

Upptaka kálfa á ónæmisprótínunum úr broddi

Charlotta Oddsdóttir, verkefnisstjóri



Framleiðnisjóður
landbúnaðarins

Efnisyfirlit

Útdráttur	2
Samstarfsaðilar og þakkarorð	2
Inngangur	3
Ónæmisglóbúlín	3
Broddgæði og aðfengin ónæming	3
Mælingar á IgG styrk	4
Markmið	5
Efniviður og aðferðir	5
Aðstæður á búinu og sýnatökur	6
Elísupróf og útreikningar	7
Niðurstöður	7
IgG styrkur mældur með elísuprófi	7
Áætlað frásogshlutfall	9
Umræður	9
Ályktun og ráðleggingar til bænda	11
Heimildir	11

Útdráttur

Niðurstöður mælinga á íslenskum kýrbroddi hafa sýnt að styrkur ónæmisglóbúlíns G (IgG) í broddmjólk sé í lægri kantinum miðað við erlendar rannsóknir og því er mikilvægt að kanna hvort kálfar fái nægilegt magn IgG úr broddinum þar til þeir byrja að framleiða það sjálfir. Mælingar voru gerðar með elísuprófi á blóðsýnum 11 kálfa strax eftir burð, sólarhring seinna og á broddinum sem þeir höfðu drukkið. Mælingar sýndu að meðalstyrkur IgG var 11,54 mg/ml í broddi og 8,02 mg/ml í sermi kálfa sólarhring eftir burð. Niðurstöður sýndu að fylgni var á milli IgG styrks í broddi og IgG styrks í sermi sólarhring síðar fyrir hvern kálf. Áætlað hlutfall IgG sem skilaði sér yfir í blóðrásina af því magni IgG sem þeir drukku var að meðaltali 43%, sem er í hærra lagi miðað við erlendar rannsóknir þó svo meðalstyrkur í sermi væri undir erlendum viðmiðum. Vegna þess að almennt er lítið um sjúkdómsvaldandi bakteríur og veirur í umhverfi íslenskra nautgripa, og IgG er myndað samkvæmt því áreiti sem ónæmiskerfið verður fyrir, er þessi lági styrkur IgG í sermi að öllum líkindum nægilegur miðað við það umhverfi sem þeir eru í. Mælt er með því að bændur noti ljósbrotsmæli til þess að kvarða broddgæði í sinni hjörð og safni frystum broddi í broddbanka. Æskilegt er að gefa kálfum brodd í fleiri skömmtum yfir fyrsta sólarhringinn, og því fyrr sem fyrsti skammtur er gefinn, þeim mun betur skilar IgG sér yfir í blóðrás kálfsins.

Samstarfsaðilar og þakkarorð

Rannsóknin var unnin sem BSc verkefni Rannveigar Óskar Jónsdóttur í lífefnafræði við Háskóla Íslands undir leiðsögn Dr. Charlottu Oddsdóttur verkefnisstjóra og dýralæknis á Keldum, og Dr. Jónu Freysdóttur prófessors í ónæmisfræði við HÍ og ónæmisfræðideild LSH. Bestu þakkir fá Egill Gunnarsson bústjóri Hvanneyrarbúsins og Hafþór Finnbogason sem var fjósameistari Hvanneyrarbúsins þegar rannsóknin var gerð. Ljósmynd á forsíðu var tekin af Agli Gunnarssyni. Fagraði í nautgriparækt er þakkaður stuðningur við verkefnið.

Inngangur

Einn mikilvægasti þátturinn til þess að tryggja heilbrigði og góðan vöxt kálfa er að þeir fái góðan brodd sem inniheldur fullnægjandi magn mótefna (ónæmisglóbúlína). Kálfar fá ónæmisglóbúlín ekki yfir fylgju frá móður og því er mikilvægt að þeir fái þau með broddi. Nauðsynlegt er að þeir fái þau á fyrsta sólarhringnum eftir burð þar sem þarmaslímhúðin missir eftir það eiginleikann að taka upp svo stór prótín í heilu lagi.

Ónæmisglóbúlín

Ónæmisglóbúlín (immunoglobulin, Ig) eru framleidd í B-frumum ónæmiskerfisins, en þessi prótín eru um 18,8-29,6% allra blóðvökvaprótína kúa (Alberghina o.fl., 2011). Ónæmisglóbúlín eru einnig kölluð mótefni og geta verið mjög sérhæfð gagnvart ákveðnum mótefnavökum, til dæmis yfirborðsprótínunum veira og baktería. Hinir fimm flokkar ónæmisglóbúlína eru IgG, IgA, IgD, IgM og IgE en grunnbygging þeirra er hin sama. IgG koma fyrir í flestum líkamsvessum og eru algengustu ónæmisglóbúlín líkamans. IgA eru næstalgengust og finnast í mörgum líkamsvessum. IgM finnast í blóðvatni og sogæðavökva og eru mikilvæg í fyrstu ónæmisviðbrögðum (Pross og Grattendick, 2007). IgE eru mikilvæg í ofnæmisviðbrögðum og viðbrögðum við sníkjudýrasýkingum en IgD eru aðallega á yfirborði óreyndra B-frumna (Pross and Grattendick, 2007).

