značajno manje nego u našem istraživanju. Također, istraživanja s većim brojem uzoraka često su provedena u područjima sa značajno različitim okolišnim čimbenicima i klimom, primjerice Australiji (ROADKNIGHT i sur., 2021) i SAD-u (LUMSDEN i sur., 1980). Istraživanje na novorođenoj teladi simentalske pasmine u sustavu krava-tele proveli su samo EGLI i BLUM (1998), na području regije Witzwil, Švicarska, na uzorku veličine 19 teladi. Navedeno istraživanje provedeno je prije 24 godine, te autor ne objavljuje tablice sa podacima, već samo u grafičkom prikazu iz kojeg nije moguće očitati prave vrijednosti parametara, stoga nisu mogli poslužiti kao reference. Potvrdu tome daju i GEORGE i sur., (2010) uspoređujući u svom radu ustaljenje referentne vrijednosti

goveda s novim spoznajama, pri čemu zaključuju kako korištenje starijih spoznaja može često dovesti do krivog razumijevanja hematoloških nalaza.

Slijedom navedenog, svakodnevno postoji potreba za razvojem inovativnih, konkretnih i brzih dijagnostičkih pretraga koje bi lakše i brže usmjeravale k dijagnozi, a upravo zbog toga i terenski veterinari u farmских životinja sve češće provode hematološke i biokemijske pretrage. Činjenica je i da su veterinarske ambulante sve bolje opremljene i posjeduju automatizirane digitalne uređaje za analizu uzoraka krvi koji samostalno mogu utvrditi odstupanja i abnormalnosti (ROLAND i sur., 2014).

Referentne se vrijednosti najčešće definiraju kao referentni interval (RI) unutar kojeg se nalazi 95% referentnih jedinki, i mada se referentne vrijednosti (RV) rutinski koriste u dijagnostici, univerzalan način njihovog izračuna je i dalje predmet rasprave u kliničko-laboratorijskoj literaturi (FRIEDRICHS i sur., 2012). Neovisno o načinu izračuna, treba imati na umu činjenicu da se unutar referentnih vrijednosti nalazi 95% zdravih životinja, dakle 5% zdravih životinje će imati vrijednosti pojedinih parametara veće ili manje od referentnih vrijednosti.

U svrhu što pouzdanije interpretacije nalaza laboratorijskih pretraga važno je postojanje odgovarajućih RV primjenjivih za pretraživanu pasminu i dobnu kategoriju, a neki pak autori predlažu upotrebu individualiziranih RV kao zlatni standard (WRIGHT i sur., 2019).

Slijedom navedenog, ovo istraživanje ima za cilj uspostavu RV za neonatalnu simentalSKU telad staru do 5 dana u ekološkim sustavima držanja po principu krava-tele.

## 2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

### 2.1. Simentalska pasmina

Porijeklo simentalke pasmine seže iz doline rijeke Simme u Švicarskoj. Rasprostranjena je u svim europskim, a i mnogim svjetskim zemljama, najčešće kao pasmina dvojnih proizvodnih karakteristika, no izuzetak čine Britanija i Irska, gdje se simentalac koristi kao mesna pasmina (slika 1.) i pasmina za poboljšanje tamošnjih mesnih pasmina (CAPUT, 1996). Boja simentalca varira od žute do crvene s bijelim šarama, a rep, glava i noge su bijele boje sa manjim pigmentiranim područjima. Pripadnici ove pasmine imaju srednje debelu, mekanu, djelomično pigmentiranu kožu (KATALINIĆ, 1994). Goveda su najčešće rogata, no uvozom homozigotno bezrožnih jedinki, najčešće bikova za rasplod, sve je veći udio bezrožnih goveda, pogotovo u pašnom uzgoju, napose zbog lakoće manipulacije i smanjenja međusobnog ozljeđivanja unutar stada. Krave karakterizira dobro vime, često asimetrične prednje spram stražnjih četvrti, a zahvaljujući dobroj mliječnosti pasmine, moguće je kasnije odbiće i veće težine pri odbiću od nekih drugih mesnih pasmina goveda.



Slika 1. Irski tip simentalčkog goveda ( Izvor: Irishsimmental.com)

### 2.2. Sustav krava-tele

Usljed nestabilnosti otkupnih cijena mlijeka i drugih poteškoća u sektoru mliječnog govedarstva u prošlom desetljeću, došlo je do pada ukupnog broja krava u Republici Hrvatskoj.

Iako je pad broja mliječnih krava konstantan sve do danas, u posljednjih nekoliko godina broj krava dojlja, odnosno onih držanih u sustavu krava-tele, pokazuje značajan porast (ANONYMUS, 2021). Prema Godišnjem izvješću za govedarstvo za 2021. godinu Centra za stočarstvo Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu, 2018. godine Hrvatska je imala 10 000 krava dojlja, dok ih u 2021. godini broji 40 000, što iznosi porast od 300%, ali i pokazuje da ovaj sektor ima ogroman potencijal koji je tek dijelom iskorišten. KNEŽEVIĆ i sur. (2005) navode kako je potrebno raščlaniti sustav krava-tele od krava dojlja. U sustavu krava-tele krave tijekom laktacije othranjuju u pravilu vlastito tele, dok u sustavu krava dojlja tijekom laktacije krave othranjuju jedno ili više usvojene teladi. Uzevši u obzir navedeno nazivlje, u Hrvatskoj većinu ovog sektora čini sustav krava-tele, dok se tradicionalni sustav krava dojlja napušta zbog zahtjevnosti te manjka radne snage, odnosno same isplativosti. Takav trend je prisutan i u Europi, iako mliječne farme u Francuskoj, pogotovo ekološki certificirane, ponovno sve češće koriste krave dojlje, koje po laktaciji othranjuju 2-4 teleta, uglavnom u svrhu remonta stada (BELLUZ i HELLEC, 2018).

Sustav krava-tele zasniva se uglavnom na pašnjačkim površinama, odnosno ispaši stoke tijekom većeg dijela godine, od proljeća do kasne jeseni. Tele je uz kravu do starosti 6–7 mjeseci, kada se odbija i odlazi u različite tehnološke sustave tova, u cilju proizvodnje mlade junetine („baby beef“, tehnologija - 12 do 18 mjeseci starosti) ili starijih kategorija govedeg mesa (24 - 36 mjeseci) te razne njihove izvedenice ovisno o uvjetima tržišta i zahtjevima potrošača (KNEŽEVIĆ i sur., 2005). Hrvatska ima snažan sektor tovnog govedarstva i uvozi velik broj teladi za tov, te je u 2021. godine uvezeno 150 658 teladi za tov (ANONYMUS, 2021).

Upravo zahvaljujući velikoj potražnji za tovnom teladi i niskoj cijeni zemljišta, u usporedbi s ostatkom EU, sustav krava-tele itekako ima perspektivu u Hrvatskoj. Uzgoj teladi za tov podrazumijeva korištenje mesnih pasmina goveda, ali i onih sa kombiniranim svojstvima. Hrvatska ima višestoljetnu tradiciju uzgoja goveda simentalke pasmine utemeljenu na kombiniranim proizvodnim svojstvima pasmine i tipa goveda koji je ustaljen na ovdašnjim područjima. Upravo zbog široke rasprostranjenosti pasmine i lake dostupnosti rasplodnog materijala, kao i tranzicije s mliječnog na mesno govedarstvo kroz koju su mnoge farme prošle, broj krava dojlja simentalke pasmine iznosi 43 285, što je 28,2% ukupnog broja krava u Hrvatskoj, odnosno 74,4% od ukupnog broja krava dojlja u Hrvatskoj (ANONYMUS, 2021).

