

Ternivasikoiden seerumin totaaliproteiinipitoisuuden mittaaminen refraktometrillä - pilottitutkimus

Mirjami Neuvonen¹, Kaisa Hartikainen¹, Hilikka Kämäräinen¹, Risto Kauppinen¹, Arja Korhonen¹, Pirjo Suhonen¹, Petri Kainulainen¹, Arto Huuskonen², Tuomas Herva³

1) Savonia-ammattikorkeakoulu, PL 72 74101 Iisalmi, etunimi.sukunimi@savonia.fi

2) MTT Kotieläintuotannon tutkimus, Halolantie 31 A 71750 Maaninka

3) AtriaNauta, Härkätie 1 90400 Oulu

Tiivistelmä

Naudan istukka ei läpäise vasta-aineita, ja tästä syystä niitä on vastasyntyneen vasikan veressä vain vähän. Emon vasta-aineita erittyy sen ternimaitoon. Vasikan ternimaidosta saamat vasta-aineet suojaavat sitä ulkoisia taudinaiheuttajia vastaan ensimmäisten elinviikkojen ajan. Ternimaidosta vasikan seerumiin imeytyvien vasta-aineiden vasikalle antamasta suojasta käytetään nimitystä passiivinen immunitetti. Ternimaitojuoton onnistumista voidaan seurata mittaamalla vasikan seerumin IgG₁(immunoglobuliini₁)-pitoisuus joko suorilla tai epäsuorilla menetelmillä. Epäsuorasti IgG₁-pitoisuutta voidaan mitata muun muassa seerumin totaaliproteiinin avulla. Totaaliproteiinipitoisuutta voidaan mitata ominaispainomittarin eli refraktometrin avulla.

InnoNauta-hankkeen yhteydessä toteutettiin pilottitutkimus vasikoiden seerumin totaaliproteiinin määrittämisestä refraktometrillä. Pilottitutkimuksen aineisto kerättiin Atrian ternivasikkakasvattamoon tulleista välitysvasikoista nupoutuskäynnin yhteydessä. Tutkimuksen tarkoituksena oli mitata ternimaitojuoton onnistumista totaaliproteiinipitoisuuksien avulla välitysvasikoilta.

Tutkimuksen aineiston keruu toteutettiin ottamalla verinäytteet 64 välitysvasikalta totaaliproteiinin mittaamista varten. Totaaliproteiini määritettiin veren seerumista RHC-200ATC-refraktometrillä. Määrittämistä varten verinäytteitä seisotettiin jääkaappilämpötilassa noin vuorokauden ajan, jolloin seerumi erottui putkien yläosaan. Refraktometriin asetettu seeruminäyte tulkittiin refraktometrin näyttämän asteikon perusteella. Näytteen tuloksena refraktometri ilmoitti totaaliproteiinien määrän välillä 0–12 mg/dl (0–120 g/l) yhden desimaalin tarkkuudella. Vasikoiden totaaliproteiinipitoisuudet vaihtelivat välillä 38,0–64,0 g/l. Totaaliproteiinipitoisuuksien keskiarvo oli 48,4 g/l, mediaani oli 48,0 g/l ja keskihajonta oli 4,74.

Seerumin totaaliproteiinipitoisuutta 50 g/l pidetään yleisesti riittävän hyvän passiivisen immunitetin rajana nuorilla, alle 10 vuorokauden ikäisillä vasikoilla. Tätä raja-arvoa käyttämällä 59,4 % tutkimuksen vasikoista kärsi puutteellisesta passiivisesta immunitetistä. Tässä tutkimuksessa olleiden vasikoiden ikäkauma oli 17 – 54 vuorokautta keskiarvon ollessa 29,8 vuorokautta, mediaanin 28,5 vuorokautta sekä keskihajonnan 8,2 vuorokautta. Näin vanhoilla vasikoilla seerumin totaaliproteiinipitoisuuksia on tutkittu vähemmän, mutta tutkimukset viittaavat siihen että 30 vuorokauden ikäisillä vasikoilla puutteellisen passiivisen immunitetin raja-arvo 45 g/l olisi oikeampi. Tätä raja-arvoa käyttämällä 21,9 % tutkituista vasikoista kärsi puutteellisesta passiivisesta immunitetistä.

Asiasanat: Immunoglobuliini, refraktometri, totaaliproteiini, vasikka, vasta-aineet

Johdanto

Naudan istukka ei läpäise vasta-aineita, ja tästä syystä niitä on vastasyntyneen vasikan veressä vain vähän. Emon vasta-aineita erittyy sen ternimaitoon. Vasikan ternimaidosta saamat vasta-aineet suojaavat sitä ulkoi-sia taudinaiheuttajia vastaan ensimmäisten elinviikkojen ajan. Ternimaidosta vasikan seerumiin imeytyvien vasta-aineiden vasikalle antamasta suojasta käytetään nimitystä passiivinen immunitteetti.