IgG er til staðar í flestum líkamsvessum og er algengasta ónæmisglóbúlín í líkamanum. IgG mótefni eru mikilvæg gegn bakteríu- og veirusýkingum og hafa hlutverk í starfi bæði B- og T-frumna. IgG eru einu mótefnin sem komast yfir fylgjuna til fósturs hjá mönnum, en vegna stærðar sinnar komast þau ekki gegnum fylgjuna hjá nautgripum og því þarf ungið að fá þau með broddi fljótlega eftir fæðingu (Simister, 2003; Pross og Grattendick, 2007). Einungis eru til tveir undirflokkar IgG mótefna hjá nautgripum, IgG1 og IgG2 en IgG1 er í mun stærra hlutfalli en IgG2 (Burton, 1985). IgG mótefni eru framleidd sem viðbrögð við endurteknu áreiti ónæmisvaka (e. *Antigen*). Styrk IgG í blóði má meta með elísuprófi (e. *Enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) og þannig leggja mat á vessabundinn þátt ónæmiskerfisins (Pross og Grattendick, 2007).

Broddgæði og aðfengin ónæming

Broddur er fyrsta mjólkinn sem júgrið framleiðir eftir burð og er mjög næringarríkur, en um 70-80% heildarprótín magns eru ónæmisglóbúlín sem eru nauðsynleg til þess að byggja upp ónæmiskerfi kálfa (McGrath o.fl. 2016). Í kýrbroddi er IgG mest áberandi, og er styrkur IgG1 ríflega 80 sinnum hærrí í broddi en í mjólk (Stelwagen o.fl. 2009). Broddur inniheldur einnig meira af öðrum prótínunum og fitu (Godhia og Patel, 2013). Nauðsynlegt er fyrir kálfinn að taka upp nægt magn IgG til þess að hann geti staðist þá smitvalda sem finnast í umhverfinu þar til hann getur framleitt ónæmisglóbúlín sjálfur. Þetta gerist með aðfenginni ónæmingu (e. *Passive transfer of immunity*), þar sem ónæmisglóbúlín eru tekin

upp úr broddinum með gegnfrumun (e. *Transcytosis*) þarmaslímhúðarinnar og komast þannig í blóðrás kálfsins (Weaver o.fl. 2000).

Samkvæmt erlendum viðmiðum telst aðfengin ónæming fullnægjandi þegar IgG styrkur mælist 10 mg/ml í sermi kálfsins eftir að þarmaslímhúðin er hætt að taka upp ónæmisglóbúlín á fyrstu tveimur sólarhringunum (Weaver et al., 2000). Þess ber þó að geta að þetta viðmið er ekki vel skilgreint og byggir að líkindum á viðmiðunargildi fyrir fullorðinn nautgrip, auk þess sem taka verður tillit til þess hversu mikið smítalag er í umhverfi kálfsins (Tyler o.fl. 1996). Í hagnýtum tilgangi hefur tíðkast að áætla styrk IgG út frá heildarstyrk sermisprótína (e. *serum total protein*, STP) þannig að STP upp á 5,2 g/dl samsvari 10 mg/ml af IgG (Tyler o.fl. 1996). Ef tveggja daga kálfur mælist með undir 10 mg/ml af IgG kallast það á ensku *failure of passive transfer* (FPT), sem kalla mætti **ónæmingarbræst**, og er hætt við því að kálfurinn geti síður staðist smítalag umhverfisins (Furman-Fratczak o.fl., 2011). Ýmsar rannsóknir hafa verið gerðar á áhrifaþáttum aðfenginnar ónæmingar, til dæmis magni brodds sem kálfurinn drekkur og hversu oft á fyrstu tveimur sólarhringunum, auk lífspróttar kálfsins (Furman-Fratczak o.fl., 2011). Samanburðarrannsókn þar sem kálfum var ýmist gefinn kýrbroddur, IgG bætiefni úr mjólk og nautgripasermi með mismunandi styrk IgG, sýndi að broddurinn var það eina sem skilaði kálfunum nægilegum styrk IgG (>10 mg/ml) í blóði á fyrsta sólarhringnum (Arthington o.fl. 2010). Það þarf þó að hafa í huga að IgG styrkur í sermi kálfa er ekki algilt viðmið, enda getur kálfur með lágan styrk lifað af og þroskast, og kálfur með hærri styrk átt erfitt uppdráttar, þar sem fleiri þættir spila inn í heilbrigði þeirra (Hurvell og Fey, 1970). Þetta þarf sérstaklega að hafa í huga við íslenskar aðstæður, þar sem getur verið minna um smitefni í umhverfinu í samanburði við aðstæður víða erlendis og því minni þörf bæði ungvíðis og fullorðinna gripa fyrir fjölbreytt sérhæfð ónæmisglóbúlín (Johnsen o.fl., 2019).

