

LAKTOFERĪNA DINAMIKA PIENĀ ATKARĪBĀ NO GOVJU SEZONĀLĀS TURĒŠANAS UN MASTĪTU IEROSINĀTĀJU KLĀTBŪTNES TESMENĪ

THE DYNAMICS OF LACTOFERRIN IN MILK IN RELATION TO COW SEASONAL KEEPING AND PATHOGENS PRESENCE IN THE UDDER

Iveta Kocina¹, Vita Antāne², Ivars Lūsis²

¹Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts BIOR, Latvija, Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR, Latvia

²Veterinārmedicīnas fakultāte LLU, Latvija; Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia
Iveta.Kocina@bior.gov.lv

ABSTRACT

Recent studies show that lactoferrin contribute significantly to the maintenance of udder health. Sadly the concentration of lactoferrin in cow's milk during the middle period of lactation is low. That is an urgent issue - how to stimulate and maintain a sufficient level of lactoferrin in the udder at all stages of lactation. The aim of the present study was to evaluate the dynamics of lactoferrin level in cow's milk in relation to the cow seasonal keeping and presence of pathogens in the udder.

The experimental part of the study was carried out on the dairy farm "Pērles", Vidzeme region. Cows were kept in a cold loose housing system, grouped and fed differently depending on cow productivity and lactation period. Two times in the housing period and two times in the grazing period milk were sampled from 16 dairy cows and examined for the concentration of lactoferrin and for the presence of pathogens. Cows for the study were selected to analyse the milk obtained from clinically healthy udder quarters of cows of similar age and productivity at the middle stage of lactation.

It was discovered, that during grazing period compared with the housing period the lactoferrin concentration in milk increases significantly ($p < 0.05$). Some pathogenic bacteria species infecting the udder quarters had significantly increased the concentration of lactoferrin ($p < 0.05$) in milk. Wide variation amplitude of lactoferrin concentration in milk was observed, which indicates the important role of the individual factor of an animal in the formation of self-defence response.

KEY WORDS: lactoferrin, mammary gland, seasonal keeping

IEVADS

Neskatoties uz ilggadējiem zinātnieku centieniem ierobežot mastītu izplatību, tā joprojām tiek uzskatīta par dārgāko un izplatītāko slimību piena lopkopībā. Mastītu radītos zaudējumus sastāda, gan izslaukuma samazināšanās un piena sliktā kvalitāte, gan izdevumi, kas saistīti ar slimo govju ārstēšanu vai izbrāķēšanu, bet 70% zaudējumu cēlonis ir tieši govju subklīniskie mastīti (Schukken *et al.*, 2003; Fourichon *et al.*, 2001; Schukken *et al.*, 1992; Philpot, Nickerson, 1997). Mastītu dažādību un attīstību nosaka organisma aizsargspēju potenciāls un ierosinātāju virulences faktori. Dzīvnieka dabīgais aizsargmehānisms var veiksmīgi ierobežot un likvidēt infekciju, vai arī infekcija, daļēji likvidēta, var turpināties ilgāku periodu un parasti šis process izpaužas subklīniska mastīta formā (Ali-Vehmas, Sandholm, 1995; Baker *et al.*, 2002). Pētījumi apliecina laktoferīna nozīmīgo lomu tesmeņa veselības saglabāšanā (Marnila, Korhonen, 2002; Hagiwara *et al.*, 2003; Kutila *et al.*, 2003). Laktoferīna koncentrācija govju pienā laktācijas vidus posmā ir zema, tāpēc aktuāls ir jautājums, kādā

veidā tesmenī, mastīta profilakses nolūkos, stimulēt un uzturēt pietiekami augstu laktoferīna koncentrāciju tesmeņa audos (Kai et al., 2002). Ir virkne faktoru, kas stimulē organisma imūnsistēmas aktivitāti. Aktivācijai tiek izmantotas dažādas specifiskas vakcīnas (S.aureus, Coli u.c.), bakterofāgi, citokīni (IL-1, IL-2, GM-CSF u.c.), kā arī citas organisma aizsargspēju aktivizējošas bioloģiski aktīvas vielas. Tomēr nepārvērtējama loma organisma aizsardzības un pretestības spēju stiprināšanā ir pareizai un pilnvērtīgai dzīvnieku ēdināšanai un aprūpei, ērtām, komfortablām mītnēm, kurās līdz minimumam samazināta stresfaktoru un dažādu citu nelabvēlīgu faktoru iedarbība (Barkema et al., 1999; Blūzmanis, 1999).

Ar nodomu izprast govju tesmeņa dabīgā aizsargkomponenta laktoferīna nozīmi tesmeņa veselības saglabāšanā, šajā darbā pētīta laktoferīna dinamika pienā dažādos turēšanas apstākļos, kā arī izvērtēta tā koncentrācija saistībā ar patogēno mikroorganismu klātbūtni tesmenī.

Pētījumu mērķis bija izvērtēt laktoferīna nozīmi tesmeņa veselības saglabāšanā saistībā ar govju sezonālo turēšanu un mastītu ierosinātāju klātbūtni tesmenī.

MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījuma eksperimentālā daļa veikta Vidzemes reģiona slaucamo govju novietnē „Pērles”. Pētījuma veikšanas laikā bija 75 slaucamas govīs, vidējais izslaukums 7156 kg gadā, vidējais somatisko šūnu skaits ganāmpulka koppienā 255 000 šūnu mililitrā (tūkst.ml⁻¹). Ganāmpulku veido divdesmit četras Latvijas Brūnās šķirnes govīs, trīsdesmit divas Holšteinas Melnraibās šķirnes govīs, kā arī deviņpadsmit govīs, kas ir iepriekšminēto govju šķirņu hibrīdi. Ganāmpulka govju vecums ir no 2 līdz 8 gadi, bet vidējais laktācijas skaits – 3.5 laktācijas.

