

# PATOLOGANATOMISKO PARAUGU PLŪSMAS ANALĪZE ZINĀTNISKAJĀ INSTITŪTĀ „BIOR”

## ANALYSIS OF PATHOLOGANATOMIC SAMPLE FLOW IN THE SCIENTIFIC INSTITUTE “BIOR”

**Inga Piginka-Vjačeslavova<sup>1,2</sup>, Līga Ansonsa<sup>1</sup>, Dina Cīrule<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Zinātniskais institūts BIOR, Latvija; Scientific institute BIOR, Latvia

<sup>2</sup> LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija; Faculty of Veterinary Medicine, LLU, Latvia  
[inga.piginka@bior.lv](mailto:inga.piginka@bior.lv)

### ABSTRACT

In the pathology group of Scientific Institute BIOR routinely are tested a lot of different materials from different animal species for different pathological conditions and diseases. Therefore analysis of tested pathological and histological samples can show the tendency of development of new diagnostic techniques, as well it may describe today's actuality of epidemiological situation in veterinary medicine in Latvia. Research carried out from 2003 until 2018 and there were analyzed all pathological samples tested by pathology group. Testing methods include full animal carcass necropsy for determination of the cause of death; also include necropsy performed only for sampling and microscopic investigation of tissues. Highest number of samples was investigated within the control program of oral rabies vaccination for wild animals. National monitoring program for poultry influenza significantly increased the number of bird carcasses necropsies for determination of the cause of death in 2006. In addition, national monitoring program of deer family animals for Chronic wasting disease significantly increased amount of cervid carcasses necropsies performed for sampling in 2018. In conclusion, animal species received for necropsy and the investigation methods are closely related to epidemiological situation in Europe and neighboring countries. The range of histological, histochemical and immunohistochemical examinations has expanded rapidly due to national monitoring programs and due to the demand of practicing veterinarians.

**KEY WORDS:** Animal necropsy, pathologanatomical investigation, histological testing.

### IEVADS

Patologanatomiskā izmeklēšana ir pirmais laboratoriskās izmeklēšanas etaps diagnozes uzstādīšanas procesā. Tieši no pirmās patologanatomiskās apskates, paraugu noņemšanas un, pēc nepieciešamības, arī papildus izmeklēšanas nozīmēšanas, atkarīga precīza diagnozes uzstādīšana un saslimšanas cēloņa noteikšana. Tieši tāpēc 2003. gada maijā toreizējā VVMDC (Valsts veterinārmedicīnas diagnostikas centra) strukturālās reformas ietvaros tika izveidota jauna Patoloģiskās anatomijas un morfoloģijas daļa, kas nodrošināja visu dzīvnieku sugu iesūtītā patoloģiskā materiāla izmeklēšanu. Šajā daļā 2003.gadā patoloģijā darbu uzsāka viens eksperts un viens laborants, taču šobrīd strādā trīs eksperti (divi veterinārārsti un viens zinātņu doktors veterinārmedicīnā), viens pieaicinātais eksperts zinātņu doktors veterinārmedicīnā un trīs laboranti. Pirmie darba uzdevumi bija ieviest TSE histopatoloģisko (hematoksilīns, eozīns) un imūnhistoķīmisko diagnostiku, kā arī molusku slimību histopatoloģisko diagnostiku un pakāpeniski attīstīt citu sugu dzīvnieku slimību noteikšanu, izmantojot patologanatomiskās un histoloģiskās metodes. Darba gaitā palielinājās izmeklējamu paraugu apjoms un izmeklēšanas metodes, kas bija cieši saistīts ar epidemioloģisko situāciju Latvijā un arī Eiropā. Šīs publikācijas mērķis ir izpētīt patologanatomisko paraugu plūsmu Zinātniskajā Institutā BIOR, jo iepriekš šādi dati netika analizēti un publicēti.