Mælingar á IgG styrk

Til eru ýmsar aðferðir til þess að mæla styrk ónæmisglóbúlína í broddi eða blóðsýnum en flestar er einungis hægt að framkvæma á rannsóknarstofu (Gapper o.fl. 2007). Elísupróf er notað til þess að greina mótefni eða ónæmisvaka í líkamsvökvum með mótefnatengdu ensími (Horlock, á.d.). Ýmsar gerðir elísuprófa hafa verið þróaðar og næmasta en dýrasta gerðin er samkeppniselísupróf (e. *competitive ELISA*). Samlokuelísupróf og óbeint elísupróf eru einföld og nákvæm og tilvalin til þess að mæla mótefni og ónæmisvaka. Í þessari rannsókn var notast við samlokuelísupróf sem er aðgengilegt og notast við mótefnapar sem þekkir nautgripa-IgG.

Gerðar hafa verið rannsóknir á ónæmisglóbúlínum í kýrbroddi ýmissa ræktunarkynja nautgripa og upptöku þeirra hjá nýfæddum kálfum og sýnt fram á mun á styrk ónæmisglóbúlína í broddi kúa af mismunandi nautgripakynjum (Muller og Ellinger, 1981). Ætla mætti að áhrifaþættir í þessu tilliti séu

bæði af erfðafræðilegum toga og háðir ónæmisáreiti í umhverfi gripanna. Hægt er að áætla IgG styrk brodds á einfaldan hátt með ljósbrotsmæli (Quigley o.fl., 2013) og vorið 2018 var gerð rannsókn í lokaverkefni við Lbhí þar sem ljósbrotsmæling og IgG greining með elisuprói voru bornar saman (Jóna Kristín Vagnsdóttir, 2018). Niðurstöður rannsóknarinnar leiddu í ljós að meðalstyrkur IgG í broddi 114 íslenskra mjólkurkúa var tæp 27 g/l og einungis rúm 18% sýna voru með IgG styrk yfir 50 g/l. Rannsóknin sýndi að marktæk fylgni ($p < 0.01$, $r^2 = 0,43$) var milli mæliaðferðanna tveggja, þó hún hafi verið talsvert minni en í erlendum rannsóknum. Það reyndist því ekki eins handhægt að áætla IgG styrk út frá ljósbrotsmælingu eins og lýst hefur verið í öðrum nautgripakynjum, enda hefur verið sýnt fram á meiri nákvæmni þeirrar aðferðar með hækkandi IgG styrk (Buczinski og Vandeweerd, 2016). Það er því ekki unnt að nota sama tölulega gildi ljósmælinga hérlendis, en aðferðin gefur þó ákveðna hugmynd um gæði broddsins.

Þessar niðurstöður vekja spurningar um hvort hið erlenda viðmið um 50 g/l IgG, sem notað er til að dæma gæði brodds, sé nothæft hér á landi. Þetta viðmið er upprunnið í rannsóknum á styrk IgG í broddi, hæfni kálfa til að taka stór prótín upp í blóðið yfir þarmaslímhúðina og styrk IgG í blóði kálfa eftir að hafa drukkið brodd skömmu eftir burðinn (Quigley, 2001). Ef kálfur á að ná lágmarksstyrk IgG í blóði þarf hann að taka upp tæplega 1 g af IgG á hvert kg líkamsþunga úr broddinum á fyrsta sólarhringnum. Vegna þess að upptaka IgG er ekki 100%, heldur nærri 35% (á bilinu 16-45%, Halleran o.fl., 2017), þarf kálfurinn að fá 2-3 g IgG í broddinum á fyrsta sólarhringnum á hvert kg lífþunga. Þannig þarf 30 kg kálfur að fá 80-90 g IgG, sem gerir 3-3,5 lítra af broddi af þeim gæðum sem mældust í rannsókn Jónu Kristínar Vagnsdóttur (2018). Mikið er til af erlendum rannsóknum en niðurstöður þeirra er ekki hægt að heimfæra á íslenska nautgripi nema gera slíkar athuganir á innlendum efniviði. Mælingar á upptöku íslenskra kálfa á IgG úr broddmjólk geta gefið til kynna hvort erlenda mælikvarða á gæðabrodd megi heimfæra á brodd úr íslenskum kúm.

Markmið

Þegar hefur verið sýnt fram á að í úrtaki íslenskra kúa myndar stórt hlutfall brodd sem er undir erlendum viðmiðum um gæði. Heilbrigði og þroski íslenskra kálfa virðist þó ekki líða fyrir lágan styrk IgG í broddi og bendir til þess að þeir fái almennt nægilega mikið IgG úr broddi miðað við það umhverfi sem ónæmiskerfið þarf að takast á við. Markmið rannsóknarinnar var að mæla styrk IgG í sermi nýfæddra kálfa strax eftir burð og sólarhring eftir að þeir höfðu drukkið ákveðið magn af broddi af þekktum IgG styrk, til þess að meta gæði broddsins fyrir ónæmiskerfi kálfanna.