Ternimaitojuoton onnistumista voidaan seurata mittaamalla vasikan seerumin IgG₁(immunoglobuliini-G₁)-pitoisuus joko suorilla tai epäsuorilla menetelmillä. Epäsuorasti IgG₁-pitoisuutta voidaan mitata muun muassa seerumin totaaliproteiinin avulla. Refraktometriä eli ominaispainomittaria voidaan käyttää epäsuora-na menetelmänä mitattaessa seerumin totaaliproteiinipitoisuutta. Neonataalisilla vasikoilla refraktometrillä saadaan määritettyä immunoglobuliineja kuvaava tulos totaaliproteiinin määrittämisellä, koska seerumin protei-neista valtaosa on tuolloin immunoglobuliineja, sekä muiden proteiinien osuus on vakaa.

Totaaliproteiinipitoisuuden vaikutusta kuolleisuuteen on tutkittu vasikoilla 16 viikon ikään asti ja on havaittu alhaisen totaaliproteiinipitoisuuden lisäävän huomattavasti kuolleisuusriskiä. Vasta seerumin totaa-liproteiinipitoisuuden ollessa yli 50g/l päästiin kuolleisuudessa alle 10 % ja yli 55g/l päästiin alle 5 %. Kui-tenkin vain 39 % kuolemista selittyi alhaisella totaaliproteiinipitoisuudella.

Pilottitutkimuksen tavoitteena oli selvittää ternimaitojuoton onnistumista seerumin totaaliproteiinin määrittämisellä. Vasikkakuolleisuus ja sairaudet heikentävät naudanlihantuotannon kannattavuutta, jol-loin terveillä vasikoilla voidaan vaikuttaa kannattavuuteen. Nuorilla 1-10 vrk ikäisillä vasikoilla totaaliprote-iinipitoisuutta voidaan pitää hyvänä kun se on yli 50g/l. Välitysvasikat ovat huomattavasti vanhempia, joten totaaliproteiinipitoisuutta on syytä verrata vasikoiden ikään.

Aineisto ja menetelmät

Tutkimuksen tarkoituksena oli mitata ternimaitojuoton onnistumista totaaliproteiinipitoisuuksien avulla väli-tysvasikoilta. Tutkimusmenetelmänä oli kvantitatiivinen tutkimus totaaliproteiinipitoisuuksien määrittämisessä. Kvantitatiivisena, selittävänä tutkimuksena pyrittiin selvittämään syy- ja seuraussuhdetta vasikoiden to-taaliproteiinipitoisuuksille.

Tutkimuksen aineiston keruu toteutettiin ottamalla 64 välitysvasikalta verinäytteet totaaliproteiinin mittaamista varten nupoutuksen yhteydessä. Totaaliproteiini määritettiin veren seerumista RHC-200ATC-refraktometrillä. Määrittämistä varten verinäytteitä seisotettiin jääkaappilämpötilassa noin vuorokauden ajan, jolloin seerumi erottui putkien yläosaan. Refraktometriin asetettu seeruminäyte tulkittiin refraktometrin näyt-tämän asteikon perusteella. Näytteen tuloksena refraktometri ilmoitti totaaliproteiinien määrän välillä 0-12 mg/dL yhden desimaalin tarkkuudella. Verinäytteiden oton yhteydessä vasikkakorteista kerättiin kaikki tar-vittavat tiedot ylös.

Tutkimuksessa muuttujana käytettiin totaaliproteiinipitoisuutta ja vasikoiden ikää. Tutkimusaineiston käsittelyssä käytettiin SPSS-tilastonkäsittelyohjelmistoa. Aineistosta laskettujen keskiarvojen jälkeen lasket-tiin muuttujille korrelaatiokerroin Pearsonin testin avulla. InnoNauta-hankeen puolesta kootun aineiston kä-sittely tehtiin keväällä 2011. Käsittelyssä ja analysoinnissa huomioitiin pilottinäytteen otoskoko. Aineistoa käsiteltäessä totaaliproteiinipitoisuudet muutettiin mg/dL:sta muotoon g/l. Merkitsevyytensä käytettiin 0,05 eli 5 %. Tutkimuksen tulokset esitettiin prosentuaalisesti vaihteluväleinä, keskiarvoina, keskihajontoina, mediaaneina, taulukkona sekä kuvioina.