Govīs tiek turētas nepiesieti grupās nesiltinātā, jeb atvieglota tipa mītnē un barotas atkarībā no to produktivitātes un laktācija perioda. Govju barības racionā iekļauts skābsiens, siens, spēkbarības maisījums, sakņaugi, kā arī barības piedevas. Kā pakaišu materiālu govju turēšanas telpā izmanto skujkoku skaidas. Vasaras – rudens periodā govīs atrodas dienas ganībās, turpretim ziemā un pavasarī tiek turētas mītnē. Govīs slauc divas reizes dienā, slaukšanas zālē ar „skujiņas” tipa slaukšanas iekārtu, plkst. 6.00 un plkst.18.00. Pirms slaukšanas govju pupus tīra ar vienreizējas lietošanas salvetēm un katra ceturkšņa pirmās piena strūklas ieslauc krūzītē ar melnu pamatni un izvērtē piena kvalitāti. Katru reizi pēc govju izslaukšanas notiek pupu dezinfekcija.

Sešpadsmit klīniski veselās līdzīga vecuma (2. un 3. laktācija) un produktivitātes (22-25kg piena dienā) ganāmpulka govīs laktācijas vidusposmā izvēlējamies kā ganāmpulka govīs pārstāvošu paraugkopu

Visām govīm izmeklējumi veikti divas reizes ganību periodā un divas reizes kūtsstāves periodā. Piena paraugus ieguvām no tesmeņa katra ceturkšņa. Kopā izmeklēti 214 piena paraugi.

Govīm, kurām kaut viena ceturkšņa piena paraugā Kalifornijas mastīta testa (KMT) rezultāts uzrādīja neskaidru vai pozitīvu reakciju, visu ceturkšņu piena paraugus izmeklējām bakterioloģiski. Kopumā bakterioloģiski izmeklēti 111 piena paraugi.

Piena bakterioloģiskie izmeklējumi veikti Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Klīniskā institūta ganāmpulka veselības un reprodukcijas problēmu laboratorijā pēc ISO 707(1) standartā rekomendētās metodes un ierosinātāju identificēšana veikta pēc Quinn et al., (2000) aprakstītās procedūras.

Somatisko šūnu skaitu pienā noteicām Akciju sabiedrībā „Rīgas piena kombināts” piena kvalitātes laboratorijā, saskaņā ar LVS EN ISO 13366-3:1997 "Piens. Somatisko šūnu skaita noteikšana”, Fluora-opto-elektroniskā metode". Tā kā SŠS pienā govīm svārstās no dažiem simtiem līdz vairāk kā četriem miljoniem šūnu mililitrā, tad aprēķinos, lai veidotu uzskatāmākus grafikus, lietotas naturālās logaritmiskās vērtības ln(somat), savukārt teksta daļā un diskusijā izmantots laboratoriski noteiktais somatisko šūnu skaits pienā.

Rīgas Reprodukcijas Centra (RRC) laboratorijā noteikta laktoferīna koncentrācija pienā, izmantojot reaģentu komplektu D-4156 „Laktoferin – IFA - BEST”, sērijas Nr. 33, kvalitātes standarts TY 9398-045-23548172-2001. Reaģentu komplekts izgatavots un pielietojams laktoferīna kvantitatīvai noteikšanai asins serumā un citos bioloģiskos šķidrums – asins plazmā, urīnā, siekalās, spermā, pienā u.c., izgatavots akciju sabiedrībā „Vektor-Best”, Krievijas Federācijā. Metode pamatojas uz cietās fāzes imūnfermentanalīzi, izmantojot poliklonālās laktoferīna antivielas.

Datu statistiskā apstrāde veikta, izmantojot SPSS programmu -11.0 versiju (Statistical Package for Social Science) un Microsoft Excel paketes. Ar programmas analīzes rīku Descriptive Statistic aprēķināti vidējie rādītāji un to standartnovirze - $\bar{x}(s)$.

Darbā izvirzītās hipotēzes pārbaudītas ar p-vērtības metodi, aprēķinātā p-vērtība salīdzināta ar būtiskuma līmeni $\alpha=0,05$. Kvalitatīvo faktoru ietekmes novērtēšanai pielietota vienfaktora dispersijas analīze, savukārt faktoru mijiedarbības efekta izpētei izmantotām divfaktoru dispersijas analīzi (Arhipova, Bāliņa, 2003).

