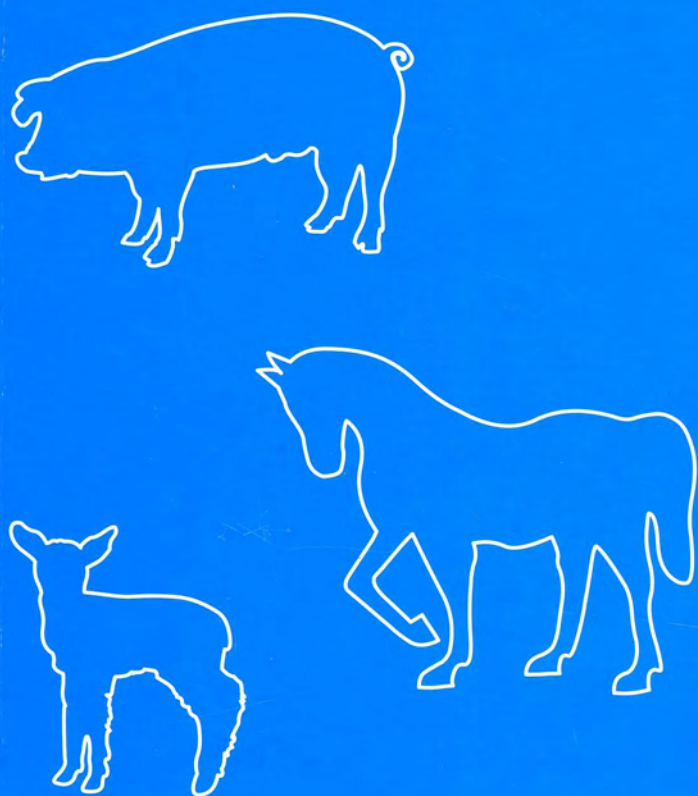


# VETERINĀRMEDICĪNAS RAKSTI



2008



ISSN  
1407 - 1754

LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE  
VETERINĀRMEDICĪNAS FAKULTĀTE

LATVIAN UNIVERSITY OF AGRICULTURE  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

# **Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna.**

# **Animals. Health. Food Hygiene.**

**Starptautiskās zinātniskās konferences RAKSTI**  
Jelgava, 2008. gada 14. novembrī

**International scientific conference PROCEEDINGS**  
14<sup>th</sup> November, 2008, Jelgava, Latvia

**JELGAVA  
2008**

## **Redkolēģija** **Editorial Board**

**Ilkka Alitalo**, PhD, profesors, Helsinku Universitāte (Somija)  
PhD, professor, University of Helsinki (Finland)

**Toivo Järvis**, PhD, profesors, Igaunijas Dabas zinātņu universitāte (Igaunija)  
PhD, professor, Estonian University of Life Sciences (Estonia)

**Henrikas Žilinskas**, Dr.habil.med.vet., profesors, Lietuvas Veterinārā akadēmija (Lietuva)  
Dr.habil.med.vet., professor, Lithuanian Veterinary Academy (Lithuania)

**Vidmantas Bižokas**, Dr.habil.med.vet., profesors, Lietuvas Veterinārā akadēmija (Lietuva)  
Dr.habil.med.vet., professor, Lithuanian Veterinary Academy (Lithuania)

**Stephan Steinlechner**, Dr.med.vet., profesors, Hanoveras Veterinārā augstskola, Zooloģijas institūts (Vācija)  
Prof. Dr., professor, Institut für Zoologie Tierärztliche Hochschule Hannover (Germany)

**Edīte Birģele**, Dr.habil.biol., profesore, LZA korespondētājlocekle, Latvijas Lauksaimniecības universitāte (Latvija)  
Dr.habil.biol., professor, corresponding member of Latvian Academy of Sciences, Latvian University of Agriculture (Latvia)

**Vita Antāne**, Dr.med.vet., asociētā profesore,  
Latvijas Lauksaimniecības universitāte (Latvija)  
Dr.med.vet., assoc.professor, Latvian University of Agriculture (Latvia)

**Zigmunds Brūveris**, Dr.habil.med.vet., profesors,  
Latvijas Lauksaimniecības universitāte (Latvija)  
Dr.habil.med.vet., professor, Latvian University of Agriculture (Latvia)

**Alberts Auzāns**, Dr.med.vet., asociētais profesors,  
Latvijas Lauksaimniecības universitāte (Latvija)  
Dr.med.vet., assoc.professor, Latvian University of Agriculture (Latvia)

Atbildīgais par izdevumu / Responsible for edition **Vita Antāne**  
Izdevuma redaktore / Editor of edition **Melita Parčinska**  
Maketētāja / Layout design **Daiga Rudēvica**

Visi krājumā ievietotie raksti ir recenzēti.  
All articles are reviewed.



Starptautiskās zinātniskās konferences „Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna” ģenerālsponsors

## SATURS TABLE OF CONTENTS

SEROLOGICAL MONITORING OF AVIAN PNEUMOVIRUS IN LITHUANIA PUTNU PNEIMOVĪRUSU SEROLOĢISKĀ KONTROLE LIETUVĀ <b>I. Aleksėjūnienė, A. Aleksėjūnas, V. Sereika, J. Šilkūnaitė</b> .....	5
DAŽĀDU ANESTĒZIJAS LĪDZEKĻU IETEKME UZ SIRDS BIOPOTENCIĀLU IZMAIŅĀM SUŅIEM CHANGES OF CARDIAC BIOPOTENTIALS IN DOGS SUBJECTED TO VARIOUS ANAESTHESIA <b>G. Avdoško, E. Birģele</b> .....	10
<i>HELICOBACTER</i> SPP. MĀJAS SUŅU ( <i>CANIS FAMILIARIS</i> ) KUŅĢA GĻOTĀDĀ <i>HELICOBACTER</i> SPP. IN THE GĀSTRIC MUCOSA OF DOMESTIC DOGS ( <i>CANIS FAMILIARIS</i> ) <b>D. Bėrziņa, E. Birģele</b> .....	18
SMILTSĒRKŠĶU BLAKUSPRODUKTU PIEDEVU IZĒDINĀŠANAS IETEKME UZ ĶĒVJU UN KUMEĻU ASINS BIOĶĪMISKIEM RĀDĪTĀJIEM INFLUENCE OF THE SEA BUCKTHORN BY-PRODUCTS ON THE MARE AND FOAL BLOOD BIOCHEMICAL INDICES <b>S. Bula, U. Osītis</b> .....	24
LIGZDOJOŠO SIBĪRIJAS ZĪLĪŠU <i>PARUS CINCTUS</i> HEMATOĢOĢISKIE PARAMETRI, ASINS PARAZĪTU PREVALENCĒ UN TO SAISTĪBA AR PARAZITĒMIJAS INTENSITĀTI BLOOD PARASITES PREVALENCĒ AND HEMATOLOGICAL HEALTH INDICES OF BREEDING SIBERIAN TITS <i>PARUS CINCTUS</i> <b>D. Cīrule, V. Suraka</b> .....	29
MAKROSKOPISKĀS UN HISTOLOĢISKĀS IZMAIŅAS TRUŠU VĒDERA DOBUMĀ PĒC TRUČU IELĀPU IMPLANTĀCIJAS MACROSCOPICAL AND HYSTOLOGICAL CHANGES IN ABDOMINAL CAVITY OF RABBITS AFTER IMPLANTATION OF THE HERNIAL MESH <b>K. Drevinska, A. Auzāns, V. Kanceviča</b> .....	31
STRAUSA ( <i>STRUTHIO CAMELUS VAR. DOMESTICUS</i> ) DZELTENUMA MAISA UN KUŅĢA MORFOMETRISKIE UN MASOMETRISKIE RĀDĪTĀJI AGRĪNAJĀ POSTNATĀLAJĀ ONTOĢENĒZĒ MORPHOMETRICAL AND MASSOMETRICAL PARAMETERS OF THE YOLK SAC AND THE STOMACH IN THE OSTRICH ( <i>STRUTHIO CAMELUS VAR. DOMESTICUS</i> ) EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS <b>I. Dūrītis, A. Mugurėvičs, I. Bundze Zdanovska</b> .....	36
THE BOVINE LINGUAL TONSIL – A SPECIFIED RISK MATERIAL (SRM) GOVJU MĒLES MANDELE – SPECIFISKS RISKĀ MATERIĀLS (SRM) <b>H. Gasse</b> .....	41
RAPŠA RAUŠU IZĒDINĀŠANAS IETEKME UZ GOVJU SPUREKĻĀ DAŽIEM FUNKCIONĀLĀ STĀVOKĻĀ RĀDĪTĀJIEM INFLUENCE RAPESEED OIL CAKE FEEDING ON SOME FUNCTIONAL STATUS INDICES OF COWS RUMEN <b>D. Ikauniece, E. Birģele</b> .....	43
PREVELENCĒ AND CONTROL MEASURES OF INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS IN LITHUANIA GOVJU INFEKCIUZĀ RINOTRACHEĪTA IZPLATĪBA UN KONTROLE LIETUVĀ <b>E. Jacevičius, A. Šalomskas, J. Milius, S. Petkevičius, R. Mockeliūnas, I. Jacevičienė, R. Lelešius, G. Pridotkas</b> .....	49
PIG ENDOPARASITES IN ESTONIA CŪKU ENDOPARAZĪTI IGAUNIJĀ <b>T. Järvis, E. Mägi</b> .....	54

ZILĀS MĒLES SLIMĪBAS IZPLATĪBAS RISKS LATVIJĀ: VEKTORU – <i>CULICOIDES</i> ĢINTS MIGEĻU SUGU SASTOPAMĪBA BLUE TONGUE VIRUS DISTRIBUTION RISK IN LATVIA: OCCURRENCE OF VECTORS - BITING MIDGE SPECIES OF THE GENUS <i>CULICOIDES</i> <b>G. Jaunbauere, I. Rodze, V. Spuņģis</b> .....	59
BRIEŽU UN LIELLOPU METABOLISKO PROCESU UN GAĻAS KVALITĀTES IZPĒTE UN SALĪDZINĀJUMS INVESTIGATION AND COMPARISON OF DEER AND CATTLE CROSSES BEEF METABOLIC PROCESS AND MEAT QUALITY <b>A. Jemeljanovs, D. Paeglītis, I. Jansons, D. Ikauniece, B. Lujāne</b> .....	63
GOVJU PIENA PRODUKTIVITĀTES LĪMEŅA IETEKME UZ STARPATNEŠANĀS PERIODA ILGUMU INFLUENCE OF COWS MILK PRODUCTIVITY LEVEL ON CALVING INTERVAL <b>D. Jonkus, D. Kairiša</b> .....	68
MORFOLOĢISKĀS IZMAIŅAS TIEVO ZARNU GĻOTĀDĀ ASIŅOJOŠAS KUŅĢA ČŪLAS EKSPERIMENTĀLĀ MODELĪ THE MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE MUCOSA OF THE SMALL INTESTINE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF BLEADING STOMACH ULCER <b>M. Kalniņa, O. Koroļova</b> .....	74
PH RĀDĪTĀJI SPUREKLĪ UN GLUMENIEKĀ DAŽĀDA VECUMA KAZĀM ZIEMAS PERIODĀ THE INTRARUMENAL AND INTRA-ABOMASAL pH INDICES IN GOATS OF DIFFERENT AGES IN WINTER PERIOD <b>Keidāne Dace, Birģele Edīte</b> .....	78
<i>AELUROSTRONGYLUS ABSTRUSUS</i> IZPLATĪBA UN ĀRSTĒŠANAS IESPĒJAS DISTRIBUTION AND POSSIBILITIES OF TREATMENT OF <i>AELUROSTRONGYLUS ABSTRUSUS</i> <b>P. Keidāns, I. Zalva, A. Krūklīte</b> .....	85
IDENTIFICATION OF MASTITIS ETIOLOGIC AGENTS IN LITHUANIAN CATTLE HERDS MASTĪTA IEROSINĀTĀJU NOTEIKŠANA LIELLOPU GANĀMPULKIEM LIETUVĀ I. Klimienė, M. Ružauskas, V. Špakauskas, Č. Butrimaitė-Ambrozevičienė, R. Sakalauskienė .....	89
KETAMĪNA HIDROHLORĪDA IETEKME UZ SUŅU ACS IEKŠĒJO SPIEDIENU UN ZĪLĪTES DIAMETRU EFFECTS OF KETAMINE HYDROCHLORIDE ON INTRAOCULAR PRESSURE AND PUPIL DIAMETER IN DOGS EYES <b>L. Kovaļčuka, E. Birģele</b> .....	94
KRITĒRIJI SKOLĒNU ĒDINĀŠANAS KVALITĀTES NOVĒRTĒŠANAI CRITERIA FOR PUPILS' CATERING QUALITY EVALUATION <b>V.Kozule, I. Vingris, I.Skrupskis, J. Aržanika</b> .....	99
<i>NEOSPORA CANINUM</i> ANTIBODIES IN BULK MILK AND SERUM FROM ESTONIAN DAIRY FARMS <i>NEOSPORA CANINUM</i> ANTIVIĒLAS KOPPIENĀ UN SERUMĀ IGAUNIJAS PIENSAIMNIECĪBĀS <b>B. Lassen, A. Viltrop, K. Raaperi, T. Järvis</b> .....	105
THE INVESTIGATION OF SEASONAL REPRODUCTIVE DISORDERS IN LITHUANIAN WHITE FEMALE PIGS SEZONĀLO REPRODUKTĪVO TRAUCĒJUMU PĒTĪJUMI LIETUVAS BALTAJĀM CŪKĀM <b>R. Lelešius, V. Sereika, D. Zienius, J. Šilkūnaitė</b> .....	108

PIENA UN ASIŅU BIOĶĪMISKO RĀDĪTĀJU KOPSAKARĪBAS GOVĪM OTRAJĀ UN CETURTAJĀ LAKTĀCIJAS MĒNESĪ. INTERRELATIONSHIP BETWEEN BIOCHEMICAL INDICES OF MILK AND BLOOD OF DAIRY COWS IN THE SECOND AND FOURTH MONTH OF LACTATION	
<b>L. Liepa, I. Dūrītis, I. Petzāle, D. Rudēvica .....</b>	<b>112</b>
KUIĻU SPERMAS BAKTERIĀLĀ PIESĀRŅOJUMA VĒRTĒJUMS ASSESSMENT OF BACTERIAL CONTAMINATION OF THE BOARS SEMEN	
<b>M. Mangale, A. Jemeljanovs, I. Konošonoka.....</b>	<b>117</b>
ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN MEDIATING INTESTINAL iNOS EXPRESSION OKSIDATĪVĀ STRESA LOMA ZARNU iNOS EKSPRESIJĀ	
<b>J. Markovs, N. Berzina, D. Svirina, S. Isajevs, G. Knipse .....</b>	<b>122</b>
DZĪVNIEKU VESELĪBA DAŽĀDOS TURĒŠANAS APSTĀKĻOS ANIMAL HEALTH IN DIFFERENT MANAGEMENT CONDITION	
<b>B. Ošmane, I. Zītare, J. Mičulis, D. Ikauniece, L. Proškina .....</b>	<b>127</b>
REPRODUCTION IS IMPAIRED IN FEMALE MICE WITH A MUTATED BIOLOGICAL CLOCK PAVĀJINĀTA REPRODUKCIJA PEĻĒM AR BIOĻĢISKĀ PULKSTEŅA MUTĀCIJU	
<b>V. Pilorz, S. Steinlechner .....</b>	<b>131</b>
LAPSU ( <i>Vulpes vulpes</i> ) UN JENOTSUŅU ( <i>Nyctereutes procyonoides Gray</i> ) ZOBU PATOLOĢIJAS LATVIJĀ DENTAL PATHOLOGIES OF FOXES ( <i>Vulpes vulpes</i> ) AND RACoon DOGS ( <i>Nyctereutes procyonoides Gray</i> ) IN LATVIA	
<b>A. Putniņa, A. Mugurēvičs .....</b>	<b>136</b>
DYNAMICS OF CHANGES IN MORPHOLOGICAL STRUCTURES WITH PREPARATIONS OF NUCLEIC NATURE ADMINISTERED MORFOĻĢISKO STRUKTŪRU PĀRMAIŅU DINAMIKA, LIETOJOT VESTIN PREPARĀTU	
<b>E.A. Reutova, L.I. Drozdova .....</b>	<b>141</b>
FOOD HYGIENE AND CORPORATIVE ETHICS PĀRTIKAS HIGIĒNA UN KORPORATĪVĀ ĒTIKA	
<b>V. Rozenbergs, G. Skudra, G. Krumina.....</b>	<b>146</b>
TRAUKU MAZGĀŠANAS PROCESA KVALITĀTES VEIDOŠANAS NOSACĪJUMI CONDITIONS OF DISHWASHING PROCESS QUALITY FORMATION	
<b>M. Ruciņš, A. Strazds, S. Īriste .....</b>	<b>148</b>
EPIDEMIOLOGICAL SUSCEPTIBILITY OF <i>G. ENTEROCOCCUS</i> ISOLATED FROM POULTRY NO MĀJPUTNIEM IZOLĒTĀ <i>G. ENTEROCOCCUS</i> EPIDEMIOĻĢISKĀ NOZĪMĪBA	
<b>M. Ružauskas, D. Zienius, R. Šiugždinienē, M. Virgailis, I. Klimienē .....</b>	<b>153</b>
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТРАНСМИССИЯ ПЛАЗМИД ТОКСИГЕННОСТИ ОТ <i>ESCHERICHIA COLI</i> К <i>PROTEUS VULGARIS</i> EXPEREMENTAL TRANSMITION PLASMIDS TOXIGENITY FROM <i>ESCHERICHIA COLI</i> TO <i>PROTEUS VULGARIS</i> PLAZMĪDU TOKSICITĀTES EKSPERIMENTĀLA TRANSMISIJA NO <i>ESCHERICHIA COLI</i> UZ <i>PROTEUS VULGARIS</i>	
<b>Ю. Сухарев, С. Гужвинская .....</b>	<b>157</b>
A SURVEY ON PRRS USING ELISA AND PCR METHODS IN LITHUANIAN SWINE FARMS IN 2001-2007 PĀRSKATS PAR PRRS, IZMANTOJOT ELISA UN PCR METODEDES LIETUVAS CŪKU FERMĀS 2001.-2004.GADĀ	
<b>V. Sereika, R. Lelešius, J. Šilkūnaitė, D. Zienius, I. Aleksėjūnienė .....</b>	<b>160</b>
DZEMDES BAKTERIOĻĢISKO, HISTOLOĢISKO UN REPRODUKCIJAS RĀDĪTĀJU SALĪDZINĀJUMS GOVĪM AR UN BEZ AUGĻA SEGU AIZTURES COMPARISON OF BACTERIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL PARAMETERS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN COWS UTERUS WITH AND WITHOUT RETAINED FETAL MEMBRANES	
<b>S. Skuja, V. Antāne.....</b>	<b>164</b>

DAŽĀDU BARĪBAS LĪDZEKĻU IZĒDINĀŠANAS IETEKME UZ KAZU ASINS IMUNOLOĢISKIEM UN HEMATOLOĢISKIEM RĀDĪTĀJIEM UN PRODUKCIJAS KVALITĀTI THE INFLUENCE OF DIFFERENT FEEDSTUFFS ON GOATS BLOOD IMMUNOLOGICAL AND HEMATOLOGICAL INDICES AND PRODUCE QUALITY <b>J. Sprūžs, E. Šeļegovska, S. Vasiļjeva, I. Remeza</b> .....	170
INFRAORBITAL NERVE BLOCK WITHIN THE PTERYGOPALATINE FOSSA OF THE HORSE: ANATOMICAL LANDMARKS DEFINED BY COMPUTED TOMOGRAPHY. INFRAORBITĀLĀ (ZEMACS) NERVA BLOKĀDE SPĀRNA-AUKSLĒJU BEDRĒ (FOSSA PTERYGOPALATINE) ZIRGAM: AR DATORTOMOGRĀFIJU NOTEIKTIE ANATOMISKIE ORIENTIERI <b>C. Staszuk, H. Gasse</b> .....	175
PĒTĪJUMI PAR RISKĀ FAKTORU IETEKMI UZ CŪKU AUGŠANU UN ATTĪSTĪBU CŪKKOPĪBAS KOMPLEKSĀ INVESTIGATIONS ON RISK FACTORS AND THEIR INFLUENCE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PIGS IN LARGE COMPLEX <b>A. Stira, A. Jemeljanovs, I. Zitare, D. Ikauniece, J. Zutis</b> .....	178
PATOĢĒNO JERSĪNIJU SUGU ( <i>YERSINIA SPP.</i> ) SASTOPAMĪBA CŪKU BLAKUSPRODUKTOS, LIEMEŅOS UN MANDELĒS PREVALENCE OF PATHOGENIC <i>YERSINIA SPP.</i> ON BY-PRODUCTS, CARCASSES AND TONSILS <b>M. Terentjeva, A. Bērziņš, E. Liepiņš</b> .....	184
KAMPILOBAKTĒRIJU ( <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> ) SASTOPAMĪBA CŪKĀM LATVIJĀ (PIRMAIS ZIŅOJUMS) OCCURRENCE OF <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> IN PIGS IN LATVIA (PRELIMINARY REPORT) <b>M. Terentjeva, E. Kalniņa, A. Bērziņš, E. Liepiņš</b> .....	189
ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF <i>SALMONELLA ENTERITIDIS</i> ISOLATED FROM PORK AND POULTRY NO CŪKGAĻAS UN PUTNU GAĻAS IZOLĒTO <i>SALMONELLA ENTERITIDIS</i> ANTIMIKROBIĀLAIS JŪTĪGUMS (JŪTĪBA) <b>M. Virgailis, M. Ruzauskas, R. Siugzdiniene, D. Zienius</b> .....	192
HEPATOCYTE GROWTH FACTOR IN MINK LIVER IN CASES OF MYCOSES HEPATOCĪTU AUGŠANAS FAKTORS ŪDEĻU AKNĀS MIKOŽU GADĪJUMĀ <b>A. Valdovska, A. Jemeljanovs, M. Pilmane</b> .....	196
INOVATĪVA SASTĀVA FUNKCIONĀLU OLU IEGUVE FUNCTIONAL EGG OF INNOVATIVE COMPOSITION <b>Ī. I. Vitiņa, S. Ceriņa, A. D. Vlad</b> .....	202
СОСТОЯНИЕ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ ЗИАНЧУРИНСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН CONDITION OF THE METABOLISM OF HIGHLY PRODUCTIVE COWS OF AREA ZIANCHURINSKOGO OF REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN VIELMAIŅAS PROCESI AUGSTI PRODUKTĪVĀM GOVĪM BAŠKĪRIJAS REPUBLIKAS ZIANČURINSKAS RAJONĀ <b>Е.С. Волкова, Е.А. Карюк, Р.Г. Мукминов, А.Ф. Валеева</b> <b>E.S. Volkova, E.A. Karyuk, R.G. Mukminov, A.F. Valeeva</b> .....	208
THE NUCLEOPROTEIN MOLECULAR DIVERSITY OF FOX AND RACCOON DOG RABIES VIRUSES IN LITHUANIA TRAKUMSĒRGAS VĪRUSU NUKLEOPROTEĪNU MOLEKULĀRĀ DAŽĀDĪBA LAPSĀM UN JENOTSUŅIEM LIETUVĀ <b>D. Zienius, A. Stankevičius, V. Sereika, R. Lelešius, M. Ružauskas</b> .....	211

# SEROLOGICAL MONITORING OF AVIAN PNEUMOVIRUS IN LITHUANIA

Aleksėjūnienė Ilona, Aleksėjūnas Almontas, Sereika Vilimas, Šilkūnaitė Julija  
Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Kasiadorys, Lithuania  
[aleksejuniene@gmail.com](mailto:aleksejuniene@gmail.com)

## ABSTRACT

Avian Pneumovirus is increasingly recognised as an important pathogen in many poultry producing countries. A total of 6 888 chicken sera collected from 2007 to 2008 on 21 farms were subjected to an enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA) to test for antibodies against APV. Tests of blood sera show that from 66.99 % to 97.18 % of the tested samples contain antibodies against APV. In spite of the fact that broilers are not vaccinated against APV, part of bird blood sera was found positive. The immunity obtained by the breeder birds is of a different level.

**KEY WORDS:** avian pneumovirus, specific antibodies.

## INTRODUCTION

Avian Pneumovirus (APV) is increasingly recognised as an important pathogen in many poultry – producing countries.

A new respiratory of poultry seems to have occurred first in turkeys (Buys, S.B. and du Preez, 1980) and later in chickens (Morley and Thomson, 1984) in South Africa. This disease was subsequently named Turkey Rhinotracheitis or TRT and has been seen also in Israel, France and Great Britain (Alexander, 1993). In 1985 TRT rapidly spread through the turkey industry in GB (Lister & Alexander, 1986) and at the same time a syndrome of broiler parent chickens characterised by respiratory sings and head swelling and neurological signs was described (O'Brien, 1985). The term Avian Rhinotracheitis (ART) has been applied to avian pneumovirus infection in turkeys and chickens. Serological evidence of APV is now available from many countries: United Kingdom, France, Spain, Germany, Italy, the Netherlands, Israel, Asia (Alexander D. J., 1997, Jones R. C., 1996, Cook, 2000).

APV is a viral respiratory disease agent. It is in the family *Paramyxoviridae*, order *Virinare*, and genus *Metapneumovirus*, composed of a single unsegmented stranded negative sense RNA (Pringle C. R., 1999). Electron –microscopy examination showed that an APV is pleomorphic fringed and usually roughly spherical in shape (Ganapathy K., 2007).

Infection is characterized by coughing, ocular and nasal discharge, tracheal rales and swelling of the infraorbital sinuses. In laying birds, there is a transient drop in egg production, along with mild respiratory tract illness (Jones R.C., 1996). Uncomplicated cases have low mortality (2 to 5 %), but APV infections accompanied by secondary infections (bacterial and/or viral) can result in up to 25 % mortality (Jones R.C., 1996). Silent infections are possible.

The virus replicates in the respiratory tract and the reproductive tract. It initially causes respiratory disease in infected birds and may also cause drops in egg production in layers and breeders. Infection in turkeys is commonly referred to as “Turkey Rhinotracheitis” and in chickens aMPV infection is commonly associated with the condition known as “Swollen Head Syndrome” (SHS).

Control is by improved biosecurity and vaccination with live and inactivated vaccines (Tarpey, 2007).

The virology laboratory at the Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary academy has been testing bird blood sera for APV since the autumn of 2002.



Aim of investigation. Evaluation of APV seroepidemiologic situation on poultry farms in Lithuania.

## MATERIAL AND METHODS

A total of 6 888 chicken sera collected from 2007 to 2008 at 21 farms were subjected to an enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA) to test for antibodies against APV.

The FLOCKSCHEK APV antibody ELISA kits were used for serological tests of blood samples according to the producers recommendations. This assay is designed to measure the relative level of antibody to APV in chicken serum. Viral antigen is coated on 96-well plates. Upon incubation of the test sample in the coated well, antibody specific to APV forms a complex with the coated viral antigens. After washing away unbound material from the wells, a conjugate is added that binds to any attached chicken antibody in the wells. Unbound conjugate is washed away and enzyme substrate is added. Subsequent colour development is directly related to the amount of antibody to APV present in the test sample.

For the assay to be valid, the difference between the positive control mean and the negative control mean should be greater than 0.075. The negative control mean absorbance should be less than or equal 1.150. The presence or absence of antibody to APV is determined by relating the A (650) value of the unknown to the positive control mean. The positive control is standartized and represents significant antibody levels to APV in chicken serum. The relative level of antibody in the unknown is determined by calculating the sample to positive (S/P) ratio. An S/P (sample value related to positive control value) ratio was used for calculation of results.

S/P =	SAMPLE ABS – NEGATIVE CONTROL ABS
	POSITIVE CONTROL ABS – NEGATIVE CONTROL ABS

Serum samples with S/P ratios less than or equal to 0.2 should be considered negative. S/P ratios greater than 0.2 (titers greater than 396) should be considered positive and indicate vaccination or other exposure to APV.

## RESULTS AND DISCUSSION

Commercial ELISA kits are regularly used to detect serum APV antibodies, and the results need to be carefully analysed and interpreted. Commercial ELISA kits had been used about 6 years in our laboratory. According to Heckert R.A. et al. (1994) the ELISA is 98,7% sensitive and 99.5% specific and is capable of detecting serological responses as early as 11 days after chickens had been experimentally exposed to APV.

The serum samples were classified into 3 groups: one-day-old broilers, euthanized 39-48-day-old broilers and breeder birds.

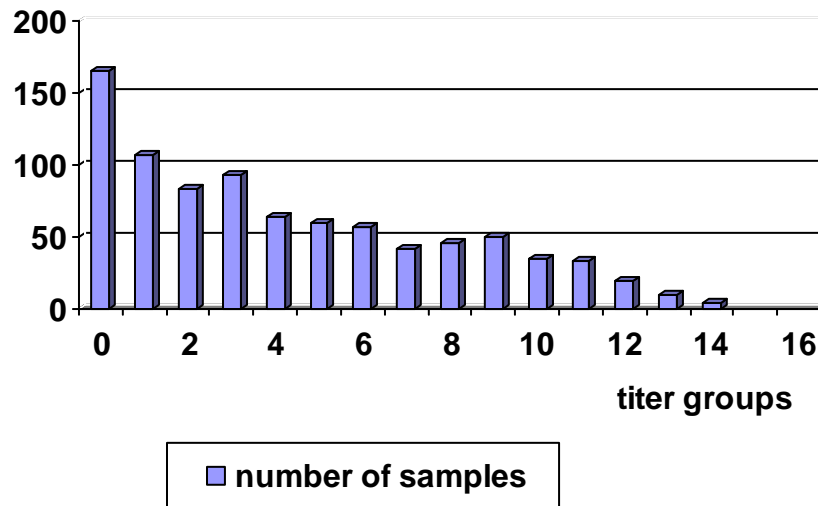


Figure 1. Antibody titers at the age of one day.

The test results of one-day-old chicken blood sera (Fig. 1) show that 81.06 % of the tested samples contained APV antibodies, while 18.94% were negative. In total were tested 871 samples. The mean titre (6527) was unevenly distributed (from group 1 to 14) which is evident in the variation coefficient (115.1%).

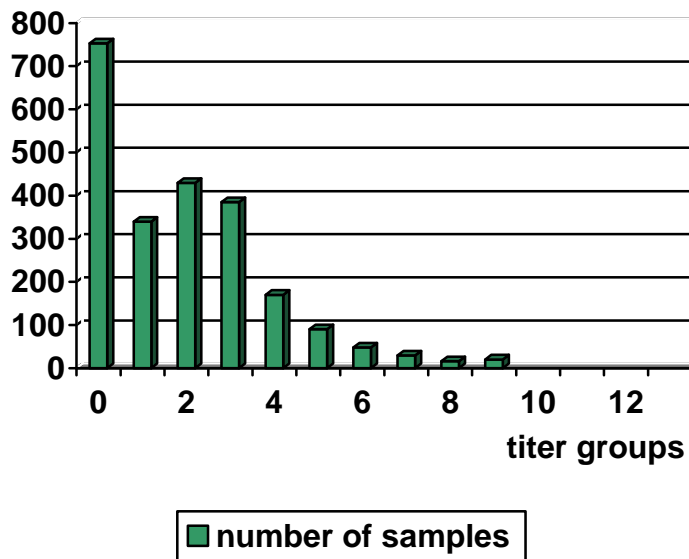


Figure 2. Antibody titers at the age of 39-48 days.

The test results of blood sera taken from the euthanized 39-49-day-old broilers (Fig. 2) show that 33.01% of the tested samples contained no APV antibodies while 66.99% were positive. The mean titre was 1888 and the variation coefficient was 126.3%. In spite of the fact that broilers are not vaccinated against APV, 1528 of euthanized bird blood sera were found positive. As no evident clinical symptoms were present, it can be concluded that a weakly virulent APV strain circulate in the farm causing the formation of antibodies.

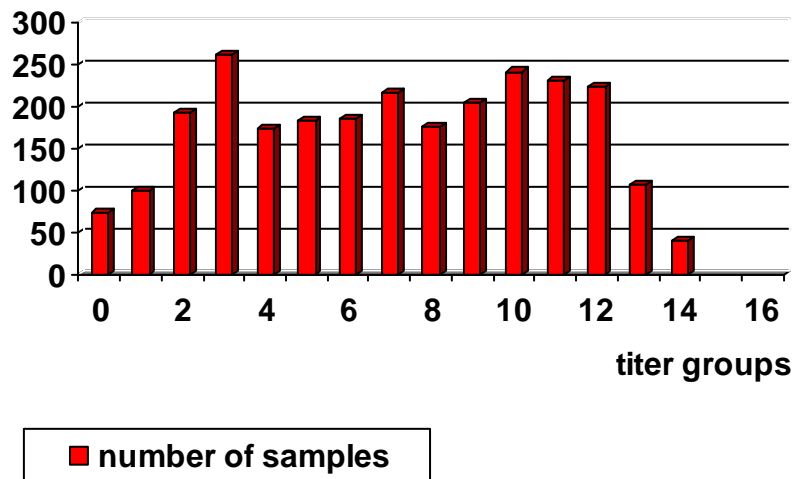


Figure 3. Antibody titers at the breed broilers.

Ganapathy K. (2007) maintains that a positive detection reflects exposure to the APV, a negative results does not rule out that the birds have not been exposed. This is because APV-infected chickens may not necessarily produce humoral antibodies, or antibodies may not have been at a detectable level at the time of the sampling. For an optimum detection of APV antibodies, it is best to use ELISA plates that are coated with a homologous antigen.

The test results of the blood sera from breed birds are presented in Figure 3. The mean antibody titre was 12801, CV – 75%. 97.18 % of the samples were positive and 2.82% was negative. Despite the fact that all breed birds were vaccinated against APV, however 74 blood sera samples were negative. The high CV indicates that the immunity obtained by the birds is of a different level. According to the FlockChek recommendations only a lower than 40% CV proves that the vaccination is effective and acquired immunity is even.

The immune status of a flock is best assessed by monitoring and recording antibody titers in representative samples as a function of time. The resulting flock profiles allow an assessment of the distribution of antibody titers and an analysis of changes in titer over time. Serological screening of blood samples can provide early detection so that other control measures can be instituted.

In Europe, vaccination is helpful for controlling APV. Vaccination programmes to protect against APV vary according to many factors (vaccination frequency, choice of vaccines and virus strains, methods). Generally, a single live vaccination in broilers and one or two live vaccinations followed by one inactivated vaccine in layers and breeders are sufficient to provide protection against APV clinical signs and loss of egg production/quality (Ganapathy K., 2007).

To control APV spread, biosecurity procedures must be a priority. Effective communication and cooperation among poultry growers couple with integrated poultry company management is essential. If APV positive flocks are identified, isolate younger birds from older flocks. Wild bird control is important, as free-living birds are suspected in carrying the virus.

## CONCLUSIONS

APV seroepidemiologic situation have showed, that in spite of the fact that broilers are not vaccinated against APV, part of bird blood sera were found positive. It can be concluded that a weakly virulent APV strain circulate in the farm causing the formation of antibodies.

The immunity obtained by the breeder birds is of a different level.

## REFERENCES:

1. Alexander D.J. Newcastle disease and other *Paramyxoviridae* infections. In B.W. Barnes, H.J. Beard, C.W. McDougald and L. Saif, Jr. (ed.). Diseases of poultry, 10<sup>th</sup> ed. Iowa State University Press, Ames. 1997. 541-569.
2. Alexander, D. J. Pneumoviruses (Turkey Rhinotracheitis and Swollen Head Syndrome of Chickens) in Virus Infections of Birds, J.B. McFerran and M. S. McNulty eds. Elsevier Science Publishers B. V. 1993.
3. Buys, S. B. and du Preez, J. H. A preliminary report of the isolation of a virus causing sinusitis in turkeys in South Africa. *Turkeys* June 36 & 46. 1980.
4. Cook J.K. Avian pneumovirus infections of turkeys and chickens. *Veterinary Journal*. 2000. 160: 118-125.
5. Ganapathy K. Avian metapneumovirus. *World Poultry*. 2007. 23: 35-37.
6. Jones R.C. Avian pneumovirus infection: questions still unanswered. *Avian Pathology*. 1996, Vol. 25. P. 639-648.
7. Lister, S. A., and Alexander, D. J. Turkey Rhinotracheitis – a review. *Veterinary Bulletin*. 1986. 56: 637-663.
8. O'Brien J. D. P. Swollen head Syndrome in broiler breeders. *Veterinary Record*. 1985. 117: 619-620.
9. Pringle C.R. Virus taxonomy – 1999. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. *Archives of Virology*. 1999. 144: 421-429.
10. Tarpey, I. & Huggins, M.B. Onset of immunity following in ovo delivery of avian metapneumovirus vaccines. *Veterinary Microbiology*. 2007. 124: 134-139.
11. Heckert R.A., Myers D.J., Afshar A., Riva J. Development and evolution of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to avian pneumovirus. *Avian Diseases*. 1994. 38: 694-700.

# DAŽĀDU ANESTĒZIJAS LĪDZEKĻU IETEKME UZ SIRDS BIOPOTENCIĀLU IZMAIŅĀM SUŅIEM CHANGES OF CARDIAC BIOPOTENTIALS IN DOGS SUBJECTED TO VARIOUS ANAESTHESIA

**Guntars Avdoško, Edīte Birģele**

Latvijas Lauksaimniecības Universitāte, Preklīniskais institūts, Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Preclinical institute, Faculty of Veterinary Medicine, Latvian University of Agriculture, Latvia, [diagnostika@mbh.lv](mailto:diagnostika@mbh.lv)

## ABSTRACT

The research was performed on 34 healthy German Shepherd and 32 Cocker Spaniel practically healthy dogs. SHILLER's electrocardiograph AT – 1 Veterinary produced in Germany which allows a simultaneous work with 10 electrocardiograph leads. The premedication was achieved by means of 0.054 % atropine sulphate solution (0.02 mg kg<sup>-1</sup>) in combination with 1% acepromazine maleate solution (0.06 mg kg<sup>-1</sup>) intramuscular injection and general anaesthesia (narcosis) was achieved by means of 5% ketamine hydrochloride solution (6 mg kg<sup>-1</sup>) in combination with 0.5% diazepam solution (0.6 mg kg<sup>-1</sup>) intravenous injection. The following parameters of ECG have been analyzed: P wave, Q, R and S waves of QRS complex, as well as PQ, QRS and QT intervals. It was established that: **1.** According to the records done in ECG standard lead II, P wave in dogs subjected to premedication and general anaesthesia developed very much in line according to the breed of the animal. Premedication agents altogether did not change P wave much, whereas the total effect of anaesthesia agents manifested as statistically true increase of P wave amplitude – apparent already in the first minute of general anaesthesia of Cocker Spaniels, and only in the 60<sup>th</sup> minute of general anaesthesia of German Shepherd dogs; **2.** According to the records done in ECG standard lead II, the depth of Q wave and height of R wave in dogs subjected to premedication and general anaesthesia remained almost stable. The Q wave of Cocker Spaniels was altogether much deeper ( $P < 0.05$ ) and the R wave - much higher compared to German Shepherd dogs ( $P < 0.001$ ); **3.** The depth of S wave recorded in dogs in ECG standard lead II increased only slightly during premedication. The effect of general anaesthesia on Cocker Spaniels manifested both of increase and decrease of the absolute value of S wave ( $P < 0.05$ ), which remained relatively stable in German Shepherd dogs. S wave recorded in ECG standard lead II was always deeper in Cocker Spaniels compared to German Shepherd dogs; **4.** Premedication agents significantly increased ECG-PQ interval in German Shepherd dogs ( $P < 0.01$ ), and had little effect on ECG-PQ interval in Cocker Spaniels. This pattern conformed with the changes of heart rate recorded in dogs of both breeds during premedication. The total effect of general anaesthesia ketamine hydrochloride and diazepam (after the effect of premedication appeared) manifested in dogs as shortening of PQ interval, however the pattern of shortening was different for each of the breeds; **5.** Premedication atropine sulphate and acepromazine maleate significantly increased QT interval recorded in ECG standard lead II ( $P < 0.05$ ) in animals of both breeds. The total effect of general anaesthesia (after the effect of premedication appeared) altogether manifested as shortening of QT interval: during the first minute of general anaesthesia changes were equally fast in animals of both breeds, however during the next 15-30 minutes this process developed according to different pattern depending on the breed of the animal.

**KEY WORDS:** dogs, breed, EKG, drug combinations.

## IEVADS

Pēdējā laikā pasaulē tiek izvērsti pētījumi par premedikācijas un vispārējās anestēzijas līdzekļu iedarbību uz sirdi (Olson, et al., 1987; Haskins, 1992; Машковский, 2000; Lemke, 2004; Hewson et al., 2006; Welberg et al., 2006; Piermattei et al., 2006; Fossum et al., 2007; Tilley et al., 2008; u.c.). Šo pētījumu nākotnes uzdevums ir novērst iespējamās narkozes līdzekļu izraisītos sirds ritma traucējumus dzīvniekiem operāciju laikā.

Šī darba **mērķis** bija izpētīt kokerspanielu un Vācu aitu šķirnes suņiem Latvijā plaši izmantoto anestēzijas līdzekļu ietekmi uz sirds funkcionālajiem parametriem.

## MATERIĀLS UN METODES

Pētījumiem izmantoti 34 Vācu aitu un 32 kokerspanielu šķirnes suņi. Izmantojām Vācijā ražotu „SCHILLER” firmas elektrokardiogrāfu „Cardiovit AT – 1 Veterinary”, kas ļauj strādāt ar 10 elektrokardiogrāfijas novadījumiem vienlaicīgi atbilstoši pašreiz pasaulē pieņemtajai metodikai (Rezakhani, 1990; Tilley, 1992; Bernal et al., 1995; Tilley et al., 2008; French, 2008; u.c.). Elektrokardiogrāfijas dati tika gan reģistrēti, gan vienlaicīgi ar speciālas mērījumu programmas palīdzību datorā sākotnēji apstrādāti.

Dzīvnieku premedikācijai izmantojām 0.054 % atropīna sulfāta šķīdumu ( $0.02 \text{ mg kg}^{-1}$ ) kombinācijā ar 1% acepromazīna maleāta šķīdumu ( $0.06 \text{ mg kg}^{-1}$ ) ievadītu intramuskulāri. Elektrokardiogrammas pieraksts premedikācijas laikā tika veikts 10 minūtes pēc intramuskulārās injekcijas. Vispārējai anestēzijai (narkozei) lietojām pašreiz veterinārmedicīnā plaši pielietoto 5% ketamīna hidrohlorīda šķīdumu ( $6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) kombinācijā ar 0.5% diazepāma šķīdumu ( $0.6 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Narkozes līdzekļus suņiem ievadījām pleca zemādas vēnā (v. *cephalica*). EKG dinamiku noteicām 1 minūti pēc intravenozās injekcijas, kā arī pēc 15, 30, 45 un 60 minūtēm.

EKG datu statistisko apstrādi veicām, izmantojot daudzfaktoru (šajā gadījumā divu “faktoru” – dzīvnieku šķirne un dzimums) dispersijas analīzes metodi (ANOVA), kā arī t-testu savstarpēji atkarīgu paraugkopu salīdzināšanai (Arhipova u.c. 1998; Miller, 2000).

Šajā darbā analizējam EKG II standartnovadījumā sekojošus EKG parametrus: P zobs, QRS kompleksa Q, R, S zobi, kā arī PQ, QRS un QT intervāli.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Detalizētas EKG parametru izmaiņas abu šķirņu suņiem premedikācijas, un vispārējās anestēzijas laikā, un šo datu statistiskā ticamība atspoguļota 1. un 2. tabulā.

Redzam, ka P zoba lielumi EKG II standartnovadījumā abu šķirņu dzīvniekiem izejas stāvoklī nav vienādi. Vācu aitu suņiem P zobs ir  $0.203 \pm 0.0177 \text{ mV}$  augsts, bet kokerspanieliem –  $0.170 \pm 0.0213 \text{ mV}$ .

Pēc anestēzijas līdzekļu intravenozās injekcijas Kokerspanielu šķirnes suņiem jau pirmajā minūtē parādījās ļoti izteikta EKG P zoba amplitūdas paaugstināšanās, kamēr Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem šajā pašā laika periodā P zoba amplitūda II standartnovadījumā paaugstinājās tikai nedaudz ( $P < 0.05$ ).

Arī kopumā abu šķirņu dzīvniekiem vispārējās anestēzijas laikā P zoba dinamika atšķīrās. Kokerspanielu šķirnes suņiem EKG P zoba amplitūda paaugstinājās līdz 30. izmeklēšanas minūtei un tad turpmākās 30 minūtes nedaudz pazeminājās, visumā paliekot augstāka salīdzinājumā ar P zoba amplitūdu izejas stāvoklī. Tajā pašā laikā Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem pirmajā minūtē pēc vispārējās anestēzijas līdzekļu ievadīšanas EKG P zoba amplitūda nedaudz pazeminājās, tad 15.–30. minūtē tā pakāpeniski sāka paaugstināties ( $P < 0.001$ ) un turpināja paaugstināties līdz 60. izmeklēšanas minūtei.

Attiecībā uz EKG **Q zobu**, rezultāti liecina, ka II standartnovadījumā tā dziļums dzīvniekiem jau izejas stāvoklī bija atšķirīgs: Kokerspanieliem Q zobs izrādījās salīdzinoši daudz dziļāks nekā Vācu aitu šķirnes suņiem – attiecīgi  $-0.703 \pm 0.2535 \text{ mV}$  un  $-0.131 \pm$

0.1402 mV ( $P < 0.05$ ). Šie mūsu dati zināmā mērā saskan ar citu autoru attiecīgajiem novērojumiem (Nunes et al., 1990; Upeniece, 2004; Tilley et. al., 2008; French 2008).

Konstatējām, ka EKG Q zoba dziļums premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā mainījās salīdzinoši maz un šīs izmaiņas nebija statistiski ticamas, bet Q zoba dziļuma atšķirības starp abu šķirņu dzīvniekiem premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā saglabājās ( $P < 0.05$ ). Tas varētu būt saistīts ar sirds priekškambaru un kambaru aktivācijas procesiem (Rush, Hamlin, 1986; Tilley et. al., 2008), kas kokerspanielu šķirnes suņiem acīmredzot norit spēcīgāk nekā Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem. Turklāt pierādīts, ka elektrokardiogrāfisko parametru vērtības lielāka auguma suņiem visumā ir salīdzinoši zemākas nekā maza auguma dzīvniekiem (Morrison et. al., 1992; Torre et al., 2000; Upeniece, 2004; Tilley et. al., 2008; French 2008).

Attiecībā uz elektrokardiogrammas QRS kompleksa otra elementa – **R zoba** – analīzi mūsu dati liecina, ka tas EKG II standartnovadījumā premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā abu šķirņu suņiem vienmēr bija pozitīvs (1. tabula).

Redzam, ka jau izejas stāvoklī EKG II standartnovadījumā R zoba amplitūda kokerspanieliem ir statistiski ticami augstāka nekā Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem ( $P < 0.01$ ). Arī R zoba amplitūdas izmaiņu raksturs abu šķirņu suņiem premedikācijas un narkozes līdzekļu ietekmē visumā bija līdzīgs – R zoba amplitūda paaugstinājās gan Vācu aitu, gan kokerspanielu šķirnes dzīvniekiem (sk. 1. tabula). Statistiski ticami atšķīrās tikai R zoba augstuma absolūtie rādītāji ( $P < 0.001$ ).

Analizējot QRS kompleksa **S zobu**, jāatzīmē tā amplitūdas izmaiņu atšķirības Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem vispārējās anestēzijas laikā. Konstatējām, ka S zoba dinamika ir ļoti būtiski saistīta ar “faktoru” suņa šķirne: atšķirīgs S zoba izmaiņu raksturs parādījās jau vienu minūti pēc narkozes līdzekļu ketamīna hidrohlorīda un diazepāma ievadīšanas, kad Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem S zobs kļuva pozitīvs, bet kokerspanieliem – tieši pretēji – tas padziļinājās ( $P < 0.05$ ).

Turpmākajās vispārējās anestēzijas minūtēs S zobs Vācu aitu šķirnes suņiem kļuva negatīvs, turklāt izteiktāk nekā izejas stāvoklī ( $P > 0.05$ ). Savukārt kokerspanieliem S zoba amplitūda izteikti viļņveidīgi svārstījās, t.i., gan padziļinājās, gan kļuva seklāka ( $P < 0.05$ ), kas liecina par zināmiem repolarizācijas traucējumiem kardiomiocītos (Kalvelis, 2005; Tilley et. al., 2008).

Mūsu pētījumi liecina, ka EKG II standartnovadījumā **PQ intervāla garums** abu šķirņu suņiem atšķiras gan izejas stāvoklī, gan premedikācijas, gan arī vispārējās anestēzijas laikā (2.tabula).

“Faktora” šķirne būtiskums izpaužas dzīvniekiem jau izejas stāvoklī, kad PQ intervāls Vācu aitu šķirnes suņiem vidēji bija garāks  $0.107 \pm 0.0041$  s, bet kokerspanieliem tas bija tikai  $0.090 \pm 0.0048$  s ( $P < 0.01$ ).

Atšķirības EKG PQ intervāla garuma izmaiņās novēroja arī 10 minūtes pēc premedikācijas līdzekļu ievadīšanas (sk. 2. tabula), kad Vācu aitu šķirnes suņiem PQ intervāla garums būtiski palielinājās, bet kokerspanieliem tajā pašā laikā tas tikai nedaudz pagarinājās ( $P < 0.002$ ).

Dzīvniekiem vispārējā anestēzijā jau pirmajā minūtē Vācu aitu šķirnes suņiem novēroja ļoti krasu PQ intervāla garuma saīsināšanos, salīdzinot to ar kokerspanieliem (sk. 2. tabula). Sākot ar 15. vispārējās anestēzijas minūti Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem EKG PQ intervāls II standartnovadījumā nedaudz, bet vairāk vai mazāk vienmērīgi, turpināja saīsināties. Savukārt kokerspanieliem tajā pašā laikā PQ intervāla garums gan paaugstinājās, gan saīsinājās (sk. 2. tabulu).

Tādejādi varam secināt, ka EKG PQ intervāla dinamika suņiem mūsu izmantoto premedikācijas un vispārējās anestēzijas līdzekļu ietekmē ir ļoti būtiski saistīta ar „faktoru” dzīvnieka šķirne.

EKG **QT intervāla** izmaiņu raksturs II standartnovadījumā premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem arī atspoguļots 2. tabulā.

Konstatējām, ka EKG II standartnovadījumā QT intervāla garums Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem izejas stāvoklī ir praktiski vienāds. Tas bija identisks ar garuma normu, kāda tā aprakstīta literatūrā suņiem EKG II standartnovadījumā – no 0.15 līdz 0.25 s (Tilley, 1992; Upeniece, 2004; Tilley et. al., 2008). Jādomā, ka QT intervāla garums EKG II standartnovadījumā nav būtiski saistīts ar dzīvnieka dzīvmasas rādītājiem, jo mūsu pētījumos iekļauto abu šķirņu dzīvniekiem QT intervāla garums bija vienāds, kaut arī auguma parametri tiem atšķīrās. Līdzīgu domu izteikuši arī citi autori par bezšķirnes suņiem (Oguchi, Hamlin, 1993; French, 2008).

Mūsu pētījumi liecina, ka premedikācijas līdzekļu atropīna sulfāta un acepromazīna maleāta ietekmē notiek EKG QT intervāla pagarināšanās, kas vienādā mērā izpaudās gan Vācu aitu, gan kokerspanielu šķirnes suņiem ( $P < 0.05$ ).

Narkozes līdzekļu ketamīna hidrohlorīda un diazepāma summārā ietekme uz EKG QT intervālu abu šķirņu dzīvniekiem uz premedikācijas līdzekļu fona izpaudās līdzīgi. Pirmajā minūtē pēc narkozes līdzekļu ievadīšanas Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem QT intervāls krasī saīsinājās attiecībā pret tā garumu premedikācijā. Tālāk vispārējās anestēzijas laikā QT intervāls turpināja saīsināties, kas krasāk izpaudās kokerspanielu šķirnes suņiem (sk. 2. tabula).

Mūsu pētījumi liecina, ka **QRS intervāla** garums EKG II standartnovadījumā Vācu aitu un Kokerspanielu šķirnes suņiem jau izejas stāvoklī bija atšķirīgs ( $P < 0.02$ ) – kokerspanieliem QRS intervāla garums izrādījās salīdzinoši īsāks, nekā to konstatēja Vācu aitu šķirnes suņiem (sk. 2. tabula). Šie mūsu dati saskan ar D. Upenieces un L. Tilley pētījumu rezultātiem par EKG QRS intervāla garumu dažādu šķirņu suņiem (Upeniece, 2004; Tilley et.al., 2008).

Konstatējām, ka atšķīrās arī QRS intervāla izmaiņu raksturs dzīvniekiem premedikācijas līdzekļu ietekmē: Vācu aitu šķirnes suņiem 10 min. pēc premedikācijas līdzekļu ievadīšanas QRS kompleksa garums EKG II standartnovadījumā palielinājās, bet tajā pašā laikā kokerspanieliem, tieši pretēji, tas samazinājās.

Atšķirīgs QRS intervāla izmaiņu raksturs parādījās arī 15 minūtes pēc narkozes līdzekļu ketamīna hidrohlorīda un diazepāma ievadīšanas (sk. 2.tabula): Vācu aitu šķirnes dzīvniekiem QRS intervāla garums nedaudz samazinājās, bet kokerspanieliem – atkal tieši pretēji – tas pagarinājās ( $P < 0.02$ ). Tāpat pretēja rakstura QRS intervāla izmaiņas parādījās arī turpmākajās vispārējās anestēzijas minūtēs – 30, 45 un 60 minūtes pēc narkozes līdzekļu ievadīšanas, kad QRS intervāls gan nedaudz paaugstinājās, gan pazeminājās, bet abu šķirņu dzīvniekiem tas notika statistiski ticami attiecīgi tieši pretēji.

Tātad varam secināt, ka EKG QRS intervāla garums suņiem kā izejas stāvoklī, tā arī premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā ir būtiski saistīts ar „faktoru” suņa šķirne.

Kas attiecas uz otru „faktoru” **dzīvnieka dzimums**, tad mūsu pētījuma rezultāti kopumā liecina, ka EKG atsevišķo zobu un intervāla garuma rādītāji II standartnovadījumā sievišķā un vīrišķā dzimuma suņiem kā izejas stāvoklī, tā arī premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā atšķīrās maz. Tātad šo EKG parametru dinamika premedikācijas un vispārējās anestēzijas līdzekļu ietekmē nav saistīta ar „faktoru” dzīvnieka dzimums.



**Elektrokardiogrammas II standartnovadījuma parametri Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem  
premedikācijā un vispārējā anestēzijā**  
**Parameters of electrocardigram II lead in German Shepherd and Cocker Spaniel dogs at initial state, premedication and at different  
time of anaesthesia**

Izmeklējuma laiks Time of observation	EKG zobu amplitūdas (mV) / Mean values of EKG wave amplitude (mV)							
	<b>P</b>		<b>Q</b>		<b>R</b>		<b>S</b>	
	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels
Izejas stāvoklis Initial state	0.203 ± 0.0177	0.170 ± 0.0213	-0.131 ± 0.1402	<b>-0.703 ± 0.2535*</b>	1.908 ± 0.1509	<b>2.632 ± 0.1847*</b>	-0.005 ± 0.0119	-0.020 ± 0.0200
Premedikācija Premedication 10. min	0.158 ± 0.0186	0.174 ± 0.0221	-0.148 ± 0.1426	<b>-0.835 ± 0.2787*</b>	1.964 ± 0.1193	<b>2.758 ± 0.1881*</b>	-0.038 ± 0.0311	-0.043 ± 0.0319
Anestēzija Anaesthesia 1. min	0.221 ± 0.0229	<b>0.275 ± 0.0260*×</b>	-0.208 ± 0.1426	<b>-0.869 ± 0.3007*</b>	2.085 ± 0.1105	<b>2.853 ± 0.1995*</b>	0.004 ± 0.0242	<b>-0.093 ± 0.0470*</b>
Anestēzija Anaesthesia 15. min	0.188 ± 0.0264	<b>0.296 ± 0.0246*×</b>	-0.258 ± 0.1461	<b>-0.757 ± 0.2258*</b>	1.800 ± 0.1172	<b>2.733 ± 0.1878*</b>	-0.024 ± 0.0228	<b>-0.057 ± 0.0319×</b>
Anestēzija Anaesthesia 30. min	0.221 ± 0.0212	<b>0.333 ± 0.0289*×</b>	-0.280 ± 0.1170	<b>-0.683 ± 0.2197*</b>	1.772 ± 0.1338	<b>2.775 ± 0.1914*</b>	-0.037 ± 0.0171	<b>-0.143 ± 0.0636*×</b>
Anestēzija Anaesthesia 45. min	0.251 ± 0.0247	<b>0.308 ± 0.0255*</b>	-0.368 ± 0.1632	-0.650 ± 0.2084	1.814 ± 0.1176	<b>2.713 ± 0.2251*</b>	-0.042 ± 0.0140	<b>-0.073 ± 0.0374×</b>
Anestēzija Anaesthesia 60. min	<b>0.271 ± 0.0220*</b>	<b>0.279 ± 0.0255*</b>	-0.366 ± 0.1603	-0.684 ± 0.2031	1.853 ± 0.1274	<b>2.716 ± 0.2464*</b>	-0.040 ± 0.0169	<b>-0.189 ± 0.0919*</b>

\* – Fišera kritērija statistiskā ticamība salīdzinot EKG zobu amplitūdu (mV) starp Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem

\* – Fisher's test of EKG interval between German Shepherd dogs and Cocker spaniels is statistically significant

× – ( $P < 0.05$   $P < 0.001$ ) t- kritērija statistiskā ticamība salīdzinot ar izejas stāvokļa EKG zobu amplitūdu (mV)

× – The difference compared to initial state (t – test) is statistically significant ( $P < 0.05$ )

**Elektrokardiogrammas II standartnovadījuma parametri Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem izejas stāvoklī  
premedikācijā un vispārējā anestēzijā**  
**Parameters of electrocardigram II lead in German Shepherd and Cocker Spaniel dogs at initial state, premedication and at different  
time of anaesthesia**

Izmeklējuma laiks Time of observation	EKG intervālu garumi (s) / Mean values of EKG interval (s)					
	PQ		QRS		QT	
	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels	Vācu aitu šķirne German Sheperds	Kokersspanieli Cocer Spaniels
Izejas stāvoklis Initial state	0.107 ± 0.0041	<b>0.090 ± 0.0048*</b>	0.060 ± 0.0015	<b>0.058 ± 0.0015*</b>	0.209 ± 0.0037	0.209 ± 0.0055
Premedikācija Premedication 10. min	<b>0.117 ± 0.0038×</b>	<b>0.092 ± 0.0055*</b>	0.061 ± 0.0009	<b>0.056 ± 0.0017*</b>	<b>0.215 ± 0.0040×</b>	<b>0.219 ± 0.0061×</b>
Anestēzija Anaesthesia 1. min	<b>0.100 ± 0.0022×</b>	<b>0.083 ± 0.0068*</b>	0.061 ± 0.0014	<b>0.056 ± 0.0012*</b>	0.202 ± 0.0038	0.206 ± 0.0057
Anestēzija Anaesthesia 15. min	0.097 ± 0.0049	<b>0.073 ± 0.0077*</b>	0.060 ± 0.0014	<b>0.058 ± 0.0016*</b>	0.205 ± 0.0044	0.196 ± 0.0058
Anestēzija Anaesthesia 30. min	0.096 ± 0.0049	<b>0.086 ± 0.0089*</b>	0.063 ± 0.0019	<b>0.054 ± 0.0019*</b>	0.203 ± 0.0036	<b>0.189 ± 0.0057×</b> *
Anestēzija Anaesthesia 45. min	<b>0.093 ± 0.0047×</b>	<b>0.077 ± 0.0034×</b> *	0.061 ± 0.0016	<b>0.058 ± 0.0012*</b>	<b>0.198 ± 0.0038×</b>	<b>0.195 ± 0.0054×</b> *
Anestēzija Anaesthesia 60. min	<b>0.094 ± 0.0053×</b>	<b>0.079 ± 0.004×</b> *	0.063 ± 0.0018	<b>0.055 ± 0.0019*</b>	<b>0.199 ± 0.0046×</b>	0.197 ± 0.0062

\* – Fišera kritērija statistiskā ticamība salīdzinot EKG intervālu garumu starp Vācu aitu un kokerspanielu šķirnes suņiem (s)

\* – Fisher's test of EKG interval between German Shepherd dogs and Cocker spaniels is statistically significant

× – ( $P < 0.05$   $P < 0.001$ ) t- kritērijs statistiskā ticamība salīdzinot ar izejas stāvokļa EKG intervālu garumu (s)

× – The difference compared to initial state (t – test) is statistically significant ( $P < 0.05$ )

## SECINĀJUMI

1. EKG II standartnovadījumā P zoba amplitūdas izmaiņas vispārējās anestēzijas līdzekļu ietekmē suņiem bija būtiski saistīta ar dzīvnieka šķirni. Premedikācijas līdzekļi P zoba amplitūdu visumā abu šķirņu suņiem izmaina maz, bet narkozes līdzekļu summārajā ietekmē P zoba amplitūda statistiski ticami paaugstinās – kokerspanieliem jau pirmajā vispārējās anestēzijas minūtē, bet Vācu aitu šķirnes suņiem tikai 60. vispārējās anestēzijas minūtē.
2. EKG II standartnovadījumā Q zoba dziļums un R zoba augstums suņiem premedikācijas un vispārējās anestēzijas laikā mainījās maz. Kopumā kokerspanielu šķirnes suņiem Q zobs bija ievērojami dziļāks ( $P < 0.05$ ) un R zobs izteikti augstāks ( $P < 0.001$ ) nekā Vācu aitu šķirnes suņiem.
3. EKG II standartnovadījumā S zoba dziļums suņiem premedikācijas līdzekļu ietekmē palielinājās nedaudz. Vispārējās anestēzijas līdzekļu ietekmē S zobs kokerspanieliem gan padziļinājās, gan kļuva seklāks ( $P < 0.05$ ), bet Vācu aitu šķirnes suņiem tas būtiski nemainījās. Visos gadījumos S zobs EKG II standartnovadījumā kokerspanieliem bija dziļāks nekā Vācu aitu šķirnes suņiem.
4. EKG PQ intervāls premedikācijas līdzekļu ietekmē būtiski pagarinājās Vācu aitu šķirnes suņiem ( $P < 0.01$ ), bet kokerspanieliem tas izmainījās maz. Narkozes līdzekļu ketamīna hidrohlorīda un diazepāma summārais efekts (pēc premedikācijas līdzekļu iedarbības) suņiem izpaudās kā PQ intervāla saīsināšanās, bet saīsināšanās raksturs abu šķirņu dzīvniekiem bija atšķirīgs.
5. EKG II standartnovadījumā QT intervāls abu šķirņu suņiem premedikācijas līdzekļu atropīna sulfāta un acepromazīna maleāta ietekmē būtiski pagarinājās ( $P < 0.05$ ). Vispārējās anestēzijas līdzekļu summārais efekts (pēc premedikācijas līdzekļu iedarbības) kopumā izpaudās kā QT intervāla saīsināšanās: pirmajā vispārējās anestēzijas minūtē abu šķirņu dzīvniekiem tā noritēja vienādi strauji, bet turpmākās 15–30 minūtes – katrai suņa šķirnei atšķirīgi.

## LITERATŪRA

1. ARHIPOVA, I., Ramute, L., Paura, L. Datu statistiskā apstrāde ar MS Excel. LLU , Jelgava. 1998. - 7-157.
2. BERNAL, L. J., Montes, A. M., Fdez del Palazio, M. J., Gutierrez, P. C. Electrocardiographic changes in the growing Mastin Espanol.- Journal of Small Animal Practice. 1995. 36: 221-228.
3. FOSSUM, T.W., Hedlund, C.S., Johnson, A.L., Schulz, K.S., Seim, H.B., Willard, M.D., Bahr, A., Carroll, G. L. Small animal surgery. 3rd edition, Mosby Elsevier, St. Lois–Missouri 63146. 2007. pp. 1610.
4. FRENCH A. Introduction to electrocardiography. World Small Animal Veterinary Association Congress 2008 programme and scientific proceedings. 2008. 1: 116-118.
5. HEWSON, C. J., Dohoo, I. R., and Lemke, K. A. Perioperative use of analgesics in dogs and cats by Canadian veterinarians in 2001., *Canadian Veterinary Journal*. 2006. 47: 352-359.
6. HASKINS, S. C. (1992) Inject table anesthetics. *The Veterinary Clinics of North. American Journal of Veterinary Research*. 1992. 22: 297-308.
7. KALVELIS, A. *Nearitmiskā elektrokardioloģija*. Izdevniecība: SIA Nacionālais apgāds. 2005. 176 lpp.
8. LEMKE, K. A. Perioperative use of selective alpha-2 agonists and antagonists in small animals. *Canadian Veterinary Journal*. 2004. 45: 475-480.
9. Miller, R.D. Anesthesia. - Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. - 797 pp.

10. MORRISON, S. A., Moise, N. S., Scarlett, J., Mohammed, H., and Yeager, A. E. (1992) Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1992. 6: 220-224.
11. NUNES, A. A., Moffa, P. J., and Iwasaki, M. Standardisation of a new precordial chest lead system in the dog. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 1990. 27: 233-246.
12. OGUCHI, Y. and Hamlin, R. L. (1993) Duration of QT interval in clinically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 1993. 54:2145-2149.
13. OLSON, M. E., McCabe, K., and Walker, R. L. (1987) Guaifenesin alone or in combination with ketamine or sodium pentobarbital as an anesthetic in rabbits. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1987. 51: 383-386.
14. PIERMATTEI, D.L., Flo, G. L., DeCamp, C.E. Handbook of small animal orthopedics and fracture repair. 4th. edition, Saunders Elsevier, St. Lois–Missouri 63146. 2006. pp. 818.
15. REZAKHANI, A. Electrocardiographic values of german shepherd dogs. *Australian Veterinary Journal*. 1990. 67: 307-309.
16. RUSH, J. E. and Hamlin, R. L. Changes in QRS complex in dogs with normal and exaggerated tidal volumes. *American Journal of Veterinary Research*. 1986. 47: 577-580.
17. TILLEY, L.P., Smith, F.W.K., Oyama, M.A., Sleeper, M.M. Manual of canine and feline cardiology. 4rd edition, Saunders Elsevier, St. Lois–Missouri 63146. 2008. pp. 443.
18. TILLEY, L. P. In: *Essentials of Canine and Feline Electrocardiography: Interpretation and treatment*, 3rd edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 1992. pp. 5-49.
19. TORRE, D., Kirby, A.C., Church, D.B., and Malik, R. Echocardiographic measurements in Greyhounds, Whippets and Italian Greyhounds – dogs with similar conformation but different size. *Australian Veterinary Journal*, 2000, 78: 49-55.
20. UPENIECE, D. *Sirds elektrofizioloģiskie parametri Kokerspaniela, Rotveilera un Vācu aitu šķirnes suņiem*. Promocija darbs doktora grāda ieguvei. Jelgava, LLU, 2004, 96 lpp.
21. WELBERG, L. A., Kinkead, B., Thirivikraman, K., Huerkamp, M. J., Nemeroff, C. B., and Plotsky, P. M. Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 2006, 45: 13-20.
22. МАШКОВСКИЙ, М. Д. Лекарственные средства. Т. 2, - 14-е изд., перераб., испр. и доп. М.: ООО„Издательство Новая Волна”, 2000, 540 с.

# HELIKOBAKTĒRIJAS *HELICOBACTER* SPP. MĀJAS SUŅU (*CANIS FAMILIARIS*) KUŅĢA GĻOTĀDĀ

## *HELICOBACTER* SPP. IN THE GASTRIC MUCOSA OF DOMESTIC DOGS (*CANIS FAMILIARIS*)

Bērziņa Dace<sup>1</sup>, Birģele Edīte<sup>2</sup>

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia

[dace.berzina@llu.lv](mailto:dace.berzina@llu.lv)<sup>1</sup>, [edite.birģele@llu.lv](mailto:edite.birģele@llu.lv)<sup>2</sup>

### ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the prevalence and amount of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa of domestic dogs (*Canis familiaris*). Mucosal samples were taken from several places of the cardiac, fundic and pyloric gland region of the stomach to detect helicobacters with the light histological examination. Eighteen dogs of seventeen sampled animals showed presence of *Helicobacter* spp. Compared to the gastric regions, this study showed significantly higher prevalence of *Helicobacter* spp. in the cardiac and fundic gland region than in the less affected pyloric gland region. *Helicobacter* spp. were detected at the superficial epithelium, gastric pits and deeper glandular epithelium of the gastric mucosa. The amount of *Helicobacter* spp. was relatively differentiated into four groups: as absent, mild, moderate and severe quantity of *Helicobacter* spp. The occurrence of *Helicobacter* spp. in the cardiac and fundic gland region showed a mild and moderate amount of *Helicobacter* spp. at the superficial epithelium and the gastric pits of the gastric mucosa. *Helicobacter* spp. are localized more deeper in the gastric pits and deeper glandular epithelium of the pyloric gland region than in the epithelium of the cardiac and fundic gland region. The amount of helicobacters in the gastric mucosa of the deeper glandular epithelium was more pronounced in the pyloric gland region than in the cardiac and fundic gland region.

### KEY WORDS

*Helicobacter* spp., dogs, gastric, mucosa

### IEVADS

Pētījumi par helikobaktēriju ietekmi uz cilvēku un dzīvnieku gastrointestinālā trakta morfoloģisko un funkcionālo stāvokli pasaulē joprojām ir aktuāli. Daļēji tās tiek uzskatītas kā normāla kuņģa un zarnu mikroflora (Simmons et al., 2000). Savukārt daudzas helikobaktēriju sugas ir patogēnas, kas var izraisīt dažādas kuņģa, zarnu un aknu patoloģijas – kuņģa čūlas, gastroenterītu, hepatītu un pat audzējus (Fox et al.; 1997; Solnick, Schauer, 2001).

Kopš pirmo reizi 1984. gadā cilvēkiem izolēja patogēno *Helicobacter pylori* (Marshall et al., 1984), helikobaktērijas atklātas arī vairākām dzīvnieku sugām: suņiem, kaķiem, cūkām, gepardiem, seskiem, polārlāčiem, jūras lauvām, pērtiķiem un grauzējiem (Eaton et al.; 1996; Jalava et al.; 1997; Neiger et al.; 1998; Hwang et al.; 2002). Helikobaktērijas konstatētas arī savvaļas jenotsuņiem (Bērziņa, Birģele, 2006).

Noskaidrots, ka helikobaktērijas galvenokārt ir fakultatīvi anaerobas, gramnegatīvas, spirālveida baktērijas ar multiplām terminālām viciņām un augstu fermenta ureāzes aktivitāti, kas ļauj tām izdzīvot skābā vidē (Eaton et al., 1996). Uzskata, ka baktēriju avots pamatā ir kontaminēta barība vai fekālijas, kas tiek uzņemtas perorāli (Bussac, 1999).

Helikobaktēriju noteikšanai bieži tiek izmantota histoloģiskā izmeklēšana. Ar tās palīdzību, izmantojot dažādas krāsošanas metodes, var novērtēt arī gļotādas vispārējo stāvokli un konstatēt dažādas izmaiņas tās struktūrā (Megroud, 1996). Jāatzīmē, ka tā ir salīdzinoši dārgāka un sarežģītāka metode nekā, piemēram, ureāzes tests un gļotādas virsmas noburzumu

citoloģija, kas arī plaši tiek izmantotas helikobaktēriju noteikšanai (Happonen, 1996; Bērziņa, Birģele, 2006).

Šī darba mērķis bija izpētīt helikobaktēriju lokalizāciju un to daudzumu mājas suņu (*Canis familiaris*) kuņģa gļotādā.

#### **Darba uzdevumi:**

1. Noteikt helikobaktērijas suņu kuņģa gļotādā ar histoloģiskās izmeklēšanas metodi;
2. Izpētīt helikobaktēriju izplatību kuņģa gļotādas kardiālo, fundālo un pilorisko dziedzeru zonā;
3. Novērtēt helikobaktēriju daudzumu kuņģa gļotādas virsmas epitēlijā, kuņģa bedrītēs, kā arī dziļāk esošajā kuņģa dziedzerepitēlijā.

## **MATERIĀLS UN METODIKA**

Materiālu ieguvām LLU Veterinārmedicīnas fakultātes Mazo dzīvnieku klīnikā no 18 dažāda vecuma un dzimuma suņiem uzreiz pēc to eitanāzijas (saskaņā ar saimnieku vēlēšanos).

Gļotādas paraugi tika paņemti no stingri noteiktām vietām: četrām vietām kuņģa kardiālo dziedzeru zonā, astoņām vietām fundālo dziedzeru zonā un piecām vietām pilorisko dziedzeru zonā. Tādejādi no katra dzīvnieka tika iegūti 17 gļotādas paraugi un kopumā izanalizēti 306 gļotādas paraugi.

Gļotādas paraugus fiksēja 10% buferētajā neitrālajā formalīna šķīdumā. Parafīna bloku sagatavošanai izmantoja audu auto-procesoru *Tissue-Tek II* (Nīderlande). Tālāk preparātus sagriezta mikrotomā *SLEE Mainz Cut 4* μm biezos griezumos un krāsoja, izmantojot *Diff-Quick* metodi (Happonen et al., 1996). Histoloģiskos preparātus izvērtēja gaismas mikroskopā *Leica DM5000B* eļļas imersijā 1000 reižu lielā palielinājumā.

Histoloģiskās izmeklēšanas laikā noteicām helikobaktēriju lokalizāciju kuņģa gļotādā un to daudzumu kuņģa virsmas epitēlijā, kuņģa bedrītēs, kā arī dziļāk esošajā dziedzerepitēlijā (Hermanns et al., 1995; Happonen et al., 1996).

Kuņģa gļotādas dziļumu mērījām ar mikroskopisko attēlu iegūšanas, analīzes un mērīšanas programmu *Image-Pro Plus*. To noteicām tikai griezumos, kuros kuņģa gļotāda redzama visā dziļumā līdz *Lamina muscularis mucosae*.

Pēc iegūtā helikobaktēriju daudzuma attiecīgajā kuņģa gļotādas dziedzeru zonā paraugus varējām nosacīti iedalīt četrās grupās: helikobaktēriju vienā mikroskopa redzes laukā nav – rezultāts negatīvs; 1-10 helikobaktērijas vienā redzes laukā – nosacīti mazs to daudzums; 10-50 helikobaktērijas vienā redzes laukā – vidēji daudz; vairāk kā 50 helikobaktērijas vienā mikroskopa redzes laukā – ļoti daudz (Happonen et al., 1998; Neiger et al., 1998).

Iegūto rezultātu statistiskā apstrāde tika veikta ar SPSS 11.5 programmu. Helikobaktēriju lokalizācija un daudzums dažādās kuņģa gļotādas vietās kardiālo, fundālo un pilorisko dziedzeru zonā tika analizēts ar  $\chi^2$  kritēriju kā statistiskās neatkarības testu vairāku paraugkopu salīdzināšanai (Arhipova, Bāliņa, 2003).

## **REZULTĀTI UN DISKUSIJA**

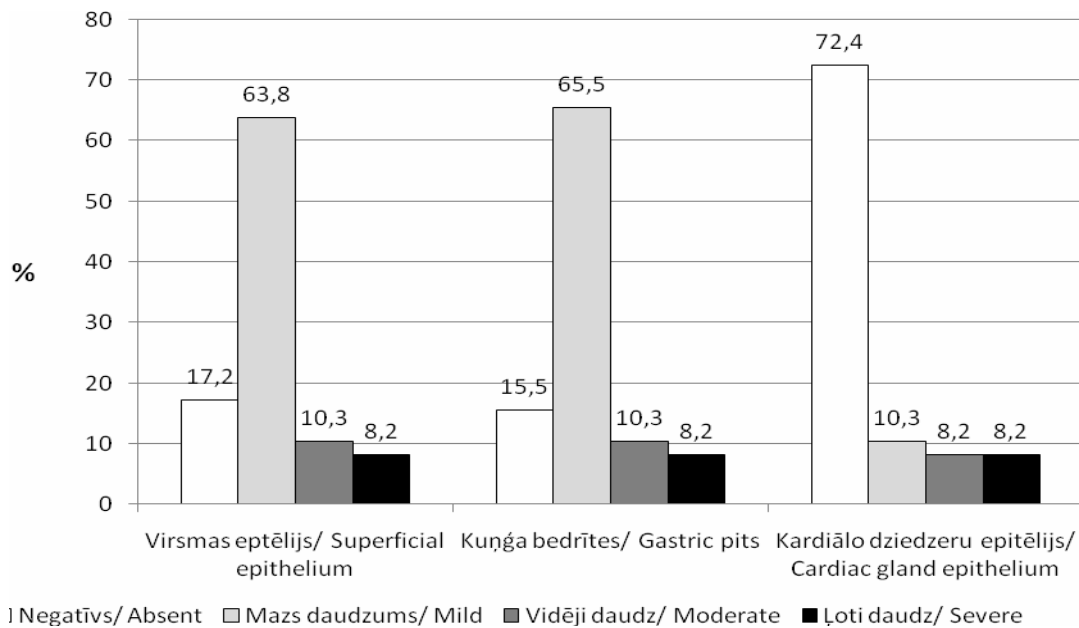
No 18 mūsu pētījumā izmeklētajiem suņiem 17 dzīvniekiem kuņģa gļotādā konstatējām helikobaktērijas. Nosakot helikobaktērijas 306 kuņģa gļotādas histoloģiskajos preparātos, pozitīvi rezultāti bija 236 preparātos - t.i. 77.1% gadījumos no mūsu izmeklētajiem paraugiem tika konstatētas helikobaktērijas.

Salīdzinot helikobaktēriju sastopamību dažādās kuņģa daļās, konstatējām, ka visaugstākais pozitīvais paraugu skaits ir fundālo dziedzeru zonā – 90.9% gadījumos, tad kardiālo dziedzeru zonā – 80.5% gadījumos. Kopumā tas ir gandrīz uz pusi vairāk nekā helikobaktēriju daudzums pilorisko dziedzeru zonā, kur tās attiecīgi izdalījām 52.2% gadījumos ( $p < 0.05$ ). Šie mūsu iegūtie rezultāti principā saskan ar Happonen (1996) pētījumiem, kuros arī konstatēts,

ka suņiem helikobaktērijas visvairāk ir lokalizētas tieši kuņģa fundālo dziedzeru zonā. Ja salīdzinām šos rezultātus ar mūsu iepriekš iegūtajiem rezultātiem par helikobaktēriju izplatību jenotsuņu kuņģa gļotādā, tad varam secināt, ka jenotsuņiem atšķirībā no mājas suņiem helikobaktērijas visās kuņģa gļotādas daļās bija sastopamas apmēram vienādā daudzumā (Bērziņa, Birģele 2006).

Nākamais uzdevums, kas mums jānoskaidro bija helikobaktēriju daudzuma atšķirības atsevišķo kuņģa dziedzeru zonu dažādajos dziedzerepitēlija slāņos.

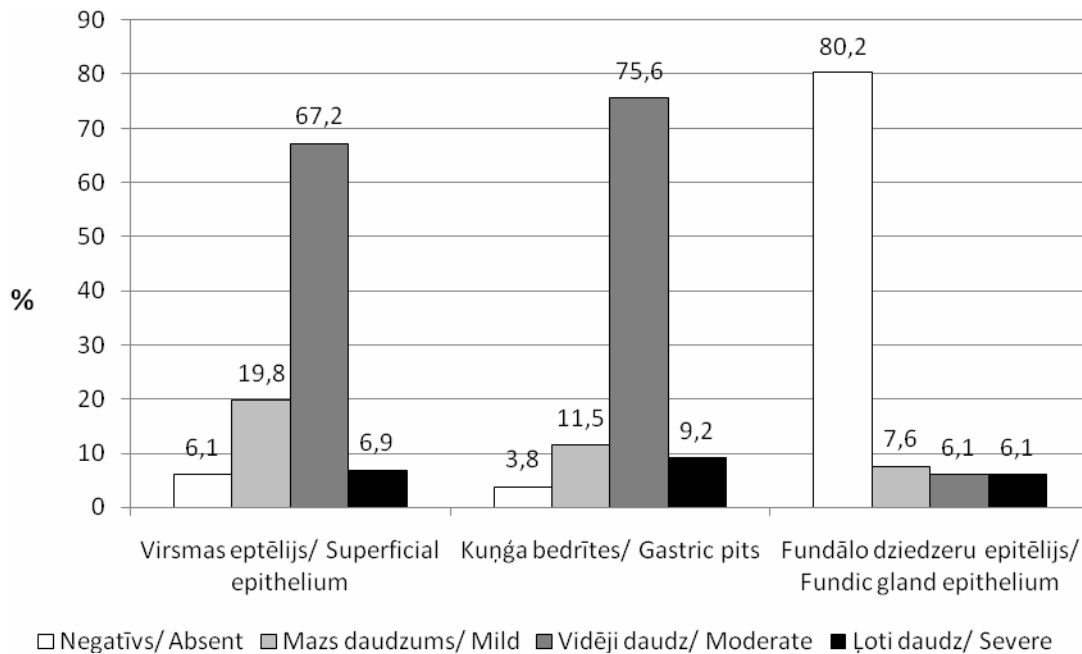
Kardiālo dziedzeru zonas gļotādā helikobaktērijas konstatējām kuņģa bedrītēs līdz 170 μm dziļumam, bet dziļāk esošajā dziedzerepitēlijā – līdz 350 μm dziļumam. Rezultāti, kas iegūti, izmeklējot kuņģa kardiālo dziedzeru zonu, atspoguļoti pirmajā attēlā.



1.attēls. *Helicobacter* spp. daudzuma atšķirības kuņģa kardiālo dziedzeru zonas gļotādā  
Figure 1. Amount differences of *Helicobacter* spp. in the mucosa of the cardiac gland region

Kuņģa kardiālo dziedzeru zonas gļotādas virsmas epītēlijā un kuņģa bedrītēs pārsvarā tika konstatēti tikai mazs helikobaktēriju daudzums – attiecīgi 63.8% gadījumos virsmas epītēlijā un 65.5% gadījumos kuņģa bedrītēs ( $p < 0.05$ ). Tomēr šajos gļotādas epītēlija slāņos 10.3% gadījumos varēja novērot vidēji daudz helikobaktēriju un 8.2% gadījumos – pat ļoti daudz šo baktēriju. Kas attiecas uz kardiālo dziedzeru dziļākajiem slāņiem – līdz 350 μm dziļumam – tad redzam, ka šajā dziļumā pārsvarā (72.4% gadījumos) helikobaktērijas nekonstatējām. Tomēr arī šajā gļotādas dziļumā kardiālo dziedzeru zonā helikobaktērijas varēja konstatēt: 10.3% gadījumos to bija maz, 8.2% gadījumos – vidēji daudz un 8.2% gadījumos – pat ļoti daudz (sk. 1.attēlu).

Fundālo dziedzeru zonas gļotādā tāpat kā kardiālo dziedzeru zonā helikobaktērijas konstatējām kuņģa bedrītēs līdz 170 μm dziļumam, bet dziļāk esošajā dziedzeru epītēlijā – līdz 350 μm dziļumam. Rezultāti, kas iegūti, izmeklējot kuņģa fundālo dziedzeru zonu, atspoguļoti otrajā attēlā.



2.attēls. *Helicobacter* spp. daudzuma atšķirības kuņģa fundālo dziedzeru zonas gļotādā  
 Figure 2. Amount differences of *Helicobacter* spp. in the mucosa of the fundic gland region

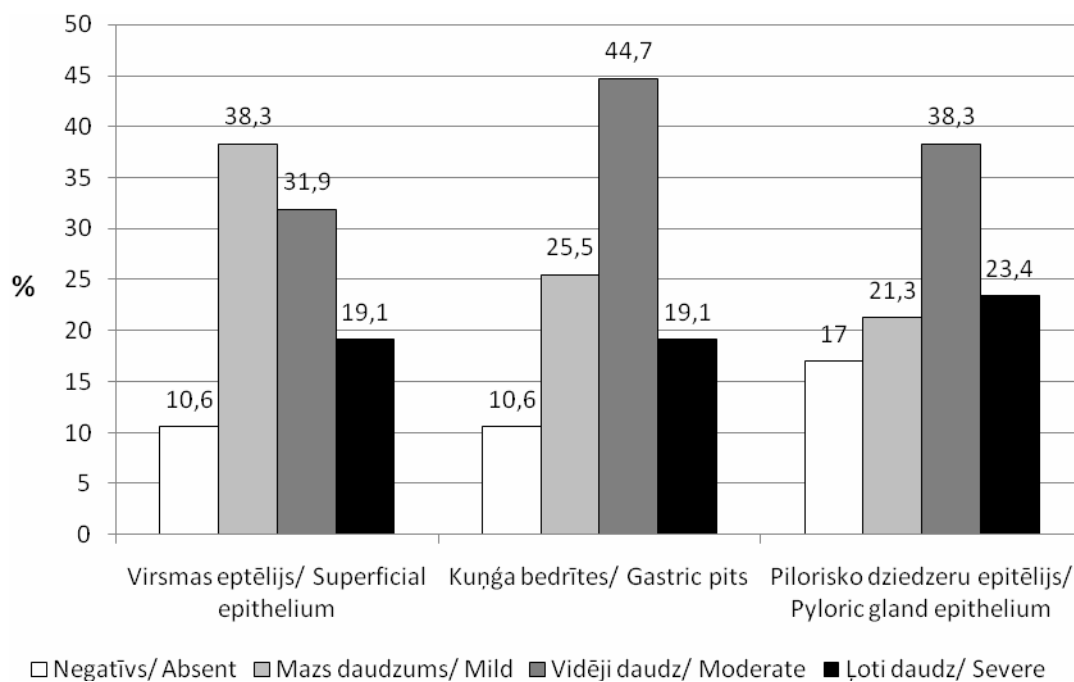
Kuņģa fundālo dziedzeru zonas gļotādas virsmas epitelijā un kuņģa bedrītēs pārsvarā konstatējām vidēji daudz helikobaktēriju – attiecīgi 67.2% gadījumos virsmas epitelijā un 75.6% gadījumos kuņģa bedrītēs. Mazs helikobaktēriju daudzums bija 19.8% gadījumos virsmas epitelijā un 11.5% gadījumos kuņģa bedrītēs, bet ļoti daudz helikobaktēriju bija 6.9%, gadījumos virsmas epitelijā un 9.2% gadījumos kuņģa bedrītēs. Kas attiecas uz fundālo dziedzeru dziļākajiem slāņiem līdz 350 µm dziļumam, tad redzam, ka šajā dziļumā pārsvarā (80.2% gadījumos) helikobaktērijas netika konstatētas. Tomēr arī šajā gļotādas dziļumā fundālo dziedzeru zonā maz helikobaktēriju varēja konstatēt 7.6% gadījumos, bet 6.1% gadījumos to bija vidēji un pat ļoti daudz (sk. 2. attēlu).

Tādējādi, līdzīgi kā kardiālo dziedzeru zonā arī fundālo dziedzeru zonā helikobaktērijas ir vairāk izplatītas virsmas epitelijā un kuņģa bedrītēs nekā dziļāk esošajā dziedzerepitelijā ( $p < 0.05$ ).

Pilorisko dziedzeru zonas gļotādā helikobaktērijas konstatējām kuņģa bedrītēs līdz 350 µm dziļumam, bet dziļāk esošajā dziedzerepitelijā – līdz 760 µm dziļumam. Tātad, mājas suņiem kuņģa pilorisko dziedzeru zonas gļotādā gan kuņģa bedrītēs, gan dziedzerepitelijā helikobaktērijas varēja konstatēt salīdzinoši dziļāk nekā tas bija kardiālo un fundālo dziedzeru zonā.

Helikobaktēriju daudzuma atšķirības pilorisko dziedzeru zonas gļotādā suņiem parādītas trešajā attēlā.





3.attēls. *Helicobacter* spp. daudzuma atšķirības kuņģa pilorisko dziedzeru zonas gļotādā  
 Figure 3. Amount differences of *Helicobacter* spp. in the mucosa of the pyloric gland region

Redzams, ka kuņģa piloriskās dziedzeru zonas gļotādas virsmas epitēlijā 38.3% gadījumos konstatējām maz helikobaktēriju, 31.9% gadījumos – to bija vidēji daudz, bet 19.1% gadījumos – pat ļoti daudz helikobaktēriju. Kuņģa bedrītēs pārsvarā (44.7% gadījumos) konstatējām vidēji daudz helikobaktēriju, maz helikobaktēriju bija 25.5% gadījumos, bet 19.1% gadījumos to bija ļoti daudz. Dziļāk esošajā pilorisko dziedzeru zonas epitēlijā tāpat kā kuņģa bedrītēs pārsvarā konstatējām vidēji daudz helikobaktēriju – 38.3% gadījumos. Šajā gļotādas dziļumā 21.3% gadījumos konstatējām maz helikobaktēriju, bet 23.4% gadījumos – ļoti daudz helikobaktēriju. Savukārt negatīvo paraugu skaits dziļāk esošajā pilorisko dziedzeru zonas epitēlijā bija tikai 17% gadījumos (sk. 3. attēlu).

Tādejādi helikobaktēriju daudzums kuņģa gļotādas dziļāk esošajā dziedzerēpitēlijā pilorisko dziedzeru zonā ir ievērojami lielāks ( $p < 0.05$ ) nekā tas attiecīgi bija kardiālo un fundālo dziedzeru zonā.

## SECINĀJUMI

1. Mājas suņiem (*Canis familiaris*) helikobaktēriju daudzums kuņģa kardiālo un fundālo dziedzeru zonā ir gandrīz uz pusi lielāks nekā tas ir pilorisko dziedzeru zonas gļotādā.
2. Kuņģa kardiālo un fundālo dziedzeru zonas gļotādas virsmas epitēlijā un kuņģa bedrītēs pārsvarā konstatēts mazs un vidējs helikobaktēriju daudzums.
3. Kuņģa pilorisko dziedzeru zonā suņiem helikobaktērijas konstatētas dziļāk gan kuņģa bedrītēs, gan piloriskajā dziedzerēpitēlijā nekā attiecīgajās daļās kuņģa kardiālo un fundālo dziedzeru zonas epitēlijā.
4. Helikobaktēriju daudzums suņiem kuņģa gļotādas dziļāk esošajā dziedzerēpitēlijā pilorisko dziedzeru zonā ir ievērojami lielāks nekā tas attiecīgi ir kardiālo un fundālo dziedzeru zonas gļotādā.

## LITERATŪRA

1. Arhipova I., Bāliņa S. Statistika ekonomikā. Datorzinību centrs, Rīga, 2003. 352 lpp.
2. Bērziņa D., Birģele E. Kuņģa *Helicobacter spp.* izplatība jenotsuņiem Korejas Republikas Čonbukas Provincē. Starptautiskās zinātniskās konferences “Dzīvnieki. Veselība. higiēna” raksti. Jelgava. Latvija, 2006. 1: 36-42.
3. Bussac G. *Helicobacter pylori* and the oral environment. Practical Periodontics Anesthetics Dentology. 1999. 11(8): 918-922.
4. Eaton K.A., Dewhirst F.E., Paster B.J., Tzellas N., Coleman B.E., Paola J., Sherding R. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. Journal of Clinical Microbiology. 1996. 34(12),3: 165-245.
5. Fox J.G., Lee A. The role of *Helicobacter* species in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. Laboratory Animal. Science. 1997. 47(3): 222-277.
6. Happonen I., Linden J., Saari S., Karjalainen M., Hanninen M.L., Jalava K., Westermarck E. Detection and effects of helicobacters in the healthy dogs and dogs with signs of gastritis. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1998. 213: 1767-1774.
7. Happonen I., Saari S., Castren L., Tyni O., Hanninen M.L., Westermarck E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. Journal of Comparative Pathology. 1996. 115(2): 117-144.
8. Hermanns W., Kregel K., Breuer W., Lechner J. *Helicobacter* – like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. Journal of Comparative Pathology. 1995. 112: 307-318.
9. Hwang C.Y., Han H.R., Youn H.Y. Prevalence and clinical characterization of gastric *Helicobacter* species infection of dogs and cats in Korea. Journal of Veterinary Science. 2002. 3(2): 123-156.
10. Jalava K., Kaartinen M., Utriainen M., Happonen I., Hanninen M.L. *Helicobacter salmonis sp. nov.*, a canine gastric *Helicobacter* sp. related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. International Journal of Systemic Bacteriology. 1997. 47(4): 975- 982.
11. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet. 1984. 16,1(8390): 1311-1316.
12. Megraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 1996. 215: 57-119.
13. Neiger R., Dieterich C., Burnens A., Waldvogel A., Corthesy – Theulaz I., Halter F., Lauterburg B., Schmassmann A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. Journal of Clinical Microbiology. 1998. 36: 634-637.
14. Neiger R., Dieterich C., Burnens A., Waldvogel A., I. Corthesy-Theulaz I., Halter F., Lauterburg B., Schmassmann A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. Journal of Clinical Microbiology. 1998. March: 634-637.
15. Simmons J.h., Riley L.K., Besch-Williford C., Franklin C.L. *Helicobacter mesocricetorum sp. nov.*, a novel helicobacter isolated from the feces of Syrian hamsters. Journal of Clinical Microbiology. 2000. 38: 1811-1817.
16. Solnick J.V., Schauer D.B. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clinical Microbiology. 2001. 14(1): 59-97.

# SMILTSĒRKŠĶU BLAKUSPRODUKTU IZĒDINĀŠANAS IETEKME UZ KĒVJU UN KUMEĻU ASINS BIOĶĪMISKIEM RĀDĪTĀJIEM THE INFLUENCE OF FEEDING OF SEA BUCKTHORN BY-PRODUCTS ON THE MARE AND FOAL BLOOD BIOCHEMICAL INDICES

Sanita Bula<sup>1</sup>, Uldis Ositis<sup>1</sup>

LLU Lauksaimniecības fakultāte, Latvija<sup>1</sup>

Faculty of Agriculture, LLU, Latvia<sup>1</sup>

[sanitabula@inbox.lv](mailto:sanitabula@inbox.lv)

## ABSTRACT

The plant sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) primarily is valued for its golden-orange fruits which provide vitamins C and E, other nutrients, flavonoids, oils rich in essential fatty acids, and other healthful components with a potent antioxidant activity.

The aim of the research was to evaluate the influence of feeding of sea buckthorn by-product premixes on the mare and foal blood biochemical indices. Field trials were carried out at the studhorse farms “Burtnieku zirgudzētava” Ltd (in Burtnieku pagasts of Valmiera region) in the year 2007, and at “Princis” Ltd (in Cenu pagasts of Jelgava region) in 2008, from January to May each year on every farm.

For the trials, 15 Latvian pedigree mares in foal were split into three groups (5 mares in a group). All mares were identical for their genetic and production parameters. Control group was fed with farm routine diet, experimental group II was fed with routine diet plus 0.3 kg of dried sea buckthorn leaves and sprigs, but experimental group III was given routine diet plus 0.3 kg of dried berries residues.

At the beginning of the trial and after foaling, the blood samples of all mares and foals were analyzed for hematological indices (red blood cell count, hematocrit, leucocytes, etc.), as well as for the content of Mg, Zn, Cu, and units of glutathione peroxidase. In the blood samples of mares after foaling, a disparity ( $p < 0.05$ ) between control and experimental group II, and between control and experimental group III was detected for several indices: red cell distribution width index RWD, reduced count of leucocytes, changed ratio between leucocyte types, reduced count of lymphocytes and monocytes, and increased amount of Zn ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ ).

**KEY WORDS:** sea buckthorn, hematological indices, hemoglobin, leucocytes.

## INTRODUCTION

In the last few years, sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) has become a very popular plant to prevent soil erosion and serve as an economic resource for food, medicine products, and feedstuffs. As a legend says, the leaves of sea buckthorn were used in Ancient Greece for curing of horses. The horses fed with leaves were known to recover very rapidly and to acquire smooth and glossy hair. Hence, the name of this plant *Hippophae* originates from *hippos* – horse, *phae* – shedding lustre. Sea buckthorn develops an extensive root system rapidly, and is therefore an ideal plant for soil erosion control (Li et al., 1996).

The information on nutritional and medicinal value of sea buckthorn is relatively new. The sea buckthorn industry has been thriving in Russia since 1940s when scientists there began investigating the biologically active substances found in the berries, leaves, and bark. These products were utilized in the diets of Russian cosmonauts and as a cream for protection from cosmic radiation (Xu et al., 2001).