### 2.3. Hematološki parametri

Referentne vrijednosti za goveda, kao i ostale domaće vrste, poznate su od ranije. Međutim, referentni intervali uglavnom su određivani u odraslih životinja, te je upitna njihova primjenjivost na neonatalnim i mlađim kategorijama životinja. Studije su pokazale postojanje značajne varijacije pojedinih vrijednosti uzrokovane procesom rasta (KNOWLES i sur., 2000). Primjer toga navode PANOUSIS i sur. (2018) u svojem istraživanju provedenom na 254 neonatalna teleta holstein pasmine, gdje bi koristeći referentne intervale za odrasle krave, došli do krivog zaključka kako je u 52% teladi prisutna hemokoncentracija. Do danas postoji ograničen broj istraživanja provedenih na neonatalnoj teladi iz sustava krava-tele (ADAMS i sur., 1992; EGLI i BLUM, 1998), a i u postojećima su određivane referentne vrijednosti samo određenih parametara. Valja s oprezom koristiti i postojeće referentne vrijednosti za telad, obzirom da se neki parametri značajno razlikuju i zbog samih sustava držanja i hranidbe, pa tako telad na mliječnim farmama, hranjena isključivo mlijekom ili mliječnom zamjenom imaju značajno niže vrijednosti crvenih krvnih stanica u odnosu na druge, konvencionalno držane i hranjene teladi (WOOD i QUIROZ-ROCHA, 2010). U istraživanju provedenom na 15 teladi pasmine norveško crveno govedo, BRUN-HANSEN i sur. (2006) navode kako je za parametre: broj eritrocita (RBC), prosječan volumen eritrocita (MCV), prosječnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitu (MCHC), širinu distribucije zapremnine eritrocita (RDW), broj trombocita (PLT) i broj limfocita (LYM) potrebno odrediti referentne intervale za specifične skupine, uzimajući različite parametre kao što su dob, spol i način držanja. Primjerice, ističu razlike u veličini eritrocita kao najizraženije u odnosu na odrasla goveda. Pri rođenju, u teladi je prisutno 60-90% eritrocita koji sadrže fetalni hemoglobin. Isti se tada zamjenjuju zapreminom manjim, odraslim oblikom eritrocita. Kompenzatorno, kako bi se očuvala razina hemoglobina, naglo raste broj crvenih krvnih stanica (WOOD, D. i QUIROZ-ROCHA, G. F., 2010).

U goveda postoji nekoliko specifičnosti po kojima se razlikuju od bijele krvne slike drugih vrsta. Prva značajka jest da odrasla goveda imaju omjer neutrofila i limfocita 1:2, što je značajno niže nego u drugih vrsta (ROLAND i sur., 2014), zatim goveda imaju relativno malu zalihu granulocita u koštanoj srži, što posljedično rezultira prolaznom neutropenijom u ranoj fazi upale, a tek po pokretanju granulocitopoeze dolazi do skretanja ulijevo i neutrofilije (WOOD i QUIROZ-ROCHA, 2010). Pregledom dosadašnje literature (BRUN-HANSEN i sur., 2006; PANOUSIS i sur., 2018; ROADKNIGHT i sur., 2021) utvrđeno je da u novorođene teladi u usporedbi sa starijim dobnim skupinama goveda postoje određene razlike u vrijednostima

hematoloških i biokemijskih parametara krvi, te posljedično tome i potrebu za određivanje eferentnih intervala za ovu dobnu skupinu. BRUN-HANSEN i suradnici (2006) nalaze u neonatalne teladi broj neutrofila značajno veći nego broj limfocita, dok već u drugom tjednu dolazi do inverzije, pa limfociti postaju najbrojniji. KNOWLES i suradnici (2000) u svojem istraživanju zaključuju kako već u prvih nekoliko dana vrijednosti broja neutrofila značajno opadaju. Uzevši u obzir opsežne promjene koje se događaju u prvim danima života zdravog teleta, vrijednosti neutrofila i limfocita te njihovi omjeri mogu uvelike varirati, pa bi stoga bilo krivo koristiti referentne intervale odraslih jedinki. Tako PANOUSIS i sur. (2018) navode omjer neutrofila i limfocita od 1.68 u klinički zdrave novorođene teladi, čime dovode u pitanje tvrdnju kako sve vrijednosti omjera veće od 1 znače upalu (GEORGE i sur., 2010). Broj monocita snižen je u prvih 4-5 dana spram odraslih jedinki (BRUN-HANSEN i sur., 2006). Moguć je nalaz i znatno izraženijeg pada monocita u prvim danima života, što je protumačeno unosom kolostralnih leukocita i makrofaga (WATSON, 1980), pa tako PANOUSIS i sur. (2018) nalaze 24 puta manje monocita u teladi holstein pasmine spram novorođene teladi norveškog crvenog goveda (BRUN-HANSEN i sur., 2006). Dostupna istraživanja usuglašena su oko vrijednosti eozinofila u ove skupine teladi, pa tako vrijednosti nikad ne prelaze 1%, što je sukladno podatku da se broj eozinofila udvostruči tek nakon 6 mjeseci starosti goveda, naravno ukoliko su jedinke slobodne od parazita (WOOD i QUIROZ-ROCHA, 2010).

#### 2.4. Biokemijski parametri

Sve je češća upotreba biokemijskih pretraga u farmskih životinja kao pomoćnog alata u postavljanju i potvrđivanju dijagnoze, odnosno kao prognostičkog pokazatelja u praćenju određenih bolesti (OTTER, 2013). Korištenje kurirskih službi pri slanju uzoraka u veterinarski laboratorij, ali i opremljenost veterinarskih ambulanti automatiziranim i prilagođenim analizatorima povećava dostupnost biokemijskih pretraga u veterinarskoj medicini, pri čemu u potonjem slučaju valja naglasak staviti na sustave kontrole kvalitete čije provođenje je neophodno kako bi nalazi bili točni i pouzdani (ROUSSELL i ROUSSEL, 2007). Ustaljeno je korištenje određenih biokemijskih pokazatelja u sklopu izrade metaboličkog profila, najčešće u mliječnih krava u laktaciji, kako bi se nadzirala najčešće energetska bilanca ili deficiti minerala i mikroelemenata. Upravo iz tog razloga, referentne vrijednosti biokemijskih pokazatelja koje pronalazimo u literaturi ne mogu se koristiti kao univerzalne, obzirom da postoje značajne razlike uzevši u obzir dob, spol, stadij proizvodnje, te radi li se o mliječnoj proizvodnji ili sustavu krava-tele. Zbog toga, potrebno je definiranje intervala vrijednosti za

specifične skupine na koje se želimo referirati (ROUSSELL i ROUSSEL, 2007), između ostalog i neonatalnu telad.

Boravak neonatalnog teleta s majkom omogućuje unos većeg broja manjih obroka kolostruma, što se odražava kroz stabilnu razinu glukoze i izostanak hiperglikemije u prvim danima, za razliku od teladi na mliječnim farmama (EGLI i BLUM, 1998). Moguće je koristiti biokemijske pokazatelje u svrhu praćenja prijenosa kolostralne imunosti, s obzirom da se zna kako serum tek rođene teladi ne sadrži gama globuline, no njihova razina u krvi raste već nekoliko sati po ingestiji kolostruma. Sposobnost apsorpcije imunoglobulina opada do 36 sati starosti, kada u potpunosti prestaje (WEAVER i sur., 2000). Uz razinu glukoze u krvi, jedan od parametara koji nalazi svoju primjenu u neonatalne i mlade teladi jest i beta-hidroksibutirat (BHB), pokazatelj negativne energetske ravnoteže te metabolizma masti, a samim time i mjerilo dobrobiti, pogotovo u velikim sustavima mliječne proizvodnje (ROADKNIGHT i sur., 2021). Kada govorimo o enzimima, od najvećeg je značaja gama-glutamiltransferaza (GGT) u serumu neonatalne teladi, koja se pokazala kao dobar kvalitativni indikator unosa kolostruma, zahvaljujući tome što apsorpcijom istog enzima iz kolostruma, dolazi do višestrukog povećanja u serumu u prvim danima života teleta (BRAUN i sur., 1982). Neki autori visoku razinu kreatin kinaze odmah po teljenju dovode u vezu s mogućim ozljedama prilikom poroda i prolaska kroz porođajni kanal (EGLI i BLUM, 1998; KNOWLES i sur., 2000). Nespecifičan, ali koristan za određivanje starosti ozljede mišićja jest i enzim aspartat-transaminaza (AST) čije je vrijeme poluživota najmanje 20h, za razliku od CK koji se u serumu zadržava puno kraće, oko 4h (ROUSSELL i ROUSSEL, 2007). Kao pokazatelji funkcije bubrega, najčešće se koriste urea i kreatinin, pri čemu je u neonatalne teladi karakteristična značajno viša razina kreatinina u prvih 24h, nakon čega pada ispod referentnih granica za odrasle životinje, najvjerojatnije zbog porasta bubrežnog klirensa (EGLI i BLUM, 1998; KNOWLES i sur., 2000; MOHRI i sur., 2007). Najčešće određivani minerali u teladi su natrij, klor, magnezij, kalij, kalcij i fosfor (ROADKNIGHT i sur., 2021), no neki autori (KNOWLES i sur., 2000) pak određuju samo željezo ili kombinaciju pojedinih navedenih parametara (MOHRI i sur., 2007).