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

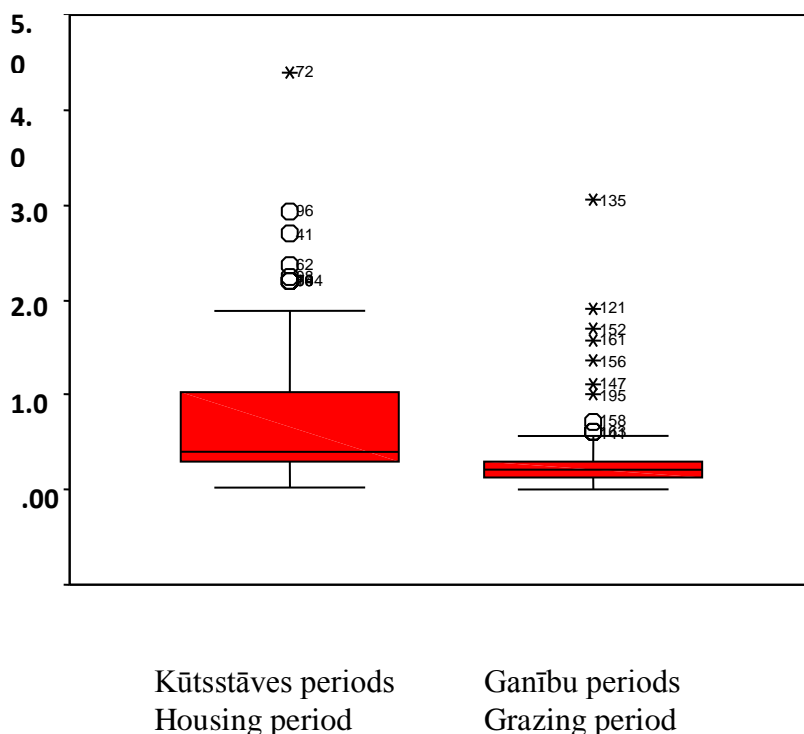
Mūsu pētījumos iegūtie rezultāti liecina, ka analizētajos piena paraugos vidējais somatisko šūnu skaits (SŠS) ir 233 710 (566.31) ml^{-1} . Procentuāli lielākā daļa, jeb 64% no visu izmeklēto govju tesmeņu ceturkšņiem ir veseli, SŠS šo ceturkšņu pienā nepārsniedz 100 000 ml^{-1} . Savukārt 20% ceturkšņu uzskatāmi par iespējami inficētiem, jo SŠS pienā ir robežās no 100 000 ml^{-1} līdz 300 000 ml^{-1} , 16% ir subklīniska mastīta skarti uz ko norāda SŠS pienā virs 300 000 ml^{-1} .

Literatūrā ir atšķirīgas norādes par to, kāds somatisko šūnu skaits pienā liecina par veselu tesmeni. Pastāv uzskats, ka laktējošas govju tesmens ir vesels, ja SŠS pienā nepārsniedz 400 000 ml^{-1} (Blūzmanis, 1999). Citos ziņojumos ir norādes, ka veselā laktējošā tesmenī SŠS pienā nedrīkst pārsniegt 100 000 ml^{-1} (Paape et al., 1987), vai arī, ka neinficētu ceturkšņu pienā laktācijas perioda vidusdaļā somatisko šūnu skaits ir robežās līdz 200 000 ml^{-1} , ja šī robeža pārsniegta, tas norāda uz piena dziedzera reakciju uz dažādiem infekciozas (Conha, 1996; Philpot, Nickerson, 1997) vai neinfekciozas dabas kairinājumiem (Burveinich et al., 1998; Saloniemi 1995; Coico et al., 2003) apgalvo, ka paaugstināts SŠS ne vienmēr liecina par tesmeņa infekciju, tas tikai norāda, ka tesmeņa audi pakļauti kairinājumam. Tesmeņa audu kairinājuma gadījumā ir augsts risks, ka pievienosies infekcija. SŠS pienā var arī palielināties govīm uzturoties stresa vidē, paaugstinātā temperatūrā, kā arī pie nelavēlīgiem turēšanas un aprūpes nosacījumiem, tomēr šādos gadījumos krasu SŠS pieaugumu nenovēro govīm, kurām tesmens ir vesels (Elvinger et al., 1991; Ekman 1998; Kociņa, Antāne 2000). Konošonoka (2005) minējusi, ka veselu govju pienā SŠS ir līdz 300 000 ml^{-1} , lielāks somatisko šūnu skaits govju pienā liecina par mastīta risku.

Attiecībā uz SŠS atšķirībām atkarībā no sezonas mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka augstākais vidējais SŠS pienā ir ganību periodā 302 880 (685.72) ml^{-1} . Savukārt kūtsstāves periodā vidējais SŠS pienā ir 169 530 (419.94) ml^{-1} ($p<0.05$). Arī mūsu iepriekš veikto pētījumu rezultāti (Kociņa, Antāne, 2000) liecina, ka somatisko šūnu skaits govju pienā ganību periodā ir būtiski augstāks, salīdzinot ar kūtsstāves periodu. Ļoti iespējams, šo pieaugumu veicina intensīva ārējās vides faktoru ietekme, radot tesmeņa kairinājumu, kā arī dzīvnieku imūnreakciju aktivācija ganību periodā. Publikācijās minēts, ka liellopiem karstuma un stresa ietekmē pieaug leukocītu migrācija piena dziedzerī (Elvinger et al., 1992). Demelash (2005) ziņo, ka sezona būtiski ietekmē SŠS pienā, proti, ganību periodā, siltā un mitrā laikā govīm ir lielāks risks saslimt ar mastītu. Skaidrojums augstākam mastītu izcelsmes riskam ganību periodā ir tesmeņa kontakts ar ārējās vides kairinātājiem, t.sk. patogēniem mikroorganismiem (Goldberg et al., 1992; Harmon 1994). Savukārt cita pētījuma rezultāti neliecina, ka karstums vai govju turēšana ganībās saistīta ar SŠS pieaugumu pienā (Šterna,

2005). Ņemot vērā, ziņojumu par sezonas ietekmi uz SŠS, varam izdarīt pieņēmumu, ka vesels tesmens uz vides apstākļu maiņu, kā arī dažāda veida kairinājumiem nereaģē ar krasu SŠS pieaugumu pienā. Izpētīts, ka govīm, kuras iepriekš pārslimojušas tesmeņa iekaisumu ir svārstīgs, bieži paaugstināts SŠS pienā un tām ir piecas reizes lielāka reinfekcijas iespēja (Demelash et.al., 2005).

Laktoferīna dinamika pienā kūtsstāves un ganību periodos, kā arī tā vērtību svārstību amplitūda parādīta 1. attēlā. Veiktie pētījumi norāda, ka laktoferīnam (Lf), līdzīgi kā SŠS pienā, novēro vērtību svārstību sezonālo raksturu. Kūtsstāves periodā laktoferīna vidējā vērtība ir augstāka, kā ganību, attiecīgi $0.73 (0.54) \text{ gl}^{-1}$ un $0.44 (0.55) \text{ gl}^{-1}$.