A number of vitamins, flavonoids, and sterols present in the plant are thought to be responsible for its versatile pharmacological activities such as anti-inflammatory, chemical or physical burn wound healing ability, anti-gastroulcerative activity, hepatoprotective, and anti-cancerous and anti-atherosclerotic properties (Varshney et al., 2005). It has been reported that

sea buckthorn contains more than 190 bioactive compounds in the leaves, sprigs, seed pulp, and juice. These compounds include fat soluble vitamins (A, K, and E), water soluble vitamins (C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, folic acid, etc.), 22 fatty acids, 42 lipids, organic acids, amino acids, carbohydrates, tocopherols, flavonoids, phenols, terpenes, and tannins (Zhang, 1990). Most of the research on sea buckthorn was done on small laboratory animals such as guinea-pigs, rats and rabbits, and directly on humans. As far as domestic animals especially large animals are concerned, not much work has been done therefore we have undertaken a trial project to verify the ability of sea buckthorn by-products to influence the mare and foal blood biochemical indices.

## **MATERIALS AND METHODS**

The field trials were conducted on the studhorse farm "Burtnieku zirgaidzētava" Ltd (Burtnieku pagasts of Valmiera region) from January to May 2007, and "Princis" Ltd (Cenu pagasts of Jelgava region) from January to May 2008. In each trial, 15 Latvian pedigree mares in foal were used. They were split into three groups (5 mares in a group), identical for genetic and production parameters, and randomly assigned to one of the experimental diets. Mares of all three groups were fed basal diet which consisted of 8 kg of meadow hay and 5 kg of rolled oats. Besides, in the diet of the experimental group II, 0.3 kg of dried sea buckthorn leaves and sprigs were added, and in the diet of the experimental group III, 0.3 kg of dried berries residues were added. All mares were in foal for the last 2.5 – 3 months.

The chemical composition of hay, oats, sea buckthorn leaves and sprigs, and dried berries residues were analyzed in the Scientific Agrochemical laboratory of LLU to evaluate nutritional value of the experimental diets.

At the beginning of both trials, blood samples of all mares were analyzed for blood hematological indices: red blood cell count (erythrocytes), hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume or mean red blood cell volume MCV, mean corpuscular or cell hemoglobin MCH, mean cell hemoglobin concentration MCHC, red blood cell distribution width RWD, thrombocytes (anucleated cell fragments or platelets), leucocytes or "white blood cells" and different types of leucocytes (granulocytes – neutrophils, eosinophils, basophils; and agranulocytes – lymphocytes and monocytes), erythrocyte sedimentation rate ESR (or in Latvian: EGA), as well as the content of Mg, Zn, Cu, and units of glutathione peroxidase. The same analyses were done on mares and foals after foaling in the laboratory of "E. Gulbja laboratorija" Ltd in Riga.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

At the beginning of the trial, in January 2007, no remarkable differences in the mare blood hematological indices between the experimental groups were observed. Biometric verification of the data showed no disparity between the indices (Table 1). The only exception was disparity between the control and experimental group III in the mean cell hemoglobin concentration MCHC ( $p < 0.05$ ), between control and experimental group II ( $p < 0.05$ ) in the units of glutathione peroxidase, and between control and experimental group III ( $p < 0.05$ ) in the content of Cu ( $\mu\text{g } \%$ ). Unfortunately, the number of available resources of animals entered into the trial and of analyzed blood samples was too small to explain this phenomenon.

Substantial alterations in mare blood hematological indices between the control and experimental group II were observed after foaling (Table 2), which was recognized by biometric verification. To the basal diet of mares of that group, 0.3 kg of ground dried sea buckthorn leaves and sprigs were added. A disparity ( $p < 0.05$ ) developed for several indices: red blood cell distribution width RWD, reduced count of leucocytes and, respectively, changes in the ratio between eosinophils and basophils, reduced count of lymphocytes and

monocytes, and increased content of Zn ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ ). All these changes are preferable for the health of mares.

Significant changes ( $p < 0.05$ ) were detected in neonate foal blood hematological indices between the control and experimental groups II and III (Table 3). Erythrocyte count, quantity of hemoglobin, and mean cell hemoglobin concentration MCHC were found to diminish in both experimental groups. Differences between the control and experimental group II were found for erythrocyte sedimentation rate ESR, but between control and experimental group III – for hematocrit, thrombocytes, leucocytes, and content of Zn ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ ).

1. tabula / Table 1

**Kēvju asins vidējo bioķīmisko rādītāju salīdzinājums starp grupām izmēģinājuma sākumā**  
**Comparison of mare blood hematological indices between the groups at the beginning of the trial**

Rādītāji Indices	Kontroles grupa Control group	II grupa Experimental group II	III grupa Experimental group III
Eritrocīti, $10^{12} \text{ L}^{-1}$ Erythrocytes, $10^{12} \text{ L}^{-1}$	7.676 $\pm$ 0.6	7.958 $\pm$ 0.3	8.598 $\pm$ 0.3
Hemoglobīns, $\text{g L}^{-1}$ Hemoglobin, $\text{g L}^{-1}$	128.4 $\pm$ 9.0	134.2 $\pm$ 3.4	137.6 $\pm$ 5.1
Hematokrīts, % Hematocrit, %	34.0 $\pm$ 2.3	35.2 $\pm$ 1.1	37.2 $\pm$ 1.2
MCV, $\text{f L}^{-1}$	44.2 $\pm$ 0.7	44.6 $\pm$ 0.9	43.2 $\pm$ 0.6
MCH, $\text{p g}$	16.4 $\pm$ 0.2	17.0 $\pm$ 0.3	16.0 $\pm$ 0.3
MCHC, $\text{g L}^{-1}$	379.2 $\pm$ 1.5	380.6 $\pm$ 1.8	369.6 $\pm$ 2.4
RDW, %	19.94 $\pm$ 0.4	20.08 $\pm$ 0.3	20.26 $\pm$ 0.4
Trombocīti, $10^9 \text{ L}^{-1}$ Thrombocytes, $10^9 \text{ L}^{-1}$	110.2 $\pm$ 13.8	106.0 $\pm$ 11.2	160.6 $\pm$ 30.0
Leikocīti, $10^9 \text{ L}^{-1}$ Leucocytes, $10^9 \text{ L}^{-1}$	8.568 $\pm$ 0.7	8.52 $\pm$ 0.8	9.254 $\pm$ 0.5
Neitrofilie, % Neutrophils, %	58.0 $\pm$ 4.0	57.8 $\pm$ 4.3	53.6 $\pm$ 3.5
Eozinofilie, % Eosinophils, %	2.2 $\pm$ 0.96	3.2 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.5
Bazofilie, % Basophils, %	0 $\pm$ 0	0.4 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.2
Limfocīti, % Lymphocytes, %	33.6 $\pm$ 4.3	33.8 $\pm$ 4.4	40.4 $\pm$ 3.5
Monocīti, % Monocytes, %	6.2 $\pm$ 1.3	4.8 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.7
EGA, $\text{mm h}^{-1}$ ESR, $\text{mm h}^{-1}$	14.2 $\pm$ 1.2	15.8 $\pm$ 1.6	19.8 $\pm$ 0.6
Mg, $\text{mmol L}^{-1}$	0.790 $\pm$ 0.02	0.768 $\pm$ 0.04	1.006 $\pm$ 0.06
Zn, $\mu\text{g dL}^{-1}$	91.0 $\pm$ 5.5	89.6 $\pm$ 4.4	92.2 $\pm$ 5.2
Cu, serumā, $\mu\text{g \%}$ Cu in blood serum	97.2 $\pm$ 9.2	107.0 $\pm$ 7.6	117.2 $\pm$ 7.5
Glutaciona peroksidāze, $\text{U L}^{-1}$ Glutathione peroxidase	9 385 $\pm$ 1797.8	22 714 $\pm$ 933.1	14 342 $\pm$ 3374.4

The differences between the groups in mare and foal blood hematological indices in the trial of the year 2008 are very closely similar to those of the 2007 trial. This suggests that sea buckthorn by-products premixes for feeding of mares in foal are valuable for improvement of

blood hematological indices in both mare and foal. The results of our trials agree with the data found in scientific proceedings.

2. tabula / Table 2

**Ķēvu asins vidējo bioķīmisko rādītāju salīdzinājums starp grupām pēc atnešanās**  
**Comparison of mare blood hematological indices between the trial groups after foaling**

Rādītāji Indices	Kontroles grupa Control group	II grupa Experimental group II	III grupa Experimental group III
Eritrocīti, $10^{12} \text{ L}^{-1}$ Erythrocytes, $10^{12} \text{ L}^{-1}$	9.432 ± 1.04	7.91 ± 0.3	8.142 ± 0.3
Hemoglobīns, $\text{g L}^{-1}$ Hemoglobin, $\text{g L}^{-1}$	136.6 ± 8.1	127.2 ± 5.9	128.0 ± 3.2
Hematokrīts, % Hematocrit, %	37.2 ± 1.7	35.6 ± 1.5	35.6 ± 1.2
MCV, $\text{f L}^{-1}$	41.0 ± 2.6	45.4 ± 0.8	43.8 ± 0.7
MCH, p g	15.0 ± 0.8	16.4 ± 0.2	15.6 ± 0.4
MCHC, $\text{g L}^{-1}$	365.4 ± 6.8	356.0 ± 3.6	359.4 ± 3.1
RDW, %	21.10 ± 0.6	19.14 ± 0.2	20.20 ± 0.3
Trombocīti, $10^9 \text{ L}^{-1}$ Thrombocytes, $10^9 \text{ L}^{-1}$	172.4 ± 106.4	158.6 ± 28.6	157.2 ± 19
Leikocīti, $10^9 \text{ L}^{-1}$ Leucocytes, $10^9 \text{ L}^{-1}$	11.956 ± 1.1	9.192 ± 0.8	10.114 ± 1.1
Neitrofilie, % Neutrophils, %	28.9 ± 2.2	32.84 ± 2.4	35.2 ± 3.8
Eozinofilie, % Eosinophils, %	4.26 ± 0.4	7.84 ± 1.2	4.8 ± 0.2
Bazofilie, % Basophils, %	1.24 ± 0.2	2.46 ± 0.5	1.12 ± 0.4
Limfocīti, % Lymphocytes, %	59.3 ± 2.5	52.24 ± 3.7	53.34 ± 4.4
Monocīti, % Monocytes, %	6.26 ± 0.5	4.56 ± 1.0	5.52 ± 1.0
EGA, $\text{mm h}^{-1}$ ESR, $\text{mm h}^{-1}$	17.2 ± 2.8	18.6 ± 1.2	24.2 ± 5.7
Mg, $\text{mmol L}^{-1}$	0.924 ± 0.06	0.986 ± 0.07	0.804 ± 0.008
Zn, $\mu\text{g dL}^{-1}$	56.0 ± 1.5	68.4 ± 3.5	50.2 ± 5.6
Cu, serumā, $\mu\text{g \%}$ Cu in blood serum	90.0 ± 12.2	104.6 ± 7.2	91.4 ± 5.4
Glutaciona peroksidāze, $\text{U L}^{-1}$ Glutathione peroxidase	20203 ± 1798.8	23453 ± 1673.9	16 446 ± 3379.7

## CONCLUSIONS

1. All parts of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) contain many biologically active compounds – vitamins, fatty acids, amino acids, flavonoids, phenols, terpenes, tannins, etc.
2. Sea buckthorn by-product additives (dried leaves, sprigs, and berries residues ground to dust) fed to mares in foal in the last 2.5 – 3 months of pregnancy produced significant changes in the mare and foal blood hematological indices.
3. The results of both trials indicate favorable impact of feeding of sea buckthorn by-products on several blood hematological indices in foals, which is beneficial to foal further development.

**Kumelu asins vidējo bioķīmisko rādītāju salīdzinājums starp grupām**  
**Comparison of foal blood hematological indices between the trial groups**

Rādītāji Indices	Kontroles grupa Control group	II grupa Experimental group II	III grupa Experimental group III
Eritrocīti, $10^{12} \text{ L}^{-1}$ Erythrocytes, $10^{12} \text{ L}^{-1}$	11.43 ± 0.1	10.74 ± 0.3	9.92 ± 0.3
Hemoglobīns, $\text{g L}^{-1}$ Hemoglobin, $\text{g L}^{-1}$	145 ± 1.3	136 ± 3.8	119 ± 3.2
Hematokrīts, % Hematocrit, %	39 ± 0.4	37 ± 1.1	32.3 ± 0.8
MCV, $\text{f L}^{-1}$	34.0 ± 0.9	34.2 ± 0.5	32.5 ± 0.7
MCH, p g	12.4 ± 0.2	12.4 ± 0.2	12.0 ± 0.3
MCHC, $\text{g L}^{-1}$	373 ± 0.9	367 ± 1.8	369 ± 1.1
RDW, %	24.15 ± 0.6	22.34 ± 0.4	22.90 ± 0.4
Trombocīti, $10^9 \text{ L}^{-1}$ Thrombocytes, $10^9 \text{ L}^{-1}$	492.5 ± 81.2	552.4 ± 51.0	795.0 ± 142.8
Leikocīti, $10^9 \text{ L}^{-1}$ Leucocytes, $10^9 \text{ L}^{-1}$	10.014 ± 0.7	11.832 ± 1.6	13.042 ± 1.4
Neitrofilie, % Neutrophils, %	32.05 ± 0.07	31.34 ± 3.4	30.0 ± 3.4
Eozinofilie, % Eosinophils, %	1.24 ± 0.4	0.60 ± 0.1	2.65 ± 1.1
Bazofilie, % Basophils, %	1.1 ± 0.04	1.02 ± 0.06	1.075 ± 0.3
Limfocīti, % Lymphocytes, %	59.9 ± 1.2	61.5 ± 3.3	61.0 ± 2.4
Monocīti, % Monocytes, %	5.7 ± 0.8	5.5 ± 0.6	5.24 ± 0.7
EGA, $\text{mm h}^{-1}$ ESR, $\text{mm h}^{-1}$	7.0 ± 1.3	11.6 ± 1.2	10.0 ± 1.4
Mg, $\text{mmol L}^{-1}$	0.85 ± 0.002	0.86 ± 0.02	0.85 ± 0.03
Zn, $\mu\text{g dL}^{-1}$	68 ± 1.8	71 ± 3.7	61 ± 2.7
Cu, serumā, $\mu\text{g \%}$ Cu in blood serum	93 ± 5.4	87.4 ± 14.7	86.4 ± 8.2
Glutaciona peroksidāze, $\text{U L}^{-1}$ Glutathione peroxidase	15621 ± 165.0	16285 ± 1740.7	15924 ± 4707.4

## LITERATURE

- Li, T.S.C. and Schroeder W.R. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*): A multipurpose plant. Horticulture Technology. 1996. 6: 370 – 386.
- Varshney, A.C. and Tyagi, S.P. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) in Cutaneous Wound Healing of Animals: A Multipurpose Wonder Plant. 2005. Vol. 2: 461 – 467.
- Xu, M., Sun, S. and Cui, J. The medical research on sea buckthorn. Proc. Int. Workshop Sea buckthorn. New Deli, India. Feb. 2001. 18 – 21.
- Zhang, Z. Advances and counter measures on research and use of sea buckthorn in Russia. Seabuckthorn. 1990. 3: 42 – 46.

**LIGZDOJOŠO SIBĪRIJAS ZĪLĪŠU *PARUS CINCTUS*  
HEMATOLOĢISKIE PARAMETRI, ASINS PARAZĪTU PREVALENCE  
UN TO SAISTĪBA AR PARAZITĒMIJAS INTENSITĀTI  
BLOOD PARASITES PREVALENCE AND HEMATOLOGICAL  
HEALTH INDICES OF BREEDING SIBERIAN TITS *PARUS CINCTUS***

**Dina Cīrule, Valērija Suraka**

PVD Nacionālais diagnostikas centrs, Latvija

National Diagnostic Centre of FVS

[dina.cirule@ndc.gov.lv](mailto:dina.cirule@ndc.gov.lv)

[valerija.suraka@ndc.gov.lv](mailto:valerija.suraka@ndc.gov.lv)

**ABSTRACT**

Haemosporidian blood parasites are intracellular protozoan using their host tissue and blood stream for asexual reproduction. Many species of birds can be exposed simultaneously to several species and lineages of haemosporidian parasites, and the fitness effects of these parasites range from negligible to severe. Parasite loads can affect reproduction in breeding birds, and parasites may play an important role in sexual selection by affecting the expression of male secondary sexual traits. This is the reason why avian blood parasites are often used as models for testing hypotheses relating to sexual selection and underlying mechanisms of reproductive costs which shows the necessity to estimate blood parasite diversity, the intensity of invasion and prevalence (proportion of infected individuals) of the individual birds being studied.

There are many reports of bird blood parasites all over the world revealing noticeable differences in blood parasite seasonal and geographical variations. High prevalence is dependent on parasite relapse from tissues into the blood, thus, enhancing the reproduction and distribution of the pathogens. While the diversity of blood parasite of birds is higher in tropical areas, the prevalence seems to be highest at higher latitudes. The higher proportion of infected individuals in northern animal populations supposedly are due to the high abundance of transmitting vectors as well as the high species diversity of vectors specialized for birds or mammals in the northern latitudes.

Blood parasites usually provoke chronic infections in the wild with relapses during stressful situations for the hosts (Atkinson and Van Riper 1991, Bennett et al. 1993) especially during breeding (Weatherhead and Bennett 1991, Merino et al. 2000) which is energy and time demanding season. Food is one of the most important factors influencing reproduction in birds (Lack 1947, 1968, Martin 1987). Northern birds experience food limitation especially during the nestling period due to the shorter summer season and more unpredictable weather conditions. Detrimental working hours while provisioning food for nestlings require greater investments in each breeding attempt. Therefore northern species could be more stressed during breeding having suppressed immune function because of prolonged corticosterone exposure which may lead to higher intensity of parasite infestation.

This is the first study dealing with blood parasites of the Siberian tit (*Parus cinctus*), a small insectivorous passerine. Its nearly circumpolar range comprises boreal forests in northern Eurasia, Alaska and northwest Canada. Siberian tit is among those taiga birds most likely to remain true to their hatching location year round which means that transmission of its blood parasites occurs in boreal taiga forests only. Our aim was to study blood parasite composition, prevalence and the intensity of infection of the Siberian tit during the nestling



period in order to test for a link between parasite infections, hematological parameters of individual birds and reproductive output of this species in northern Finland.

Breeding adult Siberian tits were captured within their nestboxes during nestling period from 17 June to 21 June 2007 near Kuusamo, northern Finland. The vegetation in the area was composed mainly by Scots pine *Pinus sylvestris*, where nestboxes were placed for a long-term study. All of the breeding individuals were ringed with metal and individual plastic rings. Sex and age of the birds were known from previous seasons. The blood samples were taken from 42 Siberian tits. For identification of blood parasites and leukocytes from each individual Siberian tit a drop of blood was obtained by puncturing the tarsal vein and then smeared on three individually marked microscope slides. Smears were air-dried in the field and immediately fixed with methanol and subsequently stained with Romanovska - Gimsa stain. Smears were screened with a light microscope under oil immersion at 1000x magnification for *Haemoproteus* and *Plasmodium* and at 500x magnification for *Leucocytozoon*, *Trypanosoma* and *Microfilaria*. Parasites were enumerated from 100 fields by moving the slide to areas where blood cells formed a monolayer for *Leucocytozoon* and from more than 200 fields for *Haemoproteus* and *Plasmodium*. Slides were screened twice and there was a good repeatability of blood parasite detection. Individuals were classified as infected when smears were positive for at least one hemoparasite taxon. In the hematological analyses, only data for lymphocytes and heterophiles, as the most numerous immune cells, were used. The proportion of heterophiles and lymphocytes was assessed under 1,000 x magnification on the basis of an examination of a total 100 leukocytes in oil immersion.

We expected high parasite prevalence and parasitemia in breeding Siberian tits which breeding and wintering success are relatively poor because of adverse climate and habitat deterioration by extensive forestry. Finally we asked whether parasitemia levels correlate with leukocyte health state indices, predicting positive relationship with markers of inflammation and stress such as heterophile count and heterophile/lymphocyte (H/L) ratio.

**KEY WORDS:** bird blood parasites, hematological parameters

# MAKROSKOPISKĀS UN HISTOLOĢISKĀS IZMAIŅAS TRUŠU VĒDERA DOBUMĀ PĒC TRŪČU IELĀPU IMPLANTĀCIJAS MACROSCOPICAL AND HISTOLOGICAL CHANGES IN ABDOMINAL CAVITY OF RABBITS AFTER IMPLANTATION OF THE HERNIAL MESH

Drevinska Kristīne<sup>1</sup>, Auzāns Alberts<sup>1</sup>, Kanceviča Viktorija<sup>2</sup>

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija<sup>1</sup>, Rīgas Tehniskā universitāte, Latvija<sup>2</sup>  
Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia<sup>1</sup>, Riga Technical University, Latvia<sup>2</sup>  
[dr.kristine@apollo.lv](mailto:dr.kristine@apollo.lv)

## ABSTRACT

Different prosthetic mesh materials for hernial repair is available in medicine. But all of them can cause various complication after implantation like adhesion, fistula formation, infection etc. In our research we use modified polyester mesh covered with biologically active substances. This mesh material was implanted in abdominal cavity of 16 rabbits. After 6 weeks the mesh was explanted and histological examination was done. We found adhesion with serosal cover of bowel during explantation in nine cases and no other complications.

**KEY WORDS:** hernia, mesh, complications.

## IEVADS

Viena no šodienas medicīnas problēmām ir organisma funkcionālās vienotības atjaunošana pēc plašas trūces atveres slēgšanas.

Trūces atveres rodas divos veidos. Tās var būt iedzimtas vai dzīves laikā iegūtas. Veicinošie faktori ir traumas un vēdera iekšējā spiediena nesamērīgs paaugstinājums. Priekšnosacījumi trūces rašanai var būt gandrīz visi sporta veidi pasaules sasniegumu līmenī un smags fiziskais darbs. (3)

Patreiz medicīnas praksē izmanto vairāku veidu trūču ielāpus, kuri ir relatīvi stingri, to virsma ir gluda, bet griezuma vietas ir asas un spurojas. Visbiežāk tos izstrādā no polipropilēna mono pavedieniem, izmantojot adīšanas tehnoloģiju. Ja defekts ir plašs, šādi ielāpi var traumēt audu membrānas, kas savukārt veicina pēcoperācijas komplikācijas, tajā skaitā plašu salīpumu veidošanos. Īpaši aktuāli tas ir vēdera trūču gadījumos, kad veidojas salīpumi starp trūču ielāpu un zarnām vai citiem vēdera dobuma orgāniem. Šie salīpumi, atkārtotas ķirurģiskas iejaukšanās gadījumā, apgrūrina operācijas gaitu, un rezultātā var būt nepieciešama pat lielas zarnu daļas rezekcija.

Diemžēl līdz pat mūsu dienām nav izveidoti bioloģiski pilnīgi inerti trūču ielāpu materiāli, un nav arī precīzi izpētīta šo materiālu ietekme uz organismu ilgākā laika periodā. (1) Šobrīd arī nepastāv klīniskajā praksē plaši aprobēti ielāpi ar bioaktīviem pārklājumiem, kuri būtu spējīgi paaugstināt jaunveidotiem asinsvadiem tonusu un izturību, nodrošinot labu sintētiskā materiāla inkorporāciju organismā. Pārklājuma jēga ir, implantam adaptējoties organismā, neļaut sintētiskajam materiālam „pielipt” pie zarnām, nodrošinot labu ieaugšanu un cauraugšanu ar saistaudiem. (3)

## MATERIĀLS UN METODIKA

Rīgas Tehniskajā universitātē prof. V.Kancevičas vadībā tika izstrādāti jaunas struktūras modificēti trūču ielāpi ar bioaktīvu pārklājumu. To izgatavošanai izmanto aušanas tehnoloģiju, biosaderīgus ar apkārtējiem audiem, inertus, netoksiskus poliestera kompleksos pavedienus. Izmantojot dažāda garuma audu pavedienu pārsedzes, ielāpā veidojas dažādu izmēru poras (no 1.0 līdz 3.0 mm), kas labāk nodrošina neorganizēto dzīvo audu ieaugšanu

neorganizētā veidā. Trūču ielāpu pārklājuma veidošanai izmantoja bioloģiski aktīvu ārstniecības preparātu šķīdumu no sekojošiem komponentiem: etilspirta, metilcelulozes, dzērveņu-timiāna ekstrakta un escīna. Šķīdumam izžūstot uz implanta virsmas un tā porās veidojas mīksta kontakta plēvīte. Aktīvās vielas trūču ielāpa pārklājumā saglabājas zināmu laiku un novērš mazmolekulāru proteīnu, elektrolītu un ūdens filtrāciju starpšūnu telpā, pasargā parietālo vēderplēvi no iekaisuma, neļauj vairoties baktērijām un samazina iespēju infekcijas attīstībai implanta un zarnu saskarsmes vietās, kā arī maksimāli saglabā trūču ielāpa mehānisko saderību. Bez tam bioaktivitāti radīt spējīgais pārklājums samazina berzi, uzlabo slīdi pēc implantācijas, bet vēlāk izšķīst organismā. (3)

Šādas tehnoloģijas rezultātā ir iegūts mīksts, lokans, viegli griežams implants. Ar to ir viegli manipulēt, sarullēt, atrullēt un pozicionēt, tas neizšķīst, nezaudē stiprību audu fermentu iedarbības rezultātā un nodrošina pastāvīgu atbalstu dobumā izvietotiem orgāniem.

Lai varētu ieviest šos ielāpus humānajā medicīnā, nepieciešams izpētīt to ietekmi uz organismu un iespējamās radītās komplikācijas, izmantojot laboratorijas dzīvniekus.

Lai izpētītu iepriekš minētā trūču ielāpa funkcionēšanu un tā izraisītas organisma reakcijas, LLU VMF Klīniskajā institūtā, tie tika implantēti 16 trušiem. Truši tika iegādāti no lielākās sertificētās šķirnes trušu vaislas fermas, kura atrodas Baldones lauku teritorijā „Garaušos”, īpašniece Ranta Legzdiņa. Iegādājāmajos vienas šķirnes, dažāda dzimuma, apmēram 3.5-4.5 kg smagus 6-8 mēnešus vecus trušus. Izvēlējamies čehu albīnu šķirnes trušus.

Operācijas tehnika: pirms operācijas trušiem injicējam metaklopramīdu 0.2-0.5 mg/kg, lai profilaktētu gremošanas trakta stāzi. Kā arī katrs trusis saņēma vienreizēju enrofloksacīna injekciju 2.5 mg/kg, lai profilaktētu pēcoperācijas infekciju. Kā premedikāciju lietojām 1% acepromazīnu 0.5 mg IM. Pēc 10 minūtēm trušus anestezējam ar Domitoru (medetomidīnu) 0.1-0.5 mg/kg un ketamīnu 25-35 mg/kg IM vai SC. Pēc tam trusi novietojām mugurguļā, sagatavojām operācijas laukumu, vēderu noskujot un apstrādājot ar povidona joda 10% šķīdumu un 70% etilspirta šķīdumu. Lai novērstu organisma atdzišanu operācijas laikā trusi sildījām. Operāciju veicām ievērojot aseptiskus apstākļus. Vēdera dobumu atvērām pa viduslīniju kaudāli no šķēpveida skrimšļa, izdarot griezienu apmēram 8-10 cm garumā un pārgriežot ādu, muskulatūru un vēderplēvi. Vēdera dobumā labajā pusē ievietojām 3 x 4 cm lielu trūces ielāpu, ko piefiksējam pie parietālās vēderplēves viscerālās puses, cauršujot arī vēdera muskulatūru ar 6 šuvēm (pa 3 katrā malā). Izmantojām 3-0 Prolene diegus. Vēdera sienu sašuvām ar pārtraukto mezglu šuvi, izmantojot 2-0 Vycryl diegus. Ādu sašuvām ar pārtraukto mezglu šuvi, izmantojot 3-0 Supramide diegus. Uz brūces aplicējam PVP ziedi un uzlikām pārsēju. Anestēzijas darbības pārtraukšanai, trusim injicējam Antisedan. Pēc tam trusi ievietojām pēcoperācijas būrī, kur to sildījām līdz izbeidzās anestēzijas līdzekļu darbība. Pēcoperācijas periodā trušus katru dienu klīniski izmeklējām, lai novērtētu veselības stāvokli. Pēc 6 nedēļām ielāpus eksplantējām. Paraugus fiksējam 10% formalīna šķīdumā un nosūtījām uz P.Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Patoloģijas institūtu histoloģiskai izmeklēšanai. Izmeklēšanas gaitā no katra implanta izgriezā 3 audu paraugus: vienu ielāpa vidusdaļā un divus – ielāpa malas zonās. Paraugus dehidratēja, piesūcināja ar parafīnu audu procesorā pēc noteiktas programmas, pēc tam tos ieslēdz histoplasta blokos. Ar rotācijas mikrotoma palīdzību no audiem ieguva 2-3 μ biežus griezumus, kurus krāsoja ar hemtoksilīnu-eozīnu un pēc van Gieson metodes. Histoloģiskie griezumumi tika izvērtēti mikroskopiski.

Trušus operējam 2 fāzēs pa 8 trušiem katrā. To darījam tādēļ, lai vadoties no iespējamām novērotajām komplikācijām, varētu pilnveidot eksperimenta metodiku tālākajā darba gaitā.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Pētījumu rezultāti apkopoti 1.tabulā

1. tabula/Table 1

### Pētījuma rezultāti The Results of Research

Identifikācijas Nr. Number of Identification	Pēcooperācijas periods Complications of Postoperational Period	Makroskopiskās izmaiņas (salipuma pakāpe) Macroscopic Changes (degree of adhesion)	Histoloģiskā aina Hystology
6633	Brūces apvidū izveidojies dobums, kas satur serozu šķidrumu.	0	Ap implantu veidojas saistaudu kapsula, implants cauraudzis ar saistaudiem.
5634	Atkārtota ādas sašūšana un drenas ievietošana.	1.pakāpes salipumi ar zarnas serozu	Ap implantu saistaudu kapsula, implants cauraudzis ar saistaudiem. Uz implanta brīvās virsmas saistaudu slānī hroniska iekaisuma elementi.
5630	Neliela atvere brūces rajonā.	0	Implants ar strutaina iekaisuma apvidiem, apņemts ar saistaudu kapsulu.
5632	Bez komplikācijām.	0	Implantu aptver saistaudu kapsula, tas cauraudzis ar saistaudiem un asinsvadiem. Vēderplēves izmaiņas, iekaisumu nenovēro.
5642	Atkārtota ādas sašūšana ar drenas ievietošanu.	1.pakāpes salipumi ar zarnu serozu	Implants cauraudzis ar saistaudiem, starp implanta šķiedrām neliela mononukleāro šūnu infiltrācija (iekaisums). Saistaudu kapsulā hroniska iekaisuma un nekrozes perēkli.
5648	Atkārtota ādas un vēdera sienas muskulatūras sašūšana	Vidēji ciešs salipums ar zarnām – 3 pakāpe	Implantu apņem saistaudu kapsula, tas cauraudzis ar šķiedrainiem saistaudiem. Iekaisumu nenovēro. Implants ar saaugumu (saistaudu) fiksēts pie tievās zarnas serozas
6652	Zemādas trūce. Atkārtota vēdera sienas muskulatūras sašūšana. Neliela audu nekroze vienas šuves apvidū.	1.pakāpes salipumi ar zarnas serozu.	Implants saudzis ar saistaudiem, starp saistaudiem daži jaunveidoti asinsvadi. Ap implantu veidojas saistaudu kapsula.
5640	Bez komplikācijām.	0	Implants cauraudzis ar saistaudiem, ap to saistaudu kapsula. Iekaisumu nenovēro, bet vienā protēzes apvidū sīks audu nekrozes perēklis.
8654	Bez komplikācijām.	Salipums ar resno zarnu – 3.pakāpes.	Iekaisumu nenovēro, implants ir labi cauraudzis ar smalkām kalogēnām šķiedrām. Vienā pusē saaugums ar apzarni un zarnas sienīņu.
8651	Atkārtota ādas šuvju uzlikšana pēc 2	1.pakāpes salipums.	Saistaudu kapsula ap implantu, implantu cauraug saistaudi.

	dienām.		
9684	Bez komplikācijām.	2.pakāpes salipums ar taukplēvi.	Implantu no brīvās puses apņēma plāna saistaudu kapsula. Tas cauraudzis ar saistaudu šūnām, šķiedrām.
8660	Bez komplikācijām.	0	Implants nevienmērīgi cauraudzis ar saistaudiem, to apņēma saistaudu kapsula.
8662	Bez komplikācijām.	0	Implants cauraudzis ar saistaudiem, tam apkārt nevienmērīgi bieza saistaudu kapsula.
9668	Bez komplikācijām.	3.pakāpes grūti atdalāmi salipumi ar zarnas sienu.	Implantam vienā pusē saistaudu kapsula, otrā pusē taukzuduma zona. Implants fiksēts pie zarnas serozas. Cauraudzis ar saistaudiem.
9665	Bez komplikācijām.	0	Implanta brīvajā pusē plāna saistaudu kapsula, tas cauraudzis ar saistaudu šūnām
9682	Bez komplikācijām.	1.pakāpes salipumi	Implanta brīvajā pusē nevienmērīgi bieza saistaudu kapsula ar nelielu hronisku iekaisumu. Starp implanta šķiedrām saistaudi, jaunveidoti asinsvadi.

Deviņiem no 16 trušiem operācijas brūces sadzīšana noritēja bez komplikācijām. Trušiem Nr. 5648 un Nr. 6652 otrajā dienā pēc operācijas konstatējām zemādas trūci un trusim Nr. 5648 arī ādas vaļēju brūci ar zarnu izslīdēšanu ārpus vēdera dobuma. Šīs komplikācijas radās nepareizas vēdera muskulatūras sašūšanas dēļ. Trijiem trušiem (Nr. 5634, Nr. 5642, Nr. 8651) bija nepieciešama atkārtota ādas brūces sašūšana, kā arī drenu ievietošana brūcē. Domājam, ka tas varētu būt saistīts ar nepareizu brūču pārsēja uzlikšanas tehniku, kas ļāva dzīvniekiem piekļūt brūcei. Par to varētu arī liecināt tas, ka no otrajā fāzē operētajiem astoņiem trušiem tikai vienam (Nr. 8651), bija nepieciešama atkārtota brūces sašūšana, bet pārējiem brūces sadzija bez komplikācijām. Trusim Nr. 6633 operācijas brūces apvidū izveidojās fluktuējošs pietūkums, kas saturēja serozu šķidrumu, bez iekaisumam raksturīgajiem elementiem (izmeklējot citoloģiski, tajā neatradām neitrofilos leikocītus un citas iekaisuma šūnas), to saistām ar nepietiekošu brūces dobuma noslēgšanu. Trusim Nr. 5630 pēc šuvju izņemšanas operācijas brūces apvidū izveidojās neliela vaļēja brūce apmēram 1 cm diametrā, ko sadziedējām vaļēji, tas arī saistāms ar nepareizu brūču pārsēja uzlikšanas tehniku.

Visiem 16 trušiem pēcoperācijas periodā nenovērojām izmaiņas vispārējā veselības stāvoklī, to ķermeņa temperatūra svārstījās normas robežās (no 38.0 līdz 40.0 °C), ēstgriba un slāpes bija saglabātas, kā arī defekācija un urinācija bija bez patoloģiskām izmaiņām.

Pēc 6 nedēļām trušus eitanizējām, lai varētu eksplantēt ielāpus un nosūtīt histoloģiskai izmeklēšanai. Eksplantācijas laikā novērtējām makroskopiskās izmaiņas vēdera dobumā, to skaitā salipumu veidošanos ar zarnām un citiem vēdera dobuma iekšējiem orgāniem.

Salipuma pakāpi novērtējām pēc Shimanuki uc. 1987.gadā aprakstītās metodes, apzīmējot to ar punktiem 0...3, kur:

- 0 - nav salipumu
- 1 - reti, vāji salipumi, kas viegli atdalās
- 2 – vidēji cieši salipumi, kas viegli atdalāmi, bet novēro nelielu asiņošanu pēc atdalīšanas
- 3 – cieši, homogēni salipumi, kas grūti atdalāmi (5)

Septiņiem no 16 trušiem netika konstatēti salipumi starp ielāpu un vēdera dobuma iekšējiem orgāniem. Pieciem trušiem (Nr. 9682, Nr. 8651, Nr. 6652, Nr. 5642, Nr. 5634) konstatējām 1. pakāpes salipumus ar zarnu serozo apvalku, kas bija viegli atdalāmi un tiem nevajadzētu radīt būtiskas komplikācijas atkārtotas operācijas gadījumā. Tikai trīs trušiem (Nr. 5648, Nr. 8654 un Nr. 9668) novērojām 3.pakāpes salipumus ar zarnām, no tiem Nr. 5648, tas varētu būt saistīts ar operācijas brūces sadzīšanas komplikācijām. Vienam trusim Nr. 9684 konstatējām 2. pakāpes taukplēves salipumu ar implantu.

Citas makroskopiskās izmaiņas vēdera dobumā neatradām.

Izmeklējot histoloģiski, konstatējām, ka visos gadījumos ap implantu veidojas saistaudu kapsula, tas caurā ar saistaudu šūnām un šķiedrām, kā arī dažos gadījumos (Nr. 9682 un Nr. 6652) starp implanta šķiedrām novēro jaunveidotus asinsvadus. Iekaisuma šūnas histoloģiski tika atrastas tikai četros paraugos (Nr. 5634, Nr. 5630, Nr. 5642 un Nr. 9682), no kuriem tikai vienā gadījumā operācijas brūce bija sadzījusī bez komplikācijām (Nr. 9682).

Pēc literatūras datiem, par poliestera trūču ielāpu radītajām komplikācijām, kā biežākās minētas – fistulu veidošanās, infekcija un zarnu necaurejamība. (4) Mūsu pētījumā šādas komplikācijas nekonstatējām. Attiecībā par salipumu veidošanos ar vēdera dobuma iekšējiem orgāniem, literatūrā minēti dati par ķirurģijā visplašāk izmantotajiem polipropilēna implantiem. Pētījumā ar 14 trušiem, kuriem implantēja polipropilēna ielāpus, salipumus konstatēja 11 gadījumos, kas sastāda 78.6%, pie kam apmēram pusē gadījumu novēroja otrās un trešās pakāpes salipumus. (2). Mūsu pētījumā salipumus konstatējām deviņos no 16, kas sastāda 47.4%. Un tikai 1/3 gadījumu salipumi bija 3. pakāpes.

## SECINĀJUMI

1. Modificēto, austo poliestera ielāpu ar bioaktīvo vielu pārklājumu implantēšana trušu vēdera dobumā neietekmē organisma vispārējo veselības stāvokli.
2. Salīdzinot ar literatūras datiem par plaši izmantotajiem polipropilēna implantiem, mūsu izmantotajiem ielāpiem ir mazāka tendence veidot salipumus ar vēdera dobuma iekšējiem orgāniem, kā arī salipumu pakāpe ir mazāka.
3. Visos gadījumos novēro saistaudu kapsulas veidošanos ap implantu un tā cauraugšanu ar saistaudu šķiedrām un šūnām.
4. Iegūtie rezultāti liecina par nepieciešamību turpināt šāda veida padziļinātus pētījumus.

## LITERATŪRA

1. Bowman K.L., Birchard S.J., Bright R.M. Complication associated with implantation of polypropylene mesh in dogs and cats: retrospective study of 21 cases (1984-1996). *Journal of American Animal Hospital Association*, 1998.Vol.34, Issue 3, 225-233.
2. Goldenberg A., Matone J., Marcondes W., Herbella F.A.M., De Mattos Farah J.F. Comparative study of inflammatory response and adhesions formation after fixation of different meshes for inguinal hernia repair in rabbits. *Acta Cirurgica Brasileira*. Sept./oct.2005. Vol.20, no.5 Sao Paulo.
3. Kanceviča V., Kasjanovs V., Auzāns A., Drevinska K. Austs sintētisks materiāls trūču atveres slēgšanai. *Materiālzinātne. Rīgas Tehniskās universitātes zinātniskie raksti*. Rīga, 2007. 14.-19. lpp.
4. Leber G.E., Garb J.L., Alexander A.I., Reed W.P. Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. *Archives of Surgery* 1998: 133:378-382
5. Shimanuki T., Nishimura K., Montz F.J., Zerega G.S. Localized prevention of post surgical adhesion formation and reformation in oxidized regenerated cellulose. *J Biomed. Mater. Res.* 1987. 22:173-85

# STRAUSA (*STRUTHIO CAMELUS VAR. DOMESTICUS*) DZELTENUMA MAISA UN KUŅĢA MORFOMETRISKIE UN MASOMETRISKIE RĀDĪTĀJI AGRĪNAJĀ POSTNATĀLAJĀ ONTOĢENĒZĒ

## MORPHOMETRICAL AND MASSOMETRICAL PARAMETERS OF THE YOLK SAC AND THE STOMACH IN THE OSTRICH (*STRUTHIO CAMELUS VAR. DOMESTICUS*) EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

Ilmārs Dūritis<sup>1</sup>, Arnis Mugurēvičs<sup>1</sup>, Ilona Bundze Zdanovska<sup>2</sup>

LLU VMF Prekliniskais institūts<sup>1</sup>, SIA „Rats AB”<sup>2</sup>

LLU VMF Preclinical Institute<sup>1</sup>, „Rats AB”Ltd<sup>2</sup>

[Ilmars.Duritis@llu.lv](mailto:Ilmars.Duritis@llu.lv)

### ABSTRACT

The ostrich farming in Europe is a new branch of poultry farming that is developing intensively due to rapidly increasing demand for products of animal origin with a low fat and cholesterol content. However, there are comparatively few data on the morphology of the digestive apparatus, in particular its development in ontogenesis. The aim of the investigation was to find out the main morpho- and massometrical parameters of the yolk sac and the stomach of the African ostrich, as well as their correlation from the hatching to one month of age.

Thirty clinical healthy ostrich chickens of both sexes were investigated. They were divided into five groups – 1 day, 3,7,14 and 30 days old.

There is a tendency of decreasing of the chicken body weight during the first week of life. A significant increase ( $p < 0.05$ ) of the body weight of the ostrich chickens is observed starting from the 7<sup>th</sup> day of age. The yolk sac weight decreases significantly ( $p < 0.05$ ) starting from the 3<sup>rd</sup> day of life, but its full reduction takes place between the 14<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> day of life. The stomach weight and size of the ostrich chickens increase significantly ( $p < 0.05$ ) starting from the 7<sup>th</sup> day of age; furthermore in the first month of life comparatively more rapid development of the stomach *pars glandularis* is observed.

### KEY WORDS:

Ostrich, yolk sac, stomach, morphometrical parameters

### IEVADS

Strauskopība Eiropā ir salīdzinoši jauna putnkopības nozare, kas intensīvi attīstās, pateicoties strauji augošajam pieprasījumam pēc dzīvnieku valsts produkcijas ar pazeminātu tauku un holesterīna saturu. Veicot strausu audzētāju apsekošanu Latvijā, iegūtā sākotnējā informācija liecina, ka četru mēnešu vecumu sasniedz tikai aptuveni 50% strausu cāļu. Augsta strausu cāļu mirstība novērojama arī citu ES valstu saimniecībās.

Ir salīdzinoši maz datu par strausu gremošanas aparāta morfoloģiju, īpaši par attīstību ontogēnēzē, kas norāda uz strausu cāļu anatomiski fizioloģiskās uzbūves īpatnību nepietiekamo izpēti. Strausa gastrointestinālā trakta attīstība norit daudz lēnāk nekā broileru cāļiem, vērojamas īpatnības arī dzeltenuma maisa uzsūkšanās procesā (Iji et al., 2003). Tā kā Latvijā un arī citviet pasaulē strauskopība kā nozare strauji attīstās, ir nepieciešami padziļināti pētījumi par gastrointestinālā trakta attīstību.

Pētījuma mērķis bija noskaidrot Āfrikas strausa dzeltenuma maisa un kuņģa galvenos morfometriskos un masometriskos rādītājus, kā arī to savstarpējās attiecības no izšķilšanās līdz viena mēneša vecumam.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Strausu olas iegūtas un inkubētas Jēkabpils rajona strausu fermā „Ozoliņi AB”. Ar ceturto dzīvības dienu uzsākta putnu ēdināšana ar komerciālo strausu cāļu barību *Strus Premium - Strus 1*. Barība un ūdens tika nodrošināti *ad libidum*.

Darbā izmantoti 30 abu dzimumu klīniski veseli strausu cāļi, kas tika sadalīti piecās grupās – 1;3;7;14 un 30 dienu veci. Katrā grupā iekļauti seši cāļi. Putni tika narkotizēti izmantojot 0,5ml 10% ketamīna un 0,5 ml 2% ksilazīna šķīduma intramuskulāru injekciju un tad eitanazēti izmantojot 0,5 ml 20% pentobarbitāla intrakardiālu injekciju. Septiņas, četrpadsmit un trīsdesmit dienas vecie cāļi pirms izmeklēšanas 12 stundas tika badināti. Katra putna līķis tika nosvērts un secēts tālākai iekšējo orgānu izmeklēšanai. Tika noteikta dzeltenuma maisa, kuņģa dziedzerdaļas (*pars glandularis*) un muskuļdaļas (*pars muscularis*), kā arī kuņģa kopējā masa. Izmērīts *pars glandularis* loka garums, kā arī *pars muscularis* diametrs. No iegūtajiem datiem tika aprēķināti relatīvie rādītāji - dzeltenuma maisa un kuņģa relatīvā masa, kā arī *pars muscularis* un *pars glandularis* masas attiecība. Ķermeņa masas iegūšanai tika izmantoti elektroniskie svāri Kern 442-512N ar precizitāti  $\pm 1$  g, bet orgānu svēršanai elektroniskie svāri Kern EW 420-3 NM ar precizitāti  $\pm 0,01$  g. *Pars muscularis* diametrs tika mērīts ar bīdmēru ( $\pm 0,1$ mm), bet *pars glandularis* loks ar lentmēru ( $\pm 1$ mm)

Aprēķini un datu matemātiskā apstrāde veikti, izmantojot Microsoft Excel, kā arī SPSS 11,5 for Windows – One Way Anova datu analīzes rīku.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Iegūtie kuņģa un dzeltenuma maisa masometriskie un morfometriskie rādītāji, kā arī strausa cāļu ķermeņa masa dažādā vecumā atspoguļoti 1. tabulā.

1.tabula /Table 1

### Strausa cāļu ķermeņa masas, kuņģa un dzeltenuma maisa morfo- un masometriskie rādītāji

### Morpho- and massometrical parameters of body weight, stomach and yolk sac in ostrich chicken

Vecums dienās/ Age, days	Ķermeņa Masa/ Body weight (g $\pm$ x)	Orgānu relatīvā masa/ Relative weight (% $\pm$ x)		<i>P.muscularis/ p.glandularis</i> (attiecība $\pm$ x) (ratio $\pm$ x)	<i>P.muscularis</i> Ø, (mm $\pm$ x)	<i>P.glandularis</i> loka garums/ length of arch (mm $\pm$ x)
		Dzeltenuma maiss/ yolk sac	Kuņģis/ Stomach			
1	860 $\pm$ 46.2	27 $\pm$ 2.6	1.8 $\pm$ 0.22	1.3 $\pm$ 0.08	24.1 $\pm$ 1.58	81 $\pm$ 3.2
3	869 $\pm$ 34.4	24 $\pm$ 2.9	5.5 $\pm$ 0.71	1.3 $\pm$ 0.14	31.5 $\pm$ 0.78	94 $\pm$ 7.3
7	771 $\pm$ 23.8	17 $\pm$ 2.7	9.0 $\pm$ 0.59	1.1 $\pm$ 0.05	31.0 $\pm$ 5.71	137 $\pm$ 16.9
14	1059 $\pm$ 60.4	2 $\pm$ 0.9	12.1 $\pm$ 0.77	0.92 $\pm$ 0.13	44.1 $\pm$ 1.68	190 $\pm$ 27.9
30	1506 $\pm$ 124.6	-	16.3 $\pm$ 1.08	0.91 $\pm$ 0.04	50.3 $\pm$ 2.58	216 $\pm$ 22.3

Cāļu ķermeņa masa no izšķilšanās dienas līdz trīs dienu vecumam būtiski nepalielinās un līdz 7 dienu vecumam tai ir tendence pat samazināties, taču otrajā nedēļā pēc izšķilšanās tā būtiski sāk pieaugt ( $p < 0.05$ ) un līdz 30 dienu vecumam gandrīz dubultojas ( $p < 0.01$ ) (1.att.).

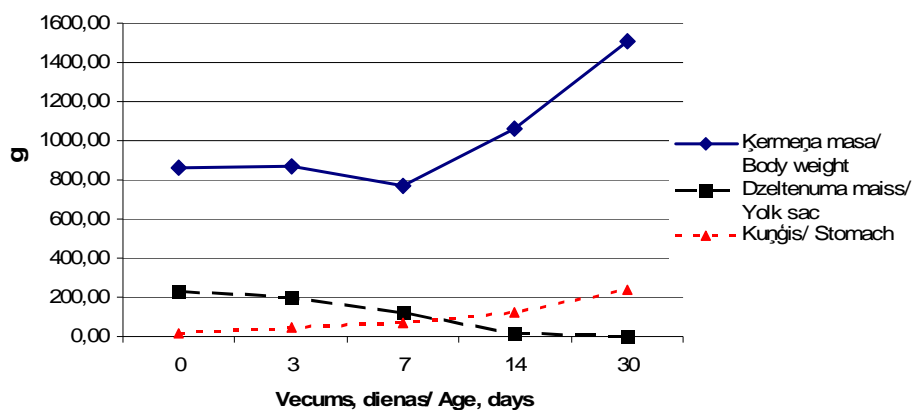
Dzeltenuma maisa masa līdz trešajai dzīvības dienai būtiski nesamazinās un absolūtos skaitļos tā sastāda vidēji 200 gramus. Strauja dzeltenuma maisa redukcija sākas ar 3 dzīves dienu un 7 dienu vecumā dzeltenuma maiss jau zaudējis 46 % ( $p < 0.05$ ), bet 14 dienu vecumā jau vairāk kā 95% no savas masas, salīdzinot ar izšķilšanās dienu ( $p < 0.01$ ) un vidēji sver 15 gramus. Trīsdesmit dienu vecumā dzeltenuma maiss praktiski ir reducējies un vairs nav



novērojams (1.att.). Izšķīlšanās dienā dzeltenuma maisa masa ir 27 %, trīs dienu vecumā 24 %, 7 dienu vecumā 17 %, bet 14 dienu vecumā vairs tikai 2% no ķermeņa masas (2. att.). Arī *Iji et al.*, (2003) savā pētījumā norāda, ka strausa cāļiem 3 dienu vecumā dzeltenuma maisa masa sastāda 15 – 36 % no ķermeņa masas, bet 27 dienu vecumā tas jau pilnībā izzudis.

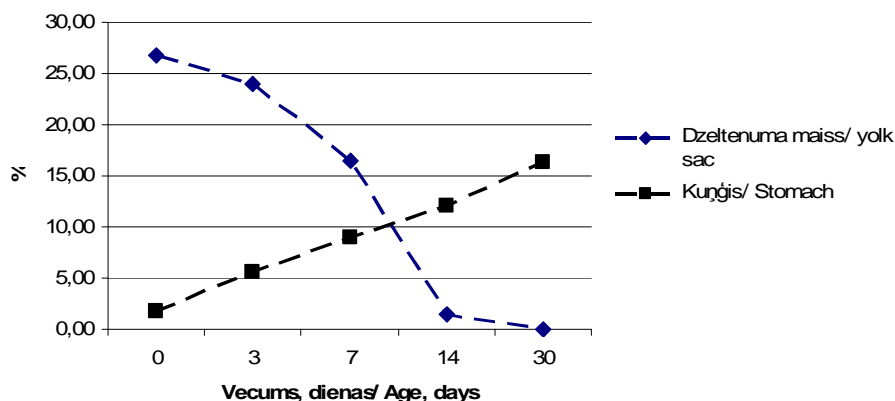
Ķermeņa masas zudumu cāļiem no 3 līdz 7 dzīves dienai varētu skaidrot ar dzeltenuma maisa straujo redukciju sākot ar 3 dzīvības dienu. Ja pirmajās trīs dzīves dienās dzeltenuma maisa masa samazinās tikai par 12 % tad laikā no 3-7 dienai tā samazinās vēl par 34% un 7 dienu vecumā dzeltenuma maiss zaudēji jau 46% savas masas. Turklāt pilnvērtīgu barības uzņemšanu cāļi uzsāk tikai 4 – 5 dienā pēc izšķīlšanās. Līdzīgu viedokli pauž arī Deeming *et al.* (1993) norādot, ka strausu cāļi ķermeņa masu strauji zaudē pirmajā piecās dzīvības dienās tieši sakarā ar dzeltenuma maisa straujo uzsūkšanos.

Salīdzinoši broileru cāļiem dzeltenuma maiss pilnībā reducējas jau līdz 10 dzīvības dienai (*Iji et al.*, 2001)



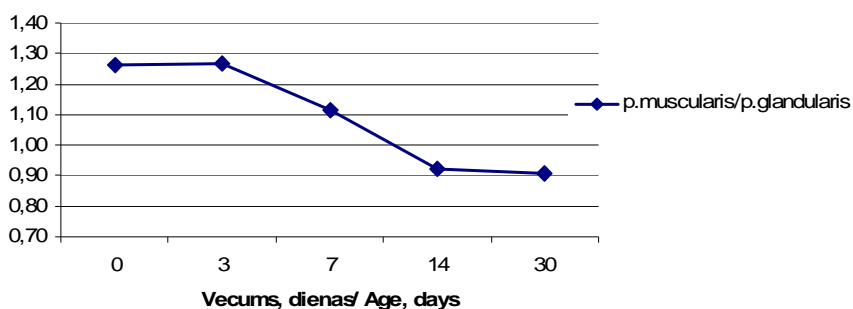
1. attēls. Strausu cāļu ķermeņa, dzeltenuma maisa un kuņģa masas izmaiņas  
Figure 1. Changes of body, yolk sac and stomach weight in ostrich chicken

Kuņģa absolūtās masas būtisks pieaugums vērojams sākot ar 7 dzīves dienu ( $p < 0.05$ ) un tas strauji turpina augt 30 dienu vecumā sasniedzot jau vidēji 242 gramus (1.att.). Savukārt kuņģa relatīvā masa (1. tab., 2 att.) būtiski pieaug jau no pirmās dzīves dienas ( $p < 0.01$ ) un 30 dienu vecumā sasniedz jau 16 % no ķermeņa masas. *Iji* (2003) norāda, ka 27 dienu vecumā kuņģa relatīvā masa sastāda 14,7%.



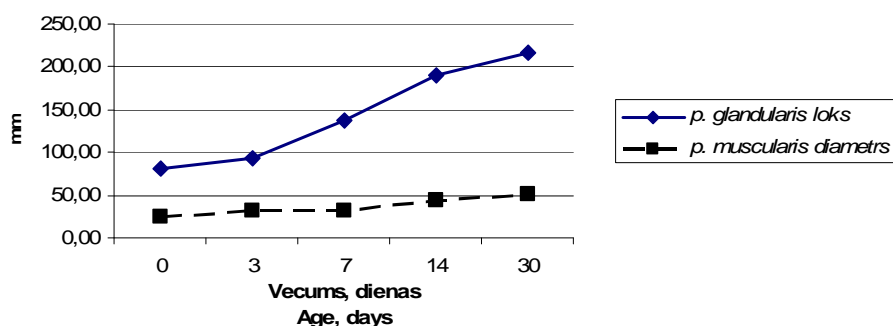
2.attēls. Strausu cāļu dzeltenuma maisa un kuņģa relatīvās masas izmaiņas  
Figure.2 Changes of yolk sac and stomach relative weight in ostrich chicken

Kuņģa daļu savstarpējo masas un izmēru attiecību salīdzinājums rāda, ka kuņģa *pars muscularis* un *pars glandularis* attīstība nenoris pilnīgi proporcionāli. Ja izšķilšanās dienā *p.muscularis* masa attiecība pret *p. glandularis* ir 1.3, tad 30 dienu vecumā tā būtiski ( $p < 0.05$ ) samazinās līdz 0.9 (1.tabulu). Tas norāda, ka kuņģa *p. glandularis* attīstās straujāk nekā *p. muscularis*, pie kam straujš *p.glandularis* masas pieaugums attiecībā pret *p.muscularis* vērojams pēc trīs dienu vecuma sasniegšanas, kad tiek uzsākta cāļu ēdināšana. (skat, 3. attēlu).



3. attēls Strausu cāļu kuņģa *p.muscularis* un *p.glandularis* masas attiecība  
Figure 3. Weight ratio of stomach *p.muscularis* and *p.glandularis* in ostrich chicken

Lielākai daļai putnu sugu kuņģa *p. muscularis* ir lielāks nekā *p.glandularis* (McLeelland, 1979), taču strausveidīgajiem, putniem, īpaši Āfrikas strausiem, kuņģa dziedzerdaļa spēcīgāk attīstīta nekā muskuļdaļa, un tā funkcija ir arī nesēt uzņemtās barības uzkrāšana (Degen et al., 1994, Cooper et al., 2004, Порческу, 2007). Cho, et al. (1984) norāda, ka no visiem strausveidīgajiem putniem tieši Āfrikas strausam dziedzerdaļa ir visspēcīgāk attīstīta, un tās saturā atrodami akmentiņi līdzīgi kā muskuļdaļā, kas parasta parādība daudzām putnu sugām. Uz straujāku strausu cāļu kuņģa *pars glandularis* attīstību pēc 3 dienu vecuma sasniegšanas norāda arī mūsu iegūtie morfometriskie dati, kas parāda kuņģa abu daļu izmēru pieaugumu līdz 30 dienu vecumam (skat.4.attēlu). Ja kuņģa *pars muscularis* diametrs 30 dienu vecam cālim ir divkārtšojies ( $p < 0.05$ ), tad *pars glandularis* loka garums palielinājies 2,7 reizes ( $p < 0.01$ ).



4. attēls. Strausu cāļu kuņģa *p.glandularis* un *p.muscularis* morfometrisko rādītāju izmaiņas  
Figure 4. Changes of morphometrical parameters of stomach *p.muscularis* and *p.glandularis* in ostrich chicken

## SECINĀJUMI:

1. Strausu cāļu ķermeņa masai pirmajā dzīves nedēļā ir tendence samazināties. Būtiska strausu cāļu ķermeņa masas palielināšanās ( $p < 0.05$ ) novērojama sākot ar 7 dienu vecumu.

2. Dzeltenuma maisa masa būtiski samazinās ( $p < 0.05$ ) sākot ar 3 dzīves dienu, bet pilnīga tā redukcija notiek starp 14 un 30 dzīves dienu.

3. Strausu cāļu kuņģa masa un izmēri būtiski palielinās ( $p < 0.05$ ) sākot ar 7 dienu vecumu un 30 dienu vecumā tas sasniedz 16 % no ķermeņa masas.

4. Pirmajā dzīves mēnesī novērojama salīdzinoši straujāka kuņģa *pars glandularis* attīstība, kas ir īpaši strauja pēc strausu cāļu ēdināšanas uzsākšanas.

## LITERATŪRA

1. Cho P., Brown R., Anderson M. Comparative Gross anatomy of ratites. – *Zoo Biology* 1984. 3: 133-144
2. Cooper G.R., Mahroze M. K. Anatomy and physiology of the gastro-intestinal tract and growth curves of the ostrich (*Struthio camelus*). *Animal Science Journal* 2004. 75:491-498
3. Deeming, D.C., Ayers, L., Ayers, F.J. Observation on the commercial production of ostrich (*Struthio camelus*) in the United Kingdom: rearing of chicks.- *Vet. Rec.*, 1993. 132: 627-631.
4. Degen A.A., Duke G.E., Reynhout, J.K. Gastrointestinal motility and glandular stomach function in young ostriches. *The Auk* 1994. 3: 750-755
5. Iji, P.A., Saki, A., Tivey, D.R. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *Brit. Poult. Sci.*, 2001. 42: 505-513.
6. Iji, P.A., Van der Walt J.G., Brand T.S., Boomker E.A, Booyse D. Development of the digestive tract in the Ostrich (*Struthio camelus*).- *Arch. Anim. Nutr.*, 2003. 57: 217-228;
7. McLelland J. Digestive system in form and function in birds, *Academic press New York* – 1979. 1: 68-181
8. Порческу Г.С. Сравнительная морфология пищеварительного тракта Африканского черного страуса, курицы и индейки. *Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук*, Кишинев – 2007: 40 стр.

# THE BOVINE LINGUAL TONSIL – A SPECIFIED RISK MATERIAL (SRM)

Gasse Hagen

Institute of Anatomy, University of Veterinary Medicine Hannover, Germany

[Hagen.Gasse@tiho-hannover.de](mailto:Hagen.Gasse@tiho-hannover.de)

## ABSTRACT

This paper is supposed to emphasize two issues:

(a) A legal item as expressed in European Community regulations concerning bovine spongiform encephalopathy (BSE).

(b) A histological item aimed to identify follicular dendritic cells (FDC) which are – firstly – typical constituents of lymphatic tissue and – secondly – are the structural components which make a tonsil become a SRM, since they bind prion protein.

The first item fits very well to demonstrate that there is still a great demand for anatomists to contribute to all fields of applied anatomy not only in clinical science, but also in food hygiene.

The second item is focussed on the immunohistochemical detection of FDC, since the routine structural criteria which have so far been applied do not seem sufficient to define precisely enough what a ‘tonsil’ actually is.

By means of immunohistochemistry, tonsillar lymph nodules (*Noduli lymphatici*, often referred to as lymph follicles) were recognized by the presence of FDC which were found up to 30 mm rostral of the most caudal papilla vallatae, at a depth of approx. 4.6 mm (i.e. within the *Lamina propria mucosae*).

**KEY WORDS:** Specified risk material (SRM), BSE, lingual tonsil

## INTRODUCTION

This study was triggered by the regulation (EC) 999/2001 which demands that the lingual tonsil shall be removed by cutting the tongue in a transversal plane rostral to the lingual process of the hyoid bone. As demonstrated in our previous study (4), this procedure did not guarantee the complete elimination of lingual tonsillar tissue, as tonsillar removal depended very much on the correct position in which the tongue was held when the cut was made in a ventro-dorsal direction. In search of a more appropriate landmark for the cut, we proposed to use the most caudal papillae vallatae, as this orientation mark is on the dorsal surface of the tongue and is far away from the macroscopically visible part of the tonsil. However, such a recommendation appears useful only under the premises that no tonsillar tissue is presented rostral to this landmark.

In order to check for lymphoid tissues, several previous studies (1, 3), included our own (4), relied on routine histological methods (H.E. stain) only, or used immunohistochemistry to detect populations and subpopulations of lymphocytes (2). These methods did not seem to us to be appropriate as they could not distinguish true tonsillar tissue from mere unspecific accumulations of lymphocytes. Considering this, we made the attempt to stain immunohistochemically the follicular dendritic cells (FDC). FDC are a specific structural component of secondary lymph organs known to be involved in the pathogenesis of the bovine spongiform encephalopathy (for references see 5, 6).

## MATERIAL AND METHODS

Tissue flaps of the lingual mucosa were taken from the bovine lingual tonsil, and from an area which was between the macroscopically visible part of the lingual tonsil and a transversal plane 30 mm rostral of the most caudal papillae vallatae. After fixation by immersion in either 4 % formalin or in Bouin’s solution, and routine embedding in paraffin wax, serial sections were alternatively stained with haematoxylin-eosin (H.E.), or submitted to

immunohistochemistry (i. e. incubation with the antibodies CNA.42 or D46). These procedures, as well as the positive and negative controls, have been most recently described (5, 6). The samples were taken from 27 male and 3 female cattle which were between 19 and 29 months old.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Positive staining of the follicular dendritic cells (FDC) was achieved with both antibodies, i.e. CNA.42 and D46, demonstrating specifically the presence of lymph nodules, *Noduli lymphatici* (= lymph follicles), in the tissue samples. The lymph nodules were arranged in groups (*Noduli lymphatici aggregati*) or single. They were located in the macroscopically visible part of the lingual tonsil, but were also present in tissue areas rostral of the tonsil, e.g. in locations 30 mm rostral of the caudal-most papillae vallatae. These dispersed lymph nodules were referred to as the *Pars disseminata* of the lingual tonsil. The lymph nodules – grouped or single – of this disseminate part occurred in the lingual mucosa down to a depth of approx. 4.6 mm. Their numbers decreased from caudal to rostral (e.g. maximum n=15 in areas next to the caudal-most papillae versus maximum n=2 in the area 30 mm rostral of the caudal-most papillae vallatae). As the immunohistochemical reactions clearly identified FDC, they detected the presence of presumptive SRM in tissue areas outside the proper lingual tonsil. However, the relatively small quantities of FDC in these areas allow to estimate that the potential risk related to this disseminate part of the tonsil is very small. This statement is based on calculations which point out that one individual of bovine should eat 200 g of lingual tissue to become infected.

## **CONCLUSIONS**

1. Considering the relative small numbers of lymph nodules (lymph follicles) which were found apart from the macroscopically visible part of the lingual tonsil, an amendment of the regulation (EC) 999/2001 does not appear appropriate.
2. Instead, major attention should be paid to the correct application of the existing regulation, i.e. a correct performance of the cut. Above all, care should be taken to peel the mucosa off properly.

## **REFERENCES**

1. Casteleyn, C., Breugelmans, S., Muylle, S., Van den Broeck, W., Simoens, P. Consumptie van rundertong en kalfszwezeriken: een risico voor de volksgesundheid? - Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift. 2007.76: 130-137
2. Cocquyt, G., Simoens, P., Muylle, S., Van den Broeck, W. Anatomical and histological aspects of the bovine lingual tonsil. Res. Vet. Sci. 2008. 84: 155-173
3. Kato, K., Sawada, Y. Distribution of the lingual tonsil of cattle designated as specified risk material. J. Vet. Med. Sci. 2008. 70:251-254
4. Kühne, M., Klein, G., Gasse, H. Shortening of the bovine tongue according to regulation (EC) 999/2001 is not complying with the current legal definition of specified risk material – a macroscopical and histological preliminary study. J. Vet. Med B. 2005. 52: 102-104
5. Rebmann, S. Nachweis lymphatischen Gewebes (insbesondere Tonsillen) in der Schleimhaut der Rinderzunge und Empfehlungen für Maßnahmen zur sicheren und wirtschaftlichen Entfernung des lymphatischen Gewebes der T. lingualis im Schlachtbetrieb. 2008. Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation
6. Rebmann, S., Gasse, H. Bovine lingual tonsil: Histomorphological characteristics with special reference to the follicular dendritic cells. Anat. Histol. Embryol. 2008 (in press)

# RAPŠA RAUŠU IZĒDINĀŠANAS IETEKME UZ GOVJU SPUREKĻA DAŽIEM FUNKCIONĀLĀ STĀVOKĻA RĀDĪTĀJIEM

## INFLUENCE RAPESEED OIL CAKE FEEDING ON SOME FUNCTIONAL STATUS INDICES OF COWS RUMEN

**Ikauniece Daina<sup>1</sup>, Birģele Edīte<sup>2</sup>**

LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts "Sigra", Latvija<sup>1</sup>

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija<sup>2</sup>

Research Institute of Biotechnology and Veterinary medicine "Sigra", LLU agency, Latvia<sup>1</sup>

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia<sup>2</sup>

[sigra@lis.lv](mailto:sigra@lis.lv) , [Edite.Birģele@llu.lv](mailto:Edite.Birģele@llu.lv)

### ABSTRACT

Taking advantage of rational oil cakes and solvent cakes as a valuable source of protein has become urgent in animal feeding in Latvia. The aim of the work was to start investigations on the effect of oil cakes feeding on separate positions of the rumen physiological indices in dairy cows.

Tasks of work were:

- 1) evaluation of oil cakes effect on the rumen fluid pH;
- 2) determination of volatile fatty (acetic and butyric) acids volume changes in the rumen;
- 3) comparison of biochemical blood indices in animals of experimental and control group.

The amount of oil cakes was 1.5 kg per animal in daily ration.

The obtained results revealed that middle amount of rumen fluid was pH 7.4 in oil cakes feeding period. The amount of acetic and butyric acids in 100ml rumens' fluid was substantially increased in experimental group of animals ( $p < 0.05$ ). The amount of glucose, pyruvic acid and triglycerids also substantially increased in cows of experimental group, but activity of hepatic ferment ASAT was decreased. Initial test of results revealed that oil cakes may make use in feeding of dairy cows.

**KEY WORDS:** rumen, volatile fatty acids, rapeseed oil cake

### IEVADS

Lai novērstu iespējamo govju sponģiozās encefalopātijas (BSE) izcelsmi liellopu ganāmpulkos, tiem ir aizliegts izēdināt dzīvnieku valsts olbaltumvielas. Līdz ar to arvien aktuālāks kļūst jautājums par alternatīvu barības līdzekļu izmantošanas iespējām.

Tā kā Latvijas saimniecībās pašražotajos barības līdzekļos ir salīdzinoši zems proteīna līmenis, bet importētā barība - dārga, tad rapša raušu izmantošana govju ēdināšanā varētu būt viens no risinājumiem, lai dzīvniekus nodrošinātu ar olbaltumvielām.

Mūsu **darba mērķis** bija izpētīt govīm rapša raušu izēdināšanas ietekmi uz atsevišķiem spurekļa funkcionālā stāvokļa rādītājiem.

Tika izvirzīti sekojoši **darba uzdevumi**:

1. Novērtēt pēc rapša raušu izēdināšanas spurekļa šķidrumsa pH *in vitro*;
2. Noteikt gaistošo taukskābju etiķskābes un sviestskābes izmaiņas saistībā ar rapša raušu iekļaušanu dzīvniekiem barības devā;
3. Noteikt bioķīmiskos un morfoloģiskos rādītājus asinīs govīm, ēdinātām ar rapša raušiem un salīdzināt tos ar rādītājiem kontroles grupas dzīvniekiem.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījumus veicām no janvāra līdz martam 2007. gadā. Eksperimentam izmantotas astoņas Latvijas brūnās šķirnes slaucamas govīs. Izveidojām divas dzīvnieku grupas, sadalot tās divās grupās – pa četrām govīm katrā. Visas izmēģinājumā iekļautās govīs bija klīniski veselās, negrūsnas, trīs – četrus gadus vecas un aptuveni vienāda barojuma un dzīvmasas - 500 – 550 kg.

Pamatojoties uz Latvijā izstrādātajām ēdināšanas shēmām (Latvietis, 1991; Osītis, 2005), dzīvniekiem tika sastādītas ziemošanas periodam atbilstošas barības devas. Abu grupu dzīvnieki tika ēdināti analogi – papildus pamatbarībai izmēģinājuma grupas govīm spēkbarības devā iekļāvām 1,5 kg rapša raušu, kontroles grupas dzīvniekiem rapša rauši bija aizstāti ar miežu miltiem.

Ar šādu barības devu govīs tika ēdinātas trīs nedēļas, kuru laikā regulāri pārbaudījām dzīvnieku vispārējo veselības stāvokli: ķermeņa temperatūru, sirdsdarbības frekvenci, atgreimošanu, defekāciju. Secinājām, ka visi minētie rādītāji atbilda fizioloģiskajai normai.

Īsi pirms kaušanas visiem dzīvniekiem tika noņemti asins paraugi bioķīmiskajai un hematoloģiskajai izmeklēšanai. Visi noņemtie paraugi tika analizēti LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskā institūta „Sigra” akreditētā bioķīmijas laboratorijā, kā arī veterinārmedicīnas nodaļas mikrobioloģijas laboratorijā.

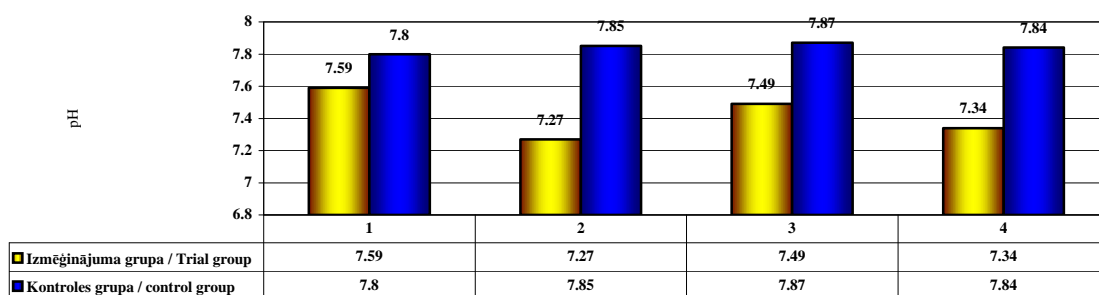
Spurekļa šķidruma pH noteicām šķidruma filtrātā, izmantojot pH metru OAKTON<sup>R</sup> Acorn Meter. Etiķskābi un sviestskābi noteicām spurekļa šķidruma filtrātā, pamatojoties uz noteikumiem Nr. 23638-90 speciāli gaistošo taukskābju - etiķskābes un sviestskābes noteikšanai skābbarībā.

Asinīs ar vispārpieņemtām metodēm tika noteikta alanīnaminotransferāzes (ALAT) un aspartataminotransferāzes (ASAT) aktivitāte, glikoze, pirovīnogskābe, karotīns, holesterīns, kalcījs, fosfors, bilirubīns un triglicerīdi.

Iegūto datu matemātisko apstrādi veicām ar programmu „Microsoft Excel-2002”, izmantojot vienfaktoru dispersijas analīzes metodi Anova (Arhipova, Bāliņa, 1998).

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Savā pētījumā mēģinājām meklēt kopsakarības, kas vislabāk raksturotu spurekļa pH un gaistošo taukskābju – etiķskābes un sviestskābes veidošanos govīs spureklī atkarībā no tā, vai dzīvnieku barības devā ir iekļauti rapša rauši. Spurekļa šķidruma pH rādītāji abās izmeklētajās dzīvnieku grupās atspoguļoti pirmajā attēlā.



1.attēls. Spurekļa šķidruma pH līmenis katram izmeklētajam dzīvniekam

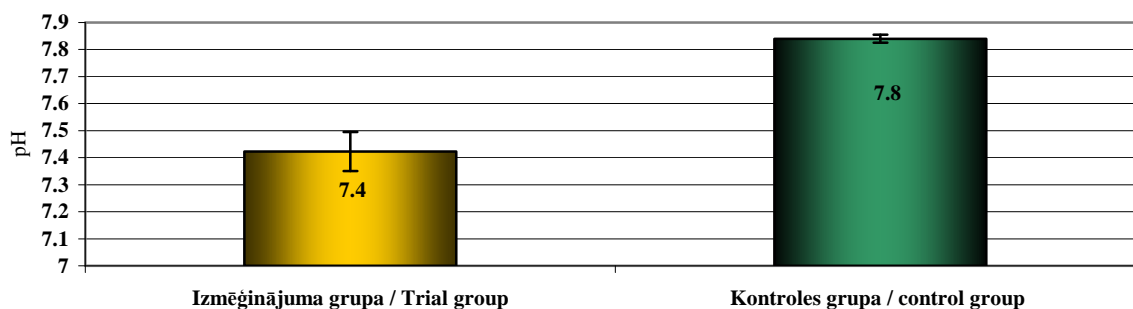
Figure 1 pH in rumen fluid for every analysed cow

Redzams, ka ar rapša raušiem ēdinātām govīm spurekļa pH svārstījās robežās no 7,27 līdz 7,59. Savukārt kontroles grupas govīm pH spureklī ir nedaudz augstāks – tas variēja robežās no 7,8 līdz 7,87. Acīmredzot, rapša rauši šajā gadījumā nedaudz pazemināja spurekļa šķidruma pH, kas visumā saskan ar citu autoru novērojumiem (Lardy et al., 1993).

Konstatējām, ka mūsu pētījumos iekļautajām govīm spurekļa šķidruma pH bija vāji sārmais – tas nedaudz pārsniedza 7,0 līmeni. Šāds pH līmenis spureklī dzīvniekiem ziemas ēdināšanas periodā atbilst Latvijas apstākļos konstatētajam (Ilgaža, 2007).

Literatūrā tomēr ir arī pētījumi, kas apliecina, ka rapša raušu izēdināšana paaugstina pH līmeni spureklī (Lardy et al., 1993), vai arī pievienoti dzīvnieku barībai nelielās devās, tie būtiski nemaina pH līmeni spurekļa saturā (Ahvenjärvi et al., 1999; Bliznikas, 2001). Iespējams, ka šie nedaudz atšķirīgie rezultāti iegūti tāpēc, ka atšķirīgi bijuši arī dzīvnieku ēdināšanā iekļautie barības līdzekļi, kas neapšaubāmi ietekmē spurekļa pH līmeni kopumā.

Mūsu pētījuma rezultātu vidējie rādītāji attiecībā uz spurekļa vides pH parādīti 2.attēlā.



2. attēls. **Spurekļa šķidruma pH vidējais līmenis izmēģinājuma un kontroles grupas govīm**  
 Figure 2. **Mean level of pH of the rumen fluid in cows of the experimental and control group**

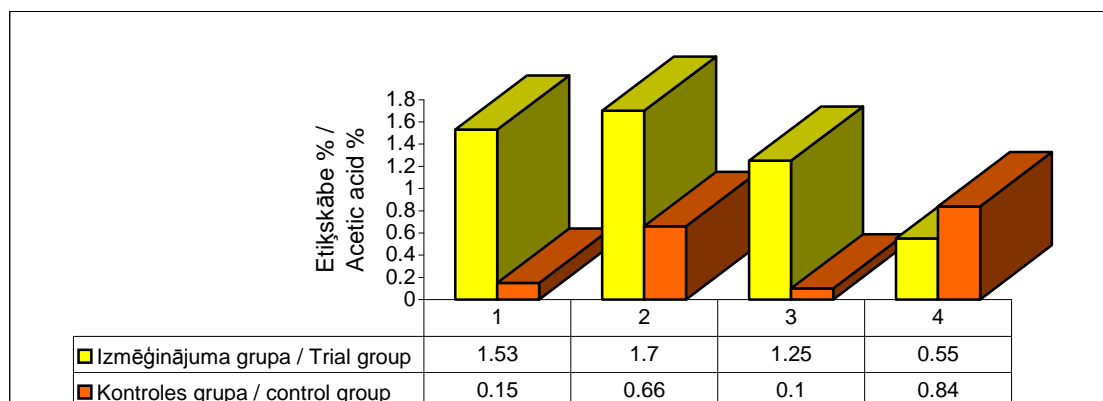
Redzam, ka izmēģinājuma grupā pH vidēji bija 7,4 līmenī, bet kontroles grupā attiecīgi 7,8. Varam secināt, ka spurekļa vide izmeklētajiem dzīvniekiem visumā atbilda fizioloģisko bakteriālo rūgšanas procesu norisei nepieciešamajai reakcijai.

Jāakcentē, ka govīm, kurām izēdināti rapša rauši, spurekļa videi ir tieksme nedaudz „paskābināties”. Kaut arī no bioloģiskā redzes viedokļa pH skalas sārmainajā daļā atšķirības, kā jau minējām, ir visai nelielas (Линар,1968), tomēr, veicot iegūto datu statistisko apstrādi, būtiskuma līmenis bija  $p < 0.05$ , kas norāda, ka pH izmaiņas govju spurekļa šķidrumā ir statistiski būtiskas.

Etiķskābes daudzuma izmaiņas abu grupu dzīvniekiem atspoguļotas 3. attēlā.

Redzams, ka ar rapša raušiem barotām govīm etiķskābes daudzums 100 mililitros spurekļa šķidruma bija augstāks nekā dzīvniekiem, kuri šo barības līdzekli nebija saņēmuši.

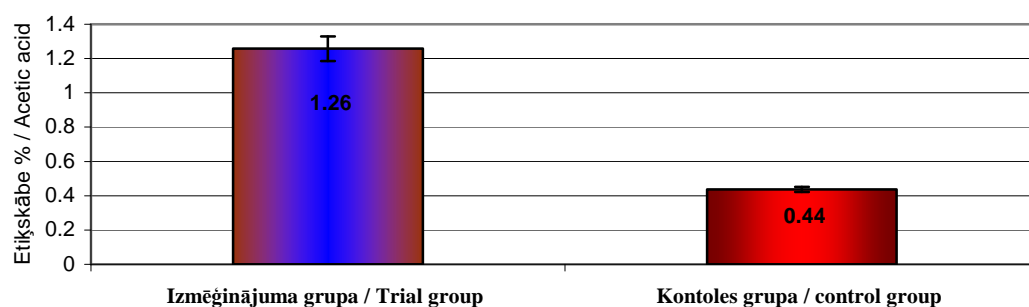
Salīdzinot šos rādītājus atsevišķiem dzīvniekiem, izrādījās, ka etiķskābes daudzums 100 ml spurekļa šķidruma tiem būtiski neatšķīrās ( $p > 0.05$ ).



3. attēls. **Etiķskābes daudzums spurekļa šķidrumā katrai izmeklētai govij**  
 Figure 3. **Acetic acid in rumen fluid of every analysed cow**



Etiķskābes daudzuma atšķirības spureklī kontroles un eksperimentālās grupas dzīvniekiem labi redzamas 4. attēlā, kurā atspoguļoti vidējie rādītāji.

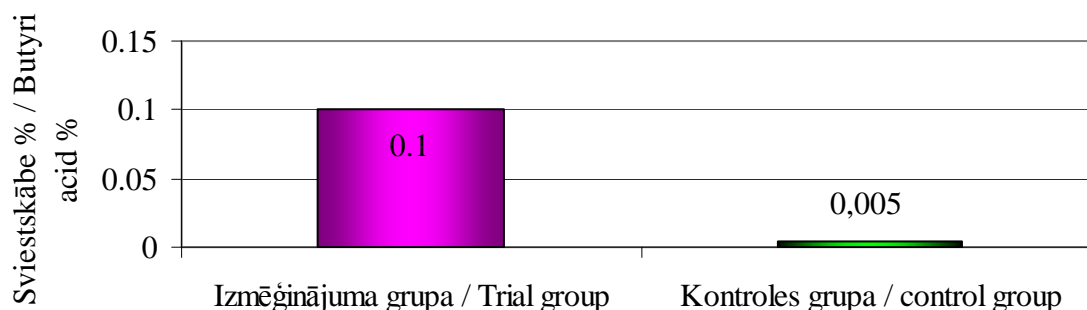


#### 4. attēls. Etiķskābes daudzuma vidējie rādītāji 100 ml spurekļa šķidrumā izmēģinājuma un kontroles grupas govīm

Figure 4. Mean indices of acetic acid in 100 ml of the rumen fluid in cows of the experimental and control group

Starp abām izmeklētajām dzīvnieku grupām etiķskābes daudzums 100 ml spurekļa šķidruma būtiski atšķīrās - rapša raušu izēdināšana etiķskābes īpatsvaru spureklī būtiski ( $p < 0.05$ ) palielināja. Šie mūsu iegūtie rezultāti sakrīt ar literatūras datiem, kuros arī tiek akcentēts, ka rapša raušu izēdināšanas rezultātā govju spureklī etiķskābes daudzums krasi pieaug (Ahvenjärvi et al., 1999). Tā kā etiķskābe ir spureklī norītošo fermentācijas procesu viens no galvenajiem produktiem, secinājām, ka ar rapša raušiem ēdināto govju spureklī, iespējams, fermentatīvie procesi ir notikuši aktīvāk, nekā tie bijuši kontroles grupas dzīvniekiem. Iegūtie rezultāti liecina, ka ar rapša raušiem uzņemtās barības vielas ir stimulējušas baktēriju fermentatīvo darbību spureklī, līdz ar to pastiprinot gaistošās taukskābes - etiķskābes veidošanās intensitāti. Tālāk apskatīsim otrās mūsu izmeklētās gaistošās taukskābes - sviestskābes daudzumu spurekļa šķidrumā. Tā kā, izmeklējot individuāli katru dzīvnieku, atsevišķām kontroles grupas govīm sviestskābe 100 ml spurekļa šķidruma praktiski nebija vispār, tad uzskatījām par lietderīgu šos rezultātus atspoguļot vidēji pa grupām (5. attēls).

Redzam, ka kopumā kontroles grupas govīm 100 ml spurekļa šķidrumā sviestskābi varēja konstatēt ļoti niecīgā daudzumā. Bet dzīvniekiem, kuriem izēdināja rapša raušus, sviestskābes saturs 100 ml spurekļa šķidrumā gan nedaudz paaugstinājās, tomēr šis pieaugums nebija statistiski ticams -  $p > 0.05$ .



#### 5. attēls. Sviestskābes vidējie rādītāji 100 ml spurekļa šķidruma vidēji izmēģinājuma un kontroles grupas govīm

Figure 5. Mean indices of butyric acid in 100 ml of the rumen fluid in cows of the experimental and control group

Lai pilnīgāk izvērtētu dzīvnieku veselības stāvokli kopumā, vienlaicīgi ar spurekļa atsevišķo funkcionālo procesu rādītājiem, noteicām arī govju asiņu bioķīmiskos rādītājus. Asiņu bioķīmisko rādītāju vidējās vērtības un standartnovirzes ar rapša raušiem ēdinātām govīm un kontroles grupas dzīvniekiem apkopotas pirmajā tabulā.

1.tabula / Table 1

**Asins bioķīmiskie rādītāji un to izmaiņu būtiskums eksperimentālās un kontroles grupas govīm**  
**The blood biochemical values in cows of the experimental and control group**

Bioķīmiskie rādītāji / biochemical indices	Mērvienības/unit	Izmēģinājuma grupa/trial group	Kontroles grupa/control group	p vērtības/p values	Norma/standard
Glikoze / Glucose	mmol/l	2.7 ± 0.19	1.7 ± 0.11	0.003*	2.3 – 4.1
ALAT	U/l	19.4 ± 1.63	25.7 ± 2.35	0.0689	6.9 – 35.3
ASAT	U/l	89 ± 3.82	117.6 ± 7.49	0.0145*	45.3 – 110.2
Urīnviela / Urea	mmol/l	16.2 ± 2.04	13.7 ± 1.03	0,3261	2.8 – 8.8
Kop. Bilirubīns / Total bilirubin	µmol/l	5.9 ± 2.03	9.4 ± 1.48	0.2231	0.7 – 14.0
Ca / Calcium	mmol/l	2.5 ± 0.02	2.7 ± 0.05	0.0628	2.1 – 2.8
P / Phosphorus	mmol/l	1.6 ± 0.05	1.7 ± 0.13	0.5175	1.4 – 2.5
Holesterīns / Cholesterol	mmol/l	4.05 ± 0.55	3.6 ± 0.26	0.4731	1.6 – 5.0
Karotīns / Carotene	mg%	3.1 ± 0.29	3.2 ± 0.18	0.7009	0.4 – 1.0*
Pirovīnogskābe / Pyruvate	µmol/l	257.2 ± 9.42	131 ± 4.87	0.0013*	114.0 – 193.0
Triglicerīdi / Triglycerides	mmol/l	0.7 ± 0.03	0.3 ± 0.05	0.0004*	0.22 – 0.57

\* - izmaiņas ir statistiski būtiskas / changes is statistically significant

• - norma govīm ziemas periodā (Latvietis, 2004) / standard in cows in the winter period

Redzam, ka statistiski ticami atšķirās fermenta ASAT, glikozes, pirovīnogskābes un triglicerīdu daudzums asinīs.

Glikozes līmenis asinīs kontroles grupas dzīvniekiem bija būtiski zemāks – ( $p=0.003$ ), salīdzinot to ar rapša raušiem ēdinātiem dzīvniekiem, pat zemāks nekā glikozes līmeņa fizioloģiskās normas diapazons govīm (Merk, 1998). Turpretī dzīvniekiem, kuri saņēmuši rapša raušus, glikozes līmenis asinīs bija būtiski augstāks. Glikozes līmeņa normalizēšanās izmēģinājuma grupas govju asinīs liecina par rapša raušu izēdināšanas labvēlīgo ietekmi uz bakteriālajiem rūgšanas procesiem dzīvniekiem priekškungos.

Jāatzīmē, ka fermenta ASAT līmeņa vidējie rādītāji asinīs kontroles grupas govīm bija būtiski ( $p=0.0145$ ) augstāki ( $117\pm 7.49$  U/l), salīdzinot ar izmēģinājuma grupas dzīvniekiem, kam ASAT līmenis bija attiecīgi  $89\pm 3.82$  (sk. 1. tabulu).

Tā kā fermenta ASAT līmenis zināmā mērā netieši liecina par hepatocītu morfofunkcionālā stāvokļa izmaiņām (Brūveris, 1999; Brūveris, 2000), tad varam uzskatīt, ka rapša raušu izēdināšana dzīvniekiem labvēlīgi ir ietekmējusi arī aknu funkcionālo stāvokli.

Pirovīnogskābes vidējais daudzums asinīs eksperimentālās grupas govīm bija gandrīz divas reizes augstāks (sk. 1. tabulu) nekā to konstatējām kontroles grupas dzīvniekiem ( $p = 0,0013$ )

Govīm, kuras ēdinātas ar rapša raušiem, būtiski bija izmainīts arī triglicerīdu daudzums asinīs: dzīvniekiem, kuri bija ēdināti ar rapša raušiem, triglicerīdu vidējais līmenis asinīs (sk. 1. tabulu) bija vairāk kā divas reizes augstāks, salīdzinot to ar kontroles grupas govīm – attiecīgi  $0.7 \pm 0.03$  mmol/l un  $0.3 \pm 0.05$  mmol/l ( $p = 0.0004$ ).

Izmēģinājuma grupas govīm triglicerīdu līmenis asinīs bija pārsniedzis fizioloģiskās normas augstākās robežas. Tātad jāsecina, ka rapša raušu izēdināšana dzīvniekiem ir mainījusi lipīdu metabolismu. Literatūrā ir norādīts, ka triglicerīdu īpatsvara palielināšanās notiek tad, ja barībā dominē ar cieti un lipīdiem bagāti barības līdzekļi (Кондрахин, 1989).

Šie Latvijā ir pirmie pētījumi par rapša raušu izēdināšanas ietekmi govīm uz dažiem organisma fizioloģiskiem rādītājiem. Tie parādījuši, ka dzīvniekiem izmainās gaistošo taukskābju veidošanās spureklī un, iespējams, arī lipīdu metabolisms.

## SECINĀJUMI

1. Rapša raušu izēdināšana govīm nedaudz pazemina pH rādītājus spurekļa šķidrumā, tomēr pH līmenis kopumā paliek vāji sārains.
2. Rapša raušu izēdināšana govīm spureklī būtiski palielina etiķskābes daudzumu spureklī, bet sviestskābes daudzumu izmaina maz.
3. Ar rapša raušiem ēdinātām govīm asins serumā būtiski palielinās glikozes, pirovīnogskābes un triglicerīdu daudzums, bet fermenta ASAT līmenis būtiski samazinās.

## LITERATŪRA

1. Ahvenjärvi, S., Vanhatalo, A., Huhtanen P. Supplementig barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: I. Rumen degradability and microbial flow. - J. Anim. Sci. 1999. 80: 2176 – 2187.
2. Brūveris, Z., Birģele, E., Auzāns, A., Ilģaģa, A. Morphological and functional investigations of the liver, abomasum and chemical composition of blood in newborn calves associated with adaption of milk eating period. - Fourth Baltic / Nordic Workshop in Veterinary Anatomy. Oslo, June 5-6, 1999, Proceedings: 21 - 22.
3. Brūveris, Z., Birģele, E., Auzāns, A., Ilģaģa, A. Morfofunctional state of liver and blood biochemical parameters in new-born calves in milk eating period. - Acta Veterinaria Baltica. 2000. 46 -50.
4. Ilģaģa, A., Birģele, E. Kuņģa funkcionālais stāvoklis teļiem jaunpiena izēdināšanas periodā. - Veterinārmedicīnas raksti. 2006. 79 – 82.
5. Osītis, U. Dzīvnieku ēdināšana kompleksā skatījumā. 2005. 319 – 320.
6. The Merk Veterinary manual. 1998. 2190-2194.
7. Кондрахин, И. Алиментарные и эндокринные болезни животных. 1989.с.42.
8. Latvietis, J. Rapšu rauši un spraukumi lopbarībai. - Raģība Nr.10(182). 2004. 10: 13- 14.
9. Линар, Е. Кислотообразовательная функция желудка в норме и патологии. - Рига: Зинатне, 1968. 438.

# PREVALENCE AND CONTROL MEASURES OF INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS IN LITHUANIA

Jacevičius E.<sup>1</sup>, Šalomskas A.<sup>1,3</sup>, Milius J.<sup>1</sup>, Petkevičius S.<sup>1,3</sup>, Mockeliūnas R.<sup>1</sup>, Jacevičienė I.<sup>2</sup>, Lelešius R.<sup>3</sup>, G. Pridotkas<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės 18, LT 47181, Kaunas, Lithuania, [ejacevicius@vet.lt](mailto:ejacevicius@vet.lt)

<sup>2</sup>National Food and Veterinary Risk Assessment Institute, J. Kairiūkščio 10, LT-08409 Vilnius, Lithuania,

<sup>3</sup>Veterinary Institute of LVA, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys, Lithuania.

## ABSTRACT

The aim of the present work was to evaluate the prevalence and efficacy of IBR control measures in selected cattle herds in Lithuania. Serological investigations in 1997 - 2007 years (34600 blood sera samples tested) showed that BHV-1 infection mostly detected in cows (33.86%), less - in heifers (8.77%) and in bulls group (1.69%). In majority of the cases seropositive bulls were detected in quarantine performing control testing before introducing to artificial insemination (AI) centers. The investigation by PCR proved that in three cattle herds BHV-1 was the prevalent agent of endemic respiratory disorder in calves. The BHV 1 was detected in 13 out of 29 tissue samples (44.8%). IBR control programs were performed in 22 farms or 6.9% from all controlled dairy farms. In most cases marker vaccine was used for IBR eradication. Serological testing in farms which perform vaccination showed high efficacy of marker vaccines.

**KEY WORDS:** Infectious bovine rhinotracheitis, prevalence, vaccination

## INTRODUCTION

Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) is an infectious disease caused by bovine herpesviruses type 1 (BHV 1). Depending on the subtype of viruses and animal age, infection manifests as pneumonia, conjunctivitis, rhinotracheitis, encephalitis, balanopostitis, and reproduction disorders (Veselinovič et al., 1992; Oirschot et al., 1993; Kaashoek et al., 1996). Adult animals mostly suffer from subclinical forms of this disease, genital pathology or sterility in cows and heifers (Weiblen et al., 1992; Oirschot et al., 1993). For this reason, this disease also is referred as infectious pustulous vulvovaginitis (IPV) or infectious balanopostitis (IBP).

Diagnostics is one of the major control measures of IBR. Therefore, it is important to develop specific time-sparing and sensitive diagnostic methods. Virus neutralization (VN) tests and various ELISAs are usually used for detecting antibodies against BHV 1 in sera. The identification of serologically positive animals provides a useful and reliable indicator of infection status (Kramps et al., 1993). One of molecular tool is the method of polymerase chain reaction (PCR). The PCR method is applied worldwide for testing the cattle blood, milk and semen (Weiblen et al., 1992; Vilcek et al., 1993; Oirschot et al., 1993).

Scientific achievements have gradually changed the control requirements for IBR. When it turned out the method of selection and depopulation of seropositive animals was not relevant, special marker vaccines were developed. The European Commission carried out special efficiency tests after which the vaccines were recognized as suitable for eradication of IBR (Report on Bovine herpesvirus 1 (BHV1) marker vaccines, 2000).

Many IBR investigations were carried out in Lithuania in the last five years. It was determined that 14.5% of cattle were infected with BHV-1 (Milius et al., 2005). Yet problems of IBR diagnostics in pedigree herds have not been investigated in detail since 1998 and PCR method have not been so far applied for BHV-1 identification in Lithuania.

The aim of the present work was to evaluate the prevalence and efficacy of IBR control measures in selected national herds.

## MATERIALS AND METHODS

*Serological investigations.* Pedigree cattle breeding farms were selected for IBR prevalence evaluation. Blood sera (n = 34600) of randomly selected animals were tested to BHV 1 gB glycoprotein antibodies by ELISA (POURQUIER® ELISA IBR-IPV gB Serum, Institute Pourquier, France) at the National Food and Veterinary Risk Assessment Institute. The efficacy of IBR control measures was based on serological tests that can distinguish naturally infected from vaccinated with gE-deleted IBR vaccines cattle (IBR)/BHV-1 gE Antibody ELISA Test Kit, Idexx, USA).

*Clinical, epidemiological investigations.* Clinical, pathologic and epizootiological investigations of IBR were carried out in selected cattle breeding farms taking into consideration the data of serological tests. Tissue samples from dead calves were taken in four farms where epizootiological, pathological and clinical signs were similar to IBR. Samples of affected lungs were taken from 29 calves aged 1–12 months.