Efniviður og aðferðir

Öll sýni voru tekin úr íslenskum mjólkurkúm og kálfum þeirra í fjósi Hvanneyrarbúsins ehf., rannsóknarfjósi Lbhí. Skráðar voru athugasemdir um sjúkdóma sem þörfuðust meðhöndlunar hjá

kálfunum fyrsta mánuðinn ef ástæða var til. Blóðsýni voru tekin úr ellefu kálfum strax eftir fæðingu og um sólarhring síðar. Að auki voru tekin 11 broddsýni úr mæðrum kálfanna. Sýnin voru tekin á tímabilinu 28. janúar til 13. mars 2019. Upplýsingar um gripina eru í töflu 1.

Aðstæður á búinu og sýnatökur

Kálfar dvöldust í burðarstíu fyrsta sólarhringinn þar sem þeim var gefið mælt magn af broddi frá móður sinni í tveimur til þremur skömmtum þar til þeir voru settir í um 43 m² hópstíu (8,5m x 5m) með undirburði úr þurru heyi. Sumir kálfanna voru vigtaðir við burðinn (8 kálfar) og aftur um 5 vikna aldur (4 kálfar) vegna annars verkefnis sem þeir tóku þátt í. Tekið var blóðsýni úr kálfunum fljótlega eftir fæðingu (A sýni) og aftur um sólarhring síðar (B sýni) í 9 ml sermisglas (BD Vacutainer, Clot Activator). Glösunum var velt nokkrum sinnum og þau kæld þar til þau komu á Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum. Blóðglösin voru spunnin við 3000 rpm í 10 mínútur við 4°C, 1,5 ml af sermi teknir ofan af og það fryst við -20°C.

Tafla 1: Upplýsingar um 11 kálfa sem rannsakaðir voru í verkefninu.

Sýnisnr. kálfs	Burðar-dagur	Kyn kálfs	Fæðingarþyngd (kg)	Þyngd 5 vikna (kg)	Nr. mjaltaskeiðs móður	Magn brodds drukkið (lítrar)
001	28.01.19	naut	-	-	2	5
002	29.01.19	kvíga	37	51	3	5
003	31.01.19	naut	-	-	1	4
004	08.02.19	kvíga	31	55,5	1	6
005	11.02.19	naut	42	-	2	6,25
006	12.02.19	kvíga	26	45,5	1	5,5
007	15.02.19	naut	32	-	3	5,95
008	23.02.19	kvíga	39	62	6	5,1
009	04.03.19	naut	-	-	5	5,55
010	12.03.19	naut	35,5	-	5	5
011	13.03.19	naut	36	-	1	4,5

Broddi (45-50 ml) úr fyrstu mjöltum eftir burð var safnað og sýnin geymd í frysti við -80°C þar til þau voru mæld. Á ónæmisfræðideild LSH voru þau þídd, tvö 1,9 ml sýni tekin til þess að vinna áfram, og síðan fryst við -70°C þar til IgG mæling með elísuprófi var gerð. Byrjað var á að áætla hæfilega þynningu broddsýnanna með elísuprófi. Í BSc ritgerð Rannveigar Óskar Jónsdóttur (2019) voru sömu sýni einnig mæld með ljósbrotsmæli en í þessari lokaskýrslu eru þær mælingar ekki teknar með, enda ekki hluti af markmiði verkefnisins.

Elísupróf og útreikningar

Notað var samlökuelísupróf sem aðlagð var undir handleiðslu Jónu Freysdóttur á ónæmisfræðideild LSH. Notast var við Bovine IgG DuoSet (DY59030-05) frá R&D Systems^R, Bio-Techne. Hvert sýni var mælt í fjórum til átta þynningum. Niðurstöður voru gefnar upp í mg/ml sem hlutfallslega samsvarar mælieiningunni g/l sem oftast er notuð um brodd.

Notuð var eftirfarandi formúla til þess að áætla frásogshlutfall IgG hjá kálfunum (apparent efficiency of absorption, AEA) en hún er notuð til þess að meta aðfengna ónæmingu (Quigley o.fl, 1998; Berry o.fl., 2014):

$$AEA = (\text{IgG í sermi (g/l)} * \text{blóðmagn í kálfi (l)} / \text{magn IgG drukkið (g)}) * 100$$

Þó svo blóðmagn íslenskra kálfa hafi ekki verið mælt er það þekkt fyrir Jersey og Holstein kálfa (Quigley o.fl., 1998) sem 9-10% af fæðingarpunga kálfsins. Í þessari rannsókn var notast við 9% af fæðingarpunga. Magn IgG sem drukkið var, var reiknað út frá styrk IgG (g/l) í viðkomandi broddi og því magni (í lítrum) sem kálfurinn drakk af viðkomandi broddi.

Tölfræðiútreikningar og skýringarmyndir voru unnin í GraphPad Prism 2019, GraphPad Software Inc.

