

# Važnost određivanja BHBA u svrhu dijagnosticiranja supkličke ketoze u muznih krava

---

ciprić, iva

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:583213>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-02**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET**

**IVA CIPRIĆ**

**Važnost određivanja BHBA u svrhu dijagnosticiranja  
supkliničke ketoze u muznih krava**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, rujan 2022.**

SVEUČILIŠTE U ZAGEBU  
VETERINARSKI FAKULTET  
ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU I SIGURNOST HRANE  
MOUNT-TRADE, D. O. O. GAREŠNICA

PREDSTOJNIK:

Izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

MENTORI:

Prof. dr. sc. Vesna Dobranić

Doc. dr. sc. Dražen Đuričić

ČLANOVI POVJERENSTVA ZA OBRANU DIPLOMSKOG RADA

1. prof. dr. sc. Marko Samardžija
2. prof. dr. sc. Vesna Dobranić
3. doc. dr. sc. Dražen Đuričić
4. doc. dr. sc. Ivan Folnožić (zamjena)

# Zahvala

*Zahvaljujem svima koji su mi pomogli pri izradi ovoga rada. Posebno se zahvaljujem mentorima, doc. dr. sc. Draženu Đuričiću iz Mount-trade d.o.o. i prof. dr. sc. Vesni Dobranić na izdvojenom vremenu i strpljenju te stručnim savjetima prof. dr. sc. Marka Samardžije prilikom izrade ovog diplomskog rada. Za znanje i vještine stečene na Klinici za porodništvo i reprodukciju zahvaljujem se svim djelatnicima Klinike.*

*Ovaj diplomski rad posvećujem mojoj obitelji i svim mojim prijateljima koji su mi pružali podršku tijekom studiranja.*

## Popis kratica

BHBA (engl.  $\beta$ -hydroxibutiric acid)-beta hidroksimaslačna kiselina

NEB (negative energy balance )-negativna energetska ravnoteža

NEFA (nonesterified fatty acids)-nezasićene masne kiseline

# Popis tablica

Tablica 1. Usporedna količina i sastav mlijeka (%) kod pojedinih vrsta sisavaca

## Popis slika

Slika 1. Shematski prikaz membrane masne globule

Slika 2. Incidencija (rombi) i prevalencija (trokutići) supkliničke ketoze u laktaciji mliječne krave.

Slika 3. Odnos između ocjene tjelesne kondicije (BCS) prije teljenja i učestalosti supkliničke ketoze, kliničke ketoze i ostalih bolesti u 507 neliječenih krava

Slika 4. Pozitivan test na ketone (umjereno)

Slika 5. Keto-Diastix brzi test

Slika 6. BHBA-metar (Precision Xtra, Abbott, UK)

# Sadržaj

1. UVOD .....	6
1.1 OPĆENITO O MLIJEKU .....	6
2. TRANZICIJSKI PERIOD U MUZNIH KRAVA .....	12
3. KETOZA.....	14
3.1. KLINIČKA KETOZA .....	14
3.2. SUPKLINIČKA KETOZA.....	17
4. ODREĐIVANJE RAZINE BHBA .....	19
5. ZAKLJUČCI.....	21
6. SAŽETAK .....	22
7. SUMMARY .....	23
8. POPIS LITERATURE .....	24
9. ŽIVOTOPIS.....	28



# 1. UVOD

## 1.1 OPĆENITO O MLIJEKU

Mlijeko je biološka tekućina vrlo složena sastava žućkastobijele boje, karakteristična okusa i mirisa, koju izlučuje mliječna žlijezda ženki sisavaca određeno vrijeme nakon porođaja.

Pod pojmom „*mlijeko*“ najčešće se podrazumijeva „*kravlje mlijeko*“, dok se ostale vrste mlijeka moraju istaknuti oznakom: „*ovčje*“, „*kozje*“, „*bivolje*“, „*kobilje*“, „*devino*“ ili drugo mlijeko. Navedene vrste mlijeka sadržavaju iste sastojke (tablica 1.), ali udjeli i međusobni odnosi sastojaka, te njihova struktura mogu biti vrlo različiti. Zbog toga se vrste mlijeka razlikuju prema prehrambenim, fizikalno- kemijskim i tehnološkim osobinama.

Tablica 1. Usporedna količina i sastav mlijeka (%) kod pojedinih vrsta sisavaca (BYLUND, 1995.)

Mlijeko	Ukupni proteini	Kazein	Proteini sirutke	Masti	Ugljikohidrati	Pepeo
Žena	1,2	0,5	0,7	3,8	7,0	0,2
Kobila	2,2	1,3	0,9	1,7	6,2	0,5
Krava	3,5	2,8	0,7	3,7	4,8	0,7
Bivolica	4,0	3,5	0,5	7,5	4,8	0,7
Koza	3,6	2,7	0,9	4,1	4,7	0,8
Ovca	5,8	4,9	0,9	7,9	4,5	0,8

Kravljeg mlijeka po količini ima najviše te se ono koristi u proizvodnji gotovo svih mliječnih proizvoda. Stoga se kravlje mlijeko i najčešće konzumira.

Međutim, u prehrani se sve više ističu prednosti kozjeg mlijeka, osobito u osoba alergičnih na proteine kravljeg mlijeka.

Mlijeko žene je savršena hrana za dojenčad. Žene koje ne mogu hraniti dojenče vlastitim mlijekom, moraju koristiti industrijsku mliječnu hranu za dojenčad (kravlje mlijeko modificirano prema uzoru na sastav majčinog mlijeka). Međutim, majčino mlijeko, čak i slabije kakvoće, uvijek je bolje od industrijski proizvedene hrane za dojenčad, jer „*mlijeko se ne sastavlja, ono se stvara*,” a „*stvara*“ se iz specifičnih sastojaka koji prelaze iz krvi u mliječnu žlijezdu, gdje se zbivaju vrlo složeni biokemijski procesi sekrecije. Neki se sastojci mlijeka sintetiziraju u mlijećnoj žlijezdi od sastojaka koji potječu iz krvi. Tako u vrlo složenim procesima biosinteze nastaje mliječna mast, mliječni šećer (laktoza) i tipični proteini mlijeka (kazein, alfa-laktalbumin i beta-laktoglobulin). Ostali sastojci kao mineralne tvari, enzimi, vitamini, albumin krvnog seruma i imunoglobulini, izravno prelaze iz krvi u mliječnu žlijezdu i postaju sastojci mlijeka (TRATNIK, 1998). Kroz krvožilni sustav vimena mora proteći od 400-500 l krvi da bi se stvorila 1 litra mlijeka.