*Methods of molecular biological analysis.* Twenty nine calves tissue samples were examined by the PCR for BHV 1. The DNA extraction was performed by phenol–chloroform–isoamyl alcohol method and the PCR procedure was performed according to the described method (Vilcek, 1993).

The statistical data analysis was done using computer program „Graph Prism 3.0™“. Student’s reliability coefficient was calculated. The data was regarded as reliable when  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

Serological investigations in 1997-2007 years showed that BHV-1 virus infection mostly detected in cows, less - in heifers and in bulls group very rarely detected. In many cases seropositive bulls were detected in quarantine performing control testing before introducing to artificial insemination (AI) centers (Fig.1).

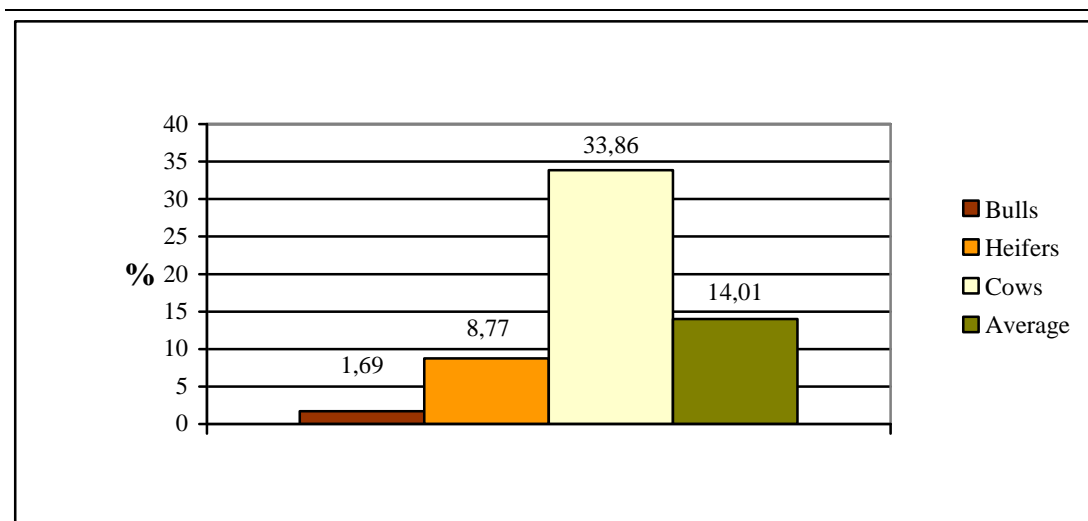


Figure 1. Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in cattle

The investigation carried out using the PCR (Table 1) proved that in three cattle herds BHV-1 was the prevalent agent of endemic respiratory disorder in calves. The BHV 1 was detected in 13 out of 29 tissue samples (44.8%).

Table 1.

**BHV 1 detection in calves tissue samples by PCR**

Herd No.	Herd description	IBR seropositive/ lethality in calves, %	Samples	Results of PCR		
				n	Positive	
					n	%
1.	900 cattle, unstrained	80.0/32.8	Lung	7	5	71.4
2.	500 cattle cows bound	10/9.4	Lung	10	4	40
3.	200 calves, unstrained	71.4/5.3	Secretion from nostrils	4	4	100
4.	> 1000 cattle, unstrained	77.8/10	Lung, spleen, lymphatic node	8	0	0
<b>Total:</b>				<b>29</b>	<b>13</b>	<b>44.8</b>

Lithuania in 1993 began to implement measures of IBR controls. Primarily this control have been implemented at farms of six AI centers. All bulls - semen producers were tested for antibodies to BHV 1 and 49.8% of bulls were seropositive. Till 1997 all seropositive bulls were discharged and at the moment all bulls of AI centers are not infected with BHV-1.

Other situation is in dairy farms. Till June of 2008 IBR control programs were performed in 22 farms or 6.9 % from all controlled dairy farms. Three farms had IBR free status. In most cases marker vaccine was used for IBR eradication. Serological testing in farms which perform vaccination program longer than three years showed very high efficacy of marker vaccines (Fig.2).

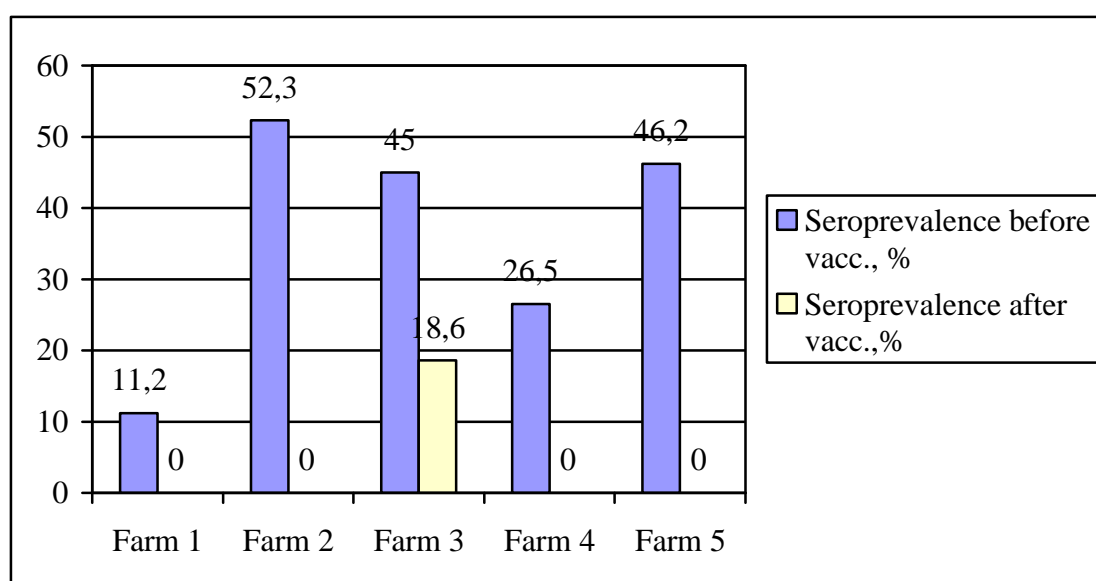


Figure 2. Evaluation of efficacy of vaccination against IBR in selected cattle herds

The investigations carried out in 1997 -2007 revealed that without control measures in pedigree herds the number of seropositive animals were not reduced. It is obvious that IBR

control measures only in the herds of pedigree bulls (producers of sperm) are insufficient. The variation of the number of seropositive heifers is the object of concern. This means that without specific preventive measures the dynamics of BHV-1 infection is difficult to predict. Notwithstanding the common opinion that the latent IBR form is typical of Lithuania, our investigation showed that IBR viruses also might often be the cause of bronchopneumonia in calves. This is an object of great concern as cattle with the BHV-1 form of respiratory infection spread the infection at high rates (Mars et al., 1999). The applied diagnostic PCR method enabled rapid identification of IBR. It was determined that even in three farms of four where calves had respiratory diseases, BHV-1 was one of the causes of morbidity and mortality. Our investigations also showed that most of highly productive cows in the selected farms were seropositive.

The method of depopulation (isolation and slaughter of seropositive animals) lying at the basis of Danish and Swedish IBR control programs (The Swedish IBR/IPV eradication program, 1995; The Danish infectious bovine rhinotracheitis program, 1996) is therefore inefficient for eradication of infection in countries with high seroprevalence of IBR. Based on the experience of German, Belgian, French and Dutch researchers and veterinary practitioners, we recommend to use vaccine produced of mutant BHV-1 virus containing no glycoprotein E in some farms for eradication of IBR/IPV (Bosch et al., 1996;; Thiry, 1997; Eloit, 1997; Wizigmann, 1997; De Wit et al., 1998). Among the advantages of this vaccine we can mention the possibility to distinguish between the vaccinated animals and naturally infected by serological methods (Siebert et al., 1995a; Siebert et al., 1995b; Bosch et al., 1996; Strube et al., 1996).

## REFERENCES

1. Bosch J. C., De Jong M. C. M., Maisan J. et al. Quantification of experimental transmission of bovine herpes-virus 1 in cattle vaccinated with marker vaccines. XIX World Buiatrics congress, Edinburgh, 8–12 July, 1996. P. 12–13.
2. De Wit J. J., Hage J. J., Brinkof J., Westenbrink F. A comparative study of serological tests for use in the bovine herpesvirus 1 eradication programme in The Netherlands. *Veterinary Microbiology*. 1998. Vol. 61, P. 153–163.
3. Eloit M. Identification and monitoring of IBR-free herds in the French IBR certification programme. IBR control programmes, Maastricht, June 1997. <http://www.animalhealthservice.nl/pages/staff/litlijst/ibr/eloit.htm>
4. Kaashoek M. J., Van Engelenburg F. A. C., Moerman A., Gielkens A. L. J. Risjewik F. A. M., Van Oirschot J. T. Virulence and immunogenicity in calves of thymidine kinase and glycoprotein E - negative bovine herpesvirus 1 mutants. *Veterinary Microbiology*. 1996. Vol. 48. P. 143–153.
5. Kramps J.A., Quak S., Weerdmeester, Van Oirschot J.T. Comparative study on sixteen enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle. *Veterinary Microbiology*. 1993. Vol. 35. P. 11-21.
6. Mars M. H., Brusckhe C. J. M., van Oirschot. J. T. Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Veterinary Microbiology*. 1999, Vol. 66. P. 197-207.
7. Milius J., Lukauskas K., Tamošiūnas V. Išlaidos galvijų virusinių ligų tyrimams Lietuvoje 2000–2004 metais. *Veterinarija ir zootechnika*. 2005, T. 31 (53). p. 37–42.
8. Oirschot J. T. Van, Straver P. J., Van Lieshout J. A. H., Quak J., Westenbrink F., Van Exsel A. C. A. A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial insemination centre. *Veterinary Record*. 1993. Vol. 132. P. 32-35.

9. Report on Bovine herpesvirus 1 (BHV1) marker vaccines and the accompanying diagnostic tests. European Commission. Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. Adopted 25 October 2000.
10. Siebert S., Auer S., Heinen E. et al. Marker vaccines – new opportunity for IBR control. Part III: routes to control IBR. Tierarztl. Umschau. 1995a. Vol. 50. P. 707–713.
11. Siebert S., Auer S., Heinen E. et al. Marker vaccines – new opportunities for IBR control. Part II: safety and efficacy of the gE-deleted Bayovac IBR marker vaccines. Tierarztl. Umschau. 1995b. Vol. 50. P. 582–584.
12. Strube W., Auer S., Block W. et al. Ag E deleted infectious bovine rhinotracheitis marker vaccine for use in improved bovine herpesvirus 1 control programs. Veterinary Microbiology. 1996. Vol. 53. P. 181–189.
13. The Danish infectious bovine rhinotracheitis programme. Ministry of agriculture and fisheries. Danish veterinary service (1996).
14. The Swedish IBR/IPV eradication programme. Swedish board of agriculture (1995.01.12).
15. Thiry E. The Belgian field trial. IBR control programmes, Maastricht, June 1997. – <http://www.animalhealthservice.nl/pages/staff/litlijst/litribr.htm>
16. Veselinovič S., Veselinovič S., Medič D. et al. Disturbances in bovine reproduction caused by action of IBR/IPV viruses. 12-th International Congress on Animal Reproduction. The Hague, 1992. Vol. 3. P. 1605–1607.
17. Vilcek S. Detection of the bovine herpesvirus-1 (BHV-1) genome by PCR. Journal of Virological Methods. 1993. Vol. 41(2). P. 245–247.
18. Weiblen R., Kreutz L. C., Canabaro T. E., Schuch L. F., Rebelato M. C. Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and semen of bulls with balanopostitis. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 1992. Vol. 4. P. 341–343.
19. Wizigmann G. Qualifying and monitoring of IBR-free herds in Bavaria (Germany). Maastricht, June 1997. <http://www.animalhealthservice.nl/pages/staff/litlijst/ibr/wizig.htm>



# PIG ENDOPARASITES IN ESTONIA

Järvis Toivo, Mägi Erika

Estonian University of Life Sciences, Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences,  
Estonia

[toivo.jarvis@emu.ee](mailto:toivo.jarvis@emu.ee)

## ABSTRACT

Current study includes 12 industrial large farms with pig number of 245 -10500, 8 smaller conventional farms (13-87 pigs), 18 small farms (1-7 pigs), 2 ecological outdoor farms and one wild boar farm. In total 1918 faecal samples were collected in 2006-2007 and investigated for parasite eggs and oocysts. Helminth intestinal infections on industrial large farms were limited to *Ascaris suum* (8.1%) and *Oesophagostomum* spp. (1.6%) infections only with low (20 – 100) epg-s in some sow and fatter groups. Infection prevalence of pigs in smaller farm fatter groups was 48% with *Ascaris suum*, 74% with *Oesophagostomum* spp. and 59.6 % *Eimeria* spp. with high opg-s in all age groups (up to 10,000). On small farms 37.5% infection with *Ascaris suum*, 55.6% with *Oesophagostomum* spp. and 46.1% *Eimeria* spp. has been observed. Parasites found in pigs on the ecological farms: 89,4% *Oesophagostomum* spp., 31,5% *Ascaris suum*, 9% *Strongyloides ransomi*, up to 100% *Eimeria* spp. and *Cryptosporidium* sp. The wild boar farm results were: *Oesophagostomum* spp. 64%, *Trichuris suis* 21%, *Metastrongylus* sp. 7% and *Eimeria* spp. 100% with low epg/opg-s. Pigs on ecological farms were more intensively infected than on other farms. The identified *Eimeria* species in domestic pigs were: *E. porci*, *E. polita*, *E. suis*, *E. neodebliecki*. Wild boars had two more species: *E. scrofae* and *E. guevarai*. Industrial management on large farms with regular antiparasitic treatments seems to be successfully reducing the parasite infection level and species variety. Biological approach to parasite control on ecological farms should be studied further.

**KEY WORDS:** pig parasites, intestinal infections, farms.

## INTRODUCTION

Intestinal nematodes and coccidian infections cause serious health and economic problems in swine herds in many countries and it is unfortunately a well-known fact that endoparasitic infestations in pigs, especially with helminths, are still common as well in European countries as well over the world [7, 16, 1, 11, 2, 13, 21]. The species of parasites in pigs have been diagnosed and the distribution level of pig parasitosis has been determined in several countries. Indoor intensive rearing is considered to be a protective system compared to outdoor rearing systems [14, 15, 9]. In numerous works there is proved that regular anthelmintic animal treatment should effectively prevent infestation. Nevertheless, studies from Australia, Denmark, France, Poland and Germany have reported that helminths may be found in intensive indoor pig farms [10, 14, 1, 2, 13]. Helminth infestation can cause economic losses, decreasing daily weight gain and increasing feed expenses [18, 6, 13] or could be a risk factor for other digestive tract diseases, such as intestinal infection of *Salmonella* [17].

While indoor production systems has dominated in many West European countries for decades, the outdoor pig production has also a long tradition in some areas as in United Kingdom, Denmark and Scandinavian states [22, 19, 8, 3]. In most recently developed outdoor systems, the sows are kept permanently on pasture where they farrow even in winter, while the large majority of growing pigs are moved indoors for the whole fattening period. During 2001 – 2003 influence of season and host age on wild boar parasites has been studied in Corsica [5].

In order to determine the level and distribution of pig parasites in Estonian pig herds and in purpose to study whether management practices in the farms allow pig intestinal parasite infestation, the data of our recent parasitological survey are presented and analysed in current study.

## **MATERIAL AND METHODS**

A total of 41 pig farms with 30307 pigs were involved in the survey from March 2006 to December 2007 in purpose to determine the prevalence of internal parasites and examine the relationship between parasite infections and management practices. Faecal samples were collected randomly in total from 1918 pigs in 6 age groups: 1) piglets <5 weeks old, 2) weaners 2-3 months old, 3) small fatteners 3-4 months old, 4) large fatteners 5-6 months old, 5) sows >6 months old, 6) boars 1-2 years old and examined for the presence of eggs of helminth parasites and coccidian. In addition animals from ecological farms and wild boar farm were investigated.

Different farms were as follows: 1) 12 industrial large farms with 245 -10500 pigs; 2) 8 smaller conventional farms (13-87 pigs); 3) 18 small farms (1-7 pigs); 4) 2 ecological farms (56 pigs); 5) one wild boar farm (37 animals). The farms were located in different Estonian districts: Tartu, Harju, Viljandi, Valga and Hiiumaa. A retrospective review of technical profile on each farm had been described: 1) numbers of sows, piglets per litter, young pigs, fatling pigs and boars; 2) management; 3) working and sanitary conditions on farms. Faecal examinations were carried out during the whole investigation period and egg counts were determined by the modified McMaster method. The results are displayed as parasite counts per gram of faeces (epg or opg).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

In our study from 1918 collected faeces samples helminth eggs were found in 493 (25.7%) and *Eimeria* oocysts in 252 (13.1%) samples. The results show that groups of larger fatteners and sows were more commonly affected than other pig classes (Figures 1, 2). *Ascaris suum* was the most common species of worm found in fatterer pigs and sows. Oocysts of coccidian were found in pigs from 9.9% of piglets and 22.3% from sows and fatteners. *Oesophagostomum* spp. occurred to be another prevalent worm species, being found in 17.1% of piglets and in 18.7% of older swine groups. The average *Oesophagostomum* spp. egg counts were 20 – 800 epg, *Ascaris suum* 20 – 600 epg and *Eimeria* spp. 220 – 1000 opg. The level of infection varied depending on the herd and age group (piglets, fatteners or sows). Large differences exist in infections between pig production systems. Thus, only *Ascaris suum* and *Oesophagostomum* spp. are common in traditional indoor systems, but the large round worm *Ascaris suum* eggs were absent in wild boar farm. According to the data of literature can be supposed that *Ascaris suum* infections may stimulate the development of strong protective immunity, dependent on the level of exposure period. Thus, according to some authors, in pigs that have been continuously exposed to parasites, migrating larvae may be killed even before they reach the liver [20, 4]. In the European southern regions in wild boar populations were more detected external parasites as ticks, louse, *Haematopinus suis* etc. and main nematodes were *Ascaris suum* and *Metastrongylus* sp. [5].

The nodular worms of pigs are represented in our pig herds with *Oesophagostomum dentatum* and *O. quadrispinulatum*, which commonly co-exist. It is notable that even heavily infected pigs (over 1000 epg) may not show any clinical symptoms. *Oesophagostomum* spp. eggs were absent on large industrial farms and there was very few eggs of *Ascaris suum*.

*Trichuris suis* and *Strongyloides ransomi* occurred in our samples with low densities and registered rarely as natural foci, *Metastrongylus* spp. was found only in pigs of wild boar farm. In comparable, studies carried on in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden swine herds showed that *Ascaris suum*, *Oesophagostomum* spp and *Eimeria* spp. were

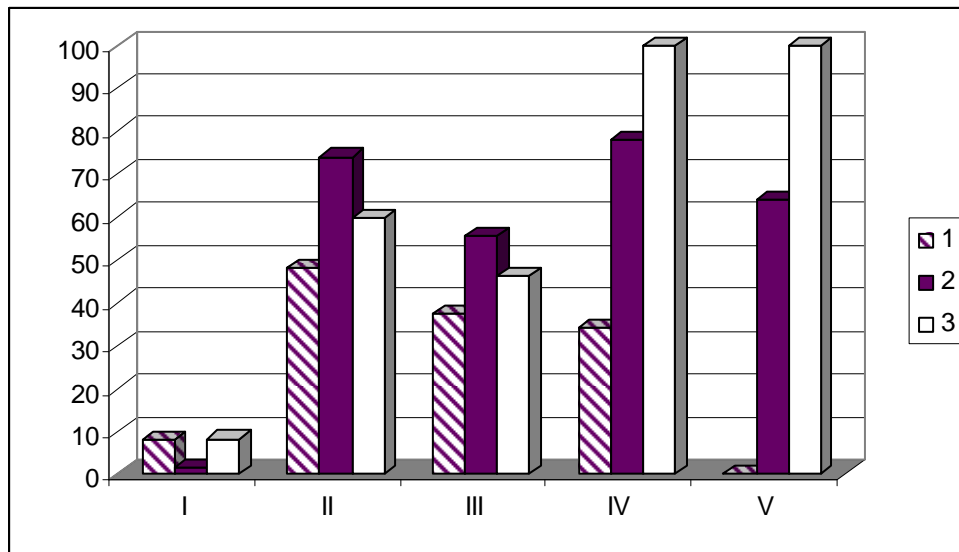


Figure 1. Parasite infection level (%) of pig intestinal parasites *Ascaris suum*, *Oesophagostomum* spp. and *Eimeria* spp. in Estonian swine herds in different farm management systems (2006-2007)

1 – *Ascaris suum*; 2 – *Oesophagostomum* spp.; 3 – *Eimeria* spp.;

I – large industrial farms; II – conventional farms (13-87 pigs); III – small farms (1-7 pigs);

IV – ecological organic farms (16-38 pigs); V – wild boar farm (37 pigs)

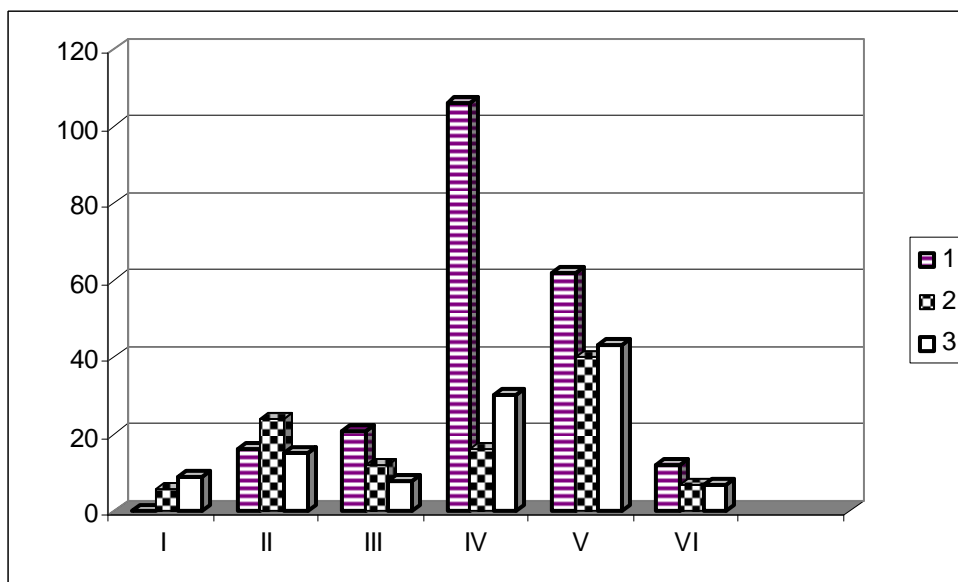


Figure 2. Infection rate of main internal parasites on the Estonian pig farms in different swine age groups (2006-2007)

1 – *Ascaris suum*; 2 – *Oesophagostomum* spp.; 3 – *Eimeria* spp.;

I – piglets <5 weeks old; II – weaners 2-3 months old; III – small fatteners 3-4 months old;

IV – large fatteners 5-6 months old; V – sows >6 months old; VI – boars 1-2 years old

common species, while *Trichuris suis* and *Strongyloides ransomi* eggs occurred sporadically. Large fatteners were most frequently infected with *A. suum* (5-35%), *Oesophagostomum* spp. were most prevalent in adult pigs in the southern regions (21-43%) than in the northern regions (4-17%). *Eimeria* spp. had the highest prevalence in adult pigs (max 9%) without clear geographical differences [16, 12]. In China (Guangdong Province) on intensive pig farms the most common parasites were *Oesophagostomum* spp. (of the 3636 pigs 24.9%) *Trichuris suis* (5.7%), *Ascaris suum* (5.2%) and *Coccidia* (47.2%) [21]. *Oesophagostomum dentatum* occurred to be the predominant species also in Poland, followed by *Trichuris suis*, *Strongyloides ransomi* and *Ascaris suum* [13].

The occurrence of swine intestinal parasites on pig farms as well as infection densities are markedly influenced by the type of swine production system used: high infection levels were observed in the present study on small conventional farms and in pigs of ecological farms. A major difference between conventional, outdoor production and organic production is in proportion of organic feed and applied anthelmintics. High prevalence rates and infection are large restricted to outdoor herds. The prevalence rates and infection intensities of the most common helminth species in different age groups of pigs are strongly seem to be influenced by their immunity. *Eimeria* spp. oocysts are most common in older pigs particularly in outdoor pigs. Nowadays organic farms represent pioneers in organic pig production, but on the other hand, outdoor farming and organic pig production may in the future be connected with serious problems because of particularly favourable conditions for helminth transmission and their reproduction. In addition, on organic farms preventive usage of anthelmintics is not permitted [12].

This study shows that organic pigs have higher infection rates with helminth parasites compared with sows and pigs housed indoor in intensive systems. Anthelmintics were used in most indoor herds, but treatments on several conventional farms had been carried out irregularly.

## CONCLUSIONS

1. The main digestive tract parasites in swine are *Ascaris suum* and *Oesophagostomum* spp. roundworms.
2. In Estonian indoor intensive management system the helminths are controlled, but swine parasites can still be present in separate swine groups of large farms.
3. The level of pig infection in indoor conditions varied, depended on the herd and age group and reached a maximum in fatteners and sows.
4. A higher level of infestation was observed in the smaller herds of conventional farms and in farms of outdoor management.
5. On most indoor pig farms hygiene efforts must be continued.
6. Data on species composition and infection levels would help improve the monitoring and control of parasitism in swine populations.

## REFERENCES

1. Joachim, A., Dülmer, N., Dauschies, A., Roepstorff, A. Occurrence of helminths in pig fattening units with different management systems in Northern Germany. - Veterinary Parasitology. 2001.96: 135–146.
2. Beloeil, P. A. , Chauvin, C., Fablet, C., Jolly, J. P., Eveno, E., Madec, F., Reperant, J. M. Helminth control practices and infections in growing pigs in France. - Livestock Production Science. 2003. 81: 99-104.
3. Carstensen, L., Vaarst, M., Roepstorff, A. Helminth infections in Danish organic swine herds. - Veterinary Parasitology. 2002. 106: 253 – 264.

4. Eriksen, L. Lind, P. Nansen, P. Roepstorff, A., Urban, J. Resistance to *Ascaris suum* in parasite naïve and natural exposed growers, finishers and sows. - *Veterinary Parasitology*. 1992. 41: 137–149.
5. Foata, J. Mouillot, D. Culioli, J.-L., Marchand, B. Influence of season and host age on wild boar parasites in Corsica using indicator species analysis. - *Journal of Helminthology*. 2006. 80: 41-45.
6. Kaarma, A., Mägi, E. Sigade ümarusstõbede mõningatest epizootoloogilistest iseärasustest Eestis/Some epizootological features of pig nematodes in Estonia. - *Journal of Agricultural Science*. 2001. 12: 93 - 99.
7. Keidans, P., Kruklite, A. Problems of pig parasitosis control. – *Veterinārmedicīnas raksti, Jelgava (Latvia)*. 1997. 1407 – 1754.
8. Mejer, H. Wendt, S., Thomsen, L.E., Roepstorff, A., Hindsbo, O. Nose-rings and transmission of helminth parasites in outdoor pigs. - *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2000. 41: 153 – 165.
9. Mejer, H., Roepstorff, A. *Ascaris suum* infections in pigs born and raised on contaminated paddocks. - *Parasitology*. 2006. 133: 305 – 312.
10. Mercy, A.R., de Chaneet, G., Emms, Y. Survey of internal parasites in Western Australian pig herds. 2. Relationship to anthelmintic usage and parasite control practices. - *Australian Veterinary Journal*. 1989. 66: 6–9.
11. Mägi, E., Sähk. M. Sigade üömarusstõbede ealisest dünaamikast Eesti seafarmides/Age dynamics of swine nematode invasions on Estonian pig farms. - *Veterinary Medicine, Tartu (Estonia)*. 2002. 65- 72.
12. Nansen, P., Roepstorff, A. Parasitic helminths of the pig: factors influencing transmission and infection levels. - *International Journal of Parasitology*. 1999. 29: 877–891.
13. Nosal, P., Eckert, R. Gastrointestinal parasites of swine in relation to the age group and management system. - *Medycyna Weterinarnyjna, Krakow (Poland)*. 2005. 61: 435 – 437.
14. Roepstorff, A., Jorsal, S.E. Prevalence of helminth infections in swine in Denmark. - *Veterinary Parasitology*. 1989. 33: 231–239.
15. Roepstorff, A., Nansen, P. Epidemiology and control of helminth infections in pigs under intensive and non-intensive production systems. - *Veterinary Parasitology*. 1994. 54: 69–85.
16. Roepstorff, A., Nilsson, O., Oksanen, A., Gjerde, B., Richter, S. H., Örtenberg, E., Christensson, D., Martinsson, K. B., Bartlett, P. C., Nansen, P., Eriksen, L., Helle, O., Nikander, S., Larsen, K. Intestinal parasites in swine in the Nordic countries: prevalence and geographical distribution. - *Veterinary Parasitology*. 1998. 76: 305 – 319.
17. Steenhard, N.R., Jensen, T.K., Baggesen, D.L., Roepstorff, A., Moller, K., Excretion in feces and mucosal persistence of *Salmonella* ser, *Typhimurium* in pigs subclinically infected with *Oesophagostomum* spp. - *American Journal of Veterinary Research*. 2002. 63: 130–136.
18. Stewart, T.B., Hale, O.M. Losses to internal parasites in swine production. - *Journal of Animal Science*. 1988. 66: 1548–1554.
19. Thamsborg, S. M., Roepstorff, A., Larsen, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. - *Veterinary Parasitology*. 1999. 84: 169 – 186.
20. Urban, J.F., Alizadeh, H., Romanowski, R.D. *Ascaris suum*: development of intestinal immunity to infective second-stage larvae in swine. - *Experimental Parasitology*. 1988. 66: 66–67.
21. Weng, Y. B., Hu, Y. J., Li, Y., Li, B. S., Lin, R. Q., Xie, D. H., Gasser, R. B., Zhu, X. Q. Survey of intestinal parasites in pigs from intensive farms in Guandong Province, People's Republic of China. - *Veterinary Parasitology*. 2005. 127: 333 – 336.
22. Worthington, T. R., Danks, P. W. Nitrate leaching and intensive outdoor pig production. – *Soil Use and Management*. 1992. 8: 56 – 59.

# ZILĀS MĒLES SLIMĪBAS IZPLATĪBAS RISKS LATVIJĀ: VEKTORU – *CULICOIDES* ĢINTS MIĢEĻU SUGU SASTOPAMĪBA

## BLUE TONGUE VIRUS DISTRIBUTION RISK IN LATVIA: OCCURRENCE OF VECTORS - BITING MIDGE SPECIES OF THE GENUS *CULICOIDES*

Gunita Jaunbauere<sup>1</sup>, Ieva Rodze<sup>1</sup>, Voldemārs Spuņģis<sup>2</sup>

Nacionālais diagnostikas centrs, Latvija<sup>1</sup>, LU Bioloģijas fakultāte, Latvija<sup>2</sup>

National Diagnostic Centre<sup>1</sup>, Latvia, Faculty of Biology, UL, Latvia<sup>2</sup>

[gunita.jaunbauere@ndc.gov.lv](mailto:gunita.jaunbauere@ndc.gov.lv); [ieva.rodze@ndc.gov.lv](mailto:ieva.rodze@ndc.gov.lv); [adalia@lanet.lv](mailto:adalia@lanet.lv)

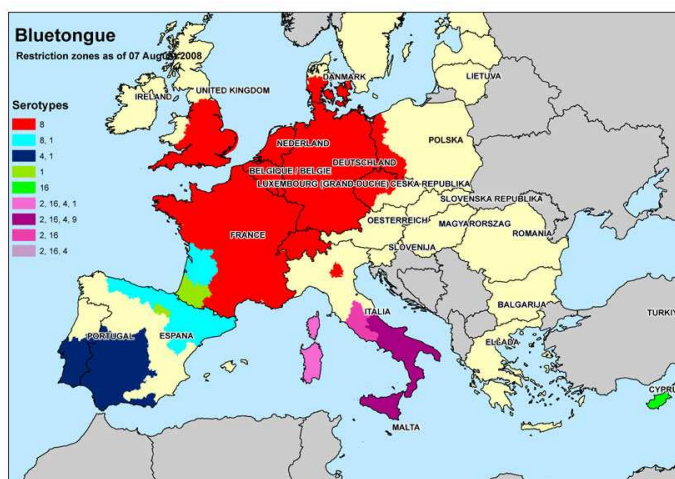
### ABSTRACT

The biting midges of the species complex *Obsoletus* and *Pulicaris* were found in Latvia. These species are potential vectors of the blue tongue virus. The flight activity of midges of the genus *Culicoides* was observed from the end of March till the middle of November with a maximum abundance at the end of May and the beginning of June, and in August.

**KEY WORDS:** Blue tongue virus, *Culicoides*, occurrence, Latvia

### Ievads

Zilās mēles slimības vīruss ir infekciozs atgremotāju dzīvnieku vīruss, kuru pārnēsā asinsūcējas *Culicoides* ģints miģeles. Starptautiskais Epizootiju birojs (OIE) šo vīrusu ierindo A grupas slimību epizootiju sarakstā (1). Kopš 2006. gada vasaras zilās mēles slimības vīruss ir strauji izplatījies Eiropā sākot no Nīderlandes, tad aptverot Vāciju un Beļģiju. Eiropā ir noteiktas zilās mēles slimības vīrusa aizsardzības zonas, kas ir 150 km rādiusā ap vietu, kur vīruss konstatēts (1. attēls).



1.attēls. Zilās mēles vīrusa aizsardzības zona Eiropā 2008. gada 7. augustā (Eiropas Komisijas publiskie dati)

Figure1. Restriction zone of Blue tongue virus in Europe on 7th August 2008 (European Commission public data)

Pasaulē zināmas vairāk kā 1000 līdz 1400 miģeļu sugas, no kurām 90% ir obligātie asinssūcēji. Miģeles (Diptera: Ceratopogonidae) ir pasaulē sīkākie asinssūcēji kukaiņi. To izmērs ir 1-3 mm. Parasti uz to spārniem ir gaišāki un tumšāki plankumi, pieaugušās miģeles ir brūnganas. Miģelēm ir četras kāpura attīstības stadijas. Mātīte olas dēj ūdenī, slapjā augsnē

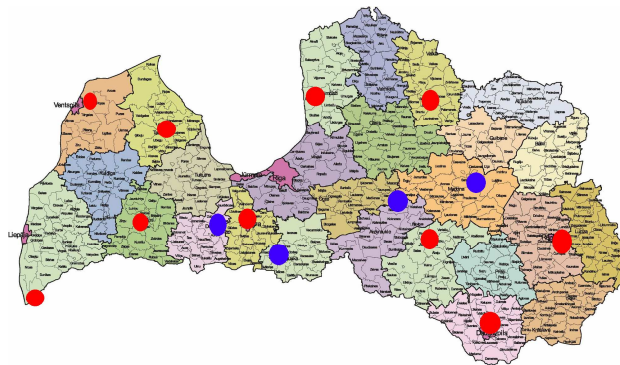
vai tai līdzīgos substrātos, kur attīstās to kāpuri un kūniņas. Vispiemērotākās vietas (biotopi), kur notiek miģeļu vairošanās ir stāvoši ūdeņi, slapja augsne, slapji mājlopu mēsli un nelielas peļķes pie kūtīm, pat liellopu ūdens dzirdītavas vai pielijuši koku dobumi. Līdzīgi kā dzelējodiem ar asinīm barojas tikai miģeļu mātītes (3).

Zilās mēles slimības vīrusu pārnēsā apmēram 20 *Culicoides* ģints sugu miģeles. *Culicoides imicola* ir galvenā pārnēsēja, kas izplata vīrusu Āfrikā. *C. imicola* ir tropu un subtropu suga, kas sastopama arī Eiropas dienvidos. Tās izplatību ierobežo zema gaisa temperatūra. Lai *C. imicola* kāpuri izdzīvotu ziemas sezonā, vidējai minimālai diennakts temperatūrai jābūt lielākai par +12°C. Mainoties klimatiskiem apstākļiem sagaidāms, ka sugas areāla ziemeļu robeža pārvietosies un vīruss izplatīsies tālāk (3).

*Culicoides obsoletus* un *C. pulicaris* ir mērenās joslas sugas, tās ir galvenie zilās mēles slimības vīrusa vektori Eiropā (3). Vairākas tuvu radniecīgas sugas apvieno sugu kompleksos *Obsoletus* un *Pulicaris*, jo mātītes ne vienmēr var precīzi noteikt līdz sugai (2).

### Materiāli un metode

Pieaugušās miģeļu mātītes tika ķertās ar ultravioletās gaismas lamatām. Latvijā 2007. gadā no jūlija līdz novembra beigām tika izvietotas 10 lamatas, vienmērīgi pārklājot Latvijas teritoriju – Liepājas, Ventspils, Saldus, Talsu, Jelgavas, Limbažu, Valkas, Jēkabpils, Daugavpils un Rēzeknes rajonos. 2008. gadā no marta beigām papildus tika izvietotas vēl četras lamatas – Madonas, Bauskas, Dobeles un Ogres rajonā (2. attēls). 2007. gadā deviņas lamatas tika izvietotas govju kūtīs un viena aitu kūtī tuvu atvērtām durvīm vai logiem. Savukārt, 2008. gadā lamatas tika novietotas zem nojumēm pie kūtīm, lai labāk varētu novērtēt klimatisko apstākļu (vēja stipruma, nokrišņu summas, nakts temperatūras) ietekmi uz miģeļu aktivitāti. 2008. gadā no četrām papildus lamatām viena novietota pie aitu kūts, bet pārējās trīs pie govju kūtīm.



2. attēls. Ultravioletās gaismas lamatu izvietojums Latvijā. Sarkanie punkti – 2007. gadā izvietotās lamatas; Zilie punkti – papildus 2008. gadā izvietotās lamatas

Figure 2. The arrangement of ultra violet light traps in Latvia. Red spots – arranged traps in 2007; Blue spots – additionally arranged traps in 2008

Pieaugušās miģeles tika ķertās reizi nedēļā diennakts tumšajās stundās. Lamatas tika ieslēgtas stundu pirms saulrieta, bet izslēgtas stundu pēc saullēkta. Tātad lamatas tika darbinātas atkarībā no sezonas 9 līdz 18 stundas. Šajās naktīs tika mērīta minimālā un maksimālā gaisa temperatūra pie lamatas ar Min-Max termometru (2). Papildus tika veikti klimatisko apstākļu novērojumi – vēja stiprums (bezvējš, mērens, stiprs), nokrišņi (ir/nav), kas var ietekmēt kukaiņu aktivitāti naktīs. Precīzi meteoroloģiskie dati tika iegūti no Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas aģentūras publiski pieejamiem meteoroloģiskiem novērojumu datiem.

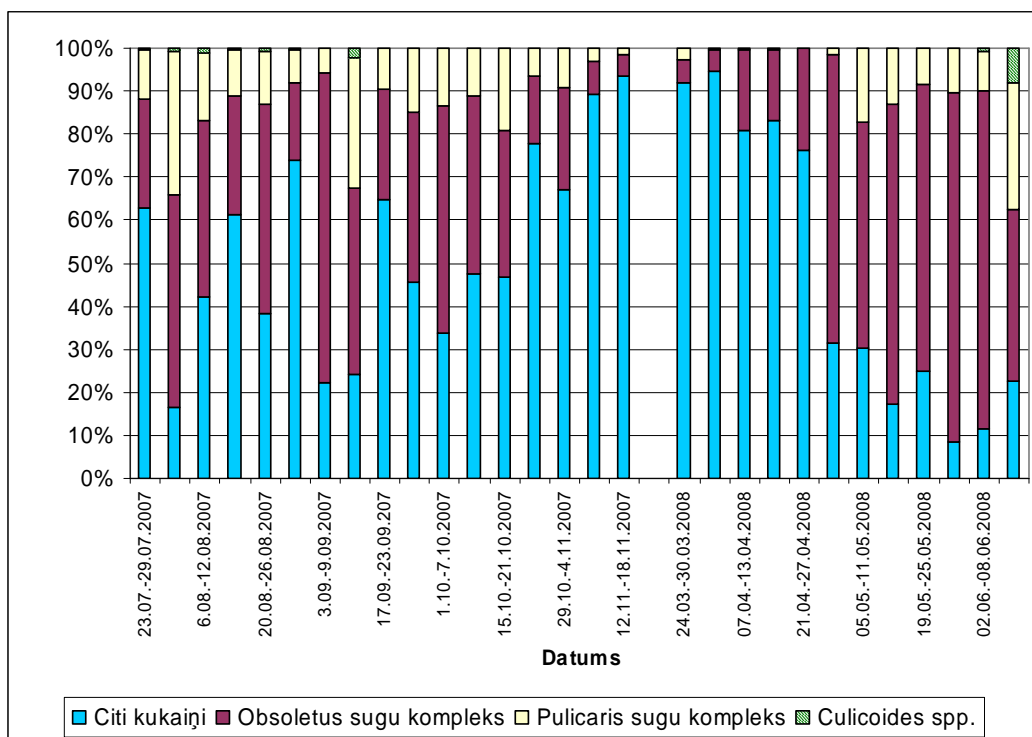
Ievāktie kukaiņi tika ievietoti traukā ar 70% spirtu, uz trauka tika norādīts ievākšanas datums un vieta. Parauga analīze tika veikta speciāli aprīkotā PVD NDC Parazitoloģijas laboratorijā.

Katrā paraugā tika noteikts kopējais kukaiņu skaits un atsevišķi – miģeles. Savukārt, miģeles tika noteiktas kā *Obsoletus* sugu kompleksam vai *Pulicaris* sugu kompleksam piederošas, kā arī citas *Culicoides* spp. miģeles. Paraugā tika saskaitītas visas miģeles. Ja paraugā bija vairāk kā 500 kukaiņu, tad to kopējais skaits tika aprēķināts, ņemot vērā subparauga apjomu.

### Rezultāti un diskusija

2007. gadā tika izanalizēti 166 paraugi, bet 2008. gadā līdz jūnija sākumam – 111 paraugi. 2007. gadā 72% no visām, konstatētām miģelēm piederēja *Obsoletus* sugu kompleksam, bet 27% - *Pulicaris* sugu kompleksam. Tikai 1% no konstatētām miģelēm bija cita u sugu miģeles, kas nav vīrusa vektori. Līdzīgi novērojumi ir veikti arī Polijā, kur 70% no ievāktām miģelēm tika noteiktas kā *Culicoides obsoletus* (*Obsoletus* sugu komplekss), bet 29.6% - *C. punctatus* (*Pulicaris* sugu komplekss) (6). *C. imicola* Latvijā līdz šim nav konstatēta nevienā no ievāktiem paraugiem.

2007. gadā aktīvi lidojošas miģeles tika novērotas līdz pat novembra beigām, kad ārpus kūtim jau bija sniegs un nakts vidējā temperatūra bija samazinājusies pat līdz  $-5^{\circ}\text{C}$ . Savukārt 2008. gadā pirmās miģeles tika novērotas jau marta beigās, kad vietām Latvijā vēl bija sniegs un nakts temperatūra bija zemāka par  $0^{\circ}\text{C}$ . Miģeļu lidošanas aktivitātes maksimums tika novērots maija beigās, jūnija sākumā un augustā (3. attēls). Iespējams, ka mainoties konkrētā gada klimatiskajiem apstākļiem, šie maksimumi var būt nobīdīti laikā. Spānijā *C. obsoletus* maksimums tika novērots jūlijā, bet jau augustā šo miģeļu skaits bija ievērojami samazinājies (4). Savukārt Šveicē miģeļu aktivitātes maksimumi novēroti jūlijā (*C. obsoletus*) un septembrī (*C. imicola*) (1).



3. attēls. Citu kukaiņu un miģeļu sezonālā dinamika

Figure 3. Other insects and midges seasonal dynamic



Latvijā periods bez aktīvi lidojošām miģelēm ilga aptuveni četrus mēnešus – apmēram no novembra beigām līdz marta vidum. Ja laika periods, kurā nesastop pieaugušās miģeles ir garāks par virērijas ilgumu rudens sezonā inficētajiem atgremotājiem (govīm, aitām), tad no jauna attīstījušās miģeles nevar inficēties ar vīrusu un tā attīstība tiek pārtraukta. Zilās mēles slimības vīruss aitās var saglabāties vairāk kā 50 dienas, liellopos – vairāk kā 100 dienas (5). Tātad Latvija var būt potenciāls vīrusa izplatīšanās reģions, jo silto ziemu dēļ periods bez pieaugušām miģelēm var būt nepietiekoši ilgs, lai pārtrauktu vīrusa attīstību un izplatību.

### **SECINĀJUMI**

1. Latvijā konstatētas *Obsoletus* un *Pulicaris* sugu kompleksu miģeles, kas ir potenciālie zilās mēles vīrusa pārnesēji.
2. Miģeļu lidošanas aktivitāte novērota no marta līdz novembrim ar maksimumu maija beigās un jūnija sākumā un augustā.

### **LITERATŪRAS SARAKSTS:**

1. Cagienard A., Dall'Acqua F., Thur B., Mellor P.S., Denison E., Griot C., Stark K.D.C. 2004. Bluetongue surveillance in Switzerland in 2003: a serological and entomological survey. *Vet. Ital.*, 40(3): 133-136.
2. Goffredo M., Meiswinkel R. 2004. Entomological surveillance of bluetongue in Italy: method of capture, catch analysis and identification of *Culicoides* biting midges. *Vet. Ital.*, 40(3): 260-265.
3. Mellor P.S. 1996. *Culicoides*: vectors, climate change and disease risk. *Vet. Bull.*, 1996. 66: 301-306.
4. Miranda M.A., Rincon C., Borrás D. 2004. Seasonal abundance of *Culicoides imicola* and *C. obsoletus* in the Balearic Islands. *Vet. Ital.*, 40(3): 292-295.
5. Takamatsu H.H., Mellor P.S., Mertens P.C.C. 2004. A potential overwintering mechanism for bluetongue virus – recent findings. *Vet. Ital.*, 40(3): 456-461.
6. Zmudzinski J.F., Orłowska A., Smreczak M., Trebas P., Wijaszka T., Lechowski L., Chobotow J. 2008. Distribution of *Culicoides* species in Poland. *Bluetongue Satellite Symposium. Abstract book*, 46 pp.

# BRIEŽU UN LIELLOPU METABOLISKO PROCESU UN GAĻAS KVALITĀTES IZPĒTE UN SALĪDZINĀJUMS INVESTIGATION AND COMPARISON OF DEER AND CATTLE CROSSES BEEF METABOLIC PROCESS AND MEAT QUALITY

**A. Jemeljanovs, D. Paeglītis, I. Jansons, D. Ikauniece, B. Lujāne**

LLU „Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra”

Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra” LUA

[sigra@lis.lv](mailto:sigra@lis.lv)

## ABSTRACT

Deer farming is quite a new animal husbandry branch developed in Latvia from the year 1994. The aim and tasks of the investigation were to find out deer (*Cervus elaphus*) blood and meat biochemical indices, to evaluate the diet value by investigations of amino acids content and to compare it with beef of cross LB x HE (Latvian brown and Hereford). The biochemical analyses of deer and beef of cross LB x HE (*m.longissimus lumborum*) samples were carried out. Blood biochemical samples were detected by Hymalyser 2000-bicromatic photometr System. Amino acids content was detected by Hight pressure liquid chromatograph (HPLC), and intramuscular fat - by Soxlet methods.

Deer and beef blood biochemical parameters did not exceed physiological norms. The obtained results indicated that deer meat contained higher level of essential amino acids lysine by 6.3%, threonine by 11.0%, valine by 14.1%, methionine by 2.5%, isoleucine by 9.7%, leucine by 13.1%, phenylalanine by 10.7% than beef of LB x HE cross. Most of nonessential amino acids of deer meat had increased contents in comparison with beef. Intramuscular fat content in deer meat was by 0.4% less than in beef. It can be concluded from obtained results that deer meat is more dietetic than beef.

**KEY WORDS:** deer, beef, blood biochemical parameters, meat

## IEVADS

Latvijā briežkopība ir jauna netradicionāla lauksaimniecības nozare, kas strauji attīstās. Patreiz Latvijā ir ap 6000 briežu dzimtas dzīvnieki, kas izvietoti 50 briežu dārzos Pēc Valsts aģentūras Lauksaimniecības datu centrs ziņām uz 2007. gada 1. janvāri Latvijā pārraudzībā bija 1047 staltbrieži 8 ganāmpulkos un 316 dambrieži 4 ganāmpulkos. Latvijā apzināta briežu audzēšana notiek kopš 1994. gada. To koordinē Savvaļas dzīvnieku audzētāju asociācija (SDAA).

Strauji ir pieaugusi interese par briežu gaļu. Kā uzrāda literatūras dati, briežu gaļa ir diētiska, ar augstu proteīna līmeni, optimālu muskuļaudu un taukaudu attiecību, augstu minerālvielu saturu, zemu holesterīna līmeni, ir iespējams, ka brieža gaļas lietošana uzturā par 40 % samazina risku saslimt ar onkoloģiskām un par 30 % ar sirds slimībām ([www.Brieži\Medibas\\_lv.mht](http://www.Brieži\Medibas_lv.mht)). Brieža gaļa neizraisa alerģiskas reakcijas. Gaļa nepieciešama aterosklerozes profilaksei, un to rekomendē cukura diabēta slimniekiem.

Gaļas uzturvērtību lielā mērā nosaka neaizvietojamu aminoskābju valīna, leicīna, izoleicīna, treonīna, metionīna, fenilalanīna, lizīna, histidīna, triptofāna klātbūtne. Neaizvietojamu aminoskābju daudzums ir augstāks briežu gaļā, salīdzinot ar liellopu gaļu (Jemeljanovs u.c., 2000).

Pēc LLU ZI "Sigra" pētījumu datiem briežu gaļai, salīdzinot ar LB govju gaļu ir labāka neaizvietojamu un aizvietojamu aminoskābju summas attiecība atbilstoši 0.63 un 0.61 (Jemeljanovs u.c., 2000).

Mūsu pētījumu mērķis: bija izvērtēt staltbriežu (*Cervus elaphus*) metaboliskos procesus un gaļas kvalitātes rādītājus un salīdzināt tos ar Latvijas brūnās x Herefordas krustojumu liellopu rādītājiem.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Lai spriestu par metaboliskiem procesiem dzīvnieka organismā jāizvērtē to asins bioķīmiskie rādītāji. Jāņem vērā, ka briežiem asins bioķīmiskos rādītājus ietekmē ēdināšana, turēšana, fizioloģiskais stāvoklis, kā arī ķīmiskā imobilizācija ( Bubenik,1982 ).

Asinis analīzēm tika ņemtas 14 (9 briežu bulljiem, 5 briežu mātēm) 18-20 mēnešus veciem klīniski veselīgiem staltbriežiem (*Cervus elaphus*). Vidējais dzīvsvars bija 130 kg. Paraugi tika noņemti Latvijas briežu dārzos 2008. gada februāra, marta mēnešos. Dzīvnieki tika imobilizēti, pielietojot ketamīnu, ksilozīnu (1:1,25), deva – 0,6-1ml., kā arī atšaujot.

Desmit LB x HE (Latvijas brūnā x Herefordas) šķirņu krustojuma 12 mēnešus veciem liellopiem asinis ņemām februārī un martā vienā no Cēsu rajona zemnieku saimniecībām. Visi dzīvnieki bija klīniski veseli, ar vidējo dzīvsvaru 320 kg. Pēc Latvijas datu centra datiem šo šķirņu krustojumu dzīvnieki ir plaši izplatīti Latvijā. ZI "Sigra" pētījumi uzrāda, ka šo šķirņu krustojumu dzīvniekiem ir vieni no labākajiem gaļas bioķīmiskajiem rādītājiem (Jemeljanovs u.c., 2006).

Asinis bioķīmiskajiem izmeklējumiem tika ņemtas bioloģiskajos stobriņos, kā arī stobriņos ar antikoagulantu EDTA.

Asins serumā briežiem un liellopiem pētījām ALAT, ASAT, GGT, proteīnu, albumīnus, Ca, P, bilirubīnu, holesterīnu, glikozi un triglicerīdus noteicām ar bioķīmisko analizatoru Hymalyser 2000-bicromatic photometr System.

Lai noteiktu gaļas uzturvērtību un tās bioķīmisko sastāvu, tika ņemti (*m. longissimus lumborum*) muskuļaudu paraugi. Aminoskābju saturu noteicām ar Hight pressure liquid chromatograph HPLC analizatoru, intramuskulāros taukus ar Sokslet metodi. Datu apstrādei izmantojām statistikas metode – Mann-Whitney U testu. Izvērtējot iegūtos datus, aprēķinājām vidējos rādītājus un standartnovirzi.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Par metabolisko procesu norises gaitu dzīvnieku organismā liecina to asins bioķīmiskie rādītāji. Pēc šo rādītāju izmaiņām var spriest par dzīvnieka veselības stāvokli kopumā.

1. tabula / Table 1

**Latvijas brūnās x Herefordas (LB x HE) liellopu asins bioķīmiskie rādītāji**  
**Beef Latvian brown x Hereford (LB x HE) blood biochemical indices**

Bioķīmiskie rādītāji/ biochemical indices	Liellopi (LBxHE)	*
	Beef (LBxHE)	
ALAT, U/l	14.6 ± 0.83	21.1
ASAT, U/l	56.1 ± 2	77.75
GGT, U/l	13.4 ± 2.23	8.45
Proteīns / protein, g/L	37.6 ± 1.64	71.9
Albumīni / albumin , g/L	22.88 ± 0.96	33.45
Ca / calcium, mmol/l	1.96 ± 0.09	2.45
P / Phosphorus, mmol/l	2.33 ± 0.05	2.0
Bilirubīns / bilirubin μmol/l	6.76 ± 1.25	7.35
Holesterīns /cholesterol mmol/l	3.73 ± 0.45	3.3
Glikoze / glucose, mmol/l	2.76 ± 1.75	3.2
Triglicerīdi / triglycerides, mmol/l	0.36 ± 0.09	0.4

\* International Species information System Physiological Reference Values-American Units

Analizējot bioķīmiskos rādītājus asins serumā liellopiem (skat.1.tabulu), redzam, ka gandrīz visi rādītāji atbilst fizioloģiskajām normām, izņemot proteīnu, kura līmenis bija ievērojami zemāks par normu. Kā zināms, jaundzīvniekiem seruma proteīna daudzums ir mazāks kā pieaugušiem dzīvniekiem. Mūsu izmēģinājumā iekļautie dzīvnieki bija 12 mēnešus veci, kas norāda, ka ir samazināta proteīna sintēze, ko varētu pieņemt kā sekas nesabalansētai ēdināšanai.

2.tabula / Table 2

**Briežu (*Cervus elaphus*) asins bioķīmiskie rādītāji**  
**Deer (*Cervus elaphus*) blood biochemical indices**

Bioķīmiskie rādītāji/ biochemical indices	Briežu buļļi / deer buck	Briežu mātes / deer hind	*
ALAT, U/l	60.6 ± 13.6	55.3 ± 17.7	39
ASAT, U/l	104.8 ± 40.1	100.9 ± 34.8	67
GGT, U/l	75.5 ± 62.2	56.7 ± 42.9	44
Proteīns / protein, g/L	74.2 ± 12.9	85.2 ± 4.0	60
Albumīni / albumin, g/L	43.1 ± 6.8	45.1 ± 2.9	30
Ca / calcium, mmol/l	2.24 ± 0.5	1.75 ± 0	2.25
P / Phosphorus, mmol/l	3.55 ± 1.29	2.90 ± 1.61	2.26
Bilirubīns / bilirubin, μmol/l	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.6
Holesterīns /cholesterol, mmol/l	1.48 ± 0,28	1.95 ± 0.49	1.53
Glikoze / glucose, mmol/l	4.62 ± 3.68	3.30 ± 1.48	8.96
Triglicerīdi / triglycerides, mmol/l	0.66 ± 0.33	0.64 ± 0.22	0.24

\*International Species information System Physiological Reference Values-American Units (<http://www.isis.org>)

Salīdzinot mūsu pētījumā briežu asins serumā iegūtos datus (2.tabula) pa atsevišķiem asins bioķīmiskajiem parametriem ar tādiem pašiem Wilson un Pauli (1983) iegūtajiem, mūsu dati ievērojami atšķirās. Mūsu pētījumos glikozes līmenis briežu mātēm asinīs bija 3.30 mmol/l un 4.62 mmol/l - briežu buļļiem, turpretī pēc minēto autoru datiem glikozes līmenis briežiem bija 6.9 mmol/l. Savukārt citi autori (Poljičak – Milas et.al., 2006) atklāja albumīna līmeņa atšķirības starp briežu dzimumiem – albumīna līmenis asins serumā briežu mātēm bija augstāks. Šie dati atbilst arī mūsu pētījumā konstatētajam albumīna līmenim asinīs briežu mātēm.

Salīdzinot iegūtos rezultātus ar datu bāzes (<http://www.isis.org>) atsevišķiem parametriem, kas raksturo to līmeni briežu asins serumā, jāsecina, ka kalcija, fosfora, bilirubīna un holesterīna līmeņi bija līdzīgi. Pārējie mūsu noteiktie parametri bija augstāki, izņemot glikozi, kuras līmenis bija zemāks, salīdzinot ar datu bāzi.

Izvērtējot bioķīmiskos rādītājus liellopiem un briežiem, redzamas ievērojamas atšķirības – visi rādītāji, izņemot bilirubīnu un holesterīnu, briežiem bija augstāki, nekā Latvijas brūnās x Herefordas šķirņu krustojuma dzīvniekiem.

Veicot iegūto rezultātu salīdzināšanu, rodas zināmas grūtības, jo literatūrā pieejamie dati atbilst dažādu šķirņu briežiem atšķirīgos reģionos un apstākļos. Dzīvniekiem bija atšķirīgi ēdināšanas un turēšanas apstākļi, kas jāņem vērā, salīdzinot briežu un liellopu asins bioķīmiskos rādītājus. Mūsu pētījumos iegūtie asins bioķīmiskie rādītāji liecina par Latvijā audzētu briežu normālu fizioloģisko procesu norisi.

Turpmākos pētījumos izvērtējam staltbriežu un Latvijas brūnās x Herefordas krustojuma liellopu muskuļaudu kopproteīnu, tā ķīmisko sastāvu un intramuskulāro tauku saturu. Literatūras dati uzrāda, ka briežu muskuļaudi ir ar augstu proteīna saturu 23.7 % ([www.fhfh.org/chapter-rs/Food-Banks/Venison%](http://www.fhfh.org/chapter-rs/Food-Banks/Venison%)). Mūsu pētījumi rāda, ka kopproteīna saturs staltbriežu muskuļaudos bija 23.5%, krustojuma liellopiem tas bija 21.1 %, vai attiecīgi par 1.4% zemāks. Tas norāda uz staltbriežu muskuļaudu augstāku diētisko vērtību. Muskuļaudu

paraugos visas pētītās aminoskābes (3. tabula) uzrādīja, ka briežiem ir augstāks lizīna saturs par 6.3 %, arginīns 13.8 %, asparģīnskābe 15.6 % ( $p<0.05$ ), glicīns 5.8 %, alanīns 12.1 %, valīns 14.1 % ( $p<0.05$ ), metionīns 2.5 %, treonīns 11.0 %, serīns 13.2 %, glutamīnskābe 13.0 %, prolīns 9.3 %, izoleicīns 9.7 %, leicīns 13.1 %, tirozīns 30.1 % ( $p<0.05$ ), fenilalanīns 10.7 %, izņemot histidīnu, kas bija par 34,7 % zemāks, kā Latvijas brūnās x Herefordas šķirnes krustojumu liellopiem.

3. tabula / Table 3

**Aminoskābju saturs briežu un liellopu (LBxHE) gaļā, g**  
**Aminoacids content in deer and beef (LBxHE) meat, g**

Rādītāji Traits	Brieži Deer	Liellopi (LBxHE) Beef (LBxHE)
Lizīns / Lysine, g	2.19±0.07	2.05±0.06
Histidīns / Histidine, g	0.23±0.14	0.31±0.22
Arginīns / Arginine, g	0.94±0.06	0.81±0.03
Asparģīnskābe / Aspartic acid, g	2.04±0.16	1.72±0.10
Glicīns / Glicine, g	1.2±0.05	1.13±0.03
Alanīns / Alanine, g	1.73±0.06	1.52±0.02
Valīns / Valine, g	1.13±0.20	0.97±0.06
Metionīns / Methionine, g	0.4±0.04	0.39±0.01
Treonīns / Treonine, g	1.0±0.03	0.89±0.15
Serīns / Serine, g	0.98±0.10	0.85±0.04
Glutamīnskābe / Glutamic acid, g	3.14±0.08	2.73±0.04
Prolīns / Proline, g	0.86±0.005	0.78±0.01
Izoleicīns / Isoleicine, g	0.92±0.04	0.83±0.05
Leicīns / Leicine, g	1.53±0.10	1.33±0.02
Tirozīns / Thyrosine, g	0.53±0.08	0.37±0.07
Fenilalanīns / Phenylalanine, g	0.68±0.07	0.53±0.08

Izvērtējot intramuskulāro tauku saturu muskuļaudu paraugos augstāku to saturu uzrādīja liellopu muskuļaudi, briežu muskuļaudos tas bija 2.7 %, liellopu gaļā 3.1 %. Literatūras dati rāda, ka intramuskulāro tauku daudzums vidēji liellopiem Lielbritānijā bija 6.5 % un briežiem 1.4 % ([\).](http://www.fhfh.org/chapter-rs/Food-Banks/Venison%)

No iepriekš minētā izriet, ka briežu gaļa, salīdzinot ar Latvijas brūnās x Herefordas krustojuma liellopu gaļu, satur augstāku aminoskābju daudzumu un optimālākas to attiecības, kas liecina par tās labāku uzturvērtību un iespējām nodrošināt gaļas patērētājus ar augstvērtīgu produktu.

**SECINĀJUMI**

1. Latvijas brūnās x Herefordas šķirnes krustojumu liellopiem asins bioķīmiskie rādītāji, kā arī analogi rādītāji briežiem liecina par normālu metabolisko procesu norisi dzīvnieku organismos.

2. Briežu muskuļaudi ir ar augstāku kopproteīna saturu, optimālāku aminoskābju daudzumu un zemāku intramuskulāro tauku līmeni līdz ar to tā ir ar augstāku diētisko vērtību.

**LITERATŪRA**

1. Bubenic, G., A. 1982. Chemical immobilization of captive white-tailed deer. In: Immobilization of North American wildlife. Wisconsin Humane Society, Inc., Milwaukee WI, USA, pp.334-354.

2. Jemeljanovs, A., Mičulis, J., Nudiens, J., Šerna, V., Lujāne B. Comparison of cattle breeds in connection with beef quality. Proceeding of the 12th Baltic animal breeding conference Jurmala, Latvia 2006. 57-69.
3. Jemeljanovs, A., Mičulis, J., Skriba, G.. Latvijā mītošo briežu (*Cervus Elaphus* L.) asins bioķīmiskie rādītāji un augšanas parametru dinamika. Lopkopības produktu nekaitīgums un kontroles metodes. Starptautiskās konferences materiāli, Sigulda 2000. 141-152.
4. Poljičak-Milas, N., Slavica N., A., Janicki, Z., Marenjak, T., S., Količ, E.. Comparison of serum biochemical parameters between red (*Cervus elaphus*) and fallow deer (*Dama dama*) in Moslavina Region of Croatia. 2006. Vet. arhiv, 76 (Suppl.), 229-238.
5. Wilson, P.R., Pauli, J., V. Blood constituents of farmed red deer (*Cervus elaphus*). II: biochemical values. N.Z.Vet.J. 1983. v.31 (1-2), 1-3.
6. [http:// www.Brieži\Medibas\\_lv.mht](http://www.Brieži\Medibas_lv.mht)
- 7 <http://www.isis.org>
8. [www.fhfh.org/chapter-rs/Food-Banks/Venison%](http://www.fhfh.org/chapter-rs/Food-Banks/Venison%20)

# GOVJU PIENA PRODUKTIVITĀTES LĪMEŅA IETEKME UZ STARPATNEŠANĀS PERIODA ILGUMU INFLUENCE OF COWS MILK PRODUCTIVITY LEVEL ON CALVING INTERVAL

**Jonkus Daina, Kairiša Daina**

LLU Lauksaimniecības fakultāte, Agrobiotehnoloģijas institūts, Latvija

Institute of Agrobiotechnology, Faculty of Agriculture LUA, Latvia

[Daina.Jonkus@llu.lv](mailto:Daina.Jonkus@llu.lv)

## ABSTRACT

The aim of the investigation was to analyse the influence of cows milk productivity on the length of the calving interval (CI) in dairy cows on the teaching and research farm "Vecauce" of Latvian University of Agriculture, and to find out the optimum calving interval in cows of different productivity level. During the period of time from 2002 to 2007 974 cows were examined. The average age of cows was 2.6 lactations, and the average milk yield was 5489.2 kg per lactation with fat content 4.36 % and protein content 3.26 % that made 5667.1 kg of energy corrected milk (ECM). Milk productivity influenced the CI. In cows with 800 kg milk yield, a longer CI was observed, namely 503.6 days, while in cows with 5000 kg of milk yield CI was 369.9 ( $p < 0.05$ ). In cows with the highest productivity level, the service period was longer – 221.9 days, and the number of insemination times were more (3.9) than in cows with a lower productivity level ( $p < 0.05$ ). Evaluating indices of reproduction and productivity, it was stated that there is a positive correlation between ECM and IC ( $r = 0.613$ ) as well as ECM and service period ( $r = 0.612$ ,  $p < 0.01$ ). The highest productivity of one IC day (24.9 kg) was in cows with IC up to 365 days.

**KEY WORDS:** cows, milk productivity, calving interval

## IEVADS

Pēdējo 20 gadu laikā, pateicoties efektīvām selekcijas programmām, uzlabotiem ēdināšanas un saimniekošanas pasākumiem, slaucamo govju piena produktivitāte ir ievērojami palielinājusies. Kāpinot govju produktivitāti, piensaimnieki pasaulē un arī Latvijā sastopas ar govju atražošanas problēmām.

Galvenais racionālas saimniekošanas rādītājs ir iegūtās naudas daudzums no govju gadā, nevis laktācijā. Tādēļ svarīgi ir arī ganāmpulka atražošanas rādītāji: cik ātri govju apaugļojas. Vācu zinātnieks Gossens (2003) noskaidrojis, ka govju bezgrūsnības periods līdz 85 dienām ir izdevīgs, bet katra nākamā diena nes 2.50 eiro zaudējumus.

**Pētījuma mērķis:** analizēt govju piena produktivitātes ietekmi uz starpatnešanās perioda ilgumu un noskaidrot dažāda produktivitātes līmeņa govju optimālo starpatnešanās perioda ilgumu.

## MATERIĀLS UN METODES

Pētījumam izmantojām LLU MPS „Vecauce” dažāda vecuma Latvijas brūnās šķirnes govju produktivitātes un atražošanas rādītājus. Govju atnesušās laika posmā no 2002. līdz 2007. pārraudzības gadam. Datu bāzes veidošanai izmantojām v/a „Lauksaimniecības datu centrs” (LDC) un MPS „Vecauce” pārraudzības informāciju par 2559 noslēgtām laktācijām.

Lai analizētu piena produktivitātes līmeņa ietekmi uz govju starpatnešanās perioda (SAP) ilgumu apvienojām izslaukumu, tauku un olbaltumvielu satura rādītājus enerģētiski koriģētā piena daudzumā (EKP), izmantojot šādu formulu:

$$EKP = izslaukums * \frac{[(0.383 * tauku, \%) + (0.242 * olbaltumvielu, \%) + 0.7832]}{3.14}$$

Pētījumu veicām pēc 1. tabulā dotās shēmas.

1. tabula/ Table 1

**Pētījuma shēma / Research scheme**

Grupa / Group	EKP / ECM , kg	n
1.	Līdz 5000	1091
2.	5001 - 6500	754
3.	6501 - 8000	426
4.	8001 un >	288

No govju atražošanas rādītājiem analizējām: starpatnešanās periodu (SAP), serviss periodu un cietstāves periodu dienās, kā arī apsēklošanas reižu skaitu.

Lai analizētu EKP daudzumu vienā laktācijas dienā, sagrupējām noslēgtās laktācijas četrās SAP grupās: 1.- līdz 365 dienām, 2. - 366 - 400, 3.- 401 - 435 , bet 4.- 436 - un vairāk dienas.

Iegūto datu analizē izmantojām aprakstošās statistikas rādītājus – vidējo aritmētisko un vidējā aritmētiskā reprezentācijas kļūdu (standartkļūdu). Lai noteiktu sakarību ciešumu starp izslaukumu (x pazīme) un atražošanas rādītājiem (y pazīme) izmantojām korelācijas analīzi.

**REZULTĀTI UN DISKUSIJA**

LLU MPS „Vecauce” govju ganāmpulkā laika periodā no 2002. – 2007. gadam izmantotas 974 govīs. Vidējais vecums bija 2.6 laktācijas, bet vidējais izslaukums laktācijā - 5489.2 kg piena ar tauku saturu 4.36% un olbaltumvielu saturu 3.26%, kas deva 5667.1 kg EKP. Izslaukumam vērojama liela mainība (S% = 26.7), par ko liecina arī minimālais un maksimālais izslaukums pētījuma laikā (2067 un 15069 kg).

Analizējot dažādu produktivitātes līmeņu govju starpatnešanās perioda ilgumu noskaidrojām, ka palielinoties govīs produktivitātei attiecīgi palielinās arī SAP (2. tabula).

2. tabula / Table 2

**Pētījuma grupas govju vidējie atražošanas rādītāji**  
**Average reproductive indices**

Grupa / Group	EKP, kg / ECM, kg	n	SAP, dienas / Calving interval, days	Servis periods, dienas / Service interval, days	Apsēklošanas reizes / Insemination index	Cietstāve, dienas / Dry period, days
1.	Līdz 5000	1091	369.9±1.21 <sup>a</sup>	73.4±1.67 <sup>a</sup>	1.6±0.04 <sup>a</sup>	74.3±0.87 <sup>a</sup>
2.	5001-6500	754	402.2±1.96 <sup>b</sup>	107.9±2.31 <sup>b</sup>	2.2±0.06 <sup>b</sup>	74.9±1.12 <sup>ab</sup>
3.	6501-8000	426	430.5±3.73 <sup>c</sup>	142.9±3.79 <sup>c</sup>	2.6±0.09 <sup>c</sup>	79.4±1.56 <sup>b</sup>
4.	8001 un >	288	503.6±5.69 <sup>d</sup>	221.9±5.83 <sup>d</sup>	3.9±0.19 <sup>d</sup>	88.7±2.13 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> - atražošanas rādītāji ar dažādiem augšrakstiem būtiski atšķiras dažāda produktivitātes līmeņa govīm (p<0.05)



Pirmajā produktivitātes grupā govju SAP bija 369.9 dienas, kas atbilst vairāku autoru literatūrā norādītajam optimālajam SAP garumam no 365 līdz 385 dienām (Smith, 1994, Opsomer, 1996). Savukārt ceturtajā augstproduktīvo govju grupā SAP sasniedza vidēji 503.6 dienas.

Starpatnešanās perioda ilgums ir tieši saistīts ar govju bezgrūsnības, jeb servisa perioda ilgumu. Pētījumā noskaidrojām, ka pieaugot govju produktivitātei palielinās arī bezgrūsnības dienu skaits laktācijā. Pie zemākā produktivitātes līmeņa novērojām trīs reizes īsāku bezgrūsnības laiku, kā pie augstākā, attiecīgi 73.4 un 221.9 dienas. No tā var secināt, ka pieaugot piena produktivitātei ir vērojamas govju apsēklošanas un jaunas grūsnības iestāšanās problēmas.

Pēc atnešanās, vidēji līdz 10, 12 laktācijas nedēļai, govīm bieži novēro negatīvu enerģijas bilanci starp barības uzņemšanas spēju un enerģijas patēriņu uzturei un piena ražošanai. Šajā laikā govīm vērojami strauji ķermeņa masas zudumi, līdz ar to pirmā meklēšanās reize var aizkavēties (Butler un Smith, 1989; Gillund u.c., 2000, Osītis, 2005). Apsēkojot vairākus tūkstošus ganāmpulku, zinātnieki noskaidrojuši, ka govīm ar izslaukumu robežās no 6300 kg līdz 6800 kg ar pirmo sēklošanas reizi grūsnība iestājas 52%, bet ar izslaukumu virs 10.000 kg tikai 38% gadījumos (Nebel, McGilliard, 1993). Noskaidrots (Dori, 1986), ka ticamāks rezultāts ir apsēklošanai starp 60 – 100 dienu pēc atnešanās. Pagarinoties bezgrūsnības periodam, pagarināsies arī laktācija un palielināsies iegūtais piena daudzums laktācijā. Tomēr dienas vidējais izslaukums laktācijā būs mazāks. Regulāri pagarinot bezgrūsnības periodu, iegūto teļu skaits govju mūžā samazināsies. Ekonomiski izdevīgs un dzīvnieku dabiskam vairošanās ritmam atbilstošs ir bezgrūsnības periods no 80 – 85 dienām (Jähne, 1985; Lotthammer, 1994). Latvijā 2007. gadā pārraudzībā esošo govju vidējais servisa periods bija 131 diena, kas ievērojami pārsniedz vēlamo.

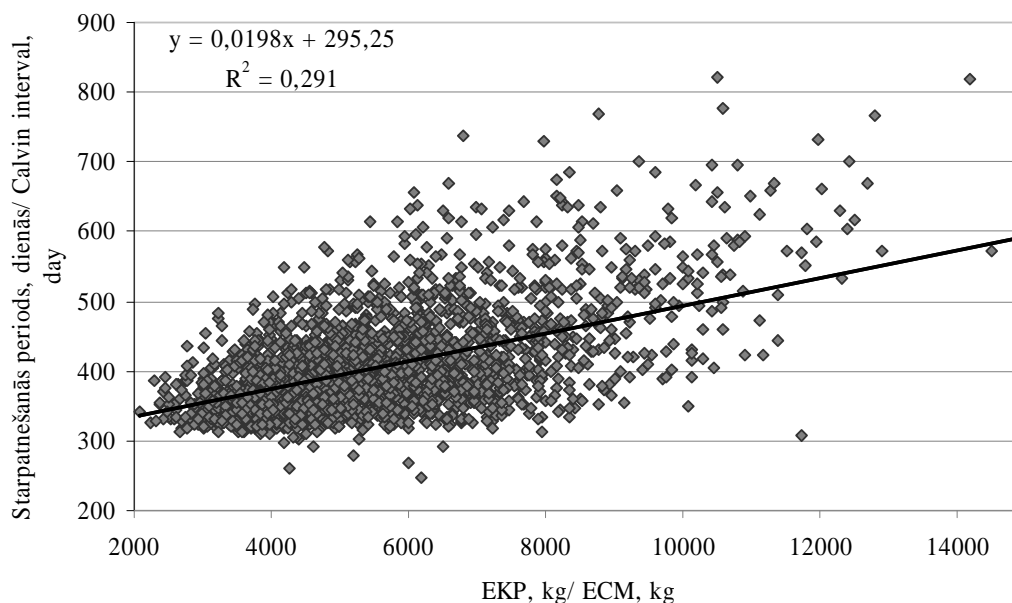
Noskaidrojām, ka palielinoties govju EKP līmenim laktācijā, attiecīgi pieaug arī sēklošanas reižu skaits. Pētījuma govīm ar izslaukuma līmeni līdz 5000 kg vidējais apsēklošanas reižu skaits bija 1.6 reizes. Savukārt govīm ar produktivitātes līmeni virs 8001 kg, vidējais apsēklošanas reižu skaits bija 3.9.

Pētījumā iegūtie atražošanas rādītāji būtiski atšķīrās ( $p < 0.05$ ) govīm ar dažādu produktivitātes līmeni laktācijā. Līdzīgi secinājumi izdarīti arī citu autoru (Platen et al. 1995, Markusfeld et al. 1997, Arbel et al. 2001) darbos.

Novērojām, ka starp EKP daudzumu laktācijā un SAP pastāv pozitīva sakarība, par ko liecina EKP un atražošanas rādītāju pozitīvie, statistiski nozīmīgie korelācijas koeficienti (1. attēls). Tā starp EKP un SAP bija vidēji cieša sakarība  $r = 0.613$ , tāpat kā starp EKP un servisa periodu  $r = 0.612$ . Starp EKP un apsēklošanas reižu skaitu  $r = 0.425$  ( $p < 0.01$ ).

Sakarību starp izslaukumu ( $x$  pazīme) un SAP ( $y$  pazīme), var raksturot ar sekojošu regresijas līknes vienādojumu:  $y = 0.0201x + 294.1$  (1. attēls). Regresijas koeficients  $y = 0.0201$  rāda, ka laktācijas produktivitātei, pieaugot par 500 kg, SAP pagarināsies par 10.05 dienām.

Ārzemju autoru pētījumi pierādījuši, ka SAP 365 dienas ir ne tikai govju fizioloģisko procesu norises, bet arī govju ekonomiskā izdevīguma rādītājs, kas saistīts ar piena ražošanu, dzīvnieku barošanu, turēšanu u.c. (Washburn, 2005). Galvenie ienākumi piena lopkopībā ir no pārstrādei pārdotā piena daudzuma, tā sastāva un iegūtā teļa.



1. att. **Enerģētiski koriģētā piena un starpatnešanās perioda sakarība**  
 Figure 1. **Correlation between energy corrected milk and calving interval**

Aprēķinot vidējo EKP daudzumu un SAP ilgumu noslēgtās laktācijās (3. tabula) redzams, ka īsākais starpatnešanās periods - 340.4 dienas bija 75 laktācijām, kurās vidēji ieguva 6963.2 kg EKP.

3. tabula/ Table 3

**Vidējais EKP piena daudzums un SAP dažādu izslaukuma grupu govīm**  
**Average amount of ECM and calving interval of different cow groups**

Produktivitātes līmenis/ Productivity level, kg											
Līdz 5000			5001 – 6500			6501 - 8000			8001 un >		
EKP/ ECM	SAP/ CI	n	EKP/ ECM	SAP/ CI	n	EKP/ ECM	SAP/ CI	n	EKP/ ECM	SAP/ CI	n
4108.3	342.6	609	5499.5	346.6	216	6963.2	340.4	75	8699.8	350.1	14
4232.5	380.2	272	5587.3	381.9	207	6980.9	381.4	104	8629.1	384.7	21
4301.6	414.8	128	5552.4	417	142	6983.6	415.9	69	8948.3	421.2	45
4383.5	468.1	82	5740.5	476.2	189	7006.5	502.9	178	9343.7	503.6	288

Produktivitātes grupā ar EKP virs 8001 kg SAP bija par 9.7 dienām garāks, kā trešajā produktivitātes grupā. Pie kam šajās laktācijās ieguva arī par 1736.6 kg vairāk EKP.

Garāko (503.6 dienas) starpatnešanās periodu novērojām 288 noslēgtām laktācijām, kurās vidējā produktivitāte bija 9343.7 kg EKP.

Pagarinoties SAP intervālam atbilstoši pagarinās arī laktācija un palielinās laktācijā iegūtais piena daudzums, tomēr pārrēķinot izslaukumu uz vienu laktācijas dienu vidēji tas bija mazāks kā saīsināta SAP gadījumā (4. tabula).

Augstākā vidējā produktivitāte diennaktī visos produktivitātes līmeņos novērota govīm, kurām starpatnešanās intervāls bija līdz 365 dienām (no 12.0 līdz 24.9 kg), savukārt zemākais šis rādītājs bija pie SAP virs 436 dienām (no 9.4 līdz 17.6 kg).

**Diennakts izslaukums atkarībā no dažāda produktivitātes līmeņa un SAP  
Daily milk productivity depending on the level of productivity and calving  
interval**

SAP/ CI	Produktivitātes līmenis/ Productivity level, kg			
	Līdz 5000	5001 – 6500	6501 - 8000	8001 un >
Līdz 365	12.0	15.9	20.5	24.9
366-400	11.1	14.6	18.3	22.4
401-435	10.4	13.3	16.8	21.2
436 un >	9.4	12.1	13.9	17.6
+/- ar optimālo	-2.6	-3.8	-6.6	-7.3

Mazāko produktivitātes starpību diennaktī starp optimālo 365 dienu SAP un garāko SAP novērojām govīm produktivitātes grupā līdz 5000 kg, samazinājums bija tikai 2.6 kg. Savukārt lielāko produktivitātes starpību diennaktī starp īsāko un garāko SAP novērojām govīm ar augstāko produktivitātes līmeni laktācijā – mīnus 7.3 kg.

### SECINĀJUMI

1. Piena produktivitātes līmenis noslēgtā laktācijā ietekmēja starpatnešanās perioda ilgumu. Govīm ar laktācijas produktivitāti virs 8000 kg, novērojām būtiski garāku SAP periodu 503.6 dienas, kā govīm ar laktācijas produktivitāti līdz 5000 kg – 369.9 ( $p < 0.05$ ).
2. Govīm ar augstāko produktivitātes līmeni bija būtiski garāks servis periods - 221.9 dienas un lielāks apsēklošanas reižu skaits - 3.9, kā govīm ar zemāku produktivitātes līmeni ( $p < 0.05$ ).
3. Izvērtējot produktivitātes līmeņa sakarības ar atražošanas rādītājiem, konstatējām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp EKP un SAP ( $r = 0.613$ ) un EKP - servis periodu ( $r = 0.612$ ). Minētās korelācijas ir statistiski nozīmīgas ( $p < 0.01$ ).
4. Augstāka produktivitāte laktācijā (9344 kg EKP) vērojama pie pagarināta SAP (503.6 dienas), savukārt augstāko produktivitāti uz vienu SAP dienu (24.9 kg) uzrādīja govīs, kurām SAP bija līdz 365 dienām.

### LITERATŪRA

1. Arbel R., Bigun Y., Ezra E., Sturman H. & Hojman D. (2001). The effect of extended calving intervals in high - yielding lactating cows on milk production and profitability. // Journal of Dairy Science - vol. 84 - P. 600-608.
2. Butler W. R., Smith R. D. (1989) Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. Journal of Dairy Sci Vol. 72, p. 767-783.
3. Dori S. (1986) Feeding and Management- The key to utilising genetic potential. Israel Cattle Breeders Association, Activities, facts and figures. Tel Aviv. P. 19-25.
4. Gillund P., Reksen O., Gröhn Y. J., Karlberg K. (2000) Body condition related to ketosis and reproductive performance in norwegian dairy cows. Journal of Dairy Sci Vol. 84, p. 1340-1396
5. Jähne M., Schwark H. J. (1985) Einflussfaktoren auf Milchleistung und Milchezusammensetzung. Rinderzucht. DLV Berlin. S.155.
6. Lotthammer K. H., Wittkowski G. (1994) Fruchtbarkeit und Gesundheit der Rinder. Verlag E. Ulmer Stuttgart. S. 13-16.
7. Markusfeld O., Galon, N. U., Ezra E. (1997) Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. Vet. Rec. 141, p. 67-72.

8. Nebel R. L., Mcgilliard M. L. (1993) Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Jornal of Dairy Sci* Vol. 76, p. 3257-3268.
9. Osītis U. (2005) Dzīvnieku ēdināšana kompleksā skatījumā. Jelgava: Ozolnieki, 320 lpp.
10. Opsomer, G., P. Mijten, M. Coryn U. A. de Kruif (1996) Post-partum anoestrus in dairy cows: a review. *Vet. Quart.* 18, p. 68-75.
11. Platen M., A. Münnich, E. Lindemann U.M. Krockner (1995) Beziehung zwischen Fruchtbarkeit und Milchleistung bei Hochleistungskühen in den USA. *Tierärztl. Umsch.* 50, s. 815-822.
12. Smith J. The Reproductive Status of your Dairy herd (1994) // <http://www.cahe.nmsu.edu/pubs/skatits> 04.02.2008.]
13. Washburn S. (2005) Using the latest technology to shorten the calving interval. North Carolina State University,

# MORFOLOĢISKĀS IZMAIŅAS TIEVO ZARNU GĻOTĀDĀ ASINOJOŠAS KUŅĢA ČŪLAS EKSPERIMENTĀLĀ MODELĪ THE MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE MUCOSA OF THE SMALL INTESTINE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF BLEADING STOMACH ULCER

**Māra Kalniņa, Olga Koroļova**

Anatomijas un histoloģijas katedra, LU Medicīnas fakultāte, Latvija

Department of Anatomy and Histology, Faculty of Medicine LU, Latvia

[mara.kalnina@lu.lv](mailto:mara.kalnina@lu.lv)

## **ABSTRACT.**

The cytological changes of enterocytes and macrophages in the experimental animals have been examined. The aim of this experiment was to create a situation relative to a clinical case of the chronic bleeding of the human stomach ulcer. Perl's reaction has been used for the detection of iron. The localization of macrophages and the intensity of Perl's positive granules in the enterocytes and the macrophages has been examined. The precise correlation between the deposits of iron in the enterocytes of experimental animals and human was not found.

**KEY WORDS:** iron metabolism, enterocytes, macrophages.

## **IEVADS**

Šī pētījuma mērķis bija eksperimentā ar dzīvniekiem izpētīt citoloģiskas pārmaiņas divpadsmitpirkstu zarnas gļotādas enterocītos un makrofāgos, saistībā ar mākslīgi ievadītām asinīm dzīvnieku gremošanas traktā. Tas tika veikts, lai izvērtētu enterocītu un makrofāgu līdzdalību procesos, kas rodas slimniekiem gremošanas sistēmas asiņošanas gadījumos. Lai sasniegtu šo mērķi, tika analizēts makrofāgu novietojums bārkstīnā, kā arī dzelzs granulū izvietojs un intensitāte bārkstīņu makrofāgos un enterocītos.

## **MATERIĀLS UN METODIKA**

Eksperiments tika veikts ar 22 baltajām laboratorijas žurkām un 8 jūras cūciņām. Visiem laboratorijas dzīvniekiem eksperimenta gaitā veica dažādas darbības, kas modelēja līdzīgu stāvokli, kāds rodas slimniekiem ar asiņojošām kuņģa vai divpadsmitpirkstu zarnas čūlām.

Dzīvnieki tika sadalīti 4 eksperimentālās un 4 kontroles grupās. I eksperimenta grupā 6 laboratorijas žurkām kuņģī ar zondi tika ievadītas ar nātrija citrātu apstrādātas asinis. II grupai - 5 žurkām - 20 dienas deva sabalansētu uzturu, no kura bija izslēgta dzelzs, ar nolūku izsaukt dzelzs deficīta anēmiju, pēc tam kuņģī ar zondi ievadīja ar nātrija citrātu apstrādātas asinis. III grupai - 5 žurkām - arī lai radītu dzelzs deficīta anēmiju, vairākas dienas veica atkārtotu asiņu nolaišanu un pēc tam kuņģī ar zondi ievadīja ar nātrija citrātu apstrādātas asinis. IV grupai - 6 jūras cūciņām - astoņas reizes atkārtoti ievadot 0,5 ml 0,1% histamīna šķīdumu, izsauca akūtu divpadsmitpirkstu zarnas asiņojošu čūlu rašanos.

Laboratorijas žurku kontroles grupām (katrā grupā 2 dzīvnieki) veica tikai antikoagulanta vai arī tikai zondes ievadīšanu. Pēdējai IV dzīvnieku grupai - 2 jūras cūciņām - astoņas reizes atkārtoti ievadot 0,5 ml 0,1% histamīna šķīdumu, tika izsaukta akūta divpadsmitpirkstu zarnas čūlu veidošanās.

Materiāls histoloģiskiem pētījumiem tika ņemts no dzīvnieku divpadsmitpirkstu zarnas sākuma daļas. No tā tika pagatavoti histoloģiskie pārskata preparāti, kā arī veikta Perlsa reakcija trīsvertīgās dzelzs pierādīšanai.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Visās eksperimenta grupās, divpadsmitpirkstu zarnas gļotādas enterocītos vāju pozitīvu Perl's reakciju novēroja, galvenokārt bārktīņu apikālās daļās. Dažādas intensitātes pozitīva Perl's reakcija tika atrasta makrofāgos, kuri arī atradās gļotādas saistaudos bārktīņas apikālā galā.

Makrofāgos visvairāk granulu bija I eksperimentālajā grupā. Vidējas intensitātes reakcija makrofāgos bija vērojama II un III eksperimentālajā grupā. Visās četrās kontrolgrupās Perl's reakcija bija negatīva. Kvantitatīvās Perl's reakcijas vērtēšanas rezultāti atspoguļoti 1.tabulā

Eksperimenta dzīvniekiem bija raksturīgas sīkas, dažāda izmēra, dzelzi saturošas granulas, kas atradās enterocītu citoplazmā virs kodola (1.att.). Granulu izvietojums būtiski atšķīrās no dzelzs novietojuma enterocītos cilvēku tievo zarnu gļotādā, kam novēroja asiņošanu gastrointestinālā traktā (1). Šiem slimniekiem mēs novērojam izteiktus trīsvērtīgās dzelzs sakopojumus enterocītu apikālajos galos – zonā zem mikrobārktīņām (2.att.). Ļoti līdzīgu morfoloģisku ainu novēro slimniekiem ar hemohromatozi (2,3,4). Skaidrojumu šādai parādībai var saistīt ar atradēm literatūrā: transfūzijas siderožu gadījumā dzelzs depozi ir analogi, kā citām dzelzs metabolisma slimībām (5). Bet dzīvnieku tievās zarnas enterocītos dzelzs sakopojumi, iespējams, ir saistīti ar fizioloģiskajiem dzelzs uzsūkšanās procesiem, tā deponēšanos feritīnā un vēlāk sekojošu dzelzs jonu eksportu ar feroportīna palīdzību, lai saistītos ar plazmas transferīnu (6).

Eksperimenta mērķis bija modelēt hroniski asiņojošu čūlu, vienlaikus veidojot dzelzs deficīta anēmiju. Iegūtie rezultāti liecina, ka trīsvērtīgās dzelzs sadalījums dzīvnieku enterocītos nav identisks cilvēka enterocītiem

Preteji atradumiem enterocītos, makrofāgi eksperimenta dzīvniekiem un cilvēku tievo zarnu gļotādas saistaudos gan izvietojuma, gan dzelzi saturošo granulu daudzuma ziņā bija līdzīgi - jo izteiktāka bija pozitīvā Perl's reakcija enterocītos, jo lielāks skaits makrofāgu ar lielāku granulu daudzumu atradās bārktīņu virsotnē (1). Atšķirībā no J.Dullman et al. (7) pētījumiem, kur dzelzs bija atrasta plazmocītos, kas lokalizējās bārktīņu bazālās daļas saistaudos un starp kriptām un kur makrofāgi nesaturēja dzelzi, mūsu pētījumos pozitīva Perl's reakcija tika novērota enterocītos un makrofāgos bārktīņu apikālajā galā.

Zināms, ka makrofāgi aktīvi iesaistās dzelzs metabolismā, producējot feritīnu, kas pēc jaunākiem datiem ir signālmolekula ar imūnregulatora funkcijām (8). Dzelzs izdalīšanu no makrofāgiem kontrolē feroportīns, kura aktivitāte savukārt ir atkarīga no plazmā esošā hepsidīna, kas veidojas aknās.

Savukārt ar dzelzi bagātu makrofāgu atrašanās, galvenokārt, bārktīņu virsotnē, būtu skaidrojama ar izteiktu asins kapilāru tīklu šajā rajonā.

1.tabula/ Table 1

**Perl's reakcijas kvantitatīvais izvērtējums eksperimenta un kontroles dzīvnieku grupās**  
**The comparison of Perl's reaction in the experimental and the control animal groups**

Objekts/object	I	IK	II	IIK	III	III K	IV	IV K
Makrofāgi/ macrophages	+++	0	+++	0	++	0	++	0
Enterocīti/ enterocytes	0	0	+	0	+	0	+	0

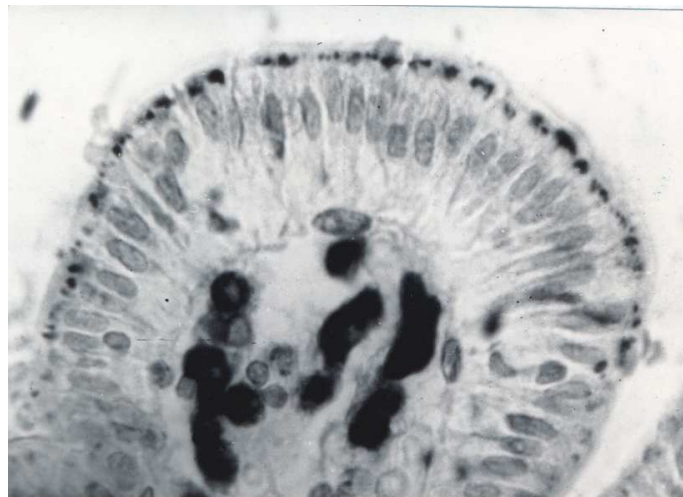
**I – IV eksperimenta grupas;**  
**I – IV experimental groups;**

**IK – IVK kontroles grupas**  
**IK – IVK control groups**



**1.attēls. Vidējas intensitātes pozitīva Perlsa reakcija balto žurku divpadsmitpirkstu zarnas gļotādas makrofāgos un difūzi izkaisītas sīkas trīsvērtīgās dzelzs granulas enterocītos (II eksperimenta grupa)**

**Figure 1. The Pearl's reaction of medium intensity in the duodenal mucosal macrophages and diffusly scattered tiny iron granules in the enterocytes of the experimental white rats.**



**2.attēls. Pozitīva Perlsa reakcija cilvēka divpadsmitpirkstu zarnas bārkstīņas enterocītos un makrofāgos asiņojošas čūlas gadījumā**

**Figure 2. The positive Pearl's reaction in the enterocytes and the macrophages of human duodenal villi in a bleeding ulcer.**

## SECINĀJUMI

No pētījuma rezultātiem izriet, ka Perlisa reakcijas intensitāte un dzelzs granulu sadalījuma raksturs enterocītos un makrofāgos divpadsmitpirkstu zarnas gļotādā eksperimenta dzīvniekiem un cilvēkam neuzrāda tiešu saistību. Uzskatām, ka šo atšķirību izskaidrojumam ir nepieciešami tālāki pētījumi.

## LITERATŪRA

2. Donovan A., Andrews N.C. No other way out for iron. Sk. internetā (2005.25.03) [http://focus.hms.edu/molecular\\_biology.shtml](http://focus.hms.edu/molecular_biology.shtml)
3. Andrews N.C. Cellular iron transport. *Nature Reviews Genetics*. 2000. (1):208-217.
4. Andrews N.C. Ironing out an old problem. Sk. internetā (1999.02.04) <http://focus.hms.edu/gen.html>
5. Andrews N.C. Disorders of iron metabolism. *The New England Journal of Medicine*. 1999. 341(26):1986-1995.
6. Donovan A., Cindy N., Andrews R., Andrews N.C. The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology*. 2006. 21:115-123.
7. Düllman J., Wulfhekel U., Mohr A., Riecken K., Hausmann K. Absence of macrophage and presence of plasmacellular iron storage in terminal duodenum of patients with hereditary haemochromatosis. *Virchows Archiv*. 1991.418(3):241-247.
8. Recalcati S., Invernizzi P., Arosio P., Cairo G. New functions for an iron storage protein: the role of ferritin in immunity and autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*. 2008. 30(1-2):84-89.
1. Далмане А., Калниня М., Солаземнице Г. Роль слизистой оболочки тощей кишки в регуляции обмена железа у больных язвенной болезнью. В кн.: *Биологическая роль и практическое применение микроэлементов*. Рига: Зинатне, 1975. С. 132-133.



# PH RĀDĪTĀJI SPUREKLĪ UN GLUMENIEKĀ DAŽĀDA VECUMA KAZĀM ZIEMAS PERIODĀ

## THE INTRARUMENAL AND INTRA-ABOMASAL pH INDICES IN GOATS OF DIFFERENT AGES IN WINTER PERIOD

**Keidāne Dace, Birģele Edīte**

Preklīniskais institūts, Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Preclinical institute, Faculty of Veterinary Medicine, Latvia

[dkeidane@llu.lv](mailto:dkeidane@llu.lv)

### ABSTRACT

The objective of this study was to determine intraruminal and intra abomasal pH changes in the relationship with animal age and nutrition.

Twenty seven goats at the age between ten and fourteen month and eight yeanlings aged between two and three month were used in this study. Chronical rumenal and abomasal fistules were operated in all animals. To determine intraruminal and intra abomasal pH, potenciometrical intragastric pH-metry methods were used, two-electrode pH probe was installed in animals via ruminal and abomasal fistule.