## MATERIĀLS un METODIKA

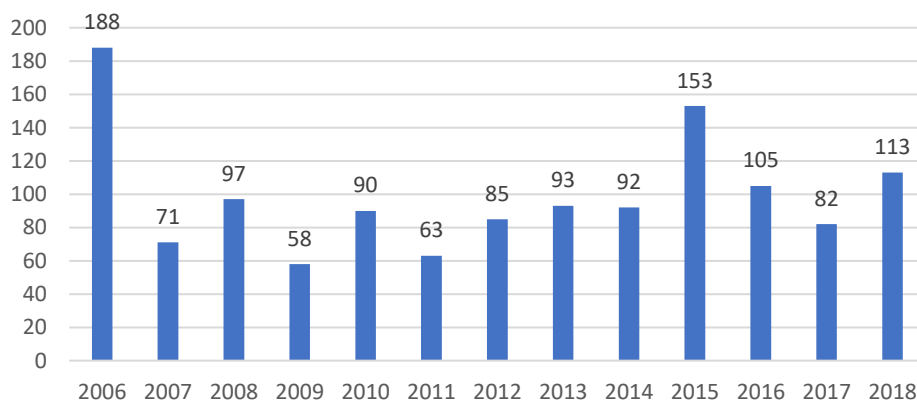
Pētījumā ir apkopoti dati, sākot no 2003. līdz 2018. gadam. Datu analīzei izmantots dzīvnieka liķu vai liķu daļu skaits, kas tika iesūtīti uz dažādiem laboratoriskiem izmeklējumiem. Iesūtītajam materiālam veicām patologanatomisko sekciju, aužu patologanatomisko izmeklēšanu un paraugu atlasītiem izmeklējumiem. Sekcijas veica pēc ZI BIOR izstrādātas metodikas BIOR-T-012-179-2016, kas ir LATAK akreditēta pēc LVS EN ISO/IEC 17025:2017 standarta. Sekcijas tehnika iekļauj secīgu aužu un orgānu izņemšanu no ķermeņa dobumiem aseptiskos apstākļos. Dzīvnieka liķa sekcijas tika veiktas ZI BIOR Rīgas laboratorijā, bet daļējās sekcijas, tikai ar paraugu noņemšanu tālākiem izmeklējumiem, veica arī reģionālajās laboratorijās.

Analizējot paraugu plūsmu aužu mikroskopiskai izmeklēšanai, dažādos gados ZI BIOR Rīgas laboratorijā, tajā tika iekļauta histoloģiskā, citoloģiskā un imūnhistoķīmiskā testēšana, izmantojot dažādas krāsošanas metodes. Histoloģiskā un imūnhistoķīmiskā metodi veica pēc ZI BIOR izstrādātas metodikas BIOR-T-012-134-2012 un BIOR-T-012-119-2011, kas arī ir LATAK akreditētas pēc LVS EN ISO/IEC 17025:2017 standarta.

Datu statistiskai analīzei izmantoja Excel programmu *t*-testu, lai novērtētu parauga plūsmas svārstības būtiskumu starp gadiem histoloģiskajiem izmeklējumiem un dzīvnieku liķu sekcijām.

## REZULTĀTI un DISKUSIJA

Pētījumā analizējām secēto dzīvnieku liķu skaitu, kas tika iesūtīti nāves cēloņa noteikšanai. Būtiski augstāks dzīvnieku liķu sekciju skaits tika konstatēts 2006. un 2015. gados (1.att.). Jāatzīmē, ka tieši 2006. gadā pasaulē bija putnu gripas uzliesmojums, līdz ar to arī Latvijā tika pievērsta pastiprināta uzmanība šīs slimības uzraudzībai. 2006. gadā kopumā tika veiktas 188 dzīvnieku liķu sekcijas, un tieši lielāko secēto dzīvnieku liķu skaitu radīja putni, lai savlaicīgi diagnosticētu saslimšanu ar Putnu gripu. Izmeklēšanu veica kritušajiem mājputniem, kā arī savvaļas putnu liķiem. Iepriekš nekad netika veikta tik plaša savvaļas putnu laboratoriskā diagnostika, kas deva iespēju izmeklēšanas rezultātus apkopot un publicēt zinātniskajā žurnālā (Pigiņka, 2009; Pigiņka-Vjaceslavova et al., 2018).