### **Kemijski sastav mlijeka**

*Sastav mlijeka* može biti vrlo promjenjiv, a ovisi o velikom broju čimbenika kao što su: pasmina i zdravstveno stanje životinja, stadij laktacije, način i vrsta prehrane, sezona, vrsta mužnje (ručna, strojna) te vrijeme i broj mužnji, a napose o samoj jednici (dob, tjelesna masa, kretanje i slično). Neposredno nakon poroda tijekom nekoliko dana mliječna žlijezda izlučuje *kolostrum*. Kolostrum sadrži veću količinu suhe tvari nego mlijeko. Osim manje količine laktoze i kazeina, on sadrži veću količinu ostalih sastojaka, a ima najveći udio proteina sirutke i veću titracijsku kiselost te nešto manju pH vrijednost (oko 6,3). Osim vitamina C, kojeg ima najmanje, kolostrum sadrži 5 do 10 puta više vitamina A, oko 5 puta više vitamina D, te oko 3 puta više vitamina E, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>12</sub> nego u mlijeku. Udio aminokiselina je oko 2-3 puta veći, osobito esencijalnih. U kolostrumu je značajno veća količina imunoglobulina, enzima i antioksidacijskih tvari nego u mlijeku.

Glavni su sastojci mlijeka: voda, mast, proteini i laktoza. Precizan sastav razlikuje se ovisno o vrsti pa tako, primjerice, mlijeko žene ima manje proteina, a veću količinu laktoze nego kravlje mlijeko. Općenito, manji sadržaj proteina u mlijeku znači da se radi o mladoj životinji dok u starijih životinja nalazimo veću količinu proteina u mlijeku.

Oko 80 - 85% svih proteina u mlijeku čine kazeini. To su specifični mliječni proteini koji se talože kada se pH- vrijednost mlijeka smanji na 4,6.

U mlijeku se, prije svega nalaze dva tipa proteina: kazeini i proteini sirutke. Kazeini su prisutni u obliku visoko hidratiziranih micela i izravno su podložni proteolizi. Proteini sirutke (beta- laktoglobulin, alfa- laktoalbumin, albumin plazme i imunoglobulini) ostaju otopljeni u mlijeku nakon taloženja kazeina. Oni su manje podložni mikrobnjoj proteolizi. Mlijeko sadrži neproteinske dušične spojeve kao što su ureja, peptidi i aminokiseline.

## VODA

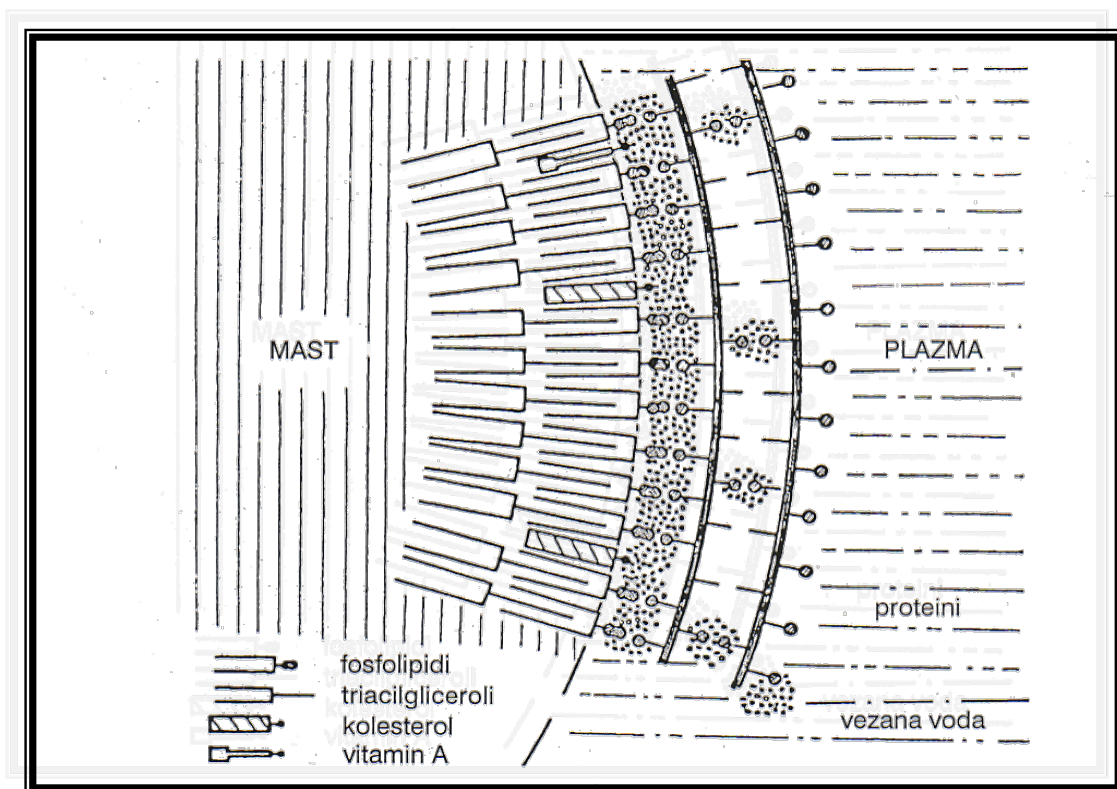
Najveći dio mlijeka čini voda i njena količina se kreće od 86 do 89%. Voda se u mlijeku nalazi u dva oblika: slobodna (u kojoj se nalaze otopljeni sastojci) i manjim 2-4% kao vezana voda za bjelančevine, masti i laktozu.

Slobodna voda nije vezana sa ostalim sastojcima mlijeka i ona pri 100°C prelazi u paru. Vezana voda nalazi se adsorbirana u hidratacijskom sloju pojedinih sastojaka suhe tvari: kazein, albumin, globulin, membrane masne globule, laktoza. Sposobnost bjelančevina mlijeka i fosfolipida da vežu vodu objašnjava se prisutstvom hidrofilnih skupina kao što su amino, amidne, karboksilne i hidroksilne. Iz ovoga proizlazi da se vezana voda na površini električno nabijenih čestica stvara kao posljedica polarnosti vode. Pojava da se molekule otapala adsorbiraju na molekule otopljene tvari zove se solvatacija. Kada je otapalo voda onda se ta pojava zove hidratacija. Kod hidratacije se dipoli vode uslijed elektrostatskog privlačenja suprotno naelektriziranih polova orijentiraju i sa aktivnim polovima (-COOH, NH<sub>2</sub> i dr.) stvaraju hidrogenske veze. Hidratacijski sloj vezane vode utječe na stabilnost sastojak mlijeka, a najviše utječe stabilnost proteina jer smanjuje površinsku energiju koloidne čestice, pa je njihova sposobnost spajanja svedena na minimum. Zbog toga su proteini sirutke stabilniji od kazeina jer su hidrofilniji.