It was establish that:

- The feeding of hay, fodder and carrots together in 10 – 14 months old goats causes a small increase in the rumen pH - 7.6 – 7.7 in the mornings before feeding, comparing with a pH 7.2 – 7.5 after hay and fodder or feeding with hay and carrots.
- In adult goats the level of acids in abomasum before feeding in the morning was comparatively low - pH 4.2 – 4.6. The highest level of acids – the lowest pH – 3.1 – 3.2 was established in goats in the third and fourth feeding hour – after hay and fodder and after hay and carrot feeding. Also, in yeanlings after feeding, especially after the third hour the level of acids in abomasum was comparatively high pH 2.2 – 2.3.
- In two–three months old yeanlings at 6:00 o'clock in the morning was a lower intra-abomasal pH 3.2 – 3.4, i.e. higher acid level in the abomasum before feeding comparing to 10-14 months old goats.

**KEY WORDS:** goats feeding, intraruminal and intraabomasal pH

### IEVADS

Zināms, ka atgremotājdzīvniekiem spurekļa funkcionālo procesu norisē ļoti būtisks rādītājs ir intrarumenālā reakcija (Smith, Sherman, 1994; Kitamura et al., 2003). No pH līmeņa spureklī daudzējādā ziņā ir atkarīgs gaistošo taukskābju spektrs. Pierādīts, ka, dzīvniekus pamatā ēdinot ar sienu, spurekļa pH ir 6.8 – 7.2 līmenī un dažas stundas pēc ēdināšanas tas var svārstīties tikai 0.3 pH robežās, turklāt no gaistošajām taukskābēm spureklī pārsvarā veidojas etiķskābe (Kohler et al., 1997; Carvalho et al., 2003). Dzīvniekiem izēdinot graudus, t.i. cieti saturošu barību, spurekļa pH ir tendence pazemināties līdz pat 5.6 – 6.0 līmenim. Savukārt, ēdināšanā izmantojot daudz cukuru saturošu barības līdzekļu, piemēram, bietes, spurekļa pH var pazemināties pat līdz 5.2 – 5.6 līmenim. Šādos gadījumos govīm spureklī pārsvarā veidojas propionskābe un sviestskābe, bet ievērojami pazeminās etiķskābes daudzums (Carvalho et al., 2003).

Jāatzīmē, ka ir pētīta intragastrālā pH dinamika teļiem agrīnajā postnatālajā ontogēnēzē un parādītas pH izmaiņas šiem dzīvniekiem saistībā ar teļu vecumu un ēdināšanu (Ilgaža, Birģele, 2005; Ilgaža, 2007).

Kas attiecas uz glumenieka funkcionālo stāvokli atgremotājdzīvniekiem, īpaši pārejas periodā no piena izēdināšanas uz rupjo barību, literatūrā akcentēts, ka divus mēnešus vecus

teļus barojot kā pieaugušus atgremotājdzīvniekus, glumenieka satura pH vidēji ir 2.4 līmenī (Kohler et al., 1997). Uzsvērts, ka kļūdas barības līdzekļu un barošanas režīma ievērošanā teļiem pārejas periodā uz rupjo barību palielina tiem iespējamību saslimt ar glumenieka čūlu (Holtenius, 2000; Martens, 2000; Van Winden et al., 2002).

Diemžēl pētījumu par kuņģa funkcionālo stāvokli kazām ir ļoti maz un datus par intrarumenālo un intraabomazālo pH dinamiku kazām saistībā ar dzīvnieku vecumu un ēdināšanu mums atrast neizdevās.

Mūsu šī darba mērķis bija noskaidrot intrarumenālā un intraabomazālā pH izmaiņas kazām saistībā ar to vecumu un ēdināšanu.

Pētījuma uzdevumi: 1. Noskaidrot 10–14 mēnešus vecām kazām intrarumenālo un intraabomazālo pH dinamiku pirms un pēc 0.5 kg spēkbarības un 1.0 kg siena, pēc 1.0 kg siena un 1.0 kg burkānu, kā arī pēc 0.5 kg spēkbarības, 1.0 kg siena un 1.0 kg burkānu izēdināšanas.

2. Noskaidrot intrarumenālo un intraabomazālo pH dinamiku divus-trīs mēnešus veciem kazlēniem pēc 2.0 litrus kazu piena un 0.5 kg siena izēdināšanas.

## **MATERIĀLS UN METODIKA**

Pētījumam izmantotas 27 desmit līdz četrpadsmit mēnešus vecas kazas un astoņi divus-trīs mēnešus veci kazlēni. Dzīvnieki pamatā ēdināti atbilstoši profesora J.Sprūža izstrādātajai ēdināšanas shēmai (Sprūžs, 1996, 2005). Visiem pētījumā iekļautiem dzīvniekiem tika ieoperētas hroniskās spurekļa un glumenieka fistulas. Intrarumenālā un intraabomazālā pH noteikšanai pamatā izmantojām potenciometrisko intragastrālo pH-metrijas metodi, divelektrodu pH – zondi dzīvniekiem ievadot attiecīgi caur spurekļa un glumenieka fistulām.

Pētījumus visiem dzīvniekiem sākām pulksten 6:00 no rīta pirms rīta ēdināšanas un turpinājām septiņas stundas nepārtraukti līdz pulksten 13:00, izmeklēšanas laikā iekļaujot dzīvnieku ēdināšanu pulksten 6:15 no rīta. Atbilstoši pētījuma uzdevumiem astoņi 10 – 14 mēnešus veci dzīvnieki vismaz septiņas dienas divas reizes dienā tika ēdināti ar 0.5 kg spēkbarības un 1.0 kg siena, astoņi dzīvnieki saņēma 1.0 kg siena un 1.0 kg burkānu un 11 kazas divas reizes dienā saņēma attiecīgi 0.5 kg spēkbarības, 1.0 kg siena un 1.0 kg burkānu.

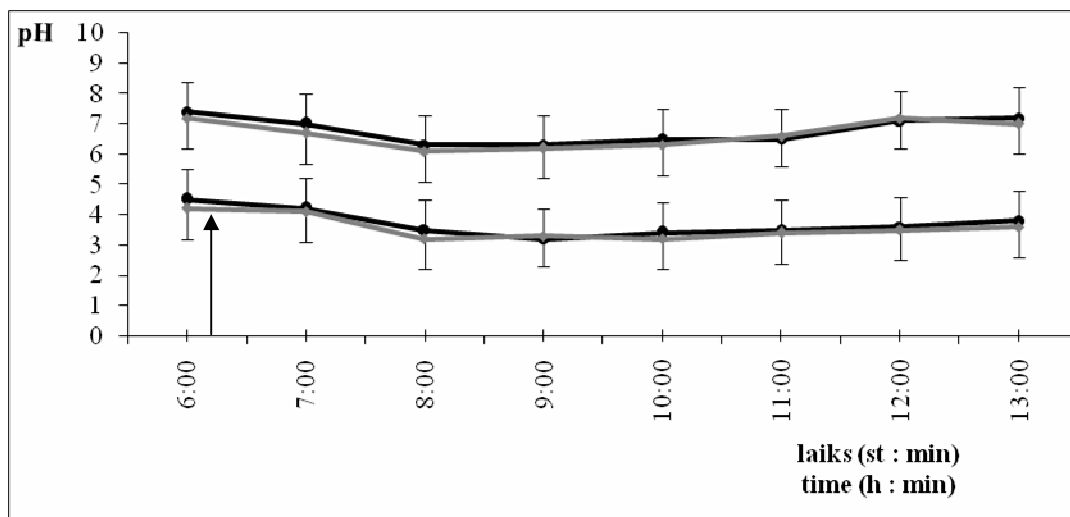
Funkcionālos izmeklējumus šiem dzīvniekiem sākām desmitajā dienā. Divus-trīs mēnešus vecos kazlēnus divas reizes dienā ēdinājām ar 2.0 litriem kazu piena un 0.5 kg siena. Vispirms no spainīša kazlēniem izdzirdinājām pienu pēc tam devām sienu.

Katram dzīvniekam pētījuma ciklā tika veikti vismaz četri - pieci atkārtoti kuņģa funkcionālie izmeklējumi. Kopumā veikti 169 izmeklējumi. Intragastrālās pH metrijas laikā dzīvnieki praktiski diskomfortu neizjuta, jo tie varēja brīvi ēst, atgremot un gulēt. Dzīvnieku turēšanas apstākļi pētījuma laikā visiem dzīvniekiem bija identiski.

Datu statistisko apstrādi veicām ar MC Excel programmas palīdzību. Lai konstruētu līkni, kas atspoguļo pH dinamiku glumeniekā un spureklī izmeklēšanas laikā attiecīgi grupas dzīvniekiem, aprēķinājām vidējo aritmētisko vērtību un standartnovirzi katra elektroda ik pēc piecpadsmit minūtēm fiksētajām pH vērtībām.

## **REZULTĀTI UN DISKUSIJA**

Spurekļa un glumenieka pH rādītāji 10–14 mēnešus vecām kazām pirms un pēc 1.0 kg siena un 0.5 kg spēkbarības izēdināšanas atspoguļoti 1. attēlā.



1. attēls. Spurekļa un glumenieka pH 10 – 14 mēnešus vecām kazām pirms un pēc siena un spēkbarības izēdināšanas

Figure 1. Intra-rumenal and intra-abomasal pH in 10 – 14 months old goats before and after hay and fodder feeding

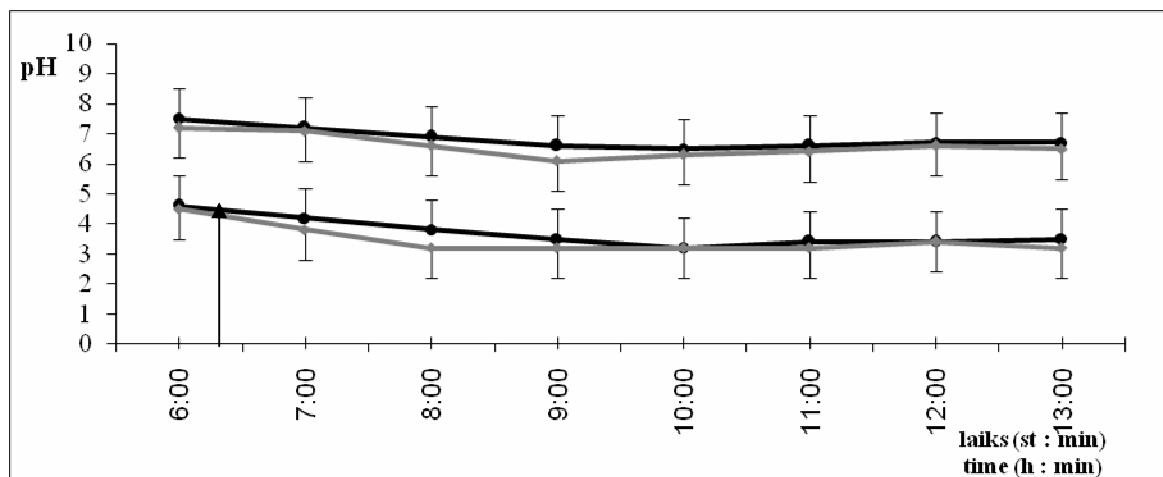
- pH I elektroda lokalizācijas vietā (vid. rādītāji,  $\top$  - standartnovirze)
- pH at the place of electrode I (average indices,  $\top$  standard deviation)
- pH II elektroda lokalizācijas vietā (vid. rādītāji,  $\perp$  - standartnovirze)
- pH II at the place of electrode II (average indices,  $\perp$  standard deviation)
- ↑ uzsāk dzīvnieku ēdināšanu (start the animal feeding)

Kā redzams, no rīta pulksten 6:00 – 6:15 pirms kazu ēdināšanas visiem dzīvniekiem pH spureklī svārstījās 7.4 – 7.2 līmenī. Ēdot un tūlīt pēc ēšanas spurekļa pH sāka pazemināties un pulksten 8:00 tas sasniedza 6.3– 6.1 līmeni. Pēc tam pH rādītāji spureklī pakāpeniski paaugstinājās, sestajā, septītajā stundā sasniedzot pH 7.0 – 7.2 t.i. apmēram tādu pat pH līmeni, kā pulksten 6:00 pirms kazu ēdināšanas (sk.1. attēlu).

Kas attiecas uz glumenieka pH rādītājiem šiem dzīvniekiem, tad redzam, ka no rīta pirms ēšanas kazām glumenieka pH bija  $4.5 \pm 0.8$  zondes I elektroda lokalizācijas vietā un  $4.2 \pm 0.3$  līmenī – attiecīgi II elektroda vietā.

Dzīvniekiem, sākot ēst, pirmajā stundā glumenieka pH tikai ļoti nedaudz pazeminājās, bet pulksten 7:00, tas ir sākot ar otro izmeklējuma stundu, pH glumeniekā krasi pazeminājās, sasniedzot zemāko līmeni – pH  $3.2 \pm 0.3$  I elektroda lokalizācijas vietā, bet attiecīgi  $3.3 \pm 0.3$  II elektroda vietā. Šādā salīdzinoši zemā pH līmenī (augstā skābes līmenī) glumenieka vide kazām pēc rīta ēdināšanas noturējās apmēram divas stundas – no pulksten 8:00 līdz 10:00. Tad intraabomazālais pH sāka vienmērīgi nedaudz paaugstināties līdz septītajā pēcēdināšanas stundā tas sasniedza  $3.8 \pm 0.3$  līmeni I elektroda lokalizācijas vietā un  $3.6 \pm 0.3$  līmeni - zondes II elektroda vietā.

Spurekļa un glumenieka pH rādītāji 10-14 mēnešus vecām kazām pirms un pēc 1.0 kg siena un 1.0 kg burkānu izēdināšanas parādīti 2. attēlā.



2. attēls. Spurekļa un glumenieka pH 10 – 14 mēnešus vecām kazām pirms un pēc siena un burkānu izēdināšanas

Figure 2. Intrarumenal and intra-abomasal pH in 10 –14 months old goats before and after hay and carrots feeding

Apzīmējumus skatīt 1. attēlā (see symbols in Figure 1)

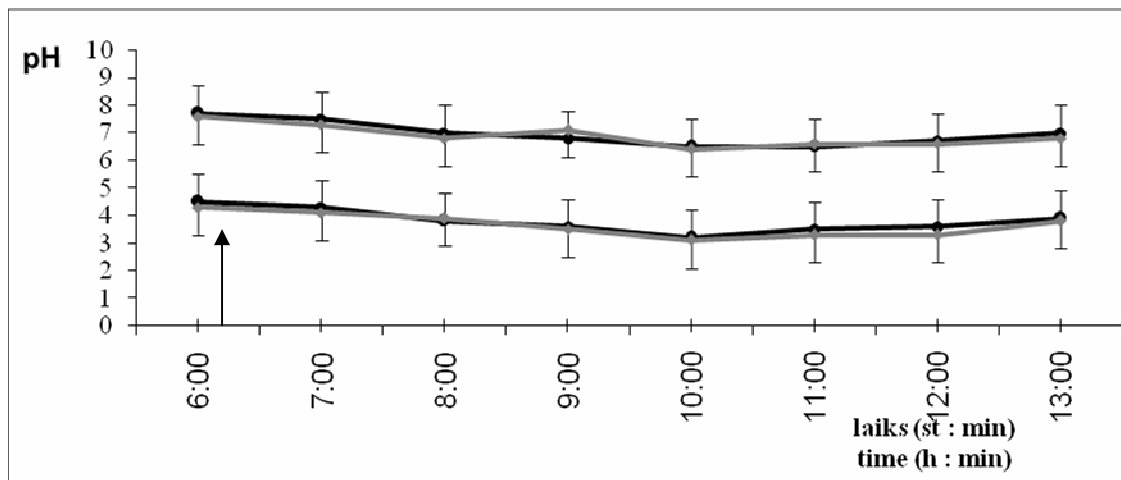
Redzam, ka no rīta pirms kazu ēdināšanas spurekļa pH, tāpat kā iepriekšējos izmeklējumos, bija  $7.2 \pm 0.4 - 7.5 \pm 0.2$  līmenī. Ēšanas laikā un kopumā pirmajās divās izmeklēšanas stundās pH spureklī dzīvniekiem pazeminājās nedaudz mazāk, nekā to novēroja kazām pēc 1.0 kg sienu ar 0.5 kg koncentrēto spēkbarības izēdināšanas. Pulksten 8:00 pH spureklī zondes I elektroda lokalizācijas vietā bija  $6.9 \pm 0.6$ , bet II elektroda - pH  $6.6 \pm 0.4$  līmenī (sk. 2. attēlu). Viszemākos pH rādītājus spureklī 10 – 14 mēnešus vecām kazām pēc siena un burkānu izēdināšanas konstatējām pulksten 9:00, tātad trešajā pēcēdināšanas stundā, kad pH I elektroda lokalizācijas vietā bija  $6.6 \pm 0.7$ , bet II – pat  $6.1 \pm 0.4$  līmenī (sk. 2. attēlu). Turpmākajās izmeklēšanas stundās intrarumenālais pH kazām nedaudz paaugstinājās, pulksten 13:00 sasniedzot pH 6.5 – 6.7 līmeni, kas tomēr šajā laika periodā nerasniedza izejas stāvokļa līmeni.

Kas attiecas uz skābes līmeni glumeniekā 10–14 mēnešus vecām kazām pirms un pēc siena un burkānu izēdināšanas, jāatzīmē, ka pulksten 6:00 no rīta pirms dzīvnieku ēdināšanas intraabomazālais pH bija attiecīgi  $4.5 \pm 0.3$  zondes I elektroda un  $4.6 \pm 0.5$  līmenī - II elektroda lokalizācijas vietā (sk. 2. attēlu).

Jau no ēšanas procesa sākuma pH glumeniekā kazām sāka strauji pazemināties, it sevišķi zondes II elektroda lokalizācijas vietā, kur pulksten 7:00 pH noslīdēja līdz  $3.8 \pm 0.3$  līmenim, bet I elektroda vietā glumenieka pH bija krietni augstāks –  $4.2 \pm 0.4$ . Arī nākamajā stundā skābes līmenis glumeniekā turpināja krasi paaugstināties (t.i. pH pazemināties) un pulksten 8:00 kazām jau novēroja augstāko skābes līmeni zondes II elektroda lokalizācijas vietā, tas ir skābi producējošo fundālo dziedzeru zonā – pH  $3.2 \pm 0.3$ . Tādā līmenī tas būtībā noturējās šajā glumenieka zonā visas pārējās izmeklēšanas stundas. Skābes līmenis glumeniekā I elektroda lokalizācijas vietā 10–14 mēnešus vecām kazām pēc siena un burkānu izēdināšanas maksimumu pH  $3.2 \pm 0.3$  sasniedza pulksten 10:00, tas ir ceturtajā pēcēdināšanas stundā, pēc tam tas svārstījās pH  $3.5 \pm 0.3$  robežās.

Spurekļa un glumenieka pH rādītāji 10–14 mēnešus vecām kazām pēc 1.0 kg siena, 0.5 kg spēkbarības un 1.0 kg burkānu vienlaicīgas izēdināšanas atspoguļoti 3. attēlā. Redzam, ka sešos no rīta pirms dzīvnieku ēdināšanas spurekļa pH zondes I elektroda atrašanās vietā bija  $7.7 \pm 0.4$  līmenī, bet II elektroda vietā - attiecīgi  $7.6 \pm 0.3$  līmenī.

Tātad kopumā dzīvniekiem no rīta pirms barošanas intrarumenālais pH bija nedaudz augstāks nekā to novērojām iepriekšējos izmeklējumos.



**3. attēls. Spurekļa un glumenieka pH 10 – 14 mēnešus vecām kazām pirms un pēc siena, spēkbarības un burkānu izēdināšanas**

**Figure 3. Intrarumenal and intra-abomasal pH in 10 – 14 months old goats before and after hay, fodder and carrots feeding**

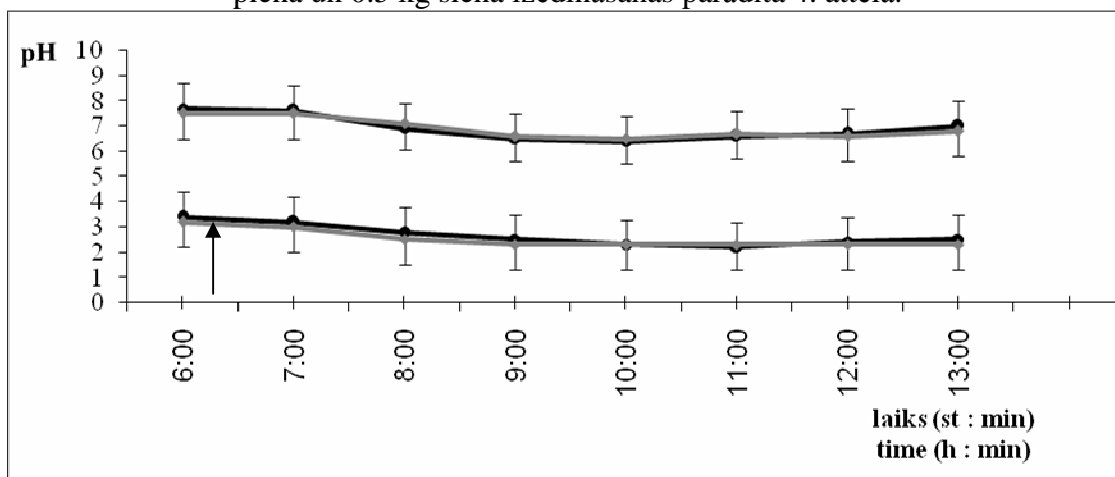
Apzīmējumus skatīt 1. attēlā (see symbols in Figure 1)

Līdzīgi kā iepriekšējā pētījumā, dzīvniekiem sākot ēst, spurekļa pH sāka pazemināties: pirmajā stundā tikai nedaudz - līdz pH  $7.5 \pm 0.4$  zondes I elektroda lokalizācijas vietā un pH  $7.3 \pm 0.4$  zondes II elektroda lokalizācijas vietā. Otrajā stundā pēc ēdināšanas sākuma pH spureklī pazeminājās straujāk, un pulksten 8:00 intrarumenālais pH noslīdēja līdz  $7.1 \pm 0.2$  I elektroda atrašanās vietā un attiecīgi  $6.8 \pm 0.3$  - II elektroda vietā (sk. 3. attēlu). Turpmāko pēcēdināšanas stundu laikā kazām pH spureklī turpināja vienmērīgi pazemināties, zemāko līmeni pH  $6.4 - 6.5 \pm 0.3$  sasniedzot pulksten 10:00. Līdz pulksten 13:00 pH līmenis spureklī stabili vienmērīgi nedaudz paaugstinājās, izmeklējumu beigās sasniedzot pH  $6.8 - 7.0 \pm 0.3$  līmeni.

Šiem pašiem dzīvniekiem glumenieka pH no rīta pirms ēdināšanas bija  $4.5 \pm 0.4$  līmenī zondes I elektroda lokalizācijas vietā, un attiecīgi  $4.3 \pm 0.7$  līmenī - II elektroda vietā (skat. 3. attēlu).

Pakāpeniski un vienmērīgi skābes līmenis glumeniekā paaugstinājās (pH pazeminājās) sākot no pulksten 7:00. Pulksten 8:00 abu zonu elektrodu lokalizācijas vietās tas sasniedza pH  $3.8 - 3.9$ , pulksten 9:00 - jau pH  $3.5 - 3.6$ , bet maksimāli augstāko skābes līmeni kazām glumeniekā pēc siena, koncentrētās spēkbarības un burkānu izēdināšanas novēroja pulksten 10:00, tas ir ceturtajā pēcēdināšanas stundā, kad pH I elektroda lokalizācijas vietā noslīdēja līdz  $3.2 \pm 0.3$ , bet otrā -  $3.1 \pm 0.2$  līmenim (sk. 3. attēlu).

Divus-trīs mēnešus veco kazlēnu pH dinamika spureklī un glumeniekā pēc 2.0 litri mātes piena un 0.5 kg siena izēdināšanas parādīta 4. attēlā.



4. attēls. Spurekļa un glumenieka pH divus līdz trīs mēnešus veciem kazlēniem pirms un pēc siena un mātes piena izēdināšanas

Figure 4. Intrarumenal and intra-abomasal pH in two – three months old kids before and after hay and mother is milk feeding

Apzīmējumus skatīt 1. attēlā (see symbols in Figure 1)

Vispirms jāatzīmē, ka pirms kazlēnu ēdināšanas pulksten 6:00 no rīta spurekļa pH abu elektrodu lokalizācijas vietās attiecīgi bija  $7.5 \pm 0.3$  –  $7.7 \pm 0.4$  līmenī. Dzīvniekiem ēdot, pirmajā stundā pH līmenis spureklī izmainījās maz, bet, sākot no pulksten septiņiem, intrarumenālais pH sāka jūtami pazemināties, turklāt abu zondes elektrodu atrašanās vietās, un pulksten 8:00 pH spureklī bija  $6.9 \pm 0.8$  I elektroda atrašanās vietā un  $7.1 \pm 0.2$  - zondes II elektroda vietā (sk. 4. attēlu). Zemāko pH līmeni spureklī kazlēniem pie šādas ēdināšanas novēroja ceturtajā pēdēdināšanas stundā ap pulksten 10:00, kad spurekļa pH bija attiecīgi  $6.4$  –  $6.5$  līmenī. Turpmākajās stundās intrarumenālajam pH bija tendence nedaudz paaugstināties, līdz septītajā pēdēdināšanas stundā pulksten 13:00 tas sasniedza pH  $7.0 \pm 0.5$  līmenī zondes I elektroda atrašanās vietā un pH  $6.8 \pm 0.8$  līmeni - zondes II elektroda vietā (sk. 4. attēlu).

Kas attiecas uz glumenieka funkcionālo stāvokli kazlēniem, izrādījās, ka 6:00 no rīta pirms dzīvnieku ēdināšanas glumenieka pH svārstījās  $3.2$  –  $3.4 \pm 0.2$  līmenī (sk. 4. attēlu). Tātad jauniem divus līdz trīs mēnešus veciem kazlēniem no rīta pirms ēdināšanas intraabomazālā vide ir jau salīdzinoši skāba. Laika periodā no 6:15, kad dzīvnieki sāka ēst līdz pulksten 7:00 pH līmenis glumeniekā tikai nedaudz pazeminājās, bet otrajā pēdēdināšanas stundā tas sāka strauji kristies, t. i. skābes līmenis glumeniekā sāka straujāk paaugstināties, un pulksten 8:00 pH sasniedza  $2.5 \pm 0.3$  līmeni zondes II elektroda lokalizācijas vietā, bet I –  $2.8 \pm 0.3$  līmeni (sk. 4. attēlu).

Turpmākajā stundā skābes līmenis glumeniekā kazlēniem vēl turpināja paaugstināties, un no pulksten 9:00 pH sasniedza gandrīz maksimāli zemākos rādītājus glumeniekā -  $2.3 \pm 0.3$  līmenī. Šāds augsts skābes līmenis glumeniekā kazlēniem būtībā saglabājās visas turpmākās trīs izmeklēšanas stundas sālskābi producējošo fundālo dziedzeru zonā, bet II elektroda lokalizācija vietā, pulksten 11:00 sasniedzot pat pH  $2.2 \pm 0.2$  līmeni. Pēc tam skābes koncentrācija sāka pakāpeniski nedaudz samazināties izmeklēšanas beigās pulksten 13:00 sasniedzot pH  $2.5 \pm 0.3$  līmeni (sk. 4. attēlu).

Nobeigumā jāatzīmē, ka savā pētījumā esam mēģinājuši izanalizēt pH dinamiku kuņģī kazlēniem un pieaugušām kazām saistībā ar to vecumu un ēdināšanu. Galvenā uzmanība tika

pievērsta tieši intrarumenālai un intraabomazālai pH dinamikai, jo datu par to, kā mainās pH spureklī un glumeniekā kazlēniem un kazām, izbarojot tām dažādus barības līdzekļus literatūrā ir ļoti maz.

## SECINĀJUMI

- Siena, spēkbarības un burkānu vienlaicīga izēdināšana 10–14 mēnešus vecām kazām izraisa no rīta pirms dzīvnieku ēdināšanas nedaudz augstākus spurekļa pH rādītājus - 7.6 – 7.7, nekā pēc siena un spēkbarības vai siena un burkānu izēdināšanas - attiecīgi pH 7.2 – 7.5 līmeni.
- Pieaugušām kazām skābes līmenis glumeniekā pirms ēdināšanas no rīta ir salīdzinoši zems – pH 4.2 – 4.6 līmenī. Augstāko skābes līmeni glumeniekā, t.i. zemāko pH – 3.1 – 3.2 kazām novēro trešajā ceturtajā pēcēdināšanas stundā - gan pēc siena un spēkbarības izēdināšanas, gan pēc siena un burkānu, gan arī pēc siena spēkbarības un burkānu vienlaicīgas izēdināšanas. Arī kazlēniem pēc ēšanas, īpaši sākot ar trešo stundu, skābes līmenis glumeniekā ir salīdzinoši augsts – pH 2.2 – 2.3 līmenī.
- Divus-trīs mēnešus veciem kazlēniem no rīta pulksten 6:00 pirms ēdināšanas novēroja zemāku intraabomazālo pH 3.2 – 3.4, t.i., augstāku skābes līmeni glumeniekā, nekā 10–14 mēnešus vecām kazām.

## LITERATŪRA

1. Carvalho, P.A., Sanchez, L.M., Viegas, J., Velho, J.P., Jauris, G.C. and Rodrigues, M.B. Stomach development of early weaned Holstein calf. *Revista Brasileira de Zootecnia* (Brazil), 2003, V. 36:6, pp. 1461 – 1468.
2. Holtenius, K., Sternbauer, K. And Holtenius, P. The effect of the plasma glucose level on the abomasal functions in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, V. 2000, 78, pp. 1930 – 1935.
3. Ilgaža, A., Birģele, E. Kuņģa stāvoklis teļiem pirmajā postnatālās dzīves mēnesī. LLU raksti, Jelgava, 2005, Nr. 13 (308), 67 – 76 lpp..
4. Ilgaža, A. Govs *Bos Taurus* kuņģa funkcionālā adaptācija agrīnajā postnatālajā ontogēnēzē. Promocijas darbs Dr.med.vet. grāda iegūšanai, 2007, 93. – 101. lpp.
5. Kohler, P., Kallweit, E., Henning, M. and Flachowsky, G. Comparative examination of rumen development, fattening performance and carcass quality in veal calves from natural maternal rearing or conventional bucket-feeding. *Zuchtungskunde (German)*, 1997, V. 69(4): Jul-Aug, pp. 254 – 267.
6. Kitamura, N., Yoshiki, A. Sasaki, M., Baltazar, E.T., Hondo, Yamamoto, Y. and Agungpriyono, S. Immunohistochemical evaluation of the muscularis mucosae in the ruminant forestomach. *Anat. Histol. Embryol.*, 2003, V.32. pp. 175-178.
7. Martens, H. Relations between feeding, physiology of the forestomachs and pathogenesis of abomasal displacement. *Proceedings Internationaler Workshop, Leipzig, Leipziger niversitatsverlag, Leipzig* 2000, pp. 81 – 101.
8. Smith, M.C., Sherman, D.M.. *Goat medicine.*- Philadelphia et.al.: Lea&Febiger,- 1994, 321-336 pp..
9. Sprūžs, J. *Kazkopības ABC.* Latvijas Lauksaimniecības universitāte Dzīvnieku audzēšanas katedra, Jelgava, 1996,- 96 lpp.
10. Sprūžs, J. *Latvijā audzēto kazu ēdināšanas normas.* Latvijas Lauksaimniecības fakultāte, Jelgava, 2005,-16 lpp.
11. Winden Van, S.C., Müller, K.E., Kuiper, R., Noordhuizen, J.P. Studies on the pH value of abomasal contents in dairy cows during the first 3 weeks after calving. *Journal of veterinary medicine (germany)* 2002, Apr; 49 (3) 157-160 pp..

***AELUROSTRONGYLUS ABSTRUSUS* IZPLATĪBA UN ĀRSTĒŠANAS  
IESPĒJAS**  
**DISTRIBUTION AND POSSIBILITIES OF TREATMENT OF  
*AELUROSTRONGYLUS ABSTRUSUS***

**Keidāns P., Zalva Inese, Krūklīte Anna**

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija  
Latvia, Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia  
[krsteina@llu.lv](mailto:krsteina@llu.lv)

**ABSTRACT**

*Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida, Metastrongyloidea), the most common lungworm of cats, is found in many parts of the world, including the USA, Europe and Australia. *Aelurostrongylus* was diagnosed in the cats in Latvia. It occurs in the parenchyma and sometimes in the lung blood vessels and causes severe respiratory distress.

**KEY WORDS** : cat , parasites, treatment.

**IEVADS**

Kaķis ir pazīstams kā vientuļnieks, neatkarīgs dzīvnieks un tomēr tam ir vajadzīga cilvēka aprūpe un mājas, kur atgriezties. Ir kaķi, kam dzīvē paveicies un dzīvo pie labiem saimniekiem, bet liela daļa klejo pa dārziem, pagalmiem, daudzstāvu māju kāpņu telpām līdz nonāk patversmēs. Līdz ar to ir liela iespēja kontaminēties ar dažādu slimību ierosinātājiem, kas rada dažu orgānu un visa organisma saslimšanu, pat nāvi.

*Aelurostrongylus abstrusus* ir nematode, kas parazitē kaķu plaušu parenhīmā, bronhiolās, izraisot dzīvniekam bronhītu, pneimoniju un visa organisma saslimšanu, kas var beigties pat letāli (1;8).

Pēc J. Hamiltona pētījumiem, kaķiem, eksperimentāli ievadot 50 *Aelurostrongylus abstrusus* kāpurus, tie rada patoloģiskas pārmaiņas plaušās, 800 kāpuri jau izraisa saslimšanu ar izteiktām klīniskām pazīmēm, bet 1600 – 3200 kāpuri var izraisīt dzīvniekam nāvi (4).

*Aelurostrongyloze* izplatīta daudzās valstīs, sevišķi lauku apvidos, kas bagāti ar starpsaimniekiem - gliemežiem un rezervuārsaimniekiem: grauzējiem, rāpuļiem, abiniekiem, putniem, tādēļ šo invāziju ir grūti kontrolēt, reizēm pat neiespējami. Austrijā invadēti 1.8 % (n = 339) kaķu, bet Vācijā 2 % pilsētas kaķu (n = 50) un 20.8 % lauku kaķu (n = 120), Šveicē 0.5 % (n = 100) un Nīderlandē 2.6 % izmeklēto kaķu. Citur Eiropā šīs invāzijas ekstensitāte ir apmēram 5 % (2;6).

Latvijā nav pilnīgu datu par šīs invāzijas izplatību kaķiem, jo koproloģiskā izmeklēšana reti tiek veikta respiratoro saslimšanu gadījumos. Laboratorijās iesūtītos kaķu fekāliju paraugus biežāk izmeklē pēc flotācijas - ovoskopiskām metodēm, līdz ar to *Aelurostrongylus abstrusus* izdalītie kāpuri praktiski netiek diagnosticēti.

Slimo visa vecuma kaķi, dažkārt novēro endēmiju, kad invadēti līdz 90 % kaķu (2). Klīnisko ainu ietekmē invāzijas pakāpe. Zemas invāzijas gadījumā novēro aizdusu, tahipneju, nelielu klepu, kas saasinās fiziskas piepūles laikā. Apmatojums izspūris, nespodrs, no nāsīm iztecējumi, anoreksija, dzīvnieks pakāpeniski novājē. Stipras invāzijas gadījumā klīniskās pazīmes saasinās, pievienojas organisma dehidratācija, kas var būt par cēloni dzīvnieka nāvei. Slimības kulminācija izteikta 6 – 12 nedēļā no invadēšanās (1;2;3;4;9;10).



Diagnozi nosaka vadoties pēc anamnēzes, klīniskās ainas, rentgenogrāfijas, hematoloģiskiem un helmintokoproloģiskiem izmeklējumiem. Pēc nāves plaušās, bronhos atrod pieaugušos helmintus un to kāpurus.

Diferenciāldiagnozē jāgriež vērība uz citām iespējamām plaušu nematodēm: *Capillaria aerophila*, *Pragonimus kellicoti*. Šo invāziju gadījumā ar fekālijām ārvidē izdalās olas un jāpielieto helmintoovoskopiskās diagnostikas metodes (6).

Mūsu darba mērķis bija noskaidrot *Aelurostrongylus abstrusus* invāzijas aktualitāti un noteikt dažu ārstēšanas līdzekļu efektivitāti.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Kopumā analizēti 50 kaķu helmintokoproloģiskie laboratoriskie izmeklējumi. Kaķim ar akūtu elpošanas ceļu saslimšanu tika veikta rentgenogrāfija. Ārstēšana pozitīvus rezultātus nesniedza, pēc dzīvnieka nāves tika veikta pilnā helmintoloģiskā sekcija pēc akadēmiķa K. Skrjabina metodes. Laboratoriski izmeklēti plaušu audi ar kompresijas un audu sagremošanu mākslīgā kuņģa sulā metodēm, helmintu pieaugušo formu un to kāpuru diagnostikā.

Sešiem ar *Aelurostrongylus abstrusus* invadētiem kaķiem veikta ārstēšana izmantojot dažādus dehelmintizācijas līdzekļus. Veterinārajā praksē Latvijā biežāk lietotos antihelmintiskos zāļu līdzekļus *Canivermin* iekšķīgi viena tablete (0.75 g) vienu reizi no rīta, *Pratel* pielietots iekšķīgi kopā ar barību pustablete vienu reizi. Veterinārmedicīniskajā literatūrā rekomendētos zāļu līdzekļus *Panacur Granules* vienreizējo devu 100 mg / 1 kg, *Ivermectin* šķīdumu subkutāni trīs dienas 0.2 mg / kg ) (7). Analizēta to efektivitāte.

Darbā izmantoti LLU Veterinārmedicīnas fakultātes dzīvnieku patversmes kaķi, kā arī kaķi piederoši konkrētiem saimniekiem. Darbs izstrādāts Pārtikas un vides higiēnas institūta parazitoloģijas laboratorijā.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Helmintokoproloģiskās analīzes pierādīja, ka visi kaķi ir invadēti ar dažādu sugu parazītožu ierosinātājiem. Klaiņojošiem kaķiem (39) diagnosticēta *Isohora spp.* 20.5 %, *Toxocara cati* 48.7 %, *Ancylostoma spp.* 10.2 %, *Aelurostrongylus abstrusus* 17.9 % invāzijas ekstensitāte. Mājās dzīvojošiem kaķiem (11) - *Isohora spp.* 9 %, *Toxocara cati* 9 %, *Ancylostoma spp.* 0 %, *Aelurostrongylus abstrusus* 0 % invāzijas ekstensitāte.

Analizējot helmintokoproloģiskos rādītājus kaķiem vecākiem par gadu *Aelurostrongylus abstrusus* invāzijas ekstensitāte ir augstāka ( līdz 1 g. 11 %, vec. 1 g. 16.6 %).

Patologanatomiskajā sekcijā konstatējām, ka plaušas ir raibas, abu plaušu asajās malās gaiši pelēki mazi mezgli. Vietām plaušās mezgli sasniedza aptuveni 1 cm diametrā, kura centrā bija kazeoza struktūra. Šie perēkli dažviet saplūduši veidojot blīvus laukumus. Mikroskopējot labi redzamas aizsprostotas alveolas ar helmintu olām un kāpuriem. Bronhi pildīti ar pieaugušiem helmintiem (9 – 14 mm gari).

Pieaugušās nematodes un olas tika atrastas plaušās, trahejā, balsenē, kā arī pirmās pakāpes kāpuri lielā koncentrācijā kuņģī un zarnās.

Rentgenogrāfijā bija redzamas izmaiņas gaisa bronhogramā. Izteikts kontrasts starp bronhiem, kas pildīti ar gaisu un apkārt esošo šķīdumu, redzama plankumainā konsolidācija, kas ir viens vai vairāki neizteikti silueta plankumi.

Kaķim ar izteiktām klīniskām pazīmēm un laboratoriski apstiprinātu diagnozi aelostrogiloze, ārstēšanā tika pielietots *Canivermin* (pēc instrukcijā norādītām devām). 10 dienas sekojot dzīvnieka veselības stāvoklim, katru dienu lavroskopiski izmeklējot fekālijas konstatējām, ka *Aelurostrongylus abstrusus* invāzijas intensitāte samazinājās par 30 %.

11. dienā kaķim zemādā ievadījām 1 % *Ivermectin* šķīdumu (pēc instrukcijā norādītām devām), katru dienu sekojot dzīvnieka veselības stāvoklim, veicām larvoskopiskus

izmeklējumus, piektajā, sestajā dienā *Aelurostrongylus abstrusus* kāpuri netika atrasti, kas norāda *Ivermectin* augsto inteseftivitāti (100 %).

Diviem kaķiem ārstēšanā pielietojot *Panacur Granules* vienreizējo devu 100 mg / 1 kg, sekojot kaķa veselības stāvoklim veicām larvoskopiskos izmeklējumus piektajā, sestajā dienā *Aelurostrongylus abstrusus* kāpuri netika atrasti (inteseftivitāti 100 %).

Dzīvnieku patversmē kaķu dehelmintizācijai tika lietots arī *Pratel*, alimentāri pus tablete vienu reizi (pēc instrukcijā norādītām devām), katru dienu sekojot dzīvnieka veselības stāvoklim, veicām larvoskopiskos izmeklējumus, pirmajās dienās kāpuru skaits samazinājās, tad palika nemainīgs, vēl septītajā dienā atradām *Aelurostrongylus abstrusus* kāpurus (IE 13 %).

1.tabula /Table 1

**Kaķu koprolōģiskās izmeklēšanas rezultāti**  
**Results of coprological investigations of cats**

Dzīvesveids Lifestyle	Dzīvnieku skaits Number of animals	<i>Isospora spp</i>		<i>Toxocara cati</i>		<i>Ancylostoma spp.</i>		<i>A. abstrusus</i>	
		Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *	Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *	Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *	Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *
Klaiņojošs Homeless	39	8	20.5	19	48.7	4	10.2	7	17.9
Mājas Domestic	11	1	9	1	9	-----	-----	-----	-----
<b>Kopā Total</b>	<b>50</b>	<b>9</b>	<b>18</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>14</b>

\* Invāzijas ekstensitāte, %

\* Extensity of invasion , %

2.tabula /Table 2

**Kaķu endoparazītožu invāzijas ekstensitāte atkarībā no vecuma**  
**Cats endoparasitic extensity (E %)of invasion depending of age**

Vecums gados Age in years	Dzīvnieku skaits Number of animals	<i>Isospora spp</i>		<i>Toxocara cati</i>		<i>Ancylostoma spp.</i>		<i>A. abstrusus</i>	
		Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *	Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *	Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *	Invadēto skaits Number of invadet animals	E % *
< 1	26	6	23	13	50	2	7.7	3	11
> 1	24	3	12.5	7	29	2	8.3	4	16.6
<b>Kopā Total</b>	<b>50</b>	<b>9</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>14</b>

**SECINĀJUMI**

1. *Aelurostrongilozē* ir izplatīta invāzija kaķiem (IE 14 %)
2. *A.abstrusus* invāzijas ekstensitāte augstāka klaiņojošiem kaķiem un vecākiem (par 1 gadu).
3. *Ivermectin* un *Panacur Granules*, lietojot pēc instrukcijā norādītām devām, uzrādīja 100 % efektivitāti šīs invāzijas gadījumā.

4. Kaķu helmintožu kontrolē jāveic koproloģiskie izmeklējumi ar flotācijas un larvoskopiskām diagnostikas metodēm. Ieteicama arī urīna izmeklēšana.

#### **LITERATŪRA**

- 1.Allen G.D. Small animal medicine.- Philadelphia et all.:J.B.Lippincott company, 2001 .462;463 p.
- 2.Eckert J. u.a Veterinärmedizinische Parasitologie :-4.Auflage. - Berlin un Hamburg: Verlag Paul Parey,1992.-905 s.
- 3.Georgi R J. Parasitology for veterinarians.-Philadelphia et all.:W.B. Saunders company, 1969.-237 p.
- 4.Hamilton J. M. The number of Aelurostrongylus abstrusus larvae required to produce pulmonary disease in the cat. J Comp. Path. , 1967.77 -343 p.
- 5.Keidāns P.,Krūklīte A. Mājdzīvnieku parazitāro slimību diagnostika.-Jelgava:LLU,2000.-74 lpp.
- 6.Levine D.L .Textbook of veterinary parasitology.- Minneapolis, Minesota :Burgess Publishing Company, 1978.-236 p.
- 7.Nelsons W.R. Small animal internal medicine.- Missouri: Mosby, 2003.-1362 p.
- 8.Soulsby E.J.L. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals.-6th ed.- Baltimore :Williams and Wilkins company,1975.-824 p.
- 9.Tilley P.T.,Smith W.K. The 5 minute Veterinar consult canine and feline.-Baltimore et ad: A.Wavery company,1997.-1024,1025 p.
- 10.Уркхарт Г.М. и др. Ветеринарная паразитология -Москва: Аквариум лтд, 2000.-349 с

# IDENTIFICATION OF MASTITIS ETIOLOGIC AGENTS IN LITHUANIAN CATTLE HERDS

**Klimienė Irena, Ružauskas Modestas, Špakauskas Vytautas, Butrimaitė-Ambrozevičienė Česlova, Sakalauskienė Regina**

Veterinary institute of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys, Lithuania.

[klimienei@yahoo.com](mailto:klimienei@yahoo.com)

## ABSTRACT

The aim of this study was to analyse the cow mastitis situation during 1998–2007. Somatic cell count and bacteriological investigations were the main methods used in this study. According to the data obtained, there was noticed a frequent increase of somatic cells count in the milk of examined cows that demonstrates the outspread of mastitis in herds. There were totally tested 58,908 cows affected with mastitis during the analysed period. As a reason of mastitis in 57.6 % cases was defined *S. aureus*, in 15.3 % – *S. agalactiae*, in 6.36 % – *Enterobacter spp.*, in 0.36 % – *P. aeruginosa* and in 0.46 % – *Corynebacterium spp.* 61.7 % of all mastitis samples were examined during the housing period, and only 17.6% – during December-February.

**KEY WORDS:** cows, mastitis, *S. aureus*, SCC.

## INTRODUCTION

Mastitis is the mammary gland inflammation, which is usually caused by microorganisms. Microorganisms infect the milk, may produce toxins, that cause animal health to worse, change the constitution and characteristics of milk. Therefore the raw milk becomes not qualitative, inappropriate for industrial usage. *S. aureus* and *Streptococcus spp.* are the most common pathogens of mastitis [9]. The frequency of the pathogens is different in different breeding regions of the world. Mastitis is spread among 30-40 % of dairy cows in the United Kingdom and Sweden. In Finland, the reason of mastitis in 19.42 % was defined *S. aureus*, in 3.8 % – coagulase negative staphylococci, in 4.91 % – *S. uberis*, [10]. In Denmark, the cause of mastitis in 90% was staphylococci, streptococci, coliforms [11]. Identification of the pathogens, causing mastitis is very important, because only the correct diagnosis can eliminate the pathogens of mastitis in the herd. The unified methodology of staphylococci and streptococci identification was introduced in Lithuania in 1996. Therefore it is possible to identify the pathogen of mastitis and explicit the results.

The aim of the study was to analyse the cow mastitis situation in the period of 1998-2007 and to determine the most common causative agents spread in Lithuania.

## MATERIALS AND METHODS

Examinations were carried out using a retrospective research method during 1998-2007 in Lithuania. The data were collected at National Veterinary Laboratory (NVL) and government enterprise State Laboratory “Pieno tyrimai“. Milk of mastitis affected cows for laboratory testing was collected from all regions of Lithuania in different size cow herds during various seasons in 1998-2007. The pathogens of mastitis were identified in compliance with a standardised methodology (“Laboratory and field handbook on bovine mastitis“, National mastitis council, 1987) with some new knowledge of some species. Somatic cell count in the milk analyse during different years were carried out on SL “Pieno tyrimai” (accredited laboratory in compliance with the standard LST EN ISO/IEC 17025 requirements) examined dairy farm. Milk samples were analysed by fluorooptoelectronic method using device *Somaskope*. The precision of the quality of identification methods was provided according to

the decision of the European Council 91/180/EEB that regulates raw and thermal processed milk analyse methods.

Statistical analysis was performed by 'Epi Info' (1996; Centers for Disease Control & Prevention (CDC), U. S. A., Version 6.04). Arithmetical means (X), standard deviation (SD), vary coefficients (Cv) and set minimal and maximal meanings were calculated. The Student multiple comparison method was applied to determine the significance criterion for the difference among the groups (p). The difference was considered statistically significant when the "p" mean value was less than 0.05.

## RESULTS AND DISCUSSION

Somatic cells count (SCC) as a measure of quality of the milk and health of udder was investigated. 47.5 % of milking cows are controlled in Lithuania (Annual Report on Milk Recording), therefore, data analysed form the controlled population reflects the health of the cows in the country. According to SL "Pieno tyrimai" data, SCC increased in the controlled herds from  $464.09 \pm 45.71$  to  $617 \pm 53.87$ . Increased statistical significance ( $p < 0.05$ ) was recorded since year 2000 (Table 1). The data of SCC in the milk was compared to the number of mastitis samples (Table 2) investigated in laboratories. Results showed that SCC conversely correlated with the examined number of the mastitis samples ( $r = -0.66$ ).

During the period of ten years 25.976 cows with the signs of mastitis were examined in NVL, with average of 6.352 cows per annum (Table 3).

61.7 % of all samples were investigated during housing period (October – April), as usually cows were affected with mastitis on cowshed period rather on pasturage period (Table 2). Most of mastitis examinations were made from April till June, as at the end of winter season the immunity of the cows is weak and mastitis number increases when the pasture starts and intensive milk production begins. Most of the bacteriological examinations were made from the April till June (the end of the cowshed period and the beginning of the pasture period) and October - November, though according to data presented by SL "Pieno tyrimai", there were no difference in SC count (Table 2) in different months ( $p > 0.05$ ).

The analysis of the bacteriological examinations of the milk samples showed (Table 3) that the most common etiological agent of mastitis was *S. aureus* (57.6 %) and much more less – *S. agalactiae* (15.3%), *Enterobacter* spp. – (6.36 %), *P. aeruginosa* and *Corynebacterium* spp (0.36 % and 0.46 %, respectively). The remainder (16.6 %) consist of - *S. dysgalactiae*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. hyicus*, *S. bovis*, *E. coli*, and other bacteria (Table 3). In different years the number of mastitis caused by *S. aureus* varied from 32.8 % to 73.4 % and this is significantly more ( $p < 0.05$ ) than total number of all other pathogens.

The announced SCC data shows critical udder's health condition. Inverse correlation reliance between SCC and bacteriologically confirmed mastitis shows that mastitis examinations are too expensive for the milk producers. Small milk farms are predominant in the country (Table 1) and control of clinical mastitis is too expensive. However a quite number of the bacteriological examinations (Tables 1 and 3) were performed during investigations. Since 1999, a new milk collection and quality investigation system has been introduced in Lithuania. The payment for the milk is based on the analysis results. It is individual, low-cost SCC examination method for every controlled cow. According to EU regulations, after reduction of the highest line in the geometrical average counting methodology, cows which milk contain high SCC and it reduction wasn't economically profitable, were eliminated from the herds. This influenced decreasing of cow number in the herds, so amount of bacteriological examination decrease too (Tables 1 and 3).

Table 1

**The variation of cows number, productivity, herds constitution and changes of mastitis morbidity in 1998-2007**

Rates	Years of the examination									
	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Cows numbers, (thousands)*	620,0	540,9	494,3	487,9	491,8	467,4	478,8	428,75	437,15	395,1
Milk quantity for lactation (kg)*	4125	4250	4447	4863	5015	5031	5231	5395	5592	5863
SCC in the bulk milk of controlled cows, thousands/ml	475,00 ±97,00	464,09 ±45,71	484,54 ±38,24	614,54 ±52,37	527,27 ±*57,50	590,00 ±37,95	514.54 ±49.92	617,0±5 3,87	506,2±5 0,23	581,6±5, 16
Herds %, having 1-5 cows*	87.0	75.7	74.9	73.0	65.2	61.2	62.2	54.2	45.0	19.0
The cows with mastitis investigated by NVL	10,215	13,369	4,271	4,035	3,675	4,685	4,875	5,658	4,237	3,888
<i>S. aureus</i> % in mastitis samples	84.9	73.5	68.2	64.0	48.7	64.5	57.6	65.9	41.3	39.1
<i>S. agalactiae</i> % in the masitis samples	15.0	16.8	16.9	23.7	18.0	21.8	19.3	12.9	18.2	17.7

P.S. \* according to Annual Report on Milk Recording

However, number of somatic cells in the milk of the controlled herd's cows remained high in the later years. Therefore, it can be assumed that a high number of subclinical mastitis cases exist in the herds in Lithuania. The situation is similar in other countries where data shows that 80-97 % of mastitis is subclinical [3].

Table 2

**SCC and bacteriologically examined mastitis quantity according to months**

Months	SCC, in thousands	Bacteriological quantity	Bacteriologically, %
I	504.44±127.682	176.92±20.315	2.5
II	480.55±138.122	445.85±39.264	6.3
III	455.55±146.787	445.85±79.452	6.3
IV	506.11±86.160	983.70±135.860	13.9
V	500.55±71.695	799.70±132.524	11.3
VI	474.44±78.598	714.77±103.762	10.1
VII	*	445.85±51.388	6.3
VIII	507.22±123.316	445.85±48.127	6.3
IX	485.00±112.360	261.89±45.218	3.7
X	464.44±88.049	891.70±125.164	12.6
XI	517.77±48.676	799.70±113.240	11.3
XII	563.33±54.772	622.77±97.989	8.8

\* In July the mean of SCC was extrapolated

Table 3

**NVL investigated pathogens from the mastitis milk samples**

Investigation years	Identified pathogens						
	Total	<i>S. aureus</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>Entero-bacter</i> spp.	<i>P. aerugi-nosa</i>	<i>C. bovis</i>	Other
1998	4105	2440	432	332	3	1	897
1999	5569	4093	938	324	20	4	190
2000	1685	1174	326	147	4	2	32
2001	1803	1154	427	163	0	14	45
2002	1705	891	331	149	22	44	268
2003	2115	1365	462	124	10	0	154
2004	1994	1333	345	59	2	40	215
2005	2518	1661	325	88	1	6	441
2006	2289	946	417	128	28	44	726
2007	2193	858	390	267	34	10	634
Total	25976	14969	3976	1653	96	121	2876
Mean	2597,6	1663,2	441,7	183,6	10,6	13,4	319,5
X	1257,19	1027,65	193,10	99,91	11,96	16,81	287,86
SD	397,561	342,550	64,368	33,305	3,989	5,605	95,954

*S. aureus* is stated as the main and stable detected mastitis agent in Lithuania. In many countries where monitoring of *S. aureus* is performed in herds, the role of this pathogen is reduced during the years from 17.7% to 9.7% [8]. However, our research results do not show similar tendency in Lithuanian cows' herds [1, 5, 6].

*S. agalactiae* was detected as mastitis pathogen rarely. The frequency of this pathogen is similar to Latvian data, where *S. agalactiae* causes reported in approximately 15 % of mastitis [7]. Considering the data obtained in this study it should be stated that the significance of *S. agalactiae* is not decreasing among all pathogens of milk mastitis during the past years. Meanwhile, Makovec and Ruegg (2003) during the investigation of mastitis indicated that mastitis caused by *S. agalactiae* reduced from 8.1 to 3.0% while cases caused by other streptococcus increased from 11.6 to 20.1% [8].

Researches from Finland announced that *Corynebacterium bovis* becomes more frequent source of increasing SCC [5]. However, data in Lithuania shows that yeast resulted mastitis is only in 2.61% of all examined samples [1].

## CONCLUSIONS

1. Bovine mastitis is a serious problem of stockbreeding in Lithuania.
2. *S. aureus* and *S. agalactiae* predominate as etiological agents of bovine mastitis and there is no tendency to decrease the cases of mastitis causing by *S. aureus* in the country.

## REFERENCES

1. Aniulis, E., Klimaitė, J., Japertas, S. Slaptojo karvių mastito sukėlėjai ir jų kitimas nuo gydomųjų ir antimastitinių preparatų. - Veterinarija ir zootechnika. 2001. 12(34): 5-8.
2. Annual Report on Milking Recording. 2008. 66: 18-100.
3. Cyvinska, A. et al. Immunology of bovine mammary gland: apoptosis of somatic cells in milk naturally occurring mastitis. - Polish Journal of Veterinary Sciences. 2006. 9: 63-70.
4. Hurley, W. L. Lactation biology.- Department of Animal Science university of Illinois, 2003: 43-233.
5. Ramanauskienė, J. et al. Karvių klinikinio mastito gydymo efektyvumo tyrimai. - Veterinarija ir zootechnika. 2008. 41 (63): 80-85.
6. Japertas, S., Aniulis, E. Užtrūkusių karvių, sergančių mastitu, gydymas ir farmakoprofilaktika. - Veterinarija ir zootechnika. 2001. 16(38): 38-43.
7. Jemeljanovs, A., Bluzmanis, J., Mozgis, V. Udder Inflammation, their Agents, Treatment and Prevention. Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland, Sresa 2000. 339-341.
8. Makovec, J.A., Ruegg, L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. - Journal of Dairy Science. 2003. 86(11): 3466-3472.
9. Peeler, E.J., Green, M.J., Fitzpatrick, J.L. et al. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. - Journal of Dairy Science. 2000. 83: 2464-2472.
10. Pitkälä, A., Haveri, M., Pyörälä, S., Myllys, V., Honkanen-Buzalski. Bovine mastitis in Finland 2001-Prevalence, Distribution of Bacteria and Antimicrobial Resistance. - Journal of Dairy Science. 2004. 87:2433-2441.
11. Ward, W.R., Hughes, J.W., Faull, W.B. et al. Observational study of temperature, pH and bacteria in straw bedding, and faecal consistency, cleanliness and mastitis in four dairy herds. - The Veterinary Record. 2002. 151:199-206.



# KETAMĪNA HIDROHLORĪDA IETEKME UZ SUŅU ACS IEKŠĒJO SPIEDIENU UN ZĪLĪTES DIAMETRU

## EFFECTS OF KETAMINE HYDROCHLORIDE ON INTRAOCULAR PRESSURE AND PUPIL DIAMETER IN DOGS EYES

**Līga Kovalčuka, Edīte Birģele**

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia

[kovalcuka@gmail.com](mailto:kovalcuka@gmail.com)

### ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effects of the ketamine hydrochloride on intraocular pressure (IOP) and horizontal pupil diameter (HPD) in dog's eyes. Dogs of different age, breed and sex were examined clinically and ophthalmologically. All animals were clinically and ophthalmologically healthy. Ten adult dogs were used for this study. All animals received 20 mg/kg ketamine intravenously. IOP and HPD were measured every 5 minutes for a total period of 35 minutes.

It was established that due to the first five minutes after ketamine hydrochloride intravenous injection IOP increased significantly in both eyes. A significant IOP increase was observed during all the research time – 35 minutes. Statistically significant pupil dilatation was observed only 5 minutes after the treatment.

Because of ability to cause a significant IOP enlargement, ketamine alone should not be used in dogs with corneal trauma, laceration and ulceration or glaucoma.

**KEY WORDS:** ketamine hydrochloride, dog, eye

### IEVADS

Kā zināms acs iekšējais spiediens tiek kontrolēts un regulēts ar centrālās nervu sistēmas (CNS) palīdzību, kas uztur līdzsvaru starp acs iekšējā šķidruma produkciju un attecī. Spiedienu var ietekmēt vairāki faktori, piemēram, ārējs mehāniskais spiediens, cīpslenes stingrība un intraokulāras izmaiņas, kā arī medikamenti, kas maina acs iekšējā šķidruma veidošanos un tā attecī, vai maina ārējo acs muskuļu tonusu. Ja radzenes bojājumu gadījumos ārstēšanas procesā tiek lietoti narkozes līdzekļi, kas paaugstina acs iekšējo spiedienu, ir iespējama acs radzenes plīšana un pat varavīksnenes izkritums (Brunson, 1980; Cunningham, Barry, 1986; Brooks, 1990; Chmielewski et al., 1997).

Mūsdienās ketamīna hidrohlorīdu kombinācijās ar citiem medikamentiem bieži izmanto dzīvnieku vispārējai narkozei.

Literatūrā ir visai pretrunīgi dati par ketamīna ietekmi uz acs iekšējo spiedienu (IOS) dzīvniekiem. Piemēram, trušiem un kaķiem pēc ketamīna lietošanas novēro acs iekšējā spiediena paaugstināšanos (Hahnenberger, 1976; Antal et al., 1978), bet suņiem pēc ketamīna intramuskulāras vai intravenozas injekcijas, vai lietojot 10 mg/kg ketamīnu kopā ar premedikāciju – acepromazīnu vai ksilazīnu, acs iekšējā spiediena būtiska paaugstināšanās netika novērota (Gelatt et al., 1977). Tomēr citi autori novērojuši, ka lietojot ketamīnu kopā ar ksilazīnu, suņiem acs iekšējais spiediens palielinājies, bet zirgiem, tieši pretēji, tas samazinājies (Trim et al., 1985; Thurmon et al., 1996).

Mūsu **darba mērķis** bija izpētīt ketamīna hidrohlorīda ietekmi uz acs iekšējo spiedienu un acs zīlītes diametru suņiem.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījumi tika veikti 2007. gadā Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Preklīniskajā institūtā. Pētījuma veikšanai saņemta Latvijas Republikas Pārtikas un Veterinārā dienesta Dzīvnieku aizsardzības un ētikas komisijas atļauja.

Visi pētījumā iekļautie dzīvnieki vispirms tika izmeklēti klīniski un oftalmoloģiski. Oftalmoloģiskajā izmeklēšanā ietilpa biomikroskopija (acs izmeklēšana ar spraugas lampu) un tiešā un monookulārā oftalmoskopija ar oftalmoskopu *Pan Optic® (Welch Allyn, USA)*. Tālākajā pētījuma gaitā izmantojām 10 klīniski veselus dažādu šķirņu, vecuma un dzimuma dzīvniekus, kuriem nebija oftalmoloģiskas patoloģijas, kas varētu ietekmēt acs iekšējo spiedienu.

Lai noskaidrotu ketamīna hidrohlorīda ietekmi uz intraokulāro spiedienu (IOS) suņiem un acs horizontālo zīlītes diametru (HZD), visiem dzīvniekiem izmantojām medikamenta devu - 20 mg/kg intravenozi. Jāatzīmē, ka šādu ketamīna hidrohlorīda devu izvēlējāmies, pamatoties uz literatūras datiem, kuros uzsvērts, ka deva 20 - 22 mg/kg nodrošina optimālu anestēziju suņiem ķirurģisko manipulāciju veikšanai (Thurmon et al., 1996).

Acis iekšējo spiedienu noteicām ar kontakta tonometru *TonoVet® (Tiolat Ltd. Finland)*, kura uzrādīto mērījumu standartklūda ir mazāka par 5%. Pirms šāda veida tonometra lietošanas lokāla anestēzija dzīvniekiem nav nepieciešama. Tas ir būtiski, jo pētījumi parāda, ka pēc biežas lokālo anestēzijas līdzekļu lietošanas dzīvniekiem var novērot zināmas radzenes endotēlija izmaiņas (Judge et al., 1997; McGee, Fraunfelder, 2007). Acis horizontālais zīlītes diametrs mērīts dienas gaismā ar *Jameson (ASV)* milimetra mērītāju. Acis IOS un HZD suņiem tika mērīts ik pēc 5 minūtēm kopumā 35 minūtes.

Iegūto datu apstrādi veicām izmantojot statistisko datu apstrādes programmu SPSS 11.5 (ar varbūtību 95% jeb ar būtiskuma līmeni  $p < 0.05$ ). Lai noskaidrotu ketamīna hidrohlorīda ietekmi uz acs iekšējo spiedienu un zīlītes diametru, datu statistiskai apstrādei tika izmantotas aritmētiski vidējās vērtības ( $X$ ). Acis iekšējā spiediena un acs zīlītes diametra izmaiņu starpību labajā un kreisajā acī, kā arī mērījumu atšķirības pirms un pēc medikamenta ievadīšanas novērtējām, izmantojot divu paraugkopu T – testu (Arhipova, Bāliņa, 2006).

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

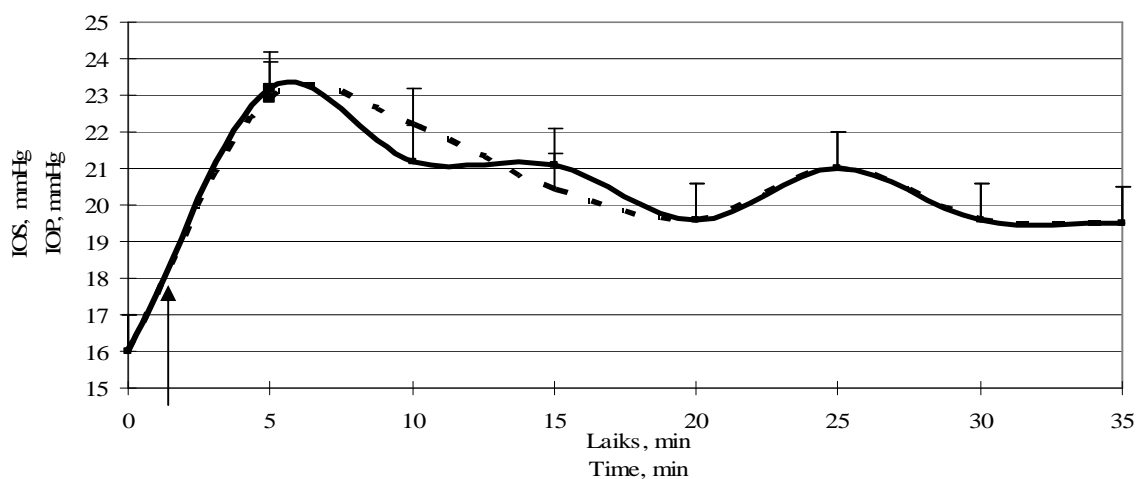
Vispirms visiem suņiem noteicām acs iekšējā spiediena izejas stāvokli pirms ketamīna hidrohlorīda injekcijas. Konstatējām, ka IOS gan labajā, gan kreisajā acī suņiem bija vienāds - vidēji  $16 \pm 3.19$  mmHg. Jāatzīmē, ka acs IOS abās acīs pirms medikamenta ievadīšanas būtiski neatšķīrās ( $p > 0.05$ ). Principā, mūsu konstatētais IOS neatšķiras no citu autoru iegūtajiem datiem, kuros atzīmēts, ka suņiem IOS svārstības no  $16.7 \pm 4$  mmHg līdz  $18.7 \pm 5.5$  mmHg uzskatāmas par normu (Miller et al., 1993; Gellat, MacKey, 1998).

Ketamīna hidrohlorīda ietekme uz acs iekšējo spiedienu atspoguļota pirmajā attēlā. Strauju un būtisku acs spiediena paaugstināšanos novērojām tūlīt pēc ketamīna injekcijas un piecu minūšu laikā IOS sasniedza jau  $23.2 \pm 5.75$  mmHg labajā acī un  $22.9 \pm 5.89$  mmHg kreisajā acī ( $p < 0.05$ ). Vienam dzīvniekam IOS paaugstinājās līdz pat 34 mmHg. Jāatzīmē, ka tūlīt pēc injekcijas veikšanas dzīvniekiem novēroja arī zināmu paaugstinātu skeleta muskuļu tonusu, kontrakcijas, kā arī pastiprinātu siekalošanos. Tas, pirmkārt, norāda uz ketamīna hidrohlorīda sistēmisko ietekmi dzīvnieka organismā, un, otrkārt, parāda acs IOP paaugstināšanās saistību ar pastiprinātām muskuļu kontrakcijām. Literatūrā atzīmēts, ka arī mehāniski saspižot suņu kaklu ar kakla siksnu, tiem strauji palielinās acs iekšējais spiediens (Pauli et al., 2006).

Sākot ar piekto minūti pēc ketamīna hidrohlorīda injekcijas, acs IOS viļņveidīgi samazinājās, 20-tajā minūtē sniedzot  $19.6 \pm 4.16$  mmHg, kas tomēr joprojām bija statistiski būtiski augstāks nekā pirms medikamenta injekcijas ( $p < 0.05$ ). Otrs neliels IOS paaugstināšanās vilnis bija novērojams 25. minūtē, kad IOS sasniedza  $21 \pm 4.34$  mmHg (sk.

1. att.). Pēc tam acs iekšējais spiediens atkal samazinājās un 35 minūtes pēc injekcijas abās acīs tas sasniedza  $19.5 \pm 3.40$  mmHg, joprojām paliekot būtiski augstāks nekā pirms injekcijas veikšanas. Jāatzīmē, ka visu pētījumu laiku suņiem nebija atšķirības starp acs spiediena paaugstināšanās lielumu labajā acī un kreisajā kontroles aci (sk. 1. att.).

Mūsu iegūtie dati zināmā mērā atšķirās no Hofmeistera ar līdzautoru iegūtajiem datiem (Hofmeister et al., 2006). Autori būtisku IOS paaugstināšanos piecas un desmit minūtes pēc ketamīna injekcijas novēroja tiem suņiem, kuriem ketamīna hidrohlorīda deva bijusi 5 mg/kg, bet dzīvniekiem, kuriem ketamīna devu paaugstināja līdz 10 mg/kg, IOS paaugstināšanos nenovēroja. Autori uzskata, ka palielināta ketamīna deva izsauc dziļāku dzīvnieka sedāciju. Mūsu pētījumos suņiem izmantotā ketamīna hidrohlorīda deva 20 mg/kg padziļinātu sedāciju neizraisīja, jo dzīvniekiem novēroja zināmu paaugstinātu muskuļu tonusu un nelielas muskuļu kontrakcijas.

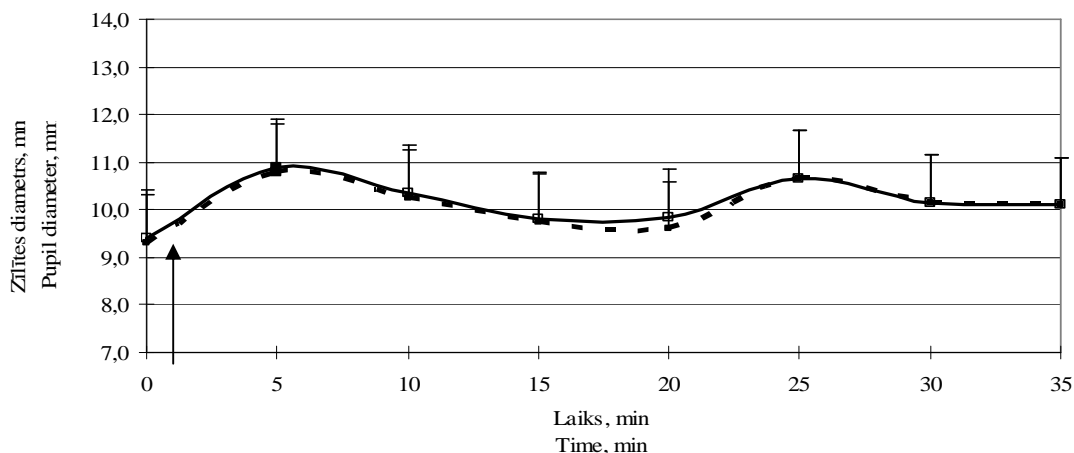


1. attēls. Acs iekšējā spiediena izmaiņas (vidējās vērtības) suņiem ketamīna hidrohlorīda ietekmē

Figure. 1. Effects of ketamine hydrochloride on intraocular pressure (mean values) in dog's eye

- labā acs/ right eye
- .....kreisā acs/ left eye
- ↑ – injekcijas brīdis/ time of injection

Kopējās acs horizontālā zīlītes diametra izmaiņas ketamīna hidrochlorīda ietekmē atspoguļotas otrajā attēlā.



## 2. attēls. Acs zīlītes diametra izmaiņas (vidējās vērtības) suņiem ketamīna hidrochlorīda ietekmē

Figure. 2. Effects of ketamine hydrochloride on pupil diameter (mean values) in dog's eye

- labā acs/ right eye
- kreisā acs/ left eye
- ↑ – injekcijas brīdis/ time of injection

Izrādījās, ka vidējais HZD līmenis pirms ketamīna hidrochlorīda injekcijas labajā acī bija  $9.35 \pm 2.13$  mm, bet kreisajā –  $9.3 \pm 2.04$  mm.

Jau piektajā minūtē pēc ketamīna intravenozas ievadīšanas horizontālais zīlītes diametrs sāka būtiski palielināties abās acīs ( $p < 0.05$ ), sasniedzot  $10.9 \pm 2.19$  mm labajā acī un  $10.8 \pm 2.35$  mm kreisajā. Tad HZD sāka nedaudz samazināties, 15. minūtē tas sasniedza  $9.8 \pm 1.13$  mm labajā acī un  $9.75 \pm 1.08$  mm kreisajā. Otra neliela acs zīlītes paplašināšanās suņiem bija novērojama 25. minūtē pēc ketamīna ievadīšanas ( $p > 0.05$ ) un pētījuma beigās 35. minūtē acs zīlītes diametrs abās acīs dzīvniekiem bija  $10.1 \pm 1.59$  mm (sk. 2. att.). Visu pētījuma laiku acs zīlītes diametra rādītāji labajā un kreisajā acī bija praktiski vienādi.

Jāatzīmē, ka suņiem pēc ketamīna hidrochlorīda injekcijas, acs zīlītes diametrs būtiski palielinājās tikai piektajā minūtē pēc tā ievadīšanas, kad vienlaicīgi tika novērota arī strauja acs iekšējā spiediena palielināšanās. Uz jautājumu, kāds ir šo abu funkciju saistību mehānisms, pašreiz nevaram atbildēt. Tam nepieciešami turpmāki padziļināti pētījumi.

## SECINĀJUMI

1. Ketamīna hidrochlorīds strauji paaugstina acs iekšējo spiedienu jau pirmajās piecās minūtēs pēc tā injekcijas un tāds tas saglabājas vismaz vēl 35 minūtes pēc medikamenta intravenozas injekcijas.

2. Acs zīlītes diametrs statistiski būtiski palielinājās tikai piecas minūtes pēc ketamīna hidrochlorīda injekcijas, kad vienlaicīgi strauji paaugstinājās arī acs iekšējais spiediens.

3. Tā kā ketamīna hidrochlorīds būtiski palielina acs iekšējo spiedienu tā lietošana nav ieteicama suņiem ar radzenes traumu, perforāciju, kā arī radzenes čūlu un glaukomu.

## LITERATŪRA

1. Antal, M., Musci, G., Faludi, A. Ketamine anaesthesia and intraocular pressure. *Ann Ophthalmol.* 1978; 10: 1281 – 1284.
2. Arhipova, I., Bāliņa, S. *Statistika ekonomikā un biznesā. Datorzinību cests*, Rīga. 2006: 131-151.
3. Brooks, D. E. Glaucoma in dog and cat. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1990; 20: 775-797.
4. Brunson, D. B. Anesthesia in ophthalmic surgery. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1980; 10: 481-495.
5. Chmielewski, N. T., Brooks, D. E., Smith, P. J., et al. Visual outcome and ocular survival following iris prolapse in the horse: a review of 32 cases. *Equine Vet J.* 1997; 29: 31-39.
6. Cunningham, A. J., Barry, P. Intraocular pressure - physiology and implications for anaesthetic management. *Can Anaesth Soc J.* 1986; 33: 195- 208.
7. Gelatt, K. N., Gwin, R. M., Peifer, R. L., et al. Tonography in the normal and glaucomatous Beagle. *Am J Vet Res.* 1977; 38: 515- 520.
8. Gelatt, K. N., MacKay, E. O. Distribution of intraocular pressure in dogs. *Veterinary Ophthalmology.* 1998; 1: 109-114.
9. Hahnenberger, R. W. Influence of various anaesthetic drugs on the intraocular pressure in cats. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1976; 199: 179-186.
10. Hofmeister, E. H., Mosunic, C. B., Torres, B. T., et al. Effects of ketamine, diazepam, and their combination on intraocular pressure in clinically normal dogs. *American Journal Veterinary Research.* 2006; 67(7):1136- 1139.
11. Judge, A. J., Najafi, K., Lee, D. A., Miller, K. M. Corneal endothelial toxicity of topical anesthesia. *Ophthalmology.* 1997; 104: 1373-1379.
12. McGee, H. T., Fraunfelder, F. W. Toxicities of topical ophthalmic anaesthetics. *Expert Opinion on Drug Safety.* 2007; 6: 637-640.
13. Miller, P. E., Pickett, J. P., Majors, L. J. et al. Clinical comparison of the Mackay-Marg and Tonopen applanation tonometers in the dog. *Progress in Veterinary and Companion ophthalmology.* 1993; 3: 67-73.
14. Pauli, A. M., Bentley, E., Diehl, K. A., Miller, P. E. Effects of the application of Neck pressure by a collar or harness on intraocular pressure. *Journal of the Animal Hospital Association.* 2006; 42: 207-211.
15. Thurmon, J. C., Tranquilli, W. J., Benson, G. J. *Veterinary Anesthesia* 3<sup>rd</sup> edition, William&Wilkins, Baltimore, USA. 1996; 184.
16. Trim, C. M., Colbern, G. T., Martin, C. L. Effect of xylazine and ketamine on intraocular pressure in horses. *Vet Rec.* 1985; 117: 442.

# KRITĒRIJI SKOLĒNU ĒDINĀŠANAS KVALITĀTES NOVĒRTĒŠANAI CRITERIA FOR PUPILS' CATERING QUALITY EVALUATION

V.Kozule<sup>1</sup>, I. Vingris, I.Skrupskis<sup>1</sup>, J. Aržanika

<sup>1</sup> LLU Uztura katedra, <sup>2</sup> LLU Pārtikas un vides higiēnas institūts

<sup>1</sup> Department of Nutrition LUA <sup>2</sup> Institute of Food and Environmental Hygiene LUA

[v.kozule@inbox.lv](mailto:v.kozule@inbox.lv)

## ABSTRACT

The real situation of pupils catering at schools is studied by carrying out pupils' questionnaires. Tasks for schools are worked out, which are connected with the involvement of catering organizers and enforcement of contractual commitments. As a result of the work 10 basic criteria are elaborated. According to them pupils' catering quality in different schools can be evaluated and compared. Availability of meals for all pupils at schools is assessed. A recommendable scheme of service organization in school canteens is developed. Methodology for calculation of the lunch break length is worked out.

**KEY WORDS:** pupils, lunch, menu, quality

## IEVADS

Bērna organisma uzbūvei un dzīvības norisēm tajā nepieciešams tūkstošiem vielu noteiktā daudzumā un savstarpējā līdzsvarā, tāpēc to piegādātājam- uzturam jābūt pilnvērtīgam. Pusotru gadu pēc neveselīgās pārtikas tirdzniecības aizlieguma skolās, jākonstatē, ka noteikumus ne visas mācību iestādes ievēro, un ar skolēnu veselību joprojām lepoties nevar. Nedrīkst nonākt līdz situācijai, kad valstī drīkst popularizēt tikai burkānu diētu, lai gan dārzeņi ir neatņemama sastāvdaļa ikdienas uzturā. Tie ir bagāti ar bioloģiski aktīvām vielām – šķiedrvielām, oļhidrātiem, minerālvielām, organiskajām skābēm, ēteriskajām eļļām, vitamīniem. Tomēr sabalansētā ēdienkartē ir nepieciešami dažādi produkti. Katrs no tiem dažādi ietekmē bērna organisma fizioloģiskās norises. Bez tam ik brīdī vielmaiņā notiek daudz bioķīmisko reakciju, kurās iesaistās ar uzturu uzņemtie savienojumi. Lai šīm reakcijām nepietrūktu materiāla, uzturam ir jābūt maksimāli dažādam un pietiekamam. Ilgstoši vienpusīgs un nepietiekams bērna uzturs ar mazu uzturvielām sortimentu šo prasību neapmierina. [ 2, 4, 6, 7 ]

Darba mērķis: izstrādāt kritērijus skolēnu ēdināšanas kvalitātes novērtēšanai.

Lai realizētu pētījumu mērķi, tika izvirzīti sekojoši uzdevumi:

1. Veikt skolēnu anketēšanu (lai apzinātu reālo situāciju par skolēnu ēdināšanu);
2. Aprēķināt skolu ēdienkaršu uzturvērtību;
3. Izstrādāt apkalpošanas organizācijas shēmu;
4. Izstrādāt kritērijus skolēnu ēdināšanas kvalitātes novērtēšanai .

## MATERIĀLI UN METODES

**Pētījumu objekts bija visu vecumu Latvijas skolu skolēni un skolu ēdnīcas.**

**Metodes** – anketēšana, analīze, matemātiskie aprēķini.

Darba mērķa sasniegšanai tika izstrādātas aptaujas anketas par skolēnu uztura jautājumiem un veikta **skolēnu anketēšana** (aptaujāti 3000 skolēni 53 Latvijas skolās). Lai novērtētu skolu pusdienu uzturvērtību, veikti skolu **ēdienkaršu uzturvērtības aprēķini**. Darbā izmantota ekspertmetode. Pēc iegūto rezultātu analīzes izstrādāti **Kritēriji skolēnu ēdināšanas kvalitātes novērtēšanai**. Skolēnu ēdināšanas organizācija skolās ietver **3 pamatuzdevumus**:

- noteikt optimālāko ēdināšanas laiku un ēdienreizes visas skolas dienas garumā,
- nodrošināt iespēju paēst visiem skolēniem,
- nodrošināt veselīgu, drošu un pietiekamu uzturu par noteiktu naudas summu.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Kā liecina skolēnu aptauju rezultāti, mūsu valstī ~ ½ skolēnu nepaēd pietiekamas brokastis, tādēļ nevar sagaidīt skolā iepiņāto ēdienreizi (jūtas izsalkuši) un ir izteikuši vēlēšanos skolā,

paēst otrās brokastis. Daudzās skolās, kur skolēni paši ēdienus izvēlas pie ēdienu sadales, pusdienu starpbrīža laikā nevar izstāvēt rindu un nesteidzoties paēst, tāpēc nopērk kafējnicā vai tuvumā esošā veikalā pusdienām nepiemērotu ēdamo ( pamatā našķus un neveselīgus dzērienus). Ja skolēnu ēdināšanu veic firmas, ēdieni ir salīdzinoši dārgi, ko atzīst arī skolēni un min kā iemeslu , kāpēc neēd skolas pusdienas. Skolās netiek veikta nekāda bērnu ēdināšanas apzināšana. Vairākās Latvijas skolās ēdnīcas vispār ir slēgtas, jo neapmierina ēdināšanas firmu darbs un citu risinājumu nemeklē. Aprēķinot reālo ēdienkaršu uzturvērtību, jāsecina, ka daudzās skolās tā neatbilst jēdzienam – pareizs, sabalansēts uzturs, tas nenodrošina augoša organisma būtiskas vajadzības [1 ]. Reālā situācija ir tāda, ka bērnu ēdināšanai skolā kā pamatkritērijs ir nauda. Atkarībā no tā vai ēdnīca ir pašvaldības vai ēdināšanas firmas pārziņā, pietiekamas, sabalansētas skolēnu pusdienas maksā no 0,65 – 2,0 Ls, (Pēdējam - 300 % uzcenojums, lai segtu firmas izdevumus un gūtu peļņu). Turpinās risinājumu meklējumi kā par valsts piešķirtiem 0,80 Ls paēdināt visus 1. klašu skolēnus.

Izstrādāti **10 pamatkritēriji**, pēc kuriem var novērtēt un salīdzināt skolēnu ēdināšanas kvalitāti un atbildību dažādās skolās. Kritēriji un optimālais novērtējums redzams 1.tabulā.

1. tabula / Table 1

**Skolēnu ēdināšanas kvalitātes vērtēšanas kopsavilkums [ 5 ]**

( Vērtēšana pēc 10 balļu skalas)

**Summary of pupils' catering quality evaluation(evaluation according to 10 grade scale)**

N.p. k./ Nr.	Kritēriji Criteria	Balles*/Grades		
		Kopā Total	Tai skaitā/Including	
			Skolai School	Ēdnīcai Canteen
1.	Skolas ēdienreizes atbilstoši skolēnu dienas režīmam School meals according to pupils' daily regime	1	0,5	0,5
2.	Mācību un uzturēšanās laikā skolā radīta iespēja paēst visiem skolēniem / Meals are available to all pupils during training and staying at school	1	0,5	0,5
3.	Apkalpošanas organizācijas shēma Scheme of service organization	2	0,7	1,3
3.1.	Ēdināšanas nodrošinājums visiem skolēniem Provision of meals for all pupils	t. sk. 0,5 includ.	0,2	0,3
3.2.	Pusdienu starpbrīža garuma aprēķināšana Calculation of dinner break length	1,5	0,5	1
4.	Sabalansētas ēdienkartes / Balanced menus	2		2
5.	Izvēles ēdienkartes / Alternative menus	0,5		0,5
6.	Skolas piena programma / School milk program	0,5	0,2	0,3
7.	Jaunievecumi ēdienu piedāvājumā un apkalpošanā Innovations in food offer and service	0,5		0,5
8.	Ēdienu un apkalpošanas kvalitāte / Food and service quality	1,5		1,5
9.	PVD pārbažu rezultāti un paškontrolē Results and self-control of FVS inspections	0,7		0,7
10.	Ēdnīcas darbinieku kvalifikācijas paaugstināšana Inservice training of canteen employees	0,3		0,3
<b>Kopā: Total</b>		<b>10</b>	<b>1,9</b>	<b>8,1</b>

\* Balles noteiktas pēc uzdevuma svarīguma ēdināšanas kvalitātes nodrošināšanā.

**Pirmie trīs uzdevumi jāveic mācību gada sākumā.**

Katram kritērijam izstrādāts skaidrojums un noteikts vērtēšanas objekts.

**Pamatojoties uz anketēšanas rezultātiem, parādīta pirmo 3 kritēriju izpilde.** 2. tab.

redzams skolēnu ēdināšanas režīma ieteikums. 3. tabulā - ēdienreizēs plānoto skolēnu skaits, 4. tabulā – ēdināšanas nodrošinājums visiem skolēniem.

## 1. Skolas ēdienreizes atbilstoši skolēnu dienas režīmam

2. tabula / Table 2

### Skolēnu dienas un ēdināšanas režīms Pupils' daily and catering regime

Dienas režīms / Daily regime		Ēdināšanas režīms / Catering regime				Atbildīgi*** Executives	
Darbības / Activities	Plkst.**/Time	Ēdienreizes / Meals		Laiks*** /Time	Uztura daudz. % Food quantity, %	Skola School	Ēdnīca Canteen
Celšanās* Getting up	6.30 - 7.00	Brokastis Breakfast	<b>Mājās At home</b>	7.00	10 - 20		
Mācības skolā – 1. – 4. kl. Training at school	8.00 – 12.00 5. – 9. kl. 8.00 – 14.00 10. – 12.kl. 8.00 – 16.00	2. brokastis Pusdienas Pusdienas Lunch Dinner	<b>Skolā At school</b>	9-10.00 11.30 - 13.00	10 – 15 25 - 35	+ +	+ +
Pagarinātās dienas grupa, pulciņi u. c. Pasākumi / Day- care-center, hobby groups and other activities	13.00- 16.00	Launags Afternoon snack	<b>Skolā At school</b>	15.00- 16.00	10 - 15	+	+

\* Atkarīgs no **attāluma** līdz skolai;

\*\* Ieraksta **reālos laikus** no apkopotām aptaujas anketām un skolas mācību režīma (stundu saraksta);

\*\*\* **Skola** sagatavo ziņas, (veic skolēnu aptauju un apkopo iegūtos datus), **ēdnīca** - nodrošina atbilstošu ēdināšanu



2. Mācību un uzturēšanās laikā skolā radīta iespēja paēst visiem skolēniem ( 3. tabula )

3. tabula / Table 3

**Ēdienreizēs plānotais skolēnu skaits**  
**Planned number of pupils at meals**

Klašu grupas Forms	Uzturēšanās laiks skolā <b>no – līdz, plkst.</b> Time spent at school <b>from – till, time</b>	Skolēnu skaits / Number of pupils				
		Klašu grupās In forms	Ēdienreizes* / Meals			
			Brokastis Breakfast	<b>2. brokastis</b> <b>Lunch</b>	<b>Pusdienas</b> <b>Dinner</b>	<b>Launags</b> <b>Afternoon snack</b>
1. – 2.	8 – 12.30 ( pagar. -16.00)	100		100	100	30
3 - 4.	8 – 12.30 (pagar. -16.00)	200		200	200	20
5. - 6.	8 – 14.00 ( 16.00)	200		70	200	20
7. - 9.	8 – 15.00 ( 16.00)	200		60	200	20
10 - 12	8 – 16.00	100			100	20
	<b>Kopā / Total</b>	<b>800</b>		<b>430</b>	<b>800</b>	<b>110</b>
	<b>%</b>	<b>100</b>	X=	X= <b>54</b>	X= <b>100</b>	X= <b>14</b>

\* Katrā skolā raksta **tās ēdienreizes**, kuras nepieciešams, ņemot par pamatu iepriekšējās ziņas ( 2. tabula).  
Aizpildot, ieraksta **skolēnu skaitu**, kuriem nepieciešama attiecīgā ēdienreize (ziņas no aptauju rezultātiem);

3. Ēdināšanas nodrošinājums visiem skolēniem (Piemēru skatīt 4. tabulā, to veic mācību gada sākumā).

4. tabula / Table 4

Ēdināšanas laiku plānojums [3, 5 ]  
Planning of catering times

Ēdnīcā/ Canteen

<i>Ēdienrežu</i> starplaiks, st. * Interval between <i>meals</i> , h	6									
	5									
	4									
	3									
	2									
<i>Pulksteņa</i> laiks, stundas <i>Time</i> , hours	7*	8	9*	10*	11	12*	13*	14	15*	16*
<i>Uztura režīms</i> ** <i>Nutrition regime</i>	B		2.B		P	P	P		L	
<i>Uztura daudz.</i> % <i>Food quantity</i> , %	10 -20		10 -15		25 -	35			10 - 15	
Maiņa / Shift										
Klašu grupas / Forms			1. – 2.	3.– 4.	5. – 6./	1. -2./ 7. – 9.	3. -4./ 10.- 12.		1. – 4.	5.-12.
<b>Skolēnu skaits</b> <b>Number of pupils</b>			<b>100</b>	<b>70</b>	<b>200</b>	<b>100 / 200</b>	<b>200 / 100</b>		<b>50</b>	<b>60</b>

Kafejnīcā/ Cafe

Klašu grupas/Forms			No 5.	5. – 6.	7. – 9.					
<b>Skolēnu skaits</b> <b>Number of pupils</b>				<b>70</b>	<b>60</b>					

*	Atkarībā no <b>brokastošanas laika</b> un <b>uztura daudzuma</b> brokastīs, nosaka <b>nākošās ēdienreizes laiku</b> (otrās brokastis vai pusdienas) / <b>The next time of meal</b> (lunch or dinner) depends on <b>breakfast time</b> and <b>food quantity</b> at breakfast.	**	<b>B</b> – brokastis breakfast	<b>P</b> – pusdienas dinner
			<b>2 B</b> - otrās brokastis lunch	<b>L</b> – launags afternoon snack

## SECINĀJUMI

1. Latvijas skolās ir ļoti atšķirīga skolēnu ēdināšana gan ēdienreižu, gan izmaksu ziņā (ir skolas, kurās dod tikai pusdienas, bet ir arī - brokastis, pusdienas, launags, izmaksas – no 0,30 līdz 1,20 Ls par ēdienreizi);
2. Aprēķinot skolu ēdnīcu ēdienkaršu uzturvērtību jākonstatē, ka skolēnu uzturs ir nepietiekams un nesabalansēts, neatkarīgi no izmaksām;
3. Lai mazākas būtu ēdienu izmaksas, pārsvarā tiek izmantoti lētākie, mazvērtīgākie produkti ( piem.: vistu muguriņas, maltā gaļa, lētie cīsiņi, desas, krabju nūjiņas, u. c.)
4. Ja ēdināšanu organizē firmas, ēdieni ir dārgi un daļa skolēnu tos nevar atļauties;
5. Lielajās skolās, kur ēdienus izvēlas pie ēdienu sadales, nav atrisināta ātrāka apkalpošana un liela daļa skolēnu nevar izstāvēt rindu plānotajā pusdienu starpbrīdī;
6. Skolēnu ēdināšanas organizāciju sekmīgi var atrisināt, sadarbojoties skolas vadībai, bērnu vecākiem, skolēniem, ēdināšanas uzņēmumam un PVD ;
7. Izstrādātie kritēriji ļaus precīzāk novērtēt un sakārtot skolēnu ēdināšanu Latvijas skolās kopumā.

## LITERATŪRA

1. KR MK 2002. gada 27. decembra noteikumi Nr. 610 “Higiēnas prasības vispārējās pamatizglītības, vispārējās vidējās izglītības un profesionālās izglītības iestādēm”;
2. Melngaile A. Ēdināšanas biznesa veicināšana skolā. Jaunākās tendences kvalitatīvas pārtikas ražošanā. Starptautiskas zin. konf. Materiāli. Jelgava, LLU, 2002. – 143 – 151. lpp.
3. Kozule V., Straume I., Sabalansētu ēdienkaršu sastādīšana 1. – 4. klašu skolēniem, Latvijas Republikas veselības ministrija, 2007. g., Rīga, 80 lpp.
4. Skrupskis I., Millere I., Medne L. Ēdināšanas darba organizācija skolās un pirmsskolas izglītības iestādēs, Rokasgrāmata 1. daļa, Viesnīcu un restorānu mācību centrs, Rīga, 2007. 96 lpp.;
5. Kozule V., Ēdināšanas darba organizācija skolās un pirmsskolas izglītības iestādēs, Rokasgrāmata 2. daļa, Viesnīcu un restorānu mācību centrs, Rīga, 2007. 113 lpp.;
6. Melngaile A., Skrupskis I., Krūmiņa G., Kozule V., Boča S. Uzturmācība un skolēnu ēdināšana. Starptautiskas zinātniski- praktiskās konferences materiāli. Jelgava, LLU, 2003. 83 – 89 lpp.
7. Child Nutrition Programs: School Meal Initiative for Healthy Children: Final Rule. US Department of Agriculture, Food and Consumer Service. Federal Register. 1995, June 13 Vol. 60 N 113:63

# **NEOSPORA CANINUM ANTIBODIES IN BULK MILK AND SERUM FROM ESTONIAN DAIRY FARMS**

**Brian Lassen, Arvo Viltrop, Kerli Raaperi, Toivo Järvis**

Estonian University of Life Sciences, Estonia

[brian.lassen@gmail.com](mailto:brian.lassen@gmail.com)

## **ABSTRACT**

*Neospora caninum* is a protozoan pathogen related to abortions and stillbirths of cattle around the world. We present the first results in Estonia on this parasite. For analysis of bulk milk and serum samples SVANOVIR@Neospora-ab ELISA kit (SVANOVA) were used with cut-off  $\geq 20\%$  of the positive control (percent of positive value, PP). Bulk milk samples from 2007 and 2008 (N=65 and N=320) were screened, resulting in 26 and 16% herd prevalences. Additionally, two farms positive in the bulk milk testing were selected for serological examination of individual cattle (N=59 and N=20). Serum were positive for Neospora in 23% of the tested animals. Estonia has considerable levels of antibody positive herds and animals, and Neospora is likely to be a cause of abortions. Future case studies are required to verify Neospora as cause of abortions.

**KEYWORDS:** Neospora caninum, cattle, Estonia, milk

## **INTRODUCTION**

*Neospora caninum* has long been accepted to be a cause of abortion, stillbirths, and deformations of calves [1]. Though congenital infections is important (vertical transmission) probably is most common, postnatal infections, most likely from the definitive host (the dog), is probably required to keep the infection in the herd [2]. In Estonia udder diseases and reproductive problems are competing to be the leading cause of culling in dairy production animals, but investigations of Neospora has not previously been attempted [6]. In order to establish an estimate of farms with *Neospora caninum* we screened bulk milk and serum samples for specific antibodies.

## **MATERIALS AND METHODS**

Bulk milk samples from 65 and 320 different dairy farms were collected in 2007 and 2008 respectively, and tested for antibodies against Neospora using and following the instructions of the commercially available iscom-ELISA kit (SVANOVIR® Neospora-ab ELISA, SVANOVA). Skimmed milk samples were diluted 1:2 and serum 1:100 in PBS-tween. Cut off value  $\geq 20\%$  of the kits positive control (PP = OD sample/OD positive control \* 100), as recommended by the manufacturer. Two positive herds from the 2007 study were selected and 59 and 24 different blood samples were tested respectively for Neospora antibodies with the same kit.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Samples collected in 2007 tested 17 out of 65 herds (26%) positive for Neospora. The two farms examined for serum antigens had 20 (33%) and 5 (19%) animals positive respectively. Average of the individual samples was calculated to 23%. Fifty two bulk milk samples out of 320 herds (16%) were positive for the parasite in 2008 (Table 1).