Iako su dostupna istraživanja u kojima su određivani biokemijski parametri zdrave teladi (LUMSDEN i sur., 1980; KNOWLES i sur., 2000; MOHRI i sur., 2007; ROADKNIGHT i sur., 2021), najčešće se radilo o pojedinim parametrima, a uz to samo je nekoliko dostupnih izvora koji prikazuju vrijednosti za goveda mesnog tipa (EGLI i BLUM, 1998; KNOWLES i sur., 2000), pri čemu samo je jedno istraživanje (EGLI i BLUM, 1998) provedeno na simentalskoj pasmini, na malom broju životinja (n=19). Kako su navedena istraživanja provedena s različitim ciljevima, obuhvaćeni su razni biokemijski pokazatelji. Kako bi bili od značaja u

veterinarskoj dijagnostici, izbor parametara koje analiziramo također mora biti svrsishodan, ravnajući se uz to prema anamnezi i provedenom kliničkom pregledu (BOUDA i JAGOŠ, 1984).



Slika 2. Simentalske krave s teladi na ispaši (autorska fotografija)



### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Prikupljanje uzoraka

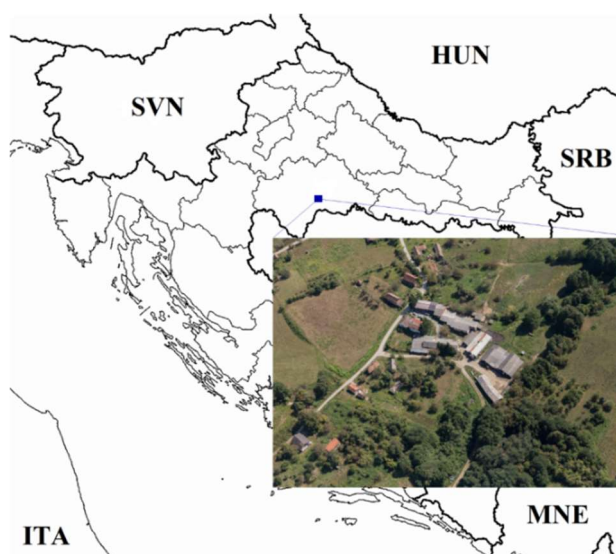
OPG Džakula smješten je u selu Sjeverovac, na zapadnom dijelu Općine Sunja, Sisačko-moslavačka županija (slika 3.). Gospodarstvo se nalazi na 138 m nadmorske visine, a obuhvaća otprilike 200 ha pašnjačkih i oraničnih površina na području sela Sjeverovac, Kladari, Velika Gradusa, Mala Gradusa. Primarne djelatnosti su uzgoj goveda u sustavu krava-tele te ovčarstvo, a uz to na gospodarstvu se uzgajaju i konji pasmine hrvatski posavac te magarci primorsko dinarske pasmine.

Tokom proljeća, ljeta i jeseni, goveda se napasuju na brdskim i nizinskim pašnjacima. Zimska se hranidba sastoji od sijena livadnih i sijanih trava te sjenaže livadnih i sijanih trava, graška i tritikala, lucerne i djetelinsko-travne smjese. Obzirom da je gospodarstvo ekološki certificirano i nalazi se u sustavu nadzora, sva krmiva su proizvedena na vlastitim površinama. Izuzetak tome čine mineralno-vitaminski blokovi za lizanje i krupna morska sol, koji su govedima dostupni *ad libitum* tijekom cijele godine.



Slika 3. Krava s novorođenim teletom u pojedinačnom odjeljku, na dubokoj stelji (autorska fotografija)

Raspored teljenja djelomično je sezonski, na način da se većina teljenja odvija u razdoblju od ožujka do lipnja, zbog lakše prodaje teladi, ali teljenja su prisutna tokom cijele godine, izuzev prosinaca i siječnja. Stado je uvijek podijeljeno u manje skupine, obzirom na stadij proizvodnje u kojem se goveda nalaze. Na gospodarstvu se provodi gotovo isključivo prirodni pripust licenciranim bikovima simentalске pasmine, iz uvoza ili vlastitog uzgoja.



Slika 4. Položaj OPG-a Džakula u Sisačko-moslavačkoj županiji. Karta je dostupna na poveznici: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Croatia\\_location\\_map.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Croatia_location_map.svg) (NordNordWest; CC BY-SA 3.0; <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>).

### 3.2. Kriteriji odabira životinja

Uzorci korišteni za izradu ovog rada prikupljeni su u razdoblju od veljače do srpnja 2022. godine na Obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu Džakula. Uzorkovana je krv ukupno 51 teleta (28 muških i 23 ženska) simentalске pasmine, starosti 1-5 dana (1 dan, n=4; 2 dana, n=13; 3 dana, n=18; 4 dana, n=8; 5 dana, n=8). Majke teladi su primiparne i multiparne plotkinje (16 primiparnih i 33 multiparne), a sva teljenja, uz iznimku jednog, protekla su bez pomoći ili uz blagu fizičku pomoć pri ekstrakciji. Dvije krave otelile su blizance. Telad je od rođenja boravila uz majku, na pašnjaku ili u pojedinačnim odjeljcima objekta za teljenje. Svako tele klinički je pregledano od strane veterinarara ili studenta završne godine studija veterinarske medicine pod nadzorom veterinarara, pri čemu su učinjeni: određivanje vrijednosti trijasa (temperatura, bilo, disanje) auskultacija srca i pluća, pregled vidljivih sluznica i limfnih čvorova te inspekcija i palpacija ostatka pupčanog tračka. Odstupanje od fizioloških vrijednosti jednog ili više navedenih parametara isključivalo je telad iz skupine za uzimanje uzoraka. Druge informacije i napomene vezane uz pojedinu telad, a koje bi mogle utjecati na rezultate ovog istraživanja, također su evidentirane u pripadajućem obrascu.

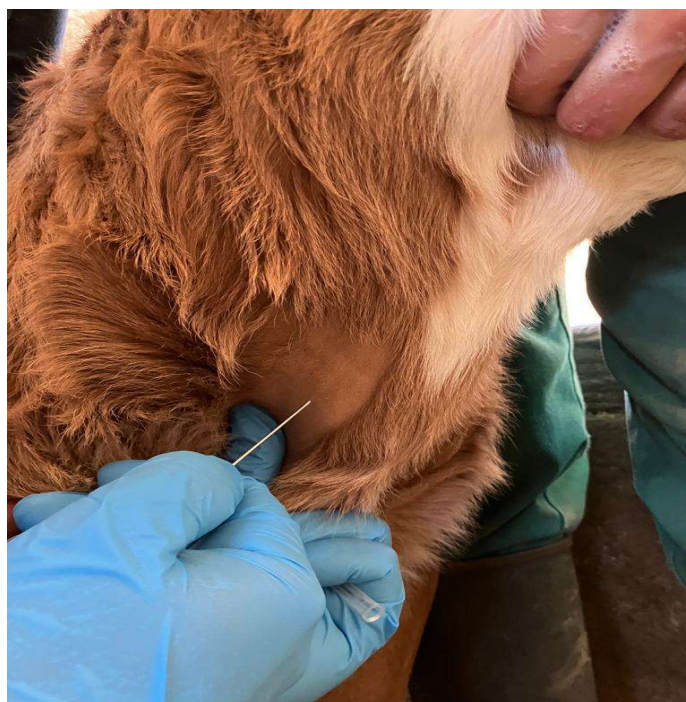
### 3.3. Uzimanje uzoraka teladi

Svakom od ukupno 51 teleta krv je uzorkovana u stojećem položaju, pri manualnoj fiksaciji, u neposrednoj blizini majke te neposredno prije provođenja farmaskog protokola obaveznog označavanja, kako bi razinu stresa sveli na najnižu moguću. Krv je sakupljena venepunkcijom *v. jugularis* koristeći 18G 38 mm iglu, zatvorenim sustavom u epruvete s podtlakom s gelom i aktivatorom grušanja (VACUTUBE®, LT Burnik, Ltd; Vodice, Slovenija) za biokemijske pretrage i u epruvete s podtlakom i K3-EDTA antikoagulansom (VACUTUBE®, LT Burnik, Ltd; Vodice, Slovenija), za hematološke pretrage. Nakon miješanja krvi s antikoagulansom, epruvete za hematološke pretrage pohranjene su u prijenosni hladnjak, na +4°C, te unutar 8 sati od uzorkovanja dostavljene u laboratorij. Uzorci namijenjeni biokemijskim pretragama ostavljeni su 30 minuta po uzorkovanju na sobnoj temperaturi kako bi došlo do zgrušavanja, zatim su isti centrifugirani 10 minuta pri 1600 G. Nakon toga, uzorci seruma podijeljeni su u alikvote od 500 mikrolitara i smrznuti na -70°C do provođenja pretraga.