## MLIJEČNA MAST

Mliječna mast u mlijeku može biti najviše promjenjiva od 2,5-6,0%. Ona utječe na okus, aromu konzistenciju i teksturu mliječnog proizvoda. Najvarijabilniji sastojak mlijeka predstavlja mliječna mast i prosječno iznosi 3,8%. Biosinteza mliječne masti

odvija se u stanicama mliječne žlijezde. Glicerol potreban za sintezu mliječne masti nastaje od glukoze krvi hidriranjem dioksiacetonfosfata i manjim dijelom iz triglicerida ili glicerola krvne plazme. Masne kiseline kratkih i srednje dugih lanaca ( $C_4$ - $C_{14}$  i dio  $C_{16}$ ) nastaju u mliječnoj žlijezdi iz octene i  $\beta$ -hidroksimaslačne kiseline. Više masne kiseline  $C_{18}$  ne sintetiziraju se u stanicama mliječne žlijezde nego potječu iz masti iz hrane i putem krvi u vidu triglicerida i slobodnih masnih kiselina prenose se do mliječne žlijezde. Od zasićenih masnih kiselina najzasupljenije su miristinska, palmitinska i stearinska. Neposredno poslije mužnje, mast se u mlijeku nalazi u vidu emulzije, a stajanjem i hlađenjem mlijeka zbog kristalizacije masnih kiselina prelazi u suspenziju. Mast se u mlijeku nalazi u vidu kuglica koje se nazivaju masne kapljice, promjera od 0,1 do 22  $\mu\text{m}$  s prosječnom vrijednosti od 1-6  $\mu\text{m}$ . Shema strukture adsorpcionog sloja masne kapljice po Kingu prikazana je na slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz membrane masne globule (KING, 1955).

Mast se u mlijeku nalazi u obliku globula. Globule su obavijene adsorpcijskim slojem ili membranom koji ju stabiliziraju. U masnoj globuli ima najviše triacilglicerola. U središtu globule nalaze se gliceridi niske temperature tališta zato su u tekućem stanju kod sobne temperature. U vanjskom dijelu globule nalaze se gliceridi visoke temperatura tališta koji

su na sobnoj temperaturi u čvrstom stanju. U adsorpcijskom sloju nalaze se fosfolipidi koje obavijaju membrane masnih globula. Hidrofobni krajevi fosfolipida okrenuti prema masnoj fazi povezani su s teško topljivim gliceridima. U središtu hidrofilne skupine, fosfolipidi su okrenuti prema tekućoj fazi mlijeka i povezani su s proteinima. Ta veza između fosfolipida i proteina naziva se „lipoproteinski kompleks“ koji je prilično čvrst, a oštećuju ga zamrzavanje, trenje, utjecaj kemikalija i slično.

Lanci masnih kiselina s višom točkom taljenja uklapaju se između lanaca masnih kiselina u lecitinu. Između molekula fosfolipida nalaze se kolesterol i vitamin A. Pored bjelančevina koje ulaze u lipoproteinski kompleks na granici adsorpcionog sloja masnih kapljica prema vodenoj fazi nalaze se i druge bjelančevine. Posljednji sloj prema slobodnoj vodi čini voda vezana za proteinski dio omotača masne kapljice. Zahvaljujući prisutstvu bjelančevina masne kapljice imaju određeni električni naboj. Taj naboj je negativan, pri reakciji sredine koja vlada u mlijeku i zbog toga se masne kapljice u mlijeku odbijaju. Svi faktori koji dovode do smanjenja naelektriziranosti prije svega povećanje kiselosti mlijeka ubrzavaju spajanje masnih kapljica i izdvajanje masti iz mlijeka.

Veličina masnih kapljica zavisi od vrste i pasmine životinja i perioda laktacije. Masne kapljice su najgrublje dispergirane od svih sastojaka mlijeka i tijekom stajanja mlijeka lako se izdvajaju na površinu. Brzina izdvajanja mliječne masti tijekom stajanja zavisi od veličine masne kapljice, gustoće disperzne sredine i gustoće masne kapljice.

## LAKTOZA

Laktoza je specifičan proizvod mliječne žlijezde i nalazi se samo u mlijeku. Laktoza je disaharid sastavljen od glukoze i galaktoze. Po kemijskoj strukturi ona je 1-β-D-galaktozido 4-α-D-glukoza. Glukoza potrebna za sintezu laktoze prelazi direktno iz krvi u stanice mliječne žlijezde, a galaktoza preko glukoza-6-fosfata nastaje iz glukoze. Laktoza se sintetizira u Golgijevom aparatu sekretornih stanica mliječne žlijezde pomoću enzima galaktozil transferaze i alfa-laktalbumina. Supstrat za sintezu laktoze je glukoza iz krvi. Od svih sastojaka mlijeka laktoza podliježe relativno najmanjem kolebanju tijekom razdoblja laktacije. Sadržaj laktoze u mlijeku zavisi od vrste životinje i zdravstvenog stanja mliječne žlijetde. Količina laktoze u mlijeku različitih životinja kreće se od 1,8% do 7,6%. U ženinom mlijeku sadržaj laktoze iznosi 6 do 8%. Kravlje mlijeko sadrži 4,7 do 4,9 % laktoze. Kod upale mliječne žlijezde dolazi i do smanjenja sadržaja

laktoze u mlijeku. Niži sadržaj laktoze u mlijeku od 4,69% ukazuje na raširenost mastitisa.

## 2. TRANZICIJSKI PERIOD U MUZNIH KRAVA

Najveći ekonomski gubitci na farmama muznih krava nastaju zbog bolesti u tranzicijskom razdoblju koje za posljedicu imaju brojne troškove nastale zbog liječenja, smanjenu dobit zbog smanjene proizvodnje mlijeka i smanjene plodnosti (MARKUSFELD, 1987., CORREA i sur., 1993., KOČILA i sur., 2013.). Prijelazno ili tranzicijsko razdoblje definira se kao razdoblje od 2-4 tjedna prije teljenja do 2-4 tjedna nakon teljenja (LEBLANC, 2010.). Tijekom tog razdoblja uočava se smanjen unos hrane prije teljenja i spori porast uzimanja hrane nakon teljenja. Potencijalne posljedice neadekvatne prehrane i lošeg programa upravljanja tijekom prijelaznog razdoblja uključuju:

- a) metaboličke poremećaje ili poremećaje mijene tvari (mliječna groznica, lipomobilizacijski sindrom i ketoza (PEŠA i sur., 2016.))
- b) probavne poremećaje (supklinička acidoza buraga (engl. subclinical rumen acidosis-SARA) i dislokacija sirišta)
- c) reproduktivne poremećaje (zaostajanje posteljice i metritis).

Osim prethodno navedenih poremećaja u ovom razdoblju primjećen je nagli pad BCS u ranoj laktaciji, niža proizvodnja mlijeka, smanjena plodnost, porast veterinarskih troškova i veći broj izlučenja iz rasploda (LAVENO i PETERS, 1996., CORREA i sur., 1993., OVERTON i WALDRON, 2004.).