Although the used test is good at detecting *Neospora caninum* in infected herds, it is difficult to establish more than the presence of the pathogen in a sample. In this study it is clear that around 1/5 Estonian herds have infected animals. More serum samples needs examination to establish an individual prevalence, with inclusion of farms testing negative on the bulk milk

sample. The tested serum from the two positive farms gives the impression that bulk milk positive farms can have a fairly large number of animals positive as well in Estonia. When comparing to other studies investigating *Neospora caninum* prevalences by the presence of antibodies, care has to be taken due to the variety in methods. European studies report prevalences in individual cattle serum samples between 2-36%, with an average around 11% [2]. Our selected farms averaged 23% of all animals seropositive, but a larger sample size is needed for comparison. If only comparing to other studies with the same method examining bulk milk prevalences we found 1.01% in Czech (N=495), and 15.5% in Latvia herds (N=142) [2,3]. Compared to these studies Estonia seems to have more farms with infected animals. Presence of antibodies against *Neospora caninum* does not equal an aborting animal [5]. Risk of abortion in seropositive cow studies do show a dramatically 2-3,5 times increase, and up to 7,4 times in congenital infected heifers in first pregnancy [6,9]. There is still unsolved mysteries regarding the transmission of dog oocysts, and cattle infections. Studies do indicate there is a connection between seropositive cattle and the occurrence and amount of farm dogs [7,8]. Dogs are commonplace companion animals in Estonian farms. Interesting for further examinations of aborted calves and fetuses is of interest in establishing the extent of neosporosis as a causal factor in Estonia. Additionally, we plan to examine the serology of our tested samples in this study for additional pathogens to evaluate the risks factors associated with abortions.

Table 1

**Herds and cattle tested for *Neospora caninum* antibodies**

	N	Cut-off (% of positive control)	Range of positives (%)	Positive (N)	Positive (%)
2007					
Bulk milk	65	≥20	21-53	17	26
Blood, farm 1	59	≥20	20-108	20	33
Blood, farm 2	24	≥20	20-90	5	19
2008					
Bulk milk	320	≥20	20-106	52	16

## CONCLUSION

Estonian herd and animal antibody prevalence can be considered a possible contributing factor to abortions and reproductive problems. Methods to investigate case studies to determine *Neospora* as an actual cause of reproductive problems is being implemented. The data is also currently being used in a wider epidemiological study of the risks involved in abortions.

## REFERENCES

1. Dubey, JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. 2003. Korean J Parasitol. 41(1): 1-16.
2. Eihvalde, E., Keidans, P., Antane V. Serological examination of bulk milk samples to neosporosis in Latvia and comparison of cow's morphological composition of blood. The 2nd Scandinavian – Baltic Symposium for Parasitology. 2007. Arctic Centre, University of Lapland, Rovaniemi, Finland: 31

3. Hurkova, L., Halova, D., Modry, P. The prevalence of *Neospora caninum* antibodies in bulk milk of dairy herds in the Czech Republic: a case report. 2005. Vet. Med. - Czech, 12, 259-552.
4. Hemphill, A., Gottstein, B. A European perspective on *Neospora caninum*. 2000. Int J Parasitol. 30(8): 877-924.
5. Jenkins, M., Baszler, T., Björkman, C., Schares, G., Williams, D.. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. 2002. Int J Parasitol. 32(5): 631-6.
6. Jõudluskontrolli Keskus. Eesti Jõudluskontrolli aastaraamat 2007. 2008. Kirjastus Elmatar, Tartu
7. Ould-Amrouche A, Klein F, Osdoit C, et al. Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. 1999. Vet Res;30:531±8.
8. Mainar-Jaime RC, Thurmond MC, Berzal-Herranz B, Hietala SK. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. 1999. Vet Rec;145:72±75.
9. Thurmond M, Hietala S. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. 1997. Am J Vet Res;58:1381±5.

# THE INVESTIGATION OF SEASONAL REPRODUCTIVE DISORDERS IN LITHUANIAN WHITE FEMALE PIGS

Raimundas Lelešius<sup>1</sup>, Vilimas Sereika<sup>1</sup>, Dainius Zienius<sup>1</sup>, Julija Šilkūnaitė<sup>1</sup>

Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy<sup>1</sup>, Lithuania, [lelesiusr@yahoo.de](mailto:lelesiusr@yahoo.de)

## ABSTRACT

Despite domestication, the reproductive performance of female pigs can exhibit strong seasonal trends. Reproduction can be affected by the season and breed. So the purpose of our investigation was to analyse the seasonal reproductive performance in Lithuanian White pig breeding farm.

The investigation of reproductive performance was carried out in 2006. The role of porcine parvovirus (PPV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), classical swine fever virus (CSFV), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), porcine circovirus 2 (PCV2), *Chlamydiaceae* (*Chlamydia suis* and *Chlamydophila abortus*) infections in reproductive failure was not detected using epizootological, serological and molecular biology methods.

The seasonal differences in losses due to reproductive disorders were observed. Altogether 3154 pigs were inseminated and 572 (18.1%) returned to oestrus. It was found that 12.9% (97/752), 13.4% (107/796), 16.4% (124/755) and 28.7% (244/851) inseminated pigs returned to oestrus in I, II, III and IV quarters, respectively. Altogether 1956 (85.6%) pigs farrowed and 330 (14.4%) pigs aborted. It was found that 90.0%, 89.1%, 85.5% and 77.8% pigs (farrowings/ confirmed to be pregnant after insemination) farrowed in I, II, III and IV quarters.

**KEY WORDS:** Swine reproduction, PCR.

## INTRODUCTION

Pig farms experience big economic losses due to infectious and noninfectious reproductive disorders in Lithuania from time to time. It is well-known that infectious pathogens can play essential role in reproductive performance [3]. The role of some noninfectious factors (temperature [2], season [5], breed [7, 8] and others) are often underevaluated but it can be overevaluated also, when infectious agents are not excluded. The development and introduction of PCR methods for diagnosis of PPV, PRRSV, ADV, CSFV, BVDV, PCV 2, *Chlamydiaceae* infections enabled us to confirm or deny the etiology of infectious reproductive disorders [5]. So now the evaluation of seasonal reproductive disorders can be performed more reliably.

Considerably higher prevalence of "undiagnosed" abortions is observed in some swine farms from September through December every year [1]. But its influence on reproduction is different in various farms. Seasonal reproduction disorders can be very problematic for some breeding farms. For investigation we chose Lithuanian White pig breeding farm which experienced big losses due reproduction disorders and sent us samples of pathological material for testing with respect to infectious diseases. It was suspected that sows may abort from 30 to 110 days after breed and affected sows do not show signs of fever or toxemia. In addition, the aborted fetuses are normal in size, devoid of pathologic lesions and infectious agents are absent mostly. Serologic testing of affected sows fails to demonstrate a pathologic agent [1].

So the purpose of our investigation was to analyse the seasonal reproductive performance in Lithuanian White pig breeding farm in 2006.

## MATERIAL AND METHODS

The investigation was made in Lithuanian White pig breeding farm in 2006.

**Epizootological methods.** The epizootic situation was estimated. The analysis of reproduction data was made. The changes in occurrence of reproduction disorders during different months and quarters was studied.

### Serological methods.

**HI.** HI was performed using V-type microplates and 0.75 % human 0 group red blood cells suspension [4]. HI was performed to detect seroconversion in stillbirths.

### Molecular biology methods.

Altogether 13 samples of stillbirth and mummified fetus were taken.

**DNA extraction.** The total DNA was extracted from the homogenized tissues by phenol chloroform isoamyl alcohol method [6]. Extracted DNA was used for detection of PPV, ADV, PCV and *Chlamydiaceae* (*Chlamydia* and *Chlamydophila*).

**RNA extraction.** Trizol method was used. Extracted RNA was used for detection of PRRSV, CSFV and BVDV [6].

**PCR.** Different PCR methods (Table 1) were used to diagnose the infections of PPV (nested PCR), PRRSV (nested PCR), BVDV (nested PCR), CSFV (nested PCR), ADV (PCR), PCV2 (PCR) and *Chlamydiaceae* (*Chlamydia* and *Chlamydophila*, nested PCR) [6].

## RESULTS AND DISCUSSION

First of all the investigation of epizootic situation was carried out. No clinical or epizootological signs characteristic for CSF and ADV was found (Table 1). Boar semen samples were checked and it was found to be suitable for insemination.

The role of PPV, PRRSV, ADV, CSFV, BVDV, PCV 2, *Chlamydiaceae* (*Chlamydia suis* and *Chlamydophila abortus*) infections in reproductive failure was not determined using clinical, epizootological, serological and molecular biology methods.

Table 1

### The results of laboratory and epidemiological diagnosis for infectious agents in 2006

No.	Infectious agent	Epizootology and clinical signs	Molecular biology	
			PCR method and results	2006, XI <sup>1</sup>
				Samples tested, n
1.	PPV	Negative	Nested PCR negative	13
2.			HI negative	8
3.	PRRSV	Negative	Nested PCR negative	13
4.	BVDV	Negative	Nested PCR negative	13
5.	CSFV	Negative	Nested PCR negative	13
6.	ADV	Negative	PCR negative	13
7.	PCV2	Negative	PCR negative	13
8.	<i>Chlamydia</i>	Negative	Nested PCR negative	13
9.	<i>Chlamydophila</i>	Negative	Nested PCR negative	13

Note. XI<sup>1</sup> – November.

Of course, our results can not exclude as the direct affect, as the indirect affect of infectious diseases on reproductive performance totally, but at least it should not be overestimated.

As it is shown in Table 2, 3154 Lithuanian White pigs were inseminated in farm and 572 (18.1%) ones returned to oestrus. It was found that 12.9% (97/752), 13.4% (107/796), 16.4% (124/755) and 28.7% (244/851) inseminated pigs returned to oestrus in I, II, III and IV quarters, respectively. The worst situation was in November. It was found that percent of returned to oestrus pigs ranged from 9.9% to 36.4% in different months in 2006. The seasonal prevalence of reproductive failure was evident.



Table 2

**The results of insemination and return to oestrus of pigs in 2006**

Period		Inseminated pigs		Pigs returned to oestrus			
Month	Quater	n	n	n		%	
I	I	273	752	27	97	9.9	12.9
II		218		42		19.3	
III		261		28		10.7	
IV	II	246	796	32	107	13.0	13.4
V		286		37		12.9	
VI		264		38		14.4	
VII	III	256	755	43	124	16.8	16.4
VIII		259		44		17.0	
IX		240		37		15.4	
X	IV	275	851	72	244	26.2	28.7
XI		286		104		36.4	
XII		290		68		23.4	
I-XII	I-IV	3154		572		18.1	

As it is shown in Table 3, 1956 pigs farrowed in 2006. It was found that 330 (14.4%) sows aborted in 2006. The worst situation was in November of 2006. It was found that percent of “not in pig” sows ranged from 5.2% (March) to 27.0% (October).

It was found that in the first quarter of 2006 88.9% inseminated and confirmed pregnant pigs farrowed, in second – 87.8%, in third – 83.1% and in fourth one – 71.4%.

Altogether 1956 (85.6%) pigs farrowed and 330 (14.4%) pigs aborted. It was found that 90.0%, 89.1%, 85.5% and 77.8% pigs (farrowings/ confirmed to be pregnant after insemination) farrowed in I, II, III and IV quarters. And respectively 10.0%, 10.9%, 14.5% and 22.2% pigs aborted in I, II, III and IV quarters.

Table 3

**The data about pig farrowings and abortions in 2006**

Period		Farrowings, n		Abortions m			
Month	Quater	n	n	n		%	
I	I	143	496	23	55	13.8	10.0
II		172		22		11.3	
III		181		10		5.2	
IV	II	175	525	18	64	9.3	10.9
V		175		29		14.2	
VI		175		17		8.8	
VII	III	157	484	31	82	16.5	14.5
VIII		180		18		9.1	
IX		147		33		18.3	
X	IV	180	451	66	129	27.0	22.2
XI		151		20		11.7	
XII		120		43		26.4	
I-XII	I-IV	1956		330		14.4	

Many producers and veterinarians overlook seasonal patterns of reproductive performance in swine farms. As mentioned previously, accurate records are essential to characterize seasonal infertility and the severity of this problem varies from year to year and from farm to

farm. Unfortunately, the diagnosis of seasonal infertility is often made after the detrimental effects have decreased performance. Consequently, producers have insufficient time to institute management changes. Like so many other management procedures, prevention is the most cost effective approach to seasonal infertility [1]. Seasonal infertility is a photoperiod induced phenomenon that can be manipulated by changes in photoperiod and by accounting for season as a significant factor when feeding strategies are applied in commercial piggeries [5].

A stringent pregnancy diagnosis program is useful, particularly in the autumn months. Due to the increased incidence of pseudopregnancies and autumn abortions, producers must identify these open females as soon as possible. The forementioned procedures should prove useful to reduce the number of non-productive sow days and maintain optimum productivity [1].

However seasonal reproductive problems have a lot of (co)factors and to solve problems it is not easy [9]. Various dominating factors can be different in farms and periods.

## CONCLUSIONS

1. The role of porcine parvovirus, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Aujeszky's disease virus, classical swine fever virus, bovine viral diarrhoea virus, porcine circovirus 2, *Chlamydiaceae* (*Chlamydia suis* and *Chlamydomphila abortus*) infections in reproductive failure was not detected.
2. Symptoms of reproductive disorders and changes in frequency during different seasons are characteristic to Autumn Abortion Syndrome.
3. Losses due to Autumn Abortion Syndrome are significant and predisposing factors should be determined.

## REFERENCES

1. Almond, G. W. Seasonal infertility in female pigs. - Proceedings of North Carolina. Healthy Hog seminar. 1992.  
(<http://mark.asci.ncsu.edu/HealthyHogs/book1992/almond1.htm>)
2. Almond, P. K., Bilkei G. Seasonal infertility in large pig production units in an Eastern-European climate. – Aust. Vet. J. 2005. 83 (6): 344-346.
3. Christianson W.T. Stillbirths, mummies, abortions and early embryonic death. - Swine reproduction. 1992. 8(3): 623-639.
4. Lelešius, R., Sereika, V. Kiaulių parvovirusų antigeninių savybių tyrimas reprodukcijos sutrikimų metu. - Žemės ūkio mokslai. 1998. 3: 51- 55.
5. Peltoniemi, O.A., Virolain, J.V. Seasonality of reproduction in gilts and sows. - Soc. Reprod Fertil Suppl., 2006. 62: 205-218.
6. Sereika V., Lelešius R., Zienius D. Kai kurių infekcinių kiaulių ligų paplitimo Lietuvoje analizė. - Žemės Ūkio Mokslai. 2006. 1: 54-61.
7. Tantasuparuk, W., Lundeheim, N., Dalin, A.M., Kunavongkrit A., Einarsson S. Reproductive performance of purebred landrace and Yorkshire sows in Thailand with special reference to seasonal influence and parity number. - Theriogenology. 2000. 54 (3): 481-496.
8. Tummaruk, P., Lundeheim, N., Einarsson, S., Dalin, A.M. Repeat breeding and subsequent reproductive performance in Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows. Anim Reprod Sci. 2001. 67 (3-4): 267-280.
9. Xue, J.L., Dial, G.D., Marsh, W.E., Davies, P.R. Multiple manifestations of season on reproductive performance of commercial swine. - J. Am Vet Med Assoc. 1994. 204 (9): 1486-1489.

**PIENA UN ASIŅU BIOĶĪMISKO RĀDĪTĀJU KOPSAKARĪBAS GOVĪM  
OTRAJĀ UN CETURTAJĀ LAKTĀCIJAS MĒNESĪ.  
INTERRELATIONSHIP BETWEEN BIOCHEMICAL INDICES OF  
MILK AND BLOOD OF DAIRY COWS IN THE SECOND AND  
FOURTH MONTH OF LACTATION**

**Liepa Laima<sup>1</sup>, Dūrītis Ilmārs<sup>1</sup>, Petzāle Inese<sup>2</sup>, Rudēvica Daiga<sup>1</sup>**

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija<sup>1</sup>, Pārtikas un veterinārā dienesta Cēsu pārvalde, Latvija<sup>2</sup>.

Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia<sup>1</sup>, Food and Veterinary Service, Latvia<sup>2</sup>.

[Laima.Liepa@llu.lv](mailto:Laima.Liepa@llu.lv)

**ABSTRACT**

The aim of the study was to investigate the interrelationship of biochemical indices of milk and blood and to clarify the usefulness of correlations among biochemical indices to control the quality of nutrition and health of dairy cows.

The experiment was carried out during indoor period in one 70-cows herd, with unified nutrition. There were selected 14 dairy cows in the second month of lactation (30-60 days in milk). All milk and blood samples were collected 2 times: in the second (I) and the fourth (II) month of lactation on the monthly milk quality control (interval 62 days). Biochemical indices of milk and blood samples were statistically analyzed by SPSS 11,5.

The mean milk yield per cow I was  $22.75 \pm 1.74$  kg/day (15.10 to 35.00 kg/day), but milk yield II was much lower  $14.75 \pm 0.62$  kg/day (10.10 to 19.40 kg/day). The mean milk protein % raised significantly at this period from  $3.01 \pm 0.06$  % to  $3.12 \pm 0.05$  % ( $p < 0.01$ ), milk fat % rised from  $3.80 \pm 0.19$  % to  $3.85 \pm 0.12$  % ( $p < 0.05$ ). The mean urea concentration in milk decreased more than two times at this period ( $13.88 \pm 0.63$  mmol/l to  $6.60 \pm 0.41$  mmol/l;  $p < 0.001$ ) and in the serum ( $8.68 \pm 0.44$  mmol/l to  $3.74 \pm 0.18$  mmol/l;  $p < 0.001$ ), as well.

There was a significant difference between some serum biochemical indices I and II : total protein, GGT, cholesterol and triglycerides (Table 1).

There were established 20 significant correlations between the milk yield, somatic cell count (SCC), milk components (protein %, fat %, urea) and blood biochemical indices (total protein, albumin, urea, GGT, cholesterol, triglycerides, fibrinogen). These correlations depended on nutritional and health status and productivity of cows in the herd.

The most important conclusions are: 1) the significant correlations among the milk yield, SCC, blood and milk biochemical components are useful to advance the control of herd health and nutritional status, as well as to use in prognosing changes of milk and blood biochemical indices two months forward; 2) the urea concentration in the bovine serum has a close positive correlation with the urea level in milk in I ( $r = 0.675$ ;  $p < 0.01$ ) and II ( $r = 0.858$ ;  $p < 0.001$ ); 3) the urea concentration I in the serum of dairy cows has a tight positive correlation with milk protein % I ( $r = 0.720$ ;  $p < 0.01$ ) and serum urea I has influence on the milk protein % II ( $r = 0.710$ ;  $p < 0.01$ ); 4) the milk yield II of dairy cows significantly depends on the results of milk quality I : milk yield per day I ( $r = 0.650$ ;  $p < 0.05$ ), urea I ( $r = 0.577$ ;  $p < 0.05$ ) and fat % I ( $r = 0.615$ ;  $p < 0.05$ ); 5) the SCC II depends on the milk yield per day I ( $r = 0.673$ ;  $p < 0.01$ ) and on the health status of cows I : fibrinogen ( $r = 0.802$ ;  $p < 0.01$ ), triglycerides ( $r = 0.683$ ;  $p < 0.01$ ) and cholesterol ( $r = 0.737$ ;  $p < 0.01$ ); 6) the total protein concentration in the serum of dairy cows has a significant positive correlation with GGT at I ( $r = 0.564$ ;  $p < 0.05$ ) and II ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ). GGT I has positive correlations with GGT II ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ) and fibrinogen I ( $r = 0.587$ ;  $p < 0.05$ ). The reason of these correlations is a chronic inflammatory process in the liver of these cows.

**KEY WORDS:** cow, milk, blood, protein, GGT, correlation

## IEVADS

Piens sintezējas piena dziedzeru alveolās, kur 80 % izejvielu nāk no asinīm [6]. Govīm piena olbaltumvielas veidojas no asiņu aminoskābēm un polipeptīdiem, piena tauki – no plazmas taukskābēm, triglicerīdiem, acetāta, propionskābes un sviestskābes [5]. Pienu un asinis veidojošo ķīmisko vielu koncentrācija izmainās atkarībā no dzīvnieku ēdināšanas kvalitātes un veselības stāvokļa (piemēram, metabolās acidozes vai alkalozes, ketozes)[2].

Palielinot spureklī sagremojamā proteīna daudzumu un metabolizējamās enerģijas daudzumu, asinīs un pienā palielinās urīnvielas koncentrācija [7, 8]. Ir noteikta augsta pozitīva korelācija starp urīnvielas koncentrāciju pienā un asinīs govīm, aitām, un kazām [11]. Govīm konstatēta būtiska pozitīva korelācija starp izslaukumu un piena urīnvielas koncentrāciju [13]. Asinīs urīnvielas un albumīna koncentrācija izmainās līdzīgi piena urīnvielas koncentrācijas izmaiņām laktācijā. Piena urīnvielas koncentrācija samazinās pie paaugstināta somatisko šūnu skaita (SŠS) pienā [9].

Lai noteiktu govju subklīniskas veselības stāvokļa izmaiņas, iekaisuma procesa diagnosticēšanai tesmenī, nosaka SŠS pienā, bet iekaisuma procesu konstatēšanai atgremotāju organismā – fibrinogēna koncentrāciju plazmā [14].

Gamma-glutamīltransferāzes (GGT) koncentrācijas paaugstināšanās asinīs atgremotājiem norāda uz holestāzi un hronisku hepatocītu bojājumu [14]. GGT aktivitāte serumā atkarīga no dzīvnieka fizioloģiskā stāvokļa: klīniski veselām govīm cietstāvēšanas beigu periodā GGT aktivitāte ir daudz zemāka nekā pirmajā nedēļā pēc atnešanās GGT koncentrācija serumā paaugstinās līdz 6 nedēļām pēc atnešanās [4]. Savukārt Stojevic Z.u.c. (2005.) konstatējuši, ka GGT aktivitāte serumā klīniski veselām govīm cietstāvēšanas periodā un 10.-45.dienā pēc atnešanās ir būtiski augstāka ( $p < 0.001$ ) nekā pārējās laktācijas dienās.

GGT sintēze notiek arī piena dziedzeros. Apgriezti proporcionāla sakarība noteikta starp govju produktivitāti un GGT aktivitāti asinīs. Savukārt, govju izslaukumam ir pozitīva korelācija ar holesterīna koncentrāciju asinīs ( $r = 0.58$ )[12].

Atgremotājiem holesterīns ir viens no aknu darbību raksturojošiem steroīdiem, jo tā sintēze notiek aknās no acetāta un ir atkarīga no šī orgāna funkcionālā stāvokļa. Acetāts ir viena no piena tauku sintēzes izejvielām. Holesterīns serumā ļoti zema blīvuma lipoproteīnu (VLDL) sastāvā piedalās triglicerīdu transportēšanā no aknām. Triglicerīdu koncentrācija asinīs paaugstinās vielmāņas enerģijas deficīta apstākļos. Daļu asinīs cirkulējošo triglicerīdu izmanto piena tauku sintēzei tesmens audos [5].

Mūsu eksperimenta mērķis un uzdevumi: 1) noteikt slaucamo govju piena un asiņu bioķīmisko rādītāju savstarpējās korelatīvas sakarības laktācijas vidus posmā, t.i., otrajā un ceturtajā laktācijas mēnesī; 2) noskaidrot šo sakarību izmantošanas iespējas ēdināšanas kvalitātes un veselības stāvokļa kontrolē; 3) izpētīt korelatīvo sakarību pielietošanas iespējas piena komponentu kvantitatīvo izmaiņu un govju veselības stāvokļa pārmaiņu prognozēšanā.

Eksperimentā izmantotas 14 klīniski veselās govju laktācijas otrajā mēnesī (30-60 dienas pēc atnešanās) no viena slaucamo govju ganāmpulka ziemošanas periodā. Eksperimenta laikā visas govju saņēma vienādu barības devu. Piena un venozo asiņu paraugi 14 govīm noņemti ikmēneša piena kvalitātes kontroles dienā: pirmo reizi laktācijas otrajā mēnesī (I), otro reizi – laktācijas ceturtajā (II) mēnesī (90-120 dienas pēc atnešanās).

Piena paraugos noteikts proteīns (%), tauki (%), urīnviela un SŠS SIA „Piensaimnieku laboratorija”. Asiņu paraugi analizēti Cēsu centrālās slimnīcas laboratorijā, kur noteikti sekojoši bioķīmiskie rādītāji: kopējais proteīns, albumīns, urīnviela, GGT, holesterīns, triglicerīdi serumā un fibrinogēns plazmā. Piena un asiņu bioķīmisko rādītāju statistiskā analīze veikta ar SPSS 11,5 programmu. Piena un asiņu bioķīmiskajiem rādītājiem noteiktas vidējās vērtības I un II periodā, to atšķirību būtiskuma līmenis, rādītāju savstarpējās korelācijas.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Piena un seruma bioķīmisko rādītāju izmaiņas 14 govīm otrajā (I) līdz ceturtajā (II) laktācijas mēnesī atspoguļotas 1.tabulā. Vidējais dienas izslaukums I eksperimenta govīm sakrīt ar izslaukuma maksimumu laktācijā ( $22.75 \pm 1.74$  kg/dienā (minimālais 15.10 kg/d., maksimālais 35.00 kg/d.). Govīm ražība II būtiski ( $p < 0.001$ ) samazinās līdz  $14.75 \pm 0.62$  kg/dienā (minimālais 10.10 kg/d.; maksimālais 19.40 kg/d.). Šajā periodā proteīna procentuālā (%) koncentrācija pienā būtiski ( $p < 0.01$ ) paaugstinājusies no  $3.01 \pm 0.06$  % līdz  $3.12 \pm 0.05$  %, bet urīnvielas daudzums būtiski ( $p < 0.001$ ) samazinājies vairāk kā divas reizes gan pienā (no  $13.88 \pm 0.63$  mmol/l līdz  $6.60 \pm 0.41$  mmol/l), gan serumā (no  $8.68 \pm 0.44$  mmol/l līdz  $3.74 \pm 0.18$  mmol/l). Urīnvielas koncentrācija pienā I daudz vairāk pārsniedz ieteikto normu (3 – 5 mmol/l [SIA „Piensaimnieku laboratorija”] nekā serumā I (2.0 – 7.5 mmol/l [3]). Urīnviela, kā mazmolekulāra viela, viegli izkļūst no asinīm caur asinsvadu sienīņām ekstracelulārajā šķidrumā, urīnā, pienā un spurekļa saturā.

1.tabula/ Table 1

**Piena un asiņu bioķīmiskie rezultāti govīm laktācijas otrajā (I) un ceturtajā (II) mēnesī**  
**Biochemical results of milk and blood of cows in the second (I) and fourth (II) month of lactation**

n = 14		Laktācijas 2.mēnesis (I)/ 2nd month of lactation	Laktācijas 4.mēnesis (II)/ 4th month of lactation	Starpība (I-II)/ Difference(I-II)
Piens/ Milk	Izslaukums (kg/dienā)/ Milk yield (kg/day)	$22.5 \pm 1.4^c$	$14.5 \pm 0.2^c$	$-8.00 \pm 1.42$
	Proteīns (%) / Protein	$3.01 \pm 0.06^b$	$3.12 \pm 0.05^b$	$+0.12 \pm 0.04$
	Urīnviela (mmol/l) / Urea	$13.88 \pm 0.63^c$	$6.60 \pm 0.41^c$	$-7.28 \pm 0.67$
	Tauki (%) / Fat	$3.80 \pm 0.19$	$3.85 \pm 0.12$	$+0.05 \pm 0.19$
	SŠS (tūkst./ml) / SCC ( $10^3$ /ml)	$426.08 \pm 241.41$	$152.15 \pm 75.83$	$-273.92 \pm 214.31$
Serums/ Serum	Kopējais proteīns (g/l) / Total protein	$62.10 \pm 1.27^c$	$68.60 \pm 1.08^c$	$+6.50 \pm 1.29$
	Albumīns (g/l) / Albumin	$38.93 \pm 0.66$	$40.43 \pm 0.63$	$+1.50 \pm 0.94$
	Urīnviela (mmol/l) / Urea	$8.68 \pm 0.44^c$	$3.74 \pm 0.18^c$	$-4.94 \pm 0.48$
	GGT (U/l)	$21.71 \pm 2.19^b$	$21.64 \pm 1.50^b$	$+5.93 \pm 1.86$
	Holesterīns (mmol/l) / Cholesterol	$5.33 \pm 0.32^a$	$5.95 \pm 0.23^a$	$+0.62 \pm 0.25$
Triglicerīdi (mmol/l) / Triglycerides	$0.177 \pm 0.02^b$	$0.238 \pm 0.01^b$	$+0.06 \pm 0.02$	
Plazma/ Plasma	Fibrinogēns (g/l) / Fibrinogen	$1.77 \pm 0.27$	$1.42 \pm 0.23$	$-0.35 \pm 0.31$

a –  $p < 0.05$  ; b –  $p < 0.01$  ; c –  $p < 0.001$

Pārāk augstā urīnvielas koncentrācija abos izmeklējamajos substrātos klīniski veselām govīm rodas nesabalansētas ēdināšanas rezultātā, barības devā pārdozējot spureklī sagremojamā proteīna daudzumu vai to nesabalansējot ar viegli sagremojamiem ogļhidrātiem. Pārāk zems spurekļa satura skābums var kavēt slāpekli izmantojošo baktēriju vairošanos spureklī [9].

Seruma urīnvielas koncentrācijai I konstatēta augsta korelācijas pakāpe ar piena urīnvielas koncentrāciju I ( $r = 0.657$ ;  $p < 0.01$ ), un ar piena proteīna % I un II ( $r = 0.720$ ;  $p < 0.01$  un  $r = 0.710$ ;  $p < 0.01$ ). Seruma urīnvielas koncentrācija II arī tieši korelē ar piena urīnvielas koncentrāciju II ( $r = 0.858$ ;  $p < 0.001$ ).

Piena urīnvielas daudzums I korelē tikai ar dienas izslaukumu II ( $r = 0.577$ ;  $p < 0.05$ ). Tātad pēc urīnvielas koncentrācijas asinīs (nevis pienā) var prognozēt gaidāmās piena proteīna izmaiņas 2 mēnešus uz priekšu. Mūsu eksperimentā, līdzīgi kā citos pētījumos [1], piena urīnvielas koncentrācija var noderēt izslaukuma izmaiņu prognozēšanai šajā pašā periodā.

Proteīna % pienā I negatīvi korelē ar seruma albumīna koncentrāciju II ( $r = -0.606$ ;  $p < 0.05$ ). Intensīvai piena proteīna sintēzei tesmenī patērē vairāk asinīs esošā albumīna. Iespējams, ka hronisks aknu iekaisums ir par cēloni albumīna koncentrācijas samazināšanās tendencei asinīs augstākas ražības govīm.

Par hroniska aknu iekaisuma problēmu ganāmpulkā liecina GGT vidējās koncentrācijas paaugstināšanās I un II virs normas ( $21.71 \pm 2.19$  U/l un  $27.64 \pm 1.50$  U/l). Atšķirības 2 mēnešu laikā ir būtiskas ( $p < 0.01$ ) un GGT I un II savstarpēji korelē ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ). Seruma kopējā proteīna koncentrācija I negatīvi korelē ar piena tauku % I ( $r = -0.580$ ;  $p < 0.05$ ) un pozitīvi – ar GGT II ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ). Tas nozīmē, ka hronisks aknu iekaisums govīm saistās ar vieglu dehidratāciju un tam sekojošu kopējā proteīna koncentrācijas pieaugumu. Aknu iekaisuma cēlonis varētu būt nesabalansētas ēdināšanas dēļ radusies subklīniska acidoze. Par to liecina eksperimenta dzīvnieku nedaudz pazemināts vidējais piena tauku % I ( $3.80 \pm 0.19$  %) un paaugstināta seruma un piena urīnvielas koncentrācija I, kā arī GGT I pozitīvā korelācija ar fibrinogēna koncentrāciju I asinīs ( $r = 0.587$ ;  $p < 0.05$ ).

Izmēģinājuma dzīvniekiem konstatēta pozitīva korelācija starp piena tauku % I un izslaukumu II ( $r = 0.615$ ;  $p < 0.05$ ). Tātad, jo zemāks piena tauku % I un izteiktāka acidoze, jo zemāks izslaukums prognozējams pēc 2 mēnešiem. Pozitīva korelācija pastāv arī starp dienas izslaukumu I un II ( $r = 0.650$ ;  $p < 0.05$ ), kas norāda, ka no augstākas ražības govīm 2 mēnešu laikā iegūs vairāk piena nekā no mazražīgajām. Taču govīm augstāka ražība otrajā laktācijas mēnesī saistās ar augstāku somatisko šūnu skaitu (SŠS) pienā un izteiktāku iekaisuma procesu organismā (aknās) vēl pēc 2 mēnešiem. Eksperimentā par to liecina dienas izslaukuma I pozitīva korelācija ar seruma fibrinogēna koncentrāciju II ( $r = 0.611$ ;  $p < 0.05$ ) un fibrinogēna I tieša korelācija ar SŠS II ( $r = 0.802$ ;  $p < 0.01$ ).

Govīm otrajā līdz ceturtajā laktācijas mēnesī serumā būtiski ir pieaugusi triglicerīdu koncentrācija no  $0.177 \pm 0.02$  mmol/l līdz  $0.238 \pm 0.01$  mmol/l ( $p < 0.01$ ) un holesterīna daudzums – no  $5.33 \pm 0.32$  mmol/l līdz  $5.95 \pm 0.23$  mmol/l ( $p < 0.05$ ). Vielmaiņas enerģijas deficīta situācijā asinīs paaugstinās triglicerīdu koncentrācija. To transportēšana notiek saistībā ar ļoti zema blīvuma lipoproteīniem, kuru sastāvā ietilpst holesterīns. Tātad, paaugstinoties triglicerīdu koncentrācijai asinīs, jāpaaugstinās arī holesterīnam. Eksperimentā konstatēta pozitīva korelācija starp triglicerīdu koncentrāciju I un holesterīna koncentrāciju serumā I un II ( $r = 0.694$ ;  $p < 0.01$  un  $r = 0.553$ ;  $p < 0.05$ ), kā arī starp triglicerīdu koncentrāciju I un SŠS I un II ( $0.574$ ;  $p < 0.05$  un  $r = 0.685$ ;  $p < 0.01$ ). Arī holesterīna koncentrācija I pozitīvi korelē ar SŠS II ( $r = 0.737$ ;  $p < 0.06$ ). Augstākas ražības govīm ir augstāka holesterīna koncentrācija asinīs [12], un tām ilgāk novēro iekaisuma procesu organismā un paaugstinātu SŠS pienā.

Eksperimentā noteiktas vēl pozitīvas korelācijas fibrinogēna koncentrācijai asinīs I ar urīnvielas daudzumu pienā II ( $r = 0.711$ ;  $p < 0.01$ ) un ar urīnvielas daudzumu serumā II ( $r = 0.794$ ;  $p < 0.01$ ). Šīm sakarībām izskaidrojums var saistīties tikai ar konstatēto iekaisuma procesu aknās, kas rada vieglu dehidratāciju un kavētu urīnvielas izvadīšanu caur nierēm.

Kopumā no iegūtajiem eksperimenta rezultātiem izriet, ka piena un asiņu bioķīmisko rādītāju savstarpējās korelācijas un kvantitatīvās izmaiņas visvairāk ietekmē ēdināšanas kvalitāte un govju veselības stāvoklis ganāmpulkā. Bioķīmisko rādītāju korelācijas ļauj detalizētāk noskaidrot cēloņsakarības piena un asiņu bioķīmisko rādītāju kvantitatīvajās izmaiņās, kā arī dod iespēju prognozēt piena sastāva un govju veselības stāvokļa pārmaiņas divus mēnešus uz priekšu.

## SECINĀJUMI

1. Govju asiņu un piena bioķīmiskajiem komponentiem ir savstarpējas būtiskas korelatīvas sakarības, ko var pielietot dzīvnieku ēdināšanas kvalitātes kontrolē un slimību diagnostikā, kā arī piena komponentu kvantitatīvo izmaiņu un veselības stāvokļa pārmaiņu prognozēšanā divu mēnešu laikā.
2. Govīm seruma urīnvielas koncentrācija tieši korelē ar piena urīnvielas koncentrāciju gan laktācijas otrajā ( $r = 0.675$ ;  $p < 0.01$ ), gan ceturtajā ( $r = 0.858$ ;  $p < 0.001$ ) mēnesī.

3. Govīm laktācijas otrajā mēnesī urīnvielas koncentrācijas serumā būtiski korelē ar piena olbaltumvielu % ( $r = 0.720$ ;  $p < 0.01$ ) un ietekmē piena olbaltumvielu daudzumu vismaz divu mēnešu periodā ( $r = 0.710$ ;  $p < 0.01$ ).
4. Govīm var prognozēt izslaukumu kvantitatīvās izmaiņas ceturtajā laktācijas mēnesī, izmantojot laktācijas otrā mēneša piena analīžu rezultātus: dienas izslaukumu ( $r = 0.650$ ;  $p < 0.05$ ), urīnvielas koncentrāciju ( $r = 0.577$ ;  $p < 0.05$ ) un tauku % ( $r = 0.615$ ;  $p < 0.05$ ).
5. Govīm laktācijas ceturtajā mēnesī SŠS būtiski ietekmē otrā laktācijas mēneša dienas izslaukums ( $r = 0.673$ ;  $p < 0.01$ ) un govju veselības stāvokli raksturojošie asiņu bioķīmiskie rādītāji: fibrinogēns ( $r = 0.802$ ;  $p < 0.01$ ), triglicerīdi ( $r = 0.683$ ;  $p < 0.01$ ) un holesterīns ( $r = 0.757$ ;  $p < 0.01$ ).
6. Govīm seruma kopējam proteīnam ir būtiska pozitīva korelācija ar seruma GGT laktācijas otrajā ( $r = 0.564$ ;  $p < 0.05$ ) un ceturtajā mēnesī ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ) sakarā ar aknu iekaisuma procesu veidošanos pēc atnešanās. To apstiprina GGT pozitīvā korelācija otrajā mēnesī ar fibrinogēna koncentrāciju asinīs otrajā laktācijas mēnesī ( $r = 0.587$ ;  $p < 0.05$ ) un ar GGT aktivitāti ceturtajā laktācijas mēnesī ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ).

### LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Arunvipas P., Dohoo I.R., Vanleeuwen J.A., Keefe G.P. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. *Prev. Vet. Med.* 2003.59: p.83-93.
2. Bergamini, F.P. Report of pathology (not mammary) from aspects of quality of bovine milk. *Atti Soc ital. Buiatria XIX.* 1987, p.89-99.
3. Blood D.C. *Pocket Companion to Veterinary Medicine.* – London, 1994.-
4. El-Ghoul W., Hofmann W., Khamis Y., Hassaneiw. Beziehungen zwischen Klauenerkrankungen und peripartalen Zeitraum bei Milchrindern. *Prakt. Tierarzt.*2000.82: 862-868.
5. Garančs A. Jautājumi un atbildes cilvēka un dzīvnieku anatomijā un fizioloģijā. Rīga. 2006.- 206.
6. Grings E.E., Roffler R.E., Deitelhoff D.P. Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. *Journal of Dairy Sciences.* 1991. 74: 2580-2587.
7. Gustaffson A.H., Emanuelson M., Oltner R., Wiktorsson H. Milk urea level. Its variations and how it is affected by herd, milk yield, stage of lactation, season and feeding. A field study report. Swedish University of Agriculture Sciences, Uppsala, Sweden, 1987.
8. Hoffman M., Steinhofel O. Possibilities and restriction in using milk urea concentrations as markers of energy and protein balance. *Mh. Vet. Med.* 1990. 45: 223-227.
9. Hutjens M. A look at using MUN results. *Illini Dairy Net Papers.* 15th January 1999.
10. Khaled N.F., Illek J., Gajdúšek S. Interactions between nutrition, blood metabolic profile and milk composition in dairy goats. *Acta Veterinaria Brno.* 1999. 68: 255.
11. Marenjak T.S., Stipić D., Poljičak-Milas N., Čolig K. Monitoring of milk production and total cholesterol concentration, gamma-glutatione peroxidase in Simmental cows blood. *Abstract. Mljekarstvo.* 2007. 57: 89-100.
12. Rajala-Schultz P.J., Saville W.J.A. Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio-dairy herds. *Journal of Dairy Sciences.* 2003. 86: 1653-1661.
13. Roussel A.J., Whitney M.S. Interpreting a bovine serum chemistry profile. *Journal of Veterinary Medicine.* June, 1997.- 553-566.
14. Stojević Z., Piršljin J., Milinković-Tur S. *Veterinarski Arhiv.* 2005. 75: 67-73.

# KUIĻU SPERMAS BAKTERIĀLĀ PIESĀRŅOJUMA VĒRTĒJUMS ASSESSMENT OF BACTERIAL CONTAMINATION OF THE BOARS SEMEN

Mangale Māra<sup>1</sup>, Jemeljanovs Aleksandrs<sup>2</sup>, Konošonoka Ināra<sup>2</sup>

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija<sup>1</sup>, LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts "Sigra"<sup>2</sup> [maramangale@inbox.lv](mailto:maramangale@inbox.lv)

Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia<sup>1</sup>, Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra”<sup>2</sup> of LUA

## ABSTRACT

During the period of time in 2005 from May to December 104 semen samples from 24 boar ejaculates were analysed. Semen volume and concentration was detected. Preputial flush, undiluted and extended semen samples were bacteriologically examined at the Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra”. Research results showed that total bacteria count at preputial opening in neat and extended semen have the influence of the season ( $p < 0.01$ ), and an agreement between the total number of bacteria in the preputium of the neat and extended semen was found out ( $p < 0.01$ ). The following bacterias were determined: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiela spp.*, *Plesimonas spp.*, *Arizona spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter diversus*, which were fixed in neat and extended semen of preputium.

**KEY WORDS:** boar, semen, bacteriospermia, season

## IEVADS

Bakteriālā piesārņotība ir bieži novērojama kuiļu spermas iegūšanas procesā. Kuiļu turēšanā novietnēs ir atklāti daudzi bakteriālā piesārņojuma avoti, kas ir saistīti ar dzīvniekiem un apkārtējo vidi. Viens no kuiļu spermas bakteriālā piesārņojuma avotiem ir prepūcija atvere, caur kuru dzimumceļos var iekļūt mikroorganismi no ārējās vides un *diverticulum preaputiale* (aklais maiss), kurš kuilim prepūcija priekšējās daļas mugurējā sienā veido samērā plašu dobumu, uzkrājot prepūcija dziedzeru izdalījumus, urīna atliekas, veidojot labvēlīgu vidi baktēriju augšanai. Zinātnieki Dagnall et Jones (1985) uzskata šo divertikulu par galveno bakteriālo piesārņojuma avotu ejakulātā, kā rī baktēriju veids un skaits ejakulātā ir atkarīgs no šķidruma daudzuma prepūcijā, kā arī no kuiļu vecuma un turēšanas veida. Jauniem kuļiem, kurus neizmanto spermas iegūšanai, prepūcijā nav šķidruma, un to spermā baktēriju daudzums ir vismazākais.

Vairums piesārņotāju ir Enterobacteriaceae dzimtas gramnegatīvās baktērijas. Baktēriju koncentrācija, arī laiks un vide ir par iemeslu negatīvai ietekmei uz spermijiem un var samazināt kuiļa reproduktīvās spējas (Althouse et al. 2000).

Mūsu uzdevums bija noskaidrot Latvijā audzējamo dažādu šķirņu kuiļu prepūcija, natīvās un atšķaidītās spermas bakteriālo piesārņojumu un tā sezonālo ietekmi.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījums veikts laikā no 2005. gada maija līdz decembrim. Izmantoti 24 Pjetrenas, Jorkšīras, Dāņu landrases, Igaņu landrases un Seghers hibrīdšķirnes kuļi vecumā no viena līdz četriem gadiem. Vienu reizi mēnesī iegūti ejakulātu paraugi, kuros noteikts ejakulāta apjoms un spermas koncentrācija. Prepūciju noskalojumi, natīvas un atšķaidītas spermas paraugi izmeklēti bakterioloģiski LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātnes zinātniskā institūta "Sigra" akreditētā mikrobioloģijas laboratorijā. Noņemtajiem paraugiem noteikts kopējais mezofīlo aerobo un fakultatīvi anaerobo mikroorganismu skaits, izmantojot



agaru barotnes un koloniju skaitīšanas agaru (Difco BBL). Tālākai mikroorganismu identifikācijai lietotas dažādas Hisa cukura barotnes.

Uzsējumi inkubēti 37<sup>0</sup> C temperatūrā 72 stundas, kontrolējot un analizējot izaugušās kolonijas ik pēc 24 stundām. Baktērijas līdz sugas līmenim noteiktas ar BBL Becton Dickinson firmas Crystal grampozitīvo un gramnegatīvo baktēriju identifikācijas sistēmu, kurā iekļauti vairāku substrātu fermentācijas, oksidācijas un hidrolīzes testi. Baktērijas identificētas, salīdzinot iegūtos reakciju rezultātus ar datu bāzē esošajiem.

Datu apstrādē izmantoti 104 atšķaidītas un neatšķaidītas kuiļu spermas, kā arī prepūciju noskalojumu paraugu bakterioloģisko izmeklējumu rezultāti (n=104). Noteikts kopējais baktēriju skaits un to veidi 1ml kuiļu prepūcija noskalojumos, neatšķaidītā un atšķaidītā spermā. Datu analīze veikta izmantojot Microsoft Excel, SPSS 14,0 programmas.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Pirmajā tabulā apkopoti kuiļu ejakulāta un spermas koncentrācijas vidējie rādītāji, minētas noteikto rādītāju minimālās un maksimālās robežas.

1. tabula/Table 1

### Kuiļu ejakulāta un spermas koncentrācijas vidējie, minimālie un maksimālie rādītāji Mean, minimal and maximal parameters of boars semen ejaculate and concentration

Vecums/Age (gadi) (years)	Ejakulāta apjoms (ml)/Ejaculate volume (ml)			Spermas koncentrācija (mljrd/ml) Concentration of semen (billion/ml)		
	Vidēji ( )	min	max	Vidēji ( )	min	max
1	189 ± 20	100	300	0.6 ± 0.05	0.2	1.2
2	285 ± 20	110	471	0.4 ± 0.03	0.2	0.9
3	254 ± 17	173	350	0.5 ± 0.05	0.3	0.9
4	224 ± 13	180	348	0.4 ± 0.04	0.2	0.8

Veicot datu apstrādi, noskaidrojās, ka vienu gadu veciem kuiļiem ejakulāta apjoms bija vidēji 189 ± 20ml un svārstījās no 100 – 300ml. Divus gadus veciem kuiļiem attiecīgi 285 ± 20ml ar svārstībām no 110 līdz 471ml ejakulāta. Trīs gadus veciem kuiļiem vidējais ejakulāta apjoms bija 254 ± 17ml ar svārstībām 173 – 350ml visā pētījuma laikā. Četrus gadus veciem kuiļiem ejakulāta apjoma vidējie rādītāji attiecīgi 224 ± 13ml, svārstoties 180 -348ml robežās.

Spermas koncentrācijas rādītāji vienu gadu veciem kuiļiem vidēji bija 0.6±0.05mljrd/ml ar svārstībām no 0.2 līdz 1.2 mljrd/ml. Divus gadus veciem kuiļiem vidējā spermas koncentrācija sasniedza 0.4 ± 0.03mljrd/ml līmeni ar svārstībām no 0.2 – 0.9mljrd/ml. Trīs gadus veciem attiecīgi 0.5 ± 0.05mljrd/ml ar spermas koncentrācijas svārstībām 0.3–0.9mljrd/ml. Spermas koncentrācijas vidējie rādītāji četrus gadus veciem kuiļiem bija 0.4 ± 0.04mljrd/ml ar svārstībām 0.2 -0.8mljrd/ml. Korelāciju aprēķini norādīja, ka ejakulāta apjoms (r=-0.29, p<0.01) un koncentrācija (r=0.25, p<0.01) ir atkarīgi no katra kuiļa individuālajām īpašībām (2. tabula).

Par kuiļa vecuma ietekmi uz ejakulāta apjomu norāda vāja pozitīva korelācija (r=0.24, p<0.05), savukārt, spermas koncentrācija raksturojas ar negatīvu vāju korelāciju (r=-0.25, p<0.01).

Lielākais bakteriālais piesārņojums visā pētījuma laikā bija prepūcija noskalojumos, samazinoties neatšķaidītā un atšķaidītā spermā (10<sup>7</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>4</sup> kvv ml<sup>-1</sup>), kas sakrīt ar literatūrā minētajiem datiem. Prepūciju noskalojumos baktēriju kopskaits sasniedza 1.5x10<sup>5</sup> – 20.9x10<sup>7</sup>kvv ml<sup>-1</sup>, natīvā spermā - no 1000 līdz 6.1x10<sup>5</sup>kvv ml<sup>-1</sup>, atšķaidītā spermā - no 600 līdz 1.92x10<sup>4</sup>kvv ml<sup>-1</sup>.

Aprēķinu rezultātā, izmantojot Spearmen metodi (2. tabula), noskaidrojām, ka pastāv cieša korelācija starp kopējo baktēriju skaitu neatšķaidītā un atšķaidītā spermā ( $r=0.73$ ,  $p<0.01$ ). Vidēji cieša korelācija ( $r=0.49$ ,  $p<0.01$ ) bija starp kopējo baktēriju skaitu prepūcijā un atšķaidītā spermā.

2.tabula/Table2

**Kuļļu spermas kvalitātes rādītāju salīdzinājums**  
**Correlation and significance of boar semens quality data**

Spearmen correlation (r) Significance (p)	Korelācijaskoef.(r)	Būtiskuma līm.(p)	Kuļlis Boar	Ejakulāta apjoms ejaculate volume	Spermas koncentrācija concentration	Total bacteria in neat (natīvā) semen	Total bacteria In.extended (atšķaidītā) semenn	Total bacteria in preputium
	r	p						
Ejakulāta apjoms (ml) Ejaculate volume (ml)	r	-0.29**						
	p	0.01						
Spermas_koncentrācija (mlj/ml) Concentration of semen	r	0.25*	-0.57**					
	p	0.01	0.01					
Baktēriju kopskaits natīvā spermā kvv/ml <sup>-1</sup> Total bacteria in neat semen	r	-0.06	-0.01	-0.01				
	p	0.53	0.98	0.93				
Baktēriju kopskaits atšķaidītā spermā kvv/ml <sup>-1</sup> Total bacteria in extended semen	r	0.10	-0.09	0.02	0.73**			
	p	0.30	0.39	0.82	0.01			
Baktēriju kopskaits prepūcijā kvv/ml <sup>-1</sup> Total bacteria in preputium	r	0.08	-0.06	0.10	0.38**	0.49**		
	p	0.42	0.57	0.29	0.01	0.01		
Sezona Season	r	0.19	-0.14	0.19	0.38**	0.57**	0.66**	
	p	0.05	0.17	0.05	0.01	0.01	0.01	

\*\* Korelācija pie būtiskuma līmeņa  $p<0.01$ /Correlation is significant at the 0.01 level.

\* Korelācija pie būtiskuma līmeņa  $p<0.05$ /Correlation is significant at the 0.05 level.

Kopējais baktēriju skaits prepūcijā uzrādīja vidēji ciešu korelāciju ar kopējo baktēriju skaitu neatšķaidītā spermā ( $r=0.38$ ,  $p<0.01$ ). Iegūtie rezultāti pamatoti apstiprināja problēmas aktualitāti un tās risināšanas nepieciešamību, jo literatūrā minēts, ka sēkliniekos un sēklinieka piedēkļos, kur notiek spermiju veidošanās un uzkrāšanās, vide ir sterila (Sone et all.1982, A. Jemeljanovs 1991)

Mikroorganismu kopskaits natīvā spermā pavasara mēnešos svārstījās  $1000 - 125 \times 10^4$  kvv/ml<sup>-1</sup> robežās, vasarā no  $7000$  līdz  $267 \times 10^4$  kvv/ml<sup>-1</sup>, bet rudens mēnešos attiecīgi  $20000 - 610 \times 10^4$  kvv/ml<sup>-1</sup> intervālā. Līdzīgas mikroorganismu kopskaita attiecības bija arī atšķaidītā spermā; pavasarī mikroorganismu skaits bija  $600 - 20 \times 10^4$  kvv/ml<sup>-1</sup>, vasarā palielinājās no

1000 līdz  $192 \times 10^4$  kvv/ml<sup>-1</sup> un rudenī sasniedza 10000 –  $90 \times 10^4$  kvv/ml<sup>-1</sup> skaitu. Mikroorganismu kopskaitam prepūcijā novērojām tendenci palielināties vasaras ( $150 \times 10^4$  -  $936 \times 10^7$  kvv/ml<sup>-1</sup>) un rudens ( $2 \times 10^7$  –  $2088 \times 10^7$  kvv/ml<sup>-1</sup>) mēnešos. Izmantojot Mann-Whitney testu, noteicām sezonas ietekmi uz spermās kvalitāti.

Vidēji cieša korelācija norādīja uz kopējā baktēriju skaita izmaiņām prepūcijā ( $r=0.57$ ,  $p<0.01$ ), natīvā ( $0.38$ ,  $p<0.01$ ) un atšķaidītā ( $r=0.66$ ,  $p<0.01$ ) spermā, saistībā ar sezonu. Tajā pat laikā kuilim ir vāja ietekme uz kopējo baktēriju skaitu natīvā un atšķaidītā spermā ( $r=0.19$ ,  $p<0.05$ ).

Izplatītākās baktērijas prepūcijā natīvā un atšķaidītā spermā pavasara, vasaras un rudens mēnešos bija *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*. Prepūcijā noteiktās *Pseudomonas aeruginosa* daudzums vasaras mēnešos un rudenī svārstījās no 219000 līdz 260000 kvv/ml<sup>-1</sup>. Natīvā spermā pavasarī *Pseudomonas aeruginosa* daudzums svārstījās no 40-1200 kvv/ml<sup>-1</sup> un uzsējumos atšķaidītā spermā vairs netika konstatētas, bet vasaras mēnešos baktērijas daudzums natīvā spermā bija 60-8400 kvv/ml<sup>-1</sup> un saglabājās atšķaidītā spermā (70-5400 kvv/ml<sup>-1</sup>). Arī rudens mēnešos situācija bija līdzīga natīvā (20-4400 kvv/ml<sup>-1</sup>) un atšķaidītā (20-2100 kvv/ml<sup>-1</sup>) spermā.

Pavasara mēnešos natīvā spermā izolētās baktērijas: *Klebsiela spp.* (100-1000 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Plesimonas spp.* (200-3000 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Staphylococcus spp.* (80-5500 kvv/ml<sup>-1</sup>), kuras, lai arī mazākā daudzumā, tika atrastas arī atšķaidītā spermā: *Klebsiela spp.* (40 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Plesimonas spp.* (200-1000 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Staphylococcus spp.* (1-10 kvv/ml<sup>-1</sup>). Natīvā spermā noteiktās baktērijas: *Arizona spp.*, *Klebsiella pneumonia*, *Hafnia alvei*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, atšķaidītā spermā netika atrastas.

Vasaras mēnešos izolētās baktērijas: *Arizona spp.* (60-1800 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Staphylococcus spp.* (20-18000 kvv/ml<sup>-1</sup>) saglabājās arī atšķaidītā spermā: *Arizona spp.* (20 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Staphylococcus spp.* (20-100 kvv/ml<sup>-1</sup>). Noteiktās baktērijas natīvā spermā: *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxitoca*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus spp.*, atšķaidītā spermā vairs netika konstatētas.

Rudens sezonā natīvā spermā izolētie sekojoši mikroorganismi: *Enterobacter cloacae* (60-1200 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Escherichia coli* (20-600 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Citrobacter diversus* (20-1200 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Staphylococcus spp.* (20-6400 kvv/ml<sup>-1</sup>), konstatēti arī atšķaidītā spermā: *Enterobacter cloacae* (20-580 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Escherichia coli* (20-140 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Citrobacter diversus* (20 kvv/ml<sup>-1</sup>), *Staphylococcus spp.* (60 kvv/ml<sup>-1</sup>). Natīvā spermā atrastās *Salmonella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, baktērijas atšķaidītā spermā vairs netika konstatētas.

Bakterioloģiski izmeklējot kuilū spermās atšķaidītāju, vide bija sterila.

3 tabula/Table3

**Šķirņu ietekme uz kopējo baktēriju skaitu atšķaidītā spermā (p-vērtība)**  
**Influence of boars breed on total amount of bacteria in extended semen**

Šķirne	PJ	IL50%NL50%	Y	SG	DL	IL75%NL25%
PJ						
IL50%NL50%	0.519					
Y	0.969	0.593				
SG	0.973	0.572	0.832			
DL	0.894	0.964	0.688	0.554		
IL75%NL25%	0.939	0.820	0.705	0.561	0.789	

DL -Dāņu landrace/ Danich landrace  
 IL- Igauņu landrase/Estonian landrace  
 NL- Norvēģu landrase/ Norwegian landrace

PJ- Pjetrenas/Pyetren  
 Y- Jorkšīra /Youkshire  
 SG - Seghers hibrīds/Seghers hybrid

Veicot kuiļu spermās bakterioloģisko izmeklējumu salīdzināšanu kuiļu šķirņu starpā ar Mann-Whitney testa palīdzību, konstatējām, ka šķirne būtiski neietekmē arī kopējo baktēriju skaitu prepūcijā un natīvā spermā (3. tabula).

## SECINĀJUMI

1. Ejakulāta apjoms un spermās koncentrācija ir atkarīga no kuiļa individuālajām īpašībām. Palielinoties vecumam, ejakulāta apjoms palielinās, bet spermiju koncentrācija samazinās.
2. Pastāv būtiskas atšķirības starp mikroorganismu kopskaitu prepūcijā, natīvā un atšķaidītā kuiļa spermā, kur tie augstāku koncentrāciju sasniedz prepūcijā, samazinoties natīvā un atšķaidītā spermā. Mikroorganismu kopskaits prepūcijā, natīvā un atšķaidītā spermā nav atkarīgs no kuiļa šķirnes.
3. Prepūcija, natīvās un atšķaidītās spermās bakterioloģiskajos paraugos visbiežāk izolēti; *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*. Sezona būtiski ietekmē kopējo mikroorganismu skaitu ar tendenci palielināties vasaras un rudens mēnešos.
4. Pavasara mēnešos natīvā spermā noteiktās *Pseudomonas aeruginosa* baktērijas skaitā no 40 līdz 1200 kvv/ml<sup>-1</sup>, atšķaidītā spermā vairs netika konstatētas, bet rudens mēnešos, sasniedzot 20-4400 kvv/ml<sup>-1</sup> robežu, tās novēroja arī atšķaidītā spermā. Vasaras mēnešos natīvā spermā *Pseudomonas aeruginosa* skaitliski (60-8400 kvv/ml<sup>-1</sup>) bija lielākā daudzumā, salīdzinājumā ar pavasara un rudens mēnešiem, saglabājoties tām atšķaidītā spermā.
5. Sezonu robežās virkne mikroorganismu (pavasārī - *Klebsiella spp.*, *Plesimonas spp.*, *Staphylococcus spp.*, vasarā - *Arizona spp.*, *Staphylococcus spp.*, rudenī - *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter diversus*, *Staphylococcus spp.*), lai arī mazākā daudzumā, tomēr saglabājas atšķaidītā kuiļu spermā.
6. Natīvā kuiļa spermā izolētie mikroorganismi; *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxitoca*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Citrobacter froindii*, *Enterobacter spp.*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus spp.*, atšķaidītā spermā vairs netika konstatēti.

## LITERATŪRA

1. Althouse, G.C. C.E. Kuster, S.G. Clark u. R.M.Weisinger. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. Theriogenology 2000. 53, 1167-1176.
2. Dagnall, G.J.R u. J.E.T. Jones Bacterial contamination of boar semen Proceedings 5th congress of the International Society for Anim. Hygiene 1985. 1, 412-416.
3. Sone M., T. Kawarasaki, A. Ogasa u. T. Nakahara. Effects of bacteria-contaminated boar semen on the reproductive performance. Jpn. J. Anim. 1989. Reprod. 35, 159-164.
4. Sone M., K. Ohmura u. K. Bamba. Effects of various antibiotics on the control of bacteria in boar semen. 1982. Vet. Rec. 111, 11-14.
5. А. Емельянов. Оценка и отбор быков - производителей на устойчивость к болезням: 06.02.01 - разведение, селекция и воспроизводство сельскохозяйственных животных: дис. на соиск. учен. степ. д-ра с.- х. наук / М - во сел. хоз - ва Латвии, Латв. науч. - исслед. ин - т животноводства и ветеринарии. - Сигулда, 1990. - 343 с.: ил., табл. - Библиогр.: с. 296-343 (558 назв.). - Отпеч. с грифом "На правах рукописи". - Машинопись.

# ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN MEDIATING INTESTINAL iNOS EXPRESSION

J. Markovs<sup>1</sup>, N. Berzina<sup>2</sup>, D. Svirina<sup>1</sup>, S. Isajevs<sup>1</sup>, G. Knipse<sup>1</sup>

Faculty of Medicine, University of Latvia<sup>1</sup>

Agency of Latvian University „Institute of Biology of Latvian University”<sup>2</sup>

[darjasvirina@inbox.lv](mailto:darjasvirina@inbox.lv)

## ABSTRACT

This study investigated changes in the expression pattern of iNOS as well as morphological changes in the intestinal wall during chicken exposure to excess of ascorbic acid. In control animals iNOS expression have been identified primarily in villus enterocyte brush border, as well as in enteroendocrine cells, in mucosal macrophages and in myenteric neurons. In chicken intestinal mucosa during high-dose ascorbic acid administration the level of oxidative stress marker - malondialdehyde was increased. Oxidative stress upregulates iNOS expression by apoptotic enterocytes. This indicates that NO acts as a mediator of apoptosis. The subchronic ascorbic acid treatment caused an increase in the number of IEL and mucosal macrophages highly expressing NF- $\kappa$ B and iNOS. These results show that the excess ascorbic acid can upregulate the expression of iNOS in intestinal mucosa and suggest that this regulation is probably mediated by oxidative stress-induced NF- $\kappa$ B activation. There would be a high probability that excess nitric oxide alters neuroendocrine signaling in the small intestine during long-term oxidative stress. The results reported here reveal a tight relationship between oxidative stress and compensatory upregulation of iNOS in the gut mucosa, thus enhancing reactive nitrogen species generation and apoptosis.

**KEY WORDS:** ascorbic acid, oxidative stress, iNOS, caspase-3, serotonin.

## INTRODUCTION

Ascorbic acid as an electron donor is a potent water-soluble antioxidant in animals. However, the excess of ascorbic acid cause an increase in intracellular reactive oxygen species. The small intestine which is the primary site for ascorbic acid absorption is at particular risk for ascorbic acid-induced oxidative stress. Oxidative stress alters neuronal and enteroendocrine signaling, leading to functional adaptation in the inflamed bowel (6). Nitric oxide (NO) a highly reactive, diffusible and unstable radical, is an important signaling molecule regulating the severity of inflammation. On the other hand, under normal circumstances NO contributes to blood pressure regulation, neuronal communication and immune defense. Synthesized in excessive amounts NO have many potentially toxic effects, which are mediated by its oxidation products (e.g. peroxynitrite). Production of NO from L-arginine is catalyzed by special enzymes NO synthases (NOS). There are 3 types of NOS : endothelial NOS - eNOS, neuronal NOS - nNOS and inducible NOS – iNOS. eNOS and nNOS are constitutive enzymes and are able to generate insignificant amount of NO, by the side of iNOS (8).

As yet there is no consensus to the role of high-output NO generated by iNOS in intestinal injury associated with oxidative stress. The aim of this study was to investigate changes in the expression pattern of iNOS as well as morphological changes in the intestinal wall during chicken exposure to excess of ascorbic acid.

## METHODS

Animals were divided into two groups of 10 heads in each. Birds of the control group were fed a wheat/barley full-fed basal diet containing all necessary nutrients (ascorbic acid - 50mg/kg of diet). The chicken of the experimental group provided with the same basal diet plus ascorbic acid (10g/kg of diet) from hatching to 30 days.

Oxidative stress was measured as ileal mucosal malondialdehyde (MDA).

For histological examinations, 1 cm lengths of the intestinal samples (ileum) were taken and were fixed in 10% neutral buffered formalin. Paraffin-embedded tissue was cut in 4-micron-thick sections and was stained with haematoxylin and eosin and periodic acid–Schiff (PAS) reagent. Morphometric analysis of tissue was performed using a light microscope (Leica, Wetzlar, Germany) and Motic (Motic, China) coupled to an image analysis software (Image Pro-Plus or Motic Image respectively). Total area of gut mucosa in transverse section (TAMS) was measured. Mean intra-epithelial (IEL) count per 100 villous enterocytes was computed. Neuronal diameter was calculated using Image Pro-Plus analysis software.

According to an immunohistochemical method described elsewhere, tissue sections were stained for visualization of immunoreactive serotonin, active and nonactive caspase-3 and iNOS positive cells. A negative control without primary antibody was included in each staining run. The total number of immunopositive cells was counted and the final result was expressed as cells/mm<sup>2</sup>. The number of enteroendocrine cells, enterocytes and macrophages staining positively with caspase-3 and iNOS, as well as the number of vesiculated serotonin-positive EC cells, shown as total number of cells/mm<sup>2</sup> in separate fields of the section, was determined by counting cells in the gut mucosa.

All statistics were performed using the program SPSS. Means and standard deviations and significance values were calculated. Results are presented as mean  $\pm$  S.E.M. Statistical comparisons were performed using Student's t-test. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

iNOS expression within villus enterocyte microvilli at high constitutive level has been reported. The resulting spatially distributed localization of iNOS supports NO release into the intestinal lumen. This provides an efficient mechanism for nonspecific host defense. We speculate that iNOS in villus enterocyte brush border is continuously induced by antigens in the luminal environment. At the same time, cytoplasmic immunoreactivity for iNOS was most intense in enterocytes that are prone to become apoptotic next in the course of cellular turnover in the top of the villi. It has been found previously that NO provides antimicrobial oxidants of nitrogen and at high concentrations can be also proapoptotic (3). The extrusion of apoptotic enterocytes into the intestinal lumen leads to enhanced permeability of the epithelial layer. As cell loss leaves a defect in the epithelium that ultimately has to be protected from bacterial invasion, we hypothesized that NO, secreted by apoptotic cells may provide short-term local defense against infection.

Caspase-3 staining of the ileum mucosa showed that a few apoptotic cells were present in villus tip in control animals and statistically significant increase in the number of caspase-3 positive apoptotic enterocytes in experimental group was observed with a significant localization of apoptotic cells in the upper third of the intestinal villi ( $4.4 \pm 1.3$  versus  $10.4 \pm 1.4$  cells/mm<sup>2</sup>,  $p=0.009$ ) (Fig. 1).

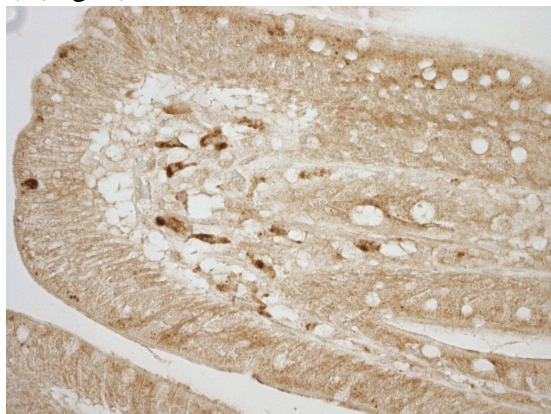


Figure 1. Caspase-3-positive staining in apoptotic enterocytes and macrophages of experimental animals.

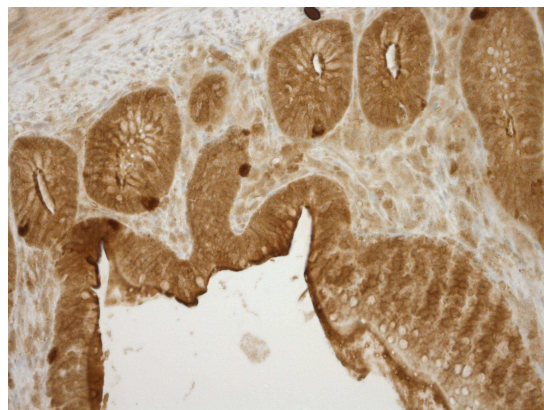
All of the above-mentioned changes could be attributed to an increased production of reactive oxygen species and reactive nitrogen species. Because these species are potent oxidizing agents, they can destroy cellular antioxidant defense mechanisms, resulting in lipid peroxidation, apoptosis and inhibition of cell proliferation (1). Hence oxidative and nitrosative stress when they work together, may account for observed delayed gut maturation in the ascorbic acid-treated chickens.

Tissue level of malondialdehyde was 40 percent higher in experimental animals when compared with control group.

The mean IEL count per 100 enterocytes was 19 in control animals. The mucosa of experimental animals revealed intra-epithelial lymphocytosis, with 24 lymphocytes per 100 enterocytes ( $p < 0.05$ ). From these results it is concluded that high-dose ascorbic acid administration leads to the local immune activation, possibly by increasing the epithelial permeability to luminal bacteria.

Moreover the number of iNOS expressing intestinal macrophages increased in experimental animals, but the results were statistically insignificant. This could be due to macrophage activation in response to bacteria. Subchronic high dose ascorbic acid consumption also leads to an increase in the number of caspase-3 positive mucosal macrophages. It may be that one mechanism by which the loss of mucosal macrophages may occur is by a proportion of activated macrophages continuously undergoing apoptosis in the event of microbial phagocytosis (9). It has shown earlier, that macrophages have an increased susceptibility to NO-mediated apoptosis. Our results demonstrated high expression of iNOS in mucosal macrophages, also implying that nitrosative stress may play a role in the macrophage apoptosis during the phagocytosis of bacteria. Ascorbic acid induced stimulation of iNOS and NF- $\kappa$ B expression in mucosal macrophages has also been detected. These findings are in agreement with recently reported role of NF- $\kappa$ B in mediation of iNOS expression (5).

Results from iNOS immunostaining showed that changes in epithelial iNOS activity after excess ascorbic acid exposure occurred mainly in the enteroendocrine cells rather than in the absorptive cells. Serotonin-secreting EC cells are regarded as the predominant neuroendocrine cells of the bowel (6). It is well known that serotonin is a powerful vasoconstrictor. Since the NO is secreted together with the serotonin we speculate that NO improve the mucosal blood flow and ameliorate the serotonin bioavailability. In experimental group the number of serotonin-positive EC cells with vesiculated cytoplasm increased ( $78.90 \text{ cells/mm}^2$ ) as compared with control group ( $12.40 \text{ cells/mm}^2$ ,  $p < 0.05$ ) These findings can be explained by the stimulation of piecemeal degranulation of EC-cells (2).



**Figure 2. iNOS immunohistochemical staining is clearly positive in brush border of villus enterocytes and enteroendocrine cells in the control animals.**

This may be due to luminal acidification with ascorbic acid. As has been shown earlier, intestinal luminal acid stimulates serotonin release from EC cells (11). It is known that oxidative stress can give rise to hypertension by superoxide interacting with NO, thereby decreasing NO availability for smooth muscle relaxation function (7). This in turn, led to compensatory up regulation of iNOS in enteroendocrine cells during long term exposure to high-dose ascorbic acid (Fig.2). Consequently, chronic exposure to excess NO may reduce the modulatory effects of serotonin due to the formation of its chemical derivatives (10).

Our results showed a 7 percent reduction in body mass of experimental animals. Furthermore, prolonged exposure of high-dose ascorbic acid resulted in upregulation of mucosal macrophages (Fig. 3), and decrease in the diameter of myenteric neurons ( $52.65 \pm 1.593$  versus  $38.21 \pm 0.8973 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.001$ ) (Fig.4), and TAMS ( $7.3 \pm 0.21$  versus  $11.29 \pm 0.55 \text{ mm}^2$ ,  $p = 0.0002$ ).

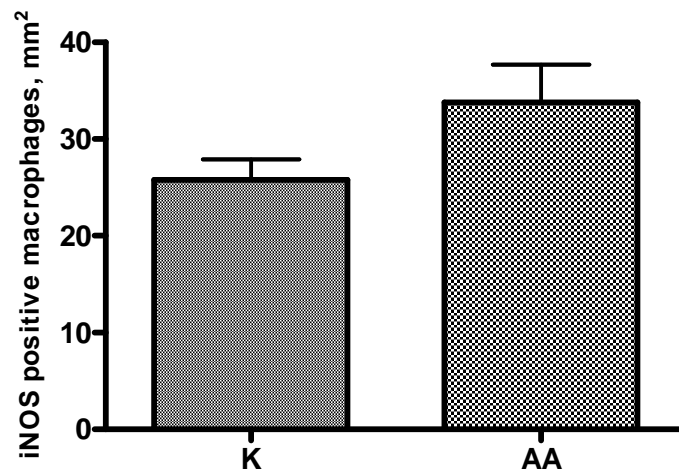


Figure 3. The number of iNOS positive macrophages in the ileal mucosa of control (K) and experimental (AA) animals.

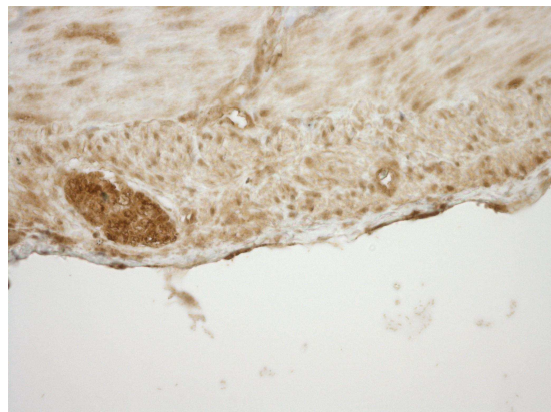


Figure 4. iNOS positive myenteric neurons of experimental animals.

Taken together these results indicate that high-dose ascorbic acid-induced oxidative stress upregulates gut iNOS. In addition, iNOS most likely contributes to delayed gut maturation and growth retardation of 30-day-old chickens through nitrosative stress.



## REFERENCES

1. Aw, T.Y. Cellular Redox: A Modulator of Intestinal Epithelial Cell Proliferation. *News Physiol. Sci.* 2003, V18, pp. 201 – 204.
2. Crivelatto, E., Nico, B., Mallardi, F., Beltrami, C.A., Ribatti, D. Granule changes of human and murine endocrine cells in the gastro-intestinal epithelia are characteristic of piecemeal degranulation. *Anat. Rec.* 2002, V268, pp.353-359.
3. Fabbri, F., Briigliadori, G., Ulivi, P., Tesei, A., Vannini, J., Rosetti, M., Bravaccini, S., Amadori, D., Bolla, M., Zoli, W. Pro-apoptotic effect of a nitric oxide-donating NSAJD, NCX4040, on bladder carcinoma cells. *Apoptosis*, 2005, V.10, pp.1095-1103.
4. Fossier, P., Blanchard, B., Ducrocq, C., Leprince, C., Tanc, L., Bank, G. Nitric oxide transforms serotonin into an inactive form and this affects neuromodulation. 1999, V93, pp. 597-603.
5. Gookin, J.L., Chiang, S., Allen, J., Armstrong, M.U., Stanffer, S.H., Finnegan, C., Murtaugh, M.P. NF-kB mediated expression of iNOS promotes epithelial defense against infection by *Cryptosporidium parvum* in neonatal piglets. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiology.* 2005, V.287, pp. 6571-6581.
6. Kidd, M., Modlin, L.M., Eick, G. N., Champaneira, M.C. Isolation, functional characterization, and transcriptome of *Mastomys ileal* enterochromaffin cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2006, V291, pp. 6778-6791.
7. Lingyun, W., Hossein N. A., M., Facci, M., Wang, R., Paterson, P.G., Ferrie, A. Juurlink, B.H.J. Dietary approach to attenuate oxidative stress, hypertension, and inflammation in the cardiovascular system. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004 May 4; 101 (18), pp. 7094-7099.
8. Marietta M. A.; Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis; *Cell.* 1994. 78, pp. 927-930.
9. Marriott, H.M., Ali, F., Read, R.C., Mitchell, T.J., Whyte, M.K.B., Dockkell, D.H. Nitric oxide levels regulate macrophage commitment to apoptosis or necrosis during pneumococcal infection. *The FASEB Journal.* 2004, V18, pp. 1126-1128.
10. Thomson, A.B., Keelan, M., Thiesen, A., Clandin, M.T., Ropelski, M., Wild, G.E. Small bowel review: normal physiology. Part 2. *Dig. Dis. Sci.* 2001, V46, pp. 2588-2607.

# DZĪVNIIEKU VESELĪBA DAŽĀDOS TURĒŠANAS APSTĀKĻOS ANIMAL HEALTH IN DIFFERENT MANAGEMENT CONDITION

**Baiba Ošmane, Inese Zītare, Jānis Mičulis, Daina Ikauniece, Līga Proškina**  
LLU Biotehnoloģijas un Veterinārmedicīnas Zinātniskais Institūts „Sīgra”, Latvija  
Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine of LUA, Latvia  
[sigra@lis.lv](mailto:sigra@lis.lv)

## ABSTRACT

The aim of the Project was to evaluate the keeping ways (1st – on summer in pasture, on winter in stable and 2nd around the year in stable) and different feeding influence on dairy cows health and productivity. To ensure animals good health status by its keeping in 1st and 2nd ways the cows right feeding technology choice and optimum keeping conditions are essential. At the beginning of trial by using mixed feed in 2nd variant there was increased acetone body level in the milk of 15 % of total number of cows. After 5 months acetones bodies were ascertained in milk of 20 % of cows. We consider, that feeding out cut silage or haylage from big bales, where protein content is comparatively high, causes misbalance between protein and carbohydrates as well as sugar deficiency that resulted in acetone body increasing in organism. Health condition of cows legs claws improved essentially ( $p < 0.01$ ) and only 1 animal diseased in average at the month per herd. Disease with clinic mastitis at the end of 1st period decreased essentially ( $p < 0.01$ ). By comparing artificial insemination data on the years 2006 – 2007 it is seen that average pregnancy percentage in the year 2007 is by 5.4 % higher than in the year 2006. The conditions of a new keeping and feeding way (2nd variant) promote to maintain good animal health, active metabolism and improve potential producing ability expression in higher milk yield way.

**KEY WORDS:** feed, keeping way, animal health.

## IEVADS

Piena lopkopībā būtiski ir dzīvniekiem pietiekamā daudzumā saražot kvalitatīvu, pilnvērtīgu un ekonomiski izdevīgu barību, kā arī nodrošināt piemērotus turēšanas apstākļus, kuri kopā nodrošina organisma veselības stāvokli.

Saimniecības interesēs ir uzlabot govju veselību, tādējādi palielinot peļņu, kāpinot ražošanas apjomus, uzlabojot piena kvalitāti un samazinot ražošanas izmaksas. Lai nodrošinātu dzīvnieku veselību, tās turot un ēdinot pēc tradicionālās sistēmas (vasarā ganos un ziemā kūtī – 1. variants) kā arī visu gadu atrodoties kūtī (2. variants), būtiska ir pareiza govju ēdināšanas tehnoloģijas izvēle un organizācija visos zāles lopbarības ražošanas posmos – sākot ar daudzgadīgo zālāju audzēšanu, novākšanu, konservēšanu, uzglabāšanu un izēdināšanu, vienlaicīgi nodrošinot atbilstošus turēšanas apstākļus. (Woolford M., 2003; Šeļegovska E., 2004)

Mūsu projekta mērķis bija izvērtēt atšķirīgu turēšanas un ēdināšanas veidu ietekmi uz dzīvnieku veselību un produktivitāti.

Darba uzdevumi:

- 1) salīdzināt dzīvnieku turēšanu, ēdināšanu un iegūtās produkcijas daudzumu,
- 2) veikt organisma homeostāzes pētījumus.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Projekta ietvaros laika periodā no 2006. – 2008. gadam tika salīdzināti un izanalizēti divi govju turēšanas varianti:

1. govīs tiek laistas ganībās vasarā un ziemā turētas kūtī;

2. govju visu gadu atrodas kūtī brīvā turēšanas veidā, nodrošinot tās ar vienmērīgi sabalansētu vienveidīgu barību.

Izanalizējām abu govju turēšanas variantu kvantitatīvos un kvalitatīvos rādītājus un to ietekmi uz dzīvnieku ēdināšanu, veselību un piena produktivitāti.

Pirms izmēģinājuma un 5 mēn. pēc tam izmeklējām govju asins serumu un pienu uz ketonvielu (acetona) klātbūtni. Izmantojām Lestrada metodiku ar Na nitroprusīdu un reakciju ar acetetiķskābi (Maņevičs 1970.). Veicām datu matemātisko apstrādi, izmantojot matemātiskās statistikas metodes (Vilkoksona tests, daudzfaktoru dispersijas analīze) ar SPSS un MS Excel datorprogrammām, kā arī noteicām iegūto datu būtiskumu izmantojot SPSS datorprogrammu.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Izmēģinājuma 1. varianta govju barības bioķīmiskais sastāvs redzams 1. tabulā.

1.tabula/ Table 1

### 1. varianta barības bioķīmiskais sastāvs, % Biochemical composition of 1 variant feed, %

Barības veids/ Feed	Sausna/ DM	Koppro teīns/CP	Cukuri/ Sugar	NEL	Ca	P
Skābbarība/Silage	30,3	17,8	4,5	5,3	0,9	0,4
Siens/Hay	72,1	7,6	7,5	6,5	0,6	0,2
Placināti graudi roll grains	88,2	13,6	3,9	8,0	0,3	0,3
Ganību zaļmasas maisījums/ Mix of pasture grass	21,5	20,3	7,6	6,9	0,9	0,3

Pēc līdzīgas shēmas tika izanalizēts arī barības maisījums 2. variantu grupas govīm.

2.tabula/Table2

### Barības maisījuma bioķīmiskais sastāvs (izmēģinājums), % Biochemical composition of feed mix (experiment), %

Barības veids	Sausna	Koppro teīns	Cukuri	Kok šķiedra	NEL	Ca	F
Barības maisījums	32,5	14,1	4,5	29,2	6,3	1,1	0,4

Uzsākot ēdināt miksētu barību 2. variantā, govīm pienā 15 % gadījumu bija ketonķermeņi, pēc 5 mēnešiem acetonķermeņus konstatējām 20 % izmeklētajos piena paraugos.

Līdzīga situācija bija arī citās saimniecībās, kur izēdina miksētu barību. Šajās saimniecībās sāka izēdināt melasi ap 250 g dienā jeb 50 g cukura 1 x 2 dienās. Jau pēc 7 – 10 dienām pienā vairs netika konstatēti ketonķermeņi. Uzskatām, ka, izēdinot smalcinātu skābbarību vai skābsienu no ruļļiem, kur olbaltumvielu saturs ir samērā augsts, palielinoties šādi sagatavotas barības apēdamībai, jau tā trauslais balanss starp olbaltumvielām un cukuriem tiek sagrauts, un izteikts cukura deficīts izsauc ketonķermeņu uzkrāšanos organismā. Spriežot pēc kontrolslaukumu rezultātiem, izēdinot govīm melasi vai cukuru pieaug izslaukums par 1.5 - 2 kg no govīm.

Govīm, kurām pienā konstatēti ketonķermeņi, amonjaka saturs bija normas robežās. Izmēģinājuma 2. variantu saimniecībā būtiski izmainījās slaucamo govju turēšanas apstākļi:

govis nepiesietas; vienā kūts pusē nav logu; ēdināšana ar skābbarības vai skābsiena maisījumu. Saimniecībā ir iekārtas, kur barībai melasi nevar pievienot sagatavošanas procesā tīri tehnisku iemeslu dēļ.

Pēc 6 mēn. par 1 – 2 % palielinājās subklīnisko un klīnisko mastītu skaits. Sakarā ar to, ka dzīvnieku kājas ilgstoši saskārās ar mēslu un urīna maisījumu, atsevišķiem dzīvniekiem radās nagu starpas mīksto audu iekaisumi. Iespējams, ka infekcija tika ieviesta kūtī ar jaunām iepirkām telēm. 1 perioda beigās govju kāju nagu veselības stāvoklis būtiski ( $p < 0.01$ ) uzlabojās un vidēji mēnesī no ganāmpulka saslima tikai 1 dzīvnieks. Arī saslimšana ar klīnisko mastītu 1 perioda beigās būtiski ( $p < 0.01$ ) samazinājusies. Izmēģinājuma gadā bija labvēlīgi laika apstākļi turot dzīvniekus aukstā kūtī caurvējā (silta ziema).

Izmēģinājuma laikā izvērtējām arī govju reprodukcijas rādītājus (3.tabula).

3.tabula/Table3

**Apsēklošanas pārskats**  
**Summary of insemination**

**2006.gads**  
**Year 2006**

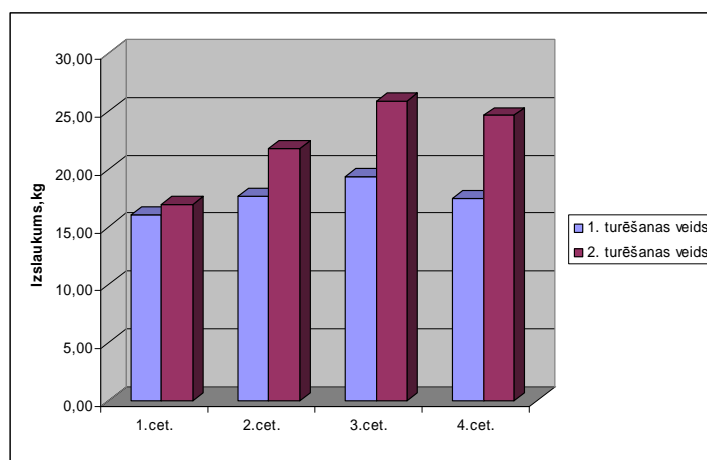
**2007.gads**  
**Year 2007**

	Dzīv- nieku skaits/ count of animals	1x	2x	3x un vairāk/ 3times and more	%	Dzīv nieku skaits/ count of animals	1x	2x	3x un vairāk/ 3times and more	%
1.cet. / 1 quarter	47	17	8	5	68.1	45	14	12	8	77.0
2.cet. / 2 quarter	56	14	12	11	66.7	55	27	10	10	77.3
3.cet. / 3 quarter	40	10	11	8	64.5	42	16	5	6	65.9
4.cet. / 4 quarter	53	20	9	7	64.8	54	19	10	9	70.4
KOPĀ/ SUMM	196	61	40	31	67.3	196	76	37	33	72.7

Salīdzinot mākslīgās apsēklošanas datus par 2006. un 2007. gadu saimniecībā, ir redzams, ka 2007. gada vidējais grūsnības procents ir par 5.4 % lielāks kā 2006. gadā. Arī grūsno govju skaits, kuras ir apaugļojušās ar pirmo sēklošanas reizi, ir par 15 govīm vairāk 2006. gadā. Kā iemeslu varētu minēt kvalitatīvākas barības izēdināšanu ar sabalansētu barības devu pa govju ražības grupām. Nav mazsvarīgi tas, ka fermā govīs tiek novērotas visu diennakti. Apskatot 2007. gada grūsnības procentus pa ceturkšņiem ir redzams, ka pirmajā pusgadā grūsnības procenti vidēji ir 77, kas ir par 10 % augstāk kā 2006. gadā. 2007. gada otrajā pusgadā procenti ir ievērojami zemāki salīdzinot ar pirmo pusgadu. Tas ir vidēji par 15 %. Iemesls varētu būt 2007. gada karstais jūlija mēnesis, kad govīm nebija izteiktas meklēšanās pazīmes slikto labturības apstākļu dēļ, jo fermā nebija nodrošināta gaisa ventilācija. Līdz ar to jūlijā govīm, kuras visu gadu turēja kūtī, grūsnības procents bija tikai – 53,3.

Ekonomiskā atdeve ir jau pirmajā gadā pēc pārejas uz jauno govju turēšanas veidu. Izslaukums no govīs gada 1. ceturksnī ir pieaudzis par 5%, pavasara periodā par 23%, bet par 34 - 41 % attiecīgi vasaras un rudens periodā. Otrā (visu gadu kūtī) turēšanas un ēdināšanas veida apstākļi palīdz saglabāt labu dzīvnieku veselību, aktīvu vielmaiņu un veicina potenciālo ražotspēju pilnīgāku izpausmi augstāku izslaukumu veidā.

Pilnībā pārejot uz jauno turēšanas veidu (1. variants), bez ganību perioda, izslaukums ir pieaudzis vidēji par 5 kg dienā salīdzinot ar 2. variantu, kad tradicionālajos apstākļos vasaras periodā govīs tika laistas ganībās (1.att).



1 attēls. **Vidējā diennakts izslaukuma (EKP) dinamika izmēģinājuma abos turēšanas apstākļos, kg**

Figure 1 **Dynamics of average yielding (EKP) per day in bought keeping conditions, kg**

Lai izdarītu secinājumus par turēšanas veida ietekmi uz produktivitāti, ar matemātiskās statistikas metodēm, salīdzinājām abu periodu rādītājus. Izdarot aprēķinus ar varbūtību 95 % pieļāvām, ka izslaukums jaunos turēšanas apstākļos (2.variants) ir būtiski lielāks, salīdzinot ar tradicionālo (1.variants) turēšanas veidu. Veicām arī dzīvnieku veselības rādītāju izvērtējumu, kur pierādījās, ka 2. variantā dzīvnieku veselības stāvoklis (asins bioķīmiskie un klīniskie izmeklējumi, kāju un tesmeņa fizioloģiskais stāvoklis,) bija būtiski ( $p < 0.05$ ) labāks, kad dzīvnieki bija pieraduši pie jauniem turēšanas un ēdināšanas apstākļiem, salīdzinot ar 1. izmēģinājuma variantu.

## SECINĀJUMI

1. Salīdzinot iegūtā piena produkcijas daudzumu divām atšķirīgi turētām slaucamo govju grupām, - būtiski augstāks ( $p < 0.05$ ) izslaukums tika iegūts, dzīvniekus turot visu gadu kūti kā otrā variantā, - vasarā izmantojot ganības un novietnē turot tikai ziemas periodā.
2. Salīdzinot slaucamo govju vispārējo veselības stāvokli, būtiski labāks statuss ( $p < 0.05$ ) bija dzīvniekiem, kas visu gadu atradās novietnē un bija pieraduši pie attiecīgajiem labturības apstākļiem nekā dzīvniekiem, kuriem tie vairākas reizes gadā mainījās un bija nepieciešams atkārtoti pierast pie jauniem turēšanas un ēdināšanas apstākļiem.
3. Jaunais slaucamo govju turēšanas un ēdināšanas veids, kad dzīvnieki visu gadu atrodas novietnē, neizmaina organisma metaboliskos procesus, nodrošina potenciālo ražotspēju izpausmi augstu izslaukumu veidā, saglabājot dzīvnieku veselību.
4. Ekonomisko atdevi novērojām jau pirmajā gadā pēc pārejas uz jauno govju turēšanas veidu. Izslaukums no govīs gada sākumā bija pieaudzis par 5%, pavasara periodā par 23%, bet par 34 - 41 % attiecīgi vasaras un rudens periodā, salīdzinot ar tradicionālo turēšanas veidu.

## LITERATŪRA

1. Maņevičs Z. Dzīvnieku vielu maiņas slimības. Izd."Liesma", 1970.- 296.
2. Woolford M. Skābbarības gatavošanas tehnoloģija un zinātne. Alltech tehniskās publikācijas, Lielbritānija, 2003: 1-55.
3. Šeļegovska E., Piena ganāmpulka pāreja no vasaras uz ziemu. „Saimnieks”, 2004. 8 : 47-50.

# REPRODUCTION IS IMPAIRED IN FEMALE MICE WITH A MUTATED BIOLOGICAL CLOCK

Pilorz Violetta<sup>1</sup>, Steinlechner Stephan<sup>2</sup>

Department of Chronobiology, University of Groningen, The Netherlands<sup>1</sup>

Institute of Zoology, University of Veterinary Medicine Hannover, Germany<sup>2</sup>

[Stephan.Steinlechner@tiho-hannover.de](mailto:Stephan.Steinlechner@tiho-hannover.de)

## ABSTRACT

Circadian rhythms play a major role in the effective functioning of animals and the proper timing of reproductive functions is one of the strategies that ensure optimal chances for survival. The core mechanism of the endogenous clock is based on two interlocking transcriptional/ translational feedback loops involving different sets of clock genes, including *Per1* and *Per2*. In this study we used *Per1*- and *Per2*-deficient female mice to determine the effect of the endogenous clock on reproductive function(s). Although the young *Per*-mutant mice appear to be quite normal in their fecundity, we find that puberty is advanced and that middle-aged females show an irregularity and acyclicity of the estrous cycle leading to a lower reproductive success in comparison to the control group.

**KEY WORDS:** circadian rhythm, *Per*-genes, puberty, estrous cycle, fertility,

## INTRODUCTION

The mammalian endogenous circadian clock is located in the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus (Moore and Eichler 1972, Stephan and Zucker 1972). Such an endogenous clock allows animals to anticipate environmental conditions, in order to be able to perform behavioral patterns at advantageous times during day or night and throughout the year. There are many environmental cues such as light, ambient temperature, rainfall and availability of food that animals can use to synchronize to daily and seasonal changes. While these environmental variables can be notoriously unpredictable and thus unreliable, changes in day length throughout the year provide a robust environmental signal with, literally, astronomical precision and thus high predictive value. The synchronization of breeding cycles with the appropriate season or time of day usually depends on the measurement of day length by the pineal gland (Reiter 1993). Thus, seasonally breeding animals such as hamsters and ground squirrels show reaction to changes of the photoperiod by switching from a period of reproductive activity (long day during summer) to periods of reproductive quiescence (short day during winter) (Steinlechner and Niklowitz 1992, Gorman and Zucker 1995). Many data from different rodent species demonstrate that oestrus-related events such as timing of pro-oestrus, surge of LH and FSH release, ovulation, increase in progesterone secretion, and onset of sexual receptivity are precisely timed by the internal circadian system and occur at specific times of day (Rusak and Zucker 1979, Eskes 1984, Turek 1985).

In recent years, a basic description of the molecular clockwork in the suprachiasmatic nuclei (SCN) has been achieved. It consists of a sequence of interlocking positive and negative feedback loops of gene transcription and translation. Today at least 15 genes are thought to be involved in generating this molecular pacemaker, among which *Clock*, *Bmal1*, *Per1/Per2* and *Cry1/Cry2* form the core of the clockwork. It has recently been shown that mutations in the *Clock* gene disrupt estrous cyclicity and interfere with successful pregnancy (Miller et al 2004, Kennaway et al. 2005). The aim of the present study was to determine whether deletions in the *Per* genes, and hence, a disruption of the endogenous clock have an effect on reproductive functions of female mice.

## MATERIAL AND METHODS

**Animals:** We used homozygous B6.129S7-*Per1*<sup>tm1Brd</sup> (*Per1*<sup>(-/-)</sup>) (Zheng *et al.* 2001), B6.129S7-*Per2*<sup>tm1Brd</sup> (*Per2*<sup>(-/-)</sup>) (Zheng *et al.* 1999), and wild-type females B6X129.S7 as a control group for our experiments. They were housed individually in polycarbonate cages type III containing wood shavings as bedding material. They were maintained at 22 ± 1°C under a light-dark cycle of 12h light : 12h dark (LD 12:12). In the 1<sup>st</sup> experiment reported here, 10 females of each genotype were followed closely from the day of weaning (day 21) until reaching full sexual maturity, i.e. until vaginas had opened and a regular oestrus cycle occurred. In the second experiment 10 young virgin females (2 months of age) and 10 middle-aged virgin females (7-9 months of age) of each genotype (*Per1*<sup>(-/-)</sup>, *Per2*<sup>(-/-)</sup> and wild-type) were used. Ten males of each strain were kept in the same room. For copulation each female in pro-oestrus was placed in the cage of a male for one day and then put back in her own cage. During the non-reproductive and reproductive phases all females were weighed daily. Towards the end of the gestation period the cages of pregnant females were checked daily for the presence of offspring. The day on which young were found was recorded as the date of birth (day 1). To determine the reproductive success of the three strains litter sizes were recorded from the first and second parturition immediately post partum and on the day of weaning.