Niðurstöður

Kálfar drukku að meðaltali 5,26 lítra af broddi fyrsta sólarhringinn í tveimur til þremur skömmtum (1 til 2,75 lítra í senn). Kýrnar voru á ýmsum aldri, fjórar þeirra fyrsta kálfs kvígur og hinar á allt að 6. mjaltaskeiði. Þeir átta kálfar sem voru vigtaðir við burðinn voru að meðaltali 35,75 kg og drukku brodd á bilinu 13-21% af líkamsþyngd sinni. Allir voru kálfarnir heilbrigðir, engir sjúkdómar skráðir, og þeir fjórir sem vigtaðir voru við fimm vikna aldur höfðu þá þyngst um 14-24,5 kg.

IgG styrkur mældur með elísuprófi

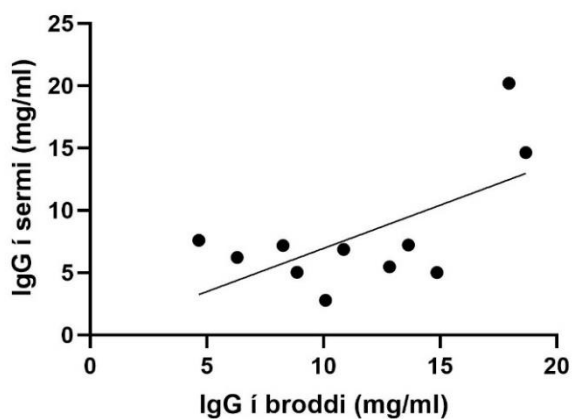
Tafla 2 sýnir niðurstöðu IgG mælingar á sermi kálfa við burð og við sólarhrings aldur, og á broddi sem hver kálfur fékk.

Tafla 2: Styrkur IgG (mg/ml), mældur með elísuprófi, í sermi nýfæddra kálfa, í sermi sömu kálfa sólarhring síðar og í broddi sem hver kálfur fékk.

Númer sýnis	IgG styrkur í sermi kálfa (mg/ml)		IgG styrkur í broddi (mg/ml)
	við burð (A)	sólarhringsgamli (B)	
001	0,007	20,20	17,945
002	0,011	6,22	6,291
003	0,008	5,02	14,860
004	0,013	2,78	10,082
005	0,009	7,19	8,259
006	0,008	14,63	18,67
007	0,012	7,60	4,651
008	0,005	7,22	13,64
009	0,007	6,87	10,857
010	0,014	5,03	8,86
011	0,007	5,46	12,832
Meðalgildi	0,009	8,02	11,54
Staðalfrávik	0,003	5,00	4,52

Marktæk fylgni var milli IgG styrks í broddi og styrks í sermi sólarhrings gamla kálfa ($r^2=0.39$, $p=0.04$), sjá mynd 1.

IgG styrkur í broddi og sermi kálfa sólarhring eftir burð



Mynd 1: Marktæk fylgni var milli styrks IgG í broddi og í sermi sólarhrings gamla kálfa sem drukku viðkomandi brodd. ($R^2=0.39$, $p=0.04$)

Áætlað frásogshlutfall

Reiknað var áætlað frásogshlutfall fyrir þá átta kálfa sem vigtaðir höfðu verið við fæðingu (Tafla 3), með áður nefndri formúlu.

Tafla 3: Áætlað frásogshlutfall (AEA) reiknað út frá neðangreindum gildum fyrir þá 8 kálfa sem voru vigtaðir við fæðingu. $AEA = (IgG \text{ í B sermi (g/l)} * \text{blóðmagn í kálfi (l)}) = \text{magn IgG drukkið (g)} * 100$. Blóðmagn var reiknað sem 9% af líkamsþyngd hvers kálfs og magn IgG sem drukkið var, reiknaðist sem margfeldi broddmagns (l) og IgG styrks í broddi (g/l)..

Númer sýnis	IgG í B sermi (g/l)	Blóðmagn, 9% af þyngd (lítrar)	Drukkið IgG (g)	Áætlað frásog (%)
002	6,452	3,33	31,46	65,8
004	2,598	2,79	60,49	12,8
005	7,185	3,78	51,62	52,6
006	14,634	2,34	102,69	33,3
007	7,594	2,88	27,67	79,0
008	7,215	3,51	69,56	36,4
010	5,268	3,20	44,30	36,3
011	5,463	3,24	57,74	30,7
Meðalgildi				43,36
Staðalfrávik				21,22