Jedan od češćih poremećaja mijene tvari u stadima mliječnih krava s visokom proizvodnjom mlijeka je ketoza koju karakterizira povišena razina ketona u krvi, mokraći i mlijeku. Ketoza se javlja u muznih krava za vrijeme rane laktacije. Nekoliko dana prije porođaja i za vrijeme rane laktacije negativna energetska ravnoteža (engl. negative energy balance (NEB)) pri kojoj poraste razina nezasićenih masnih kiselina (engl. nonesterified fatty acids (NEFA)), a posljedično tome se povećava otapanje masti (mobilizacija lipida) iz tjelesnih rezervi (KOČILA i sur., 2009.). Razgradnjom masti nastaju tvari koje bi trebale poslužiti za tvorbu šećera (glukoze), ali se metabolizam preusmjerava u krivom smjeru pa nastanu tzv. ketonska tijela ili ketoni. Za vrijeme intenzivne glukoneogeneze, velike količine NEFA-a iz seruma su preusmjerene u jetru gdje se sintetiziraju u ketonska tijela (BOBE i sur., 2004.). Za vrijeme gladovanja ketonska tijela slobodno prolaze kroz staničnu membranu i osiguravaju stanici energiju koje tad nedostaje jer životinja gladuje. Visoki stadij graviditeta obilježen je povećanom glukoneogenezom u jetri te smanjenom

potrošnjom periferne glukoze, neznatnom potrošnjom acetata i umjerenom mobilizacijom masnih kiselina iz masnog tkiva gdje će doći do povećane potrošnje u perifernim tkivima. Postpartalni stadij obilježen je inverzijom razine glukoze i masnih kiselina što je povezano s velikom potrošnjom glukoze u mliječnoj žlijezdi, a što se tiče sistemskog metabolizma obilježen je iskorištavanjem lipida kao izvora energije (SAVIĆ, 2010.). Posljedično niskoj razini glukoze dolazi do pojačanog iskorištavanja aminokiselina iz tjelesnih proteina kao pomoćni resursi u stvaranju energetske rezervi u organizmu. Tijekom postpartalnog stadija dolazi do supresije lipogeneze u masnom tkivu i poticanja lipolize što za posljedicu ima povišenje masnih kiselina u krvi.

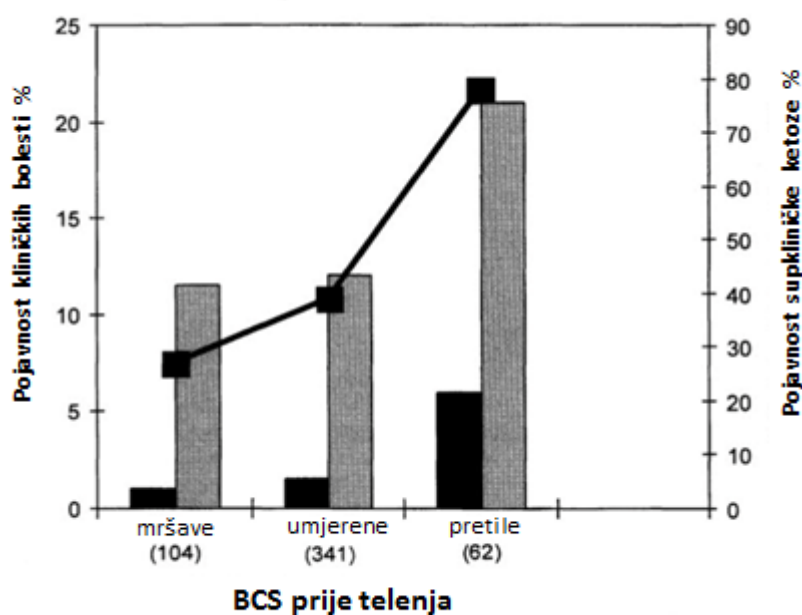
Svi procesi zabilježeni u ovom razdoblju pokazatelji su prilagodbe organizma tijekom velikog opterećenja za visokomliječne krave, odnosno kada dolazi do pojačane proizvodnje mlijeka do 120.-og dana laktacije. Kada je kod krava jače izražena negativna energetska ravnoteža tada je češće zabilježena ketoza ili masna infiltracija jetre, popraćena i drugim poremećajima energetske i mineralnog metabolizma. Navedeni tijek adaptacije na NEB traje otprilike do 72. dana laktacije, kada se ponovno uspostavlja ravnoteža između proizvodnje mlijeka i dovoljnog unosa hranjivih tvari (SAVIĆ, 2010.).



## **3. KETOZA**

### **3.1. KLINIČKA KETOZA**

Jedan od najčešćih poremećaja mijene tvari u stadima mliječnih krava s visokom proizvodnjom mlijeka je ketoza (DUFFIELD i sur., 1997., ZHANG i sur., 2012.). Ketoza je metabolički poremećaj mliječnih goveda, koji se najčešće javlja 2-4 tjedna nakon porođaja, a karakteriziran je povećanom koncentracijom ketona u mlijeku, urinu i krvi. Ketoza se javlja u muznih krava za vrijeme rane laktacije. Poznati su rizični čimbenici koji utječu na pojavu ketoze: energetske disbalans i nepovoljna tjelesna kondicija. Energetski disbalans se javlja zbog nemogućnosti unosa dovoljne količine energije putem krmiva u periodu kada se energetske rezerve najviše troše (postpartalni period). Odnosno, u prva dva mjeseca nakon teljenja proizvodnja mlijeka raste, a samim time i energetske potrebe krave. Negativna energetska ravnoteža i deficit energije za posljedicu imaju pojačanu lipomobilizaciju, kao homeostatski odgovor organizma (SLADOJEVIĆ, 2012.). Tjelesna kondicija je drugi navedeni rizični faktor, koja bi trebala iznositi 3,5 u početku laktacije i tijekom graviditeta. Dopuštena su odstupanja u ocjenama između 3,25 do 3,75 boda (PEJAKOVIĆ, 2001.).



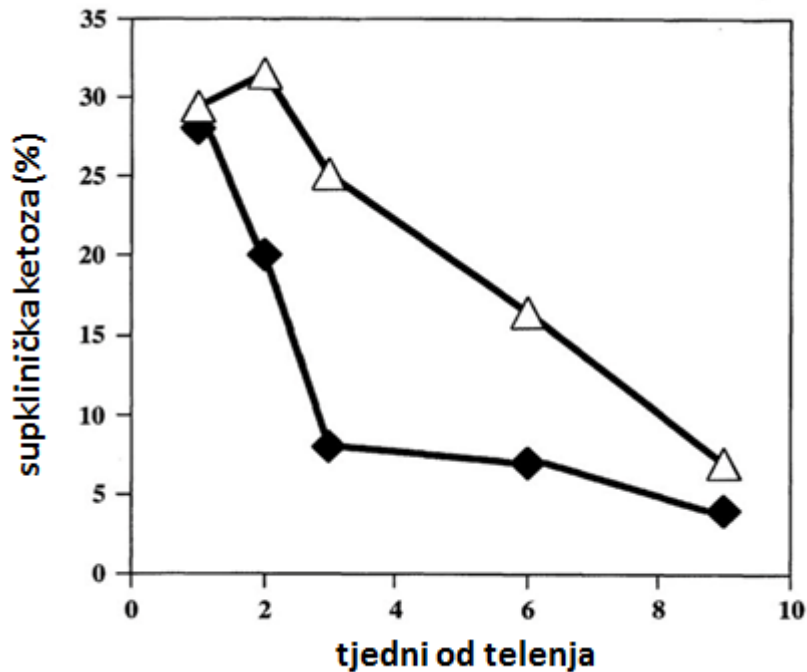
Slika 1. Odnos između ocjene tjelesne kondicije (BCS) prije teljenja i učestalosti supkliničke ketoze (kvadrati, serumski beta-hidroksibutirat ~ 1400  $\mu\text{mol/L}$ ), kliničke ketoze (trake s crnom ispunom), i ostale bolesti (sive trake, više od jedne periporođajne bolesti) u 507 neliječenih krava. Mršave = BCS pred teljenje manji od 3,0; umjerene = BCS između 3,25 i 3,75; pretile = BCS veći od 4,0. (Podaci iz Duffield T: 507 Neliječenih Holstein krava s 25 kanadskih mliječnih farmi. Neobjavljeno, 1997.)