Tutkimuksen validiteettia arvioitaessa huomioitiin tutkimuksen pilottimaisuus tavoitteena selvittää tu-levien tutkimuksien muuttujia. Muuttujista iän tarkka rajausta lisäisi tutkimuksen validiteettia, myös tarkka rajausta vasikkaryhmän osalta lisäisi pätevyyttä. Tutkimuksen osalta 64 vasikan otoskoko on pieni, jolloin tuloksien reliabiliteetti kärsii. Pienen otoskoon vuoksi tuloksia ei voida verrata muihin tutkimuksiin, otok-seen valittu joukko kuvasi kuitenkin hyvin normaalia perusjoukkoa. Tutkimuksessa ei muuttujia vertailtu iän ja totaaliproteiinin lisäksi, sillä otoskoosta saadut vastaukset eivät olisi riittäneet luotettavaan vertailuun. Tutkimuksen tuloksien osalta päädyttiin esittelemään saadut tulokset pilottina.

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Tuloksia käsiteltiin tässä otoskoossa totaaliproteiinipitoisuuden ja iän kohdalla kaikkien 64 vasikan osalta. Totaaliproteiinipitoisuudet luokiteltiin <40, 40–44,9, 45–49,9, 50–54,9, 55–59,9 ja >60 g/l. Vasikoiden totaa-liproteiinipitoisuudet vaihtelivat välillä 38,0–64,0 g/l (taulukko 1). Totaaliproteiinipitoisuuksien keskiarvo oli 48,4 g/l, mediaani oli 48,0 g/l ja keskihajonta oli 4,74. Vasikoiden totaaliproteiinipitoisuus luokitui ylei-simmin välille 45–49,9 g/l, joka on alle 50 g/l mitä pidetään passiivisen immunitteetin puutteen alarajana.

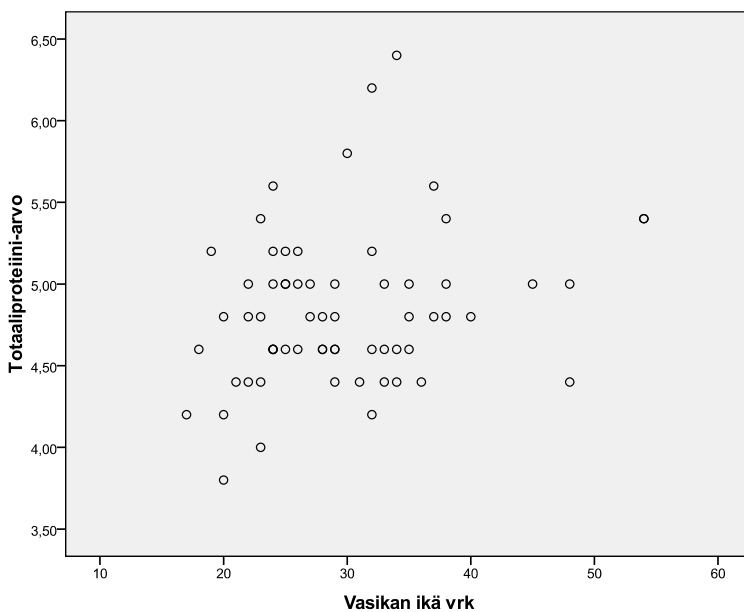
Passiivisen immunitetin puutosta havaittiin siis 59,4% vasikoista. Vasikoista vain 40,6 %:lla seerumin totaaliproteiinipitoisuus oli riittävän korkea. Näin vanhoilla vasikoilla seerumin totaaliproteiinipitoisuuksia on tutkittu vähemmän, mutta tutkimukset viittaavat siihen että 30 vuorokauden ikäisillä vasikoilla puutteellisen passiivisen immunitetin raja-arvo 45 g/l olisi oikeampi. Tätä raja-arvoa käyttämällä 21,9 % tutkituista vasikoista kärsi puutteellisesta passiivisesta immunitetistä.

TAULUKKO 1. Vasikoiden totaaliproteiinipitoisuudet

Totaaliproteiinipitoisuus g/l	Vasikoita kpl	%
Alle 40	1	1,6
40–44,9	13	20,3
45–49,9	24	37,5
50–54,9	21	32,8
55–59,9	3	4,7
60 tai yli	2	3,1

Tutkimuksessa olleiden vasikoiden ikäjakauma oli 17–54 vuorokautta (kuvio 10). Vasikoiden iän keskiarvo oli 29,8 vuorokautta, mediaanin ollessa 28,5 vuorokautta sekä keskihajonnan ollessa 8,2 vuorokautta. Vasikan iän suhde totaaliproteiinipitoisuuteen on havaittavissa tässäkin otoskoossa. Korrelaatiokerroin (0,276; $P=0,033$) on merkitsevä totaaliproteiinin noudessa vasikan iän myötä.