**Assessment of onset of puberty:** Puberty onset was determined by daily examination for vaginal opening. To avoid exposure to the odor of males, and thus impact of males on the onset of puberty, all females in LD and LL were maintained in an experimental room without any male. The daily examination began on postnatal day 21 and continued until an opening of the vagina was observed. From this day on we started taking daily vaginal smears for eight successive weeks to examine the onset of regular oestrus cycles of 4-5 days.

**Examination of oestrus cycle:** To distinguish the different phases and length of the oestrus cycle as well as to identify the oestrus status for successful copulation with a male Vaginal smears were taken daily for 6 months in the mice's activity phase, i.e. 1 – 2 h after lights off. The smears were obtained by inserting a cauterized metal loop into the vagina not further than 1mm so as to minimize the possibility of inducing pseudopregnancy. The vaginal smear was transferred to a drop of saline solution on a microscopic slide and fixed in MeOH for 2 min before staining with methylene blue solution. After 1.5 months each female in pro-oestrus was placed for 24 hours in a cage with a male and was then checked for a vaginal plug to verify copulation.

The smears were classified into different oestrus stages according to the description of Nelson *et al.* (1982). Prolonged di-oestrus and permanent oestrus for at least 15 days were considered as anoestrus. An oestrus cycle of > 6 days was considered as prolonged and one of < 3 days as irregular.

**Embryonic implantations in uterus:** At the end of the experiment all remaining females of 10-13 months of age (wild-type females N = 7, *Per1*<sup>(-/-)</sup> N = 6 and *Per2*<sup>(-/-)</sup> N = 10) were sacrificed by CO<sub>2</sub> and their uteri were removed. The uteri were stained using 10% ammonium sulphide solution in accordance with the description of Kopf *et al.* (1964) for counting the implantation scars.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Onset of puberty and the first regular oestrus cycle:** Under LD conditions *Per1*<sup>(-/-)</sup> and *Per2*<sup>(-/-)</sup> females display significantly advanced vaginal opening (U-test *Per1*<sup>(-/-)</sup>: p < 0.001; *Per2*<sup>(-/-)</sup>: p < 0.001) as well as an earlier appearance of the first regular oestrus cycle (U-test: *Per1*<sup>(-/-)</sup>: p = 0.002; *Per2*<sup>(-/-)</sup>: p < 0.001) compared to the wild-type females (Table 1).

In the absence of a mature male we observed under LD conditions an advanced onset of puberty in *Per1*<sup>(-/-)</sup> and *Per2*<sup>(-/-)</sup> females compared to wild-type females. This is characterized

by accelerated vaginal opening and accelerated appearance of the first regular oestrus cycle. Normally female laboratory mice housed with an adult male display the first ovulation at about 37 days of age whereas females in the absence of a mature male are sexually mature at about 57 days of age (Vandenbergh 1967). Even though in the present study the wild-type females with the genetic background B6.129S7 were housed in the absence of a male they displayed much earlier sexual maturity at an age of  $36.5 \pm 1.39$  SEM days than the mice investigated by Vandenbergh (1967). Recent studies on different mouse strains have shown that genetic factors modulate the timing of puberty by 50 - 80% (Eaves *et al.* 2004). Thus, this difference in the timing of puberty onset in female mice can be a consequence of the genetic differences among the various inbred strains.

Table 1

**Onset of puberty and sexual maturation in *Per*-mutant and wild-type mice**

Genotype	<i>Per1</i> <sup>(-/-)</sup>	<i>Per2</i> <sup>(-/-)</sup>	Wild-type
Vagina opened on day	26.0 ± 1.05	28.9 ± 0.66	36.5 ± 1.39
1 <sup>st</sup> regular oestrus cycle on day	34.5 ± 2.45	34.5 ± 1.13	46.8 ± 1.70

*Reproductive success:* All primiparous and multiparous females in both age classes and of all three strains were successful in becoming pregnant. Young adult *Per1*- and *Per2*-mutants produced significantly larger litter sizes - on average 7.9 and 7, respectively, than the middle-aged *Per* mutants (U-test: *Per1*<sup>(-/-)</sup>:  $Z = 2.26$   $p > 0.05$ ; *Per2*<sup>(-/-)</sup>:  $Z = 2.83$ ,  $p > 0.05$ ). Furthermore, the litter size of young adult *Per*-mutants did not differ from the litter size of the middle-aged wild-type (Kruskal-Wallis-ANOVA:  $Ch^2 = 3.76$ ,  $FG = 2$ ,  $p = 0.15$ ). Almost every pregnant middle-aged wild-type female gave birth and was a successful breeder in contrast to *Per1*- and *Per2*-mutant females. Primiparous wild-type and *Per1*-mutant females produced the same litter size as multiparous females, i.e. they did not differ in their reproductive outcome. However, only 33.3% of multiparous *Per1*-mutant females bred successfully, whereas 90% of the wild-type multiparous females bred. In contrast, *Per2*-mutant females as primiparous females did not raise a single pup successfully. The pups were obviously eaten by their mothers. As multiparous females they produced significantly smaller litter sizes than middle-aged wild-type females did (U-test:  $Z = 2.26$ ,  $p > 0.05$ ).

*Oestrus cycle:* All wild-type females exhibited regular oestrus cycles (100% over 6 weeks). A four day oestrus cycle in wild-type females occurred significantly more often than in *Per*-mutant females (Kruskal-Wallis-ANOVA:  $Ch^2 = 10.05$ ,  $FG = 2$ ,  $p < 0.001$ ) (Fig. 1). However, *Per1*<sup>(-/-)</sup> and *Per2*<sup>(-/-)</sup> females were acyclic in 37.07% and 44.85% of this time, respectively. The remaining time was characterized by cyclicity of four, five and longer than 6 days, while *Per1*-mutants exhibited more often 4 day cycles than prolonged cyclicity (ANOVA:  $F_{2, 27} = 4.01$ ,  $p < 0.05$ , Post hoc-test.  $p = 0.04$ ).

*Implantations in uteri and live offspring:* *Per1*<sup>(-/-)</sup> and *Per2*<sup>(-/-)</sup> females had a significantly higher number of embryonic scars in the uterus compared to the total number of their live offspring from the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> parturition (Wilcoxon-test: *Per2*<sup>(-/-)</sup>:  $Z = 2.93$ ,  $p < 0.05$ ,  $N = 10$ ; *Per1*<sup>(-/-)</sup>:  $Z = 2.02$ ,  $p < 0.05$ ,  $N = 6$ ). Wild-type females, however, did not differ significantly between the number of implantations and the number of live offspring (Wilcoxon-test:  $Z = 1.82$ ,  $p > 0.05$ ,  $N = 7$ ). Moreover, *Per1*<sup>(-/-)</sup> females showed a significantly lower number of implantations than the control group (U-test:  $Z = 2.45$ ,  $p < 0.05$ ). Hence, primiparous as well as multiparous middle-aged mutant female mice *Per1*<sup>(-/-)</sup> and *Per2*<sup>(-/-)</sup> are characterised by a low reproductive success in comparison with the middle-aged wild-type females. These results indicate an accelerated reproductive ageing of the *Per*-mutants versus the wild-type strain. This conjecture is supported by the lower incidence of regular oestrus cycles in *Per*



mutants compared to wild-type females. *Per* mutants were acyclic for 41% of the observation period (1.5 months), while the wild-type females of the same age showed no acyclicity at all and the normal oestrus cycle of four days occurred significantly more often in the control group. Acyclic phenomena, e.g. persistent vaginal cornification or leukocytosis, characterize the age-associated decline of cyclicity in rats and mice (Nelson *et al.* 1982).

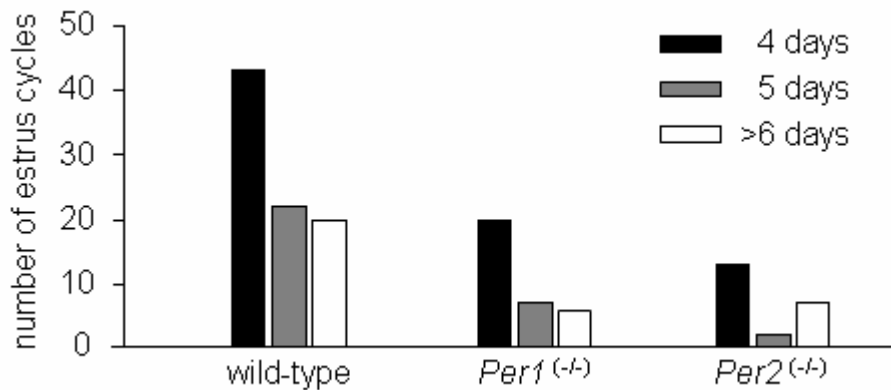


Figure 1: **Total number of oestrus cycles over 1.5 months in all non-reproducing females of each strain, N = 10 each.**

This decline in fecundity is usually accompanied by a decrease in the number of live pups. Thus, the lower reproductive success of middle-aged *Per* mutants may be due, at least in part, to changes in the length of the oestrus cycle and in its frequency. In addition, even mutant females who have a regular oestrus cycle also often failed to reproduce successfully. Since only 33% of middle-aged pregnant *Per1* and 50% of *Per2* mutants were successful in breeding they seem to be characterized by less fecundity compared to the control group where almost all pregnant females were successful breeders. Comparisons of implantation scars with the successfully bred offspring in the present study confirm that the decreased fecundity in middle-aged *Per* mutants is related to reproductive failures during gestation. Studies on rats have demonstrated that an induced or spontaneous delay of ovulation results in increases in abnormal development and subsequent death of embryos (Fossum *et al.* 1989). Thus, the uterus of aged animals appears to be responsible for post-implantation loss in those females with implantation sites (Parkening *et al.* 1978). Results from the present study reveal that the number of foetal implantation scars of *Per2* mutants does not differ from that of the control group. However, the total number of surviving pups in *Per2*- and *Per1*-mutants is significantly lower than the number of implantation scars. Hence, *Per*-mutants seem to suffer from post-implantation loss. The functional alterations causing decreases in both fertility and fecundity in middle-aged *Per1*- and *Per2*-mutant female mice are currently unknown. We can conclude, however, that age-related changes in the cyclicity of 9-12 month old *Per1*- and *Per2*-mutant females are qualitatively similar to those of 13-16 month old C57BL/6J female mice that were investigated by Nelson and co-workers (1982).

## CONCLUSIONS

1. Successful reproduction requires precise temporal coordination among various endocrine and behavioral events.
2. We show here that a disruption of a core element of the biological clock, namely the *Per1* and *Per 2* genes leads to an impairment of reproductive functions in female mice.
3. Puberty is advanced in *Per1*- and *Per2*-mutant female mice.
4. Reproductive success is lower in middle-aged *Per1*- and *Per2*-mutant female mice.

5. Number of implantation scars and number of live offspring was significantly lower in *Per1*-mutant female mice.
6. In *Per2*-mutant female mice only the number of successfully reared pups was greatly reduced indicating that the problems arose after implantation of the embryo.

## REFERENCES

1. Eaves L, Silberg J, Foley D, Bulik C, Maes H, Erkanli A, Angold A, Costello EJ, Worthman C. Genetic and environmental influences on the relative timing of pubertal change. *Twin Research*. 2004.7(5):471-481.
2. Eskes GA. Neural control of the daily rhythm of sexual behaviour in the male golden hamster. *Brain Research* 1984.293(1):127-141.
3. Fossum GT, Davidson A, Paulson RJ. Ovarian hyperstimulation inhibits embryo implantation in the mouse. *J In Vitro Fert Embryo Transf*. 1989. 6(1):7-10.
4. Gorman MR, Zucker I. Seasonal adaptations of Siberian hamsters. II. Pattern of change in daylength controls annual testicular and body weight rhythms. *Biology of Reproduction*. 1995.53(1):116-125.
5. Kennaway DJ, Boden MJ, Voultzios A. Reproductive performance in female *Clock* (*Delta19*) mutant mice. *Reprod Fertil Dev*. 2005. 16(8):801-810.
6. Kopf R, Lorenz D, Salewski E. Der Einfluss von Thalidomid auf die Fertilität von ratten im Generationsversuch über zwei Generationen. *Naunyn-Schniedebergs Archives of Experimental Pathology and Pharmacology* 1964. 247:121-135.
7. Miller BH, Olson SL, Turek FW, Levine JE, Horton TH, Takahashi JS. Circadian clock mutation disrupts estrous cyclicity and maintenance of pregnancy. *Current Biology*. 2004. 14(15):1367-1373.
8. Moore RY and Eichler VB. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*. 1972. 42:201-206.
9. Nelson JF, Felicio LS, Randall PK, Sims C, Finch CE. A longitudinal study of estrous cyclicity in ageing C57BL/6J mice: I. Cycle frequency, length and vaginal cytology. *Biology of Reproduction*. 1982.27(2):327-339.
10. Parkening TA, Lau IF, Saksena SK, Chang MC. Circulating plasma levels of pregnenolone, progesterone, estrogen, luteinizing hormone, and follicle stimulating hormone in young and aged mice during various stages of pregnancy. *J Gerontol*. 1978.33(2):191-196.
11. Reiter RJ. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*. 1993. 49:654.
12. Rusak B., Zucker I. Neuronal regulation of circadian rhythms. *Physiological Review*. 1979. 59:449-529.
13. Steinlechner S, Niklowitz P. Impact of photoperiod and melatonin on reproduction in small mammals. *Animal Reproduction Science*. 1992.30:1-28.
14. Stephan FK and Zucker I. Circadian rhythm in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc Natl Acad. Sciences USA*. 1972.69:1583.
15. Turek FW. Circadian neural rhythms in mammals. *Annual Review of Physiology*. 1985. 47:49-64.20.
16. Vandenberg JH. Chromatographic separation of puberty accelerating phormone form male mouse urine. *Biology of Reproduction*. 1967. 15:260-265.
17. Zheng B, Albrecht U, Kaasik K, Sage M, Lu W, Vaishnav S, Li Q, Sun ZS, Eichele G, Bradley A, Lee CC. Nonredundant roles of the *mPer1* and *mPer2* genes in the mammalian circadian clock. 2001.*Cell*. 105(5):683-694.
18. Zheng B, Larkin DW, Albrecht U, Sun ZS, Sage M, Eichele G, Lee CC, Bradley A. The *mPer2* gene encodes a functional component of the mammalian circadian clock. *Nature*. 1999.400(6740):169-173.

# LAPSU(*Vulpes vulpes*) UN JENOTSUŅU(*Nyctereutes procyonoides Gray*) ZOBU PATOLOĢIJAS LATVIJĀ

## DENTAL PATHOLOGIES OF FOXES (*Vulpes vulpes*) AND RACCOON DOGS (*Nyctereutes procyonoides Gray*) IN LATVIA

Putniņa Anna<sup>1</sup>, Mugurēvičs Arnis<sup>2</sup>

NDC, Latvija<sup>1</sup>LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija<sup>2</sup>

National Diagnostic Centre, Latvia<sup>1</sup> Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia<sup>2</sup>

[Arnis.Mugurevics@llu.lv](mailto:Arnis.Mugurevics@llu.lv)

[anna.putnina@ndc.gov.lv](mailto:anna.putnina@ndc.gov.lv)

### ABSTRACT

A study was carried out in 2007 when the hunted foxes and raccoon dogs were sent into the National Diagnostic Centre. These animals were sent in from 4 regions- Riga, Bauska, Ogre and Jekabpils.

The dental pathology and age of 76 foxes and 35 raccoon dogs were investigated, and their age was determined. The animals were divided according to the age and sex. The main and most frequent pathologies observed were the excessive wear of the teeth cement layer and mechanical damages.

**KEY WORDS** :fox, raccoon dog, pathology, dents

### IEVADS

Pēc pašreizējiem pētījumiem (Allen et al. 2004) pasaulē vidēji 50% - 70%, bet Latvijā 80% - 90% dzīvnieku slimo ar kādu no mutes dobuma patoloģijām.

Zobu slimības, mutes gļotādas slimības, zobu un žokļu defekti un deformācijas rada problēmas dzīvniekiem un ir citu slimību cēlonis. Zobu patoloģijas, kas ārēji neizpaužas tomēr dzīvniekam rada vai varētu radīt diskomfortu, līdz ar to mainot barības kvalitatīvo sastāvu. Iepriekš minētie dati pamatā attiecināmi uz mājdzīvnieku zobu un mutes dobuma patoloģijām, taču trūkst informācijas par savvaļas dzīvnieku zobu patoloģijām, kā arī par to cik plaši tās ir izplatītas. Latvijā nav veikti pētījumi par zobu patoloģiju izplatību lapsām un jenotsuņiem. Darba mērķis bija noskaidrot biežāk sastopamās lapsu un jenotsuņu zobu patoloģijas, kā arī to sakarību ar dzīvnieku vecumu.

### MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījumā izmantoti nomedītie dzīvnieki no četriem reģioniem – Rīgas, Bauskas, Ogres un Jēkabpils rajona, kopumā 76 lapsas un 35 jenotsuņi, kas 2007.gada oktobrī iesūtīti Nacionālajā Diagnostikas centrā, lai kaulaudos noteiktu orālās prettrakumsērgas vakcinācijas iezīmi.

Dzīvnieku vecums noteikts pēc zobu cementa slāņu skaita (Nicholson et al. 1980) Dzīvnieki tika sadalīti vairākās vecumu grupās – līdz 2 gadu vecumam, no 2-5 gadu vecumam un 5-7 gadu vecumam. (skat.1.tabulu).

**Izmeklēto dzīvnieku skaits pa vecuma grupām**  
**Number of investigated animals of different age groups**

Vecuma grupas (gados)/ Age groups (years)	Lapsas/foxes		Jenotsuņi/raccoon dogs	
	♀	♂	♀	♂
> 2	28	27	12	17
3 -5	4	11	-	6
6 – 7	6	-	-	-
<b>Kopā/Total</b>	<b>38</b>	<b>38</b>	<b>12</b>	<b>23</b>

Darbā izmantojām patoloģiju praktisko klasifikāciju (Uhlinger 1987), kas izšķir funkcionālās patoloģijas, kā arī patoloģijas, kas tieši saistītas ar zoba formas vai struktūras pārmaiņām. Zodu apskatei tika izveidota speciāla pierakstu lapa.

Iegūto datu statistiskā apstrāde veikta ar MS Excel datorprogrammu.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Jebkura zobu patoloģija atstāj iespaidu uz barības uzņemšanas un pārstrādāšanas spēju. Ārēji tas izpaužas kā atteikšanās no barības, neparastas, apgrūtinātas košļāšanas kustības, siekalošanās, pastiprināta barības uzņemšana nepieņemoties svarā, novājēšana. Taču ir dzīvnieki, ar ļoti nopietnām zobu patoloģijām un kuriem nav novērojamas traucējumu pazīmes (Stubbs 2004). Tādēļ ir veikti daudzi pētījumi, lai noskaidrotu biežāk sastopamās dzīvnieku zobu patoloģijas (Dixon 1999; Brigham 2000; Thomson 2001; Carmalt 2003; Allen 2004).

Patoloģijas ir konstatējamas jau sākot ar zobu attīstību - piena zobu aizture mutes dobumā neuzsūcoties zoba saknei, kā arī patoloģiski veidojušies zobi pēc nepareizas augļa guļas grūsnības laikā, infekcijām, traumām, tuvradniecīgas pārošanās (Thomson 2001).

Izšķir poligodontiju, jeb palielinātu zobu daudzumu un oligodontiju jeb samazinātu zobu daudzumu. Poligodontiju iedala iedzimtajā, kad auglim veidojas vairāk zobu aizmetņu nekā tas ir normā un piena zobu poligodontiju, kad aizkavējas piena zobu maiņa, to biežāk novēro ilkņiem. Oligodontija var būt iedzimta, ja auglim ir mazāks zobu aizmetņu skaits vai iegūta, ja zobi izkrituši, izrauti vai zaudēti traumas rezultātā.

Zodu lūzums vai plīsums rodas mehāniskas iedarbības rezultātā uzņemot cietu barību. Gludi zobi izveidojas galvenokārt veciem dzīvniekiem un tiem, kuriem zobi ir mīksti, to košanas virsma ir gluda, tāpēc dzīvniekiem ir apgrūtināta cietas rupjās barības sakošļāšana (Stubbs 2004).

Iespējamas arī vairākas citas zobu patoloģijas, piemēram, parodontoze, periodontīts, diastēma, kas ir grūti atšķirami patoloģiski procesi (Green 2002), kā arī zoba kariess jeb cietās vielas progresējoša sairšana, tā attīstību veicina zoba mehāniski bojājumi – lūzums vai plīsums (Uhlinger 1987; Lowder 1998; Allen 2003). Jāatzīmē, ka mūsu pētījumā šīs patoloģijas netika konstatētas.

**Konstatētas lapsu un jenotsuņu zobu patoloģijas**  
**Observed teeth pathologies in foxes and raccoon dogs**

Zobu patoloģijas/Teeth pathologies	Lapsas/foxes	Jenotsuņi/raccoon dogs
Oligodontija/Oligodonty	5 (7%)	1(6,2%)
Mehāniski bojājumi/Mechanical damages	10(28,5%)	2(12,5%)
Nodilums/Wear	18(51,4%)	12(34,3%)
Oligodontija un meh.boj./Oligodonty and mechanicals damages	2(5,7%)	1(6,2%)
<b>Kopā/Total</b>	<b>35(46%)</b>	<b>16(45,7%)</b>

Izmeklējot nomedīto lapsu un jenotsuņu mutes dobumus zobu patoloģijas konstatētas 35 lapsām un 16 jenotsuņiem. Abu sugu dzīvniekiem bija novērojams, galvenokārt, pārmērīgs zobu nodilums. Jauniem dzīvniekiem tas konstatēts priekšzobiem gan augšžoklī, gan apakšžoklī, bet vecākiem dzīvniekiem arī visiem pārējiem zobiem. Mehāniski zobu bojājumi konstatēti tikai ilkņiem gan augšžoklī, gan apakšžoklī. Novērojama arī priekšzobu, ilkņu un premolāro zobu oligodontija. Jāatzīmē, ka divām lapsām un vienam jenotsunim novēroti gan zobu mehāniskie bojājumi, gan arī iztrūkstoši zobi (skat.2.tabulu).

**Konstatētas zobu patoloģijas pa vecuma grupām**  
**Observed teeth pathologies in different age groups**

Patoloģijas/Pathologies	Lapsas/foxes			Jenotsuņi/raccoon dogs	
	>2 g.	3 – 5 g.	6 – 7 g.	> 2 g.	3 – 5 g.
Oligodontija/Oligodonty	3	1	1	-	1
Mehāniski boj./Mechanical damages	9	1	-	2	-
Nodilums/Wear	8	8	2	11	1
Oligodontija un mehāniski boj./Oligodonty and mech. anical damages	-	1	1	1	-

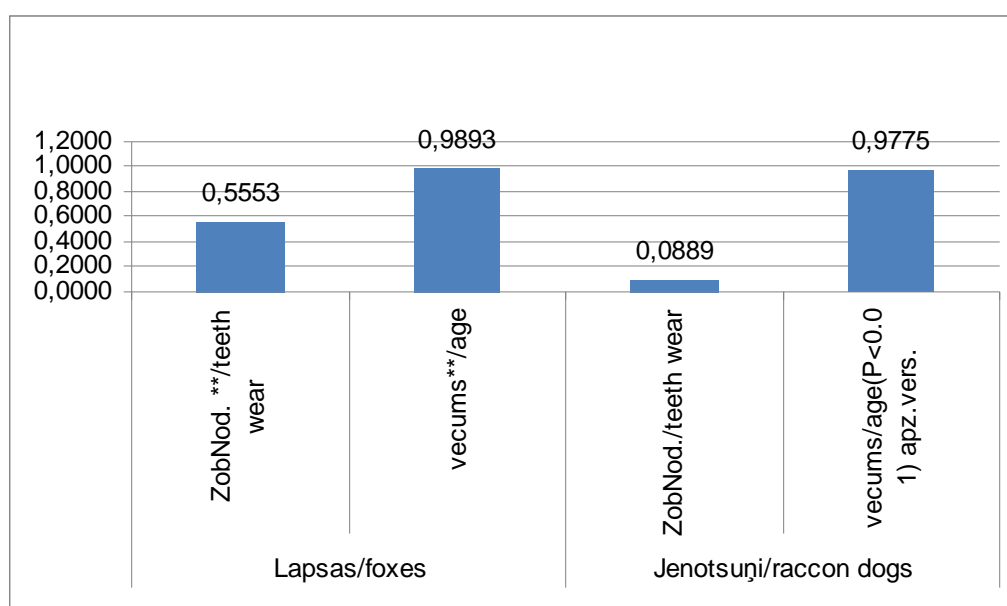
Grupa līdz divu gadu vecumam izmeklētas 53 lapsas, no tām 20 lapsām konstatētas zobu patoloģijas, biežākā novērotā patoloģija ir mehāniski zobu bojājumi, tie bija nolauzti ilkņi pārsvarā augšžoklī – 8 gadījumi, apakšžoklī - 1 gadījums.

Grupā no trīs līdz piecu gadu vecumam izmeklētas 17 lapsas, no tām zobu patoloģijas novērotas 11 dzīvniekiem, biežākā novērojamā patoloģija ir pārmērīgs zobu nodilums – 8 dzīvniekiem, pārsvarā premolārajiem un molārajiem zobiem.

Grupā no sešu līdz septiņu gadu vecumam izmeklētas sešas lapsas, no tām zobu patoloģijas konstatētas 4 dzīvniekiem. Šīm lapsām konstatēts pārmērīgs zobu nodilums premolārajiem un molārajiem zobiem, kā arī iztrūkstoši zobi un nolauzti ilkņi. Jāatzīmē, ka šīs vecuma grupas dzīvniekiem vienlaikus novērojām vairāku zobu trūkumu, kā arī nolauztus ilkņus (skat.3.tabulu).

Jenotsuņiem vecuma grupā līdz diviem gadiem izmeklēti 29 dzīvnieki, no tiem zobu patoloģijas konstatētas 14 jenotsuņiem. Biežākā novērotā zobu patoloģija ir pārmērīgs premolāro un molāro zobu nodilums, kas konstatēta 11 dzīvniekiem. Novēroti arī mehāniski zobu bojājumi – nolauzti ilkņi.

Grupā no trīs līdz piecu gadu vecumam izmeklēti 6 dzīvnieki, no tiem zobu patoloģijas konstatētas 2 jenotsuņiem – pārmērīgs zobu nodilums un iztrūkstoši premolārie zobi (skat.3.tabulu).



1.attēls. Lapsu un jenotsuņu zobu nodiluma korelācija ar dzīvnieku vecumu.

Figure 1. Correlation of teeth wear and animal age

Gan lapsām, gan jenotsuņiem konstatēta pozitīva sakarība ( $P < 0.05$ ) starp izmeklēto dzīvnieku vecumu un pārmērīgu zobu nodilumu (skat.1.attēlu).

## SECINĀJUMI

1. No izmeklētajām 76 lapsām zobu patoloģijas konstatētas 35 (46%) dzīvniekiem. No izmeklētajiem 35 jenotsuņiem zobu patoloģijas novērojamas 16 (45.7%) dzīvniekiem.

2. Biežāk sastopamās zobu patoloģijas gan lapsām, gan jenotsuņiem ir pārmērīgs zobu nodilums – lapsām (51,4%), jenotsuņiem (34,3%) un mehāniski zobu bojājumi – lapsām (28,5%), jenotsuņiem (12,5%).

3. Lapsām, kā mehāniski zobu bojājumi novērojami nolauzti ilkņi gan augšžoklī, gan apakšžoklī, oligodontija visbiežāk skar premolāros zobus, arī jenotsuņiem galvenais zobu mehāniskais bojājums ir nolauzti ilkņi, oligodontija novērota priekšzobiem un premolārajiem zobiem.

4. Pārmērīgs zobu nodilums pārsvarā konstatēts priekšzobiem - dzīvniekiem līdz 2 gadu vecumam, citās vecuma grupās arī premolārajiem un molārajiem zobiem. Lineārā sakarība konstatēta starp lapsu un jēnotsuņu vecumu un zobu nodilumu - palielinoties vecumam vairāk sastopams arī zobu nodilums.

## LITERATŪRA

1. Allen T. (ed.) Manual of Equine Dentistry. St. Louis, MO: Mosby, 2003.
2. Allen T. E. (2004) Incidence and Severity of Abrasions on the Buccal Mucosa Adjacent to the Cheek Teeth in 199 Horses. In: 50 th Annual Convention of the American Association OF Equine Practitioners, American Association of Equine Practitioners, Lexington K Y.
3. Brigham E. J., Duncanson G. R. (2000) Case study of 100 horses presented to an equine dental technician in the UK. Equine Vet Edu, 2: 80 – 90.pp.
4. Carmalt J. L., Townsend H., Allen T. (2003) Effect of floating on the rostro-caudal mobility of the mandible of horses. J Am Vet Med Assoc, 223: 660 – 670.
5. Dixon P. M. Et al. (1999) Equine dental disease. Part 2. A long term study of 400 cases: disorders of development and variations in position of the cheek teeth. Equine Vet J, 63: 500 – 520.
6. Green S. K., Basile T. P. (2002) Recognition and treatment of equine periodontal disease. In: Proceedings of the 48 th Annual American Association of Equine Practitioners Convention, 460 – 470.
7. Lowder M., Mueller E. (1998) Dental embryology, anatomy, development, and aging. Vet Clin North Am [Equine Pract], 14: 220 – 230.
8. Nicholson W. S., Hill E. P. (1980) A comparison of tooth wear, lens weights, and cementum annuli as indices of age in the gray fox//Proc. Worldwide Furbearer Conf., Frostburg, Sect. 1. 1981. Vol. 1. P. 355 – 367.
9. Stubbs R. C. (2004) Dentistry of Equine Cheek Teeth. In: Proceedings of the 50th Annual American Association of Equine Practitioners Convention. American Association of Equine Practitioners, Lexington KY, 1401.
10. Thomson, (2001) Special Veterinary Pathology. An Affiliate of Elsevier Science. St. Louis London Philadelphia Sydney Toronto, 8 – 11.
11. Uhlinger C. (1987) Survey of selected dental abnormalities in 233 horses. In: Proceedings of the American Association of Equine Practitioners. American Association of Equine Practitioners, Lexington KY, 500 – 580.

# **DYNAMICS OF CHANGES IN MORPHOLOGICAL STRUCTURES WITH PREPARATIONS OF NUCLEIC NATURE ADMINISTERED**

**Reutova Elena, Drozdova Ludmila**  
Novosibirsk State Agrarian University,  
Ural state agricultural academy,  
[lenareutowa@mail.ru](mailto:lenareutowa@mail.ru)

## **ABSTRACT**

The objective of this study was to determine examine the dynamics in development of morphological structures of small intestine in the offspring of female rats which were NN preparations injected in different periods of pregnancy. It was establish that: Administration of the Vestin preparation in different periods of pregnancy produces positive influence upon the dynamics of forming structural elements in small intestine (villus-crypt) and liver (hepatocyte) in offspring; The Vestin preparation injected to pregnant female animals at early and late stages of fetus bearing exerts positive influence upon the glycogen and RNA content in hepatocytes of the experimental offspring and this demonstrates high level of energy and morphological processes; The detected structural changes in the liver and intestine with the preparation injected provide higher level of adaptative processes in organism.

## **INTRODUCTION**

There in presented is the data on positive influence of preparations of nucleic nature (Vestin), when administered to pregnant female animals, upon morphological structure of bovovels and liver in their offspring.

At the present time it is obvious that to study the issues on adaptation mechanisms of animal organism during ontogenesis is of importance, particularly in the system "Mother-fetus". Undoubtedly, it is under normal functioning of the system that the development of full-value offspring is likely. The knowledge of principles of general mechanisms on fetus formation and development are also an essential factor for the pharmacological correction of an organism by immune tropic preparations.

Permanent exposure to unfavorable ecologic and anthropogenic factors during ontogenesis is capable to cause intensive mobilization of all the systems which provide organism homeostasis. The exposure time often brings about structural and functional changes in organs, decline of general resistance and growth of sickness rate, disorders in fetus intrauterine development and increase of the newborn mortality. With all these accounted, fetus viability is in linear response to the mother organism state and this is the foundation for the study of alternative approaches to solving the problems of prophylactic immune deficiency conditions, extrapolating the development of age pathology and corrections of breakdowns of protective mechanisms in growing animals [3, 7] . Materials of experimental investigations on the influence of the preparations of nucleic nature (NN preparation) upon organism of young and adult animals testify to the occurring RNA (not less than 80%) with immunostimulating effect [1, 2]. Its both in-and direct effect stabilizes parameters of internal medium in the limits of the physiologic norm, increases non-specific resistance and immunologic reactivity of the organism, and stimulates adaptive trophic function of its organs and systems performance [4, 5].

It is no doubt, the dominating role in adaptive reactions in the organism exposed to various impacts is attributed to liver that is a target-body for adaptive hormones and related to detoxifying function of hepatocytes. Liver focuses 30% of elements of reticular endothelial system and greater part of mononuclear phagocytes. During both pregnancy and early postnatal development there arise changes needed for energy supply and organism vitality



maintenance. Over this period there may happen failure in conception, development and differentiation of homeostasis systems of a newborn organism.

Being a nexus between the environment and the newborn organism in the first weeks of life, small intestine performs not only initial stages of digestion and absorption of nutrients but it is first to experience the antigenic impact resulting in the production of immune competent cells as well as synthesis of immune globulins [6].

Thus, both immunologic activity of organism at large and its ability to provide adaptive compensatory processes depend upon the development and functional state of these organs particularly, at early stages of ontogenesis.

**The aim of the investigations** was to examine the dynamics in development of morphological structures of small intestine in the offspring of female rats which were NN preparations injected in different periods of pregnancy.

**KEY WORDS:** «Mother-fetus» system; adaptation; preparations of nucleic nature; pharmacological correction; morphological changes

## **MATERIALS AND METHODS OF THE INVESTIGATIONS**

The experiment employed female-rats of Vestar line and their offspring in different periods of postnatal ontogenesis. The NN preparation Vestin was administered to 86 pregnant animals of experimental groups 1, 2 and 3 in the periods of pre-implantation, organogenesis and fetogenesis, respectively. A control female group received physiologic saline.

With the aim to study morphological structures of the organs examined the offspring of the experimental groups were withdrawn from the experiment by decapitation at 5<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> day of life.

For histological study their intestine and liver were fixed in 10% solution of neutral formaldehyde, cuttings obtained were stained with hematoxylin and eosin; polysaccharides and RNA content were detected by SHIK-reaction and acc. to *Brashe*, respectively (*Luppa X.*, 1980). Cytokaryometric examinations were done in the cuttings. The data obtained was processed statistically.

## **ANALYSES OF THE INVESTIGATION RESULTS**

With the preparation incorporated at the early fetus bearing the 5-day baby-rats of experimental group 1 whose hepatocytes had relatively big nuclei were marked to have negligible growth of protoplasm vs. control analogues, the highest indexes being in the villus-crypt system.

Vestin administration at the mid-date of fetus bearing led to active expansion of the protoplasm volume of liver hepatocytes and big size of cell nuclei in the baby-rats (Table 1). The presence of two-nucleus hepatocytes in the liver of the experimental baby-rats of the above age is evidently related to the intensified functional activity of the organ. It may be suggested that this fact is the consequence of the fetus adaptive responses to the conditions of intrauterine effects which influence the rate of the offspring development in postnatal ontogenesis.

In the offspring of Vestin injected females at the late stages of fetus bearing the processes of hepatocytes differentiating were followed by the decrease of their NPR (nuclear protoplasm ratio) due to the active growth of protoplasm vs. nucleus (Table 1). Administering of the NN preparation at 18-day pregnancy is likely to directly supply the fetus organism with extra energy resources. The consequence manifests itself at the subsequent postnatal differentiation of liver cell structures and fast advance of adaptation processes in this period. The similar suggestion is partially supported by the data of histochemical analysis of liver hepatocytes in

the 5-day newborn of this group, the analysis identified homogenously and densely located granules of SHIK-positive substance and detected RNA intensive color in their cytoplasm.

Table 1

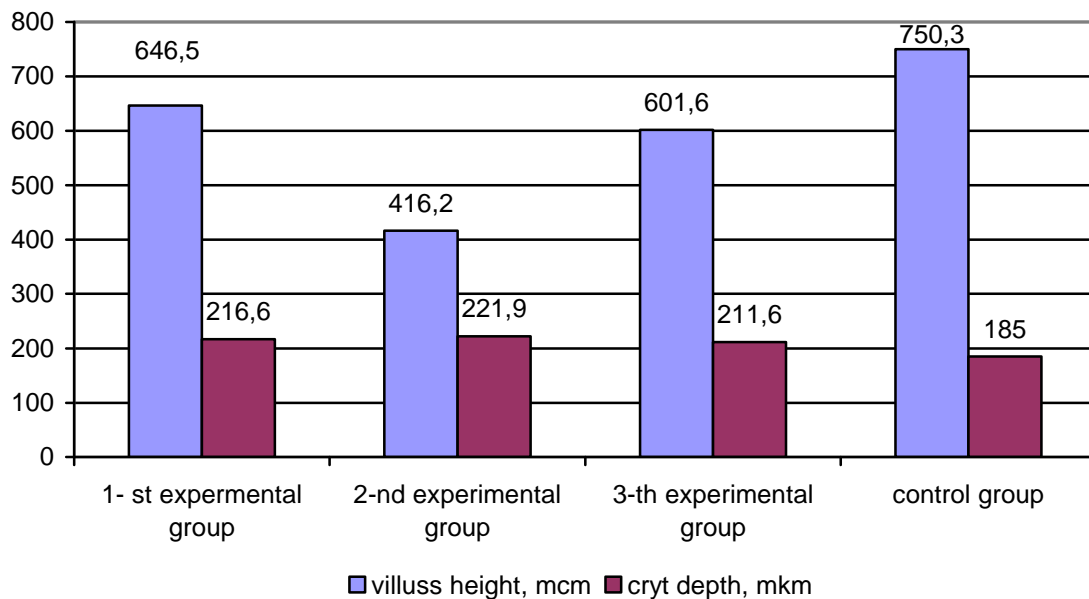
**Cytometric indexes of liver hepacytes in rats' offspring with the NN preparation Vestin administered**

Indexes: nucleus, protoplasm volume (S), mcm <sup>2</sup>	Experimental group 1		Experimental group 2		Experimental group 3		Control group	
	5 days							
	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)
Nucleus S	384.02± 41.7	59.5	373.4± 41.9	61.5	278± 34.5**	68.1	439.6± 33.9	42.3
Protoplasm S	912.4±140.6*	84.4	1162.7±195.7	92.2	1004.3±144.9	79.1	1417.5±190.2	73.5
NPR	0.52±0.1	60.9	0.5±0.07	88.2	0.3±0.04	69.8	0.5±0.1	84.3
	15 days							
Nucleus S	387.1±30.8	43.6	423.3±31.4	40.7	402.3±28.2	38.4	409.5± 30.4	40.6
Protoplasm S	1532.9±168.3	60.1	1470.9±180.4	67.2	1008.3±109.6	59.6	1238.6±119.9	53.01
NPR	0.3±0.05	77.9	0.4±0.05	73.2	0.5±0.06	59.2	0.4±0.05	65.1
	20 days							
Nucleus S	325.9±21.3	35.8	357±18.9	28.9	321.3±22.2	37.9	300.9± 25.03	45.5
Protoplasm S	808.9±116.7	79	931.1±82.4	48.5	1068.9±116.9	59.9	1118.1±151.8	74.3
NPR	0.5±0.1	60.9	0.5±0.05	63.7	0.4±0.04	57.7	0.4±0.04	59.5

Where \* P<0.05; \*\* P<0.01

By the 15<sup>th</sup> day of life hepatocyte sizes were marked to substantially enlarge with concurrent decrease of NPR indexes in the offspring of all the experimental groups (Table 1). The similar changes in liver may exhibit themselves as hypertrophic processes. Taking into account the capacity of the NN preparation to encourage protein synthesis, the changes identified in glycogen and RNA content at 15- and 20-day age may testify to intensify energy consumption and improved protein synthetic function in liver. Cytometry established the general tendency of nuclei and protoplasm to grow in the hepatocytes of the experimental groups by the 20-day age vs. the control animals.

All the experimental groups were observed to have a steady tendency of the villus-crypt system to grow throughout the entire experiment (Figure 1). By the 15<sup>th</sup> day of life the content of goblet cells went up in epithelia of the small intestine villi. By the 20<sup>th</sup> day the further making and differentiation of structures of small intestine mucus membrane occurred. With all these the depth of occurrence of crypts and height of the villi of small intestine mucus membrane in the experimental groups exceeded the same indexes in the control groups. Cell composition of small intestine mucus membrane in the 20-day baby-rats was presented by prismatic erythrocytes, goblet cells and argentocytes.



**Figure 1. Dynamics of morphometric indexes of the small intestine villi in the offspring of Vestin injected rats**

The earlier formation of lymphoid structures of the small intestine in the rats' offspring was observed after the tested preparation injected at 14<sup>th</sup> and 18<sup>th</sup> day of pregnancy and these encouraged the making of protective processes.

Thus, the NN preparation both at early and late periods of fetus bearing positively influences the development of the morphological structures of offspring liver and intestine which are responsible for absorption. At this, the expansion of absorbing intestine surface facilitates better permeation of bioactive components of the preparation into the organism of the young experimental animals and provides a more qualitative transition to new living conditions. Therefore, the tested preparation may be recommended as the remedy aimed at providing higher level of adaptation processes in animal organism.

## CONCLUSIONS

1. Administration of the Vestin preparation in different periods of pregnancy produces positive influence upon the dynamics of forming structural elements in small intestine (villus-crypt) and liver (hepatocyte) in offspring.
2. The Vestin preparation injected to pregnant female animals at early and late stages of fetus bearing exerts positive influence upon the glycogen and RNA content in hepatocytes of the experimental offspring and this demonstrates high level of energy and morphological processes.
3. The detected structural changes in the liver and intestine with the preparation injected provide higher level of adaptative processes in organism.

## **BIBLIOGRAPHY**

1. Alikin Yu. S. Stimulates non-specific resistance to the occurring RNA for veterinary medicine: Vet. Sc. Doc. Thesis. - N., 1998.
2. Sokolov V. D. Morphological is the foundation mechanisms homeostasis during ontogenesis of organism animal. Vet. Sc. Doc. thesis. Spb., 1992.
3. Denisenko V. N. Immune deficiency conditions and characteristics of immune correction of calf organism: Vet. Sc. Doc. thesis / V.N. Denisenko; -M.: 1999. –P.38.
4. Zemskov A.M. Combined immune correction / A.M. Zemskov et al. -1994. –P.213.
5. Goldman A., Gazza C. and Nikola B. Immunologic factors in unman milk during the first year of lactation. J. Red: atr., 1995, V. 15, № 5.- 125.
6. Milla P. I., Bisset W. M. The gastrointestinal tract // Brit. Med. Bull. 1988. Vol. 44, № 4. P. 1010-1024.
7. Trippel S. B. Biologic regulation of bone growth // In Bone Formation and Repair. Edited by C.T. Brighton, G.F. Friedlaender, J.M. Lane. Rosemont, Illinois, the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1994. – P. 39-65.

# FOOD HYGIENE AND CORPORATIVE ETHICS

**Viesturs Rozenbergs, Gita Skudra, Gita Krumina,**

Latvia University of Agriculture, Department of Nutrition

[viesturs.rozenbergs@llu.lv](mailto:viesturs.rozenbergs@llu.lv)

## INTRODUCTION

A number of investigates shows the impacts of consumer ethnocentrism and cultural sensitivity on both imported product judgment and intention to purchase local products (Tho D. Nguyen et.al., 2008). Consumers believes that domestic product are better and consumer should be encouraging for domestic producer. Are constantly unequivocal evidence for consumer to choose none but the best? This question is pressing not only in Latvia (Bartkevičs V., 2008), but also worldwide (Terpstra P.M.J., 2003). To run its course globalization for consumer problem is to distinguish domestic and non-domestic products (Shiv Ch., 2005). Consumers demand is not only for safe product, but also for ethical produced products (Nina Michaelidou, 2008).

**KEY WORDS:** food hygiene, corporative ethics, Corporate Social Responsibility, Corporate Social Performance, Corporate Financial Performance

## METHODOLOGY

What is the motivation to choose domestic products? Are domestic entrepreneurs and processing managers more ethic than other producers. To find answers to questions content analysis (Aitken J.E., 2008) of public relations (PR) and content analysis of non-PR expressions was analyzed as well as conclusions from expressions are compared with laboratory results from recent research (Bartkevičs V., 2008).

## RESULTS AND DISCUSSION

Although interest has been growing in recent years, Corporate Social Responsibility (CSR) is not a new concept. The idea that business has a social role can be traced back for centuries (Carroll 1999, Smith 2003). The first modern definition of social responsibility was provided by Bowen (1953). In his opinion, businesspersons are responsible for the consequences of their actions in a sphere wider than that covered by their profit and loss statements.

Results shows that Latvian case is not different from world know cases; especially in cases with organic farming, where consumers trust is higher (Sergio Pivato, 2008) but producers attitude can be depressed. For instance, banned antibiotic chloramfenicol most frequently is finds in organic farming products (Joffe A., 2007). There are cases when banned stuffs are funded in foreign laboratories and therefore problems with export of Latvian products. Now are problems with prices and expenses in milk sectors. But economists say,- one of expenses item is chloramphenicol control (Miglavys A., 2008). Other item of expenses is bureaucratic documentation in farms (Dūmiņa Z., 2008), e.g. HACCP, TQM system etc., inspection and quality control.

The above mentioned requirements are for producers monitoring and control. Unfortunately yesterday shows that lack of bureaucratic measures (e.g. HACCP, TQM system etc., inspection and quality control) are entailed with lack of quality and safety of end product.

The other term - Corporate Social Performance (CSP) – shows public relations and companies environment for consumers. It should be CSR=CSP (in this context), but there is not only lack of social performance of separate companies, but also stark unethical performances in advertisement – promotion – publicity field. For example: milk without preservative and whiteners (Urtāns P., 2007) or milk with methionine (Varika A., 2004) or vegetable oil without cholesterol (Girgensons V., 2007), yogurt without `chemical additives` (Ēvelis K., 2007).

Beyond companies PR and government supported PR e.g. „Made in Latvia” are others opinions about ours domestic products, e.g., ice-cream: modern ice-cream made from vegetable fat, E-stuffs and air (Šteinfelde I., 2008).

## CONCLUSION

There exist nonethical methods in producing and promotion praxis what non managed in corporative, entrepreneurship, branch or associations frame, promote bureaucracy upkeep, outward monitoring, control and inspection, consequently are rising prime cost for production of each solitary enterprise.

## REFERENCES

1. Aitken J.E. A Content Analysis of Communication Purposes in an Online Support Group Online Submission, Paper presented at the annual meeting of the Interdisciplinary Network for Group Research, Kansas City, Missouri, July 18, 2008.
2. Bartkevičs V., Comparison of Quality of Latvian and Imported Food Products. – Proceedings of the International Veterinary Laboratory Scientific and Applied Conference „Laboratory Diagnostics Today and its Future Challenges”. – p.4, Riga, 28-29 August, 2008.
3. Bowen, H.R.. Social Responsibilities of the Businessman. New York: Harper and Brothers. 1953
4. Carroll, A.B.. ‘Corporate social responsibility. Evolution of a definitional construct’. Business & Society, 1999, 38:3, 268–295.
5. Dūmiņa Z. Laukos – smagā piezemēšanās [In country – hard landing]. – Diena, 25.04.2008.
6. Ēvelis K. Kāpēc aizliegta „Daugavas” produktu realizācija? [Why baned distribution „Daugava” production?]. – www.tvnet.lv, „Bauskas Dzīve”, 5.12.2007
7. Joffe Anna. PVD atkārtoti konstatē pienā hloramfenikolu [Food and Veterinary Department repeatedly find out chloramphenicol in milk] www.pvd.gov.lv 20.04.2007
8. Girgensons V. Kaislības ap holesterīnu [Passional about cholesterol] – Žurnāls „HoReCa”, 2007, <http://www.balticovo.lv/lv/publikacijas/holesterins>
9. Miglavs A. Kas nosaka piena cenas? [What set milk prices?] www.agropols.lv
10. Nina Michaelidou and Louise M. Hassan. The role of health consciousness, food safety concern and ethical identity on attitudes and intentions towards organic food. – International Journal of Consumer Studies Volume 32 Issue 2, 2008, Pages 163 – 170
11. Sergio Pivato, Nicola Misani, Antonio Tencati (2008) The impact of corporate social responsibility on consumer trust: the case of organic food Business Ethics: A European Review 17 (1) , 3–12
12. Shiv Chaudhry, Dave Crick. An exploratory investigation into the entrepreneurial activities of Asian-owned franchises in the UK. – Strategic Change Vilume 14 Issue 6, 2005, Pages 349 - 356
13. Šteinfelde I. Mūsdienu saldējums no augu taukiem, E un gaisa. [Modern ice-cream made from vegetable fat, E-stuffs and air] - www.apollo.lv, „Neatkarīgā” 18.06.2008.
14. Smith, N.C.. ‘Corporate social responsibility: whether or how?’. California Management Review, 2003, 45:4, 52–76.
15. Terpstra P.M.J. Home hygiene, habits and sustainability in a theoretical framework. – International Journal of Consumer Studies Volume 27 Issue 3, 2003, Pages 239 - 239
16. Urtāns P. Ar bioloģisko pienu pret alerģijām. – www.tvnet.lv/zalazeme, 21.03.2007
17. Tho D. Nguyen, Trang T.M. Nguyen, Nigel J. Barrett Consumer ethnocentrism, cultural sensitivity, and intention to purchase local products - evidence from Vietnam. – Journal of Consumer Behaviour Volume 7 Issue 1, 2008, Pages 88 - 100
18. Varika A. Piens pret bezmiegu [Milk agains insomnia]. – Eirozornis, www.agropols.lv, 20.02.2004

# TRAUKU MAZGĀŠANAS PROCESA KVALITĀTES VEIDOŠANAS NOSACĪJUMI

## CONDITIONS OF DISHWASHING PROCESS QUALITY FORMATION

Ruciņš Mārtiņš<sup>1</sup>, Strazds Ainis<sup>2</sup>, Īriste Sandra<sup>1</sup>

LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Latvija<sup>1</sup>, SIA Ecolab Latvia, Latvija<sup>2</sup>

Faculty of Food Technology, LUA, Latvia<sup>1</sup>, Ecolab Latvia Ltd, Latvia<sup>2</sup>

[marty@delfi.lv](mailto:marty@delfi.lv)

### ABSTRACT

Factors that influence the quality of dishwashing process in the public catering establishments are considered. Every stage of dishwashing in the dishwashing equipment is of great importance as they can considerably affect its quality therefore every stage should be assessed in order to avoid different problems

**KEY WORDS:** dishwashing, dishwashing quality, dishwashing equipment

### IEVADS

Kvalitatīvā trauku mazgāšanas procesā tiek vienlaicīgi nodrošināti gan trauku mazgāšanas un skalošana, gan arī to dezinfekcija. Tā kā ēdināšanas uzņēmuma apmeklētājs vispirms uzmanību pievērš trauku izskatam un to mazgāšanas kvalitātei, bet viņa organisms viennozīmīgi reaģēs uz paaugstinātu mikroorganismu klātbūtni uz trauku virsmas, tāpēc šie abi jautājumi ir vienlīdz svarīgi.

Trauku mazgāšanas procesa kvalitāti veido virkne faktoru, kuri vienlīdzīgā mērā ietekmē mazgāšanas procesu. Būtiskākie no tiem ir:

- pilnīga ēdiena atlieku atdalīšana no traukiem un trauku priekšmazgāšana;

Trauku priekšmazgāšanas procesā tiek veikta ēdiena atlieku mehāniska atdalīšana no trauku virsmas un atlikušo ēdiena daļiņu noskalošana no trauku virsmas ar rokas dušu. Veicot šo procesu nekvalitatīvi, trauku mazgāšanas iekārta bieži nespēj nomazgāt piekaltušas ēdiena atlieku daļiņas, kā rezultātā trauku žāvēšanas procesā ēdiena atliekas vēl vairāk pielīp pie trauku virsmas, un traukus nepieciešams pārmazgāt.

- trauku mazgāšanas procesā iesaistītā ūdens kvalitāte;

Ūdens kvalitāti pamatā nosaka tā cietības pakāpe jeb minerālvielu (Ca, Mg) koncentrācija ūdenī. Lietojot trauku mazgāšanas procesā cietu ūdeni, veidojas minerālsāļu nosēdumi iekārtās, kas noved pie iekārtas sildelementu bojājumiem. Bez tam veidojas iepriekš minēto minerālsāļu nosēdumi uz mazgājamo trauku virsmas traipu veidā, kas patērētājam veido pārliecību par trauku mazgāšanas nepietiekošo kvalitāti.

Ūdens mīkstināšanai izmanto ūdens filtrus, kurus uzstāda ūdensvada posmā vai pirms trauku mazgāšanas iekārtas vai arī atsevišķi visam ēdināšanas blokam (iestādei)[1].

- pareizi izvēlēta trauku mazgāšanas iekārta un tās darbības kvalitāte;

Trauku mazgāšanas iekārtas izvēli nosaka patērētāju kustības intensitāte un iekārtas ražība. Izvēloties iekārtu ar nepietiekošu ražību, tā tiks pakļauta pārmērīgai ekspluatācijai, kas veicinās iekārtā esošo mehānismu nolietošanos. Tas ietver sevī arī kļūmes iekārtas darbībā, kas ietekmēs trauku mazgāšanas kvalitāti (sildelementu, ūdens izsmidzināšanas sprauslu, sūkņa u.c. darbība).

Sildelementu precīzas darbības pamatā ir trauku mazgāšanas un skalošanas ūdens temperatūras nodrošināšana, jo, pateicoties šim faktoram, tiek nodrošināta gan trauku mazgāšana un skalošana, gan arī to ātrāka nožūšana. Palielinoties trauku nožūšanas ilgumam tiek palielināta mikroorganismu vairošanās iespējamība uz nomazgāto trauku virsmas [2].

- pareizi izvēlēti mazgāšanas un skalošanas līdzekļi;

Izvēloties trauku mazgāšanas un skalošanas līdzekļus būtiska ir to iedarbība uz mazgājamo virsmu, ko tieši ietekmē ūdens cietības pakāpe un pareizi izvēlēta līdzekļu dozēšanas pakāpe trauku mazgāšanas ciklā. Mazgāšanas un skalošanas līdzekļu izvēle saistīta ne tikai ar ūdens cietības rādītājiem, bet arī ar konkrētās firmas piedāvāto profesionālo līdzekļu koncentrāciju.

- trauku mazgāšanas un skalošanas līdzekļu dozatoru darbības kvalitāte.

Profesionālajās trauku mazgāšanas iekārtās netiek uzstādīti mazgāšanas līdzekļu dozatori, kas padara mazgāšanas līdzekļu dozatoru uzstādītājus līdzatbildīgus par trauku mazgāšanas kvalitāti. Dozatoru darbība ir atkarīga ne tikai no mazgāšanas līdzekļa, bet arī no ūdens kvalitātes, mazgājamo trauku rakstura, dozatora darbības. Pamatā ēdināšanas uzņēmumos izmanto sūkņveida dozatorus ar mehānisku un elektronisku regulēšanu [2].

Pētījuma mērķis ir analizēt dažādu faktoru iedarbību uz trauku mazgāšanas kvalitāti un izvirzīt precīzus nosacījumus trauku mazgāšanas kvalitātei, izmantojot dažādas iekārtas.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījumi tika veikti vairākos Rīgas sabiedriskās ēdināšanas uzņēmumos vai viesnīcu ēdināšanas blokos laikā no 2007.- 2008.gadam, izmantojot kompānijas Ecolab piedāvātos profesionālos trauku mazgāšanas un skalošanas līdzekļus un mazgāšanas un skalošanas līdzekļu dozatorus.

### 1. Ūdens cietības noteikšana.

Ūdens cietības noteikšanai izmantots ķīmisko reaktīvu ražotāja MERCK (kataloga Nr.1.11104.0001) kopējās cietības noteikšanas tests [3].

### 2. Šķidro mazgāšanas līdzekļu optimālās koncentrācijas noteikšana.

Mazgāšanas līdzekļu koncentrācijas noteikšanai izmantota titrēšanas metode ar fenolftalēnu. To dozēšanas kvalitāti nosaka, salīdzinot sākotnēji iestatītās vielu koncentrācijas ar faktiski esošajām. Sekojošā tabulā ir dotas mazgāšanas līdzekļu optimālās devas mazgāšanas ciklā.

1. tabula/ Table 1

**Titrēšanas rezultātu atskaites tabula Aklon Super mazgāšanas līdzeklim [3]**  
**The table of the report of titrating results for dishwashing liquid Alkon Super**

Produkts Product	Pilieni Drops	Koncentrācija, % Concentration, %	g/l
<i>Aklon Super</i>	3 - 9	0.10 – 0.30	1.0 – 3.0

Mērījumi tika veikti 5 atkārtojumos. Lai salīdzinājums būtu veiksmīgāks, eksperimenta laiks tika izvēlēts dienas vidū ( $13^{00} - 17^{00}$ ), jo šajā laika posmā ir vislielākā noslodze trauku mazgāšanā.

### 3. Šķidro mazgāšanas līdzekļu dozatoru darbības salīdzināšana.

Lai noskaidrotu dozācijas precizitāti, tika salīdzināti divu veidu šķidro mazgāšanas līdzekļu dozatoru veidi – sūkņveida dozatori ar elektronisko vadību (*ECODOS-L*) un sūkņveida dozatori ar mehānisko vadību (*TOPMATTER N15*) kupola tipa trauku mazgāšanas iekārtās.

Mazgāšanas līdzekļa koncentrāta patēriņš ciklā uz 1 litru izmantojamā ūdens (g/l) tiek iegūts no diviem lielumiem, tos izdalot:

$$Pat = \frac{K}{\bar{u}d}, \text{ kur}$$

Pat – mazgāšanas līdzekļa koncentrāta patēriņš, g/l;

K – patērētais mazgāšanas līdzekļa koncentrāts, g;

Ūd – patērētais ūdens daudzums, l.



Mazgāšanas līdzekļa koncentrācijas pieaugums 100 mazgāšanas ciklu laikā tika aprēķināts:

$$Pie = 20Pat - Pat, \text{ kur}$$

Pie – mazgāšanas līdzekļa koncentrācijas pieaugums 100 mazgāšanas ciklu laikā;

20 Pat – mazgāšanas līdzekļa koncentrāta patēriņš 20 mazgāšanas ciklos, g/l;

Pat – mazgāšanas līdzekļa koncentrāta patēriņš, g/l.

Iegūto lielumu pieskaitot pie mazgāšanas līdzekļa koncentrācijas 20 mazgāšanas ciklos, tiek iegūta mazgāšanas līdzekļa koncentrācija 40 ciklos.

Tā pie katra nākamā iegūtā rezultāta tiek pieskaitīta šī aprēķinātā starpība, līdz ar to tiek iegūta vērtība visos vajadzīgajos ciklu daudzumos.

#### 4. Nomazgāto trauku kvalitātes noteikšana.

Nomazgāto trauku kvalitāti novērtē sekojoši:

- 1) vizuāli novērtējums uz ēdiena atlieku klātbūtni;
- 2) nolietotu trauku gadījumā virsmas kvalitātes novērtējums;
- 3) neatbilstoša trauku mazgāšanas līdzekļa dozēšana;
- 4) neatbilstoša trauku skalošanas līdzekļa dozēšana.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Pētījumu gaitā tika apsekoti vairāki Rīgas sabiedriskās ēdināšanas uzņēmumi un viesnīcu ēdināšanas bloki, kuros trauku mazgāšanu veic izmantojot kupola un plūsmas tipa trauku mazgāšanas iekārtas: viesnīca „Bergs”, krodziņš „Iguana”, Rīgas Valsts tehnikuma ēdnīca, Valda Zālīša pamatskolas ēdnīca, LU Ekonomikas un vadības fakultātes ēdnīca, Rīgas Ekonomikas augstskolas ēdnīcas, viesnīcas „Radisson SAS Daugava” ēdināšanas bloks.

### 1. Ūdens cietības pētījumi

Ūdens cietības analizēšanai tika izvēlēti divi uzņēmumi – viesnīcas „Bergs” ēdināšanas bloks un krodziņš „Iguana”. 1.attēlā attēlotas visu ūdens cietības noteikšanas veikto mērījumu vidējās vērtības.

Gan viesnīcā “*Hotel Bergs*”, gan krodziņā “*Iguana*” ūdens cietības titrēšanas testa rezultāti bija vienādi - abos gadījumos tika konstatēts, ka ūdens ir vidēji ciets. Titrēšanas veikšanai bija nepieciešamu 13 pilieni TRIPLEX III, kas pēc salīdzināšanas ar atskaites datiem parāda ūdens cietību *Vācu grādos* (<sup>0</sup>d). Rezultāts apliecina, ka mazgāšanas līdzekļa koncentrāta patēriņu ūdens kvalitāte neietekmē, jo abās paraugu ņemšanas vietās tas bija vienāds.

### 2. Šķidro mazgāšanas līdzekļu optimālas koncentrācijas noteikšana.

Pirms testa uzsākšanas, abās iekārtās tika nomainīts darba šķīdums, līdz ar to padarot testa izpildi pēc iespējas precīzāku. Ar katru iekārtu tika veikti pieci mazgāšanas cikli, lai katra no tām spētu sasniegt vajadzīgo mazgāšanas šķīduma koncentrāciju ar *Ecolab Aklon Super* šķidro mazgāšanas līdzekli.

Mazgāšanas šķīduma koncentrācija tika noteikta ar titrēšanas testu. 2.attēlā tika attēlotas visu veikto mērījumu vidējās vērtības.

Testa rezultāti parādīja, ka abās iekārtās mazgāšanas līdzekļu doza ir 8 pilieni (pēc 1. tabulas) jeb koncentrācija ir 2.67 grami mazgāšanas līdzekļa koncentrāta uz vienu litru ūdens. Tātad būtiskas atšķirības netika novērotas.

### 3. Šķidro mazgāšanas līdzekļu dozatoru darbības salīdzināšana.

Salīdzinot 2.tabulas datus redzams, ka dozatora *TOPMATTER N15* lietošanas gadījumā notiek mazgāšanas līdzekļa koncentrāta pārdozēšana. Ņemot vērā to, ka pirms dozatoru salīdzināšanas abu iekārtu šķīdumu koncentrācija darba tilpnē bija 2.67 g/l, tad pēc salīdzinājuma ir skaidri redzams, ka koncentrācija tilpnēs atšķiras. Dozatora *ECODOS-L* darbība ir bijusi pietiekami stabila, koncentrācijas izmaiņas ir mazas (0,046g/l), šāda lieluma izmaiņas nevar būtiski ietekmēt trauku tīrības kvalitāti. Savukārt, dozatora *TOPMATTER N15*

darbībā ir vērojama liela pārdozācija (1.132 g/l), kas noteikti atstāj sekas. Uz traukiem ir iespējamas mazgāšanas līdzekļa daļiņas.

2. tabula/ Table 2

**Dozatoru darbības salīdzinājums**  
**Work comparison of dosing equipment**

Rādītāji/ Indices	Topmatter N15	Ecodos-L
Ūdens patēriņš viena mazgāšanas cikla laikā/ Water consumption for one washing cycle, l	3	3
Mazgāšanas ciklu skaits/ Number of washing cycles	10	35
Mazgāš.koncentrāta patēr./Consumotion of wash.concentrate, g	114,08	285,20
Salīdzinājuma ilgums/ Comparison time, h	3	3
Patērētais ūdens daudzums/ Consumed water, l	30	105

Mazgāšanas līdzekļa patēriņš ar *ECODOS-L* dozatoru:

$$Pat = \frac{285,2}{105} = 2,716 \text{ g/l}$$

Mazgāšanas līdzekļa patēriņš ar *TOPMATTER N15* dozatoru:

$$Pat = \frac{114,08}{30} = 3,802 \text{ g/l}$$

Analizējot *TOPMATTER N15* darbību secināts: jo vairāk tiek mazgāts, jo lielāka koncentrācija veidojās šķīduma tvertnē. Dozatora darbība ir limitēta, tikai regulējot padeves ātrumu, līdz ar to koncentrācijas pakāpes regulācijai pilnā mērā ir jāpakļaujas tam.

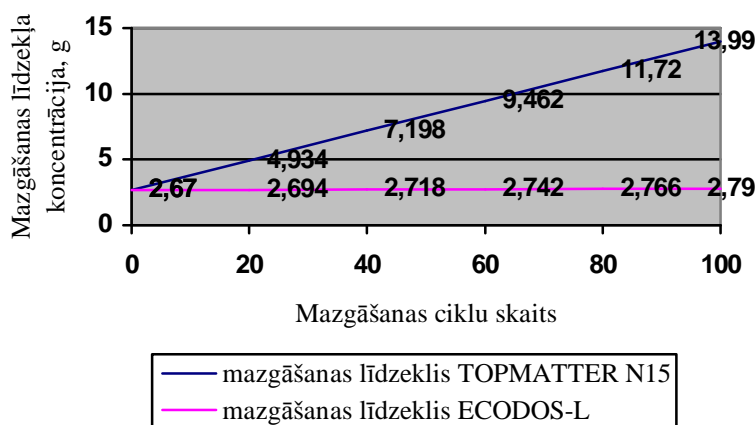
Savukārt dozatora *ECODOS-L* darbība ir vērtējama pozitīvi, jo koncentrācija atbilst iestādītajām prasībām. Dozatora lietošanas laikā tiek precīzi dozēts mazgāšanas līdzekļa koncentrāts, kas padara trauku mazgāšanu ekonomiskāku, kā arī tiek sasniegts vēlams rezultāts trauku tīrības kvalitātē. Arī šī dozatora regulācija ir daudz ērtāka un vienkāršāka nekā tā ir *TOPMATTER N15* dozatoram.

Mazgāšanas līdzekļu koncentrācijas starpība ar *TOPMATTER N15* ar kādu pieaug koncentrācija 20 mazgāšanas ciklu laikā.

$$Pie = 7,604 - 5,34 = 2,264 \text{ g/l}$$

Mazgāšanas līdzekļu koncentrācijas starpība ar *ECODOS-L* ar kādu pieaug koncentrācija 20 mazgāšanas ciklu laikā.

$$Pie = 2,694 - 2,67 = 0,024 \frac{\text{g}}{\text{l}}$$



1.attēls. Mazgāšanas līdzekļa dozācijas pakāpes pieaugums 100 mazgāšanas ciklos  
Figure 1. Increase of a dosing level of diashwashing liquid for 100 washing cycles

Aprēķinot koncentrācijas pieaugumu abās mazgāšanas iekārtās, lietojot abu veidu dozēšanas iekārtas 100 mazgāšanas ciklu laikā, ir noteikts, ka izmantojot *TOPMATTER N15* dozatoru, koncentrācijas pieaugums ir pieaudzis par 11,32 g/l, bet ar *ECODOS-L* dozatoru tas pieaudzis tikai par 0.12 g/l 100 mazgāšanas ciklu laikā (1.att.).

#### 4. Nomazgāto trauku kvalitātes noteikšana

Nomazgāto trauku kvalitātes izvērtēšanai izvēlēti pieci ēdināšanas uzņēmumi vai viesnīcu ēdināšanas bloki - Rīgas Valsts tehnikuma ēdnīca, Valda Zālīša pamatskolas ēdnīca, LU Ekonomikas un vadības fakultātes ēdnīca, Rīgas Ekonomikas augstskolas ēdnīcas, viesnīcas „Radisson SAS Daugava” ēdināšanas bloks.

Tikai divos uzņēmumos konstatēta nevainojama trauku tīrība – Radisson SAS Daugava viesnīcā un „Fazer Amica” uzņēmuma LU Ekonomikas un Vadības fakultātes ēdnīcā. Šajos uzņēmumos uzstādītas plūsmas tipa trauku mazgāšanas iekārtas, tikai Radisson SAS Daugava viesnīcā pašu trauku kvalitāte bija ievērojami augstāka, tāpēc arī tie bija vieglāk nomazgājami.

REA izmazgāto trauku kvalitāte bija visvājākā. Konstatēta bija olbaltumvielu sametināšanās uz šķīvju virsmas, kas norāda uz nepietiekošu trauku priekšmazgāšanas kvalitāti, pārāk augstu mazgāšanas temperatūru un sliktu mazgājamā šķīduma filtru darbību.

Pozitīvā joda reakcija ir izskaidrojama ar nolietotajiem traukiem. Rūpīgi novērtējot šķīvju virsmas bija skaidri pamanāmi skrāpējumi. Tie bija pietiekoši dziļi, lai tie apgrūtinātu mazgāšanas procesu un tajos varētu uzkrāties ēdienu pārpalikumi.

Gan Valda Zālīša pamatskolā, gan Rīgas Valsts tehnikums konstatētas problēmas ar notecējumiem izmazgātajās glāzēs. Valda Zālīša pamatskolā tas ir saistīts ar nepiemērotu skalošanas līdzekļa izmantošanu, bet Rīgas Valsts tehnikumā ar neprofesionālu personāla rīcību, kas, ekonomējot mazgāšanas un skalošanas līdzekļus, tos atšķaida ar ūdeni.

## SECINĀJUMI

1. Aprēķinot un salīdzinot ūdens cietības lielumus abās mērījumu vietās, tika konstatēts, ka tā ir paaugstināta - 13<sup>o</sup> d (vidēji ciets ūdens). Pie šādas ūdens cietības mazgāšanas līdzekļa doza ir paaugstināta, salīdzinot ar vietām, kur ūdens ir mīksts. Veicot mērījumus tika konstatēts, ka abās vietās ūdens cietība ir vienāda, tāpat dozatoru darbību un koncentrācijas pakāpi tā ietekmē vienādi.
2. Salīdzinot mazgāšanas šķīduma koncentrāciju trauku mazgāšanas iekārtās secināts, ka nekādas izmaiņas iekārtu darbībās netika novērotas.
3. Aprēķinot koncentrācijas izmaiņas 100 mazgāšanas ciklos tika konstatēts, ka ar *TOPMATTER N15* mazgāšanas līdzekļa koncentrācija ir mainījusies no 2.67g/l uz 13.99 g/l, bet izmantojot *ECODOS-L* dozatoru tā ir mainījusies no 2.67 g/l uz 2.79 g/l. Tas vēlreiz apliecina sūkņveida dozatoru ar elektronisko vadību konstruktīvās priekšrocības – šī veida dozators precīzāk veic trauku mazgāšanas līdzekļa dozāciju.
4. Pētījumu rezultāti liecina par dažādām kvalitātes problēmām trauku mazgāšanas procesā (nekvalitatīva trauku priekšmazgāšana, nepilnības iekārtu dozatoru un filtru darbībā), kas atgādina par nepieciešamību pievērst tām ikdienā pastiprinātu uzmanību. Būtisks faktors ir arī izmantojamo trauku kvalitāte, kas nav vienāda visos uzņēmumos.

## LITERATŪRA

1. Casiday R., Frey R. Water Hardness. Inorganic Reactions Experiment/Department of Chemistry, Washington University. <http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Water/FreshWater/hardness.html>, skatīts 11.04.2007.
2. Trauku mazgāšanas process. Ecolab informatīvais materiāls. Rīga: Ecolab Latvia, 2007.
3. Merck KGaA. Gesamthärte – Test / Darmstadt, 2007.

# EPIDEMIOLOGICAL SUSCEPTIBILITY OF *ENTEROCOCCUS* ISOLATED FROM POULTRY

**Modestas Ružauskas<sup>1</sup>, Dainius Zienius<sup>2</sup>, Rita Šiugždinienė<sup>1</sup>, Marius Virgailis<sup>1</sup>, Irena Klimienė<sup>1</sup>**

Department of Microbiology and Food Safety<sup>1</sup>, Department of Virology<sup>2</sup>,  
Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Kaišiadorys, Lithuania  
[veterinarija@kaunas.init.lt](mailto:veterinarija@kaunas.init.lt)

## ABSTRACT

Epidemiological susceptibility (natural species susceptibility) of isolated enterococci in different farms of poultry all over the country was tested. Minimal inhibitory concentrations (MIC) to the 17 different antimicrobials were tested using “Sensititre” NARMS plates (TREK Diagnostic Systems). Forty six isolates were tested. Interpretation of results was done according to the epidemiological cut-off values from the database of EUCAST. Results showed that all tested isolates showed to be susceptible (MIC lower or equal to the epidemiological cut-off values of wild type strains) to linesolid and quinupristin/dalfopristin without reference of the enterococcus species. All tested strains had higher MIC than cut-off values to linkomycin. Frequent resistance was also to tetracycline (67 %), erythromycin (57 %), flavomycin (48 %), streptomycin (43 %) and nitrofurantoin (30 %). Just only few isolates had increased MIC to gentamicin, chloramphenicol, fluoroquinolones and vancomycin. The results showed that enterococci as a part of natural habitats in poultry farms had increased resistance to the different classes of antibiotics. Such resistance could be potentially hazardous from the point of carrying resistance genes and possible genetic transfer to zoonotic bacteria.

**KEY WORDS:** Enterococcus, epidemiological susceptibility, antimicrobials, poultry.

## INTRODUCTION

Uncontrolled usage of antimicrobials is recognized as the most important factor that determines development and spreading of resistant microorganisms [2, 3]. Of great importance are the investigation works on the susceptibility of pathogenic bacteria in different regions or countries. According to EU Directive 2003/99/EC on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, Member States must implement a monitoring programme that provides comparable data on the occurrence of antimicrobial resistance in zoonotic agents and, in so far as they present a threat to public health, other agents. A number of countries have national surveillance programmes to assess bacterial susceptibility to antimicrobials among zoonotic and commensal bacteria isolated from healthy and sick animals. Commensal bacteria constitute a reservoir of resistance genes for pathogenic bacteria. Their level of resistance is considered to be a good indicator for selection pressure by antibiotic use and for resistance problems to be expected in pathogens [9]. Resistance in commensal bacteria often is high to broad spectrum of antimicrobials. Those bacteria often left uncontrolled, because they do not cause any clinical signs in the aetiology of diseases. That helps them to survive in different conditions by pressure of different quantities and spectrum of antimicrobials. Enterococci have been known to be resistant to most antibiotics used in clinical practice. They are naturally resistant to cephalosporins, aminoglycosides and clindamycin and may also be resistant to tetracyclines and erythromycin. They are intermediate sensitive to penicillin, ampicillin and glycopeptides [7]. Widespread resistance to chloramphenicol, macrolides, kanamycin, streptomycin and tetracycline was found among isolates of *E. faecalis* and *E. faecium* isolated from humans, broilers and pigs [1]. However resistance in different countries is not equal. It depends from geographical position, antimicrobial usage politics in the country and even from

selection of starting material for investigations. Investigations on antimicrobial resistance may be directed in different points, according to the aim of such investigations. Most studies are associated with testing of clinical susceptibility of certain antibiotics that are directly used for treatment of infections of humans and animals. Such testing is very useful for clinical practitioners when choice of certain antibiotics for treatment could be clarified. In that case the results are clearly interpreted and show that certain strain is susceptible intermediate susceptible or resistant. However the development of bacterial resistance could be started from low, inappreciable level of such development. In that case clinical tests often show that strain is susceptible, however some mutations or other mechanisms of resistance development could be started in certain strains. Those transmutations could be distinguished by testing of acquired microbiological or epidemiological resistance. Epidemiological resistance shows how certain strain of every separate species of bacteria differs from natural, specific for certain species resistance. The epidemiological natural susceptibility for every species of bacteria is determined centrally by European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Results of microbiological susceptibility testing are also important for molecular testing, because it more distinctly show about genome changing than the results of clinical testing. Such data are also important for epidemiologists for better understanding of spreading antimicrobial resistance globally.

The aim of this study was to determine frequency of epidemiological resistance of enterococci isolated from poultry origin.

## **MATERIAL AND METHODS**

Clinical material was collected in different regions of the country with the aim to obtain representative samples from different farms of poultry in 2008. Slaughtered broilers and older hens were tested. Investigations were carried out according to design of preparing monitoring programmes described by OIE and pursuance of recommendations of some authors. Clinical material (faeces) was taken from slaughtered animals from intestines using cotton swabs with transport media (Transwab, UK). Slanetz-Bartley Agar+TTC, Aesculine Bile Agar and Pfizer Selective Enterococcus Agar (Liofilchem, Italy) were used for inoculation of clinical material. Media were incubated for 48 hours at +35 °C.

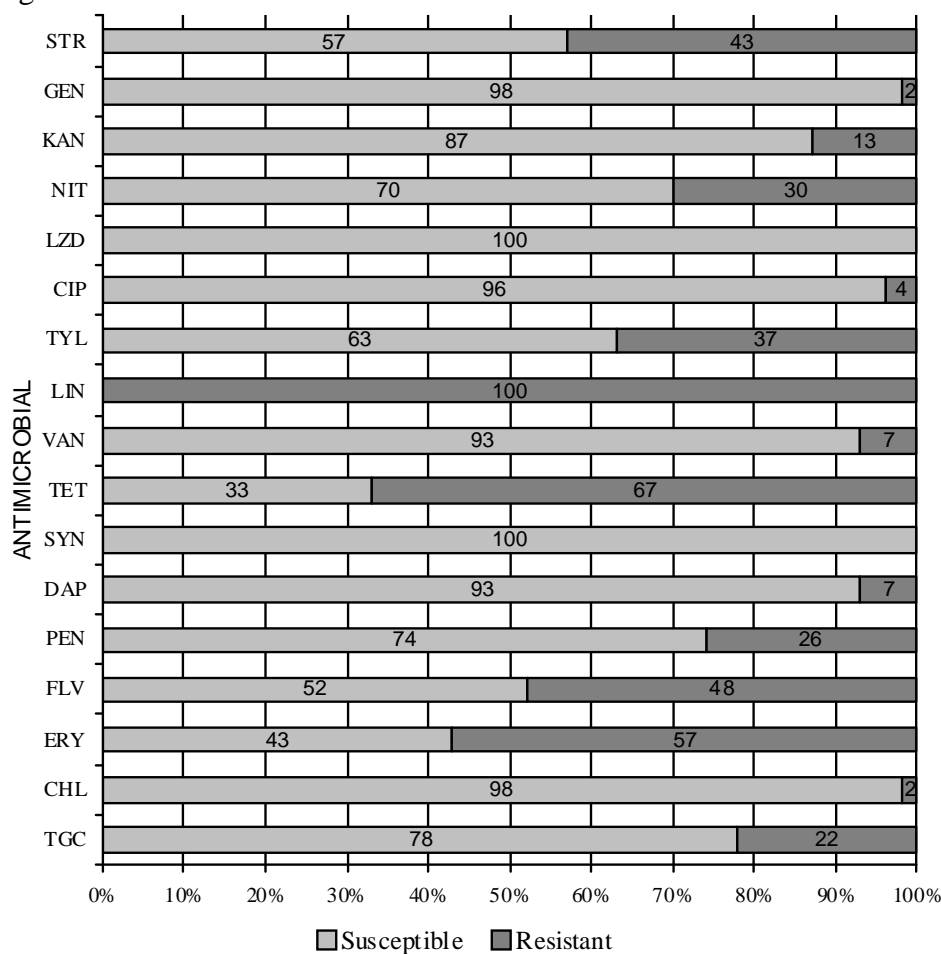
Control microorganisms such as *Enterococcus faecalis* ATTC 29212 were used for control of media and panels with antimicrobials. Identification was performed by typical growing characteristics on selective media and using identification system RapID STR (Remel, USA). Results were interpreted using computer programme ERIC (Remel).

For antimicrobial susceptibility testing NARMS Enterococcus plates (Sensititre, TREK Diagnostic Systems) were used using microdilution method. McFarland standards (Remel, USA) and electronic optical densitometer (Liap, Latvia) were used for preparing of suspension. Panels were inoculated and incubated according to instructions of manufacturers. Minimum inhibitory concentration (MIC) was determined for each strain. Results of microbiological susceptibility were evaluated using EUCAST database programme, according to cut-off values. The strains that had higher resistance according to Wilde Type Epidemiological cut-off value were called as "resistant" and those that had susceptibility lower or the same as cut-off value – as "susceptible".

## **RESULTS AND DISCUSSION**

46 strains of *Enterococcus* were isolated from different poultry farms all over the country. Fifteen strains were identified as *E. faecalis* and 15 strains as *E. faecium*. Other *Enterococcus* spp. included *E. durans*, *E. gallinarum* and some other species. Recovery of enterococci in separate farms varied from 75 to 100 %, however just few strains from each farm were selected for testing with the aim to test different strains in different farms.

Epidemiological susceptibility according to cut-off values of all tested enterococci is shown in Figure 1.



STR – streptomycin, GEN – gentamicin, KAN – kanamycin, NIT – nitrofurantoin, LZD – linesolid, CIP – ciprofloxacin, TYL – tylosin, LIN – lincomycin, VAN – vancomycin, TET – tetracycline, SYN – quinupristin/dalfopristin, DAP – daptomycin, PEN – penicillin, FLV – flavomycin, ERY – erythromycin, CHL – chloramphenicol, TGC – tigecycline.

Figure 1. **Epidemiological susceptibility of all *Enterococcus* spp. strains isolated from poultry, %**

As could be seen from Figure 1, all tested isolates showed to be susceptible (MIC lower or equal to the epidemiological cut-off values of wild type strains) to linesolid and quinupristin/dalfopristin without reference of the enterococcus species. All tested strains had higher MIC than cut-off values to linkomycin. Frequent resistance was also to tetracycline (67 %), erythromycin (57 %), flavomycin (48 %), streptomycin (43 %) and nitrofurantoin (30 %). Just only few isolates had increased MIC to gentamicin (2 %), chloramphenicol (2 %), fluoroquinolones (4 %), daptomycin (7 %) and vancomycin (7 %). The most frequent resistance was demonstrated to those antimicrobials that are used in veterinary medicine. However susceptibility to certain antimicrobials that are used in huge quantities in poultry farms (fluoroquinolones) was also high. Our previous studies on clinical susceptibility of enterococci isolated from poultry showed that even 35 % of all tested enterococci were clinically resistant to fluoroquinolones [8]. This means that naturally enterococci are very susceptible to fluoroquinolones, however clinical potency of those compounds become less effective because of the acquired resistance. Highest resistance was also demonstrated to those compounds that are used in mass treatment of animals. Decreased susceptibility to

lincomycin, flavomycin and tylosin clearly demonstrates that statement. Data obtained by other authors also demonstrates that enterococci tend to be more resistant to antimicrobials used in mass medication treatment [5]. Some other studies also indicate high frequency of resistance to tetracyclines and macrolides [6]. In general dissimilarities in antimicrobial resistance patterns among enterococci recovered from different meat types may reflect the use of approved antimicrobial agents in each food animal production class [4].

The results showed that enterococci as a part of natural habitats in poultry farms had increased resistance to the different classes of antibiotics. Such resistance could be potentially hazardous from the point of carrying resistance genes and possible genetic transfer to zoonotic bacteria.

## CONCLUSIONS

1. Enterococci from poultry origin frequently demonstrate decreased epidemiological susceptibility to different classes of antimicrobials.
2. The most frequent resistance was demonstrated to lincomycin (100 %), tetracycline (67 %), erythromycin (57 %), flavomycin (48 %), streptomycin (43 %) and nitrofurantoin (30 %). All tested strains had lower or equal MIC values according to epidemiological cut-off values, to linesolid and quinupristin/dalfopristin.

## REFERENCES

1. Aarestrup, F. M., Agero, Y., Gerner-Smidt, P., Madsen, M., Jensen, L. B. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans community, broilers, and pigs in Denmark. - *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2000. 32: 127-137.
2. Acar, J., Rostel, B. Antimicrobial resistance: an overview. - *Scientific and Technical Review of the OIE*. 2001. 20: 797-810.
3. Burch, D. Problems of antibiotic resistance in pigs in the United Kingdom. - *In Practice*. 2005. 27: 37-43.
4. Hayes, J. R., English, L. L., Carter, P. J., Proescholdt, T., Lee, K. Y., Wagner, D. D., White, D. G. Prevalence of antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from retail meats. - *Applied and Environmental Microbiology*. 2003. 69: 7153-7160.
5. Hershberger, E., Oprea, S. F., Donabedian, S. M., Perri, M., Bozigar, P., Bartlett, P., Zervos, M. J. Epidemiology of antimicrobial resistance of enterococci of animal origin. - *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004. 55: 127-130.
6. Kaszanyitzky, E. J., Tenk, M., Ghidan, A., Fehervari, G. Y., Papp, M. Antimicrobial susceptibility of enterococci strains isolated from slaughter animals on the data of Hungarian resistance monitoring systems from 2001 to 2004. - *International Journal of Food Microbiology*. 2007. 115: 119-123.
7. Lukašova, J., Šustačková, A. Enterococci and antibiotic resistance. - *Acta veterinaria Brno*. 2003. 72: 315-323.
8. Ruzauskas, M., Šeputienė, V., Šiugždinienė, R., Sužiedėlienė, E., Virgailis, M., Daugelavičius, R., Špakauskas, V., Pavilionis, A. Enterokokų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms Lietuvos gyvūnų fermose. - *Veterinarija ir zootechnika*. 2008. 41: 86-94.
9. van den Bogaard, A. E., Stobberingh, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics - links between animals and humans. - *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2000. 14: 327-335.

**ACKNOWLEDGEMENTS:** Lithuanian State Science and Study Foundation supported this work (programme "Lietantibaktas").

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТРАНСМИССИЯ ПЛАЗМИД ТОКСИГЕННОСТИ ОТ *ESCHERICHIA COLI* К *PROTEUS VULGARIS* EXPEREMENTAL TRANSMITION PLASMIDS TOXIGENITY FROM *ESCHERICHIA COLI* TO *PROTEUS VULGARIS*

Сухарев Юрий <sup>1</sup>, Гужвинская Светлана <sup>2</sup>

НИИ биологии Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина, Украина<sup>1</sup>  
ННЦ “Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины”, Харьков,  
Украина<sup>2</sup>

[probiotic@vet.kharkov.ua](mailto:probiotic@vet.kharkov.ua)

## ABSTRACT

Experimental transmission plasmids of toxigenicity from *E.coli* to *P.vulgaris* has been shown at joint cultivation in liquid nutrient mediums, under certain conditions (temperature, Ph, time cultivation). Thus does not matter what O-serogroupe one or another donor-type toxigeny culture of *E.coli*. This fact is necessary for considering at diagnostics colibacteriosis when at bacteriological research of patmaterial a lot of the microorganisms masking of the basic activator of disease is allocated.

**KEY WORDS.** Plasmids, toxigenicity, experemental transmittion, diagnostics colibacteriosis.

## ВСТУПЛЕНИЕ

Еще в 1975 году Aamst-Kettis A., Wadstrom T. и Habteeta показали, что энтеротоксигенная активность, кроме *E.coli*, присуща также другим бактериям. Этими и другими авторами [1], [2] была установлена возможность передачи Ent-плазмиды и ее экспрессии в штаммах *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*.

В пищеварительном тракте человека и животных в огромных количествах содержатся энтеробактерии, что создает условия для трансмиссивной передачи плазмид токсигенности от одного вида микроорганизмов к другому. С эпизоотической точки зрения такая передача детерминант токсигенности от патогенных к апатогенным микроорганизмам представляет огромную опасность [3].

Довольно часто при колибактериозе сельскохозяйственных животных, из патматериала, наряду с энтеротоксигенными *E.coli* выделяются другие микроорганизмы, в том числе и представители семейства Enterobacteriaceae, принадлежащие к нормальной кишечной микрофлоре. Комплексными диагностическими исследованиями, проведенными в хозяйствах неблагополучных по массовым желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят [4] и [5] было показано, что в качестве возбудителей неонатальных диарей выступают различные ассоциации условно-патогенных микроорганизмов: *E.coli*, Rotavirus, бактерии рода *Proteus*, Криптоспоридии, Coronavirus, *Ps.aeruginosa*, причем *E.coli* являются постоянным членом таких ассоциаций (100%). Смешанная инфекция затрудняет установление этиологической роли каждого отдельного вида микроорганизмов в паталогическом процессе.

Нами было замечено, что из патматериала, павших от диареи телят, поступавшего в нашу лабораторию для микробиологического исследования, наряду с энтеротоксигенными *E.coli*, довольно часто выделялся *Proteus vulgaris* (47,6 %).

Целью наших исследований было определение возможности трансмиссивной передачи плазмид токсигенности от *E.coli* к *P.vulgaris* в экспериментальных условиях.



Задачей исследований являлось установление наличия собственных энтеротоксигенных свойств у *P. vulgaris* и способность приобретать их при совместном культивировании с энтеротоксигенными *E.coli*.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Токсигенные O9 ST<sup>+</sup> и O26 LT<sup>+</sup>- продуцирующие штаммы *E.coli*, полевой штамм *P. vulgaris*, бульон Хоттингера, МПА, чашки Петри, центрифуга, термостат, белые беспородные мыши и др.

Культуру *P. vulgaris* высевали совместно с токсигенным штаммом *E.coli* O9 ST<sup>+</sup> в бульон Хоттингера, рН 7.0 – 7.2 и культивировали при 37°C 18 - 20 часов. После совместного культивирования смесь культур *E.coli* и *P. vulgaris* высевали в чашки Петри на МПА и культивировали при 37°C 18 - 20 часов. Производили отбор колоний *P. vulgaris* которыми засеивали бульон Хоттингера, инкубировали при 37°C 18 - 20 часов, после чего центрифугировали при 6000 об./мин в течении получаса для отделения бакмассы от надосадочной жидкости.

Определение летальных свойств бесклеточных супернатантов *Proteus vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным штаммом *E.coli*, проводили в опыте на интраперитонеально зараженных белых беспородных мышах массой 14 - 16 г, в дозах 0,1, 0,3 и 0,5 мл. О наличии энтеротоксина в супернатанте судили по летальному эффекту у зараженных им животных.

Аналогично были проведены опыты по определению летальных свойств супернатантов *P. vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным O26 LT<sup>+</sup> штаммом *E.coli* на бульоне Хоттингера, рН 7.0 – 7.2 при 37°C 18 - 20 часов.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эксперименты по совместному культивированию токсигенных штаммов *E.coli* с *P. vulgaris* в жидкой питательной среде показали, что ранее не токсигенный *P. vulgaris*, приобретал способность продуцировать энтеротоксины. Приведенные в табл. 1 и 2 данные свидетельствуют о том, что интраперитонеальное заражение белых беспородных мышей культуральным супернатантом *P. vulgaris*, выращенного в бульоне Хоттингера отдельно от токсигенных штаммов *E.coli*, не приводило к гибели опытных животных, тогда как заражение культуральным супернатантом *P. vulgaris*, полученным после совместного культивирования с токсигенным штаммом *E.coli* O9 ST<sup>+</sup> вызывало 100% гибель зараженных мышей от дозы 0.3 – 0.5 мл, а O26 LT<sup>+</sup>- от дозы 0.1 – 0.5 мл.

Таблица 1.

**Летальный эффект бесклеточных супернатантов *Proteus vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным O9 ST<sup>+</sup> штаммом *E.coli*, в опыте на интраперитонеально зараженных белых беспородных мышах.**

Исследуемый антиген	Количество мышей в опыте	Доза антигена (мл)	Пало/выжило мышей
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (раздельное культивирование)	5	0.1	0/5
	5	0.3	0/5
	5	0.5	0/5
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (совместное культивирование)	5	0.1	2/3
	5	0.3	5/0
	5	0.5	5/0

Таблица 2.

**Летальный эффект бесклеточных супернатантов *Proteus vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным O26 LT<sup>+</sup> штаммом *E.coli*, в опыте на интраперитонеально зараженных белых беспородных мышях.**

Изучаемый антиген	Количество мышей в опыте	Доза антигена (мл)	Пало/выжило мышей
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (раздельное культивирование)	5	0.1	0/5
	5	0.3	0/5
	5	0.5	0/5
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (совместное культивирование)	5	0.1	5/0
	5	0.3	5/0
	5	0.5	5/0

Эксперименты с другими серотипами энтеротоксигенных штаммов *E.coli*: O119, O101, O8, O20, O139 и др. дали аналогичные результаты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Штаммы энтеротоксигенных *E.coli* при совместном культивировании в жидких питательных средах, при определенных условиях (температура, pH, время культивирования) способны передавать фактор детерминирующий синтез энтеротоксинов к *P.vulgaris*.
2. Не имеет значения к какой O-серогруппе принадлежит тот или иной донорный токсигенный штамм *E.coli*. Этот факт необходимо учитывать при диагностике колибактериоза, когда при бактериологическом исследовании патматериала выделяется целый ряд микроорганизмов, маскирующих основного возбудителя заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Takao T., Tominaga N., Yoshimura S. et al. Isolation, primary structure and synthesis of heat-stable enterotoxin produced by *Yersinia enterocolitica*. Eur.J.Biochem. 1985, v.152, p.199-286.
2. Osek J. Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heatstable enterotoxin 1 (EAST1) gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin markers in *E. coli* isolates from pigs with diarrhea. //Vet. Microbiol.- 2003.- 91.- № 1.- P. 65–72.
3. Ивашкин В.Т., Шептулин А.А. Синдром диареи. -М.- 2002.
4. Ушкалов В.А. Этиологическая роль энтеротоксигенных эшерихий при неонатальных диареях телят/Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук.-Харьков.-1992.-С.40.
5. Олійник Л.В. Система моніторингу, контролю і профілактики токсикоінфекцій сальмонельозної та ешерихіозної етіологій/ Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук.-Львів.-2004.-С.4.

# A SURVEY ON PRRS USING ELISA AND PCR METHODS ON LITHUANIAN SWINE FARMS IN 2001-2007

Vilimas Sereika<sup>1</sup>, Raimundas Lelešius<sup>1</sup>, Julija Šilkūnaitė<sup>1</sup>, Dainius Zienius<sup>1</sup>, Ilona Aleksėjūnienė<sup>1</sup>

Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy<sup>1</sup>, Lithuania, [lelesiusr@yahoo.de](mailto:lelesiusr@yahoo.de)

## ABSTRACT

The purpose of work was to perform a survey on porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) using ELISA and PCR methods in Lithuanian swine farms in 2001-2007. Altogether 3766 swine serum samples were tested using ELISA in 2001-2007 and 1133 (30.1%) found to be positive. Respectively, 28.6%, (840/2933) – in 2001-2005, 34.3% (183/533) and 36.7% (110/300) positive samples were found in 2001-2005, 2006 and 2007.

**KEY WORDS:** PRRS, ELISA, PCR.

## INTRODUCTION

PRRS is important swine disease throughout the world. The disease was first recognized in the United States in 1987 although its description had appeared in some countries years earlier, is now found in almost all swine producing countries. A number of PRRS outbreaks have occurred recently in South Africa, Russia, China and Viet Nam. The disease, which represents a worldwide threat, is characterized by reproductive failure of sows and respiratory distress of piglets and fattening pigs which, combined with a potential for rapid spread, can cause significant production and economic losses. There are two antigenic types of the virus: the American and European. Some of the reports from Asia, where the PRRS virus has been isolated, describe a disease of swine with high mortality in different age groups.

In Lithuania PRRS serology is carried out more than 10 years and PRRS virus is characterized using molecular biology methods [4, 5].

The prevalence of PRRSV antibodies positive animals was significantly higher (61.6%) in 1997 when PRRS disease was first recognized in Lithuania [3]. Later in 1998-2001, the number of positive swines was lower 38.7%, 40.7%, 36.1% and 29.2, respectively [3]. PRRS vaccination programs were introduced in some swine farms using the vaccines prepared with attenuated or inactivated PRRS virus strains to control reproductive performance. No change in epidemiological situation was observed because only sows were vaccinated.

No review about epidemiological situation for several years with respect to PRRS has been done. So the purpose of our work was to determine the changes of PRRS virus infection in Lithuania situation from 2001 to 2007.

## MATERIAL AND METHODS

All samples were tested at Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy.

### Serological methods.

*ELISA.* All serum samples were tested for PRRS using an ELISA (IDEXX) [1].

### Molecular biology methods.

*PCR* – single tube nested RT-PCR was used [2, 4, 5].

Primers ORF5F (5' ATGAGATGTTCTCACAAATTGGGGCG 3') and ORF5R (5' CTAGGCCTCCCATGCTCAGCCGAAGT 3') were used for nested PCR [6] and primers ORF5B (5' CAATGAGGTGGGCIACAACC 3') and ORF5C (5' TATGTIATGCTAAAGGCTAGCAC 3') were used for the first PCR [1].

Pathological material of stillbirths and 2-4 months aged piglets was tested.

## RESULTS AND DISCUSSION

Altogether 3766 swine serum samples were tested by means of ELISA with respect to PRRSV antibodies in 2001-2007 and 1133 samples were found to be positive.

In Table 1 the data of serological investigation shows that, 2933 serum samples were tested and 840 (28.6%) ones were positive. Positive samples ranged from 7.4% iki 88.2% in different swine farms.