Razgradnjom masti nastaju tvari iz kojih nastanu ketonska tijela ili ketoni, iako bi te tvari trebale poslužiti za tvorbu šećera (glukoze) u procesu glukoneogeneze. Ketonska tijela su beta-hidroksibutirat (BHBA), acetoacetat (AcAc), i aceton (Ac), u omjeru 70, 28 i 2%. Prevladavajuće ketonsko tijelo u cirkulaciji preživača te najstabilnija i najpogodnija molekula za dijagnostiku je BHBA (KAUPPINEN, 1983.). Primarna ketoza je samostalna bolest, a sekundarna se javlja kao posljedica neke druge bolesti zbog koje životinja gladuje (mastitisi, metritis, zaostajanje posteljice, dislokacija sirišta itd.). Ketonska tijela osiguravaju stanici energiju za vrijeme gladovanja, ali kod primarne ketoze su veće količine ketona nepoželjne. Ketozu u proizvodnji još dijelimo na tri obika (Tip1, Tip2, Tip3). Pod Tip1 smatramo ketozu koja nastaje sponatno, odnosno kao posljedica gladi zbog većih energetske potrebe, a javlja se 3 do 6 tjedana nakon porođaja.

Tijekom tog razdoblja simptomi bi se trebali povući pomoću potpomognute terapije prekursorima glukoze u obliku glicerola ili natrijeva propionata (ZOBEL, 2011.). Ovaj tip ketoze može se javiti zbog neizbalansirane prehrane, visoke koncentracije proteina i niskih ugljikohidrata (GARRETT, 2007.). Tip2 ketoza javlja se u pretilih krava, odnosno još ju nazivamo i „sindromom debele krave“ zbog pojačane mobilizacije masti prije porođaja (ZOBEL, 2011.). Posljednji Tip3 ketoze prepoznat je u krava koje konzumiraju prekomjernu količinu kisele silaže ili sjenaže. Kad su klinički znakovi ovog poremećaja prisutni govorimo o kliničkoj ketozi, a kad nema vidljivih znakova bolesti, kad su oni prikriveni, tada to stanje nazivamo supklinička ketoza. Kod kliničke ketoze simptomi su izraženi 2-4 tjedna nakon telenja, a to su nevoljkost, smanjen apetit, simptomi središnjeg živčanog sustava (abnormalno lizanje i nesvršishodno žvakanje), nagli gubitak tjelesne kondicije i smanjena proizvodnja mlijeka. Uslijede drugi znakovi poremećaja središnjeg živčanog sustava (tupost, ataksija, nasrtanje, veslanje nogama i drugi) pa sve do stanja kome. S obzirom na simptome, kliničku ketozu možemo podijeliti u nekoliko tipova: probavni, neurološki i kombinacija ova prva dva navedena tipa. Tijek bolesti uglavnom je akutan, ali rijetko kada dođe do razvijanja težih kliničkih simptoma, zato što će se uz pravilnu terapiju simptomi povući kroz par dana. Prvi navedeni tip je ujedno i najčešći, probavni tip, gdje je zabilježen smanjenji apetit, što posljedično dovodi do gubitka tjelesne kondicije, smanjenog preživljanja i mliječnosti. U ovom stadiju je karakteristično pogrbljeno držanje životinja s izraženom letargijom i specifičnim zadahom iz usta po acetonu. Drugi tip kliničke ketoze je neurološki, gdje mogu biti zastupljeni znakovi digestivnog tipa zajedno s parezom, parestezijom i hipestezijom. Krave zauzimaju karakteristični stav, žvaču u prazno, oči su im izbuljene te im se iz usta cijedi veća količina sline. Zadnji, mješoviti tip, oblik je ketoze gdje dolazi do puerperalne pareze (RADIĆ, 2010.).

### 3.2. SUPKLINIČKA KETOZA

Supklinička ketoza u mliječnih krava je pojava ketonskih tijela u krvotoku, mlijeku i mokraći bez prisutnosti kliničkih znakova oboljenja (ĐURIČIĆ, 2016.). Ketonska tijela su beta-hidroksi maslačna kiselina (BHBA) koja sačinjava 70% od ukupne količine ketona, acetoacetat (28%) i aceton (2%). Acetoacetat je dosta nestabilan u slučajevima kada se koristi kao uzorak za određivanje supkliničke ketoze, zato što se lako razlaže na aceton i ugljikov dioksid (BERGMAN, 1971.). Glavna mana je što se acetoacetat više povećava u usporedbi s BHB i rastućim povećanjem ukupnih ketonskih tijela, unatoč stalnom porastu BHB. Smatra se da do toga dolazi zbog relativnog povećanja ketogeneze i povećanog metabolizma masnih kiselina i posljedično prestanak sinteze BHB u samom epitelu buraga (DUFFIELD, 2000.). Prevladavajuće ketonsko tijelo u krvotoku preživača te najstabilnija i najpogodnija tvar za dijagnostiku je BHBA. Aceton je keton koji služi još za skidanje laka s noktiju jer ga otapa, a specifičnog je intenzivnog mirisa sličnog fermentiranom voću. Po tom mirisu iz usta možemo otkriti kravu koja zasigurno ima ketozu. No, nemaju sve krave oboljele od ketoze specifičan miris po acetonu. Važno je što ranije otkriti krave koje boluju od supkliničke ketoze tako da se može pravovremeno pristupiti liječenju. Iako nema kliničkih znakova supkliničku ketozu (SCK) karakterizira povećana koncentracija cirkulirajućih ketonskih tijela, tj. razina BHBA u serumu koja je viša od 1,4 mmol/L (ANDERSSON, 1988.). Utvrđeno je da aceton u mlijeku iznosi približno 95% kao acetona u krvi, acetoacetat u mlijeku je 45% acetoacetata u krvi, a acetoacetat u krvi je 13% BHB u krvi. Razina BHB u mlijeku iznosi samo 10% do 15% od ukupne razine u cirkulirajućoj krvi, vjerojatno zato što ketonska tijela imaju ulogu u metabolizmu masti (ANDERSSON, 1984). Vrijeme nakon teljenja je najznačajnije, jer tada započinje laktacija, odnosno pojačana proizvodnja mlijeka. Hranidbeni disbalans koji se u tom periodu javlja je zabilježen zato što su energetske potrebne životinje veće od samog unosa, jer se energetske rezerve pojačano troše zbog visoke proizvodnje mlijeka. Navedeni disbalans je jače izražen na farmama gdje nema dobrog hranidbenog programa pa se posljedično javljaju izraženiji zdravstveni problemi (KRALIK I SUR., 2011.). Supklinička ketoza u prvom ili drugom tjednu nakon teljenja povezana je s povećanim rizikom od dislokacije sirišta, kliničkog metritisa i kasnije endometritisa, kliničke ketoze, produljenog postporođajnog razdoblja anovulacije, mastitisa i znatno niže proizvodnje mlijeka u ranoj laktaciji, ali i kasnije sve do kraja laktacije (VINCE i sur., 2017.).