Umræður

Þetta er fyrsta rannsóknin sem sýnir IgG nýtingu íslenskra kálfa úr broddi. Meðalstyrkur IgG í sermi kálfa áður en þeir höfðu fengið brodd var 9 ng/ml (+/- 3 ng/ml). Þetta er eins og við mátti búast, því í sermi nýfæddra kálfa má finna allt að 1 mg/ml af IgG (Berry o.fl., 2014), þrátt fyrir að svo stór prótín komist almennt ekki gegnum fylgjuna til fóstursins. Þetta litla magn er þó engan veginn nóg til þess að vernda kálfinn nægilega fyrir sjúkdómsvöldum í umhverfinu (Barrington og Parish, 2001). Meðalstyrkur IgG í sermi sólarhringsgamalla kálfa mældist 8,02 mg/ml (+/- 5,0), hæsti styrkur IgG var 20,20 mg/ml og lægsti 2,78 mg/ml. Þessi meðalstyrkur er heldur lægri en niðurstöður rannsókna á Holstein kálfum í Evrópu og Bandaríkjunum (10,49 mg/ml í Furman-Fratczak o.fl., 2011; 9,42 mg/ml í Russell Sakai o.fl., 2012; 19,0 mg/ml í Morrill o.fl., 2013). Kálfarnir voru heilbrigðir og fengu ekki sjúkdóma sem komu niður á þroska þeirra og þó einungis sé um að ræða ellefu kálfa er þetta vísbending um að 8,02 mg/ml hafi verið nægur styrkur IgG. Kálfarnir voru sjö naut og fjórar kvígur og mæður þeirra voru á fyrsta til sjötta mjaltaskeiði, fjórar þeirra fyrsta kálfs kvígur. Til þess að meta IgG upptöku kálfanna var ekki talið að þyrfti að huga sérstaklega að áhrifum aldurs mæðranna eða kyns kálfanna, þar sem hvert par kýr og kálfs var sérstök rannsóknareining.

Eins og við var að búast út frá fyrri rannsóknum var meðalstyrkur IgG í broddsýnum lægri en þekktist hjá Holstein og Jersey kynjunum (79,48 mg/ml í Furman-Fratczak o.fl., 2011; 72,9 mg/ml í Morrill o.fl., 2015), en í þýskri rannsókn mældist meðalstyrkur IgG í broddi allt niður í 22 mg/ml í kúm af óþekktu ræktunarkyni (Erhard o.fl., 1999). Meðalstyrkur í þessari rannsókn er þannig aðeins rúmlega helmingur þess sem lægst gerist í áður nefndum rannsóknum. Hæsti styrkur var 17,95 mg/ml og lægsti styrkur var 4,65 mg/ml. Slíkur breytileiki þekktist úr öðrum rannsóknum á fyrsta broddi eftir burð, til dæmis frá 13 mg/ml til 154 mg/ml hjá Jersey kúm (Morrill o.fl., 2015) og 5 g/l til 129 g/l hjá rauða norska kyninu (Johnsen o.fl., 2019). Í þessari rannsókn var fylgni milli styrks IgG í broddi og í sermi kálfa sólarhring eftir burð. Samkvæmt Erhard o.fl. (1999) var ekki mikil fylgni milli IgG styrks í broddi og í sermi kálfa sólarhring eftir burð en ekki kemur fram hvort kálfarnir voru allir á sama búi eða hvort um aðra orsakabætti, svo sem áhrif smits í umhverfinu, erfðir og fleira gæti verið að ræða. Markmið þessarar rannsóknar var þó ekki að greina áhrifaþætti á styrk IgG í broddi íslenskra kúa.

Markmið rannsóknarinnar var að kanna hvort hið lága hlutfall IgG í broddi íslenskra kúa dygði samt til þess að kálfar tækju nóg magn upp með broddinum, sem skilaði sér í viðunandi styrk IgG í sermi. Til þess var reiknað út áætlað frásogshlutfall, þ.e. hversu stórt hlutfall af IgG sem innbyrt var, skilaði sér yfir í blóðrásina. Áætlað frásogshlutfall var reiknað út frá þeim átta kálfum sem vigtaðir höfðu verið við fæðingu, en æskilegt hefði verið að allir kálfar hefðu verið vigtaðir. Þessi útreikningur er þó, eins og nafnið bendir til, aðeins áætlun, einnig vegna þess að ekki er vitað hvert blóðhlutfall íslenskra kálfa er. Frásogshlutfallið var dreift, frá 12,8% til 79%, en meðalgildið var 43,4% (+/- 21,2%). Dreifðum gildum sem þessum hefur einnig verið lýst hjá Holstein kálfum (Halleran o.fl., 2017), sem tengt hefur verið þörfinni fyrir meiri broddgjöf og markvissa ræktun. Í þeirri rannsókn var meðalgildið 28,1% (+/- 9,5%) sem er talsvert lægra en niðurstöður þessarar rannsóknar. Rannsókn Halleran o.fl. (2017) tók til 100 kálfa á 5 búum og notuð var RIA aðferð, en ekki elísupróf til að greina IgG í sýnunum og þessar rannsóknir því ekki alveg sambærilegar.