1.attēls. **Laktoferīna koncentrācija (gl^{-1}) pienā kūtsstāves un ganību periodos**
 Figure 1. **Concentration of lactoferrin (gl^{-1}) in milk during housing and grazing period**

Gan kūtsstāves, gan ganību periodos atsevišķām govīm ir izteiktas laktoferīna vērtību svārstības ārpus standartnoviržu robežām, kas norāda uz govju individuālā faktora lomu Lf koncentrācijas uzturēšanā. Attēlā redzamais uzskatāmi norāda, ka kūtsstāves periodā, kad vērojamas augstākās laktoferīna vērtības, arī tā vērtību svārstību amplitūda ir izteiktāka.

Vienfaktora dispersijas analīzes rezultāti ($p=0.044$) liecina, ka laktoferīna vērtība pienā būtiski ($p<0.05$) atšķiras atkarībā no govju sezonālās turēšanas, un, ka govju sezonālā turēšana būtiski ietekmē laktoferīna daudzumu pienā.

Analizējot literatūru par laktoferīna dinamiku un tās izmaiņu cēloņiem govju pienā, secinām, ka autori pārsvarā uzmanību akcentē uz patogēno mikroorganismu ietekmi uz Lf koncentrācijas izmaiņās (Korhonen, Kaartinen, 1995; Kai et al., 2002; Diarra et al., 2003; Hagiwara et al., 2003). Kaut gan ir pētījumi, kas liecina, ka laktoferīna daudzumu govju pienā ietekmē arī dažādi citi faktori, piemēram, govju šķirne, vecums, veselības stāvoklis, laktācijas periods, govju turēšanas apstākļi, menedžments (Kutila et al., 2003; Zagorska, 2007; Konuspayeva et al., 2007; Krol et al., 2010), atrodam arī norādes, ka veselu govju pienā laktācijas vidusposmā laktoferīna koncentrācija ir zema, bet tā pieaug tesmeņa iekaisuma laikā (Sandholm, Korhonen, 1995; Kawai et al., 1999; Hagiwara et al., 2003; Diarra et al.,

2003). Pastāv viedoklis, ka Lf vērtības govju pienā svārstās plašās robežās un visi, to koncentrāciju ietekmējošie faktori, nemaz vēl nav apzināti (Kutilla, 2003). Arī cits, Latvijā veiktais pētījums liecina, ka laktoferīna saturs govju piena paraugos svārstās ļoti plašās robežās (Zagorska, 2007).

Mūsu veiktajā pētījumā laktoferīna saturs pienā svārstās plašās robežās un ievērojami atšķiras gan individuālu paraugu starpā, gan atkarībā no govju sezonālās turēšanas. Mūsu iegūtie rezultāti liecina, ka laktoferīna vidējā vērtība analizētajos piena paraugos ir 0.61 (0.60) gl^{-1} , un tā saturs svārstās ievērojamā amplitūdā, no 0.00 gl^{-1} līdz 4.40 gl^{-1} .

Publikācijās norādīts, ka laktoferīna daudzums pienā nozīmīgi variē atkarībā no sezonas (Konuspayeva et al., 2007), praktizētās govju turēšanas sistēmas un turēšanas apstākļiem un imunitātes stiprināšanas pasākumiem (Kutilla, 2003; Zagorska, 2007). Lf koncentrācijas pieaugums pienā ne vienmēr saistāms ar tesmeņa iekaisumu. Ir pētījumi, kuru rezultāti apgalvo, ka Lf līmeni pienā galvenokārt ietekmē govju laktācijas periods un tesmeņa infekcija (Kawai et al., 1999; Eckersall et al., 2001; Hagivara et al., 2003; Korhonen, Kaartinen, 2005). Mūsu iegūtie dati liecina, ka govju sezonālā turēšana būtiski ietekmē laktoferīna koncentrāciju pienā un tā vērtības būtiski atšķiras ($p < 0.05$) kūtsstāves un ganību periodā. Laktoferīna vidējā koncentrācija pienā kūtsstāves periodā ir 0.739 (0.54) gl^{-1} , kas ir būtiski augstāka par Lf koncentrāciju ganību periodā, proti, 0.448 (0.55) gl^{-1} . Novērojām, ka kūtsstāves periodā ir augstāka gan vidējā, gan maksimālā, 4.40 gl^{-1} Lf vērtība pienā, kā arī ir vislielākās Lf vērtību svārstības. Minētais iespējams liecina par individuālā faktora nozīmīgo lomu Lf koncentrācijas uzturēšanā, un norāda, ka kūtsstāves periodā tesmenī kāda iemesla pēc, iespējams salīdzinoši zemākas šūnu imunitātes dēļ, nepieciešama augstāka Lf koncentrācija.

Ja laktoferīna koncentrācijas dinamiku pienā vērtējam, pamatojoties uz jebkuru citu, ar tesmeņa infekciju nesaistītu faktoru iedarbību, rodas jautājums - kāpēc Lf koncentrācija savas maksimālās vērtības nesaasniež ganību periodā, kad aktivizējas imūnreakcijas un pastāv lielāks tesmeņa audu kairinājuma risks, bet gan kūtsstāves periodā. Respektējot laktoferīna nozīmīgās, antibakteriālās spējas, varam pieņemt, ka ganību periodā salīdzinoši zemākie Lf vērtību rādītāji līdz ar paaugstinātu SSS pienā, liecina par sekojošo: ganību periodā SSS govju pienā palielinās galvenokārt tesmeņa neinfekciozu kairinājumu rezultātā, par ko liecina arī salīdzinoši zemā Lf koncentrācija pienā šai periodā; fagocitārās šūnas (t.sk. somatiskās šūnas) tesmenī, kam ganību periodā ir būtiski augstāka aktivitāte, spēj ierobežot baktērijas un nepieļaut iekaisuma procesa attīstību, tādējādi imunoloģiskajās aizsargreakcijās laktoferīns neiesaistas tik lielā koncentrācijā, kā kūtsstāves periodā.