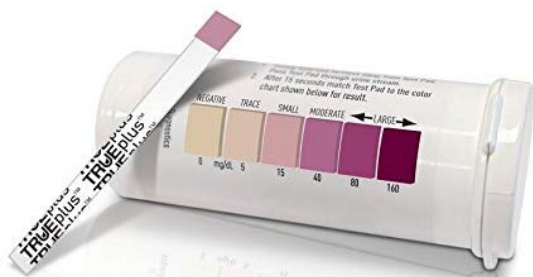
Slika 2. Incidencija (rombi) i prevalencija (trokutići) subkliničke ketoze u laktaciji mliječnih krava. (Izvor: Duffield T: Placebo skupina velikog kliničkog ispitivanja koje je uključivalo 1010 muznih krava holštajnske pasmine s 25 mliječnih farmi. Neobjavljeno, 1997.)

Krave s razinom BHBA u serumu  $\geq 1,4$  mmol/L su tri puta više izložene riziku od dislokacije sirišta i kliničke ketoze (OETZEL, 2004.). Povećanje koncentracije ketonskih tijela u serumu krava neposredno nakon porođaja negativno utječe na zdravlje krava, a povezano je sa smanjenom proizvodnjom mlijeka (DUFFIELD, 2000.; FOLNOŽIĆ i sur., 2015.). Ukupna prevalencija subkliničke ketoze u mliječnih krava u ranoj laktaciji procjenjuje se na 7,5% -14% (GEISHAUSER i sur., 2000.; ENJALBERT i sur., 2001., COMPTON i sur., 2014., GARRO i sur., 2014., VINCE i sur., 2017.). Krave s ocjenom tjelesne kondicije (BCS)  $\geq 3,75$  do 5,00 kod teljenja imaju povećan rizik od ketoze. Rano otkrivanje supkliničke ketoze može omogućiti raniju intervenciju i minimizirati gubitak proizvodnje mlijeka (DUFFIELD i sur., 2009., McART i sur., 2012.). Prevencija ketoze ovisi o nekoliko čimbenika, uključujući pravilnu prehranu krava u tranziciji, upravljanje tjelesnom kondicijom i korištenje određenih dodataka hrani kao npr. niacin, propilen glikol i drugo (GORDON i sur., 2013.).

## 4. ODREĐIVANJE RAZINE BHBA

Prije je spomenuto da ketonska tijela preplave organizam te da ih nalazimo u krvi, mlijeku i mokraći. Postoji nekoliko načina kako otkriti supkliničku ketozu (CARRIER i sur., 2004., GEISHAUSER i sur., 2000.). Neki su postupci jednostavni i ne iziskuju puno vremena pa to može učiniti i sam vlasnik.

Manja količina ketonskih tijela koja svakodnevno nastaje u tijelu, se u potpunosti metabolizira, te nalazimo nemjerljive količine ketonskih tijela u urinu. Ako se zbog povećane potrošnje masnih kiselina za energetske potrebe u ketozi poveća količina stvorenih ketonskih tijela, ona prelaze bubrežni prag te će se povećati njihovo izlučivanje urinom. Ketonurija je prisutnost ketonskih tijela u urinu. Najjednostaviji način je odrediti ketone iz mokraće sa test trakicama. Postoje brojni proizvođači tih brzih testova pa svaki proizvođač ima različite nazive kao što su: Ketodiabur, Ketostix, Keto-Diastix te mnogi drugi (LEBLANC, 2010). Metoda određivanja BHBA je vrlo jednostavna i brza, a postupak slijedeći: u čistu posudu sakupi se (najbolje jutarnja) mokraća krave za vrijeme mužnje na koju sumnjamo da boluje od skrivene ili supkliničke ketoze, uzmemo neupotrebjavanu trakicu koju nakratko umočimo u mokraću. Nakon 15 sekundi prilonimo našu trakicu uz bočicu s trakicama na kojoj se izvana nalazi legenda za očitavanje nalaza. Ako dođe do promjene boje iz svijetlokrem u tamnoljubičastu, nalaz je pozitivan, dakle krava ima ketozu. Ovaj način kontrole ili sličan trebali bi uvesti na svakoj farmi muznih krava te prekontrolirati krave i do 2 mjeseca poslije porođaja (DUFFIELD i sur., 2009).



Slika 4. Pozitivan test na ketone (umjereno)



Slika 5. Keto-Diastix brzi test

Osim brzim testovima iz mokraće, supklinička ketoza može se dokazati u mlijeku, ali i krvnim pretragama u specijaliziranim laboratorijima. Mnogi pokazatelji zdravstvenog statusa u mliječnim krava su lako dostupni prilikom rutinskog i redovitog praćenja kemijskog sastava mlijeka. Omjer mliječne masti i bjelančevina mlijeka ili indeks mliječne masti i bjelančevina (IMB) se nalazi na svakom nalazu kakvoće sirovog mlijeka. Optimalna vrijednost IMB-a je između 1,05 i 1,18(1,33) ovisno o autorima (DUFFIELD i sur., 1997., KROGH i sur., 2011.). Izrazitu sumnju na supkliničku ketozu možemo postaviti ako je IMB veći od 1,33. Prema GARCIA i sur., (2015.) otkrivanje krava oboljelih od supkliničke ketoze samo na temelju povišenog IMB-a nije bila potpuno pouzdana metoda. Veća vrijednost IMB-a od 1,42 nije pouzdan pokazatelj da su krave bolovale od supkliničke ketoze, zbog činjenice da je u 35% slučajeva bilo lažno pozitivnih nalaza, a preostalih 65% patilo je od drugih metaboličkih ili reproduktivnih poremećaja (JENKINS i sur., 2015.). Ako nemamo vrijednosti razine BHB ne možemo sa sigurnošću potvrditi našu sumnju na supkliničku ketozu samo na osnovi omjera mliječne masti i bjelančevina u mlijeku.

Danas postoje mali, praktični elektronički instrumenti za terensko određivanje ketona iz kapi krvi, a ti aparatići su slični onom za određivanje šećera u krvi koje imaju dijabetičari (IWERSEN i sur., 2009., ĐURIČIĆ i sur., 2015.).