### 3.4. Analiza uzoraka

Hematologija: Broj eritrocita (RBC), koncentracija hemoglobina (HB), hematokrit (HCT), prosječna zapremina eritrocita (MCV), prosječni hemoglobin u eritrocitu (MCH), prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC), širina distribucije zapremine eritrocita (RDW), broj trombocita (PLT), broj leukocita (WBC) određeni su koristeći uređaj Vet abc Plus+, Horiba ABX Diagnostics, Montpellier, Francuska. Diferencijalna krvna slika, broj neutrofila (NEU), limfocita (LYM), monocita (MON), bazofila (BAS) i eozinofila (EOS), određena je brojanjem ukupno 100 stanica u razmazu obojanom po May-Grünwald Giemsi, koristeći svjetlosni mikroskop s imerzijom, pri povećanju 400x.

Biokemija: Aspartat-aminotransferaza (AST), gama-glutamilttransferaza (GGT), glutamat dehidrogenaza (GLDH), laktat dehidrogenaza (LDH), kreatin kinaza (CK), beta-hidroksibutirat (BHB), glukoza (GLUK), bilirubin (BIL), urea (UREA), kreatinin (CREA), ukupni proteini (UP), albumini (ALB), kolesterol (CHOL), trigliceridi (TRIG), kalcij (Ca), klor (Cl), magnezij (Mg), natrij (Na), kalij (K) i fosfor (P) određeni su analitičkim uređajem ArchitectPlus c4000, Abbot, Illinois, SAD.



Slika 5. Venepunkcija v *jugularis dextrae* teleta u stojećem položaju, pri manualnoj fiksaciji (Izvor: autorska slika)

### 3.1. Statistička obrada

Statistička obrada podataka provedena je prema uputama Američkog koledža veterinarskih patologa (FRIEDRICHS i sur., 2012). Za obradu podataka je korišten statistički program *MEDcalc*, verzija 20.116. Podaci su prvo testirani na ekstremne vrijednosti (outliere) metodom po Tukey (FRIEDRICHS i sur., 2012), te su sve ekstremne vrijednosti nakon provjere u histogramu uklonjene iz podataka prije statističke obrade. Za statističku obradu korištena je „robustna metoda“ koja koristi iterativni proces. Za određivanje 90%tnog intervala pouzdanosti korištena je „bootstrap metoda“ (FRIEDRICHS i sur., 2012).

Izrada ovog diplomskog rada odobrena je od strane Fakultetskog vijeća Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na 8. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća u akademskoj godini 2021/2022., održanoj dana 16. ožujka 2022., a na prijedlog Povjerenstva za etiku u veterinarstvu.

#### 4. REZULTATI

Referentne vrijednosti za hematološke i biokemijske pokazatelje neonatalne teladi simentalne pasmine prikazani su u Tablicama 1. i 2. Od početnih 53 teladi, jedna je životinja eliminirana iz uzorka zbog nalaza kliničke pretrage koji je upućivao na bolest, te je jedan uzorak krvi odbačen zbog pojave krvnog ugruška pri transportu u laboratorij. Dvije krave otelile su blizance, no sva 4 teleta su obrađivana kao pojedinačni uzorci.

Tablica 1. Hematološke referentne vrijednosti za simentalnu telad starosti 1-5 dana, opisna statistika, 90%tni interval pouzdanosti za vrijednosti donje i gornje granice

	Najniža vrijednost	Najviša vrijednost	Median	Donja granica	90% CI	Gornja granica	90% CI
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	5,70	9,90	8,00	5,87	5,47-6,30	10,09	9,70-10,45
HB (g/L)	72,00	116,00	94,00	71,07	67,11-75,38	116,58	112,02-120,40
HCT (%)	24,00	40,00	31,00	23,10	21,79-24,84	40,48	38,67-41,83
MCV (fL)	36,00	45,00	40,00	35,17	34,38-36,12	43,77	42,91-44,74
MCH (pg)	11,00	13,00	12,00	10,44	10,18-10,60	13,45	13,32-13,71
MCHC (g/L)	275,00	316,00	297,00	278,98	275,34-282,62	314,14	310,50-317,78
PLT ( $\times 10^9/L$ )	206,00	996,00	545,00	154,93	84,14-233,11	970,43	871,69-1051,80
WBC ( $\times 10^9/L$ )	4,00	10,90	7,30	3,66	3,06-4,30	11,07	10,28-11,76
NESEG %	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	
SEG %	29,00	79,00	47,50	22,18	16,09-26,83	74,13	68,35-79,70
LYM %	26,00	80,00	49,00	24,71	19,81-29,63	71,87	67,45-77,19
MON %	0,00	8,00	2,00	0,00		6,21	4-67-7,075
EOS %	0,00	2,00	0,00	0,00		2,00	
BAS %	0,00	2,00	2,00	0,00		2,00	

Tablica 2. Biokemijske referentne vrijednosti za simentalsku telad starosti 1-5 dana, opisna statistika, 90%tni interval pouzdanosti za vrijednosti donje i gornje granice

	Najniža vrijednost	Najviša vrijednost	Median	Donja granica	90% CI	Gornja granica	90% CI
AST (U/L)	23	67	40,00	19,91	16,31-24,06	62,48	56,95-66,95
GGT (U/L)	40	2165	449,77	61,30	40,53-93,70	3762,00	2645,25-5688,80
GLDH (U/L)	4	59	16,00	4,72	3,71-6,03	53,96	41,91-69,20
LDH (U/L)	544	1160	704,00	506,87	478,80-548,44	998,60	920,29-1080,88
CK (U/L)	24	333	54,00	15,33	11,87-19,71	231,85	159,56-313,51
BHB (mmol/L)	0,04	0,14	0,08	0,03	0,02-0,04	0,13	0,12-0,14
GLUK (mmol/L)	3,54	8,7	6,46	4,00	3,47-4,54	9,08	8,64-9,62
BIL (μmol/L)	1,62	11,6	4,63	1,70	1,40-2,06	12,70	10,37-15,48
UREA (mmol/L)	1,1	7,5	503,75	1,20	0,92-1,59	10,59	8,37-12,60
CREAT (μmol/L)	50	108	79,00	50,81	45,17-56,45	104,74	99,1-110,38
UP (g/L)	44	92	70,00	47,73	42,19-52,38	93,05	88,57-96,63
ALB (g/L)	19	25	22,00	18,89	18,17-19,56	25,36	24,80-25,98
GLOB (g/L)	22	70	48,50	24,33	19,24-29,77	71,24	66,77-74,94
CHOL (mmol/L)	0,84	2,91	1,75	0,80	0,62-1,00	2,57	2,39-2,74
TRIG (mmol/L)	0,24	1,47	0,60	0,23	0,19-0,28	1,59	1,35-1,925
Ca (mmol/L)	2,32	3,19	2,86	2,39	2,32-2,49	3,32	3,22-3,40
Cl (mmol/L)	95	102	98,00	94,10	93,31-94,92	101,67	100,91-102,51
Mg (mmol/L)	0,64	1,09	0,80	0,60	0,57-0,64	1,01	0,97-1,05
Na (mmol/L)	136	143	139,00	135,58	134,82-136,28	143,08	142,31-134,88
K (mmol/L)	5	6,2	5,50	4,90	4,81-5,01	6,27	6,08-6,41
P (mmol/L)	1,87	3,32	2,55	1,85	1,72-1,99	3,27	3,13-3,39

Tablica 3. Hematološke referentne vrijednosti za neonatalnu simentsku telad držanu u sustavu krava-tele, referentne vrijednosti za neonatalnu holstein telad, telad hanwoo pasmine, i za telad križanih mliječnih pasmina te referentne vrijednosti za odrasla goveda Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu (Laboratorij VEF-a).