Eitt af því sem bændur geta gert er að tryggja að kálfar fái nægilegt magn af broddi. Conneely o.fl. (2014) rannsökuðu áhrif broddmagns sem kálfar drukku, á áætlað IgG frásog. Þeir kálfar sem fengu brodd sem svaraði 10% líkamsþyngdar þeirra, frásoguðu að meðaltali 29% IgG en þeir sem fengu 8,5% líkamsþyngdar frásoguðu að meðaltali 38%. Það lítur því út fyrir að IgG frásog kálfanna í rannsókninni á Hvanneyrarbúinu (að meðaltali 43%) hafi verið fullnægjandi miðað við erlendar rannsóknir. Drukku þeir þó á bilinu 13-21% af líkamsþyngd sinni á fyrsta sólarhringnum, deilt á tvö til þrjú skipti. Tiltölulega lágur styrkur IgG í blóðrás þeirra er líklega nægur í því umhverfi sem þeir alast upp í, þar sem ekki er mikið um sjúkdómsvaldandi bakteríur og veirur. Ýmsir þættir geta aukið hættuna á ónæmingarbresti, svo sem bakteríumengun broddsins (Poulsen o.fl., 2010), burðarerfiðleikar og þar með lítill lífvænleiki kálfsins (Furman-Fratczak o.fl., 2011). Líttill lífvænleiki hefur bæði áhrif á hversu mikinn brodd kálfurinn

getur drukkið en einnig er talið að almennt ástand kálfsins og ástand efnaskipta geti haft áhrif á frásog IgG í þörmunum eins og kemur fram í yfirlitsgrein Weaver o.fl. (2000). Conneely o.fl. (2014) ályktuðu einnig af sinni rannsókn að þeir kálfar sem fengu brodd á fyrstu tveimur klukkustundunum eftir burð, voru með hærra frásogshlutfall, en eftir það þurfti broddurinn að innihalda hlutfallslega meira IgG til þess að svipuðum styrk var náð í sermi. Æskilegt er einnig að fylla ekki vinstrina um of í hverri gjöf, heldur gefa oftar á fyrsta sólarhringnum og minna í senn, til þess að tryggja skjótara rennsli broddsins yfir í þarmana (Chigerwe o.fl., 2008).

Ályktun og ráðleggingar til bænda

Niðurstöður rannsóknarinnar sýna að áætlað frásog íslenskra kálfa á IgG úr broddi sé eins og best gerist hjá erlendum nautgripakynjum. Einnig má ganga út frá því að almennt skili sér nægilegt magn IgG í blóðrásina þrátt fyrir lágan meðalstyrk IgG í broddi. Í þessari rannsókn var elísupróf notað til þess að mæla styrk IgG í broddi og sermi. Elísupróf hafa þann ókost að þau er ekki hægt að framkvæma á búinu. Erlendis eru bændur hvattir til þess að nota ljósbrotsmælingu, sem er ónákvæm aðferð, þar sem hún metur þéttni vökva óháð því hvaða leyst efni eru í honum. Í rannsókn Jónu Kristínar Vagnsdóttur (2018) á hagnýtu gildi ljósmælinga á íslenskum broddi kom fram að marktæk fylgni ($p < 0.01$, $r^2 = 0.43$) var milli mæliaðferðanna tveggja, þó fylgnin hafi verið talsvert minni en í erlendum rannsóknum. Út frá niðurstöðum rannsóknarinnar er hægt að mæla með því við bændur að ljósbrotsmæla brodd á sínu bú, skrá niður og safna þannig gögnum um gæði brodds hjá þeirra kúm. Þó svo rannsóknir bendi til að ljósbrotsmælingin gefi ónákvæmari niðurstöðu um IgG styrk í íslenskum broddi getur hver bóndi með þeirri aðferð áttað sig á, hvað er góður broddur og hvað sé lélegri broddur í viðkomandi hjörð. Þegar það fer að skýrast getur bóndinn safnað besta broddinum á sínu bú og fryst til að geta gefið kálfum sem ekki býðst góður broddur hjá móður sinni. Einnig er mikilvægt að gefa fyrsta skammt af broddi sem fyrst, helst tveimur klst. eftir burðinn, og endurtaka broddgjöfina alla vega tvisvar í viðbót á fyrsta sólarhringnum, þannig að 5-6 lítrar séu gefnir í þremur skömmtum.

Heimildir

Alberghina D., Giannetto C., Vazzana I., Ferrantelli V. og Piccione G. (2011). Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows. *J Vet Diagn Invest* **23**:111–114.