KUVIO 10. Vasikoiden totaaliproteiinipitoisuudet iän mukaan

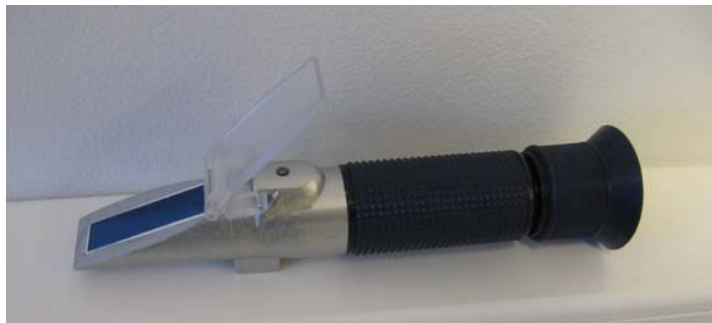


Johtopäätökset

Pilottitutkimuksessa iällä havaittiin olevan merkitystä totaaliproteiinipitoisuuteen näinkin pienessä otoskoossa. Korrelaatiokerroimen (0,276; $P=0,033$) ollessa merkitsevä havaittiin totaaliproteiinipitoisuuden nousevan vasikan iän myötä. Syynä tämän voidaan pitää alkavaa aktiivisen immunitetin kehittymistä.

Seerumin totaaliproteiinipitoisuutta 50 g/l pidetään hyvän passiivisen immunitetin rajana nuorilla, alle 10 vuorokauden ikäisillä vasikoilla. Tätä raja-arvoa käyttämällä 59,4 % tutkimuksen vasikoista kärsi puutteellisesta passiivisesta immunitetistä. Tässä tutkimuksessa olleiden vasikoiden ikäjakauma oli 17 – 54 vuorokautta keskiarvon ollessa 29,8 vuorokautta, mediaanin 28,5 vuorokautta sekä keskihajonnan 8,2 vuorokautta. Näin vanhoilla vasikoilla seerumin totaaliproteiinipitoisuuksia on tutkittu vähemmän, mutta tutkimukset viittaavat siihen että 30 vuorokauden ikäisillä vasikoilla puutteellisen passiivisen immunitetin raja-arvo 45 g/l olisi oikeampi. Tätä raja-arvoa käyttämällä 21,9 % tutkituista vasikoista kärsi puutteellisesta passiivisesta immunitetistä.

Jatkossa tutkimusta on tarkoitus suunnata nuorempiin alle 10 vrk ikäisiin vasikoihin jolloin ternimaidon juoton onnistumisesta saatava tulos on luotettavampi kuin vanhemmilla vasikoilla.



KUVA 1. Refraktometrin lasille asetetaan tutkittava näyte, jonka jälkeen katsotaan toisesta päästä tulos asteikolta. Valokuva Kaisa Hartikainen 2011

Kirjallisuus

Calloway, C. D., Tyler, J. W., Tessman, R. K., Hostetler, D., Holle, J. 2002. Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. Teoksessa: JAVMA, Nro. 11: 1605 s.

Fairut CA, Loaiza V, Campos GR. 2009. Assessment of the passive transference of immunity in calves through metabolic indicators. Acta Agronomi Nro. 58: 174-9 s.

Heikkilä, T. 2008. 7. painos, Tilastollinen tutkimus. Helsinki. Edita. 15–17, 29–31, 90, 186–187, 195 s.

Lee SH, Jaekal CS, Bae BH, Chung SC, Yun MJ, Gwak GJ ym. 2008. Enzyme-linked immunosorbent assay, single radial immunodiffusion, and indirect methods for the detection of failure of passive transfer of passive immunity in dairy calves. J Vet Intern Med. Nro 22: 212-8 s.

Radostitis OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. 2007. Chapter 3: Diseases of the newborn. Kirjassa: Veterinary medicine. 10. painos. Saunders Elsevier; Spain, 149-57 s.

Tyler, J. W., Hancock, D. D., Thorne, J. G., Gay, C. C., Gay, J. M. 1999. Partitioning the Mortality Risk Associated with Inadequate Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Dairy Calves. Teoksessa: J Vet Intern Med. Nro 13: 335-336 s.

Wallace MM, Jarvie BD, Perkins NR, Leslie KE. 2006. A comparison of serum harvesting methods and type of refractometer for determining total solids to estimate failure of passive transfer in calves. Can Vet J. Nro. 47: 573-5 s.