	Simentska telad u sustavu krava-tele	Holstein telad (Panousis i sur., 2018)	Telad križanaca mliječnih pasmina (Roadknight i sur.,2021)	Hanwoo telad (Ui-Hyung i sur., 2021)	RV za goveda laboratorija VEF-a
Starost	1-5 dana	1-9 dana	5-12dana	6h-28tj**	
Broj životinja	51	254	135	70(700 uzoraka)**	/
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	5,47-9,70	5,16-10,59	6,2-11,9	6,8-14,6	5-10
HB (g/L)	71,07-116,58	56,5-135,8	73-148	65-135	80-150
HCT (%)	23,1-40,48	17-39,8	23-45	20,4-39,7	24-46
MCV (fL)	35,17-43,77	28,7-41,2	33,1-44,2	25,9-35,7	40-60
MCH (pg)	10,44-13,45	10,1-14,2	11-14	/	11-17
MCHC (g/L)	278,98-314,14	301,6-376,6	309-346	257-392	300-360
RDW (%)	/	18,6-27,6	25,5-34,1	21,3-30	/
PLT ( $\times 10^9/L$ )	154,93-970,43	213,8-1251,0	238-1213	166-918	100-800
MPV (fL)	/	5,38-11,59	6,0-7,3	3,9-6,8	/
WBC ( $\times 10^9/L$ )	3,66-11,07	3,84-19,55	4,8-16,3	4,6-16,4	4-12
SEG%	22,18-74,13	/	/	/	/
NEUTRO %	/	/	/	/	/
LIMFO %	24,71-71,87	/	/	/	53-
MONO%	0-6,21	/	/	/	0-3
EOS %	0-2	/	/	/	/
BAS %	0-2	/	/	/	/
NEU ( $\times 10^9/L$ )	/	0,82-14,38	0,9-13	1,9-10,2	
LYM ( $\times 10^9/L$ )	/	1,43-8,16	0,1-8,4	0,9-8,9	/
MON ( $\times 10^9/L$ )	/	0,02-1,25	0-1,7	0,09-0,84	/
EOS ( $\times 10^9/L$ )	/	0,03-1,19	0-0,4	0,04-1,63	/
BAS ( $\times 10^9/L$ )	/	0,02-0,22	0-0,3	0,00-0,11	/



Tablica 4. Referentne vrijednosti biokemijskih parametara za neonatalnu simentalsku telad držanu u sustavu krava-tele, referentne vrijednosti za neonatalnu holstein telad, telad križanih mliječnih pasmina te referentne vrijednosti za odrasla goveda Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu (Laboratorij VEF-a).

	Simentalska telad u sustavu krava-tele	Telad križanci mliječnih pasmina (Roadknight i sur.,2021)	Holstein muška telad (Yu i sur., 2019)	RV za goveda laboratorija VEF-a
Starost	1-5dana	5-12dana	24h	
Broj životinja	51	129	30	/
AST (U/L)	19,91-62,48	25-51	49,6-133,4	-123
GGT (U/L)	61,30-3762	32-1037	-3201,8	-38
GLDH (U/L)	4,72-53,96	5-60	/	/
LDH (U/L)	506,87-998,60	/	/	692-1445
CK (U/L)	15,33-231,85	46-326	/	-94
BHB (mmol/L)	0,03-0,13	0-0,59	/	/
GLUK (mmol/L)	4-9,08	2,8-6,9	4,18-10,74	2,5-4,2
BIL (μmol/L)	1,70-12,70	/	/	/
UREA (mmol/L)	1,2-10,59	1,6-7,7	0,51-1,81	4,1-5,8
CREAT (μmol/L)	50,81-104,74	50-109	51,7-91,7	-133
UP (g/L)	47,73-93,05	45-82	45,8-75,2	60-80
ALB (g/L)	18,89-25,36	27-36	/	30-36
GLOB (g/L)	24,33-71,24	14-53	/	/
CHOL (mmol/L)	0,80-2,57	0,9-3,6	1,16-3,75	2,3-4,7
TRIG (mmol/L)	0,23-1,59	0,1-1,0	0,63-5,21	0
Ca (mmol/L)	2,39-3,32	2,47-3,15	/	2,5-2,9
Cl (mmol/L)	94,10-101,67	96-106	/	/
Mg (mmol/L)	0,60-1,01	0,8-1,1	/	0,7-1
Na (mmol/L)	135,58-143,08	130-148	/	132-152
K (mmol/L)	4,90-6,27	4,75-6,75	/	3,9-5,8
P (mmol/L)	1,85-3,27	2,3-3,2	/	1,6-2,3

## 5. RASPRAVA

Ovo je, prema našem saznanju, prvo istraživanje referentnih vrijednosti u zdrave teladi simentalske pasmine držane u sustavu krava-tele. Istraživanje je provedeno na 51 uzorku krvi teladi.

Mnoga istraživanja koja se bave hematološkim i biokemijskim vrijednostima teladi mesnih pasmina, držanoj u istim ili sličnim ekstenzivnim uvjetima, prate promjene u vrijednostima pojedinih pokazatelja kroz vrijeme, što prikazuju isključivo grafički (KNOWLES i sur., 2000; BRUN-HANSEN i sur., 2006; MOHRI i sur., 2007). Klinička primjenjivost spomenutih istraživanja je otežana jer rezultate ne izražavaju kao referentni interval, a ujedno ih je nemoguće usporediti s rezultatima našeg istraživanja.

U tablicama 3. i 4., poredane po stupcima nalaze se referentne vrijednosti hematoloških i biokemijskih parametara za telad, i to rezultati našeg istraživanja i svih relevantnih istraživanja iz recentnijih publikacija te referentne vrijednosti za odrasla goveda iz Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu.

Broj životinja uključenih u naše istraživanje nešto je manji nego u radovima PANOUSISA i sur. (2018), ROADKNIGHTA i sur. (2021) i UI-HYUNG i sur. (2021). Međutim, u svim spomenutim istraživanjima uzorkovana je telad sa velikih farmi u intenzivnoj proizvodnji. Uzorak u našem istraživanju je veći nego kod EGLI i BLUM (1998) i MORITTU i sur., (2021) koji su također istraživali telad simentalske pasmine.

Važno je pri usporedbi s navedenim istraživanjima imati na umu kako su uzorkovanja provedena u različitim vremenskim odmacima od obroka, ROADKNIGHT i sur. (2021) navode kako je to čak 14-25h od zadnjeg obroka, što uvelike dovodi u pitanje praktičnu primjenjivost ovih referentnih vrijednosti za neke parametre, ali i pokazuje ekstremno kršenje dobroti u uzgoju na kojem je provedeno istraživanje. PANOUSIS i sur., (2018) i YU i sur., (2019) uzorkovali su jedan do dva, odnosno četiri sata po jutarnjem hranjenju. EGLI i BLUM (1998) uzorkovali su krv teladi koja je boravila s majkama, uvijek u jutarnjim satima, 8-12 h. U našem istraživanju uzorkovana je telad starosti 1 – 5 dana koja je držana uz majku, a hranjena je slobodnim sisanjem po volji (*ad libitum*). Krv je uzorkovana u vremenu od 7-16h, usporedno s zootehničkim i veterinarskim zahvatima na farmi, u cilju izbjegavanja izlaganja životinja nepotrebnom stresu.

Uzevši u obzir slična istraživanja, postoje određene razlike pri postupanju sa uzorcima od uzorkovanja do laboratorijske analize. Najveću razliku čine postupanje s uzorcima seruma po centrifugiranju, odnosno EGLI i BLUM (1998) i MORITTU i sur. (2021) navode kako su

uzorci smrzavani na -20°C, te obrađivani skupno, slično kao u našem istraživanju, nasuprot tome u istraživanju ROADKNIGHT i sur., (2021) uzorci su analizirani unutar 10 sati od uzorkovanja.

Referentne vrijednosti broja eritrocita poklapaju se s referentnim vrijednostima laboratorija Veterinarskog fakulteta, dok PANOUSIS i sur. (2018) navode nešto širi RI, što je i za očekivati obzirom da navedeni rad obuhvaća širu starosnu skupinu, do 9. dana života.