Slika 6. BHBA-metar (Precision Xtra, Abbott, UK)

## 5. ZAKLJUČCI

1. Najveći ekonomski gubitci na farmama muznih krava nastaju zbog bolesti u prijelaznom ili tranzicijskom razdoblju od 2-4 tjedna prije teljenja do 2-4 tjedna nakon teljenja koje za posljedicu imaju brojne troškove nastale zbog liječenja, smanjenu dobit zbog smanjene proizvodnje mlijeka i posljedične smanjene plodnosti.
2. Ketoza je metabolički poremećaj mliječnih goveda, koji se najčešće javlja u vrijeme rane laktacije ili 2-4 tjedna nakon porođaja, a karakteriziran je povećanom koncentracijom ketona (BHBA, acetoacetat i aceton) u mlijeku, urinu i krvi koji nastaju iz tvari nastalih razgradnjom masti iako bi te tvari trebale poslužiti za tvorbu glukoze u procesu glukoneogeneze.
3. Supklinička ketoza u mliječnim krava je pojava ketonskih tijela u krvotoku, mlijeku i mokraći bez prisutnosti kliničkih znakova oboljenja.
4. Prevladavajuće, najstabilnije i najpogodnije za dijagnostiku ketonsko tijelo u preživača je  $\beta$ -hidroksimaslačna kiselina (BHBA).
5. Rano otkrivanje supkliničke ketoze, testovima kojima se određuje povišena razina BHBA, omogućava raniju intervenciju i smanjuje gubitke proizvođaču mlijeka.



## 6. SAŽETAK

Tijekom tranzicijskog perioda, odnosno u ranoj laktaciji kod muznih krava dolazi do najvećih gospodarski gubitaka, zbog pojave bolesti poput metaboličkih poremećaja, probavnih poremećaja i reproduktivnih poremećaja. Jedan od češćih poremećaja u stadima mliječnih krava s visokom proizvodnjom mlijeka je ketoza koju karakterizira povišena razina ketona u krvi, mokraći i mlijeku. Period rane laktacije karakterizira negativna energetska ravnoteža (NEB) pri kojoj dolazi do povišenja nezasićenih masnih kiselina, a posljedično i otapanja masnih rezervi koje zbog preusmjerenja metabolizma pređu u ketonska tijela (beta-hidromaslačna kiselina (BHBA), acetoacetat i aceton), umjesto da posluže za tvorbu glukoze. Ketoza može biti primarna ili sekundarna, odnosno s obzirom na klinički tijek: klinička ili supklinička ketoza. Klinički znakovi ketoze uključuju smanjeni apetit, smanjenu proizvodnju mlijeka, gubitak težine i hipoglikemiju. Osjetljivost na ketozu vjerojatno je posljedica ograničenja apetita i povećanih energetskih potreba mliječne žlijezde za hranjivim tvarima, posebice glukozom. Dijagnostika supkliničke ketoze je značajnija zato to dolazi do pojave ketonskih tijela u krvotoku, mlijeku i mokraći bez prisustva kliničkih znakova oboljenja. Prevladavajuće ketonsko tijelo u krvotoku preživača te najpouzdanija i najstabilnija tvar za dijagnostiku je beta-hidromaslačna kiselina (BHBA). Metode određivanja BHBA su vrlo jednostavne i brze. Rano otkrivanje supkliničke ketoze, testovima kojima se određuje povišena razina BHBA, omogućava raniju intervenciju i smanjuje gubitke proizvođaču mlijeka. Radi prevencije ovaj način kontrole trebao bi se uvesti na svakoj farmi muznih krava, s naglaskom da se prekontroliraju krave do 2 mjeseca poslije teljenja.

**Ključne riječi:** muzne krave, supklinička ketoza, BHBA

## 7. SUMMARY

### Importance of BHBA determination for the purpose of diagnosing subclinical ketosis in dairy cows

During the transition period, in early lactation, dairy cows experience the greatest economic losses, due to the appearance of diseases such as metabolic disorders, digestive disorders and reproductive disorders. One of the more common disorders in dairy herds with high milk production is ketosis, which is characterized by elevated levels of ketones in the blood, urine and milk. The period of early lactation is characterized by a negative energy balance (NEB), during which there is an increase in unsaturated fatty acids, and consequently the melting of fat reserves, which, due to the redirection of metabolism, turn into ketone bodies (beta-hydrobutyric acid (BHBA), acetoacetate and acetone), instead of serving for the formation of glucose. Ketosis can be primary or secondary, and depending on the clinical course: clinical or subclinical ketosis. Clinical signs of ketosis include decreased appetite, decreased milk production, weight loss, and hypoglycemia. Susceptibility to ketosis is probably a consequence of appetite restriction and increased energy needs of the mammary gland for vulnerable substances, especially glucose. The diagnosis of subclinical ketosis is more significant because ketone bodies appear in blood, milk and urine without the presence of clinical signs of the disease. The predominant ketone body in the bloodstream of ruminants and the most reliable and stable substance for diagnostics is beta-hydrobutyric acid (BHBA). The methods of determining BHBA are very simple and fast. Early detection of subclinical ketosis, with tests that determine an elevated level of BHBA, enables earlier intervention and reduces the loss of milk production. For the sake of prevention, this method of control should be introduced on every dairy cow farm, with an emphasis on checking cows up to 2 months after calving.

**Key words:** dairy cows, subclinical ketosis, BHBA

## 8. POPIS LITERATURE

1. ANDERSSON, L. (1984): Concentrations of blood and milk ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows in relation to the degree of hyperketonemia and clinical signs. *Zentralbl. Veterinarmed. A.* 31,683-693.
2. ANDERSSON, L. (1988): Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4, 233-248.
3. BERGMAN, E. N. (1971): Hyperketonemia-ketogenesis and ketone body metabolism. *J. Dairy Sci.* 54,936-948.
4. BOBE, G., J. W. YOUNG, D. C. BEITZ (2004): Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3105-3124.
5. CARRIER, J., S. STEWART, S. GODDEN, J. FETROW, P. RAPNICKI (2004): Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3725-3735.
6. COMPTON, C. W. R., S. McDOUGALL, L. YOUNG, M. A. BRYAN (2014): Prevalence of subclinical ketosis in mainly pasture-grazed dairy cows in New Zealand in early lactation. *New Zealand Vet. J.* 62, 30-37.
7. CORREA, M. T., H. ERB, J. SCARLETT (1993): Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76, 1305-1312.
8. DUFFIELD, T. (2000): Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16, 231-253.
9. DUFFIELD, T. F., D. F. KELTON, K. E. LESLIE, K. D. LISSEMORE, J. H. LUMSDEN (1997): Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.* 38, 713-718.
10. DUFFIELD, T., K. D. LISSEMORE, D. W. McBRIDE, K. E. LESLIE (2009): Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.* 92, 571-580.
11. ĐURIČIĆ, D. (2016): Supklinička ketoza. *Mljekarski list* 53, 40-41.
12. ĐURIČIĆ, D., S. VINCE, D. GRAČNER, I. FOLNOŽIĆ, I. KRIŽEK, M. SAMARDŽIJA (2015): Vergleich von zwei Methoden zu Bestimmung der Prävalenz subklinischer Ketose bei Milchkühen in Nordwestkroatien.. *Tierärztl. Umschau* 70, 55-59.