- Arthington J., Cattell M.B. og Quigley J.D. (2010). Effect of dietary IgG source (colostrum, serum, or milk-derived supplement) on the efficiency of Ig absorption in newborn Holstein calves. *J Dairy Sci* **83**(7):1463–1467.
- Barrington G.M. og Parish S.M. (2001) Bovine neonatal immunology. *Vet Clin N Am-Food A* **17**(3):463–476.
- Berry D., Doherty M., Murphy J., Conneely M., Kennedy E. og Lorenz I. (2014). Effect of feeding colostrum at different volumes and subsequent number of transition milk feeds on the serum immunoglobulin G concentration and health status of dairy calves. *J Dairy Sci*, **97**(11):6991–7000.
- Buczinski S. og Vandeweerd J.M. (2016). Diagnostic accuracy of refractometry for assessing bovine colostrum quality: A systematic review and meta-analysis. *J Dairy Sci* **99**(9):7381-7394.
- Chigerwe M., Tyler J.W., Schultz L.G., Middleton J.R., Steevens B.J. og Spain J.N. (2008). Effect of colostrum administration by use of oroesophageal intubation on serum IgG concentrations in Holstein bull calves. *Am J Vet Res* **69**:1158–1163.
- Conneely M., Berry D.P., Murphy J.P., Lorenz I., Doherty M.L og Kennedy E. (2014). Effect of feeding colostrum at different volumes and subsequent number of transition milk feeds on the serum immunoglobulin G concentration and health status of dairy calves. *J Dairy Sci* **97**:6991-7000.
- Erhard M., Amon, P., Younan M., Ali Z. og Stangassinger M. (1999). Absorption and synthesis of Immunoglobulins G in newborn calves. *Reprod Dom Anim* **34**(3-4):173–175.
- Furman-Fratczak K., Rzas A. og Stefaniak T. (2011). The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *J Dairy Sci* **94**:5536-5543.
- Gapper L.W., Copestake D.E.J., Otter D.E. og Indyk H.E. (2007). Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. *Anal Bioanal Chem* **389**(1):93–109.
- Godhia M.L. og Patel N. (2013). Colostrum – its composition, benefits as a nutraceutical – A Review. *Curr Res Nutr Food Sci* **1**(1): 37-47.
- Halleran J., Sylvester H.J. og Foster D.M. (2017). Apparent efficiency of colostrum immunoglobulin G absorption in Holstein heifers. *J Dairy Sci* **100**(4):3282-3286.
- Horlock, C. (á.d). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). British Society for Immunology.
- Hurvell B. og Fey H. (1970). Comparative studies on the gammaglobulin level in sera of market calves in relation to their health. *Acta Vet Scand* **11**:341–360.
- Johnsen J.F., Sørby J., Mejdell C.M., Sogstad Å.M., Nødtvedt A. og Holmøy I.H. (2019). Indirect quantification of IgG using a digital refractometer, and factors associated with colostrum quality in Norwegian Red Cattle. *Acta Vet Scand* **61**:59-67.
- Jóna Kristín Vagnsdóttir (2018). Gæði broddmjólkur íslenskra mjólkurkúa. BSc ritgerð. Landbúnaðarháskóli Íslands. <http://hdl.handle.net/1946/30673>
- McGrath B.A., Fox P.F., McSweeney P.L.H. og Kelly A.L. (2016). Composition and properties of bovine colostrum: a review. *Dairy Sci & Technol* **96**, 133–158.
- Morrill K.M., Polo J., Lago A., Campbell J., Quigley J. og Tyler H. (2013). Estimate of serum immunoglobulin G concentration using refractometry with or without caprylic acid fractionation. *J Dairy Sci* **96**:4535-4541.

- Morrill K.M., Robertson K.E., Spring M.M., Robinson A.L. og Tyler H.D. (2015). Validating a refractometer to evaluate immunoglobulin G concentration in Jersey colostrum and the effect of multiple freeze–thaw cycles on evaluating colostrum quality. *J Dairy Sci* **98**:1–7.
- Muller L. og Ellinger D. (1981). Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J Dairy Sci* **64**(8):1727–1730.
- Poulsen K.P., Foley A.L., Collins M.T. og McGuirk S.M. (2010). Comparison of passive transfer of immunity in neonatal dairy calves fed colostrum or bovine serum-based colostrum replacement and colostrum supplement products. *J Am Vet Med Assoc* **237**(8): 949–954.
- Pross S. og Grattendick K. (2007) Immunoglobulins. Elsevier Inc.
- Quigley J.D., Lago A., Chapman C., Erickson P. og Polo J. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J Dairy Sci* **96** :1148–1155.
- Quigley J. (2001). Calf note #02 – Colostrum feeding – how much is enough? <https://www.calfnotes.com/pdf/CN002.pdf>
- Quigley J., Drewry J. og Martin K. (1998). Estimation of plasma volume in Holstein and Jersey calves. *J Dairy Sci* **81**(5):1308–1312.
- Rannveig Ósk Jónsdóttir (2019). Immunoglobulin G in calf serum and bovine colostrum in Icelandic cattle. BSc ritgerð. Háskóli Íslands. <http://hdl.handle.net/1946/33347>
- Russell Sakai R., Coons D.M. og Chigerwe M. (2012). Effect of single oroesophageal feeding of 3 L versus 4 L of colostrum on absorption of colostral IgG in Holstein bull calves. *Livest Sci* **148**(3):296-299.
- Simister, N.E. (2003). Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine* **21**(24):3365–3369.
- Stelwagen K., Carpenter E., Haigh B., Hodgkinson A. og Wheeler T.T. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk1. *J Anim Sci*, **87**(suppl 13):3–9.
- Tyler J.W., Hancock D.D., Parish S.M., Rea D.E., Besser T.E., Sanders S.G. og Wilson L.K. (1996). Evaluation of 3 Assays for Failure of Passive Transfer in Calves. *J Vet Intern Med* **10**(5):304-307.
- Weaver D.M., Tyler J.W., VanMetre D.C., Hostetler D.E. og Barrington G.M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. Review. *J Vet Intern Med* **14**:569-577.