1. tabula / Table 1

Laktoferīna koncentrācija (gl^{-1}) pienā saistībā ar tesmeņu ceturkšņu inficētību
Lactoferrin concentration in milk (gL^{-1}) in relation to presence of infection in the udder quarters

Ceturkšņu piens / Quarter milk	Laktoferīns / Lactoferrin (gl^{-1})				
	Paraugu Skaitis (n)	Vidējā vērtība / Average	Standart- novirze / Standart- deviation	Minimālā vērtība Min	Maksimālā vērtība Max
Bez mastīta ierosinātāja Without pathogens	69	0.405	0.47	0.00	2.25
Ar mastīta ierosinātāju With pathogens	42	0.400	0.40	0.02	1.60
Kopā / Total	111	0.403	0.44	0.00	2.25

Kā redzams 1.tabulā, vidējās laktoferīna vērtības veselu un inficētu ceturkšņu pienā atšķiras nedaudz, attiecīgi 0.400 (0.40) gl^{-1} un 0.405 (0.47) gl^{-1} . Līdzīgi, kā izvērtējot laktoferīna dinamiku govju pienā sezonālās turēšanas kontekstā, arī šajā gadījumā Lf vērtības svārstās plašā amplitūdā. Gan minimālā Lf vērtība 0.00 $g l^{-1}$, gan maksimālā vērtība 2.25 gl^{-1} , konstatēta veselu ceturkšņu piena paraugos.

Vienfaktora dispersijas analīzes rezultāti liecina, ka piena paraugos ar un bez mastīta ierosinātājiem laktoferīna vidējie rādītāji būtiski neatšķiras ($p>0.05$).

Ir atšķirīgi pētījumu rezultāti par Lf koncentrāciju un tās svārstībām veselā un patogēno mikroorganismu skartajā piena dziedzerī, kas pamatā sniedz informāciju par laktoferīna lomu un koncentrāciju govju klīnisku un akūtu mastītu gadījumos (David et al., 1993; Eckersall et al., 2001; Kai et al., 2003; Krol et al., 2010). Atsevišķos pētījumos analizētas Lf koncentrācijas izmaiņas govju pienā subklīnisku mastītu gadījumos. Izpētīts, ka tesmeņa subklīniska iekaisuma laikā, kā arī cietstāves periodā, laktoferīna koncentrācija govīm pienā var ievērojami palielināties līdz pat desmit reizēm (Kawai et al., 1999; Hagivara et al., 2003), bet klīnisku mastītu gadījumā pat līdz simts reizēm (Korhonen H., Kaartinen L. 1995; Eckersall et al., 2001).

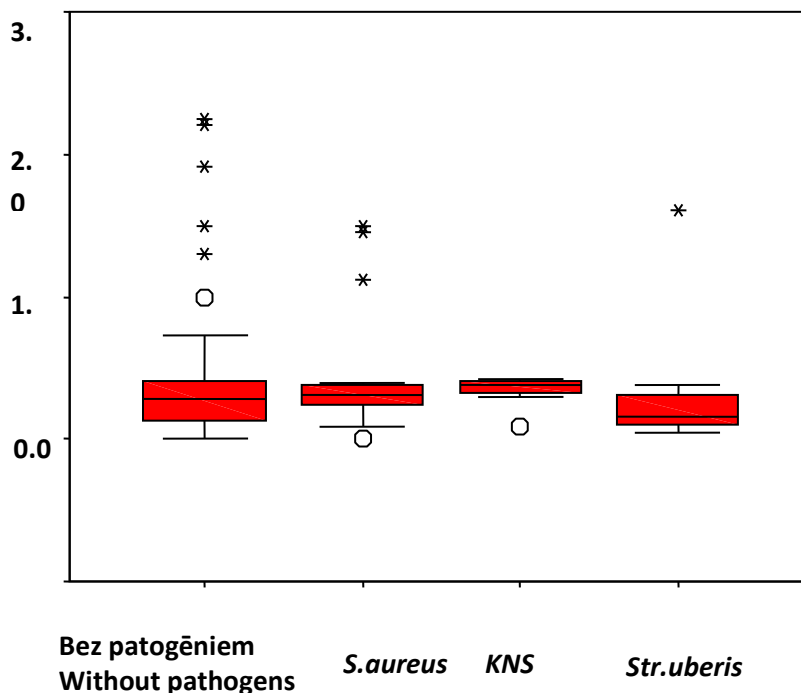
Ir pētījumi, kuros apgalvots, ka Lf koncentrācija subklīnisko un klīnisko mastītu skarto ceturkšņu pienā variē atkarībā no mastītu izraisošajām baktēriju sugām un to patogenitātes, kā arī no iekaisuma stadijas - tā ir ievērojami augstāka akūtu mastītu gadījumos (Kawai et al., 1999; Hagivara et al., 2003). Iespējams, ka mūsu pētījumā, kurā Lf koncentrācija pienā būtiski neatšķiras paraugos ar un bez patogēnajiem ierosinātājiem, skaidrojama ar to, ka pētījuma grupā nebija govīs ar klīniskām vai akūtām tesmeņa iekaisuma pazīmēm.

Pastāv iespēja, subklīniska mastīta skartā ganāmpulkā paaugstinātā laktoferīna koncentrācija neinficētā tesmenī, veic tesmeņa audu seromukozālo aizsardzību, tādējādi ierobežojot patogēno mikroorganismu infiltrāciju tesmeņa audos.

Attēlā 2. norādīta laktoferīna koncentrācija pienā saistībā ar tesmeņu ceturkšņos identificētiem patogēnajiem ierosinātājiem.