13. ENJALBERT, F., M. C. NICOT, C. BAYOURTHE, R. MONCOULON (2001): Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 84, 583-589.
14. FOLNOŽIĆ, I., R. TURK, D. ĐURIČIĆ, S. VINCE, J. PLEADIN, Z. FLEGAR-MEŠTRIĆ, H. VALPOTIĆ, T. DOBRANIĆ, D. GRAČNER, M. SAMARDŽIJA (2015): Influence of body condition on serum metabolic indicators of lipid mobilization and oxidative stress in dairy cows during the transition period. *Reprod. Dom. Anim.* 90, 910-917.
15. GARCIA, C. A. C., R. L. A. MONTIEL, T. F. BORDERAS, V. GIRARD (2015): Relationship between  $\beta$ -hydroxybutyrate and the fat:protein ratio of milk during early lactation in dairy cows, *Arch. Med. Vet.* 47, 21-25.
16. GARRETT, R. (2007): Herd-level ketosis-diagnosis and risk factors. Zbornik radova. 40th Annual Conference, American Association of bovine practitioners. Vancouver,
17. GARRO, C. J., L. MIAN, M. COBOS ROLDÁN (2014): Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 98, 838-844.
18. GEISHAUSER, T., K. LESLIE, J. TENHAG, A. BASHIRI (2000): Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 296-299.
19. GORDON, J. L., S. J. LEBLANC, T. F. DUFFIELD (2013): Ketosis treatment in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 29, 433-445.
20. IWERSEN, M., U. FALKENBERG, R. VOIGTSBERGER, D. FORDERUNG, W. HEUWIESER (2009): Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 2618-2624.
21. JENKINS, N. T., G. PENA, C. RISCO, C. C. BARBOSA, A. VIEIRA-NETO, K. N. GALVAO (2015): Utility of inline milk fat and protein ratio to diagnose subclinical ketosis and to assign propylene glycol treatment in lactating dairy cows. *Can. Vet. J.* 56, 850-854.
22. KAUPPINEN, K. (1983): Correlation of whole blood concentrations of acetoacetate,  $\beta$ -hydroxybutyrate, glucose and milk yield in dairy cows as studied under field conditions. *Acta Vet. Scand.* 24, 337-348.

23. KOČILA, P., A. JANŽEK, D. GRAČNER, T. DOBRANIĆ, D. ĐURIČIĆ, N. PRVANOVIĆ, N. FILIPOVIĆ, G. GREGURIĆ GRAČNER, LJ. BEDRICA, F. MARKOVIĆ, M. HORVAT M. SAMARDŽIJA (2013): Progesterone concentration and energy balance influence on dairy cows with different milk yield during puerperium. *Tierärztl. Umschau* 68, 266-274.
24. KOČILA, P., M. SAMARDŽIJA, T. DOBRANIĆ, D. GRAČNER, V. DOBRANIĆ, N. PRVANOVIĆ, Ž. ROMIĆ, N. FILIPOVIĆ, N. VUKOVIĆ, D. ĐURIČIĆ (2009): Einfluss der Energiebilanz auf die Reproduktionsfähigkeit von Holsteiner Kühen im Puerperium. *Tierärztl. Umschau* 64, 471-477.
25. KRALIK, G., A. ZDENEK, M. BABAN, I. BOGUT, V. GANTNER, S. IVANKOVIĆ, I. KATAVIĆ, D. KRALIK, I. KRALIK, V. MARGETA, J. PAVLIČEVIĆ (2011): *Zootehnika*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.
26. KROGH, M. A., N. TOFT, C. ENEVOLDSEN (2011): Latent class evaluation of a milk test, urine test, and the fat-to-protein percentage ratio in milk to diagnose ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 2360-2367.
27. LeBLANC, S. (2010): Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56, Suppl. S29-S35.
28. MARKUSFELD, O. (1987): Periparturient traits in seven high dairy herds. Incidence rates, association with parity, and interrelationship among traits. *J. Dairy Sci.* 70, 158-168.
29. McART, J. A. A., D. V. NYDAM, G. R. OETZEL (2012): Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95, 5056-5066.
30. OETZEL, G. R. (2004): Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20, 651-674.
31. OVERTON, T. R., M. R. WALDRON (2004): Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87, 105-119.
32. PEJAKOVIĆ, D. (2001): Tjelesna kondicija krava, Hrvatski zavod za poljoprivrednu savjetodavnu službu, Zagreb.
33. PEŠA, R., R. TURK, D. ĐURIČIĆ, I. FOLNOŽIĆ, D. GRAČNER, I. BUTKOVIĆ, M. SAMARDŽIJA (2016): Mehanizam nastanka masne jetre tijekom prijelaznog razdoblja u mliječnim krava. *Vet. stn.* 47, 455-464.

34. RADIĆ, M. (2010): Ketoza krava. <http://veterina.info/vesti/25-bolesti-prezivara/210-ketoza-krava>.
35. SAVIĆ, Đ. (2010): Etiopatogeneza zamašćenja jetre visokomlijecnih krava. <https://veterina.info/goveda/25-goveda/bolesti-goveda/1151-etipatogeneza-zamascene-jetre-visokomlijecnih-krava>
36. SLADOJEVIĆ, Ž. (2012) Uticaj energetskeg bilanca na endokrini i metabolički status krava. <https://fedorabg.bg.ac.rs/fedora/get/o:6709/bdef:Content/get>
37. TRATNIK, LJ. (1998) Mlijeko - tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga.
38. VINCE, S., D. ĐURIČIĆ, H. VALPOTIĆ, D. GRAČNER, I. FOLNOŽIĆ, B. ŠPOLJARIĆ, P. SOBIECH, M. SAMARDŽIJA (2017): Risk factors and prevalence of subclinical ketosis in dairy cows in Croatia. Vet. arhiv 87, 13-24.
39. ZHANG, Z., G. LIU, H. WANG, X. LI, Z. WANG (2012): Detection of subclinical ketosis in dairy cows. Pak. Vet. J. 32, 156.
40. ZOBEL, R. (2011): Oblici, prepoznavanje, prevencija i liječenje ketoze u krava. <http://veterina.com.hr/?p=5671>.

## 9. ŽIVOTOPIS

**Iva Ciprić** rođena je 08. prosinca 1997. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završila je u Sisku, gdje je potom upisala Opću gimnaziju. Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja aktivno trenira plivanje. Godine 2016. upisala je Veterinarski fakultet na Sveučilištu u Zagrebu s usmjerenjem Javnog zdravstva za koje se opredijelila na višim godinama fakulteta. Tijekom svog akademskog obrazovanja sudjeluje u studentskim udrugama USVM „Equus“ i kao delegat u Etičkom povjerenstvu za zaštitu životinja koje se koriste u znanstvene svrhe. 2021. godine aktivno sudjeluje u istraživanju na ugroženoj vrsti iguana, čije je istraživanje nagrađeno Rektorovom nagradom za individualni znanstveni rad „Osobitosti kompletne krvne slike Utila iguana“. U listopadu iste godine sudjeluje u međunarodnoj konferenciji „Veterinarska znanost i struka“, predstavljajući nagrađeni rad. Uz studij povremeno volontira u privatnim veterinarskim ambulancama.