Table 1

### Seroprevalence of PRRS in 2001-2005

No.	Farm	ELISA			PCR		
		Samples, n	Positive		Samples	Positive	
			n	%		n	%
1.	ABBb	120	34	28.3	1	0	0
2.	ABV	411	168	40.8	74	13	17.6
3.	UABA <sub>v</sub>	49	18	36.7	0	0	0
4.	UABBk	155	71	45.8	17	2	11.8
5.	UABB	296	22	7.4	4	0	0
6.	UABGb	34	5	14.7	8	0	0
7.	UABK	694	236	34.0	29	1	3.4
8.	UABL	643	73	11.3	0	0	0
9.	UABS	100	62	62.0	8	1	12.5
10.	UABSi	70	15	21.4	0	0	0
11.	UABZ	87	21	24.1	0	0	0
12.	UABBaltic	40	18	45.0	0	0	0
13.	UkVG	27	10	37.0	6	0	0
14.	UkSK	18	9	50.0	0	0	0
15.	ZUBB	10	1	10.0	0	0	0
16.	ZUBV	17	15	88.2	0	0	0
17.	ZUBD	162	62	38.2	81	1	1.2
Altogether		<b>2933</b>	840	28.6	228	18	7.9

Pathological material samples were tested using PCR method and 18 (7.9%) out of 228 were positive in 2001-2005. Positive samples ranged from 1.2% to 17.6% in different swine farms.

Comparison of the results of serological and molecular biology methods showed that in UABBk 45.8% (71/155) serum samples were positive and 11.8% (2/17) pathological material ones. In UABS 62.0% (62/100) serum samples were positive and 12.5% (1/8) pathological material ones. In ABV 40.8% (168/411) serum samples were positive and 17.6% (13/74) pathological material ones. UABK 40.7% (217/533) serum and 3.4% (1/29) pathological material samples were positive. ZUBD 38.2% (62/162) serum and 1.2% (1/81) pathological material samples were positive (Table 1).

In 2006 the investigation was done in 11 swine farms and 533 serum samples were tested by ELISA (Table 2). Also 32 pathological material samples were tested by PCR in 2006 (Table 2). It was found that 34.3% serum samples were positive by ELISA and no positive samples were found by PCR. Positive samples by ELISA ranged from 8.7% to 70.0% in different farms. The seropositive samples were found in 72.7% (8/11) swine farms.

Samples of 15 swine farms were tested in 2007 (Table 3), 300 serum samples of 12 swine farms were tested and 110 (36.7) ones were positive. No positive samples by PCR were

found. Seropositive samples ranged from 5.3% to 100.0% in different swine farms. Seropositive samples were found in 75.0% (9/12) swine farms.

Table 2

**Seroprevalence of PRRS in 2006**

No.	Farm	ELISA			PCR	
		Samples, n	Positive		Samples, n	
			n	%	Tested	Negative
1.	UABB	10	1	10.0	13	13
2.	UABGb	153	51	33.3	0	0
3.	UABINT	128	51	39.8	0	0
4.	UABKagr	16	3	18.8	4	4
5.	UABKa	26	16	61.5	5	5
6.	UABBaltic	20	14	70.0	0	0
7.	UABNa	12	0	0	7	7
8.	UABS''	70	36	51.4	0	0
9.	UABSi	15	0	0	0	0
10.	UABZ	30	9	30.0	3	3
11.	UABZk	30	0	0	0	0
		23	2	8.7	0	0
Altogether:		533	183	34.3	32	32

Table 3

**Seroprevalence of PRRS in 2007**

No.	Farm	ELISA			PCR	
		Tested samples, n	Positive samples		Ištirta	Negative
			n	%		
1.	UABB	17	1	5.9	6	6
2.	UABBb	10	5	50.0	0	0
3.	UABBr		0		2	2
4.	UABD		0		4	4
5.	UABJ	30	27	90.0	0	0
6.	UABK	99	10	10.1	17	17
7.	UABKa	12	0	0	0	0
8.	UABSi	10	1	10.0	0	0
9.	UABSa	19	1	5.3	0	0
10.	UABBaltic	40	40	100.0	0	0
11.	UABVet	13	0	0	0	0
12.	UABZk	10	0	0	0	0
13.	UABNa		0		5	5
14.	UkGCh	24	24	100.0	20	20
15.	UkIch	16	1	6.3	0	0
Altogether:		<b>300</b>	110	36.7	54	54

Detailed study in 2003 showed that number (61.6%) of seropositive samples was higher in 1997, when disease was first recognized. Later seropositive samples ranged - 38.7%, 40.7%,

36.1% and 29.2%, respectively, in 1998, 1999, 2000 and 2001. Our data shows, that no essential changes occurred since 1998. However, high prevalence of seropositive animals shows that a lot of swines had contact with virus and virus carriers are possible in swine farms [3].

Earlier it was estimated that the seroprevalance in endemic Lithuanian White swine breed was significant lower than in other herds in 1997-2001 [3]. However, in our opinion it is really difficult to confirm it because of the insufficient number of purebred Lithuanian White swine farms. It was found that in the large swine farms the number of positive animals was two times higher than in the small farms (63-66% versus 22.0-37%) [3]. However our data shows that it is difficult to confirm, because the immunological structure of farm can be different from time to time, from farm to farm.

## REFERENCES

1. Oleksiewicz, M.B., Botner, A., Madsen, K.G., Storgard, T. Sensitive detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by RT-PCR amplification of whole viral genes. *Vet Microbiol.*, 1998, 64(1), 7-22.
2. Stadejek, T., Stankevicius, A., Storgaard, T., Oleksiewicz, M.B., Belák, S., Drew, T. W., Pejsak, Z. Identification of radically different variants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Eastern Europe: towards a common ancestor for European and American viruses *Journal of General Virology*, 2002, 83, 1861-1873.
3. Stankevičienė, M., Stankevičius, A. Kiaulių reprodukcinio ir kvėpavimo sindromo viruso (KRKSV) seroepizootiniai tyrimai Lietuvos kiaulininkystės ūkiuose. *Veterinarija ir Zootechnika*. 2002, 20 (42), 51-58.
4. Stankevičius, A., Stankevičienė, M., Pieškus, J. Kiaulių reprodukcinio ir kvėpavimo sindromo viruso lietuviškų padermių genetiniai skirtumai ir filogenetinė analizė ORF5 ir ORF7 regionuose. *Veterinarija ir zootechnika*. 2003, 23 (45), 36-46.
5. Stankevičius, A., Stankevičienė, M., Šalomska, A., Pieškus, J. Europietiškojo ir amerikietiškojo genotipų kiaulių reprodukcinio ir kvėpavimo sindromo viruso (KRKSV) identifikavimas ir tipizavimas vieno mėgintuvėlio atvirkštinės transkripcijos lizdine polimerazine grandinine reakcija (AT-PGR). *Veterinarija ir Zootechnika*. 2003, 21(43), 29-36.
6. Suarez, P., Zardoya, R., Martin, M.J., Prieto, C., Dopazo, J., Solana, A., Castro, J.M. Phylogenetic relationships of European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) inferred from DNA sequences of putative ORF-5 and ORF-7 genes. *Virus Research*, 1996, 42, 159-165.

**DZEMDES BAKTERIOLOĢISKO, HISTOLOĢISKO UN  
REPRODUKCIJAS RĀDĪTĀJU SALĪDZINĀJUMS GOVĪM AR UN BEZ  
AUGĻA SEGU AIZTURES  
COMPARISON OF BACTERIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL  
PARAMETERS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN COWS  
UTERUS WITH AND WITHOUT RETAINED FETAL MEMBRANES**

**Santa Skuja , Vita Antāne**

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija  
Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia  
[santaskuja@yahoo.com](mailto:santaskuja@yahoo.com) , [vita.antane@llu.lv](mailto:vita.antane@llu.lv)

**ABSTRACT**

Bacteriological samples of the cows uterus and endometrial biopsy samples were collected from 48 Holstein cows without and with retained fetal membranes in Latvia. Cows were divided in four groups: control group and three groups with retained fetal membranes and different treatment methods.

*Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Clostridia spp.*, *Staphylococcus spp.* were found in the uterus on day two, fourteen and on day 40-50 postpartum. Simultaneously histological findings on day 40-50 postpartum showed 33% of cows with mild to moderate endometritis, where 21% were cows with retained fetal membranes and 12% of cows without retained fetal membranes. Reproductive performance in cows with retained fetal membranes which are removed manually or not removed, treated or not treated does not differ significantly and are not worse than those of the control group cows with normal expulsion of fetal membranes.

**KEYWORDS:** cows, retained fetal membranes, endometrial biopsy, bacteriology, histology

**IEVADS**

Augļa segu aizture ir viena no nozīmīgākajām govju pēcdzemdību slimībām Latvijā, kā rezultāta rodas lieli ekonomiskie zaudējumi (samazinās piena izslaukums un iespējama neauglība).

Pēcatnešanās periods ir ļoti svarīgs govīs tālākajā reprodukcijā (2). Baktēriju kontamināciju dzemdē pirmajās 10-14 dienās pēc dzemdībām atrod vairāk kā 90% gadījumos, kam seko endometrīti un tālāk iespējamā neauglība. (4,3,6,8). Baktērijas visvairāk tiek izolētas pirmajās piecās nedēļās pēc govju dzemdībām, bet vēlāk to skaits samazinās (6).

Biežāk izolēto baktēriju sugas ir *Escherichia coli*, *A. Pyogenes*, *Streptococcus spp.* un *Staphylococcus spp.*(1,4,6,7,8). *Escherichia coli*, *Clostridia spp.* un Gram – anaerobie mikroorganismi visbiežāk ir sastopami govīm ar augļa segu aizturi pirmajās dienās pēc dzemdībām (7).

Veicot govīs dzemdes bakterioloģisko un histoloģisko izmeklēšanu vienlaikus, palielinās iespēja precīzāk noteikt dzemdes iekaisumu un tā turpmāko prognozi (1).

Veiktie pētījumi par augļa segu aiztures ietekmi uz reprodukcijas rādītājiem parāda, ka palielinās intervāls no atnešanās līdz pirmajai apsēklošanai, palielinās apsēklošanas reižu skaits līdz iestājas grūsnība, kā arī samazinās grūсно govju skaits pēc pirmās apsēklošanas (3)

**Darba mērķis** ir salīdzināt pēcdzemdību perioda norisi govīm ar un bez augļa segu aiztures, pielietojot bakterioloģisko un histoloģisko izmeklēšanu, un noteikt turpmāko auglību.

**MATERIĀLI UN METODES**

Pētījumā izmantotas 48 dažāda vecuma Latvijas melnraibās šķirnes govīs no A/S „Agrofirma Tērvete” ganāmpulka ar 650 slaucamām govīm un no SIA „Daile Agro” ganāmpulka ar 280 slaucamām govīm.

Vadoties no dzemdību 3. stadijas (augļa segu atdalīšanās) norises govīs iedalījām četrās eksperimentālās grupās:

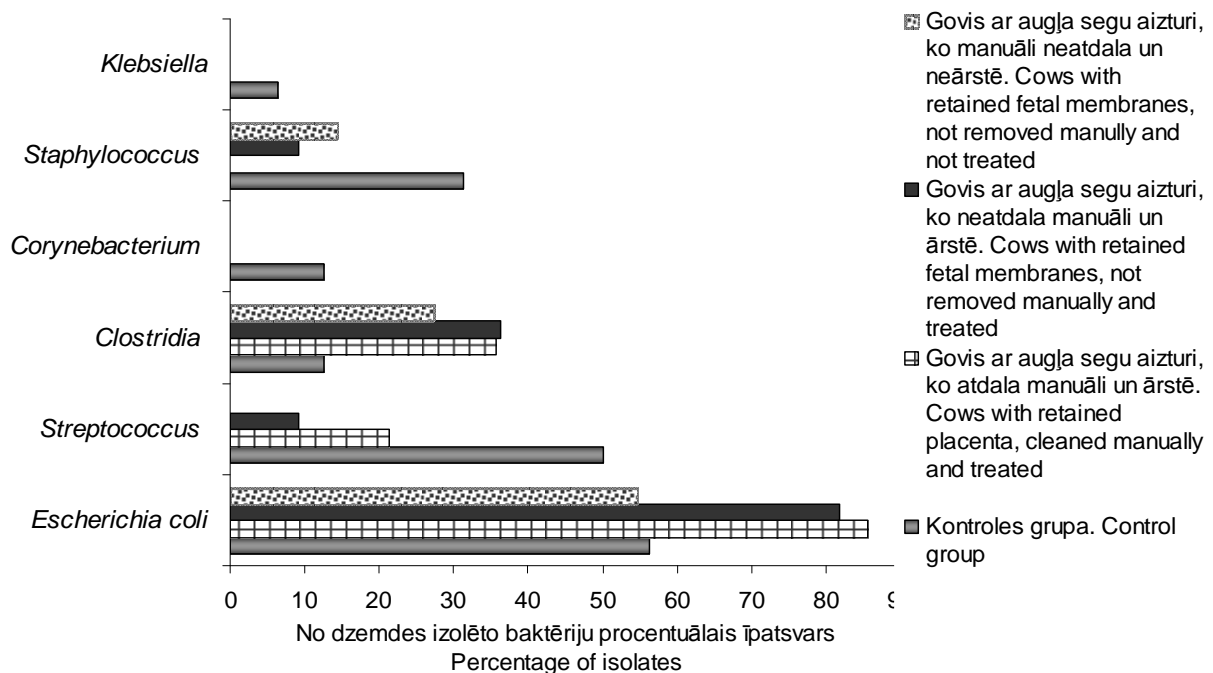
1. grupa (n=16) - kontroles grupa - augļa segas atdalījās 6-12 h laikā pēc dzemdībām.
2. grupa (n=14) - govīs ar augļa segu aizturi, ko atdalīja manuāli un govīs ārstēja.
3. grupa (n=11) - govīs ar augļa segu aizturi, ko neatdalīja un govīs ārstēja.
4. grupa (n=7) - govīs ar augļa segu aizturi, ko neatdalīja un govīs neārstēja.

Govīm, kurām novēroja vispārējo veselības stāvokļa traucējumus (paaugstinātu temperatūru, depresiju, anoreksiju, piena trieku, ketozi, mastītu) pielietoja atbilstošu ārstēšanu.

Bakterioloģiskos paraugus no dzemdes govīm ar un bez augļu segas aiztures divas, 14 dienas un piecas nedēļas pēc atnešanās noņēma ar firmas „Kruuse” (Dānija) ražotiem steriliem „Equi-Vet” dzemdes tamponiem (katologa nr. 2909550). Tos izmeklēja Nacionālā diagnostikas centra laboratorijā pēc vispār pieņemtām standartmetodēm.

Visām govīm 5 nedēļas pēc atnešanās veica dzemdes biopsiju ar oriģinālu biopsijas instrumentu (Divisible biopsy instrument 60cm, kataloga nr. 141700), kas ražots firmā „Kruuse”, Dānija. Biopsijā iegūtos audu paraugus ievietoja neitrālā 10% formalīna šķīdumā, pH 7,5 (Humason, 1967), un vēlāk ieguldīja paraplāstā. Ar rotācijas mikrotoma palīdzību ieguva 3µm biežus dzemdes gļotādas griezumus, kuri deparafinēti un krāsoti ar Hematoksilīnu - eozīnu un Masson trihroma metodi. Paraugu histoloģisko sagatavošanu un izmeklēšanu veica P. Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Patoloģijas institūta laboratorijā.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA



1. attēls. No dzemdes izolētās baktērijas govīm ar un bez augļa segu aiztures (48 stundas pēc dzemdībām)

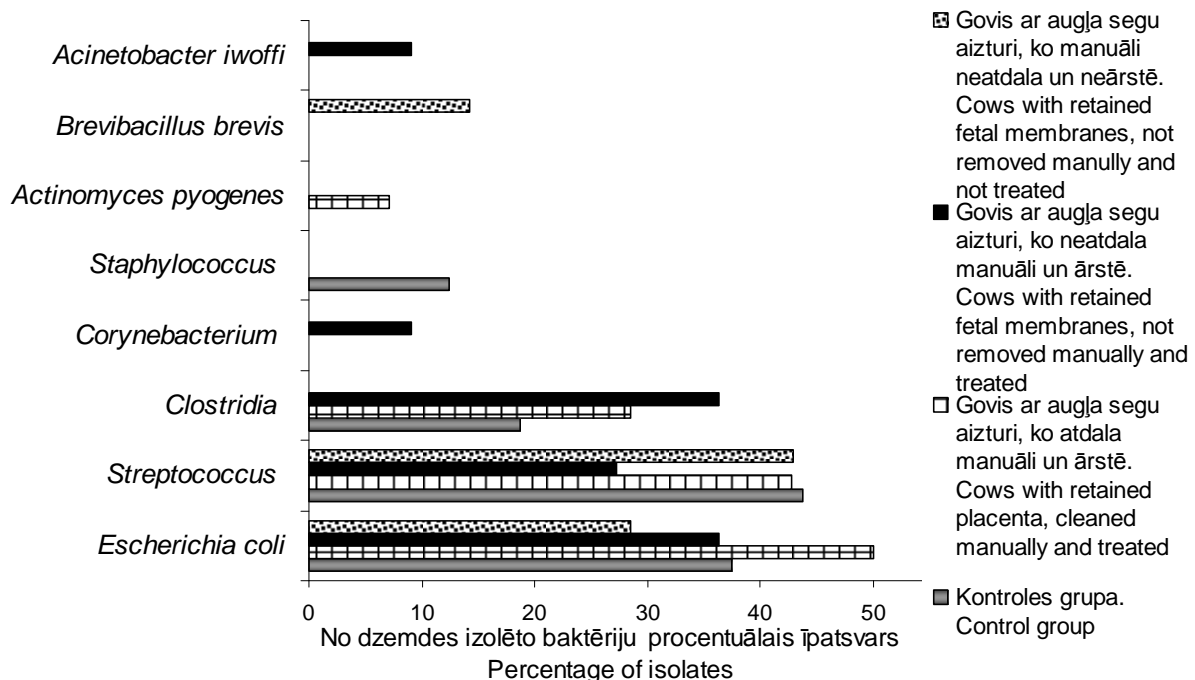
Figure 1. Bacteriological isolates from cows with and without retained fetal membranes (48 hours postpartum)

Veicot dzemdes dobuma bakterioloģisko izmeklēšanu otrajā dienā pēc dzemdībām, 98% govju konstatēja plaša spektra mikroorganismu kontamināciju. Trīsdesmit septiņu procentu gadījumos tā bija monokultūra *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.* un *Klebsiella spp.*, bet pārējos gadījumos jaukta tipa, vairākas



mikroorganismu sugas vienlaikus. Minētos mikroorganismus atrod gan govīm, kurām augļa segas atdalās laikā, gan arī govīm ar augļa segu aizturi (1.att.). Biežāk izolētie mikroorganismi bija *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* un *Clostridia spp.* baktērijas jauktas un monokultūras veidā.

Četrpadsmitajā dienā pēc dzemdībām 90% govju dzemdes dobuma bakterioloģiskajos paraugos konstatēja plaša spektra mikroorganismu kontamināciju, līdzīgi pētījuma rezultāti citu autoru darbos (4,6,7,8). Baktēriju monokultūras bija 40% - *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* un *Clostridia spp.*, bet pārējos gadījumos kā jaukta tipa kultūra. Govīm ar augļa segu aizturi no dzemdes izolēto kopējo mikroorganismu gadījumu skaits ir samazinājies, bet izolēto mikroorganismu sugu skaits ir palielinājies uz mazāk infekciozo baktēriju, *Brevibacillus brevis* un *Acinetobacter iwoffi*, rēķina. Kontroles grupas govīm izolēto baktēriju sugu skaits ir samazinājies (2 att.). Dominējošie mikroorganismi dzemdē 14. dienā pēc atnešanās bija *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Clostridia spp.* Jāpiezīmē viens gadījums, kur govij ar augļa segu aizturi, ko otrā dienā pēc dzemdībām atdalīja manuāli, atrada *Actinomyces pyogenes*. Neskatoties uz to, ka *Actinomyces pyogenes* tiek uzskatīta par vienu no bīstamākajiem mikroorganismiem(1,4,6), kas izraisa smagus dzemdes iekaisumus, nākamajā bakterioloģiskajā izmeklēšanas reizē (5 nedēļas pēc dzemdībām) to vairs neatrada, un 84 dienas pēc dzemdībām, pēc divreizējas mākslīgās apsēklošanas, govij iestājusies grūsnība.

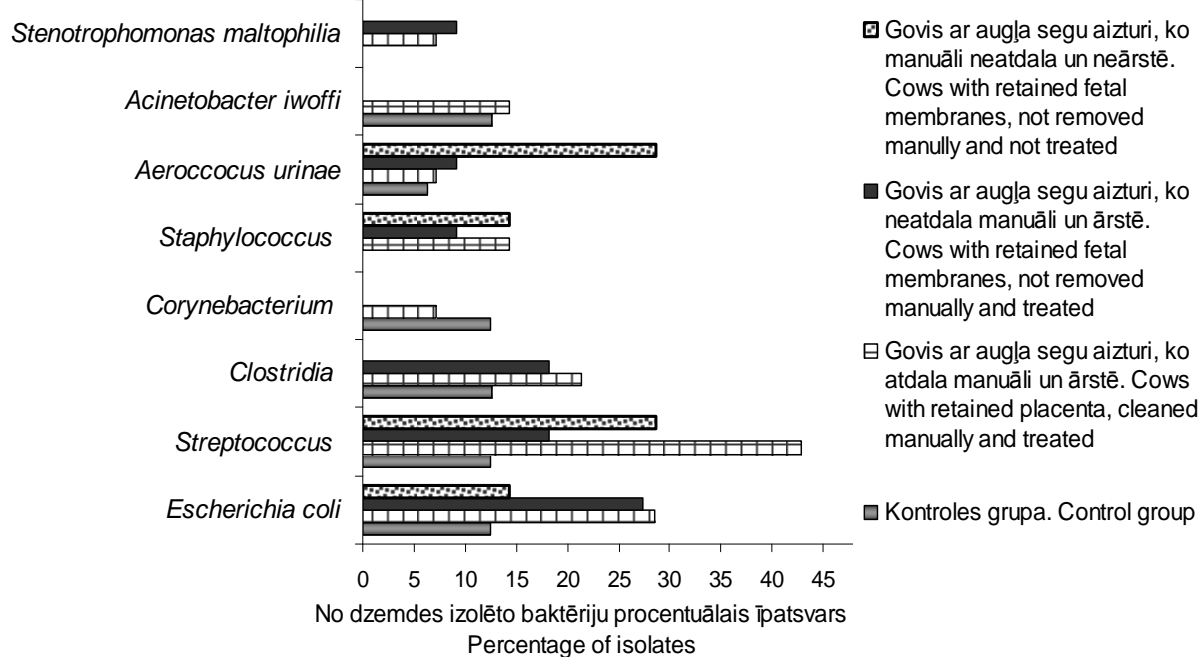


2. attēls. No dzemdes izolētās baktērijas govīm ar un bez augļa segu aiztures (14. diena pēc dzemdībām)

Figure 2. Bacteriological isolates from cows with and without retained fetal membranes (14 days postpartum)

Piektajā nedēļā pēc govju dzemdībām dzemdes dobumā 71% gadījumos atrada plaša spektra baktēriju klātbūtni. No tām monokultūras bija 29% - *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium*, *Clostridia spp.* un *Aerococcus urinae*, bet pārējos gadījumos tās bija jaukta tipa kultūras (3 att.). Arī šajā laikā, tāpat kā 14. dienā pēc dzemdībām, dominējošie mikroorganismi dzemdes bakterioloģiskajos paraugos bija *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Clostridia spp.* un *Staphylococcus spp.*. Pirmo reizi paraugos atrasts *Aerococcus urinae*, ko varētu izskaidrot ar paraugu kontamināciju tā noņemšanas laikā, jo piektajā nedēļā pēc dzemdībām, ja govys nemeklējas, dzemdes kakls ir

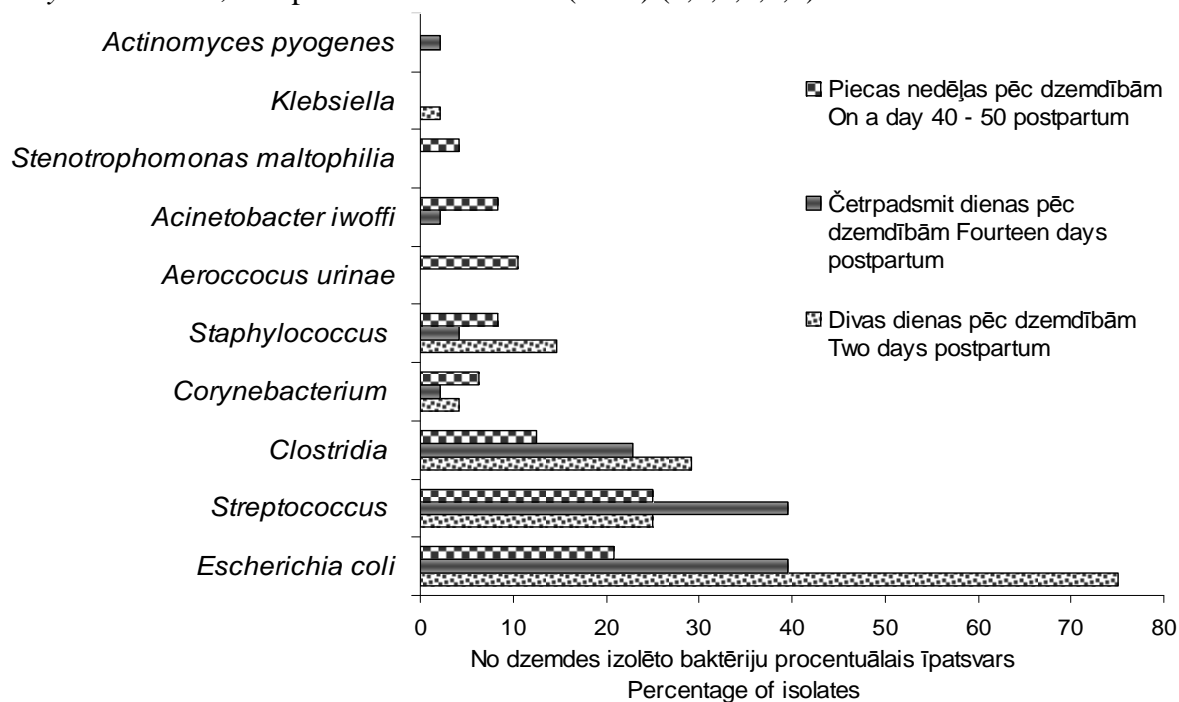
cieši noslēgts un parauga noņemšana apgrūtināta, un mazāk infekciozā *Stenotrophomonas maltophilia*, kuru parasti atrod dzīvniekiem, kuriem veikta dzemdes sanācija ar antibiotiku saturošiem medikamentiem.



3. attēls. No dzemdes izolētās baktērijas govīm ar un bez augļa segu aiztures (5. nedēļas pēc dzemdībām)

Figure 3. Bacteriological isolates from cows with and without retained fetal membranes (5 weeks postpartum)

Kopumā eksperimentālo grupu govīm katrā izmeklēšanas reizē visbiežāk izolēja *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Clostridia spp.*, retāk *Staphylococcus spp.* un *Corynebacterium*, ko apraksta arī citi autori (4 att.) (2,3,4,6,7,8).



4. attēls. No dzemdes izolēto baktēriju kopskats govīm ar un bez augļa segu aiztures

Figure 4. Summary of bacteriological isolates from cows with and without retained fetal membranes postpartum

Histoloģiskajos izmeklējumos dzemdes gļotādu vērtējām pēc patoloģisko procesu izmaiņām. Par viegla rakstura dzemdes gļotādas iekaisumu uzskatījām, ja dzemdes gļotādā vietām atdalīts virsmas epitēlijs, sīko asinsvadu pilnasinība submukozā, subepiteliālā slānī neliela neitrofilo leukocītu, limfocītu un plazmātisko šūnu infiltrācija, atsevišķu dziedzeru lumenā atrod deskvamētas epitēlija šūnas.

Vidēja smaguma endometrītu raksturo, ja bez iepriekš minētajām pazīmēm dzemdes zemgļotādas slānī atrod daudz plazmātisko šūnu, daudz neitrofilo leukocītu, limfocītu. Dzemdes hronisku iekaisumu raksturo eozinofilo leukocītu klātbūtne, biezas, sklerotiskas arteriolu sienas, saistaudu šūnu saviešanās un limfocitāro folikulu izveidošanās (5). No visām mūsu pētījumā iesaistītajām govīm 33% gadījumos histoloģiskā aina liecināja par vieglu līdz vidēji smagam dzemdes gļotādas iekaisumam, no kurām 21% bija govīs ar augļa segu aizturi un 12% govīs bez augļa segu aiztures.

Dzemdes dobuma bakterioloģiskās kontaminācijas un endometrija histoloģisko izmaiņu ietekmes uz reprodukcijas rādītājiem salīdzinošs vērtējums parādīts 1.tabulā.

1. tabula / Table 1

**Reprodukcijas rādītāju salīdzinājums govīm ar un bez augļa segu aiztures  
Comparison of reproductive performance in cow's uterus with and without retained fetal membranes**

<b>Govju grupas nosaukums Cows groups</b>	<b>Apsēklošanas indekss Service per pregnancy</b>	<b>Grūsnās govīs no pirmās apsēklošanas reizes, (%) Conception rate</b>	<b>Intervāls no atnešanās līdz jaunai grūsnībai, (dienas) Days to conception</b>	<b>Grūsnās govīs (%) Cows pregnancies</b>	<b>Izbrāķētās govīs (%) Culled cows</b>
1. Kontroles grupa Control group	2.8±0.4 <sup>A</sup>	26.6	150±20.8 <sup>C</sup>	80.0	18.7
2. Govīs ar augļa segu aizturi, ko atdala manuāli un ārstē Retained placenta with manual removal and treated	1.5±0.1 <sup>AB</sup>	35.7	114±14.5 <sup>C</sup>	76.9	28.5
3. Govīs ar augļa segu aizturi, ko neatdala un govīs ārstē Retained placenta with no manual removal, treated	1.8±0.2 <sup>A</sup>	27.2	144±24.9	72.7	27.2
4. Govīs ar augļa segu aizturi, ko neatdala un govīs neārstē Retained placenta with no manual removal, not treated	2.7±0.7 <sup>B</sup>	42.8	138±39.9	71.4	14.2

P < 0.05<sup>\*ABC</sup>

Salīdzinot reprodukcijas rādītājus atsevišķo govju grupās ar augļa segu aizturi redzam, ka tie nav sliktāki kā kontroles grupas govīm. Tādi rādītāji kā apsēklošanas indekss otrai un trešai govju eksperimentālai grupai un intervāls no atnešanās līdz jaunai grūsnībai otrai

eksperimentālai grupai ir būtiski labāki, salīdzinājumā ar kontroles grupas govīm. Grūsno govju procents no pirmās apsēklošanas reizes visaugstākais (42.8 %) ir govīm ar augļa segu aizturi, kura nav atdalīta un govīs pirmās četras līdz piecas dienas pēc dzemdībām nav ārstētas. Jāpiezīmē, ka sešām govīm no septiņām vēlāk novēroja vispārējā veselības stāvokļa pasliktināšanos (mastītu, ketozi, endometrītu), kur pielietoja atbilstošu ārstēšanu. Studējot literatūru, citu autoru darbos atrodam, ka govīm ar augļa segu aizturi ir salīdzinoši sliktāki turpmākās reprodukcijas rādītāji nekā govīm bez augļa segu aiztures (2, 3,4).

## SECINĀJUMI

1. Dzemdības dobuma bakterioloģiskajos paraugos otrajā dienā pēc dzemdībām - 98% govju, četrpadsmitajā dienā - 90% govju un 5 nedēļas pēc dzemdībām - 71% govju konstatēja plaša spektra mikroorganismu asociācijas un nebija būtiskas atšķirības starp govju grupām ar un bez augļa segu aiztures.
2. Dominējošās baktērijas, kas tika izolētas no dzemdes govīm pēcdzemdību periodā bija *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Clostridia spp.* un *Staphylococcus spp.*
3. Dzemdības gļotādas histoloģiskā aina piektajā nedēļā pēc dzemdībām liecināja par vieglu līdz vidēji smagam dzemdes gļotādas iekaisumam, govīm ar augļa segu aizturi 21% gadījumos un govīm bez augļa segas aiztures 12% gadījumos.
4. Reprodukcijas rādītāji starp govīm ar augļa segu aizturi, ko atdala vai neatdala manuāli, un govīs ārstē vai neārstē, būtiski neatšķiras un nav sliktāki par kontroles grupas govju rādītājiem, kurām augļa segas atdalās normāli.

## LITERATŪRA

1. Brenda N., Bonnett B. N., Martin S. W., Gannon V. P. J., Miller R.B., Etherington W. G. Endometrial Biopsy in Holstein-Friesian Dairy Cows. III. Bacteriological Analysis and Correlations with Histological Findings – Can. J. Vet. Res. , Canada. 1991. 55:168-173.
2. Dohmen M.J.W., Joop K., Sturk A., Bols P.E.J., Lohuis J.A.C.M. Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta – Theriogenology. 2000. 54: 1019-1032.
3. Heinonen M., Heinonen K. Retained placenta in cattle: the effect of treatment or nontreatment on puerperal diseases and subsequent fertility-Acta. Vet. Scand. 1989. 30: 425 – 429.
4. Huszenicza G., Földi J., Pécsi A., Szabó J., Domokos M., Gálfi P. Bacterial complications of uterine involution in cattle: Clinical pathology, prevention, therapy.- 13th International Conference Production Diseases in Farm Animals, Proceedings. 2007. 408-424.
5. Jubb K.V.F., Kennedy C.P., Palmer N. Pathology of domestic animals. Third edition. Academic Press, INC. London. 1985 3:325-345.
6. Kask K., Gustafsson H., Kindahl H. Bacteriological and histological investigation of the postpartum bovine uterus in two Estonian dairy herds. Acta. Vet. Scand. 1998. 39:423 – 432.
7. Martin I., Sheldon A., Gregory S., Lewis B., Stephen LeBlanc C., Robert O., Gilbert D. Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology. 2006 65:8 1516-1530.
8. Williams E.J., Fischer D.P., England G.C.W., Dopson H., Pfeiffer D.U., Sheldon I.M.. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the inflammatory response to endometritis in cattle. Theriogenology. 2005 63: 102-107.

**DAŽĀDU BARĪBAS LĪDZEKĻU IETEKME UZ KAZU ASINS  
IMUNOLOĢISKIEM UN HEMATOLOĢISKIEM RĀDĪTĀJIEM UN  
PRODUKCIJAS KVALITĀTI  
THE INFLUENCE OF DIFFERENT FEEDSTUFFS ON GOATS BLOOD  
IMMUNOLOGICAL AND HEMATOLOGICAL INDICES AND  
PRODUCE QUALITY**

**Sprūžs Jāzeps<sup>1</sup>, Šeļegovska Elita<sup>1</sup>, Vasiļjeva Svetlana<sup>2</sup>, Remeza Inese<sup>3</sup>**

LLU Agrobiotehnoloģijas institūts, Latvija<sup>1</sup>; LU Bioloģijas institūts, Latvija<sup>2</sup>; Rīgas Stradiņa  
Universitāte, Latvija<sup>3</sup>

LUA Institute of Agrobiotechnology, Latvia<sup>1</sup>; Institute of Biology of Latvia University,  
Latvia<sup>2</sup>; Riga Stradins University, Latvia<sup>3</sup>

[elita.seļegovska@llu.lv](mailto:elita.seļegovska@llu.lv)

**ABSTRACT**

Efficient utilization of nutrients depends on an adequate supply of energy and optimized feed rations. Nutrient deficiency can reduce milk yield, weaken animals organism, has influence on breeding and fertility ability and metabolic processes in goats. The goal of the investigation was to assess the influence of different feedstuffs on organic goat milk quality indices. Humoral immunological factors were studied to exhibit properties of immune status of Latvian local goat.

**KEY WORDS:** goat, humoral immunity, milk, blood.

**IEVADS**

Kazu ražotā piena apjomu nosaka to ģenētiskais potenciāls, ēdināšanas līmenis un veselības stāvoklis. Ēdināšana ir nozīmīgs faktors, jo tai ir tieša ietekme gan uz kazu produktivitāti, gan veselību. Kazām ir noteikta vajadzība pēc enerģijas, proteīna un bioloģiski aktīvām vielām, bet vienlaicīgi pastāv arī cita vajadzība – tā ir spurekļa mikroorganismu apgāde ar enerģiju un slāpekli saturošām vielām. Mikroorganismi veic augu barības strukturālo noārdīšanu un uz tā pamata veido komponentus – gaistošas taukskābes, kuri savukārt apgādā dzīvniekus ar lielāko daļu enerģijas, bet pati mikrobu masa sastāda nozīmīgu proteīna daudzumu kazu barībā, kas tiek sagremota un absorbēta tievajās zarnās.

Šie procesi noris normāli, ja ir nodrošinātas kā mikroorganismu, tā arī paša dzīvnieka vajadzības. Viena no galvenajām barības vielām kazu ēdināšanā ir kopproteīns. Ja lopbarībā ir zems proteīna saturs, vai arī uzņemtās olbaltumvielas ir nepilnvērtīgas, kazām rodas olbaltumvielu bads. Lai nodrošinātu kazas ar pilnvērtīgu proteīnu, it īpaši bioloģiskajā lopkopībā, kazu barības devā nepieciešams iekļaut stiebrzāļu – tauriņziežu sienu, galegu, lucernu, pupas, zirņus, rapsi, griķus, lopbarības raugu u.c. Šajā darbā mēs novērtējam, kā dažādu barības līdzekļu izmantošana bioloģiskajā lopkopībā ietekmē kazu veselību, piena produktivitāti un kvalitāti, kā arī imunoloģiskos rādītājus.

**MATERIĀLS UN METODIKA**

Izmēģinājumu veicām Talsu rajona Vandzenes pagasta zemnieku saimniecībā „Bērzi”. Izmēģinājuma periods – 92 dienas. Sagatavošanas periods, kurš ilga divas nedēļas, ēdināšanas, turēšanas un kopšanas apstākļi visām izmēģinājumā iekļautajām Latvijas vietējās šķirnes kazām bija vienādi. Izmēģinājuma shēma parādīta 1.tabulā. Pētījuma grupās tika iekļautas 2. līdz 4. laktācijas kazas ar līdzīgu dzīvmasu, miesas uzbūvi un barojuma pakāpi.

Barības vielu vajadzību dzīvniekiem noteicām atbilstoši kazu dzīvmasai (vidēji 60 kg) un izslaukumam, vadoties pēc Latvijā pieņemtiem normatīvajiem noteikumiem [4], kā arī izmantojot datorprogrammas „Kaziņa” barības devas optimizēšanas iespējas.

1. tabula/Table 1

**Izmēģinājuma shēma**  
**Trial scheme**

Grupās Groups	Dzīvnieku skaits grupā Number of animals	Barības deva Feed ration
1. kontroles	10	Ganību zāle 6kg + siens 0.5 kg + auzu milti 0.2kg + kviešu milti 0.2 kg (PB) + 0.2 kg kviešu klijas Grass 6kg+hay 0.5kg+oat meal 0.2kg+wheat meal 0.2kg (BF) + wheat bran 0.2kg
2.izmēģinājuma	10	PB + 0.1kg lopbarības raugs / BF + Fodder yeast 0.2kg
3.izmēģinājuma	10	PB + 0.2kg saulgiežu rauši / BF + sunflower cake
4.izmēģinājuma	10	PB + 0.2kg auzu milti / BF + oat meal 0.2 kg

Pēc kopproteīna, kokšķiedras (NDF), sausas (DM), enerģijas (NEL), tranzīproteīna (UIP), kalcija un fosfora daudzuma pirmās, otrās, trešās un ceturtās grupas kazu barības devas bija praktiski līdzvērtīgas (2. tab.), ņemot vērā lopbarības katalogu vidējos rādītājus. Visas barības devas nodrošina dzīvnieku vajadzības pēc galvenajām barības vielām, bet trūkstošās minerālvielas dzīvnieki saņem ar brīvi pieejamām minerālbarībām.

2. tabula / Table 2

**Barības vielu nodrošinājums barības devā**  
**Nutritive value of feed ration**

Barības vielas Nutrients	1. grupa	2. grupa	3. grupa	4. grupa	Vajadzība Requirement
NDF, kg	0.96	0.96	0.96	0.96	0.7
DM, kg	2.45	2.36	2.45	2.45	2.3
NEL, MJ	16.37	15.76	16.07	16.3	17.21
Proteīns, g	368.86	390.69	406.59	361.82	348
UIP, g	157.1	155.9	156.5	155.5	122
Ca, g	12.77	12.71	13.37	12.89	15
P, g	10.47	9.35	10.51	8.89	8.6

Visu grupu kazām bija pieejams minerālvielu un mikroelementu laizāmais bloks „CODIBLOC UAB” bioloģiskajām kazkopības saimniecībām, kas satur: 14 % Ca, 5 % P, 3 % Mg, I – 60 mg/kg, Zn – 5000 mg/kg un Se – 15 mg/kg, kā arī KNZ laizāmās sāls briķetes.

Izmēģinājuma gaitā katras kazas izslaukums tika izmērīts ar precizitāti līdz  $\pm 0.1$  kg. Piena tauku, olbaltumvielu un laktozes saturu noteicām pēc dienas vidējā parauga vienu reizi mēnesī ar aparāta Milko Scan 133 palīdzību. Kazu piena vienā  $\mu\text{L}$  tika saskaitīti leukocīti, tika noteikta fagocitozes reakcija [5]. Limfocītu šūnas tika resuspendētas Iгла barotnē līdz koncentrācijai  $5 \times 10^5$  š/ $\mu\text{L}$  un, izmantojot Gorajeva kameras palīdzību, tika saskaitītas [8]. T un B šūnu noteikšanai tika pielietota rozetes veidošanas metode [3], pirms reakcijas tās stimulējot [2], fagocitozes noteikšanai pielietojām Zimuzānu [5], bet A šūnas tika noteiktas ar imūnadherensa reakcijas metodi [7]. Visus uz priekšmeta stikliņiem sagatavotos preparātus krāsoja ar Majgrinvalda krāsu uz metanola bāzes 7 minūtes, pie tam 25 minūtes krāsojām pēc

Gimza-Romanovska metodes. Sagatavotie preparāti tika novērtēti ar imersijas palielinājumu 10 x 90. Rezultāti apstrādāti matemātiski, pielietojot Stjudenta kritēriju.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Izmēģinājuma laikā praktiski nebija atšķirības iegūtā piena apjomā pa kazu grupām (3.tab.)

3. tabula / Table 3

### Izslaukums izmēģinājuma laikā, kg Milk yield, kg

Rādītāji / Indices	Izmēģinājuma grupas / Groups			
	1.	2.	3.	4.
Izslaukums izmēģinājuma laikā (92 dienas)/Milk yield per group in 92 days	2116	2153	2088	2226
Uz 1 kazu izmēģinājuma laikā / per goat	211.6	215.3	208.8	222.6
Izslaukums dienā / Milk yield per goat per day	2.30±0.4	2.34±0.36	2.27±0.27	2.42±0.33
% salīdzinājumā ar kontroles grupu / % to 1 <sup>st</sup> group	100.0	101.7	98.7	105.2

Tomēr lielāks izslaukums tika iegūts no ceturtās grupas kazām, kuras barības devā saņēma auzu miltus, t.i., par 5.2 % vairāk salīdzinājumā ar kontroles grupu, bet šīs atšķirības nav būtiskas.

Izmēģinājuma laikā otrās grupas kazu pienā, kuras kā piedevu saņēma lopbarības raugu, salīdzinājumā ar kontroles grupu tauku saturs palielinājās par 0.43 % ( $p < 0.05$ ) un olbaltumvielu saturs par 0.13 %, kas norāda, ka lopbarības raugs ar auzu un kviešu miltiem ir pilnvērtīga barības piedeva bioloģiskajā kazkopībā, kura ievērojami uzlabo kazu piena ķīmisko sastāvu, kā arī tā barotājevērtību (4.tab.).

4. tabula / Table 4

### Kazu piena ķīmiskais sastāvs, % Composition of goat milk, %

Grupa Group	Tauki Milk fat	% pret kontroli	Olbaltum-vielas Milk protein	% pret kontroli	Laktoze Lactose	% pret kontroli
1.	3.38±0.10	100.0	2.84±0.10	100.0	4.04±0.26	100.0
2.	3.81±0.14*	112.7	2.97±0.09	104.6	3.62±0.49	89.6
3.	3.55±0.06	105.0	2.90±0.09	102.1	3.39±0.32*	83.9
4.	3.29±0.04	97.3	2.79±0.12	98.2	3.87±0.38	95.8

\* $p < 0.05$

Izmēģinājuma laikā ceturtās izmēģinājuma grupas kazu pienā (auzu milti) salīdzinājumā ar kontroli tauku saturs samazinājās par 0.09 %, olbaltumvielu saturs par 0.05 % un laktozes saturs par 0.17 %.

No iegūtiem rezultātiem varam konstatēt, ka kazām asins leikocītu skaits formulā atšķiras dažādās kazu grupās (5.tab.).

Otrās, trešās un ceturtās izmēģinājuma kazu grupās leikocītu daudzums bija lielāks nekā pirmajā kontroles grupā, bet atšķirības nav būtiskas. Izmēģinājuma grupās salīdzinājumā ar kontroli atzīmēta tendence heterfīlu relatīvā skaita palielinājums un limfocītu relatīvā skaita samazinājums, tomēr statistiskās atšķirības minētai starpībai nav konstatētas (atrastas).

Kazu asins leukocītu absolūtais skaits un limfocītu daudzums praktiski līdzīgs (neatšķirās) visās četrās kazu grupās, bet heterofīlu absolūtais skaits bija statistiski ticami augstāks izmēģinājuma grupās salīdzinājumā ar kontroles grupu (6.tab.).

5. tabula / Table 5

**Kazu asins hematoloģiskie rādītāji**  
**Hematological parameters of goat blood**

Grupa Group	Leikocīti š/μLx10 <sup>3</sup>	Heterofīli, %	Eozinofīli, %	Bazofīli, %	Limfocīti, %	Monocīti, %
1.	11.15±0.71	54±6.5	1.0±0.6	0.7±0.6	42±5.9	2.0±0.6
2.	13.67±0.59	63±4.7	2.0±1.3	0.7±0.6	34±4.1	2.0±1.3
3.	13.83±0.89	61±2.4	2.0±1.3	1.3±0.6	33±1.8	2.3±1.3
4.	11.82±0.65	62±15.4	2.0±1.8	0.7±0.6	34±13.0	1.3±0.6

Leikocītu skaita palielinājums izmēģinājuma kazu grupās bija uz heterofīlu rēķina.

6. tabula / Table 6

**Kazu asins dažāda veida leukocītu skaits**  
**Number of leucocytes in goat blood**

Grupa Group	Leikocīti š/μLx10 <sup>3</sup>	Heterofīli, š/μLx10 <sup>3</sup>	Eozinofīli, š/μLx10 <sup>3</sup>	Bazofīli, š/μLx10 <sup>3</sup>	Limfocīti, š/μLx10 <sup>3</sup>	Monocīti, š/μLx10 <sup>3</sup>
1.	11.15±0.71	6.08±1.12	0.15±0.01	0.08±0.1	4.66±0.37	0.19±0.07
2.	13.67±0.59	8.57±0.76*	0.28±0.15	0.09±0.1	4.66±0.60	0.28±0.17
3.	13.83±0.89	8.49±0.87*	0.23±0.10	0.18±0.07	4.60±0.10	0.32±0.07
4.	11.82±0.65	7.10±1.87*	0.27±0.21	0.08±0.07	3.87±1.61	0.16±0.09

\*p<0.05

Analizējot kazu asinīs T-, BC3 – limfocītu un A – šūnu relatīvā skaita rādītājus, konstatējam šo imūnkompetento šūnu daudzuma statistiski ticamu palielināšanos izmēģinājuma grupās salīdzinājumā ar kontroles grupu (7.tab.). Tas varētu liecināt par kazu organisma imunitātes palielināšanos sakarā ar pilnvērtīgākas un daudzveidīgākas barības devas izēdināšanu izmēģinājuma grupu kazām.

7. tabula / Table 7

**Kazu asins šūnu imunitātes rādītāji, %**  
**Immunological indicēs of goat blood, %**

Grupa / Group	T-limfocīti	BC3-limfocīti	A – šūnas	Fagocitoze
1.	51±1.8	15±1.2	5±0.6	6±0.6
2.	63±2.3*	21±1.4*	8±0.6*	10±0.6*
3.	69±2.4*	23±1.4*	9±1.2*	9±0.6*
4.	67±3.6*	23±1.7*	9±0.6*	11±0.6*

\* p < 0.05

Fagocitozes rādītāji statistiski ticami augstāki bija izmēģinājuma kazu grupās, kuras kā piedevu barības devā saņēma lopbarības rauģu, saulgriežu raušus un auzu miltus.

Dabīgās rezistences rādītājs lizocīms ir viens no imūnās aizsardzības faktoriem un tas izmēģinājuma grupu kazu pienā bija augstāks salīdzinājumā ar kontroles grupu (8.tab.).

Tāds imunitātes humorālās aizsardzības faktors kā cirkulējošie imūnkompleksi rāda, ka otrās un ceturtās izmēģinājuma kazu grupās šie rādītāji (to līmenis) bija zemāks salīdzinājumā ar kontroles grupu. Tas nenorāda uz imunitātes vājumu, bet norāda uz atkarīgo limfocītu subpopulāciju, kuru adsorbē šīs vielas, veicot šūnu aktivāciju [1].



**Kazu asins humorālās imunitātes rādītāji**  
**Indices of humoral immunity**

Grupa Group	Lizocīma saturs, μg/μL	% pret kontroli	Cirkulējošie imūnkompleksi, ekstr.vienx100	% pret kontroli
1.	0.92±0.09	100.0	14.3±1.9	100.0
2.	1.17±0.05*	127.2	9.8±1.0**	68.5
3.	1.18±0.07*	128.3	15.6±0.6	109.1
4.	1.27±0.09*	138.0	9.8±0.8*	68.5

\* p < 0.05; \*\* p < 0.1

Ņemot vērā, ka heterofīli ir galvenie lizocīma bagātinātāji asins plazmā, var saprast heterofīlu skaita palielināšanos fonā, t.i., veicinot lizocīma koncentrācijas palielināšanos, kas pārliecinoši parāda nespecifiskās imunitātes palielināšanos, kuru inducēja pielietotā barība izmēģinājuma kazu grupās.

### SECINĀJUMI

1. Vislielākie izslaukumi bija sasniegti no ceturtās izmēģinājuma kazu grupas, kuras barības devā saņēma auzu miltus.
2. Otrās izmēģinājuma grupas kazu pienā, kuras kā piedevu saņēma lopbarības raugu, salīdzinājumā ar kontroles grupu, tauku saturs palielinājās par 0.43 % un olbaltumvielu saturs par 0.13 %, kas norāda uz lopbarības rauga bioloģisko pilnvērtību, kura ievērojami uzlabo kazu piena ķīmisko sastāvu un pilnvērtību.
3. Kazu piena analīzes rezultāti par nespecifiskās imunitātes rādītājiem liecina, ka pielietotās piedevas (lopbarības raugs, saulgriežu rauši, auzu milti) bioloģiskajā kazkopībā labvēlīgi ietekmē kazu organisma imunitāti salīdzinājumā ar kontroli.

### LITERATŪRA

1. Bier O.G., da Silva W.D. Gotze D., Mota I. Fundamentals of Immunology. Be Springer – Verlag. New York, 1ne Printed in Germany, 1981, 444 p.
2. Gerdely P., Szabo G., Ferete B. Effekt of phytohaema-agglutinin and concanavalin A on human rosette – forming cells. Experientia, 1974, vol. 30, Nr.3, p. 300 – 301.
3. Mendes N., Miki S., Peixinho Z. Combined detection of humon T and B Lymphocytes by rosette formation. I.Immunul. 1974, vol. 113, p. 531 – 536.
4. Sprūžs J. Latvijā audzēto kazu ēdināšanas normas. Jelgava, 2005. 16.lpp.
5. Wotawa A., Klein G., Altman H. Eine methode zur isolierung menscliher und tierisher lymphocyten mit ficoll – urografin. Wien.klin.Wscher. 1974, Nr.6 S. 161 – 163.
6. Барановский П.А., Рудык Ф.И. Определение циркулирующих иммунных комплексов методом спектрофотометрии. Лаб.Дело. 1982, № 12. с. 35 – 39.
7. Векспер Х.М. Методы исследования клеточного иммунитета. Методические рекомендации Рига, РМИ, 1981, 15 с.
8. Грант Х.Я., Яварковский Л.И., Блюмберга И.А. Сравнительная оценка некоторых методов количественного определение лизоцима в сыворотке крови. Лаб.дело. 1973, №5, с. 300 – 304ю
9. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В. и др. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методом в гигиенических исследованиях. Москва. МРОМЕДЭК, 1993, 230 с.

# **INFRAORBITAL NERVE BLOCK WITHIN THE *PTERYGOPALATINE FOSSA* OF THE HORSE: ANATOMICAL LANDMARKS DEFINED BY COMPUTED TOMOGRAPHY.**

**Staszyk Carsten, Gasse Hagen**

Institute of Anatomy, University of Veterinary Medicine Hannover, Germany

[Carsten.Staszyk@tiho-hannover.de](mailto:Carsten.Staszyk@tiho-hannover.de)

## **ABSTRACT**

In order to provide anaesthesia of the equine maxillary cheek teeth, a local nerve block of the infraorbital nerve in the pterygopalatine fossa had been proposed, which is referred to as the “Palatine Bone Insertion” (PBI). As several complications with this method were reported, our study was designed to recommend a modified injection technique which avoids the risk of puncturing of relevant anatomical structures.

Five cadaver heads and two living horses were examined by contrast medium injections and subsequent computed tomography (CT). Spinal needles were inserted using two different insertion techniques: The above mentioned (PBI), and a modification called “Extraperiorbital Fat Body Insertion” (EFBI).

Both techniques (PBI and EFBI) provide a consistent distribution of contrast medium around the infraorbital nerve. However, only the EFBI technique is appropriate to minimize the risk of complications.

This study is an example for the permanent challenge of anatomists to supply a basis for clinical and surgical procedures.

**KEY WORDS:** horse, anaesthesia, maxillary foramen block, cheek teeth, equine dentistry

## **INTRODUCTION**

A local block of the infraorbital nerve in the pterygopalatine fossa had been proposed to achieve sufficient anaesthesia of the maxillary cheek teeth. For this purpose, a spinal needle was inserted between the zygomatic arch and the rostral margin of the ramus of the mandible until the needle contacted the perpendicular plate of the palatine bone. Subsequently, 20 ml of an anesthetic (2% Lidocaine) were infiltrated (2, 4, 5). This procedure was well tolerated by sedated horses. However, several complications such as hematoma, exophthalmos, and blindness were observed after application of this technique.

The objective of our present study was to provide a fundamental anatomical basis in order to improve the insertion technique and to minimize the risk of complications. Therefore, the examinations were focused on two issues:

First: Re-examination of the gross anatomy of the pterygopalatine fossa, with special attention to relevant arteries, veins and nerves that might be affected by insertion of a spinal needle.

Second: Simulation of the infiltration of the anesthetic by injecting a contrast medium.

## **MATERIAL AND METHODS**

Heads from five warm-blood horses (3 male, 2 female, 2 - 15 years old) were collected immediately after euthanasia. A simulation of an infraorbital nerve block was performed by injecting contrast medium (Solutrast 250<sup>®</sup>, non-ionic, 250 mg iodide in 1 mL water; Altana Pharma Deutschland GmbH, Konstanz, Germany) into the pterygopalatine fossa. For this purpose two different injection techniques were applied: The previously recommended

“Palatine Bone Insertion” (PBI), and the new “Extraperiorbital Fat Body Insertion” (EFBI). Subsequently, the distribution of the injected contrast medium was determined on CT images.

The same procedure was also applied to two female horses under general anaesthesia (12 and 15 years old) immediately before euthanasia for other medical reasons.

Following CT scans, the specimens were either dissected or deep frozen so as to be able to cut transversal slices (20 mm thick) out of the retrobulbar region. Relevant anatomical structures (i.e. major blood vessels, nerves, and the periorbita) were identified and their topography was determined in relation to the position of the inserted needles.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Position of the spinal needle with regard to relevant anatomical structures**

PBI technique:

The spinal needle was pushed forward into a triangle which was delineated by three anatomical landmarks: the zygomatic arch, the mandible, and the maxillary tuber. Within this triangle, the following relevant anatomical structures were identified:

- the infraorbital nerve;
- the maxillary artery and its branches;
- the deep facial vein;
- the periorbita.

As the spinal needle was advanced until it touched the perpendicular plate of the palatine bone, the tip of the needle came close to the infraorbital nerve, the infraorbital artery and the descending palatine artery. Furthermore, the puncture canal passed by the deep facial vein and the periorbita.

EFBI technique:

The spinal needle was not pushed forward until it contacted the perpendicular plate of the palatine bone. Instead, the needle was pushed forward through the masseter muscle until the intersection between the masseter muscle and the extraperiorbital fat body was noticeable due to a change in consistency. Then the needle was advanced 15 to 20 mm into the extraperiorbital fat body. The tip of the needle was located in the extraperiorbital fat body laterally to the deep facial vein (at a distance of 5 to 10 mm). None of the above mentioned anatomical structures were passed by or reached by the spinal needle. The infraorbital nerve, the infraorbital artery, the descending palatine artery and the periorbita were located outside a radius of about 20 mm around the tip of the needle.

### **Simulation of infraorbital nerve blocks evaluated by CT scan**

In all simulations of the PBI and EFBI, the injected contrast medium infiltrated the infraorbital nerve. In several simulations, the contrast medium continued with the infraorbital nerve into the infraorbital canal. No contrast medium was detected inside the intraperiorbital compartment in any of the applications. In all heads, the periorbita limited the flow of the contrast medium and prevented contrast medium from penetrating into the intraperiorbital compartment. No contrast medium was present in the blood sinuses of the brain. The distribution of contrast medium recorded in cadaveric specimens was the same as in the horses under general anaesthesia.

### **Risks**

As the deep facial vein is connected with the sinus cavernosus, an inadvertent bolus injection of lidocaine into the deep facial vein might result in central nervous stimulation causing severe ataxia, central nervous system toxicity or collapse (1, 3). The intraperiorbital compartment contains the eyeball, its associated muscles, nerves and blood vessels. The

periorbital functions as a sufficient barrier preventing contrast medium (and presumably Lidocaine) from penetrating into the intraperiorbital compartment and thus anaesthetic effects on the eye and its organs are limited.

## **CONCLUSIONS**

The EFBI technique is most appropriate for providing a sufficient nerve block with minimized risk, because:

(a) the risk of puncturing the deep facial vein, the infraorbital artery and the descending palatine artery is minimized, since the needle is not pushed close to the palatine bone and consequently stays away from these blood vessels;

(b) the injected agent spreads within the extraperiorbital fat body; it has been demonstrated that this will be sufficient to yield a consistent infiltration of the infraorbital nerve.

Clinical investigations should be performed to evaluate whether the EFBI technique has the same analgesic effect as the PBI technique.

## **REFERENCES**

1. Day, T.K. and Skarda, R.T. The pharmacology of local anesthetics. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 1991. 7: 489-500
2. Fletcher, B.W. How to perform effective equine dental nerve blocks. *Horse dentistry & biting journal.* 2005. 6: 18-20
3. Meyer, G.A., Lin, H.C., Hanson, R.R. and Hayes, T.L. Effects of intravenous lidocaine overdose on cardiac electrical activity and blood pressure in the horse. *Equine Vet. J.* 2001. 33: 434-437
4. Schumacher, J. and Perkins, J. Surgery of the paranasal sinuses performed with the horse standing. *Clin. Tech. Equine Pract.* 2005. 4: 188-194
5. Vlaminck, L. and Steenhaut, M. Extractie van de maaltanden bij het paard. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.* 2001. 70: 337-343

# PĒTĪJUMI PAR RISKĀ FAKTORU IETEKMI UZ CŪKU AUGŠANU UN ATTĪSTĪBU CŪKKOPĪBAS KOMPLEKSĀ

## INVESTIGATIONS ON RISK FACTORS AND THEIR INFLUENCE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PIGS IN LARGE COMPLEX

**Alfreds Stira<sup>1</sup>, Aleksandrs Jemeljanovs<sup>1</sup>, Inese Zītare<sup>1</sup>, Daina Ikauniece<sup>1</sup>, Jānis Zutis<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>LLU aģentūra „Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sīgra””, Latvija

<sup>1</sup>Agency of LUA “Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine “Sīgra””, Latvia

<sup>2</sup>Gaļas un piena rūpniecības inženiercentrs / Engineering Centre of Meat and Milk Production

[sigra@lis.lv](mailto:sigra@lis.lv); [gpric@internet.lv](mailto:gpric@internet.lv)

### ABSTRACT

Serious problems were caused by feed pollution with *Fusarium* genus mould fungus micotoxins zearalenone and deoxynivalenole. As a result the number of aborted pregnant sows were increased, piglets weaned as well as daily body mass gain decreased. Micotoxins inactivator Mykofix 3.0 was supplemented to the feed to normalize the situation. Feed premix with antibiotics was fed out to the weaned piglets. As a result the situation improved significantly. Sows abortion decreased within the limits of the norm as well as the number was diminished of piglets deaths and animals daily body mass gain also was increased.

**KEY WORDS:** micotoxins, risk factors, pigs, large complex.

### IEVADS

Lauksaimniecības produkcijas ražošanā par riska faktoriem uzskata nestabilākos posmus vai lokusus, kas uztver un reaģē uz nelabvēlīgiem ārējās vides apstākļiem un izraisa augu vai dzīvnieku fizioloģisko procesu novirzes, rezultātā nelabvēlīgi ietekmējot produkciju (Jemeljanovs, 2002).

Riska faktori cūku kompleksos var rasties vienā vai otrā ražošanas posmā vai lokusā un virzīties tālāk no viena posma uz nākošo. Produkcijas ražošanas laikā kādā posmā iegūtie pozitīvie, tā arī negatīvie faktori turpinās nākamajos posmos. Tikai riska faktoru apzināšana un zinātniskā izpēte ļauj novērst vai līdz minimumam tos samazināt, līdz ar to garantējot dzīvnieku izcelsmes kvalitatīvas produkcijas ieguvu visā tās tehnoloģiskās ķēdes posmā. Tas prasa cūku labturības apstākļu uzlabošanu, medikamentozu ārstēšanu un rezultātā - ne vienmēr izdodas novērst patoloģiskas izmaiņas dzīvnieku organismā, lai nodrošinātu augstu produktivitāti un kvalitāti. Riska faktoru novēršana dzīvnieku lielfermās saistās ar ievērojamiem finansiāliem ieguldījumiem.

Izēdinot cūkām sakarsušu vai iepelējušu lopbarību, dzīvnieki slimo – tātad cieš arī to produkcijas kvantitāte un kvalitāte. Zināms risks produkcijas ieguvē tāpat ir izēdināmās barības daudzums, tās kvalitāte, barības devu struktūra un sabalansētība pēc enerģijas, proteīna, minerālvielām, mikroelementiem un vitamīniem. Kā nozīmīgi riska faktori dzīvnieku veselībai literatūrā minēti arī mikotoksīni.

Vienā no Latvijas cūkkopības kompleksiem pēc vairākus gadus sekmīga, peļņu nesoša darba cūkkopības produkcijas ražošanā, sākās neveiksmes: dzīvnieku slimošana un bojāeja. Grūtības radīja diagnozes uzstādīšana. Mūsu darba mērķis bija: noskaidrot cūku kompleksā riska faktorus, izstrādāt pasākumus šo faktoru novēršanai, tādejādi novēršot ekonomiskos zaudējumus.

### MATERIĀLS UN METODIKA

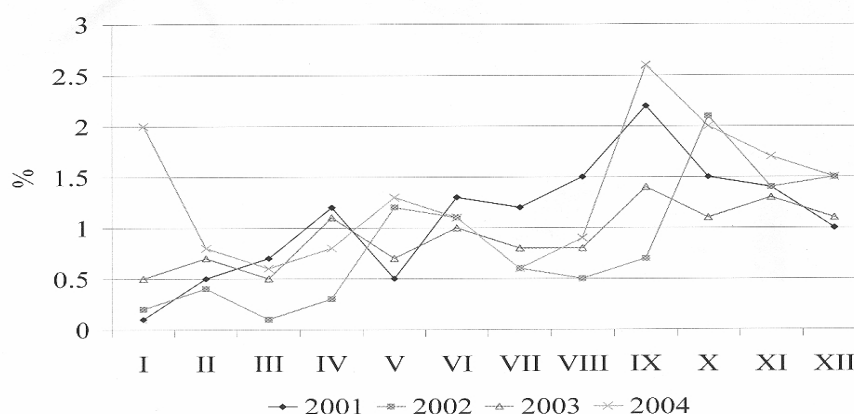
Pētījumi tika veikti laika periodā no 2001. gada līdz 2005. gadam vienā no republikas cūku lielfermām, kurā bija 3000 sivēnmāšu, ik gadu ieguva pāri par 60000 sivēnu un realizēja vairāk kā 5000 nobarojamo cūku. Lielfermā bija augsts abortējušo sivēnmāšu un bojā gājušo

sivēnu skaits, kas nopietni traucēja turpmāko ražošanas attīstību. Darba uzdevumos tika paredzēts: pētīt un salīdzināt pa gadiem ražošanas rādītājus cūkkopības kompleksā, īpaši – pa riska grupām (grūsnas sivēnmātes, atšķirtie sivēni, nobarojamie dzīvnieki) un mītņu atbilstību dzīvnieku labturībai, kā arī noskaidrot dažādu vecuma cūku grupu veselības stāvokli, barības sastāvu, veikt tās devu izvērtēšanu, analizēt veterināri –sanitāro stāvokli un dzīvnieku slimības cēloņus. Vienlaicīgi pētījām cūku barības mikoloģisko piesārņojumu, analizējām dzīvnieku asins bioķīmiskos rādītājus, veicām kritušo dzīvnieku līķu sekcijas, dokumentējām (fotouzņēmumos un aprakstos) un veicām kritušo dzīvnieku orgānu mikrobioloģiskās analīzes. Lai izvērtētu veikto profilaktisko pasākumu efektivitāti, 2004.g. un 2005.g. veicām salīdzinošu bojā gājušo dzīvnieku skaita izvērtējumu.

Barības analīzes tika veiktas saskaņā ar Zemkopības ministrijas instrukciju „Dzīvnieku barības paraugu analīžu metodika”. Lai noskaidrotu, kuri no barības maisījuma atsevišķajiem līdzekļiem varētu būt piesārņoti ar mikotoksīniem, uz Lietuvas Veterināro Akadēmiju analizēšanai tika nosūtīti cūku un sivēnu ēdināšanai lietotās kombinētās barības komponenti: auzas, mieži, kvieši, kukurūza, klijas, saulespuķu rauši, zivju milti un soja zearalenona (ZEA) un deoksinivalenola (DON) noteikšanai. *Fusarium* ģints mikotoksīni tika noteikti, pielietojot šķidro gāzu hromatogrāfu. Mikrobioloģiskās analīzes veiktas Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskajā institūtā „Sigra” sertificētajā laboratorijā (LATAK reģistrācijas Nr.LATAK-T-038-06-99-A 19.03.2008), pielietojot rutīnas metodes.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Izdarot cūkkopības kompleksa ražošanas procesa analīzi laika periodam no 2001.g. līdz 2004.g., uzmanību piesaistīja vairāki nozīmīgi fakti. Regulāri katru gadu, sākot no jūlija un it īpaši augusta un septembra mēnesī palielinājās abortējošo **sivēnmāšu** skaits (1.attēls).



1. attēls. Abortējušas sivēnmātes, % (laika periodā no2001.g – 2004g.).

Figure 1. Sows (%) aborted within period from 2001 -2004 years.

Ņemot vērā literatūras datus (Miller et al., 1973), ka cūku lielfermās dzīvnieku reprodukciju ievērojami var ietekmēt mikotoksīni, kā darba hipotēzi izvirzījām barības piesārņojumu ar mikotoksīniem. Pētījumi pierādīja, ka katru gadu jūlija, augusta un septembra mēnešos pirms barības graudu jaunās ražas ievietošanas tiek tīrītas graudu glabātuves, no kurām lielferma saņem dzīvnieku barību. Savāktās miltu atliekas varēja būt ar paaugstinātu dažādu pelējuma sēnīšu saturu.

Nobarojamajām cūkām, sivēnmātēm un atšķirtajiem sivēniem lietotā barība gan pēc sastāva, gan sastāvdaļu proporcijām atbilda dzīvnieku ēdināšanas normām. Arī LLU „Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskajā institūtā “Sigra”” bioķīmijas laboratorijā veiktā 1-3 mēnešus vecajiem sivēniem izbarotās barības sastāva un kvalitātes analīžu rezultāti atbilda normatīvajām prasībām, taču bakterioloģiskā analīze uzrādīja dažādu pelējuma sēnīšu

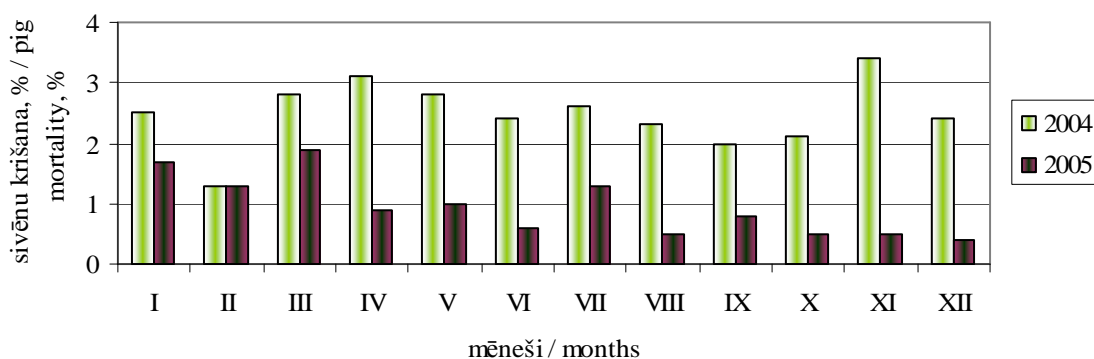
ģinšu klātbūtni: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*. No nobeigušos dzīvnieku iekšējiem orgāniem tika izolēts ievērojams kopējais mezofilo aerobo un fakultatīvi anaerobo baktēriju skaits ( $10^6$  koloniju veidojošās vienības 1gramā), tajā skaitā - *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella spp.* Barības analīžu rezultāti, kuras saņēmām no Lietuvas veterinārās Akadēmijas, apstiprināja barības piesārņojumu ar zearalenonu (ZEA) un deoksinivalenolu (DON), ko producē *Fusarium* ģints pelējuma sēnes (skat. 1.tabulu). Auzās ZON maksimāli pieļaujamais daudzums desmitkārtīgi pārsniedz pieļaujamo, bet klijās – seškārtīgi, saulespuķu raušos – seškārtīgi, bet kukurūzā tas ir maksimāli pieļaujamais. (Tabulā iekavās minētas pieļaujamās normas).

1.tabula / Table 1

**Mikotoksīnu saturs barības līdzekļos (iekavās atšķirto sivēnu barībā pieļaujamais saturs)**  
**Micotoxins in Feed (in brackets: admissible level in weaned pigs' food)**

№	Barība Feed	Mikotoksīna nosaukums / Micotoxins	
		Zearalenons ZEA mg/kg, Zearalenone ZEA, ppm (0.025-0.05)	Deoksinivalenols DON, mg/kg Deoxynivalenol DON, ppm (0.05)
1.	Auzas / Oat	0.500	0.150
2.	Mieži / Barley	0.070	0.200
3.	Kvieši / Wheat	<0.005	0.150
4.	Kukurūza / Maize	0.200	0.100
5.	Klijas / Bran	0.300	0.200
6.	Saulespuķu rauši / Oilcakes of sunflowers	0.300	0.150
7.	Zivju milti / Fish flour	0	0.100
8.	Soja / Soya	<0.005	0.450

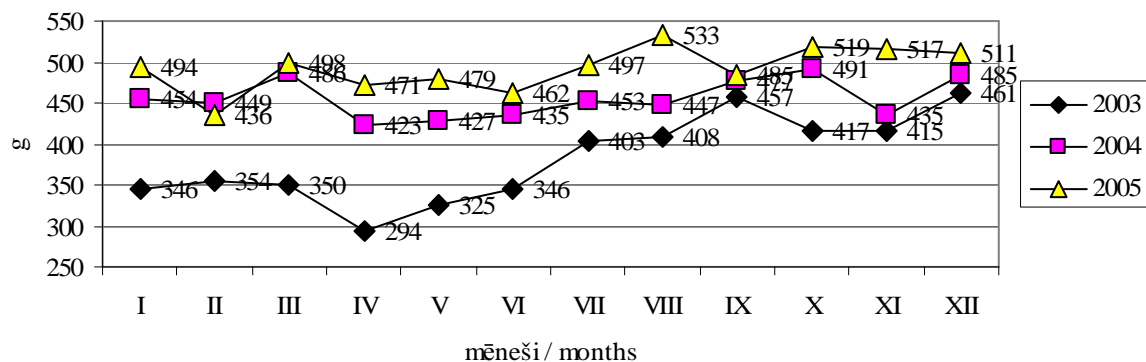
Veiktajās kritušo dzīvnieku sekcijās tika konstatēti izsitumi uz ādas, kuņģa zarnu trakta bojājumi, asiņojumi mezentērijā un tievo un resno zarnu sienīnās. Atkārtoti veiktās nobeigušos sivēnu iekšējo orgānu mikrobioloģiskās analīzes parādīja, ka visos iegūtajos paraugos ir *Staphylococcus* ģints baktērijas, pie kam atsevišķos iesūtītajos paraugos tika izolēts *Staphylococcus aureus*, kas bija izraisījis sivēnu organisma intoksikāciju. Vairākos paraugos vienlaicīgi tika izolēts arī *Staphylococcus haemolyticus*.



2.attēls. Atšķirto sivēnu krišana (%) pa mēnešiem 2004. un 2005. gadā  
 Figure 2. Weaned pigs mortality in 2004 and 2005 years (% per month)

Atsevišķos gadījumos dzīvnieku sekcijā atradām trahejas, bronhu iekaisumu, atelektātiskus perēkļus plaušās. Konstatējām asiņojumus nierēs. Iesūtīt paraugus mikrobioloģiskām analīzēm, tika izolēta *Corynebacteria pseudodiphtherica*.

Barības analīžu rezultāti, kā arī sekcijās redzamās dzīvnieku audu un orgānu patoloģiskās izmaiņas apstiprināja dzīvnieku saindēšanos ar barībā esošiem mikotoksīniem. Satraukumu radīja arī barības un kritušo dzīvnieku mikrobioloģisko izmeklējumu rezultāti. Kopīgi ar saimniecības galveno veterinārārstu sastādījām cūku ganāmpulka atveseļošanas programmu, kuru konsekventi realizējām dzīvē.



3.attēls. Atšķirto sivēnu vidējie dzīvmasas pieaugumi pa gadiem (g)

Figure 3. Daily gain of a weaned piglet in 2003, 2004 and 2005 years

Kā galvenos riskus mūsu apsekotajā saimniecībā konstatējām barības piesārņojumu ar patogēniem mikroorganismiem un pelējuma sēnēm, kas ietekmēja gan grūсно dzīvnieku veselības stāvokli, gan sivēnu bojā eju kritiskajā atšķiršanas vecumā. Izmantojot ar sēnēm inficētos graudus cūku barības gatavošanai, mikotoksīni nonāk dzīvnieku organismā. Pēc literatūras datiem (Хмелевский, и др., 1985; Neher, 2005, Charmley et al., 2005) cūku barības līdzekļos konstatē: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucoraceae*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Diplodia*, *Helminthosporium*, *Ascocita*, *Botrytis*, *Scierotinia* ģints pelējuma sēnes. Kā plašāk pazīstams dzīvniekus ietekmējošs toksīns minams - aflatoksīns, ko producē *Aspergillus* ģints sēnes. *Fusarium* ģints sēnītes veido vairāk kā 100 toksīnus, dzīvniekiem bīstamāki – deoksinivalenols jeb DON, HT-2 toksīns, zearalenons, fumonisīns. Tā kā mikotoksikozes ir dažādas un daudzas, arī klīniskā izpausme dzīvnieku saslimšanas gadījumos atkarīga no to specifikas, no dzīvnieku dzimuma, vecuma, stresa, reproduktīvās izmantošanas un turēšanas. Var novērot atteikšanos no barības, vemšanu (DON), samazinātas reproduktīvās funkcijas un samazinātu auglību (ZEA, DON, HT-2 toksīns), kā arī citas dzīvībai svarīgu orgānu destruktīvas izmaiņas.

Kā parāda literatūras dati, mikotoksīnu problēma pastāv visā pasaulē. To ietekmi uz cūku veselību pētījuši daudzi pētnieki: Sharda et al. (1971), Neher (2005), Charmley (2005). Pēdējos gados Latvijā uzsākti plaši pētījumi par mikotoksīnu klātbūtni dzīvnieku barībā un to ietekmi uz dzīvnieku veselību (Jemeljanovs, 2006, Valdovska, Pilmane, Jemeljanovs, 2007). Kā norādīts literatūrā, šis riska faktors var būt par cēloni infekcijas slimību iespējamai izcelsmei cūku ganāmpulkos (Kritas et al., 2000; Maes, 2001; Middelhoff, 2001; Halbur, 2004). Daudzās pasaules valstīs (Kanādā, ASV) dzīvnieku veselības stāvokli un to ietekmējošos faktorus, iegūtās produkcijas kvalitāti kontrolē Pārtikas drošības ekspertu aģentūras. Lai kontrolētu dzīvniekiem izbarotās barības kvalitāti Latvijā, 2002. gadā pieņemts „Dzīvnieku barības aprites likums”, kā arī izveidota „Dzīvnieku barības uzraudzības programma”. Viens no kvalitātes rādītājiem, ko ietver Programma ir pārbaude uz mikotoksīniem.

Ņemot vērā, ka pelējumsēnes var atrasties uz dzīvnieku barībai ievāktajiem graudiem, var vairoties to uzglabāšanas procesā, kā arī barības sagatavošanas laikā, pētnieki daudzās valstīs



strādā, lai novērstu mikotoksīnu ietekmi uz dzīvniekiem. Piemēram, ASV aflotoksīnu klātbūtne ir aizliegta, un to saturoša barība ir iznīcināma.

Lai samazinātu mikotoksīnu piesārņojuma līmeni izēdināmajā barībā, ASV zinātnieki iesaka mikotoksīnu daudzumu barībā samazināt, izmantojot viņu izstrādāto formulu, pēc kuras tiek aprēķinātas ar mikotoksīniem kontaminētas un nekontaminētas barības maisījuma attiecības. Izstrādāti arī mikotoksīnu inaktivatori.

Mūsu pētījumu saimniecībā, tāpat kā daudzās citās cūku lielfermās pasaulē, nebija iespējas mikroorganismu piesārņoto izbarojamo barību izslēgt no dzīvnieku ēdināšanas. Lai novērstu konstatētos dzīvnieku veselību ietekmējošos cēloņus - barības piesārņojumu ar mikotoksīniem un patogēno mikrofloru, cūku un sivēnu barības sastāvā pievienojām premiksu Doksivit-100 un mikotoksīnu inaktivatoru - Mycofix plus 3,0.

Katram dzīvniekam 28-75 dienu vecumā izbarojām premiksu Doksivit-100 (sastāvā-tetraciklīns), bet 3 mēnešu vecumā – linkomicīnu, pievienojot 1 kg uz 1 tonnu barības. Izbarošanas ilgums abos gadījumos – 14 dienas.

Mikotoksīnu inaktivācijai lietojām inaktivatorus - Mycofix plus 3,0 un Mycofix Select 3,0. Sivēnmāšu barībā Mycofix 3,0 lietojām 1 kg/t (profilaktiskā deva), 1.5-2.5 kg/t (ārstnieciskā deva), sivēnu barībās – Mycofix Select 3,0 1 kg/t (profilaktiskā deva) un 1.5-2.5 kg/t (ārstnieciskā deva). Rezultātā 2005.gadā, salīdzinot ar 2004.gadu, radikāli samazinājās atšķirto sivēnu krišana (2.attēls), atšķirto sivēnu dzīvmasas diennakts pieaugumi palielinājās (3.attēls).

Pielietoto pasākumu rezultātā, novēršot riska faktorus, palielinājās dzīvmasas pieaugumi visās cūku vecuma grupās (no 0-90-180 dienu vecumam).

## SECINĀJUMI

1. Kā galvenais riska faktors, kas ierosināja metabolisko procesu novirzi dzīvniekiem, kā arī bojā eju, cūku lielfermā bija barības līdzekļu piesārņojums ar *Fusarium* ģints pelējuma sēņu mikotoksīniem – zearalenonu (ZEA), deoksinivalenolu (DON) un *Aspergillus* ģints – aflatoksīnu B<sub>1</sub>. Kombinētās cūku barības gatavošanai lietotajās auzās ZEA maksimāli pieļaujamais saturs desmitkārtīgi pārsniedza pieļaujamo, bet klijās un saules puķu raušos – seškārtīgi, kukurūzā tas bija maksimāli pieļaujamās normas robežās.
2. Vienlaicīgi tika konstatēta patogēnās mikrofloras savairošanās cūku organismā (*Staphylococcus* ģints baktērijas – *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Corynebacteria pseudodiphtherica*).
3. Ar mikotoksīniem piesārņoti barības līdzekļi tika inaktivēti ar inaktivatoriem: sivēnmāšu barībā – 1kg/t (profilaktiskā deva), 1.5-2.5 kg/t (ārstnieciskā deva) Mycofix 3,0 un sivēnu barībā – 1 kg/t (profilaktiskā deva) un 1.5-2.5 kg/t (ārstnieciskā deva) Mycofix Select 3,0.
4. Saskaņā ar „Dzīvnieku uzraudzības programmu”, regulāri jāveic barības kontrole uz mikroorganismu un mikotoksīnu piesārņojumu, jāveic atbilstoši profilaktiskie un ārstnieciskie pasākumi.

## IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Charmley L., Trenholm H. Fact Sheet – Mykotoxins. 2005.
2. Grierson SS, King DP, Tucker AW, Donadeu M, Mellencamp MA, Haverson K, Banks M, Bailey M. Ontogeny of systemic cellular immunity in the neonatal pig: Correlation with the development of post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Immunology, Immunopathology*, 2007. 15.
3. Halbur P. Opriessnig. Vaccination and PCV 2 – associated diseases. *Pig International*, 2004. 34 (3): 23 – 25.

4. Jemeljanovs A. Agroekoloģisko, bioloģisko un ķīmisko riska faktoru savstarpējā saistība un to ietekme uz dzīvnieku valsts produkcijas kvalitāti un tirgus vērtību. LLU raksti, 2002. 6 (301): 1 – 14.
5. Jemeljanovs A. Pelējuma sēņu un to toksīnu sastopamība lopbarībā bioloģiskajās un konvencionālajās saimniecībās un to ietekme uz dzīvnieku veselību. Zemkopības ministrijas atbalstīts projekts.26.05.06/S176. 2007.
6. Kritas S.K. Alexopoulos C., Saoulidis K., Kyriakis S.C. Vaccinating against PRRS virus. *Pig International*, 2000. 30 (6): 18-20.
7. Lehmann B., Kakau J., Klindworth M., Leinker M., Sperveslage R., Weinert J., Wisserodt. Verfahrenstechnische Ansätze zur Minimierung der Fusarium – Problematik, BMVEL, Landwirtschaftskammer Weser – Ems, Fachhochschule Osnabrück (University of Applied Sciences), Georg August – Universität Gettingen, Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz. 2000.
8. Maes D. Mycoplasma + PRRS. *Pig International*, 2001. 31 (9): 25 – 28.
9. Middelhoff S. Neues vom Circovirus. *SUS*, 2001. 6: 10 – 11.
10. Miller J.K., Hacking A., Gross V.J. Stillbirths, neonatal mortality and small litters in pigs associated with the ingestion of *Fusarium* toxins by pregnant sows. *Vet Rec.*, 1973. 93: 555-559.
11. Neher F.J. Mycotoxins and their implications in gilts. *International Pig Topics*, 2005. 20 (8): 11-13.
12. Sharda D.P., Wilson R.F., Williams L.E., Swiger L.A., Cross R.F. Mold Toxicity in Swine and Laboratory Animals: Effect of Feeding Corn Inoculated with Pure Cultures of *Fusarium Roseum* Ohio Isolate C.J. *Anim. Sci*, 1971. 32: 1169-1173.
13. Trubka R. Cūku pēcatšķiršanas vispārējās novājēšanas sindroms. *Veterinārais žurnāls*, 2002. (1): 8.-10.
14. Valdovska A., Pilmane M., Jemeljanovs A. Mikroskopisko sēņu izraisīta iekaisuma ietekme uz ūdeņu aknu bazālo membrānu. 2007.gada zinātniskā konference: tēzes, Rīgā, 2007.gada 29. un 30.martā. – Rīga: RSU, 2007: 137.
15. Хмелевский Б.Н., Пилипец З.И., Малиновская Л.С., Костин В.В., Комарницкая Н.П., Иванов В.Т. Профилактика микотоксикозов. *Агропромиздат*, Москва, 1985. – 272 с.

# PATOGĒNO JERSĪNIJU SUGU (*YERSINIA* SPP.) SASTOPAMĪBA CŪKU BLAKUSPRODUKTOS, LIEMEŅOS UN MANDELĒS PREVALENCE OF PATHOGENIC *YERSINIA* SPP. ON BY-PRODUCTS, CARCASSES AND TONSILS

**Terentjeva Margarita, Bērziņš Aivars, Liepiņš Edgars**

Pārtikas un vides higiēnas institūts, Veterinārmedicīnas fakultāte, LLU, Latvija

Institute of Food and Environmental Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Latvia  
University of Agriculture, Latvia

[Margarita.Terentjeva@llu.lv](mailto:Margarita.Terentjeva@llu.lv)

## **ABSTRACT**

The prevalence of pathogenic *Yersinia* was studied from July to October 2007. A total of 105 pig tonsils, 105 by-products and 30 carcass swabs were collected at a large scale slaughterhouse. Samples of tonsils and by-products were obtained from the pluck sets in *post-mortem* inspection area. Samples were tested according to the method of the International Organization of Standardization (Anonymous, 2003). Cold-enrichment was carried out for two weeks if no positive samples were found during the first week of incubation. Overall, 54% of tonsils were tested positive for *Yersinia* spp., where *Y. enterocolitica* 4/O:3 and *Y. pseudotuberculosis*, accounted for 50% and 4%, respectively. Both *Yersinia* species were recovered from by-products (48%), while *Y. enterocolitica* (23%) only from carcasses. The prevalence of *Yersinia* on by-products was significantly higher in tongues and liver than in other parts of the pluck set ( $p < 0.05$ ). High prevalence of *Yersinia* on by-products and carcasses may present concerns for public health. The results of this study indicate that possibilities of *Yersinia* contamination of by-products and carcasses may occur during pig slaughtering from *Yersinia* positive tonsils. Further studies are needed to find the main sources of contamination at slaughter.

**KEY WORDS:** tonsils, evisceration, tongues, liver, cross-contamination

## **INTRODUCTION**

Yersiniosis is a human food-borne disease caused by two pathogenic *Yersinia* species- *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. Despite of high heterogeneity of *Y. enterocolitica*, only few of bacteria types or bioserotypes as 1B/O:8, 2/O:9, 2/O:5, 27, 3/O:3 and 4/O:3 are known to be human pathogenic (Bottone, 1997). The bioserovar 4/O:3 is the common for Northern and Central Europe, while another biovars are rare reported in the European Union (Fredriksson-Ahomaa et al., 2006, Fredriksson-Ahomaa et al., 2007).

The clinical manifestation of infection usually is a mild self-limited diarrhea, however severe immunological sequelae as reactive arthritis may occur (Bottone, 1997). Yersiniosis may mimic appendicitis, especially in case with *Y. pseudotuberculosis* infection (Jalava et al., 2006).

Epidemiology of yersiniosis is not completely understood due to low recover rates of pathogenic *Yersinia* from the food-stuffs at retail market (De Boer, 1995). However pork was recognized as the most important source of sporadic yersiniosis during the case-control studies in Belgium and Norway (Ostroff et al., 1994, Tauxe et al., 1987). Moreover, Fredriksson-Ahomaa, et al. (2006) proved that genotypes of *Y. enterocolitica* 4/O:3 strain obtained from pigs are undistinguishable from human isolates, which support the hypothesis that pork could be a vehicle for transmission of bacteria to consumers.

Pigs appear to be the most important carriers of yersinia (Kapperud, 1991). Healthy animals are carrying bacteria in their lymphatic tissues, especially in tonsils, during the life-

time without any signs of disease. Pig slaughtering is an open process where no microbial hazard can be completely excluded (Borch et al., 1996). *Yersinia* can easily be introduced on by-products and carcasses of pigs if cross-contamination from tonsils occurs (Fredriksson-Ahomaa et al., 2001). This process is promoted by traditional slaughtering and processing techniques, then offal are removed from the carcass as a pluck set with tongue included (Kapperud, 1991). Evisceration step might be crucial for the introduction of *Yersinia* into food chain since low temperatures applied in meat industry do not inhibit the microorganism and bacteria can reach consumers via contaminated pork and its products (Andersen, 1991). Thus, the impact of slaughtering technique on introduction of pathogenic *Yersinia* should be evaluated in order to recognize and minimize existing problems in meat industry.

The aim of this study was to determine the prevalence of pathogenic *Yersinia* spp. on pig tonsils, by-products and carcasses.

## MATERIAL AND METHODS

**Sampling.** Samples of pig tonsils, by-products and carcass surfaces were collected in one large scale Latvian slaughterhouse during pig slaughtering from July until October 2007. The slaughter capacity of the plant was 50 pigs per hour. After evisceration pluck sets with tonsils were hanged vertically on the processing line and forwarded to the *post-mortem* inspection area. Tonsils were cut out from the pluck sets. Surfaces of pluck set - tongue, heart, lungs, diaphragm, liver, kidney; pharyngeal and costal region of carcasses were swabbed with sterile gauze tampons, moistured in 0.9% saline. The sampling was performed after evisceration, and before routine *post-mortem* examination. Each sample of by-products and carcasses contained five swabs obtained from surfaces. A total of 135 by-products and carcasses, and 105 tonsil swabs were collected.

During the sample collection the visual evaluation of evisceration technique for one hour was undertaken.

**Bacteriological examination.** Swabs were diluted in PMB (Peptone-Mannitol-Bile salts broth) within two hours after sampling and were left for one hour at 22 °C for resuscitation. Suspension was transferred into ITC (Irgasan Ticarcillin Chlorate) enrichment broth (Fluka, Switzerland) and Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin agar (*Yersinia* selective CIN agar, OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK) and incubated at 25 °C and 30 °C in ITC broth and CIN agar, respectively. The suspension from ITC broth after two days of incubation was streaked onto CIN agar plates. Presumptive colonies with a “bull eye” like appearance - red centre and transparent surrounded margins, from CIN agar were tested for oxidase reaction and urea hydrolysis. Species differentiation were carried out with API 20E system (BioMérieux, Marcy l’Etoile, France). Samples in PMB broth were plated out onto CIN agar after one and two weeks of incubation at 4 °C with alkali treatment in case no positive isolates were obtained during the first week of cold enrichment with a subsequent confirmation as was described above.

Biotyping of *Y. enterocolitica* positive isolates was performed as follows: strains were tested for pyrazinamidase activity, salicin, xylose, trehalose fermentation and lipase hydrolysis as described by Wauters et al., (1987) Indole reaction was obtained from API 20E kit. Serotyping was carried out as described by the manufacturer with *Yersinia* O:3 antisera (Sifin, Berlin, Germany).

*Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* cultures were frozen and stored in liquid nitrogen for further tests.

**Data analysis.** The Chi-square tests were used to detect differences between the prevalence of *Yersinia* spp. on by-products.

## RESULTS AND DISCUSSION

The prevalence - 54% of *Yersinia* spp. especially 50% of *Y.enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsils is higher than previously reported in Latvia (Terentjeva et al., 2007). Results support observations on prevalence of this pathogen in pig tonsils at the age of slaughtering (Fredriksson-Ahomaa et al., 2001, Nesbakken et al., 2006).

The prevalence of bacteria on carcasses could be the result of cross-contamination during evisceration from *Yersinia* positive tonsils. Our observations of evisceration process showed that removal of tonsils together with a pluck set did cause additional contamination of carcasses with bacteria. Carcasses were vended fresh, so the prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 on carcasses present the hazard for consumers.

Obtained prevalence of pathogenic *Yersinia* species is shown in Table 1

1.tabula/Table 1

### Patogēno jersīniju (*Yersinia* spp.) sugu sastopamība cūku mandelēs, blakusproduktos un liemeņos

#### Prevalence of pathogenic *Yersinia* on pig tonsils, by-products and carcasses

Sampling site/ Parauga ņemšanas vieta	Kopējais paraugu skaits/ kopējais pozitīvo paraugu skaits (%) Total no. of samples/ total no. of positive samples (%)	Number of Positive Samples (%) Pozitīvo paraugu skaits/ (%)	
		<i>Y.enterocolitica</i> 4/O:3	<i>Y.pseudotuberculosis</i>
Cūku mandeles/ Pig tonsils	105/ 57 (54)	53/ 50	4/ 4
Liemenis/Carcass:			
Rīkles apvidus/ <i>Reg.pharyngea</i>	15/ 4 (27)	4 (27)	-
Krūšu kurvja 1.-5. ribas apvidus/ Thorax, I-V costae	15/ 3 (20)	3 (20)	3 (20)
Plūči/Pluck set:			
Mēle/Tongue	15/ 8 (53)	8 (53)	-
Plaušu kraniālā daiva/Lungs, <i>lobus</i> <i>cranialis</i>	15/ 8 (40)	4 (27)	2 (13)
Plaušu kaudālā daiva/ Lungs, <i>lobus caudalis</i>	15/ 1 (7)	1 (7)	-
Sirds/Heart	15/ 4 (27)	3 (20)	1 (7)
Aknas/Liver	15/ 8 (53)	5 (33)	3 (20)
Diafragma/ Diaphragm	15/ 3 (20)	3 (20)	-
Nieres/ Kidneys	15/ 3 (20)	3 (20)	-

The highest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 - 15/ 8 (53) was detected on tongues and livers, and it was significantly higher for tongues and livers than for other parts of the pluck set ( $p < 0.05$ ).

High prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on pig tongues could be explained by their location near the pig tonsils, which are thought to be the most important source of bacteria. Oral cavities of *Yersinia* positive pigs usually are contaminated with these microorganisms at high rates (Nesbakken et al., 1985, Andersen, 1991). Contamination of other offal, as heart, lungs and diaphragm, most probably occurred during removal of the pluck set at evisceration from *Y. enterocolitica* positive tonsils (Fredriksson-Ahomaa et al., 2001). High prevalence of *Yersinia* on the liver could be interpreted as follows: it has the lowest position hanged together with the pluck set on the evisceration line, and bacteria could spread from the most contaminated areas, such as the tongue, with the rinsing water. However, our personal observations at the slaughterhouse indicate that *Y. enterocolitica* can be introduced onto liver directly from tonsils or pharyngeal region of the carcass due to their close contact with tonsils area during evisceration step.

*Y. pseudotuberculosis* was recovered only from lungs and liver, but not from other by-products. *Y. pseudotuberculosis* is rarely isolated from pigs, and the natural reservoirs of the bacteria are expected to be wild animals and birds (Niskanen et al., 2002).

*Y. pseudotuberculosis* positive by-products were originated only from one pig herd, which was found to be positive with 30% (3/10) the mean prevalence of *Y. pseudotuberculosis*. So the occurrence of pathogenic *Yersinia* on the offal depends on the species which pigs are carrying. The failure to isolate *Y. pseudotuberculosis* from tongues, where the highest prevalence was expected, could be explained by the large amount of the background microflora since the oral cavity of a live animal is colonized by other microorganisms, and by lack of appropriate method for detection of bacteria, even CIN agar can cause an inhibitory effect on the growth of *Y. pseudotuberculosis* (Fukushima and Gomyoda, 1986).

Consequent palpation and incision of lymphatic nodes and organ surfaces may lead to distribution of bacteria from the contaminated to non-contaminated areas by the meat inspector's hands and knives. From this point of view the high prevalence of *Yersinia* on the liver should be taken into consideration, because a routine *post-mortem* examination of the pluck starts from the liver. Liver is expected to be free from bacteria, but as all samples were taken before *post-mortem* examination, cross-contamination from liver may occur.