Augstāko vidējo vērtību 0.437 (0.440) gl^{-1} laktoferīna koncentrācija sasniedz KNS infekciju gadījumos. *S.aureus* un *Str.uberis* izraisīto subklīnisko tesmeņa iekaisumu laikā Lf vidējās vērtības ir zemākas, attiecīgi ir 0.410 (0.551) gl^{-1} un 0.345 (0.107) gl^{-1} . *Str.uberis* mastīta gadījumā Lf vērtība pienā ir pat zemāka, salīdzinājumā ar veselo ceturkšņu pienu. Jāatzīmē, ka Lf vērtību svārstību amplitūda veselo ceturkšņu pienā ir lielāka, kā inficēto ceturkšņu pienā.

Dispersijas analīzes rezultāti parāda, ka laktoferīna vidējie rādītāji pienā atšķiras būtiski atkarībā no tesmeņu ceturkšņos identificētiem patogēnajiem mikroorganismiem. Tātad mastīta ierosinātāja veids būtiski ietekmē laktoferīna koncentrāciju pienā ($p<0.05$). Arī citos pētījumos iegūtie rezultāti apliecina, ka atsevišķi patogēni tesmenī spēj ievērojami sekmēt Lf koncentrācijas pieaugumu pienā (Korhonen H., Kaartinen L. 1995; Hagiwara et al., 2003, Krol, 2010). Ir izpētīts, ka laktoferīns, kā nozīmīgs govju tesmeņu aizsargfaktors, maz inhibē Streptokokku dzimtas patogēnus to zemās dzelzs nepieciešamības dēļ (Nonnecke, Smith, 1984; Reiter, 1985; Rainard, 1986). Mūsu iegūtie rezultāti apliecina, ka *Str.uberis* infekcijas gadījumā novērojama viszemākā Lf antibakteriālā aktivitāte.



2.attēls. Laktoferīna koncentrācija (gl^{-1}) pienā saistībā ar tesmeņu ceturkšņos identificētiem ierosinātājiem

Figure 2. Lactoferrin amount in milk (gL^{-1}) in relation with the infection of udder quarters

Jāatzīmē, ka *S.aureus* inficēto ceturkšņu piena paraugos konstatētas samērā lielas Lf vērtību svārstības no 0.040 gl^{-1} līdz 1.60 gl^{-1} , kas varētu norādīt uz nozīmīgu individuālā faktora nozīmīgo lomu Lf aktivitātē šīs infekcijas gadījumā. Ir pētījumi, kuru rezultāti liecina, ka Lf svārstību amplitūda ir ļoti plaša gan atsevišķu govju, gan arī ceturkšņu ietvaros. Kutila et al., 2003 izpētīja, ka Lf koncentrācija ievērojami variē atsevišķu govju starpā un, ka Lf koncentrācija būtiski atšķiras govju ceturkšņu ietvaros. Tam iespējami vairāki skaidrojumi: iepriekš pārslimots mastīts kādā no tesmeņa daivām vai sekretorās aktivitātes samazināšanās citu iemeslu dēļ. Harmon (1994) noskaidrojis, ka Lf koncentrācija nozīmīgi korelē ar saražotā piena daudzumu ($P < 0.05$), laktoferīna un piena produktivitātes korelācija ir negatīva.

Lai izanalizētu laktoferīna vērtību svārstības pienā kūtsstāves un ganību periodos saistībā ar tesmeņu ceturkšņu inficētību, veicām sezonas un patogēno ierosinātāju, kā saistītu faktoru izvērtēšanu.

Kūtsstāves periodā inficēto un neinficēto ceturkšņu pienā Lf vidējās vērtības ir līdzīgas, attiecīgi $0.500 (0.560) \text{ gl}^{-1}$ un $0.516 (0.430) \text{ gl}^{-1}$, savukārt ganību periodā vērojama liela atšķirība starp Lf koncentrāciju inficētajos un neinficētajos ceturkšņos, attiecīgi 0.953 gl^{-1} un 0.319 gl^{-1} . Kūtsstāves periodā, salīdzinājumā ar ganību periodu laktoferīna koncentrācija ir ievērojami augstāka neinficētos tesmeņa ceturkšņos, savukārt ganību periodā, salīdzinot ar kūtsstāves periodu, laktoferīna koncentrācija ir ievērojami augstāka inficētos tesmeņa ceturkšņos.

Divfaktoru dispersijas analīzes rezultāti liecina, ka govju sezonālās turēšanas un patogēno mastīta ierosinātāju mijiedarbības efekts laktoferīna daudzumu pienā ietekmē būtiski ($p = 0.037 < 0.05$).

Laktoferīna koncentrācija pienā (gL^{-1}) kūtsstāves un ganību periodos, atkarībā no patogēnā ierosinātāju klātbūtnes ceturksnī
The dynamic of Lactoferrin (gL^{-1}) in milk during the housing and grazing period in relation with the udder infection

Laktoferīns Lactoferrin	Kūtsstāves periods Housing period		Ganību periods Grazing period	
	bez patogēniem without pathogens	ar patogēniem with pathogens	bez patogēniem without pathogens	ar patogēniem with pathogens
Vidējā vērtība Average	0.500	0.516	0.319	0.953
Standartnovirze Standard deviation	0.560	0.430	0.353	0.924
Minimālā vērtība Minimum	0.035	0.152	0.00	0.00
Maksimālā vērtība Maximum	2.250	1.400	0.915	1.600

Kā iepriekš norādījām, ganību periodā SŠS ievērojami pieaug piena paraugos bez patogēniem mikroorganismiem, savukārt laktoferīna koncentrācija neinficēto ceturkšņu pienā augstāka ir kūtsstāves laikā. Iespējams tas apstiprina apgalvojumu, ka laktoferīns tāpat kā somatiskās šūnas tesmenī aktīvi reaģē arī uz tesmeņa audu neinfekciozu kairinājumu (Hagiwara et al., 2003). Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka sezonālās turēšanas un patogēno ierosinātāju mijiedarbība būtiski ($p < 0.05$) ietekmē laktoferīna koncentrāciju pienā.