Donja i gornja granica RBC viša je i u teladi holstein pasmine, starosti 5-12 dana (ROADKNIGHT i sur., 2021). Hanwoo telad starosti 6 h-28 tj. (UI-HYUNG i sur., 2021) također ima višu vrijednost gornje granice broja eritrocita, čak za 50%. Uzevši u obzir navedeno, rezultati našeg rada ne slažu se s tvrdnjom WOOD i QUIROZ-ROCHA (2010) kako mesne pasmine imaju veći broj eritrocita.

Prosječan volumen eritrocita (MCV), uz blaga odstupanja, sukladan je vrijednostima drugih autora (PANOUSIS i sur., 2018; ROADKNIGHT i sur., 2021; UI-HYUNG i sur., 2021). Međutim, RV Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu imaju 50% veću gornju granicu RV za MCV i nešto veću donju granicu u odnosu na naš rad.

Za vrijednosti HB, HCT, MCH i MCHC postoje manja odstupanja vrijednosti od dostupnih RV za telad (PANOUSIS i sur., 2018; ROADKNIGHT i sur., 2021; UI-HYUNG i sur., 2021). Ove vrijednosti uklapaju se unutar RV za odrasla goveda Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, uz nešto nižu donju granicu za HB i MCHC u teladi.

Donja granica RV za broj trombocita u neonatalne simentalske teladi nešto je niža u odnosu na ostale dostupne donje granice RV za neonatalnu i mladu telad (PANOUSIS i sur., 2018; ROADKNIGHT i sur., 2021; UI-HYUNG i sur., 2021). Gornja granica RI značajno je niža u našem istraživanju nego u istraživanjima provedenim na teladi iste ili slične dobi čiji autori iznose gornju granicu RI za broj trombocita oko 30% višu nego u ovom istraživanju (PANOUSIS i sur., 2018; ROADKNIGHT i sur., 2021).

Istraživanja biokemijskih parametara u teladi su relativno rijetka, pa su tako YU i sur., (2019) odredili RV u muške holstein teladi stare 30ak sati, na 30 životinja. ROADKNIGHT sa suradnicima (2021) iznosi referentne intervale za miješane mliječne pasmine Australije dobivene na 129 teladi oba spola u dobi 5-12 dana. Rezultate ovog istraživanja usporediti ćemo sa rezultatima YU i sur. (2019) i ROADKNIGHT sa suradnicima (2021).

Referentne vrijednosti za GGT u našem su istraživanju 61,3 do 3762 U/L i značajno odstupaju od vrijednosti u drugim radovima. Kako je GGT dobar kvantitativni pokazatelj unosa

kolostruma u neonatalne teladi (BRAUN, 1982) razumljive su značajno više vrijednosti u teladi u odnosu na odrasle životinje. Vrijednosti su najviše neposredno nakon sisanja kolostruma i s vremenom značajno opadaju, pa tako najviša razina GGT-a u mliječne teladi stare 5 dana ne prelazi 1037 U/L (ROADKNIGHT i sur., 2021). Gornja granica referentnog intervala u muške teladi starosti 30ak sati je 3202 U/L što je značajno niže nego u našem istraživanju gdje imamo telad staru 1-5 dana a gornja granica referentnog intervala je 3762 U/L. Prema tome, telad u našem istraživanju u usporedbi sa podacima za drugu telad u tablici 4, imala je najviši GGT, što pretpostavlja i najuspješniji prijenos kolostralne imunosti. Potrebno je dodatno istražiti je li povišen GGT pasminska karakteristika simentalne pasmine goveda ili je posljedica upravljanja zdravljem životinja, dobre farmske prakse i nekih drugih faktora koje bi bilo moguće implementirati i u druge modele držanja teladi.

GLDH se koristi kod procjene hepatocelularnog oštećenja ali u dostupnim radovima prijavljene su RV u samo jednom istraživanju (ROADKNIGHT i sur., 2021), pri čemu su donja i gornja granica referentnih vrijednosti u našem radu nešto niže nego u tom istraživanju. Blaga odstupanja u RV mogu se objasniti razlikom u laboratorijskoj obradi, ali također treba imati na umu i razliku u pasmini i tipu držanja životinja. RV za LDH u našem istraživanju manje su nego RV za odrasla goveda, naročito gornja granica koja je u našem istraživanju 998,6 U/L za razliku od RV za odrasla goveda u našem laboratoriju koja iznosi 1445 U/L.

Rezultat našeg istraživanja, slično kao i istraživanja ROADKNIGHT i suradnika (2021) donosi znatno višu gornju granicu za CK nego kod odraslih goveda. Nažalost, EGLI i BLUM (1998) ne navode referentne vrijednosti, no koristan je podatak iz njihovog istraživanja o prosječnoj vrijednosti CK u 19 neonatalne simentalne teladi koja je iznosila  $671.8 \pm 119.9$  U/L. Ovakva višestruka razlika u neonatalne teladi iste pasmine moguća je zbog traume tkiva prilikom poroda, obzirom da EGLI i BLUM (1998) navode kako su imali 53% teških teljenja (pomoć 2 ili više odrasle osobe prosječne snage), dok je u ovom radu ta vrijednost ispod 2%.

Tek odnedavno se kao pokazatelj dobrobiti novorođene teladi koristi BHB (SUAREZ-MENA i sur., 2017). Gornja granica referentnih vrijednosti u našem istraživanju je 0,13 mmol/l što je 4 puta manje nego u istraživanju holstein teladi hranjene jednom ili dva puta dnevno (ROADKNIGHT i sur., 2021). Ovaj rezultat prema SUAREZ-MENI i suradnicima (2017) govori o farmi na kojoj je uzorkovana telad, koja je sukladno tome primjer suvremenog načina držanja goveda u sustavu krava-tele, gdje se evidentno poštuju sva načela dobre farmske prakse vezana uz brigu i postupanje s neonatalnom teladi i njihovim majkama.

Raspon referentnih vrijednosti glukoze u krvi znatno se mijenja u prvih tjedan do dva starosti teladi (WOOD i QUIROZ-ROCHA, 2010), a kako istraživanja s kojima se

uspoređujemo nisu rađena na identičnoj starosnoj skupini, nemoguće je napraviti preciznu usporedbu. Usporedbom RV za glukozu iz različitih istraživanja u tablici 3. vidljivo je kako i gornja i donja granica RV za GLUK pokazuju tendenciju pada s porastom dobi životinje, te su najniže kod odraslih jedinki. Značajno niže vrijednosti glukoze u radu ROADKNIGHTA i sur. (2021) je osim nešto starijoj dobi teladi (5-12 dana), zasigurno potrebno pripisati i trajanju posta jer telad prije uzorkovanja nije hranjena 14-25 sati, za razliku od teladi u našem istraživanju koja siše *ad libitum* i teladi u radu YU i suradnika (2019) gdje je uzorkovanje rađeno 1-4 sata nakon hranjenja.

Bilirubin u dostupnim istraživanjima nije naveden u sklopu biokemijskih pokazatelja za koje su određivani referentni intervali, a prosječna se vrijednost od 5  $\mu\text{mol/L}$ , koju u tjedan dana stare simentalske teladi nalaze EGLI i BLUM (1998) nalazi unutar referentnog intervala koji smo i mi utvrdili. Odrasle životinje imaju značajno niže RV za bilirubin (Tablica 3.) Viša razina bilirubina u serumu teladi posljedica je razgradnje fetalnog hemoglobina, ali zbog niže razine transportnog proteina ligandina se isti sporije izlučuje. Ligandin je zadužen za transport bilirubina u hepatocite gdje se konjugira i kao konjugirani bilirubin se izlučuje iz tijela (TENNANT, 1997). Nakon 14 dana starosti su vrijednosti bilirubina teladi unutar RV za odrasla goveda (KLINKON i JEŽEK, 2012).

Donja granica RV ukupnih proteina u ovom radu podjednaka je s preostalim dostupnim RV za neonatalnu telad (YU i sur., 2019; ROADKNIGHT i sur., 2021), dok je za odrasla goveda, prema Hematološkom i biokemijskom laboratoriju Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu ta vrijednost nešto viša. Kod gornje granice ukupnih proteina, veće su razlike među dostupnim vrijednostima (YU i sur., 2019; ROADKNIGHT i sur., 2021), pri čemu je najviša gornja granica u teladi iz našeg istraživanja. Serumaska razina ukupnih proteina u teladi je neposredno nakon poroda više nego upola manja nego kod krava, i ta vrijednost poraste nakon sisanja kolostruma ali uvijek je niža nego kod odraslih goveda (KLINKON i JEŽEK, 2012), a slične vrijednosti navode i KRAFT I DÜRR (1999). RV za ukupne proteine u našem istraživanju više su od svih RV iz tablice 3., uključujući i vrijednosti za odrasla goveda. LOMBARD i suradnici (2020) preporučaju korištenje serumske razine ukupnih proteina kao pokazatelja uspješnosti transfera pasivne imunosti, te razinu ukupnih proteina u serumu višu od 62 g/l smatraju indikatorom odličnog transfera pasivne imunosti.