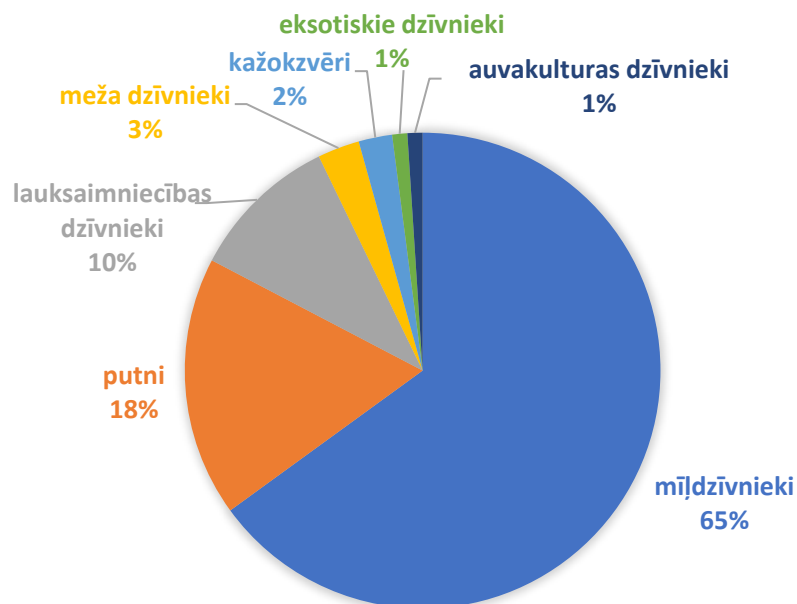


1. attēls. Secēto dzīvnieku liķu skaits nāves cēloņa noteikšanai periodā no 2006.-2018. gadam

Figure 1. Number of necropsies of animal carcasses to determine the cause of death 2006-2018 year

2007. gadā secēto dzīvnieku liķu skaits nāves cēloņa noteikšanai samazinājās, kas bija saistīts ar strauju putnu liķu patologanatomiskās testēšanas samazināšanos uz putnu gripu. Analizējot secēto dzīvnieku liķu sadalījumu pa dzīvnieku grupām, nāves cēloņa noteikšanai

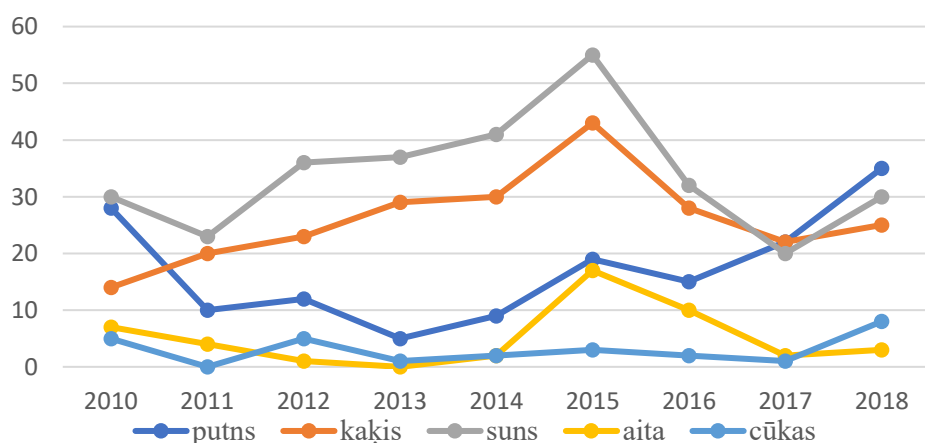
pārējos gados, var secināt, ka būtiski prevalē tieši mīldzīvnieku liķu sekcijas, kas sastāda 65% no visiem sekciju gadījumiem, putnu liķu sekcijas laika periodā no 2010. līdz 2018. gadam bija tikai 18%, bet lauksaimniecības dzīvnieku liķu sekcijas sastādīja tikai 10% no kopējā sekciju skaita (2.att.).



2. attēls. **Sekciju procentuālais daudzums pa dzīvnieku grupām nāves cēlona noteikšanai no 2010.-2018. gadam (n=877)**

Figure 2. **Number of percentage of necropsies to determine the cause of death within different animal groups 2010-2018 (n=877)**

Tā kā ZI BIOR telpas un tehniskais nodrošinājums nav piemērots liela izmēra dzīvnieku liķu sekcijām, tad patologanatomiskās sekcijas pārsvarā veica aitām un cūkām (3.att.).