The previous studies on distribution of *Yersinia* at slaughtering indicate that the pig tonsils serve as a source of contamination of by-products and carcasses. The results of this study show that pathogenic *Yersinia* can easily enter the food chain if animals are carriers, and mistakes in the slaughter technique occur during evisceration step.

More sensitive methods, such as pulsed gel electrophoresis (PFGE) should be applied for detection of genotypes of isolated *Yersinia* cultures to find the sources of contamination.

## CONCLUSIONS

1. The prevalence of pathogenic *Yersinia* on by-products may indicate to the mistakes of slaughterhouse personnel which may enhance the distribution of bacteria.
2. Since each slaughterhouse may have its own contamination pattern with bacteria, studies should be continued to find out the possible slaughtering technique problems existing in Latvian meat industry.
3. Due to the high prevalence of pathogenic *Yersinia* in tonsils, long-term preventive measures should be developed for the meat industry to decrease the existing problems.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Latvian Ministry of Agriculture, fund Nr. 200607/S201.

## REFERENCES

1. Andersen J.K., Sørensen R., Glensbjerg M. Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review. - International Journal of Food Microbiology. 1991. 13: 231-237
2. Anonymous. Microbiology of food and animal feedings stuffs- Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* (ISO 10273: 2003). – International Organization of Standartization. 2003. 1-15.
3. Borch E., Nesbakken T., Christensen H. Hazard identification in swine slaughter with respect to food borne bacteria. - International Journal of Food Microbiology. 1996. 30:9-25
4. Bottone E.J. *Yersinia enterocolitica*: the charisma continues.- Clinical Microbiology Review. 10: 257-276
5. Fredriksson –Ahomaa M., Bucher M., Hank C., Stolle A., and Korkeala H. High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4:O3 on pig offal in Southern Germany: a slaughtering technique problem.- Systematic and Applied Microbiology. 2001. 24: 457-463
6. Fredriksson-Ahomaa M., Stolle A., Siitonen A., Korkeala H. Sporadic Human *Yersinia enterocolitica* infections caused by bioserotype 4/O:3 originate mainly from pigs. - Journal of Medical Microbiology 55, 747-749
7. Fukushima H., Gomyoda M. Growth of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* Biotype 3B Serotype O3 Inhibited on Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin agar.- Journal of Clinical Microbiology. 2006. 24: 116-120
8. Jalava K., Hakkinen M., Valkonen M., Nakari U.M., Palo T., Hallanvuo S., Olligen J., Siitonen A., Nuorti J.P. An outbreak of gastrointestinal illness and erythema nodosum from grated carrots contaminated with *Yersinia pseudotuberculosis*. - Journal of Infectious Diseases. 2006. 194: 1209-1216
9. Nesbakken T. Enumeration of *Yersinia enterocolitica* O:3 from porcine oral cavity, and its occurrence on cut surfaces of pig carcasses and the environment in a slaughterhouse.- International Journal of Food Microbiology. 1988. 6: 287-293
10. Nesbakken T., Eckner K., Høidal H.K., Røtterud O.J. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering and dressing procedures. - International Journal of Food Microbiology. 2003. 80:231- 240
11. Nesbakken T., Iversen T., Eckner K., Lium B. Testing of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection. - International Journal of Food Microbiology,. 2006. 111: 99-104
12. Niskannen T., Fredriksson-Ahomaa M., Korkeala H. *Yersinia pseudotuberculosis* with limited genetic diversity is a common finding in tonsils of fattening pigs. - Journal of Food Protection. 2002. 65: 540-545
13. Ostroff S.M., Kapperud G., Huteagner L.C., Nesbakken T., Bean N.H. Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infection in Norway: a prospective case-control study. - Epidemiology and Infection. 1994. 112: 133-141
14. Tauxe R.V., Wauters G., Goossens V., Van Noyen R., Vandepitte J., Martin S.M., De Mol P., Thiers G. *Yersinia enterocolitica* infection and pork: the missing link.- Lancet. 1987. 329: 1129-1132
15. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Incidence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Latvian Pigs at slaughtering. In Proceedings: International Scientific Conference Research for Rural Development, Jelgava, Latvia, 16-18 May. 2007. 66-69
16. Wauters E., Kandolo K., Janssens M. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. - Contributions in Microbiology and Immunology. 1987. 9: 14-21

# KAMPILOBAKTĒRIJU (*CAMPYLOBACTER* SPP.) SASTOPAMĪBA CŪKĀM LATVIJĀ (PIRMAIS ZIŅOJUMS) OCCURRENCE OF *CAMPYLOBACTER* SPP. IN PIGS IN LATVIA (PRELIMINARY REPORT)

Terentjeva Margarita<sup>1</sup>, Kalnina Erita<sup>2</sup>, Liepiņš Edgars<sup>1</sup>, Bērziņš Aivars<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Faculty of Veterinary Medicine, Latvia University of Agriculture, Latvia

<sup>2</sup> Zemgales reģionālā laboratorija, Nacionālais Diagnostikas centrs, Latvija

Zemgales Regional Unit, National Diagnostic Centre, Latvia

[Margarita.Terentjeva@llu.lv](mailto:Margarita.Terentjeva@llu.lv)

## ABSTRACT

The aim of the study was to detect the occurrence of *Campylobacter* spp. in pigs. Rectal swabs from 129 pigs were obtained, representing 13 pig herds. Samples were collected during July-October, 2007. Samples were analyzed according to the method of the International Organization of Standardization (Anonymous, 2006). All isolated cultures were found to be presumptive for *C. coli* species. As further molecular testing was not performed, bacterium was defined as *Campylobacter* spp. The overall occurrence of *Campylobacter* spp. was 38%. The highest occurrence was found in Latgale region (65%) and the lowest in Zemgale region. None of the herds tested positive for *Campylobacter* spp. in small private farms. The occurrence of *Campylobacter* spp. in conventional farms varied from 20 to 90% This is the first report on the occurrence of *Campylobacter* spp. in pigs in Latvia. More comprehensive data are needed to evaluate the overall situation in the country. Since *Campylobacter* spp. is a zoonotic pathogen and possibility of introduction of bacterium into food chain is not excluded, additional attention should be paid to the distribution of these bacteria.

**KEY WORDS:** pig, herd

## INTRODUCTION

*Campylobacter* spp. became the most common bacteria isolated from humans with gastroenteritis during the last 20 years in European Union (EFSA, 2006). Campylobacteriosis is characterized by self-limited diarrhea and sometimes with post-infection complications as bacteremia. Human campylobacteriosis is usually caused by *C.jejuni* followed by *C.coli* (Skirrow, 1994). *C.coli* is less relevant species and it is often ignored, however it is most likely than *C.jejuni* exhibit antimicrobial resistance properties (Pezzotti et al., 2003). It has also important economical impact since it may cause significant number of hospital bed days (Tam et al., 2003).

*Campylobacter* spp. is widely distributed in environment and animal production, hence retail foods, especially poultry, were found to be positive up to 100% for *C.jejuni*. Retail meat becomes contaminated with *Campylobacter* spp. during handling of contaminated meat and as a result of cross-contamination from other ready-to-eat products (Humphrey et al., 2007). The animals during initial stages of processing as slaughtering are recognized as the most important vector for introduction of bacterium into food chain (Malakauskas et al., 2007).

Occurrence of *Campylobacter* in pigs could be important since red meats are found to be contaminated at the high rates at retail and even pork is implicated in human infection cases in Northern countries (Siemer et al., 2005). Identification of sources of *Campylobacter* is important for public health protection.

The aim of study was to determine the occurrence of *Campylobacter* spp. in pigs at slaughtering.



## MATERIAL AND METHODS

A total amount of 129 rectal swabs were collected during July-October, 2007 in two Latvian slaughterhouses. Samples originated from 13 different pig farms in Latvia.

Samples were transferred in tubes containing Caryblair medium (EUROTUBO, Deltalab, Spain) and transported to the laboratory. Sample material was streaked onto CCDA agar (Campylobacter blood-free selective agar, CM0739, OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK) and incubated at 42 °C for 48 h in microaerophilic atmosphere using commercial gas generating kits (Campygen, CN0035A, OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK) in Anaerojar (OXOID, Hampshire, UK). Presumptive colonies were transferred onto blood agar and MacConkey agar (MacConkey Agar, CM0007, OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK) and incubated in microaerophilic condition at 42 °C for blood agar and aerobically at 37 °C for MacConkey agar. If no bacterial growth was observed onto MacConkey agar, cultures from blood agar were confirmed with Gram staining, catalase and oxidase reaction and hippurate hydrolysis. Gram negative, catalase and oxidase positive, hippurate hydrolysis negative isolates were suspected to be *C.coli*.

## RESULTS AND DISCUSSION

Results on occurrence of *C.coli* in pig herds are shown in Table 1. The overall occurrence for *Campylobacter* spp. was 38%. The highest occurrence of *Campylobacter* spp. was observed in Latgale region (65%), while the lowest in Zemgale region (23%). None of the herds tested positive for *Campylobacter* spp. in small private farms. The occurrence of *Campylobacter* spp. in conventional farms varied from 20 to 90%.

1.tabula/Table 1

### **Kampilobaktēriju (*Campylobacter* spp.) sastopamība cūku ganāmpulkos Latvijā Occurrence of *Campylobacter* spp. in pig herds located in Latvia**

Reģions/ Location	Paraugu skaits/ No. of samples	Pozitīvo paraugu skaits(%)/ No. of positive samples (%)
Kurzeme	68	26/38
Latgale	20	13/65
Zemgale	26	6/23
Vidzeme	15	6/40

The occurrence confirms previous reports that *C.coli* most frequently than other *Campylobacter* species are isolated from pigs (Malakauskas et al., 2006; Nesbakken et al., 2003; Pezzotti et al., 2003) and in this study isolates are recognized as *C.coli*. This pathogen has a higher colonization potential for pigs than *C.jejuni* and other *Campylobacter* species and pigs serve as a source of this bacterium (Leblanc Maridor et al., 2008).

From 13 farms, only three were negative for *Campylobacter* spp. All of negative herds were small private animal herds (till 10 animals per herd), so it is possible that managing practice can cause a protective effect on introduction of bacterium into pig herds. As *Campylobacter* spp. can be introduced into pig herds, further risk analysis should be undertaken to estimate the significance problem.

The obtained occurrence is lower than it was reported previously for *Campylobacter* spp. in pigs: from 63.5 % in Italy (Pezzotti et al., 2003) to 100% in Norway (Nesbakken et al., 2003). Results of our study do not completely reflect the common situation in pig population in Latvia. The occurrence could change with increased amount of samples, seasonal and other

conditions. The purpose of this study was to present first data on the occurrence of *Campylobacter* spp. in pigs in Latvia.

As *C.coli* was often found in animals (from conventional pig farms) and due to a zoonotic nature of this pathogen, results should be undertaken into consideration when Good Agricultural Practices (GAP) or Good Manufacturing Practices (GMP) are implemented. The removal of gastrointestinal tract and other slaughtering procedures may facilitate possibility to contaminate carcasses with *Campylobacter* spp.,

## CONCLUSIONS

1. This is the preliminary report on the occurrence of *Campylobacter* spp. in pigs in Latvia, thus active discussion between State authorities and agricultural specialists are essential for developing of preventive measures on farm level.
2. Our findings showed the significance of the problem for agricultural practice, so this study should be continued to get more comprehensive information on distribution of *Campylobacter* spp. in pig population.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Latvian Ministry of Agriculture, fund nr. 200607/S201. We would like to thank Modris Trompets and Kaspars Kovaļenko for their technical assistance.

## REFERENCES

1. Anonymous. Microbiology of food and animal feedings stuffs- Horizontal Method for the detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part1: Detection method (ISO 10272: 2006). – International Organization of Standartization. 2003. 1-15.
2. European Safe Food Authority (EFSA). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and food borne outbreaks in the european union. *Campylobacter*. – The EFSA Journal. 2007. 94: 83-102
3. Humphrey T., O’Brein S., Madsen M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective. - International Journal of Food Microbiology. 2007. 117: 237-257
4. Leblanc Maridor M., Denis M., Lalande F., Beaurepaire B., Cariolet R., Fravallo P., Federighi M., Seegers H., Belloc C. 2008. Experimental infection of specific pathogen-free pigs with *Campylobacter*: excretion in faeces and transmission to non-inoculated pigs. *Veterinary Microbiology* 2008 Jun 6; : 18539408 (P,S,E,B,D)
5. Malakauskas M., Jorgensen K., Nielsen E.M., Ojeniji B., Olsen J.E. Isolation of *Campylobacter* spp. from a pig slaughterhouse and analysis of cross-contamination.- International Journal of Food Microbiology. 2006. 108: 295-300
6. Nesbakken T., Eckner K., Høidal H.K., Røtterud O.J. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering and dressing procedures. - International Journal of Food Microbiology. 2003. 80: 231- 240
7. Pezzotti G., Serafin A., Luzzi I., Mioni R., Milan M., Perin R. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in Northeast Italy. - International Journal of Food Microbiology. 2003. 82: 281-287
8. Siemer B.L., Nielsen E.M., On S.L.W. Identification and molecular epidemiology of *Campylobacter coli* isolates from human gastroenteritis, food, and animal sources by amplified fragment length polymorphism analysis and Penner serotyping. - Applied and Environmental Microbiology. 2003. 71: 1953-1958
9. Skirrow M.B. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Bacteria. - Journal of Comparative Pathology. 1994. 111: 113-149
10. Tam C.C., O’Brien S.J., Adak G.K., Meakins S.M., Frost J.A. *Campylobacter coli*-an important foodborne pathogen. - Journal of Infection. 2003. 47: 28-32

# ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* ISOLATED FROM PORK AND POULTRY

Marius Virgailis, Modestas Ruzauskas, Rita Siugzdiniene, Dainius Zienius

Veterinary institute of Lithuanian Veterinary Academy,

Instituto 2, 56115 Kaisiadorys, Lithuania. [mikrobio@lvavi.lt](mailto:mikrobio@lvavi.lt)

## ABSTRACT

Antimicrobial susceptibility of *Salmonella enteritidis* was tested. *Salmonella* isolates were obtained from pork and poultry meat. Susceptibility was tested by agar diffusion method according to NCCLS guidelines. Isolates from pork showed the highest resistance to tetracycline 48.9 %, less to chloramphenicol 18.4 % and florfenicol 14.3 %. Isolates from poultry showed the highest resistance to ampicillin 12.7 %, less to tetracycline 10.2 % and sulphamethoxazole/trimethoprim 10.2 %. Isolates from pork showed a high resistance to tetracycline was still frequent, while *Salmonella* susceptibility pattern from poultry was changed.

## INTRODUCTION

*Salmonella* has been consistently associated with foodborne illnesses and an economic burden in most countries of the world. More than seventy thousand notified cases of salmonellosis occur each year in Germany, and most of them are attributed to food-borne transmission. The main sources are foods of animal origin, such as poultry, eggs, milk, beef and pork. In addition, fruit and vegetables have been implicated as vehicles in *Salmonella* transmission. Contamination can occur at multiple steps along the food chain [7, 1]. Increased application of antibiotics in both veterinary and human medicine is believed to be largely responsible for the emergence of drug resistant bacteria. The emergence and spread of antimicrobial resistant pathogens, among them *Salmonella*, has become a serious health hazard worldwide. The routine practice of giving antimicrobial agents to domestic livestock as means of preventing and treating diseases, as well as promoting growth, is an important factor in the emergence of antibiotic resistant bacteria that are subsequently transferred to humans by the food chain [10]. Diarrhea is an important problem to unhealthy sanitary conditions. Furthermore, the development of antibiotic resistance in enteropathogens, including *Salmonella* spp., has increased the problem. Resistance to some  $\beta$ -lactam antibiotics, tetracycline, chloramphenicol, or trimethoprim is reported with increasing frequency [6]. Being easily spread among the population, they can cause an epidemic outbreak, especially if sanitary conditions are not optimum [5]. Another health concern is the discovery that antibiotic resistance can be transferred through R-factor plasmid vectors, from commensal to pathogenic bacteria.

The aim of this study was to determine the incidence of antimicrobial resistance in *Salmonella* strains from pork and poultry.

## MATERIALS AND METHODS.

Isolates from food (carcasses and products) were collected and identified by LVA Veterinary institute and National veterinary laboratory during 12 month project (2006-2007). *Salmonella* strains identification was performed using EnteroPluri Tests (Liofilchem, Italy) and API20E strips (bioMerieux, France). Serotyping was performed according to the Kaufman-White scheme with antisera from Sanofi (France). Only epidemiologically unrelated strains were selected. Susceptibility was tested in LVA Veterinary institute. The agar diffusion method according to NCCLS guidelines [8] was applied for antimicrobial susceptibility testing of *Salmonella* isolates. Mueller Hinton Agar II (BBL, LAB39) was used

in order to perform this test. Discs were supplied by Oxoid (Besingstoke, UK). Results were scored susceptible, intermediate or resistant according to NCCLS criteria [8]. *Escherichia coli* (ATCC 25922) was used as a reference strain. The respective quantities ( $\mu\text{g}$ ) of active compounds were: ampicillin (AMP), 10; ceftiofur (EFT), 30; cephalotin (KF), 30; ciprofloxacin (CIP), 5; chloramphenicol (C), 30; florfenicol (FFC), 10; gentamicin (CN), 10; nalidixic acid (NA), 30; norfloxacin (NOR), 10; sulphamethoxazole/trimethoprim (SXT), 23,7/1,25; neomycin (N), 10; tetracycline (TE), 30.

## RESULTS AND DISCUSSION

Even though pork accounts for 50 % of the total meat consumption in Lithuania, reports of outbreaks of salmonellosis in humans linked to pork consumption are rare. Information on the potential role of commercial swine production in dissemination drug resistant strains in Lithuania is very limited.

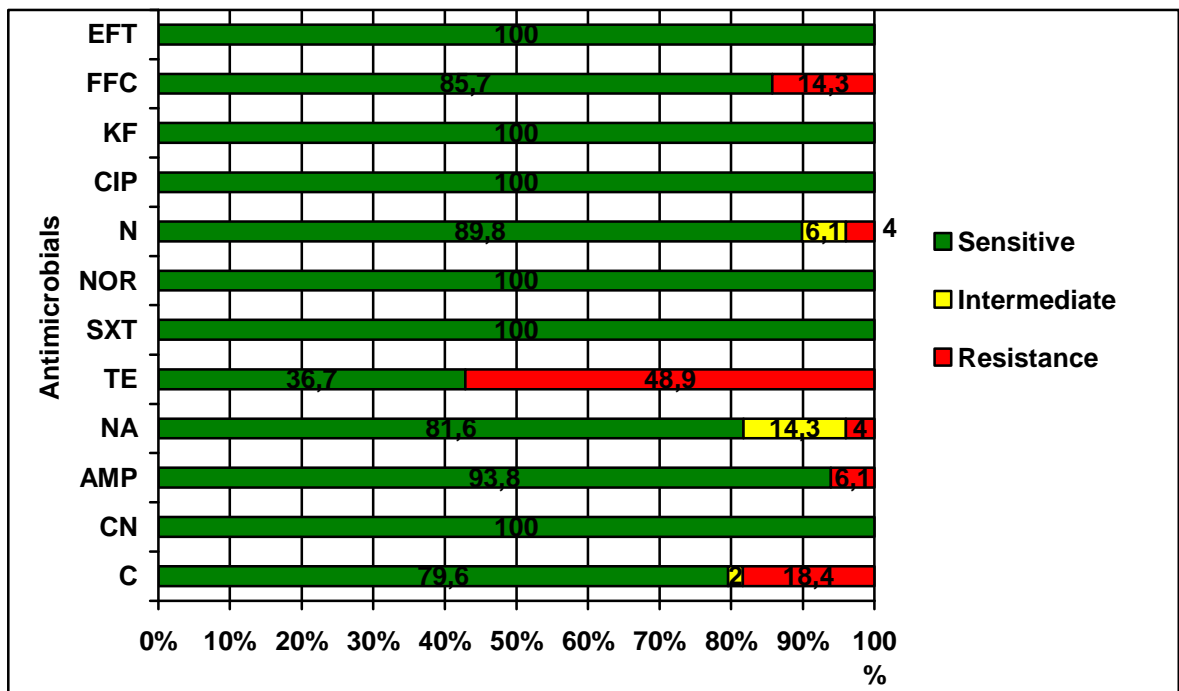


Figure 1. Susceptibility of *Salmonella* strains isolated from pork, (n=49).

As shown in figure 1, isolated *Salmonella* was most resistant to tetracycline (48.9 %), chloramphenicol (18.4 %), and florfenicol (14.3 %). *Salmonella* strains resistant to fluoroquinolones were not detected. Tetracycline has been widely used for the treatment purpose for many years in Lithuanian pig farms. High resistance to tetracycline was detected in previous studies during 1998-2003. Resistance to tetracycline was 55 %. Only *Choleraesuis* serotype was tested, but 92 % of isolated *Salmonella* from pigs depended on serovar *S. Choleraesuis* [9]. *Salmonella* resistance to tetracycline is high in other European Union countries: 36 % in Denmark, 38,3 % in Belgium, 84 % in Great Britain, and 83.3 % in Spain [4, 3, 2].

In spite of chloramphenicol prohibition for about 10 years, resistance to this antimicrobial agent still occurs. Some farming units are quite old, so some kind of persistence of resistant bacteria strains is possible. The frequency of resistance to individual antibiotics among isolates from poultry was different to that among pork isolates (Figure 2). The rates of resistance to sulphamethoxazole/trimethoprim, tetracycline, ampicilline and chloramphenicol were 10.9 %, 10.9 %, 12.7 % and 7.2 % respectively. None of the isolates was resistant to florfenicol, cephalotin, ciprofloxacin, norfloxacin and gentamicin. Resistance to nalidixic acid

was low. Susceptibility trends of *Salmonella* isolates from poultry are changed. In 1998-2003 *Salmonella* were resistant to tetracycline 20%, nalidixic acid 16 % and streptomycin 12 %. [8].

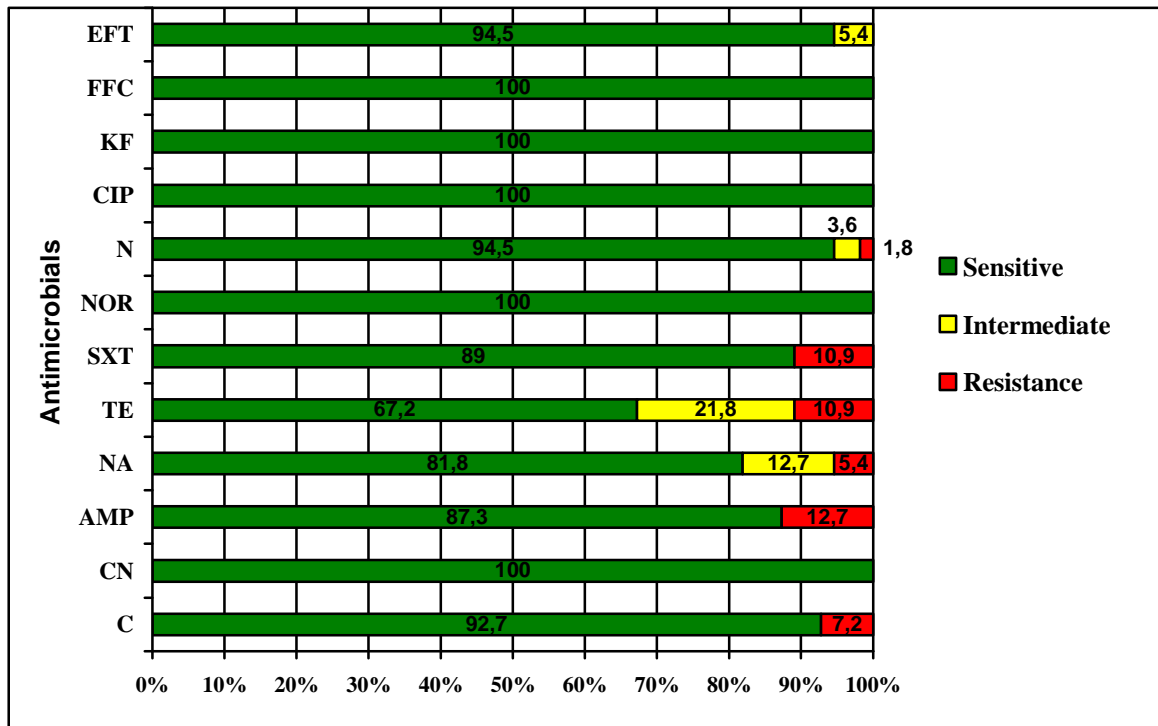


Figure 2. Susceptibility of *Salmonella* strains isolated from poultry, (n=55).

*Salmonella* resistance tendency is also similar to other EU countries. In Denmark 31 % of *Salmonella* poultry isolates are resistant to tetracycline, 39 % to ampicillin. In Belgium 17.5 % resistant to tetracycline, 25.2 % to ampicillin, 18.8 % to nalidixic acid. In Spain 33.9 % *Salmonella* isolates showed resistance to tetracycline, 34.8 % to ampicillin, 44.6 % to chloramphenicol. High resistance to ampicillin and tetracycline could be influenced by intensive usage of these antimicrobials. They have a wide spectrum of action, with a low side effect. But oral administration leaves possibility that concentration of antimicrobial could be at low level, and this is one of most important factors for resistance development.

## CONCLUSIONS

1. *Salmonella* isolates from pork showed the highest resistance to tetracycline 48.9 %, less to chloramphenicol 18.4 % and florfenicol 14.3 %. High resistance to tetracycline is possible due to a long time use of it and resistant bacteria persistent on farms.
2. *Salmonella* isolates from poultry was most resistant to ampicillin 12.7 %, less to tetracycline 10.2 % and sulphamethoxazole/trimethoprim 10.2 %.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Lithuanian State Science and Study Foundation supported this work (programme “Lietantibaktas”).

## REFERENCES

1. Angelika Miko, Karin Pries et al., Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005. 56, 1025-1033.
2. Anon.: VAR (Veterinary and Agrochemical Research Centre). *Salmonella* serotypes analysed at the VAR in 2001. 2002. Brussels, Belgium.
3. Anon.: DANMAP.. Consumption of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria from Food Animals, Foods and Humans in Denmark. Danish Veterinary Laboratory, Copenhagen, Denmark. 2000-2004.
4. Agustin A. I., Carraminana J. J., Rota C., Herrera A. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. From pigs at slaughter in Spain in 1993-2001. *Lett. Appl. Microbiol.* 2005. 41:39-44.
5. Joaquim R, Liliana C, et al. Mechanisms of resistance to ampicillin, chloramphenicol and quinolones in multiresistant *Salmonella* Typhimurium strains isolated from fish. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1999. 43, 699-702.
6. Gallardo F, Ruiz J, et al., Increase in incidence of resistance to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim in clinical isolates of *Salmonella* serotype Typhimurium with investigation of molecular epidemiology and mechanisms of resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 1999. 48, 367-374.
7. Gomez TM, Motarjemi Y, Miyagava S et al., Foodborne salmonellosis. *World Health Stat Q.* 1997. 50, 81-89.
8. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Villanova, USA. 2002.
9. Modestas Ruzauskas, Marius Virgailis, Vytautas Spakauskas. Serological diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from different sources in Lithuania. *Veterinarski Arhiv* 2005. 75 (3), 211-221,
10. Threlfall EJ., Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food and water borne infections. *FEMS Microbiol Rev.*, 2002. 26, 141-148.

## HEPATOCTE GROWTH FACTOR IN MINK LIVER IN CASES OF MYCOSES

**Anda Valdovska, Aleksandrs Jemeljanovs\*, Māra Pilmane\*\***

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia, [Anda.Valdovska@llu.lv](mailto:Anda.Valdovska@llu.lv)

\*Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigrā”, LUA, Latvia

\*\*Institute of Anatomy and Antropology, Faculty of Medicine, Riga Stradins University, Latvia

### ABSTRACT

In the present work we have studied the prevalence of fungal flora in the liver of 18 dark brown minks. We isolated 12 genus of moulds. Members of the genus *Candida*, *Aspergillus* and *Penicillium* were the most frequently isolated strains.

When mink are infected with fungi, the cell recruitment is impaired at the site of the infection, the tissue reaction is highly disorganized in target organs and the infection's evolution is more severe. We studied HGF expression by immunohistochemistry.

Our results demonstrated that the distribution of hyphae were between hepatocytes in all areas of liver acinus, but fungal blastospores - mainly in interlobular bile ducts. Allocation of HGF in hepatocytes was observed uniform or non uniform, frequently around bile-ducts and portal tracts.

In conclusion, detection of HGF simultaneously to inflammation liver might be connected to the tissue ischemia and damage realized by the same inflammatory cells.

**KEY WORDS** mink, liver, mycoses, hepatocyte growth factor (HGF)

### INTRODUCTION

At present animal diseases such as mycoses caused by fungi are considered one of the most essential urgent issues of veterinary medicine in the world (Кызнецов, 2001). All substances absorbed *via* guts, including microscopic fungi, get into the organism through *v. porta*, with support the other veins that collect blood from the digestive tract, spleen, urinary bladder and pancreas (Klatskin and Conn, 1993; Junqueira *et al.*, 1998). The liver constitutes the first barrier in the control of hematogenous dissemination for microscopic fungi of intestinal origin.

Frequently the macroorganism is not able fully to eliminate the pathogenic agent. Macrophages and lymphocytes mainly realize immune reactions. Microscopic fungi can intracellularly persist in these cells and generate chronic inflammation (Kellers, 1991; McGee *et al.*, 1992; Jubb *et al.*, 1993; Klatskin and Conn, 1993). When mink are infected with fungi, the cell recruitment is impaired at the site of the infection and microscopic fungi can disseminate *via* blood vessels in the body.

The liver is able to regenerate after damage. Cytokine hepatocyte growth factor (HGF) that is a potent mitogen of hepatocytes, performs multiple activities after liver injury (Watanabe *et al.*, 2003; Hironobu *et al.*, 2006). HGF in normal tissue is present in the inactive single chain form, and it is converted into an active heterodimeric form exclusively in the injured tissues (Miyazawa *et al.*, 1996). HGF molecules are distributed to the liver, spleen, kidney and adrenal glands (Zioncheck, 1994). Sinusoidal endothelial cells and Kupffers cells contain HGF in normal liver (Maher, 1993), but during liver regeneration HGF is mainly produced by Ito cells (Hironobu *et al.*, 2006), as well as fibroblasts, epithelial and endothelial cells, hepatocytes and Kupffers cells (Maher, 1993). As a result HGF participates in angiogenesis, morfogenesis and decreases cell apoptosis (Funakoshi and Nakamura, 2003).

The present study addresses the issue of a possible correlation between dissemination of mycosis and expression of growth factor in mink liver.

## MATERIALS AND METHODS

**Animals and tissue preparation.** To detect the fungal effect on the mink body, 18 dark brown mink at an age of seven months without clinical signs of any disease were selected randomly. The mink were brought from a fur farm of Riga district. These mink were anaesthetized with 1 ml 1 % solution of ditilini (Jepsen et al., 1981). Each liver sample was collected in a sterile bag for mycological examination and fixed in 12 % formalin too, embedded in paraffin and used for periodic acid – Schiff (PAS) staining and immunohistochemistry.

**Mycological examination.** Sabouraud's agar was used as a primary isolation medium for the fungal cultures from the mink liver specimens (Willard et al., 1994). A small surface of the changed tissue was burned on a flame, and small pieces of tissue from the middle were cut out with sterile scissors. The tissue cuts were used for a stripe-like inoculation onto media (Спесивцева, 1964) or they were placed on the agar surface (4-5 small tissue pieces in size of 0,5 cm X 0,5 cm (Quinn et al., 1994). All mycological inoculates on Petri plates were incubated in a thermostat for 4 weeks at a temperature of +26 °C (Quinn et al., 1994; Кузнецов, 2001). The microscopic identification of the isolated fungi was carried out according to conventional methods (Саркисов и др., 1953; Kwon-Chung and Bennett, 1992; Bridson, 1993; Larone, 1995; Саттон и др., 2001).

**PAS method** is a punctual method for detection of microscopic fungi in tissues. PAS staining painted microscopic fungi as pinkish red elements (Quinn et al., 1994). Multiple 6 µm-thick sections of the paraffin-embedded mink livers were deparaffinized, rehydrated, processed with 0, 5 % K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution, washed in distillate water and seated in Schiff reagent. Hematoxylin was used for the counterstain. After tissue dehydration, processing with polystirol was carried out.

**Immunohistochemistry.** Multiple 6 µm-thick sections of the paraffin-embedded mink livers were examined for immunohistochemistry. The primary antibodies utilized in immunohistochemistry were rabbit polyclonal antibodies specific for HGF (dilution 1:300; code AF294NA, R&D System, Germany). Prior to immunostaining, sections were deparaffinized and rehydrated. Sections were processed in microwave for 20 min in 4 % citrate buffer (pH 10), quenched for 10 min with 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for blocking endogenous peroxidase activity, rinsed in phosphate-buffered saline (pH 7,4), pretreated with a nonimmune goat serum for 10 min for blocking of nonspecific antibody binding and then incubated for 2 h with the primary antibodies. Immunoreaction was visualized by the other antibodies – avidin-biotin (LSAB) immunoperoxidase method using an LSAB kit (code K1015, DakoCytomation, Denmark) and DAB (diaminobenzidine) solution (code K3468, Dako, Denmark) was used as chromogen, and hematoxylin was used as the counterstain.

**Statistical analysis.** For quantitative analysis we used a counting of inflammation cells in three fields of vision. Semi-quantitative analysis was used to estimate proportions of immunopositive cells in liver (Pilmane et al., 1998).

## RESULTS AND DISCUSSION

Proverbial, that portal vena (*v.porta*) with support of *v.mesenterica superior*, *v.mesenterica inferior*, *v.lienalis*, *v.cystica*, *v.gastrica sinistra*, *v.gastrica dextra* un *v.pregastrica* collects blood from the digestive tract, spleen, bile-cyst and pancreas (Jubb et al., 1993). Thereby there is a possibility of penetration in liver of perorally received microscopic fungi.

**Microscopic fungi in the liver.** Micological examination showed a broad contamination with microscopic fungi in mink liver. The occurrence of fungi genus was: *Candida* 32 %, *Aspergillus* 16 %, *Penicillium* 12 %, *Wangiella* 7 %, *Arthrographis*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Scedosporium* – each per 6 %, but *Sporothrix* 4 %, *Cladosporium* 3 % and *Emmonsia* 2 %. It proves the great durability of this species. Most of the established



microscopic fungi are described in literature as widely spread environmental contaminants (Hubalek *et al.*, 1998; Ponton *et al.*, 2000; Кузнецов, 2001).

Most frequently *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* were detected. Sutton *et al.* (Саттон *и др.*, 2001) also confirms that they are mostly disseminated infection agents.

Contamination of animal liver with *Aspergillus spp.* after alimentary infection is also confirmed by other researchers (Carter and Chengappa, 1993; Quinn *et al.*, 1994; Myrvik and Weiser, 1988; Carter and Wise, 2004). However, printed sources do not contain information regarding *Aspergillus* distribution in mink viscera. Although pathogenic properties of *Aspergillus* genus are less clear (Müllbacher and Eichner, 1984), nevertheless we suggest, that ability of *Aspergillus* to cause proteases promotes its distribution in mink liver, because protease could either assist tissue penetration by the fungus or degrade some critical host defense factor (Kwon-Chung and Bennett, 1992).

Candidosis has no geographic limitation (Edwards, 1991) and *Candida* is a normal commensal of the gastrointestinal tract of various warm-blooded animals (Kwon-Chung and Bennett, 1992; Кузнецов, 2001). Our finding of *Candida spp.* in the liver supports data of other researchers, who report generalization of mycosis (Macswen *et al.*, 1979; Quinn *et al.*, 1994). Substantially, the data suggest that the main place of invasion of deep candidosis is oesophagus and stomach (Eras *et al.*, 1972). Possibly, oesophagus and stomach, constitute the entrance for infection with minks.

Our finding of *Arthrographis kalrae* in experimental mink liver confirms Kwon-Chung and Bennett (1992) studies, who report pathogenicity of aforementioned microscopic fungi concerning mice. Possibly, dimorfisms (growth ability at 37 °C to 45 °C) of *Arthrographis kalrae* explain our results (Саттон *и др.*, 2001).

In spite of the limited data regarding *Aureobasidium pullulans* pathogenicity, Pritchard and Muir (1987) report about *Aureobasidium pullulans* generated mycotic dermatitis. Sutton *et al.* (Саттон *и др.*, 2001) inform about invasive mycosis among humans with impaired immunity. The aforementioned reports suggest the possibility to isolate *Aureobasidium pullulans* from mink's liver. Similarly *Chaetomium spp.* show ability to induce skin mycosis, allergic reactions and systemic mycosis (Саттон *и др.*, 2001). Our findings confirm the data of the above mentioned reports regarding *Chaetomium spp.* as a possible causative agent of systemic mycosis.

Microscopic fungi *Sporothrix cyanescens*, is one representative of *Sporotrichum*, which is widespread in the environment. Our finding of *Sporothrix cyanescens* is confirmed by other scientists, who isolated this yeastlike microscopic fungi from animal viscera (Кузнецов, 2001). Although animal mycosis sporotrihosis mainly is induced by *Sporothrix schenckii* (Фейер *и др.*, 1966; Кузнецов, 2001). At the same time other author (Спесивцева, 1964) reported others species for *Sporotrichum*, which are able to penetrate into the organism *via* skin and mucous membrane wounds.

*Wangiella* microscopic fungi mainly induce subcutaneous mycosis of cats, dogs, horses, goats and other animals (Quinn *et al.*, 1994). Our finding of *Wangiella spp.* are confirmed by other authors, who indicate the ability of aforementioned microscopic fungi to generate systemic mycosis (Quinn *et al.*, 1994).

Dimorphism of *Emmonsia* is a possible reason for our findings of this microscopic fungi in mink liver (Hubalek *et al.*, 1998). Larone (1995) testified the ability of *Emmonsia spp.* to generate pulmonic inflammatory process in rodents. The listed data support Hubalek (1998), whose studies show distribution of *Emmonsia* thanks to small rodents, who are carriers of a pathogenic agent. Possibly, *Emmonsia spp.* penetrate into mink organism from the contaminated cage bedding.

Stanley *et al.* (1992) research data approved isolating of *Scedosporium prolificans* from viscera. Authors pointed out the reason for aforementioned pathogenity that it is growth ability until a temperature of 45 °C (Саттон *и др.*, 2001).

Among all types of microscopic fungi found in mink liver there were 42 % of *Dematiaceous* group fungi (*Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Scedosporium spp.*, *Wangiella spp.*) (Kwon-Chung and Bennett, 1992). The common feature of these fungi is the presence of melanin in the cell wall. Other researchers (Zhdanova and Vasilevskaya, 1990) have proved that the presence of melanin pigment affects essentially the endurance of these cells against the influence of environmental moisture, temperature and radiation of the sun as well as providing vitality in the surroundings with an insufficient amount of nutrients. In addition, when in a body, the dark pigmented microscopic fungi containing melanin have an increased endurance against the body immunity protective factors.

With specific staining method in the formalin-embedded mink livers we detected PAS - positive yeast-like fungi. Our findings in mink liver show distribution of hyphae between hepatocytes in all area of liver acinus, but fungal blastospores mainly in interlobular bile ducts and in small numbers between hepatocytes in periportal area closely to triadas and around central veins. We explain findings of microscopic fungi in perivenular area with an individuality of venous blood circulation in liver, because portal vein is divided in venous capillary, which flow together, establish liver veins (Junqueira *et al.*, 1998).

Thereby pathologic agents from the stomach and gut can get into the perivenular area. Contamination with microscopic fungi of periportal area we explain with research data, who reported, that the necessity of oxygen for Y (yeastlike) forms is 5 – 6 time higher than M (micelial) forms of microscopic fungi. Our findings of yeastlike forms in bile ducts is confirmed by other scientists (Jubb *et al.*, 1993), who report that mycotic pathogenic agents often contaminate bile ducts, while pathogenic agents can not be detected in blood circulation and in viscera.

Despite the large amount of mycologically detected microscopic fungi in mink liver, our research shows a small quantity of fungal blastospores and hyphae. Possibly, our results suggest, that any staining of histological preparation does not provide uniform staining of all microscopic fungi in tissues. Relatively new cells of microscopic fungi, which contain a large amount of chromatin, are better stained with alkali contained stains, but older forms, which contain a small amount of chromatin, are better stained with acid containing stains (Фейер *и др.*, 1966).

**Hepatocyte growth factor (HGF)** in normal hepatocytes persist in a non active form (Miyazawa *et al.*, 1996; Ishikawa *et al.*, 2001). In case of liver damage or irritation, HGF is transformed in to active form and hepatocytes become immunohistochemically able to respond with anti-HGF antibody (Ljubimova *et al.*, 1997). Our research results show HGF expression in mink livers. We mainly observe allocation of HGF in hepatocytes, uniform or non uniform, frequently around bile ducts and portal tracts. Our results of HGF expression in cytoplasm of hepatocytes is supported by Thomson and Lotze (2003). Recognized dispersion of HGF in our research, mainly around bile ducts and portal tracts, fall within areas, where we mainly establish inflammation and the presence of yeastlike microscopic fungi, because HGF stimulates not only the proliferation of liver parenchyma, but also the proliferation of biliar epithelial cells (Joplin *et al.*, 1992). HGF in liver can also be produced by non parenchymal cells, for example, hepatic stellate cells, Kupffer cells, sinusoidal endothelial cells (Maher, 1993). Thereby HGF operates as a factor, which promotes liver regeneration during damage (Ljubimova *et al.*, 1997; Ishikawa *et al.*, 2001; Watanabe *et al.*, 2003; Hironobu *et al.*, 2006). Between non parenchymal cells HGF expression we suggest in endotheliocytes of veins, which, possibly approves compensatory activity of HGF during inflammation.

In summary, simultaneously to other authors, we conclude, that the greatest part of isolated microscopic fungi is widely distributed in the environment (Hubalek *et al.*, 1998; 2000; Кузнецов, 2001) and might be incorporated into the animal body *via* damaged digestive tract. The last possibility is described also by Фейер *u др.* (1966), Кузнецов (2001) and Xi *et al.* (2004). In our animals the damaged digestive tract might be a result of sharp bone particles in ready-to eat feed used for minks. Detection of HGF simultaneously to inflammation liver might be connected to the tissue ischemia and damage realized by the same inflammatory cells.

## REFERENCES

1. Bridson E. (1993) *The oxoid vade-mecum of microbiology*, Pub. by Unipath Ltd, Basingstoke, p.85 – 128
2. Carter G. R., Chengappa M. M. (1993) *Microbial diseases. A veterinarian's guide to laboratory diagnosis*, Iowa State Press, Ames, 293 p.
3. Edwards J.E., 1991 Invasive *Candida* infections. *N. Engl. J. Med.* 324: 1060 – 1062
4. Eras P., Goldstein M.J., Sherlock P. (1972) *Candida* infection of the gastrointestinal tract. *Medicine*, 51: p.367 – 379
5. Funakoshi H., Nakamura T. (2003) Hepatocyte growth factor: from diagnosis to clinical applications. *Clinica Chimica Acta*, 327: p.1 – 23
6. Hironobu M., Hiroaki S., Hiroshi I., Fumio K., Satoshi A., Akira T., Masayuki O., Hiroyuki Y., Atsushi K., Hideyuki Y., Shigeaki S., Masaru M. (2006) Changes in growth factor and cytokine expression in biliary obstructed rat liver and their relationship with delayed liver regeneration after partial hepatectomy. *World Journal of Gastroenterology*. 12 (13), p.2053-2059
7. Hubalek Z., Nesvadbova J., Halouzka J. (1998) Emmonsiosis of rodents in an agroecosystem. *Journal Medical mycology*. 36, p.387-390
8. Ishikawa K., Masui T., Ishikawa K., Shiojiri N. (2001) Immunolocalization of hepatocyte growth factor and its receptor (c-Met) during mouse liver development. *Histochem cell biol*, 116: p.453 – 462
9. Jepsen O.R., Poulsen F.S., Jorgensen G. (1981) Collection of blood, sedation and anaesthesia in mink. *Nordisk veterinaermedicin*, Suppl.1, p.9-13.
10. Joplin R., Hishida T., Tsubouchi H. (1992) Human intrahepatic biliary epithelial cells proliferate in vitro in response to human hepatocyte growth factor. *The Journal Clinical of Investigation*. 90, p.1284-1289
11. Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (1993) *Pathology of Domestic animals*, 4th ed., vol.2., Academic Press, London, p. 255 – 359
12. Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. (1998) *Basic histology*. 9th ed., Prentice-Hall, p. 75 – 317.
13. Kellers R. (1991) *Ievads imunoloģijā un imūnpatoloģijā* (Introduction in imunology and imunopathology). Zvaigzne, Rīga, 28. – 261. lpp. (In Latvian)
14. Klatskin G., Conn H.O. (1993) *Histopathology of the liver*, Vol. 1, Oxford University Press, USA, p. 9 – 327.
15. Kwon-Chung K. J., Bennett J. E. (1992) *Medical mycology*. Lea & Febiger, Philadelphia, 826 p.
16. Larone D. H. (1995) *Medically important fungi. A guide to identification*. Third ed., ASM Press, Vashington, 261 p.
17. Ljubimova J.Y., Petrovic L.M., Arkadopoulos N., Blanc P., Geller S.A., Demetriou A.A. (1997) Lack of hepatocyte growth factor receptor (c-met) gene expression in fulminant hepatic failure livers before transplantation. *Digestive Diseases and Sciences*, Vol.42, 8: p.1675 – 1680

18. Macsween R.N.M., Anthony P.P., Scheuer P.J. (1979) *Pathology of the liver*. Churchill Livingstone, New York, p. 23 - 205
19. Maher J.J. (1993) Cell specific Expression of Hepatocyte growth factor in liver. *Journal Clinical Investigation*. Vol. 91, p.2244 – 2252
20. McGee J.O'D., Isaacson P.G., Wright N.A. (1992) Oxford textbook of pathology. Vol. 1 *Principles of pathology*. Oxford University Press, USA, p.321-491.
21. Miyazawa K., Shimomura T., Kitamura N. (1996) Activation of hepatocyte growth factor in the injured tissues is mediated by hepatocyte growth factor activator. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.271, 7: p.3615 – 3618.
22. Müllbacher A., Eichner R.D. 1984 Immunosuppression *in vitro* by a metabolite of a humans pathogenic fungus. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 81: p.3835 – 3837.
23. Myrvik Q.N., Weiser R.S. (1988) *Fundamentals of medical bacteriology and mycology*. 2 ed., Lea & Febiger, Philadelphia, p.501 - 555
24. Pilmane M., Rumba I., Sundler F., Luts A. (1998) Patterns of occurrence and distribution of neuroendocrine elements in lungs of humans with chronic lung diseases. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Vol.52, number 3/4 (596/597), p.144 – 152.
25. Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K., Carter G.R. (1994) *Clinical veterinary microbiology*, Wolfe Pub., London, p.368 – 375
26. Stanley M.W., Deike M., Knoedler J., Iber C. (1992) Pulmonary mycetomas in immunocompetent patients: diagnosis by fine – needle aspiration. *Diagn. Cytopathol.* 8, p.577-579
27. Thomson A.W., Lotze M.T. (2003) *The cytokine handbook*. 4th ed., Vol. II, Academic Press, London, p. 792 – 1152
28. Zioncheck T.F., Richardson L., De Guzman G.G., Modi N.B., Hansen S.E., Godowski P.J. (1994) The pharmacokinetics, tissue localization and metabolic processing of recombinant human hepatocyte growth factor after intravenous administration in rats. *Endocrinology*. 134, p.1879-1887
29. Zhdanova N.N., Vasilevskaya A.I. (1990) Taxonomic significance of certain chemotaxonomic characters in soil melanin-containing micromycetes. *Тезисы докладов I Всесоюзного совещания*, Киев, 16-18 мая 1990 г., 25-26.
30. Watanabe H., Sumi S., Kitamura Y., Nio Y., Higami T. (2003) Immunohistochemical Analysis of Vascular Endothelial Growth Factor and Hepatocyte Growth Factor, and Their Receptors, in Transplanted Islets in Rats. *Journal Surgery Today*, 33, p.854 -860
31. Willard M.D., Tvedten H., Turnwald G.H. (1994) *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 2nd ed., W.B.Saunders comp., Philadelphia, p. 56-57.
32. Фейер Э., Олах Д., Сатмари Ш., Содорай Л., Ури Й. (1966) *Медицинская микология* (Medical mycology). Akademiai Kiado, Budapest, pp.23-308 (In Russian)
33. Кузнецов А. Ф. (2001) *Ветеринарная микология* (Veterinary mycology). Лань, Санкт-Петербург, 410 p. (In Russian)
34. Саркисов А. Х., Капустин В. Ф., Квашнина Е. С., Королева В. П. (1953) *Атлас грибов патогенных для сельскохозяйственных животных и птиц* (Atlas of pathogenic fungi concerning agricultural animals and birds). Государственное издательство с-хозяйственной литературы, Москва, 158 с. (In Russian)
35. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. (2001) *Определитель патогенных и условно патогенных грибов* (Guid to clinically significant fungi). Мур, Москва, 454 с. (In Russian)
36. Спесивцева, Н. А. (1964) *Микозы и микотоксикозы* (Mycoses and mycotoxicoses). Колос, Москва, с. 3 – 473 (In Russian)

# INOVATĪVA SASTĀVA FUNKCIONĀLU OLU IEГУVE FUNCTIONAL EGG OF INNOVATIVE COMPOSITION

Īra Irēna Vītiņa, Sallija Ceriņa, Anna Daniela Vlad

LLU „Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra””

Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra” LUA

[sigra@lis.lv](mailto:sigra@lis.lv)

## ABSTRACT

Functional eggs of innovative composition were obtained in the conditions of trial. The obtained eggs were characterised by a high quality egg yolk. It contained high  $\omega$ -6 (linoleic acid 15.6-16.9% from total lipids) and  $\omega$ -3 (linolenic acid 3.1-3.6% from total lipids) fatty acids and antioxidants (total carotenoids 14.29-23.56 mg/kg, lycopene 1.09-1.69 mg/kg) amount, but a decreased (491.02-532.60 mg%) cholesterol level. To obtain such a composition of egg yolk, feed that contained flax seed and sunflower seed oil (source of fatty acids), and antioxidants containing complexes Sel-Plex and Karotinas V additives was fed out to cross Lohmann Brown layers.

**KEY WORDS:** functional egg, fatty acid, antioxidant

## IEVADS

Pēdējos gados palielinās funkcionālu olu ražošana, kas satur mērķtiecīga sastāva bioloģiski aktīvās vielas, kas pozitīvi ietekmē cilvēku organisma funkcijas un novērš riska faktoros, kuri izraisa dažādas slimības. Tradicionālās funkcionālās olas satur paaugstinātu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābju daudzumu. Šīs taukskābes ir deficītas uzturproduktos, nesintezējās cilvēku organismā, un ir jāuzņem ar pārtikas produktiem. Omega grupas taukskābes sekmē nelabvēlīgo zema un ļoti zema blīvuma holesterīna satura samazināšanos cilvēku asinīs. (Tikk, u.c. 2001).

Pēdējā laikā plaši sāk ražot funkcionāla sastāva olas tikai ar paaugstinātu selēna (Se) līmeni. (Narahari, 2003 Surai, 2002)

Funkcionālu olu ieguves pamatā ir putnu organisma spēja asimilēt barībā esošās taukskābes un citas bioloģiski aktīvas vielas un transformēt tās olu dzeltenumā. Šajā sakarībā putnu barības sastāvā tiek iekļauti barības līdzekļi ar vēlamām bioloģiski aktīvām vielām, piemēram, ar augstu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābju saturu.

$\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābes putnu barībā, olās, kā arī cilvēku organismā tiek pakļautas lielākā vai mazākā mērā oksidācijas procesiem. Taukskābju oksidācijas procesā rodas brīvie radikāļi. Brīviem radikāļiem piemīt spēja ātri un neatgriezeniski oksidēt dažādas struktūras, īpaši nepiesātinātās taukskābes, kas veido šūnu membrānu. Augu un dzīvnieku organismos ir sarežģīti aizsargmehānismi pret brīvajiem radikāļiem – antioksidatīvās aizsardzības sistēma. Liels daudzums nepiesātināto taukskābju uzturā veicina brīvo radikāļu rašanos. Tādēļ ar uzturu būtu jāuzņem arī vairāk antioksidantu. (Zariņš, Neimane, 1999.) Starp brīviem radikāļiem un antioksidantiem parasti veidojas fizioloģiskais līdzsvars. Stāvokli, kad organisma antioksidantu sistēma nespēj neitralizēt brīvos radikāļus sauc par oksidatīvo stresu. (Freese, et al 2000) Svarīgākais solis antioksidatīvas aizsardzības līdzsvara radīšanai cilvēku organismā varētu būt antioksidatīvo spēju veicināšana ar pārtikas antioksidantiem, piemēram, palielinot ar antioksidantiem bagātinātu uzturproduktu patēriņu. (Zariņš, Neimane, 1999.) Tas nozīmē, ka ražojot funkcionālās olas ar paaugstinātu taukskābju daudzumu, tās būtu vienlaicīgi nepieciešamas bagātināt ar antioksidantiem.

Antioksidantu sistēmu dzīvā organismā veido E vitamīns, karotinoīdi, selēns (Se), u.c.. (Surai, 2002)

Pēdējos gados ir radusies liela interese par karotinoīdu grupas antioksidantu - likopēnu. Likopēns reducē oksidatīvos lipīdu, proteīna un DNA šūnu bojājumus stresa ietekmē. (Rao A.V. 2006) Likopēns kavē hronisko slimību riska faktoros, kas veicina sirds un asinsvadu slimību, osteoporozes, diabēta un audzēju veidošanos, tas ir, reducē oksidatīvos bojājumus šūnu līmenī. (Rao, Agarwal 1998) Selēna (Se) antioksidatīvās īpašības ir plaši izpētītas. (Surai, 2002) Se palielina olu dzeltenuma rezistenci pret lipīdu, tajā skaitā taukskābju peroksidāciju. (Yaroshenko et al. 2003) Antioksidantu piedevas vistu barībai nostabilizē funkcionālu olu sastāvā esošās taukskābes un bagātina olas ar cilvēku organismam nepieciešamajiem antioksidantiem. (Van Dyck, Adams, 2003)

Mūsu pētījumu mērķis: iegūt un izvērtēt inovatīva sastāva funkcionālās olas ar paaugstinātu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābju un antioksidantu likopēna un selēna saturu, bet samazinātu holesterīna līmeni.

## MATERIĀLS UN METODIKA

Izmēģinājumu veica ar kross Lohmann Brown dējējvistām no 23 līdz 40 nedēļu vecumam (n=200) pēc 1 tabulā norādītās shēmas.

1. tabula/Table 1

### Izmēģinājuma shēma Scheme of the trial

Grupa Group	Ēdināšanas programma Feeding programme
1. kontroles 1 <sup>st</sup> control	PB – pamatbarība. Sastāvs atbilst normatīvu prasībām BF – Basic feed
2. izmēģinājuma grupa 2 <sup>nd</sup> trial	PB + antioksidanta Se piedeva 0.015 % BF + antioxidant additive Se 0.015%
3. izmēģinājuma grupa 3 <sup>rd</sup> trial	PB + antioksidanta karotinoīdu piedeva. 0.15 % BF + antioxidant additive carotenoids 0.15 %
4. izmēģinājuma grupa 4 <sup>th</sup> trial	PB + antioksidantu piedevas Se 0.015 % un karotinoīdi 0.15% BF + antioxidant additives Se - 0.015 % carotenoids 0.15 %

Visu grupu vistas turēja telpā uz grīdas vienādos apstākļos un tām izēdināja vienāda sastāva pamatbarību. Lai iegūtu funkcionāla sastāva olas, kas satur paaugstinātu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābes daudzumu, visu grupu vistu pamatbarībā iekļāva 1% linsēklu un 1% saulespuķu eļļu. Šīs eļļas saturēja augstu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 līmeni. No 2. līdz 4. izmēģinājuma grupai vistu pamatbarībai pievienoja antioksidantu – Se un karotinoīdus saturošus. 2. un 4. grupas vistām 1 kg barībā nodrošināja 0.5 mg Se tīrvielā (ņemts vērā barības sastāvā jau esošais Se daudzums). 3. un 4. grupas vistu barībā palielināja karotinoīdu summas daudzumu par 18 mg 1 kg barības. 4. grupas vistu barībai pievienoja abu antioksidantu kompleksu.

Izmēģinājuma periodā izvērtēja dējējvistu dējības intensitāti, olu masu, barības patēriņu. Antioksidantu un taukskābju saturu olās (ņemot vidējo paraugu no grupas) analizēja izmēģinājuma vidū un beigās. Olu bioķīmiskās analīzes veica LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskā institūtā „Sigra” akreditētajā bioķīmijas un mikrobioloģijas zinātniskā laboratorijā (LATAK reģ., Nr.LATAK-T-038-06-99-A) pēc standarta LVS EN ISO/IEC 17025-2005. Visas bioķīmiskās analīzes veica atbilstošiem akreditētiem ISO standartiem.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Inovatīva sastāva funkcionālo olu ieguves izmēģinājumā vistu produktivitāte bija augsta un atbilstoša krosa Lohmann Brown vistu standartam. Visu grupu vistu vidējā dējības intensitāte bija robežās no 86.57 – 96.50 %, vidējā olu masa 62.02 – 62.61 g, barības konversija 2.15 – 2.21 kg/kg.

**Vistu produktivitāte**  
**Productivity of laying hens**

Rādītāji Parameters	1. grupa - kontrole 1 <sup>st</sup> group - control	2. grupa 2 <sup>nd</sup> group	3. grupa 3 <sup>rd</sup> group	4. grupa 4 <sup>th</sup> group
Dējības intensitāte, % Laying intensity, %	93.56	86.57 *	96.50 *	95.55 *
± pret kontroli ± to control	-	- 6.99	+2.94	+1.99
Olu masa, g Egg weight, g	62.21± 0.24	62.61 ± 0.27	62.02. ± 0.20	62.03 ± 0.25
Barības konversija, kg/kg Feed conversion, kg/kg	2.20	2.21	2.15	2.19
% pret kontroli % to control	100.00	100.45	97.72	99.54

p<0.05 – 0.01 salīdzinājumā ar 1. grupu

Antioksidantu iekļaušana dējējvistām izēdinātā barībā ietekmēja tikai dējības intensitāti. Karotinoīdu daudzuma palielināšana barībā (3. un 4. grupa) sekmēja vistu dējības intensitāti par 2.94 % (3. grupai) un par 1.99 % (4. grupai) (p<0.05), bet selēna saturošas barības izēdināšana 2. grupas vistām samazināja dējības intensitāti vidēji par 6.99 % (p<0.01) salīdzinot ar kontroles grupu. Iespējams, ka šādam dējības samazināšanās līmenim ir gadījuma raksturs. Selēna saturs vistu barībā bija atbilstošs zemākajam autoru Surai un Dvorska (2001) norādītajam līmenim – (0.5 mg/kg barības) un šāda Se deva nevarēja būtiski ietekmēt vistu dējību.

Visu grupu vistām izēdinātā barībā saturēja praktiski līdzvērtīgu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 grupas taukskābes daudzumu (3. tab.).

Attiecīgi vistu olu dzeltenumā vidēji bija no 14.1 – 16.9 % linolskābes un no 2.9 – 3.6 % linolēnskābes līmenis no kopējo lipīdu daudzuma. No līdzvērtīgā taukskābju satura barībā vistu olu dzeltenumā transformējās būtiski atšķirīgs 38.7 – 48.0 % linolskābes un 20.7 – 26.6% linolēnskābes daudzums. (3. tab.)

Antioksidantu piedevu iekļaušana vistām izēdinātā barībā ietekmēja taukskābju pārneses līmeni no barības uz olām, tas ir, taukskābju daudzumu vistu olās.

Se piedevas iekļaušana 2. grupas vistu barībā palielināja linolskābes pārneses daudzumu no barības uz olām par 4.9 % un linolēnskābes pārneses līmeni – par 2.4 % salīdzinot ar kontroles grupu.

Karotinoīdu piedevas 3. grupas vistu barībai, salīdzinot ar Se piedevu, vēl vairāk palielināja linolskābes pārneses līmeni no barības uz olām – par 7.2 %, bet linolēnskābes pārneses līmeni no barības uz olām palielināja līdzvērtīgi Se piedevas efektam par 2.4%.

**Taukskābju (% no kopējo lipīdu daudzuma) saturs vistu barībā un olās**  
**Contents of fatty acids (% of total lipids) in hens feed and eggs yolk**

Rādītāji Parameters	1. grupa kontrolē 1 <sup>st</sup> group - control	2. grupa 2 <sup>nd</sup> group	3. grupa 3 <sup>rd</sup> group	4. grupa 4 <sup>th</sup> group
Linolskābe: Linoleic acid: - barībā - in feed	36.4 ± 0.11	35.8 ± 0.18	35.9 ± 0.20	35.2 ± 0.18
- olu dzeltenumā - in eggs yolk	14.1 ± 0.10	15.6 ± 0.09	16.5 ± 0.10	16.9 ± 0.08
- olu dzeltenumā % no barībā esošā daudzuma - % to amount in feed	38.7	43.6	45.9	48.0
± pret kontroli ± to control	-	+4.9	+7.2	+9.3
Linolēnskābe: Linolenic acid: - barībā - in feed	14.0 ± 0.80	13.8 ± 0.11	13.4 ± 0.14	13.5 ± 0.09
- olu dzeltenumā - in eggs yolk	2.9 ± 0.03	3.4 ± 0.05	3.1 ± 0.02	3.6 ± 0.04
- olu dzeltenumā % no barībā esošā daudzuma - % to amount in feed	20.7	23.1	23.1	26.6
± pret kontroli ± to control	-	+2.4	+2.4	+5.9

Antioksidantu piedevu kombinācija (Se + karotinoīdi) 4. grupas vistu barībai visefektīvāk sekmēja taukskābju pārnese daudzumu no barības uz olām, attiecīgi palielinot linolskābes par 9.3 % un linolēnskābes – par 5.9 % pārnese līmeni salīdzinot ar kontroles grupu.

Šie dati norāda, ka pielietojot antioksidantu selēna un karotinoīdu kombinācijas piedevu vistu barībai, iespējams būtiski paaugstināt olu dzeltenumā  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābju saturu. Iespējams, ka antioksidanti stabilizēja taukskābes gan vistu barībā gan vistu organismā no oksidatīvās noārdīšanās un tādā veidā nodrošināja lielāku taukskābju pārnese daudzumu olās. Tātad funkcionālo olu ieguvei, kas satur paaugstinātu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābju daudzumu vistu barībā, būtu ieteicams iekļaut dažādu antioksidantu kombinācijas.

Antioksidantu karotinoīdu kopējais daudzums vistu olu dzeltenumā vidēji bija 14.29 – 23.56 mg/kg, tajā skaitā karotinoīda likopēna saturs olu dzeltenumā vidēji bija 0.71 – 1.69 mg/kg. Likopēna daudzums vistu olās attiecīgi bija 4.26 – 7.62 % no olās esošā kopējā karotinoīdu daudzuma. (4.tab.)



**Karotinoīdu un holesterīna saturs vistu olu dzeltenumā**  
**Contents of carotenoids and cholesterol in hen eggs yolk**

Rādītāji Parameters	1. grupa - kontrolē 1 <sup>st</sup> group - control	2. grupa 2 <sup>nd</sup> group	3. grupa 3 <sup>rd</sup> group	4. grupa 4 <sup>th</sup> group
Kopējo karotinoīdu summa, mg/kg Total carotenoids amount, mg/kg	16.63 ± 0.09	14.29 ± 0.10	19.33 ± 0.08	23.56 ± 0.07
± pret kontroli mg/kg ± to control mg/kg	-	-2.34	+ 2.7	+6.93
Likopēns, mg/kg: Lycopene, mg/kg	0.71 ± 0.03	1.09 ± 0.04	1.16 ± 0.02	1.69 ± 0.03
± pret kontroli mg/kg ± to control mg/kg	-	+0.38	+0.45	+0.98
% no kopējo karotinoīdu daudzuma % to total carotenoid amount	4.26	7.62	6.00	7.17
Holesterīns, mg % Cholesterol, mg %	548.82±15.42	532.50±11.13	500.81±10.05	491.02±9.14
± pret kontroli mg/% ± to control mg/%	-	-16.32	-48.01	-57.80

Loģiski, ka karotinoīdus saturošā piedeva 3. grupas vistu barībai palielināja kopējo karotinoīdu, tajā skaitā arī likopēna daudzumu vistu olās, attiecīgi par 2.70 mg/kg un 0.48 mg/kg salīdzinot ar kontroles grupu. (4. tab.)

Selēnu saturošās antioksidanta piedevas ietekmē 2. grupas vistu olu dzeltenumā bija paaugstināts likopēna saturs par 0.38 mg/kg, lai gan šajās olās bija samazināts kopējo karotinoīdu daudzums par 2.34 % salīdzinot ar kontroles grupu.

Izēdinot 4. grupas vistām barību, kas bagātināta ar selēnu un karotinoīdus saturošu antioksidantu kompleksu, ieguva olas ar vislielāko kopējo karotinoīdu un likopēna daudzumu attiecīgi par 6.93 mg/kg un 0.98 mg/kg vairāk nekā kontroles grupai. Tātad, lai iegūtu funkcionālas olas ar iespējami lielāku karotinoīdu, tajā skaitā arī ar likopēna saturu, vistu barībai būtu jāpievieno vairāku antioksidantu komplekss. Antioksidantu komplekss efektīvāk par atsevišķiem komponentiem paaugstināja antioksidantu saturu olās.

Būtisks olu kvalitātes rādītājs ir holesterīna līmenis olās. Funkcionālām olām ir jāsaturs iespējami mazāk holesterīna.

Antioksidantu piedevas vistu barībai samazināja holesterīna līmeni sekojoši: Se – par 16.32 mg %, karotinoīdi – par 48.01 mg %, bet Se + karotinoīdu kompleksā piedeva visefektīvāk samazināja holesterīna līmeni olās - par 57.80 mg % salīdzinot ar kontroles grupu. Šādu holesterīna līmeņa samazināšanu olās nodrošināja taukskābju, karotinoīdu un holesterīna metabolisma savstarpējā saistība putnu organismā.

Varam pieņemt, ka antioksidantu kompleksi dējējvistu organismā stabilizēja ω-6 un ω-3 taukskābes. (Freese et. al., 2000) Tās savukārt metaboliskos procesos var reducēt holesterīnu un iespējams tādā veidā samazināja tā līmeni olu dzeltenumā.

## SECINĀJUMI

1. Inovatīva sastāva funkcionālās olas ieguva, izēdinot dējējvistām barību, kas saturēja paaugstinātu taukskābju (linsēklu un saulespuķu eļļa) līmeni un antioksidantu komplekso (karotinoīdi + selēns) piedevu.

2. Iegūtās inovatīva sastāva funkcionālās olas raksturojās ar augstvērtīgu olu dzeltenumu. Tā sastāvā:

- augsts  $\omega$ -6 (linolskābe - 15.6 - 16.9 % no kopējiem lipīdiem) un  $\omega$ -3 (linolēnskābe – 3.1 – 3.6 % no kopējiem lipīdiem) taukskābju saturs ;
- augsts antioksidantu kopējo karotinoīdu 14.29 – 23.56 mg/kg un karotinoīda likopēna 1.09 – 1.69 mg/kg līmenis;
- pazemināts holesterīna 491.02 – 532.60 mg % saturs.

3. Iegūtās inovatīvā sastāva funkcionālās olas ar paaugstinātu  $\omega$ -6 un  $\omega$ -3 taukskābju un antioksidantu Se un likopēna līmeni pozitīvi ietekmē cilvēku organisma funkcijas un novērš dažādu slimību riska faktorus.

## LITERATŪRA

1. Freese R. and research group. Comparison of the effects of diets with different unsaturated fatty acid and natural antioxidant contents on oxidative stress. Scandinavian journal of nutrition. The 7<sup>th</sup> Nordic Nutrition Congress, Mariehamn, Åland 18-20 June, 2000, Nærings – forskning, Vol.44, 104.
2. Narahari D. Production of health promoting functional eggs. Proceedings XVI<sup>th</sup> European Symposium on the quality of poultry meat. X<sup>th</sup> European Symposium on the quality of eggs and egg products. 23-26 September 2003, France 1023-1029.
3. Rao AV, Agarwal S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from Tomato products and their possible role in prevention of cancer. Nutr.Cancer. 1998; 31, 199-203.
4. Rao AV, Ray MR, Rao LG. Lycopene. Adv Food Nutr. Res. 2006; 51, 99-164.
5. Surai P.F., Dvorska E.J. Dietary organic selenium and eggs. Proceedings IX European Symposium on the quality of eggs and egg products. 9-12 September 2001, Kusadasi, Turkey. 163–169.
6. Surai P.F. Selenium in poultry nutrition. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. World's Poultry Science Journal V.58, September 2002, Number 3, 333-347.
7. Tik H., Viigimaa M., Tik V., Hämmäl J. The effect of consumption of omega – 3 fatty acid enriched quail eggs on blood characteristics in hypercholesterolemic men. Proceedings of the IX Baltic Poultry conference. Tartu 14<sup>th</sup> September 2001, Tartu, 12-14.
8. Van Dyck M.O., Adams A.C. Dietary antioxidants-antiradical active nutrients. International Poultry production. Volume 11, Number 6. 2003, 15-19.
9. Yaroshenko F.A., Dvorska E.J., Surai P.F., Sparks N.H.C. Selenium/Vitamin E enriched eggs: nutritional quality and stability during storage. WSPA 14<sup>th</sup> European Symposium on poultry Nutrition, Lillehammer, 10-14 August, 2003, 206.
10. Zariņš Z., Neimane L. Uztura mācība, Rīga. 1999. 120-125.

**СОСТОЯНИЕ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ  
КОРОВ ЗИАНЧУРИНСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ  
БАШКОРТОСТАН  
CONDITION OF THE METABOLISM OF HIGHLY PRODUCTIVE  
COWS OF AREA ZIANCHURINSKOGO OF REPUBLIC OF  
BASHKORTOSTAN**

**Волкова Е.С., Карюк Е.А., Мукминов Р.Г., Валеева А.Ф.**

**Volkova E.S., Karyuk E.A., Mukminov R.G., Valeeva A.F.**

Башкирский государственный аграрный университет

Bashkir State Agrarian University, [elena\\_kariuk@mail.ru](mailto:elena_kariuk@mail.ru)

**ABSTRACT**

In clause data on research of a metabolism of highly productive cows of facilities of one of areas of Republic Bashkortostan are cited. The received wide information basis should be shown to a minimum of economically justified trouble-shooting tests connected with conditions of a biogeochemical province and concrete facilities. Problems of a feed represent a complex of problems of an agriculture, to solve them follows in unity with other branches. At the same time, it is necessary to consider, that the stage of a feed in a metabolism directly depends not only on full value of forages, but also from physiological and pathological conditions of a gastroenteric path, a pancreas and a liver.

**KEYWORDS:** pathology of a metabolism, highly productive cows.

**INTRODUCTION**

В странах с интенсивным ведением молочного скотоводства большим препятствием на пути увеличения продуктивности животных служат болезни обмена веществ. В России в последние годы в отношении политики сельского хозяйства совершаются огромные преобразования. В частности, в области животноводства большое внимание стали уделять собственной племенной работе, а также осуществлять закупку высокопродуктивных сельскохозяйственных животных за рубежом.

Вместе с тем, прогресс в области изучения патологии обмена веществ сдерживается недостаточной экспериментальной проработкой, а также отсутствием теоретических и методологических подходов к решению ряда ключевых биологических проблем, в том числе, таких как регуляция потребления корма, отложения и мобилизации жира, микроэлементов и других веществ в организме. Специфика рассматриваемой проблемы состоит в том, что получаемый широкий информационный базис должен быть сведен к минимуму экономически оправданных диагностических тестов, связанных с условиями биогеохимической провинции и конкретными хозяйствами.

**MATERIAL AND METHODS**

С целью выявления преимущественной патологии мы проанализировали состояние коров по отчетным данным районной ветеринарной станции Зианчуринского района Республики Башкортостан (данные отбирались по принципу аналогов). Биохимические исследования (кровь, моча, молоко) проводились в установленные диспансеризацией сроки по стандартным методикам.

**RESULTS AND DISCUSSION**

Нами выявлено, что наиболее распространены заболевания, связанные с нарушением обмена веществ сочетанного характера. Часто причины, вызывающие нарушение метаболизма носят алиментарный характер, то есть отражают качество кормления. Однако белковая недостаточность, достоверно выявленная у исследуемых коров, может наступить не только при уменьшении поступления белков с кормами, но и при

нарушении их переваримости, когда неиспользованные белки кормов поступают в толстый кишечник, где аминокислоты под влиянием микроорганизмов распадаются до избыточных количеств токсичных аминов, газов; при дисбактериозах кишечника, сопровождаемых нарушениями процессов всасывания и ряде других состояний.

Большой объем метаболической и дезинтоксикационной работы в отношении белков крови выполняют гепатоциты и клетки ретикуло-эндотелиальной системы, поэтому частой причиной и/или следствием возникновения диспротеинемий являются патологии печени и лимфоидной ткани. В таких условиях печень неспособна выполнять обезвреживающую функцию и в результате развиваются, отмеченные нами, гепатопатии. Для белковой недостаточности характерен отрицательный азотистый баланс с резким снижением процессов дезаминирования, переаминирования и биосинтеза аминокислот, синтеза мочевины. Наряду с развивающейся гипопропротеинемией, снижается коллоидно - осмотическое давление крови и появляются отеки. При этом уровень мочевины, мочевой кислоты, креатинина, аллантаина и других продуктов катаболизма в организме значительно снижается. Кроме того, при дисбактериозах кишечника и нарушении белкового обмена снижается иммунитет, в частности проявляется это в угнетении синтеза структурных белков на уровне лимфоидных органов с появлением незрелых Т-лимфоцитов. В конечном итоге, развиваются иммунодефицитные состояния.

Таким образом, как показывает практика, при составлении рациона, следует руководствоваться не минимумом содержания белка в кормах, а его оптимальным количеством. Для удовлетворения потребностей организма существенным является не только количество, но и качество белков в корме. При избыточном же белковом и жировом питании и недостатке каротина у коров (особенно высокопродуктивных) клинико-биохимическими исследованиями выявляется стеатоз.

Анализ состояния минерального обмена у крупного рогатого скота изучаемого района дает основания предполагать, что в хозяйствах распространена остеодистрофия разной степени выраженности. Хотя нарушения минерального обмена довольно многообразны, в основе остеодистрофий лежит патология фосфорно-кальциевого и D-витаминного метаболизма в организме. Процессы обмена веществ, ведущие к костеобразованию, зависят от ряда факторов: недостатка витамина D, гормона паращитовидных желез, а также деполимеризация мукопротеидов нарушает нормальное отложение фосфорнокислого Са в костной ткани. Это, как следствие, приводит к деформации костей. Остеомалация сопровождается повышением активности остеобластов и увеличением активности фосфатаз в плазме крови. Поскольку кислая фосфатаза в значительном количестве содержится в остеокластах, то по мере интенсификации рассасывания кости содержание этого фермента возрастает сначала в межклеточных пространствах, затем в мелких капиллярах и, наконец, в сыворотке крови. Поэтому повышение активности кислой фосфатазы в ней - одно из достоверных показателей дистрофического процесса в костной ткани. У молочных коров, особенно высокопродуктивных, алиментарная остеодистрофия чаще развивается вследствие недостатка или неправильного соотношения Са/Р в рационе, сопровождаемого нарушением их всасывания в кишечнике, а также при гиповитаминозе D и недостатке в рационе белков, микроэлементов (зарегистрировано в ряде случаев, рисунок 1). Кроме того, отложению соединений Са и Р в костной ткани способствуют недостаточные моцион и ультрафиолетовое облучение, наблюдаемые у животных указанного района. Остеодистрофия нередко может развиваться, как осложнение других патологий, в частности и кетоза.

Для объективной диагностики нарушений метаболизма и выяснения ведущего патогенетического звена необходимо применять комплекс клинико-лабораторных исследований, который должен включать:

- 1) анализ условий кормления и содержания;
- 2) анализ экологической ситуации в конкретном районе;
- 3) клинический статус животных;
- 4) данные лабораторных клинико-биохимических и микробиологических исследований (молока, крови, мочи, фекалий и др.).

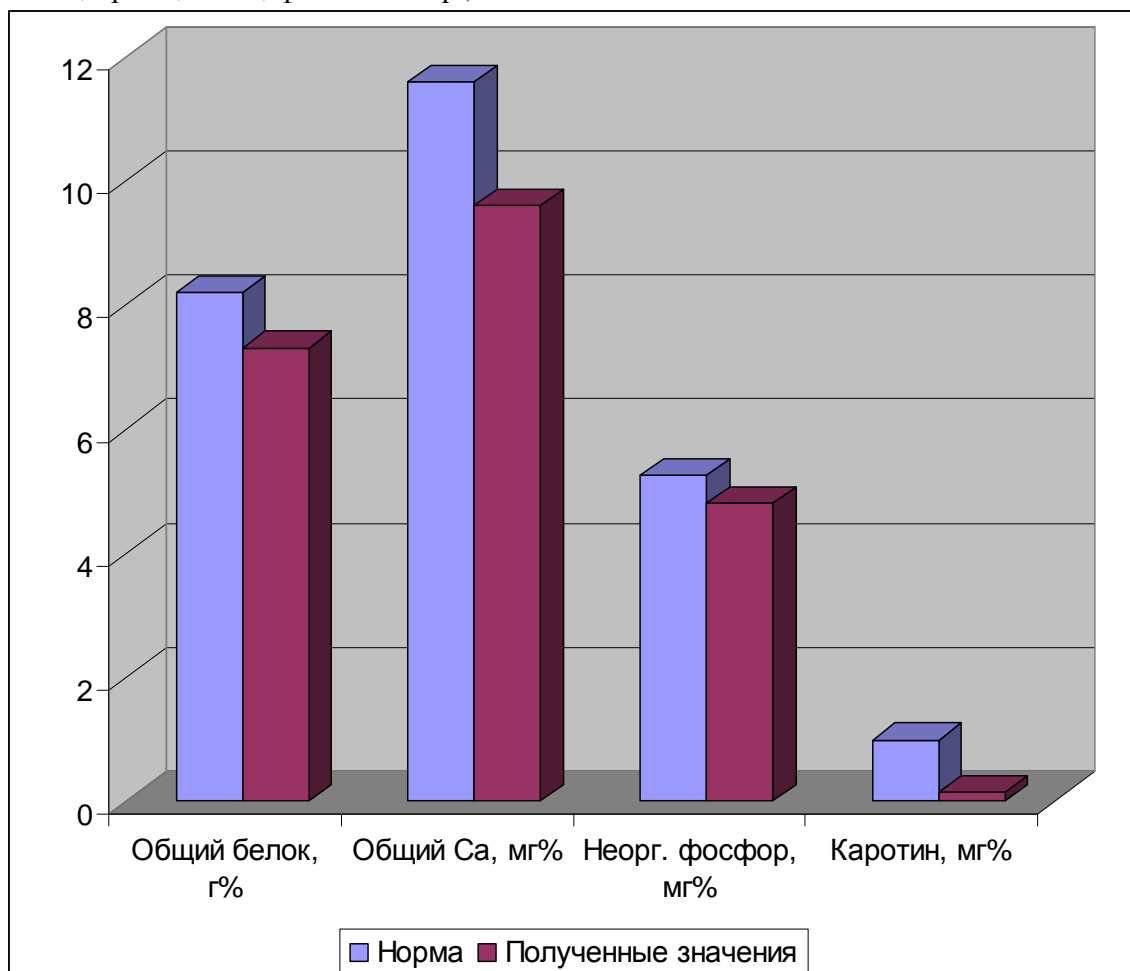


Рисунок 1 Результаты биохимических исследований сыворотки крови коров молочно-товарных ферм Зианчуринского района Республики Башкортостан

## CONCLUSIONS

Клинико-биохимические исследования позволят выявить субклинические формы патохимии обмена веществ, а значит и обеспечить эффективную ее профилактику и терапию, поскольку маркерно обеспечивают диагностику на разных этапах жизнедеятельности животных. Такие тесты должны составить основу для диспансеризации сельскохозяйственных животных, особенно в крупных специализированных хозяйствах.

Итак, проблемы питания представляют собой комплекс проблем сельского хозяйства, решать их следует в единстве с другими отраслями. Вместе с тем, необходимо учитывать, что этап питания в метаболизме напрямую зависит не только от полноценности кормов, но и от физиологических и патологических состояний желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и печени.

# THE NUCLEOPROTEIN MOLECULAR DIVERSITY OF FOX AND RACCOON DOG RABIES VIRUSES IN LITHUANIA

**Dainius Zienius, Arūnas Stankevičius, Vilimas Sereika,**

**Raimundas Lelešius, Modestas Ružauskas**

Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Lithuania,

[direktorius@lvavi.lt](mailto:direktorius@lvavi.lt) ; [dainzien@yahoo.com](mailto:dainzien@yahoo.com)

## ABSTRACT

The present study was done to determine the molecular epidemiology of rabies virus (RV) in Lithuania wildlife. The 28 red foxes and raccoon dogs RV isolates had been collected during the 2005-2006 period and came from different Lithuanian districts. In order to investigate the roles of the host species and geographical distribution correlation with molecular epidemiology of RV viruses, a 400 bp region of the nucleoprotein gene was sequenced and compared with 75 European virus isolates. Phylogenetic analysis revealed that the foxes and raccoon dogs RV isolates from different part of Lithuania were closely associated, belonged to RV genotype 1 and show significant bootstrap support inside the North East Europe (NEE) group of rabies virus. Phylogenetically the foxes RV isolates from Central and Western Lithuania were clustered together with the same isolates from Poland. The raccoon dogs RV isolates from North and Eastern part of Lithuania exhibited 97.7-99.0% nt identity to previously published sequences from Estonia, Latvia and Russia. The data obtained here show the critical role of geographical isolation and limitation for the genetic clustering and evolution of the rabies virus and also help in predicting its distribution from rabies-affected to rabies free areas in the multi-host scenario.

**KEY WORDS:** Lithuania, rabies, molecular epidemiology.

## INTRODUCTION

Advances in molecular epidemiological methods over the past 15 years have resulted in an increase in genetic data on rabies viruses (RV) circulating in a range of host species in a worldwide. The main focus of molecular epidemiology studies of lyssaviruses is the nucleoprotein (N) gene, which was chosen for several reasons including the effectiveness of their region for genotyping and evolutionary analysis (9). More recently, the large numbers of partial N gene sequences available in various databases have facilitated detailed virus, host, geographical and temporal comparisons (7; 12). Johnson et al, (6) provide further insights into epidemiology of rabies in Southeast Europe with evidence for the role of both domestic and sylvatic canine species for the spread and maintenance of the disease across borders. An increasing quantity of rabies sequence data is now available for regions of Eastern Europe, primary as a direct result of successful collaborative programmes. However, rabies molecular epidemiology remains uninvestigated in large areas of Europe including countries as Belarus, Lithuania and the Ukraine, making it difficult to understand the dynamics of viral dispersion and host adaptation fully (13). Only one dog rabies virus isolate sequence (1992) from Lithuania was used in rabies virus phylogenetic analysis (3). In contrast, rabies virus isolates from Latvia, Estonia, Poland and European part of Russia (18; 12; 15; 10) were used in phylogenetic analyses of rabies virus genotypes correlation with geographical distribution and specific host's adaptation. Consequently, the molecular typing methods are playing an increasingly important role in the understanding of rabies host and geographical distribution in Lithuania.

The main objective of this work was to characterize the genetic properties of the field rabies viruses isolated in the Lithuania during the 2005-2006 period, by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and partial N gene sequences analysis.

## **MATERIALS AND METHODS**

28 Lithuanian RABV isolates (red foxes (n=10), raccoon dogs (n=18), obtained from brain samples received from the National Veterinary Laboratory were diagnosed as rabies-positive by the FAT and the MIT (2) were used in this study. The isolates had been collected during the 2005-2006 period and came from different Lithuanian districts. For molecular epidemiological study isolates were analysed together with reference to GenBank sequences of the rabies virus isolates from various regions of Eastern, Central, and Northern Europe including the nearest regional Lithuanian neighbours. Total RNA was extracted from infected brain samples using the TRIzol method (Invitrogen, Life Technologies, MD, USA) following the manufacturer's recommendations. RT and PCR were performed according to Amengual et al. (1) and, with primer set N12 (5'-GTAACACCTCTACAATGG-3', nucleotides 57-74) and N8 (5'-AGTTTCTTCAGCCATCTC-3', nucleotides 1585-1568), according to the PV strains sequence. PCR was carried out in 50 µl volumes containing 5 µl of extracted RNA and the following reagents: 5 µl 10x PCR buffer (Fermentas), 5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM, Fermentas), 2 µl dNTPs (10 mM, Fermentas), 5 pmol of each outer primers N12 and N8, 0.5 µl (2.5 U) Taq DNA polymerase (Fermentas), 0.25 µl (10 U) RNasin (Promega, Madison, WI, USA), and 0.5 µl (100 U) MMLV reverse transcriptase (Life Technologies). The tubes were then subjected to the following cycle parameters: 42°C for 30 min, 95°C for 5 min, and then 35 cycles at 94°C for 40 s, 56°C for 40 s, and 72°C for 1 min.

Nested PCR was carried out with primers N53 (5'-GGATGCCGACAAGATTGTAT-3', corresponding to bases 73-92 of the PV sequence) and N55 (5'-CTAAAGACGCATGTTTCAGAG-3', corresponding to bases 491-472 of the PV sequence). For the nested PCR as a template was used 2 µl of PCR I product and following reaction mixture: 5 µl 10x PCR buffer (Fermentas), 5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM, Fermentas), 2 µl dNTPs (10 mM, Fermentas), 20 pmol of each nested primers N53 and N55, 0.5 µl (2.5 U) Taq DNA polymerase (Fermentas). The tubes were then subjected to the following cycle parameters: 95°C for 3 min followed by 35 cycles at 94°C for 30 s, 60°C for 30 s and 72°C for 40 s. A single extension step of 72°C for 10 min completed the amplification process. The nested PCR resulted a final amplicon of 400 bp.

Prior to sequencing, the PCR products were electrophoresed on 1.5 % agarose gel. The DNA was recovered using Nucleospin Extract II kit (Macherey-Nagel GmbH, Germany) following the manufacturer's recommendations. Gel purified PCR products were cycle sequenced using the BigDye™ Terminator Cycle Sequencing kit (v2.0, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and the ABI310 genetic analyzer (Applied Biosystems). Sequences of both strands of the nucleoprotein N gene products were determined using the same primers as used for the nested PCR amplification. The obtained sequences were assembled by using SeqMan program (Laserge, program package, DNASTAR, Inc., Madison, USA). Clustal W programme from MegAlign Lasergene program package was used for sequence alignment and phylogenetic analyses. For boot strap analyses was used neighbour-joining (NJ) algorithm from CLC Free Workbench 3.2.3 program package (CLC bios A/S, Denmark).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Based on the simplest form of analyses, examination of percentage nucleotide identity, a phylogenetic analysis of obtained sequences from different parts of Lithuania revealed that all 28 rabies virus isolates were closely related and had high identity among themselves (97.7-100.0% nt). All of the RV isolates from red foxes clustered together with the 99.5-100.0% nt identity, whereas identity among the raccoon dogs sequences was 98.8-100.0% nt, irrespective of geographical distribution of RV isolates. Previously published Lithuanian rabies sequence 9345LT (dog, 1992) also showed very close phylogenetic relationship to newly obtained isolates (97.7-99.0 % nt identity). The phylogenetic relationships between Lithuanian RV isolates and those from

neighbouring countries for the 400 bp region of N-gene are shown, that red foxes RV isolates from Central and Western Lithuania were related (98.5% nt identity) with foxes RV isolates from Poland (96152POL, 1995 and 9634POL, 1987). The raccoon dogs RV isolates from North and Eastern part of Lithuania exhibited 97.7-99.0% nt identity to previously published sequences from Estonia (9339EST, 1991), Latvia (9904LV, 2003) and Russia (RV309RUS, RV245RUS, 2004). The phylogenetic analysis of Lithuanian isolates in the present study showed that they could not be subdivided according to geographical location or host distribution. All new Lithuanian sequences were well supported from the other group of rabies viruses, which joined isolates from different parts of Europe, with bootstrap support of 96% nt. All sequences from different parts of Lithuania belonged to RV genotype 1 and show significant bootstrap support inside the North East Europe group of rabies virus (NEE) group described earlier by Bourhy or McElhinney (3; 12; 13).

The North East Europe (NEE) group was represented by RV isolates from Western Russia, Finland, Estonia, Latvia, Lithuania, Poland and Slovakia. Polish RV strains belong to four different phylogenetic groups and two are dominant. Their geographical spread is strictly dependent on the geographical barrier of the Vistula River. The NEE group is limited to the Eastern side of the river and the Central European (CE) RV cluster has been isolated mainly in the West and South of Poland – on the west side of the Vistula River (14). In North the NEE distribution is limited in Northwest Russia, Estonia and Finland where RV isolates is closely related to non-Arctic European RV lineages (4). The majority of isolates within NEE group originated from both raccoon dogs and red foxes. This indicates that this variant is equally well supported by both reservoir species or that it represents an emergent biotype for raccoon dogs (12).

The epidemiological analyses, laboratory studies, and modelling suggested that the recent rabies epizootic in Western Europe was propagated and maintained by a single species, the red fox (*Vulpes vulpes*), but this is not necessarily true for Eastern and Northern Europe, where arctic foxes (*Alopex lagopus*) and introduced raccoon dogs (*Nyctereutes procyonides*) are implicated in sustaining the chain of infection (19). The rabies cases in red foxes decreased since 1994, but at the same time, raccoon dog rabies has increased in North-Eastern Europe and more than doubled in the Baltic States: in 2005 the largest number (599) of raccoon dog rabies cases was found in Lithuania, more than the 533 cases found in foxes; in 2006 – 987 rabies cases in raccoon dog, which was 300 cases more than the number found in foxes (11). The involvement of two competent rabies vectors can substantially alter the epidemiology of the disease. Foxes and raccoon dogs provide a larger reservoir for the virus. Even if the population density of a single species is below the threshold for a sustained outbreak, the density of the combined vectors community might be sufficient (5). Moreover, behavioural differences of the vectors might alter transmission spatially or temporally, and might affect transmission within species (e.g. due to different social behaviour) or between species, although cross-species transmission is poorly understood. With respect to the hibernation of raccoon dogs, an important aspect has to be considered: the pathogenesis of the disease might be changed. Raccoon dog hibernation was assumed to affect both incubation and transmission. Effectively, in the model, hibernation impedes all transmission with raccoon dog's involvement during winter. At the same time, the animals cannot fall ill. Thus the incubation period is prolonged until spring (16). However, the hibernation of raccoon dogs depends on climatic condition. Warmer winter could reduce or stop raccoon dogs hibernation, as recent observed in Lithuania and even Southern Finland. Arise in temperature can directly correlate with length of growing season and higher population density (8). The model results showed that in rabies-free regions, contingency control has to take into account the spread of rabies in a community of vectors – in this cases foxes and raccoon dogs. Vaccinating foxes give some protection, but is effective only if the density of racoon dogs in the area is low (17). For this reason, it is vital to take raccoon dogs into account for future planning of rabies control in Europe. Not only because raccoon dogs have become more important in existing rabies zoonotics, but



because they pose an additional potential complication following the reintroduction of this disease to rabies-free areas (16).

## CONCLUSION

Our present study suggest that the Lithuanian RV and others NEE group RV isolates might have been evolved from the same progenitor and also indicate that the infection cycle of RV in this area tends to be maintained endemically. Molecular epidemiological data for countries such as Lithuania is essential in gaining a greater understanding of the viral variants responsible for the rabies epizootics which continue to pose a threat to public health. The community of vectors – red foxes and raccoon dogs – strongly enhances the risk of rabies in comparison to the disease in a single vector. The raccoon dog may represent reservoir for the NEE RV and play an important role in its Western spread circulation.

**Acknowledgments:** This study was supported by the grant of Lithuanian State Science and Studies Foundation No T – 48/08.

## REFERENCES

1. Amengual B., Whitby J.E., King A., Serra-Cobo J., Bourhy H. Evolution of European bat lyssaviruses. *J. Gen. Virol.* 1997. 78: 2319-2328.
2. Anon. Office International des Epizooties (O.I.E). Manual of Standards Diagnostic and Vaccines. 2004. Rabies. 2.2.5: 2–5.
3. Bourhy H., Kissi B., Audry L., Smreczak M., Sadkowska-Todys M., Kulonen K., Tordo N., Zmudzinski J.F., Holmes E.D. Ecology and Evolution of rabies virus in Europe. *J. Gen. Virol.* 1999. 80: 2545-2557.
4. Botvinkin A.D., Kuzmin I.V., McElhinney L.M., Johnson N., Fooks A.R. The diversity of rabies virus in Russia demonstrated by anti-nucleocapsid monoclonal antibody application and limited gene sequencing. *Dev. Biol. Basel. Karger.* 2006. 125: 79-90.
5. Holmala K., Kauhala K. Ecology of wildlife rabies in Europe. *Mammal. Rev.* 2006. 36: 17-36.
6. Johnson N., Freuling C., Vos A., Un H., et al. Epidemiology of rabies in Southeast Europe. *Dev. Boil. (Basel). Karger.* 2007. 131: 777-790.
7. Johnson N., McElhinney L.M., Smith J., Lowings P., Fooks A.R. Phylogenetic comparison of the genus *Lyssavirus* using distal coding sequences of the glycoprotein and nucleoprotein genes. *Arch. Virol.* 2002. 147: 2111-2123.
8. Kauhala K., Holmala K. Contact rate and risk of rabies spread between medium-sized carnivores in southeast Finland. *Ann. Zool. Fenn.* 2006. 43: 348-357.
9. Kissi B., Tardo N., Bourhy H. Genetic Polymorphism in the Rabies Virus Nucleoprotein Gene. *Virology.* 1995. 209: 526-537.
10. Kuzmin I.V., Botvinkin A.D., McElhinney L.M., Smith J.S., Orciari L.A., Hughes G.J., Fooks A.R., Rupprecht C.E. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J. Wildl. Dis.* 2004. 40 (4): 617-631.
11. Matouch O. The rabies situation in Eastern Europe. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. *Dev Biol. Basel. Karger.* 2008. 131: 27-35.
12. McElhinney L.M., Marston D., Johnson N., Black C., Matouch O., Lalosevic D., Stankov S., Must K., Smreczak M., Zmudzinski J.F., Botvinkin A., Aylan O., Vanek E., Cliquet F., Muller T., Fooks A.R. Molecular epidemiology of rabies viruses in Europe. *Rabies in Europe. Dev. Biol. (Basel). Basel, Karger.* 2006. 125: 17-28.
13. McElhinney L.M., Marston D., Stankov S., Tu C., Black C., Johnson N., Jiang Y., Tardo N., Muller T., Fooks A.R. Molecular epidemiology of *Lyssaviruses* in Eurasia. *OIE/WHO/EU Inter. Conf. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. Dev. Boil. (Basel). Karger.* 2008. 131: 125-131.

14. Sadkowska-Todys M., Rosinska M., Smreczak M., Czerwinski M., Zmudzinski J.F. Rabies surveillance, trends in animal rabies and human post-exposure treatment in Poland, 1990-2004. *Euro Surveill.* 2005. 10(11): 226-228.
15. Sadkowska-Todys M. Phylogenetic relationship of street rabies virus strains and the antigenic reactivity with antibodies induced by vaccine strain. Analysis of phylogenetic relationship of street rabies virus strains isolated in Poland. *Med. Dosw. Mikrobiol.* 2000. 52(2): 173-183.
16. Singer A., Kauhala K., Holmala K., Smith G.C. Rabies Risk in Raccoon Dogs and Foxes. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. *Dev Biol. Basel. Karger.* 2008. 131: 213-222.
17. Smith G.C. The role of the Budger (*Meles meles*) in rabies epizootology and the implication for Great Britain. *Mammal. Rev.* 2002. 32: 12-25.
18. Vanaga S., Van der Heide R., Joffe R., Van der Poel W.H. Rabies in wildlife in Latvia. *Vect. Borne Zoonot. Dis.* 2003. 3(3): 117-124.
19. Wandeler A.I. The rabies situation in Western Europe. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. *Dev Biol. Basel. Karger.* 2008. 131: 19-25.