Gornja i donja granica RV albumina ovog rada niži su od vrijednosti koje objavljuju ROADKNIGHT i sur. (2021). RV iz njihovog rada nešto su niže donje vrijednosti i identične gornje granice kao RV za odrasla goveda Hematološko biokemijskog laboratorij Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu.

Serumska razina albumina u serumu nakon sisanja kolostruma padne, a razina ukupnih proteina značajno poraste (STEINHARDT i sur., 1993). RV u našem istraživanju za albumine su očekivano niže nego kod odraslih goveda (Tablica 3.) jednako očekivano su i značajno niže nego kod teladi stare 5-12 dana, tako da je razlika između RV za albumine između skupine teladi stare 1-5 dana i teladi stare 5-12 dana čak i prenaplašena jer je gornja granica kod prve skupine niža od donje granice kod druge skupine.

RV za globuline su u ovom istraživanju značajno šireg intervala nego u radu ROADKNIGHT i sur. (2021), i s gotovo 50% višom gornjom granicom.

Razlika u serumskoj razini proteina direktna je posljedica više razine globulina u serumu teladi u našem istraživanju. Smatramo da je tako velika razlika posljedica dijelom i pasminskih razlika ali jednako tako i načina držanja i hranjenja teladi *ad libitum* kolostrumom odnosno majčinim mlijekom od prvog dana života, što nije slučaj kod teladi u drugim istraživanjima.

Vrijednosti kolesterola u našem istraživanju značajno su niže nego u teladi iste dobi holstein pasmine (YU i sur., 2019), a podudaraju se s podacima istraživanja teladi na sisi CARROLLA i HAMILTONA (1973).

Referentne vrijednosti Na, K, Cl, Mg, Ca i P u našem istraživanju u velikoj su mjeri sukladni rezultatima u radu ROADKNIGHT i sur. (2021), a razlikuju se od RV za odrasle životinje laboratorija klinike za unutarnje bolesti u Zagrebu.

Usporedbom naših rezultata s rezultatima iz recentnih znanstvenih publikacija za telad drugih pasmina ali sličnih dobnih kategorija nađene su razlike u većini pretraživanih parametara, što potvrđuje potrebu za utvrđivanjem RV za životinje različitih pasmina i dobnih kategorija unutar iste vrste.

Rezultate ovog istraživanja je potrebno je validirati na teladi iste pasmine i dobi, ali iz drugih sustava držanja i uzgoja kako bi se isključio ili potvrdio utjecaj načina držanja i uvjeta uzgoja na vrijednosti hematoloških i biokemijskih parametara krvi.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Neonatalna simentalska telad ima značajno niže gornje granice referentnih vrijednosti za glavninu hematoloških parametara nego telad slične dobi drugih pasmina.
2. RV hematoloških parametara za simentalsku telad uz manja odstupanja (+/- 10%) sukladne su referentnim vrijednostima za odrasla goveda Hematološkog i biokemijskog laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, osim za RV trombocita.
3. GGT u zdrave simentalske teladi u ekološkom uzgoju sa slobodnim držanjem je značajno viši nego kod telad slične dobi drugih pasmina.
4. Niska koncentracija BHBa u serumu teladi pokazatelj je zavidne razine njihove dobrobiti, što je isključivo posljedica dobre farmske prakse vezana uz brigu i postupanje s neonatalnom teladi na Obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu Džakula.
5. Visoka razina ukupnih proteina u serumu svrstava telad iz našeg istraživanja u skupinu s odličnim transferom pasivne imunosti.
6. Rezultat ovog istraživanja su RV za zdravu simentalsku telad koje se mogu koristiti u svrhu interpretacije nalaza krvnih pretraga.
7. Ponavljanjem ovog istraživanja na teladi iste pasmine ali drugog sustava držanja i hranidbe omogućilo bi otkrivanje kritičnih točaka u uzgoju neonatalne teladi čijom bi se modulacijom omogućilo podizanje razine dobrobiti i zdravlja teladi na višu razinu.

## 7. LITERATURA

1. ADAMS, R., F.B. GARRY, B.M. ALDRIGE, M.D. HOLLAND, K.G. ODDE (1992): Hematologic values in newborn beef calves. *Am. J. Vet. Res.* 53, 944-950.
2. ANONYMUS (2021a): Govedarstvo. Godišnje izvješće za 2021. godinu. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Osijek. <https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2021/06/Godisnje-izvjesce-Govedarstvo-2020-web.pdf>
3. ARFUSO F., F. FAZIO, M. PANZERA, C. GIANETTO, S. DI PIETRO, E. GIUDICE, G. PICCIONE (2017): Lipid and lipoprotein profile changes in newborn calves in response to perinatal period. *Acta Veterinaria-Beograd* 67, 25-32.
4. BELLUC, M., F. HELLEZ (2018): Rearing calves with nurse cows: experiences of French organic dairy farmers. INRA, INRA.
5. BOUDA J., P. JAGOŠ (1984): Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta Vet. Brno* 53, 137-142.
6. BRAUN, J.P., D. TAINTURIER, C. LAUGIER, P. BERNARD, J.P. THOUVENOT, A.G. RICO (1982): Early variations of blood plasma gamma-glutamyl transferase in newborn calves-a test of colostrum intake. *J. Dairy Sci.* 65, 2178-2181.
7. BRUN-HANSEN, H.C., A.H. KAMPEN, A. LUND (2006): Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Vet. Clin. Pathol.* 35, 182–187.
8. CARROLL, K.K., R.M.G. HAMILTON, G.K. MACLEOD (1973): Plasma Cholesterol Levels in Suckling and Weaned Calves, Lambs, Pigs, and Colts. *Lipids* 8, 635-640.
9. CAPUT, P. (1996): Govedarstvo. Celeber, Zagreb
10. EGLI, C.P., J.W. BLUM (1998): Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling simmentaler calves held in a cow-calf operation. *Transbound. Emerg. Dis.* 45, 99–118.
11. FRIEDRICHS K.R., K.E. HARR, K.P. FREEMAN, B. SZLADOVITS, R.M. WALTON, K.F. BARNHART, J. BLANCO-CHAVEZ (2012): ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet. Clin. Pathol.* 41, 441-453.
12. GEORGE, J.W., J. SNIPES, V.M. LANE (2010): Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. *Vet. Clin. Pathol.* 39, 138–148.
13. HENNY. J., A. VASSAULT, G. BOURSIER, I. VUKASOVIC, P. MESKO BRGULJAN, M. LOHMANDER. I. GITA, F.A. ANDREU, C. KROUPIS, L.



- SPRONGL, M.H. THELEN, F.J. VANSTAPEL, T. VODNIK, W. HUISMAN, M. VAUBOURDOLLE (2017): Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Clin. Chem. Lab. Med.* 54, 1893-1900.
14. KLINKON, M., J. JEŽEK (2012): Values of blood variables in calves. *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine.* 301-320.
  15. KNEŽEVIĆ, M., G. PERČULIJA, K. BOŠNJAK, J. LETO, M. VRANIĆ (2005): Tehnološko-tehničke osnove sustava krava-tele. *STOČARSTVO* 59, 443-450.
  16. KNOWLES T. G., J. E. EDWARDS, K. J. BAZELEY, S. N. BROWN, A. BUTTERWORTH, R D. WARRISS (2000): Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Rec.* 147, 593-598.
  17. KRAFT, W., U.M. DURR (1999): Harnapparat. *Iz: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, Schattauer, ,Stuttgart, Germany, 169-200.
  18. LOMBARD J., N. URIE, F. GARRY, S. GODDEN, J. QUIGLEY, T. EARLEYWINE, S. McGUIRK, D. MOORE, M. BRANAN, M. CHAMORRO, G. SMITH, C SHIVEY, D. CATHERMAN, D. HAINES, A.J. HEINRICHS, R. JAMES, J. MAAS, K. STERNER (2020): Consensus recommendations on calf- and herd-level passive immunity in dairy calves in the United States. *J. Dairy Sci.* 103, 7611-7624.
  19. LUMSDEN J.H., K. MULLEN, R. ROWE (1980): Hematology and biochemistry reference values for female holstein cattle. *Can. J. comp. Med.* 44, 24-31.
  20. MEE, J.F. (2008): Newborn dairy calf management. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 24, 1-17.
  21. MOHRI M., K. SHARIFI, S. EIDI (2007): Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. *Res. Vet. Sci.* 83, 30-39.
  22. MORITTU, V.M., A. MINUTI, A. SPINA, M. VAILATI RIBONI, F. PICCIOLI-CAPPELLI, E. TREVISI, D. BRITTI, V. LOPREIATO (2021): Age-related metabolic changes of pre-weaned Simmental calves fed whole bulk milk and ad libitum calf starter. *Res. Vet. Sci.* 135, 237-243.
  23. MOTUS K., U. EMANUELSON (2017): Risk factors for on-farm mortality in beef suckler cows under extensive keeping management. *Res. Vet. Sci.* 113, 5-12.
  24. OTTER, A. (2013): Diagnostic blood chemistry and haematology in cattle. *In Pract.* 35, 7-16.