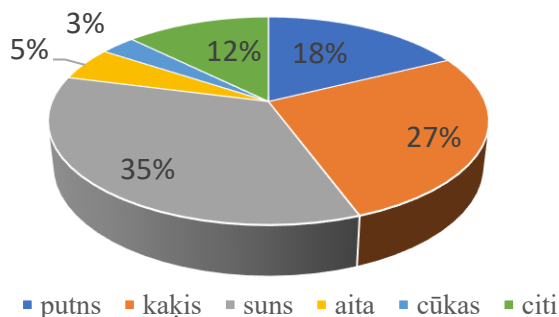


3. attēls. **Biežāko dzīvnieku sugu sekciju skaits nāves cēlona noteikšanai no 2010. -2018. gadam**

Figure 3. **Number of the most common animal species necropsies to determine the cause of death 2010-2018**

No 2012. līdz 2015. gadam būtiski paaugstinājās suņu un kaķu liķu sekciju skaits, bet 2018. gadā suņu, kaķu un putnu sekciju savstarpējais skaits relatīvi pietuvinājās (3.att.). Tas saistīts ar suņu liķu sekciju skaita samazināšanos un vienlaicīgu patologanatomiskās diagnostikas pieprasījuma palielināšanos dažādos putnu krišanas gadījumos (3.att.).

Apkopojot visas dzīvnieku sugas, kurām veikta patoloģiskā izmeklēšana, kopumā suņu liķu sekcijas sastāda 35%, kaķu – 27%, putnu – 18%, aitu – 5%, cūku – 3% un 12% gadījumu sekcijas veiktas citām dzīvnieku sugām (4.att.), tādām kā, pitons, bruņurupucis, somainā cauna, ķengurs, burunduks, āpsis, vāvere, šinšila, mājas sesks, alpaka, bebrs, zivis, ronīs un citi.



4.attēls. **Dzīvnieku sugu procentuālais daudzums nāves cēlona noteikšanai 2010.-2018. g.**  
(n=877)

Figure 4. **Number of percentage to determine the cause of death in different animal species 2010-2018 (n=877)**

Papildus dzīvnieku liķiem vai to atsevišķām daļām veica sekcijas tikai ar mērķi iegūt paraugus speciālajiem izmeklējumiem, tostarp – bakterioloģiskiem, mikoloģiskiem, virusoloģiskiem, seroloģiskiem, parazitoloģiskiem, histoloģiskiem un ķīmiskiem. Kopējais sekciju skaits paraugu atlasei svārstās no 2996 sekcijām 2012. gadā un 1074 sekcijām 2017. gadā (1.tab.). Šīs sekciju skaita svārstības cieši saistītas ar Pārtikas un veterināra dienesta (PVD) valsts uzraudzības programmām un epidemioloģisko situāciju Eiropā un kaimiņvalstīs.

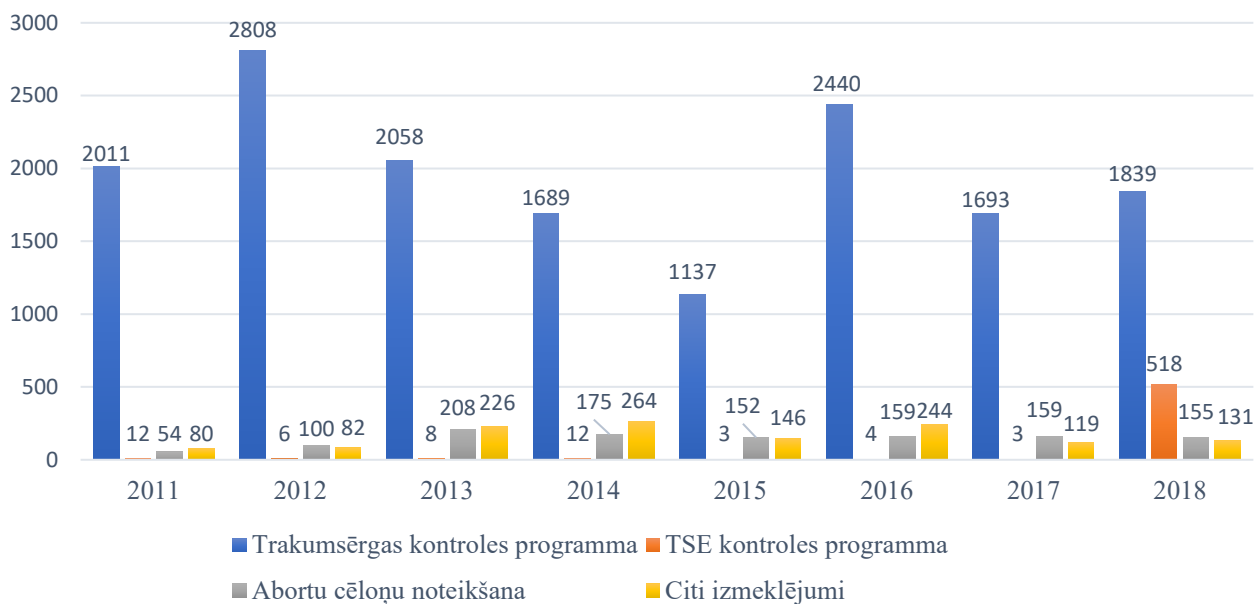
1.tabula / Table 1

**Sekciju skaits tikai paraugu atlasei**  
**Number of necropsies performed only for sampling**

Gads/Year	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Secēto dzīvnieku liķu skaits ZI BIOR laboratorijā	481	912	1471	903	416	775	104	1608
Secēto dzīvnieku liķu skaits ZI BIOR reģionālajās laboratorijās	1676	2084	1029	1237	1022	2072	970	1035
Secēto dzīvnieku liķu skaits kopā visam ZI BIOR	2157	2996	2500	2140	1438	2847	1074	2643

Daļējās dzīvnieku sekcijas tikai paraugu atlasei speciāliem izmeklējumiem pārsvarā veic PVD dzīvnieku infekcijas slimību valsts uzraudzības programmu ietvaros. Visapjomīgākā ir trakumsērgas kontroles programma (5.att.). Kā zināms, trakumsērga ir bīstama un letāla zoonoze. 1982., 1986., 1993., 1996. un 2003. gadā Latvijā ar trakumsērgu bija saslimšanas un nāves gadījumi cilvēkiem. Neskatoties uz to, ka lapsu orālā vakcinācija pret trakumsērgu Latvijā tika uzsākta jau 1991. gadā, 2000. gadā strauji palielinājās dzīvnieku saslimstība ar trakumsērgu un 2003. gadā sasniedza visaugstāko trakumsērgas intensitāti, t.i. 964 gadījumi (Valsts galvenā pārtikas un veterinārā inspektora 2016. gada 26. februāra rīkojums nr.39.).

Uzliesmojums bija saistīts ar to, ka savvaļas dzīvnieku vakcinācija tika veikta tikai atsevišķās rajonu teritorijās. Sākot no 2006. gada, orālā vakcinācija tika veikta jau visas valsts teritorijā.



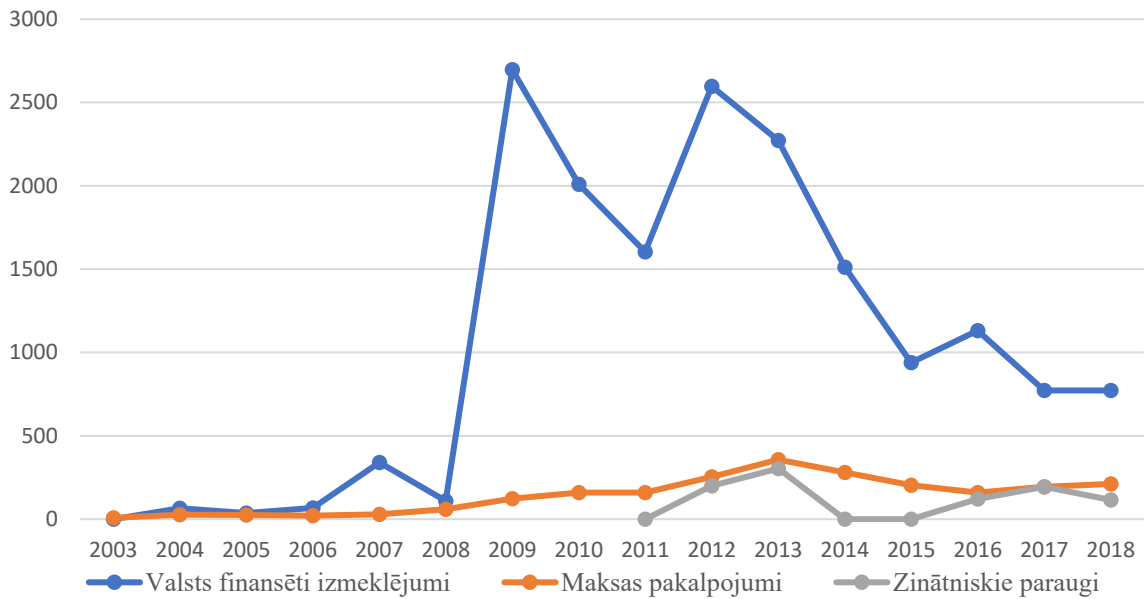
5.attēls. Sekciju skaits tikai paraugu atlasei dažādiem izmeklējuma veidiem  
Figure 5. Number of necropsies performed only for sampling for different testing

Pēdējie trīs trakumsērgas saslimšanas gadījumi dzīvniekiem tika konstatēti 2012. gadā (Valsts galvenā pārtikas un veterinārā inspektora 2016. gada 26. februāra rīkojums nr.39.). Tieši 2012. gadā arī novēroja vislielāko dzīvnieku liķu sekciju skaitu trakumsērgas kontroles programmas ietvaros, t.i. 2808 sekcijas, turpretī vismazāko sekciju skaitu šīs programmas ietvaros novēroja 2015. gadā – 1137 gadījumi (5.att.). Iespējams, tas ir saistīts ar to, ka tieši 2015. gadā Latvija oficiāli tika atzīta par brīvu no trakumsērgas. Neskatoties uz to, secēto dzīvnieku liķu skaits trakumsērgas programmas ietvaros turas ievērojami augsts. Šo sekciju laikā iegūst kaulaudu un asins paraugus trakumsērgas orālās vakcinācijas kontrolei vai galvas smadzeņu paraugus trakumsērgas vīrusa noteikšanai.

Jāatzīmē, ka 2018.gadā būtiski paaugstinājās secējamo dzīvnieku liķu skaits transmisīvās sūkļveida encefalopātijas (TSE) programmas ietvaros un sastādīja 518 gadījumus (5.att.). Tas ir saistīts ar hroniskās novājēšanas slimības (HNS) uzliesmojumu briežveidīgo dzimtas dzīvniekiem Ziemeļeiropas valstīs. Hroniskās novājēšanas slimība tiek uzskatīta par vienu no TSE grupas slimību. Šobrīd nav datu par to, ka cilvēks var arī inficēties ar HNS, bet slimo dzīvnieku gaļas un citu audu izmantošana pārtikā ir aizliegta. Slimība konstatēta ziemeļbriežiem, aļņiem un staltbriedim Norvēģijā 2016. gadā, Somijā 2018. gadā un Zviedrijā 2019. gadā (Valsts galvenā pārtikas un veterinārā inspektora 29.05.2019. rīkojums Nr. 86).

No 2013. gada līdz 2018. gadam novēro relatīvi vienādu secēto dzīvnieku abortēto augļu skaitu, tas svārstās no 152 līdz 208 sekcijām gadā (5.att.). Lai noteiktu aborta cēloņus, tiek iegūti iekšējo orgānu paraugi virusoloģiskai un bakterioloģiskai izmeklēšanai.

Analizējot histoloģiskos izmeklējumus pēc finansējuma veida, rezultāti apkopoti 6. attēlā. Valsts finansētie izmeklējumi būtiski prevalē pār citiem izmeklējuma veidiem no 2008.-2018. gadam (6.att.). Valsts finansētie histoloģiskie izmeklējumi iekļauj sevī tetraciklīna noteikšanu kaulaudos trakumsērgas orālās vakcinācijas iezīmju noteikšanai un TSE klīniski aizdomīgo dzīvnieku kontroli.



6.attēls. Histoloģisko paraugu skaita sadalījums pēc finansējuma veida 2003.-2018. g.  
Figure 6. Distribution of histological samples by type of funding 2003-2018

Nākamais pētījuma posms bija salīdzināt mikroskopiskās izmeklēšanas iespējas VVMDC Patoloģiskās anatomijas un morfoloģijas daļas izveidošanās sākumā 2003. gadā un ZI BIOR Patoloģijas grupā 2018. gadā (laika gaitā mainījās struktūras nosaukums), informācija apkopota 2.tabulā.

Audu mikroskopiskās izmeklēšanas testēšanas iespēju salīdzinājums parādīja, ka 15 gadu laikā tika sekmīgi attīstīti valsts uzraudzības programmās nepieciešamie izmeklējumi, kā arī papildus diagnostikas metodes, kas dod iespēju sniegt plašāku informāciju par izmaiņām dzīvnieku audos.

Vērtējot audu mikroskopiskās izmeklēšanas veidus dažādu gadu griezumos, var atzīmēt atsevišķus izmeklējumu veidus, kurus izmantoja īsu periodu, piemēram, vēžveidīgo slimību noteikšana tika veikta tikai 2010. un 2011. gados un citoloģiskie izmeklējumi 2010.-2014. gadam (3.tab.). Vēžveidīgo slimību histoloģiskās izmeklēšanas pārtraukšana varētu būt saistīta ar valsts finansējuma trūkumu, bet citoloģisko izmeklējumu pārtraukšana saistīta ar cilvēkresursu maiņu un nepietiekamu nodrošinājumu laboratorijā.

2.tabula / Table 2

**Audu mikroskopiskās izmeklēšanas testēšanas veidi un mērķi 2003. un 2018. gadā**  
**Tissue microscopical investigation types and aims in 2003 and in 2018**

Gads / Year	Krāsošanas veids / Staining type	Izmeklēšanas mērķis / Aim of investigation
2003	1.Klasiskā krāsošanas metode: - Hematoksilīns un eozīns	Audu morfoloģiskā novērtēšana
2018	1.Klasiskā krāsošanas metode: - Hematoksilīns un eozīns 2.Histoķīmijas krāsošanas metodes: - PAS - <i>Perls'</i> - Gimzas - Trichrome ( <i>Masson</i> ) - Cīla-Nilsena - Grama 3.Imūnhistoķīmijas krāsošanas metodes: - Specifisko antigēnu noteikšana 4.Luminiscences mikroskopijas metode 5.Diatoma ekstrakcijas metodes	Audu morfoloģiskā novērtēšana Dzīvnieka vecuma noteikšana Glikogēna, mukoproteīdu un mikožu pierādīšana audos Dzelzs sāļu noteikšana Baktēriju un mikroskopisko sēņu noteikšana, piemēram, <i>Helicobacter pylori</i> Baktēriju diferenciacija uz grampozitīvām un negatīvām baktērijām Histamīna noteikšana Muskuļaudu un kolagēno šķiedru vizualizēšana Skābju izturīgo mikroorganismu (mikobaktēriju, <i>Nocardia asteroides</i> ) noteikšana Transmisīvās sūkļveida encefalopātijas noteikšana Tetraciklīna noteikšana Cūku cirkovīrusa-2 antigēna noteikšana Ki67, CD3, CD79α marķieru noteikšana Estrogēna un progesterona receptoru noteikšana Planktonu pēdas audos noslīkšanas gadījumā

3.tabula / Table 3

**Mikroskopiskās izmeklēšanas paraugu skaits no 2010.-2018. gadam**  
**Number of samples for microscopical investigation 2010 - 2018**

Finansējuma veids/ Type of funding	Izmeklēšanas veids / Investigation type	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Valsts finansējums	Tetraciklīna noteikšana trakumsērgas orālās vakcinācijas ietvaros	1949	1536	2577	2250	1473	933	1124	773	766
	TSE noteikšana (HE un IHĶ)	10	19	20	22	38	6	8	0	6
	Vēžveidīgo slimību noteikšana	50	49	0	0	0	0	0	0	0
Maksas pakalpojums	Viena orgāna/audu biopsija	99	114	196	285	258	157	138	150	180
	Citoloģiskie izmeklējumi	3	26	35	54	0	0	0	0	0
	Nāves cēloņa noskaidrošana	57	19	23	18	23	47	22	44	32
Zinātnes bāzes finansējums	Zinātniskie paraugi (HE un IHĶ)	0	0	200	304	0	0	121	194	115

HE – Hematoksilīns un eozīns; IHĶ – Imūnhistoķīmiskā metode

Papildus metožu uzturēšanai un personāla kompetences nodrošināšanai, regulāri jāpiedalās starplaboratoriju salīdzinošajā testēšanā (4. tab.). Vislielākais paraugu skaits tika

testēts TSE noteikšanai, izmantojot klasisko histoloģijas metodi un specifisko imūnhistoķīmisko metodi.

4.tabula / Table 4

**Starplaboratoriju salīdzinošā testēšana no 2003.-2018. gadam  
Interlaboratory proficiency test 2003 -2018**

<b>Izmeklēšanas veids / Investigation type</b>	<b>Paraugu skaits / Number of samples</b>	<b>Izmeklēšanas gads / Years of testing</b>
TSE noteikšana (HE un IHĶ)	789	2003-2018
Trakumsērgas orālās vakcinācijas ietvaros tetraciklīna iezīmju un dzīvnieka vecuma noteikšanai	32	2010, 2014, 2017
Tuberkulozes noteikšana (HE un CN)	12	2016
Gliemju slimību noteikšana	30	2004

CN – Čīla-Nilsena metode; HE – Hematoksilīns un eozīns; IHĶ – Imūnhistoķīmiskā metode

### SECINĀJUMI

1. Patologanatomisko paraugu daudzumu un veidu stipri ietekmē epidemioloģiskā situācija Latvijā, kaimiņvalstīs un Eiropā.
2. Histoloģisko, histoķīmisko un imūnhistoķīmisko izmeklējumu diapazons ir strauji paplašinājies, pateicoties valsts finansētām uzraudzības programmām un praktizējošo veterinārārstu pieprasījumam.

### LITERATŪRA

1. Pigiņka-Vjaceslavova I., Ansonka L., Bartkevičs V., Avsejenko J. (2018) The levels of lead and organochlorine pesticides in the wild eagles and the impact on tissues. *Proceedings of 41st NSVP (Nordic society for veterinary pathology) Symposium and Meeting*, Uppsala, Sweden.
2. Pigiņka I. (2009) Wild birds' laboratory investigation in Latvia. *Journal of Acta biologica Universitatis Daugavpiliensis*,1, pp.103-107.
3. Zemkopības ministrija pārtikas un veterinārais dienesta trakumsērgas valsts uzraudzības un apkarošanas programma. Valsts galvenā pārtikas un veterinārā inspektora 2016.gada 26.februāra rīkojums nr.39.
4. [https://www.zm.gov.lv/public/files/CMS\\_Static\\_Page\\_Doc/00/00/00/75/88/TRAKUMS ERGAS APKAROSANAS PROGRAMMA\\_2016.pdf](https://www.zm.gov.lv/public/files/CMS_Static_Page_Doc/00/00/00/75/88/TRAKUMS_ERGAS_APKAROSANAS_PROGRAMMA_2016.pdf)
5. Zemkopības ministrija pārtikas un veterinārais dienesta Hroniskās novājēšanas slimības valsts uzraudzības un apkarošanas programma. Valsts galvenā pārtikas un veterinārā inspektora 29.05.2019.rīkojums Nr. 86.
6. [https://www.zm.gov.lv/public/files/CMS\\_Static\\_Page\\_Doc/00/00/01/32/34/HNS\\_Programma\\_2019.pdf](https://www.zm.gov.lv/public/files/CMS_Static_Page_Doc/00/00/01/32/34/HNS_Programma_2019.pdf)