Iespējams, ka mūsu pētījumā konstatētās paaugstinātās Lf vērtības norāda uz to, ka laktoferīna bakteriostatiskas un baktericīdas iedarbības rezultātā tiek ierobežota tesmeņu infekciju izplatība gan tām govīm, kurām tesmenī identificēti patogēnie mikroorganismi, gan tām, kurām patogēni nav identificēti (Kai et al., 2002; Hagiwara et al., 2003, Krol et al., 2010).

Konstatētais mijiedarbības efekts subklīnisko mastītu skartā ganāmpulkā iespējams norāda gan uz laktoferīna dinamikas sezonālām atšķirībām, saistībā ar govju turēšanu (Zagorska u.c., 2007), gan uz Lf antibakteriālo aktivitāti atsevišķu tesmeņu infekciju gadījumā (Kawai et al., 1999; Hagivara et al., 2003; Korhonen, Kaartinen, 2005), gan to, ka šie faktori (govju sezonālā turēšana un mastītu izraisošie patogēni) savstarpēji mijiedarbojieties nozīmīgi ietekmē govju tesmeņa veselību.

SECINĀJUMI

1. Govju sezonālā turēšana būtiski ietekmē somatisko šūnu skaitu ($p < 0.05$) un laktoferīna koncentrāciju ($p < 0.05$) govju pienā: ganību periodā, salīdzinājumā ar kūtsstāves periodu būtiski pieaug somatisko šūnu skaits govju pienā, savukārt kūtsstāves periodā būtiski palielinās laktoferīna daudzums pienā.
2. Laktoferīna koncentrācija subklīniski inficēto un veselo ceturkšņu pienā būtiski neatšķiras ($p > 0.05$), tomēr atsevišķas patogēnās baktērijas būtiski paaugstina laktoferīna koncentrāciju pienā ($p < 0.05$).
3. Ganību periodā, salīdzinājumā ar kūtsstāves periodu, būtiski palielinās laktoferīna koncentrācija inficēto ceturkšņu pienā ($p < 0.001$) un somatisko šūnu skaits neinficēto ceturkšņu pienā ($p < 0.001$).

4. Laktoferīnam pienā novēro plašu vērtību svārstību amplitūdu, tas iespējams norāda uz dzīvnieka individuālā faktora nozīmīgo lomu imunoloģisko aizsargreakciju formēšanā.

LITERATŪRA

1. Ali-Vehmas T., Sandholm M. (1995) Balance between bacteria and host – the bacteria point of view. In: *The Bovine Udder and Mastitis*. Editors: M.Sndholm., T.Honkanen, T.Honkanen-Buzalski, L.Kaartinen, S.Pyorala. Iyvaskyla, Finland: Gummerus Kirjapaino Oy, p 49-58.
2. Arhipova I., Bāliņa S. (2003) *Statistika Ekonomikā. Risinājumi ar SPSS un Microsoft Excel*. Rīga: Datorzinību centrs. 352 lpp.
3. Baker E.N., Baker H.M., Kidd R.D. (2002) Lactoferrin and transferrin: Functional variations on a common structural framework. *Biochemistry and Cell and Molecular Biology*, No.80, p.27-34.
4. Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J., Beiboer M.L., Benedictus G., Brand A. (1999) Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, Vol. 82, p.1643-1654.
5. Blūzmanis J. (1999) Dažādu faktoru ietekme uz somātisko šūnu daudzumu govs pienā un to samazināšanas iespējas. No: *Latvijas lauksaimniecības zinātniskie pamati*. Galv. red. V.Strīķis. Jelgava: LLU, 7.136 -7.143 lpp.
6. Burveinich C., Guidry A.J., Paape M.J. (1998) Natural defence mechanism of the lacting and dry mammary gland. *Journal of Dairy Science*, Vol.74, p.3-8.
7. Coico R., Sunshine G., Benjamini E. (2003). *Immunology: a shourt course*. 5th edition. New Jersey: John Wiley & Sons.
8. Conha C. (1996) *Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissues and secretion*. National Veterinary Institute Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, p.257-264.
9. David A.D., Paul A.G., Joanne M..M. (1993) Forms of lactoferrin: Their antibacterial effect on enterotoxigenic. *Escherichia coli*. *Journal of Dairy Science*, Vol.76, p.2597-2606.
10. Demelash B., Etana D., Fekadu B. (2005). Prevalence and risk factors of mastitis in lacting dairy cows in Southern Ethiopia. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, Vol.3., No.3, p.189-198.
11. Eckersall P., Young F.J., McComb C., Hogarth C.J., Safi S., Weber A., McDonald T., Nolan A.M., Fitzpatrick J.L. (2001) Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Record*, Vol.148, p.35–41.
12. Elvinger F., Hansen P.J., Natzke R.P. (1991) Modulation of function of bovine polymorphonuclear leukocytes and lymphocytes by high temperature in vitro and in vivo. *American Journal of Veterinary Research*, Vol.52, p.1692-1698.
13. Elvinger F., Natzke R.P., Hansen P.J. (1992) Interactions of heat stress and bovine somatotropin affecting physiology and immunology of lacting cows. *Journal of Dairy Science*, Vol.75, p.449-462.
14. Ekman T. (1998) *A study of dairy herds with constantly low or high bulk milk somatic cell count with emphasis on management*. PhD thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden. 170 p.
15. Fourichon C., Seegers H., Beaudreau F., Bareille N. (2001) Economic losses consecutive to health disorders in dairy farms. In: *52nd Meeting of the European Association of Animal Production*, Budapest, p.26-29.
16. Goldberg J.J, Wildman, Pankey J.W. (1992). The influence of intensively managed rotational grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. *Journal of Dairy Science*, Vol.75, p.96-104.

17. Hagiwara S., Kawai K., Anr A., Nagahat H. (2003) Lactoferrin Concentration in milk from normal and subclinical mastitic cows. *The Journal of Veterinary Medical Science*, No.65, p.319-325.
18. Harmon R.J. (1994) Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, Vol.77, p.2103-2112.
19. Kai K., Komine K-i., Komine Y., Kuroishi T., Kozutsum I.T., Kobayashi J., Ohta M., Kitamur H., Kumagai K. (2002) Lactoferrin stimulates a S.aureus killing activity of bovine phagocytes in the mammary gland. *Microbiology and Immunology*, Vol.46, No.3, p.187-194.
20. Kawai K., Hagiwara S., Anri A., Nagahata, H. (1999) Lactoferrin concentration in milk of bovine clinical mastitis. *Veterinary Research Communications*, Vol.23, p.391-398.
21. Kociņa I, Antāne V. (2000) Praktiskie novērojumi par somātisko šūnu skaita izmaiņām govju pienā. *Veterinārmedicīnas Raksti*, 2000, 84.-89.lpp.
22. Konošonoka I.H. (2005) *Govs piena mikrobiālā kontaminācija un izolētās mikroorganismu asociācijas: promocijas darbs Dr. sc. ing. zin. grāda iegūšanai pārtikas zinātnes nozarē pārtikas kvalitātes apakšnozarē.*; Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas Zinātniskais institūts "Sigra". Sigulda: LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas Zinātniskais institūts "Sigra". 120 lpp.
23. Konuspayeva G, Faye B, Loiseau G, Levieux D. (2007) Lactoferrin and Immunoglobulin contents in camels milk from Kazakhstan. *Journal of Dairy Science*, Vol.90, p.38-46.
24. Korhonen H., Kaartinen L. (1995) Changes in the composition of milk induced by mastitis. In: *The Bovine Udder and Mastitis*. Editors M.Sndholm, T.Honkanen, T.Honkanen-Buzalski, L.Kaartinen, S.Pyorala. Finland: Gummerus Kirjapaino Oy, Iyvaskyla, p.76–82.
25. Krol J, Litvinczuk Z., Brodziak A., Barlowska J. (2010) Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of four breeds of cow's managed under intensive production system. *Polish Journal of Veterinary Science*, Vol.13, No.2, p.357-361.
26. Kutila T., Pyörälä S., Saloniemä H., Kaartinen L. (2003) Antibacterial effect of bovine lactoferrin against udder pathogens. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Vol.44, No.1, p.35-42.
27. Marnila P., Korhonen H. (2002) Immunoglobulins. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. H.Roginski, J.W.Fuquay, P.F.Fox (eds). Vol.3. Amsterdam: Academic Press, p.1950-1956.
28. Nonnecke B.J., Smith K.L. (1984) Inhibition of mastitic bacteria by bovine milk apo-lactoferrin evaluated by in vitro microassay of bacterial growth. *Journal of Dairy Science*, Vol.67, p.606-613.
29. Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K., Carter G.R. (2000) *Clinical veterinary microbiology*. London: Mosby-year book Europe limited, p.120-121.
30. Paape M.J., Wergin W.P., Guidry A.J. (1981) Phagocytic defense of the ruminant mammary gland. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol.137, p.555.
31. Philpot W.N., Nickerson C.S. (1997) *Mastitis: Counter attack*. Louisiana State University Agricultural Center. Louisiana: Bobson Bross Co. 150 p.
32. Rainard P. (1986) Bacteriostatic activity of bovine milk lactoferrin against mastitic bacteria. *Veterinary Microbiology*, Vol.11, p.387-392.
33. Reiter B. (1985) Protective proteins in milk – biological significance and exploitation. *Bulletin of the International Dairy Federation*, No.191, p.1-35.

34. Saloniemi H. 1995. Use of Somatic Cell Count in udder Health Work. In: *The Bovine Udder and Mastitis*. Editors: M.Sandholm, T.Honkanen, T.Honkanen-Buzalski, L Kaartinen, S. Pyorala. Iyvaskyla, Finland: Gummerus Kirjapaino Oy, p.105-110.
35. Sandohm M., Korhonen H. (1995) Antibacterial defence mechanisms of the udder. In: *The Bovine Udder and Mastitis*. Editors: M.Sandholm, T.Honkanen, T.Honkanen-Buzalski, L Kaartinen, S. Pyorala. Iyvaskyla, Finland: Gummerus Kirjapaino Oy, p. 37-48.
36. Schukken, 1992. Ontario bulk milk somatic cell count reduction programmm. *Journal of Dairy Science*, Vol.75, No.12, p. 3352-3358.
37. Schukken Y H; Wilson D J; Welcome F; Garrison-Tikofsky L; Gonzalez R N (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, 34, 579–596.
38. Šterna V. (2005) *Holesterīna dinamikas likumsakarības Latvijas govju pienā saistībā ar šķirnēm un labturību*: promocijas darbs inženierzinātņu doktora zin. grāda iegūšanai pārtikas zinātnē, pārtikas produktu kvalitātes apakšnozarē. Promocijas darbs. Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts "Sigra". Jelgava: LLU. 114 lp.
39. Zagorska J, Ciproviča I, Miķelsone V. (2007) Baktericīdo vielu un antivielu satura izvērtējums dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju pienā, *Latvijas Lauksaimniecības Universitātes Raksti*, Nr.18 (313), 45.-50.lpp.