25. PANOUSIS N., N. SIACHOS, G. KITKAS, E. KALAITZAKIS, M. KRITSEPI-KONSTANTINOOU, G.E. VALERGAKIS (2018): Hematology reference intervals for neonatal Holstein calves. *Vet. Sci.* 118, 1–10.
26. ROADKNIGHT N.W., N.F. COURTMAN, P.D. MANSELL, E.C. JONGMANN, Z.A. LOH, A.D. FISHER (2021): Biochemistry and hematology reference intervals for neonatal dairy calves aged 5-12 days. *Vet. Clin. Pathol.* 00, 1–9.
27. ROLAND L., M. DRILLICH, M. IWERSEN (2014): Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *J. Vet. Diagn. Invest.* 26, 592–598.
28. ROUSSELL, K.A., A.J. ROUSSEL (2007): Evaluation of the Ruminant serum Chemistry Profile. *Vet. Clin. Food. Anim.* 23, 403-426.
29. STEINHARDT, M., I. GOLLNAST, M. LANGANKE, U. BUNGER, J. KUTSCHKE (1993): Klinisch-chemische Blutwerte bei neugeborenen Kälber. *Tierärztl. Prax.* 21, 295-301.
30. SUAREZ-MENA, F., W. HU, T.S. DENNIS, T.M. HILL, R.L. SCHLOTTERBECK (2017):  $\beta$ -Hydroxybutyrate (BHB) and glucose concentrations in the blood of dairy calves as influenced by age, vaccination stress, weaning, and starter intake including evaluation of BHB and glucose markers of starter intake. *J. Dairy Sci.* 100, 2614-2624.
31. TENNANT, B.C. (1997): Hepatic function. *Iz: Clinical biochemistry of domestic animals*, Academic Press, San Diego, SAD, 327-352.
32. WATSON, D.L. (1980): Immunological functions of the mammary gland and its secretion. *Aust. J. Biol. Sci.* 33, 403–422.
33. WEAVER, D.M., J.W. TYLER, D.C. VANMETRE, D.E. HOSTETLER, G.M. BARRINGTON (2000): Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Inter. Med.* 14, 569-577.
34. WOOD, D. i G.F. QUIROZ-ROCHA (2010): Normal hematology of cattle. *Iz: Schalm's Veterinary Hematology*, 6th ed. (D.J. Weiss, K.J. Wardrop) Blackwell Publishing, Iowa, SAD, 829–834.
35. WRIGHT, M. E., E. L. CROSER, S. RAIDAL, R. M. BARAL, W. ROBINSON, J. LIEVAART, K. P. FREEMAN (2019): Biological variation of routine haematology and biochemistry measurands in the horse. *Equine Vet. J.* 51, 384-390.
36. YU, K., F. CANALIAS, D. SOLA-ORIOU, L. ARROYO, R. PATO, Y. SACO, M. TERRE, A. BASSOLS (2019): Age related serum biochemical reference intervals established for unweaned calves and piglets in the post weaning period. *Front. Vet. Sci.* 6, 123.

## 8. SAŽETAK

Referentne vrijednosti hematoloških i biokemijskih parametara u neonatalne teladi simentalske pasmine držane u sustavu krava-tele

Damjan Džakula

Neonatalna telad u uzgojima s dobrom farmskom praksom nalazi se pod intenzivnog nadzorom te se u sklopu kontrole prijenosa pasivnog imuniteta uzorkuje krv teladi tijekom prvih 5 dana života. Osim ukupnih proteina, ostatak krvnih parametara najčešće se ne određuje u uzetom uzorku. Novija istraživanja potvrđuju postojanje razlika u vrijednostima krvnih parametara među različitim pasminama, ali i dobnim kategorijama.

Cilj ovog istraživanja je određivanje hematoloških i biokemijskih referentnih intervala za neonatalnu simentalsku telad do 5 dana starosti, kako bi iz svakog uzorka krvi sakupili maksimalnu količinu informacija.

Prilikom usporedbe RV iz našeg istraživanja i RV iz recentnih publikacijama nalazimo razlike u RV za telad iz našeg istraživanja i teladi slične dobi ali drugih pasmina. U usporedbi s ranijim istraživanjima, u našem radu nalazimo visoku gornju granicu TP i ekstremno nisku gornju granicu za BHB, dok za GGT nalazimo najvišu gornju granicu do sada objavljenu. Visoke razine TP i GGT u serumu teladi pokazatelji su uspješnog prijenosa kolostralne imunosti. Prema preporuci „Američkog konsensusa“ o prijenosu pasivne imunosti, naša telad pripada u „skupinu izvrsnog prijenosa imunosti“, a taj status potvrđen je i visokim vrijednostima GGT koje nalazimo. Niske razine BHB koje nalazimo u teladi ovog istraživanja, pokazatelj su visoke razine dobrobiti, koja je rezultat dobre farmske prakse, naročito njege i postupanje s neonatalnom teladi i njihovim majkama.

Referentni intervali određeni ovim istraživanjem mogu se koristiti za interpretaciju hematoloških i biokemijskih parametara u slobodno držane neonatalne simentalske teladi u sustavu krava-tele.

Ključne riječi: hematološki i biokemijski pokazatelji, referentne vrijednosti, neonatalna telad, simentalac, sustav krava-tele

## 9. SUMMARY

Hematology and biochemistry reference interval for neonatal Simmental calves in cow-calf operation

Damjan Džakula

Neonatal calves in good farm practice systems are subject to constant monitoring, and as a part of “passive immunity transfer monitoring” a sample of their blood is taken during the first 5 days of their life. Apart from the total protein (TP) the remaining blood profile parameters are not adequately analyzed. Recent research has confirmed the existence of differences in normal blood parameters between different breeds and age categories of the same species. The objective of our study is to determine “de novo” hematology and biochemistry reference intervals for Simmental neonatal calves up to five days of age, so that more information may be extrapolated from every blood sample taken.

In comparison with published data in our research we found a high upper limit for TP and extremely low upper limit for BHB, as for GGT we found the highest upper limit ever reported, to the best of our knowledge. Comparing our results with the results of similar research we found differences between our RI and published RI for similarly aged calves of different breeds.

High levels of TP and GGT in calf serum are indicators of successful colostrum immunity transfer. According to consensus recommendations for passive immunity transfer, the calves from our study belong in the “excellent transfer group”, and that status is even further confirmed by high GGT levels. We believe that the low concentrations of BHB found in our calves is an indicator of a high level of animal welfare, a result of good farm practice related to the care and handling of neonatal calves.

The RI found in our research can be used for interpretation of hematology and biochemistry parameters in neonatal Simmental calves raised in free-range cow-calf operations.

key words: hematology and biochemistry values, reference intervals, neonatal calves, Simmental, cow-calf operation

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 18.7.1997. u Zagrebu. Pohađao sam Osnovnu školu Sunja te Srednju školu Petrinja, smjer opća gimnazija. Veterinarski fakultet u Zagrebu upisao sam 2016. godine. Na petoj i šestoj godini studija sudjelovao sam kao volonter u radu sekcije za kopitare klinika Veterinarskog fakulteta. Terensku stručnu praksu u okviru 12. semestra odradio sam u Veterinarskoj stanici Vrbovec, VA Nova kapela. Odrastao sam i živim na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu.