



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (Π.Μ.Σ.)

«Καινοτόμα Συστήματα Αειφόρου Αγροτικής Παραγωγής»

Κατεύθυνση: Συστήματα Ακριβείας στη Ζωική Παραγωγή

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ
ΔΙΑΡΡΟΙΑ ΤΩΝ ΜΟΣΧΩΝ ΛΟΓΩ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΜΕ
*CRYPTOSPORIDIUM SPP.***

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Β. ΑΡΣΕΝΟΠΟΥΛΟΣ

(D.V.M., M.Sc.)

Επιβλέπων Καθηγητής: Ηλίας Γ. Παπαδόπουλος

(D.V.M., M.Sc., Ph.D., Dip. E.C.S.R.H.M., Dip. E.V.P.C.)

Θεσσαλονίκη, 2018

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (Π.Μ.Σ.)

«Καινοτόμα Συστήματα Αειφόρου Αγροτικής Παραγωγής»

Κατεύθυνση: Συστήματα Ακριβείας στη Ζωική Παραγωγή

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ
ΔΙΑΡΡΟΙΑ ΤΩΝ ΜΟΣΧΩΝ ΛΟΓΩ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΜΕ
*CRYPTOSPORIDIUM SPP.***

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Β. ΑΡΣΕΝΟΠΟΥΛΟΣ

(D.V.M., M.Sc.)

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Ηλίας Παπαδόπουλος, Καθηγητής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή
Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

ΜΕΛΟΣ: Αναστασία Φούντα, Καθηγήτρια, Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων, Σχολή
Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, Αλεξάνδρειο
Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης

ΜΕΛΟΣ: Αριστοτέλης Λυμπερόπουλος, Καθηγητής, Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων,
Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής,
Αλεξάνδρειο Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης

Θεσσαλονίκη, 2018

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

*Στους Βησσαρίωνα, Αρετή και Απόστολο για την
αμέριστη συμπαράσταση*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η έρευνα αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Παρασιτολογίας και Παρασιτικών Νοσημάτων, του Τμήματος Κτηνιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.) υπό την επίβλεψη και την αρωγή του επιβλέποντα καθηγητή, κ. Ηλία Παπαδόπουλου, τον οποίο και ευχαριστώ θερμά για τη συνεχή επιστημονική καθοδήγηση, την άριστη συνεργασία, το ειλικρινές ενδιαφέρον καθώς και για την άμεση ανταπόκρισή του, οποτεδήποτε προέκυπτε κάποιο πρόβλημα κατά την εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής. Ιδιαίτερες ευχαριστίες εκφράζω στην καθηγήτρια Παρασιτολογίας και Παρασιτικών Νοσημάτων, του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων, της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης (Α.Τ.Ε.Ι.Θ.), κα. Αναστασία Φούντα, για την πολύτιμη συνεργασία καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών καθώς και για τις ουσιαστικές συμβουλές της κατά την συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Αναπαραγωγής, του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων, της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης (Α.Τ.Ε.Ι.Θ.) κ. Αριστοτέλη Λυμπερόπουλο για την εξαιρετική συνεργασία, την πολύτιμη βοήθεια, τις εύστοχες υποδείξεις του καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, καθώς και για τη συνεχή ηθική υποστήριξη. Επιπλέον, ευχαριστώ θερμά τον επίκουρο καθηγητή, του τομέα της Οικονομίας Ζωικής Παραγωγής και Εφαρμοσμένης Στατιστικής, του Τμήματος Κτηνιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.) κ. Αλέξανδρο Θεοδωρίδη για τη σημαντική καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια της στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων.

Ένα θερμό ευχαριστώ στους φίλους, συναδέλφους και συμφοιτητές του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών, του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων, της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης (Α.Τ.Ε.Ι.Θ.) για τη διαρκή βοήθειά τους αλλά και για το ιδιαίτερα φιλικό κλίμα στο πλαίσιο των παραδόσεων. Σημαντική ήταν, επίσης, η βοήθεια της κτηνιάτρου, κας. Βάιας-Νόρας

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

Αντίστα στην περάτωση των μεταπτυχιακών σπουδών, την οποία και ευχαριστώ ιδιαίτερα για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή της.

Σε αυτό το σημείο, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, Βησσαρίωνα και Αρετή και τον αδελφό μου, Απόστολο, για την αγάπη και την αμέριστη συμπαράστασή τους, με κάθε δυνατό τρόπο, ιδιαίτερα στις δύσκολες στιγμές κατά τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής διατριβής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διάρροια των μόσχων είναι ένα σύνδρομο των νεαρών (<1 μήνα) μόσχων που οφείλεται στο συνδυασμό λοιμωδών και μη λοιμωδών αιτιών. Το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. αποτελεί ένα από τα πιο συχνά αίτια διαρροϊκών κοπράνων σε μόσχους, αυτής της ηλικίας. Η ορθή διαχείριση του πρωτογάλακτος συμβάλλει στην επαρκή παθητική μεταφορά αντισωμάτων στους νεογέννητους μόσχους και κατά συνέπεια, στη μείωση των περιστατικών διάρροιας από *Cryptosporidium* spp. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση της ποιότητας και της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος έναντι της προκαλούμενης από *Cryptosporidium* spp. διάρροιας καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (διαφορετικές εποχές), σε μια ελληνική εκτροφή γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, στην οποία εφαρμόζεται το εντατικό σύστημα εκτροφής. Δείγματα κοπράνων συλλέχθηκαν τυχαία από 100 μόσχους μίας εκτροφής, καθ' όλη τη διάρκεια του έτους 2016. Ο έλεγχος της πιθανής ύπαρξης ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. πραγματοποιήθηκε με την χρώση Ziehl-Nielsen σε επιχρίσματα κοπράνων. Κατά τη συλλογή τους, η σύσταση του κάθε δείγματος κοπράνων καταγράφηκε ως εξής: (1) κανονικά κόπρανα, (2) μαλακά κόπρανα και (3) υδαρή κόπρανα. Η ποιότητα του πρωτογάλακτος αξιολογήθηκε για κάθε αγελάδα, αμέσως μετά τον τοκετό, με τη βοήθεια ενός μετρητή πρωτογάλακτος (colostrum meter). Ο συνολικός όγκος των 2 πρώτων γευμάτων πρωτογάλακτος, καταγράφηκε με τη βοήθεια ενός βαθμονομημένου ογκομετρικού κυλίνδρου. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του λογισμικού SPSS (version 23.0). % Τα εξετασθέντα δείγματα κοπράνων σε ποσοστό 71% βρέθηκαν θετικά στο πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. Η στατιστική ανάλυση έδειξε επίδραση της ποιότητας του πρωτογάλακτος στον αριθμό των εν λόγω παρασίτων στα κόπρανα. Η γραμμική παλινδρόμηση έδειξε αρνητική συσχέτιση της ποσότητας του πρωτογάλακτος, κατά τη διάρκεια της πρώτης ημέρας της ζωής των μόσχων, με τον αριθμό των *Cryptosporidium* spp. στα κόπρανα. Τόσο η ποιότητα του πρωτογάλακτος όσο και η εποχή γέννησης των μόσχων φάνηκε να αλληλεπιδρούν στον αριθμό των αποβαλλόμενων με τα κόπρανα ωοκύστεων του παρασίτου. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι η μόλυνση με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp., στη συγκεκριμένη εκτροφή, βρέθηκε σε

υψηλά ποσοστά και η παρουσία του συνδέθηκε με μεγάλη πιθανότητα εμφάνισης διαρροϊκών κοπράνων. Η ορθή διαχείριση του πρωτογάλατος (ποιότητα-ποσότητα) και η εποχή του έτους επηρέασαν τον αριθμό των *Cryptosporidium* spp. καθώς και τη σύσταση των κοπράνων. Η μελέτη μας απέδειξε ότι παράγοντες κινδύνου, όπως η ποιότητα και η ποσότητα του πρωτογάλατος, καθώς και η εποχή, μπορούν να επηρεάσουν τον αριθμό των *Cryptosporidium* spp. καθώς και τη σύσταση των κοπράνων. Τα παραπάνω ευρήματα παρουσίασαν νέους παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι θα πρέπει να συμπεριληφθούν στις στρατηγικές για τον έλεγχο και την πρόληψη της κρυπτοσποριδίωσης.

Λέξεις Ευρετηρίασης

Cryptosporidium spp., διάρροια μόσχων, ποιότητα πρωτογάλατος, ποσότητα πρωτογάλατος, εποχή

SUMMARY

Neonatal calf diarrhea is a syndrome of young calves aged less than 1 month old, provoked by the combination of infectious and non infectious causes. *Cryptosporidium* spp. as well as rotaviruses are the most commonly found causes in cases of diarrheic fecal samples. Colostrum management is the most important preventive measure, leading to adequate passive transfer to the newborn calves and thus, to the reduction of the neonatal diarrhea, including *Cryptosporidium* spp. The aim of this study was to assess the effect of colostrum quality and quantity on *Cryptosporidium* spp. diarrhea, during different seasons of the year, in an intensive dairy cattle farm, in Greece. Fecal samples were, randomly, collected from 100 calves, including all seasons of the year 2016. Screening for *Cryptosporidium* spp. oocysts was performed by staining fecal smears with Ziehl-Nielsen stain. At the time of collection, the consistency of each fecal sample was recorded according to the following manner: (1) normal feces, (2) soft feces and (3) watery feces. Colostrum quality was evaluated for each cow (with a calf included in the study) directly after the parturition, with the help of a colostrum meter. The total volume of the two colostrum meals, fed during the first 24 hours, was recorded using a graduated measuring cylinder. Both parametric and non-parametric statistical methods were applied for the statistical evaluation of the data. All analyses were conducted using the statistical software program SPSS. In total, 71% calves were positive for *Cryptosporidium* spp. oocysts. The statistical analysis revealed influence of colostrum quality on *Cryptosporidium* spp. oocysts shedding through feces. Linear regression showed that the colostrum quantity, during the first two meals *post partum*, was negatively associated with the number of *Cryptosporidium* spp. oocysts in feces. During multivariable analysis, the variables representing the quality of colostrum and the season of the calf's birth were identified as confounders. The results of this study showed that the percentage of *Cryptosporidium* spp. infection was high among young dairy calves of the herd, leading to high risk of diarrhea. Colostrum management (colostrum quality and quantity) and season of the calf's birth influenced the number of *Cryptosporidium* spp. oocysts. Our study proved that risk factors such as the colostrum quality and quantity, as well as the season, can affect the *Cryptosporidium* spp.

shedding and the consistency of the feces. The above findings demonstrate novel risk factors that should be included in the strategic approaches to control cryptosporidiosis.

Key Words

Cryptosporidium spp., neonatal calf diarrhea, colostrum quality, colostrum quantity, season

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κεφ.	Τίτλος	Σελ.
	ΑΦΙΕΡΩΣΗ	i
	ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	ii
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	iv
	SUMMARY	vi
	ΕΙΚΟΝΕΣ	x
	ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ	x
	ΠΙΝΑΚΕΣ	xi
	ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ	xi
	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.	ΔΙΑΡΡΟΙΑ ΝΕΟΓΕΝΝΗΤΩΝ ΜΟΣΧΩΝ	2
2.	ΤΟ ΠΡΩΤΟΖΩΟ ΠΑΡΑΣΙΤΟ <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	3
2.1.	ΓΕΝΙΚΑ	3
2.2.	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ	3
2.3.	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	4
2.4.	ΕΙΔΗ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ	4
2.5.	ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΚΡΥΠΤΟΣΠΟΡΙΔΙΩΣΗΣ	4
2.6.	ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	5
3.	ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ	7
3.1.	ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ	8
3.2.	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ	10
4.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	12
4.1.	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	12
4.2.	ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΤΗΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	12
4.3.	ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ	13
4.4.	ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΓΙΑ ΩΟΚΥΣΤΕΙΣ <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	13
4.5.	ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΓΙΑ ΡΟΤΑΙΟ, ΚΟΡΟΝΑΙΟ ΚΑΙ <i>ESCHERICHIA COLI K99</i>	14
4.6.	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ	14
4.7.	ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ	14
4.8.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	15

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

5.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	16
5.1.	ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	16
5.2.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΡΟΤΑΙΟΥ, ΚΟΡΟΝΑΙΟΥ ΚΑΙ <i>ESCHERICHIA COLI K99</i>	16
5.3.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	17
5.4.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	17
5.5.	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΟΧΗΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΣΧΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	18
6.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	19
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	25
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	26
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	32

ΕΙΚΟΝΕΣ

Εικ.	Τίτλος	Σελ.
2.1	Ωοκύστεις <i>Cryptosporidium</i> spp.	32
2.2	Σποροζώδια <i>Cryptosporidium</i> spp.	32
2.3	Ο βιολογικός κύκλος του πρωτόζωου παρασίτου <i>Cryptosporidium</i> spp.	33
2.4	Διάρροια των νεογέννητων μόσχων οφειλόμενη σε μόλυνση με <i>Cryptosporidium</i> spp.	33
2.5	Υδαρή κόπρανα μόσχων λόγω μόλυνσης με <i>Cryptosporidium</i> spp.	34
2.6	Ωοκύστεις του πρωτόζωου παρασίτου <i>Cryptosporidium</i> spp. σε επίχρισμα κοπράνων, το οποίο έχει βαφεί με τη χρώση Ziehl-Nielsen (x100)	34
4.7	Ατομική διαβίωση των γαλουχούμενων μόσχων (0-2 μηνών) σε εκτροφή γαλακτοπαραγωγών αγελάδων	35
4.8	Συλλογή των ατομικών δειγμάτων κοπράνων μέσα σε αποστειρωμένο γάντι	35
4.9	Κόπρανα μόσχων με φυσιολογική σύσταση	36
4.10	Κόπρανα μόσχων με μαλακή σύσταση	36
4.11	Κόπρανα μόσχων με υδαρή σύσταση	37
4.12	«Test kit Bovine Feces (BIO 156)» της εταιρείας MSD	37
4.13	Μετρητής πρωτογάλακτος (colostrum meter)	38
4.14	Βαθμονομημένος ογκομετρικός κύλινδρος	38

ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

Γραφ.	Τίτλος	Σελ.
5.1	Σχηματική παράσταση της κατανομής των θετικών και αρνητικών στο <i>Cryptosporidium</i> spp. δειγμάτων κοπράνων, αναλόγως της σύστασής τους (φυσιολογικά, μαλακά, υδαρή)	39
5.2	Γράφημα το οποίο δείχνει τη σχέση μεταξύ της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος και του αριθμού των <i>Cryptosporidium</i> spp.	39

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πιν.	Τίτλος	Σελ.
5.1	Μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου <i>Cryptosporidium</i> spp. ανά κατηγορία σύστασης κοπράνων (φυσιολογικά, μαλακά, υδαρή) των γαλουχούμενων μόσχων (%)	40
5.2	Μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου <i>Cryptosporidium</i> spp. ανά ποιότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος	40
5.3	Αλληλεπίδραση της ποιότητας του πρωτογάλακτος και της εποχής γέννησης των μόσχων, στον αριθμό των ωκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου <i>Cryptosporidium</i> spp.	41

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

- **Δ.Ν.Μ.:** Διάρροια νεογέννητων μόσχων
- **Ελ.Π.Α.:** Ελλιπής παθητική ανοσία
- **Ε.Π.Α.:** Επαρκής παθητική ανοσία
- **IgG:** Ανοσοσφαιρίνες της κλάσης G
- **B.V.D.:** Ιογενής διάρροια των βοοειδών
- **I.B.R.:** Λοιμώδης ρινοτραχειίτιδα των βοοειδών
- **ETEC:** Εντεροτοξινογόνο στέλεχος *Escherichia coli*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διάρροια των νεογέννητων μόσχων είναι ένα σύνδρομο, το οποίο εμφανίζεται σε γαλουχούμενους μόσχους, ηλικίας μικρότερης του ενός μήνα και οφείλεται τόσο σε λοιμώδη όσο και σε μη λοιμώδη αίτια. Ένα από τα σημαντικότερα λοιμώδη αίτια, του διαρροϊκού συνδρόμου των νεογέννητων μόσχων, είναι το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. Η κρυπτοσποριδίωση αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα των ελληνικών εκτροφών γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, γι' αυτό όλες οι προσπάθειες για την μείωσή της επικεντρώνονται στην πρόληψη. Η ορθή διαχείριση του πρωτογάλακτος (ποιότητα και ποσότητα) αποτελεί καθοριστικό προληπτικό βήμα, το οποίο εγγυάται τόσο την μείωση των κλινικών συμπτωμάτων του νοσήματος όσο και την εξασφάλιση της γενικότερης υγείας των νεογέννητων μόσχων.

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή αποτελείται από δύο μέρη. Στο πρώτο μέρος παρουσιάζονται κάποιες χρήσιμες πληροφορίες και ιδιαιτερότητες για το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. ενώ γίνεται προσπάθεια ώστε να καθοριστεί η πιθανή επίδραση της ποιότητας και της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος στη μείωση του διαρροϊκού συνδρόμου των νεογέννητων μόσχων, εξαιτίας της μόλυνσης με το συγκεκριμένο παράσιτο. Στο δεύτερο μέρος, περιγράφεται η δική μας έρευνα και συγκεκριμένα, ο τρόπος οργάνωσής της, η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την συλλογή και απόκτηση των δεδομένων της (συλλογή δειγμάτων κοπράνων, μέτρηση της ποιότητας και της ποσότητας του πρωτογάλακτος), καθώς και η μέθοδος της στατιστικής τους ανάλυσης. Στο τέλος, γίνεται η παρουσίαση και ο σχολιασμός των αποτελεσμάτων, τα οποία προέκυψαν από την παρούσα έρευνα.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι να διερευνηθεί η επίδραση της ποιότητας και της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος, στην προκαλούμενη από το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. διάρροια των νεαρών γαλουχούμενων μόσχων, σε μία ελληνική εκτροφή γαλακτοπαραγωγών αγελάδων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

ΔΙΑΡΡΟΙΑ ΝΕΟΓΕΝΝΗΤΩΝ ΜΟΣΧΩΝ

Η διάρροια των νεογέννητων μόσχων (Δ.Ν.Μ.) είναι ένα σύνδρομο των νεαρών γαλουχούμενων μόσχων, ηλικίας μικρότερης του ενός μηνός, το οποίο προκαλείται από το συνδυασμό λοιμωδών και μη λοιμωδών αιτιών (Meganck et al., 2014). Το εντεροτοξινογόνο στέλεχος *Escherichia coli* K99/F5 (ETEC), ο ροταϊός, ο κοροναϊός και τα παράσιτα του γένους *Cryptosporidium* spp. αποτελούν τα 4 σημαντικότερα λοιμώδη αίτια της διάρροιας των νεογέννητων μόσχων, σε ολόκληρο τον κόσμο (Bartels et al., 2010, Silverlas et al., 2010). Δύο από αυτά, το *Cryptosporidium* spp. καθώς και ο ροταϊός, είναι τα πιο ευρέως διαγνωσμένα αίτια σε περιπτώσεις διαρροϊκών κοπράνων των νεαρών γαλουχούμενων μόσχων (Trotz-Williams et al., 2007, Silverlas et al., 2010).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.

ΤΟ ΠΡΩΤΟΖΩΟ ΠΑΡΑΣΙΤΟ *CRYPTOSPORIDIUM* SPP.

2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Τα είδη του γένους *Cryptosporidium* αποτελούν μια ομάδα πρωτόζωων παρασίτων, τα οποία χαρακτηρίζονται ως παθογόνα τόσο για τα ζώα όσο και τον άνθρωπο. Περισσότερα από 40 είδη θηλαστικών (βοοειδή, πρόβατα, αίγες, άλογα, κ.α.) μεταξύ των οποίων και ο άνθρωπος, μπορούν να μολυνθούν από το συγκεκριμένο παράσιτο (Xiao et al., 2004). Η πρώτη αναφορά της εμφάνισης διάρροιας σε μόσχους, εξαιτίας της μόλυνσης με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. έγινε το 1978 (Pohlenz et al., 1978). Στην Ελλάδα, η κρυπτοσποριδίωση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη Δ.Ν.Μ. μεταξύ των εκτροφών των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων και έχει σχέση με τη Δημόσια Υγεία (Panousis et al., 2007). Το συγκεκριμένο παρασιτικό νόσημα εμφανίζεται, ως μια αυτοπεριοριζόμενη εκκριτική διάρροια, η οποία οδηγεί σε αυξημένα ποσοστά νοσηρότητας στον πληθυσμό των γαλουχούμενων μόσχων καθώς και σε αξιόλογη οικονομική επιβάρυνση για τον παραγωγό ενώ σε περιπτώσεις έντονης μόλυνσης, τα ζώα καταλήγουν συχνά στο θάνατο (de Graaf et al., 1999).

2.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ

Οι ωοκύστες των κρυπτοσποριδίων έχουν μέγεθος 4-6 μm (Εικόνα 2.1) και μετά την κατάποσή τους αποικίζουν το λεπτό έντερο των θηλαστικών. Εκεί απελευθερώνουν τα σποροζώδια, τα οποία αποτελούν τις μολύνουσες μορφές του συγκεκριμένου πρωτόζωου (Εικόνα 2.2). Τα σποροζώδια εισέρχονται κινούμενα στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου (το προτιμώμενο σημείο της λοίμωξης είναι ο ειλεός του λεπτού εντέρου), τα οποία και καταστρέφουν, ενώ μετατρέπονται στα επίσης κινούμενα μεροζώδια, που με τη σειρά τους εισέρχονται σε άλλα κύτταρα του εντέρου. Στη συνέχεια, μέσα στα εντερικά κύτταρα, τα κινούμενα μεροζώδια εξελίσσονται σε θηλυκούς και αρσενικούς μικρογαμέτες που ενώνονται και σχηματίζονται εκ νέου οι ωοκύστες. Οι τελευταίες εξέρχονται με τα κόπρανα στο περιβάλλον, ωριμάζουν και ο ως άνω περιγραφόμενος κύκλος ζωής του κρυπτοσποριδίου επαναλαμβάνεται, μετά την κατάποσή τους από κάποιον νέο ξενιστή (Εικόνα 2.3) (Taylor et al., 2007).

2.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Οι μολυσμένοι μόσχοι απεκκρίνουν ένα μεγάλο αριθμό ωοκύστεων του παρασίτου με τα κόπρανα τους, οδηγώντας σε μεγάλη εξάπλωση της μόλυνσης μέσα στην εκτροφή (Caccio et al., 2015). Το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την κατάποσή τους μέχρι την εκδήλωση των συμπτωμάτων της νόσου, είναι 3-5 ημέρες ενώ τα συμπτώματα διαρκούν από 4-17 ημέρες (Delafosse et al., 2015). Τα συμπτώματα τα οποία εμφανίζονται, αρχικά, είναι απώλεια της όρεξης, κατάπτωση και κοιλιακό άλγος. Ακολουθούν, συνήθως, διάρροια (Εικόνα 2.4, 2.5), αφυδάτωση, αξιοσημείωτη απώλεια βάρους, ενώ ενδέχεται να παρουσιαστεί και πυρετός (de Graaf et al., 1999).

2.4 ΕΙΔΗ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ

Μια μεγάλη ποικιλία θηλαστικών μπορούν να αποτελέσουν τους πιθανούς ξενιστές του συγκεκριμένου παρασίτου, αν και δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί η σημασία τους στη μετάδοση και τη διατήρηση της μόλυνσης μεταξύ των κατοικίδιων θηλαστικών (Taylor et al., 2007). Πρόσφατες έρευνες, οι οποίες βασίστηκαν στην ταυτοποίηση του *Cryptosporidium* spp. με μοριακές τεχνικές, απέδειξαν ότι το συγκεκριμένο παράσιτο, κατά την εξελικτική πορεία του, έχει αναπτύξει ικανότητα προσαρμογής σε συγκεκριμένους ξενιστές (ειδικότητα ξενιστή). Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι, ορισμένα θηλαστικά ή ομάδες θηλαστικών μολύνονται από συγκεκριμένα είδη του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp., τα οποία διαφέρουν τόσο στην αλληλουχία του DNA όσο και στην παθογόνο δράση τους (μολυσματικότητα). Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται ότι τα βοοειδή μολύνονται με τα είδη *C. parvum* και *C. bovis*, τα οποία συναποτελούν τον καλούμενο «βόειο γενότυπο ή γενότυπο 2». Ομοίως, ο άνθρωπος προσβάλλεται από το *C. hominis* ή τον «ανθρώπινο γενότυπο» (Taylor et al., 2007, Yoder et al., 2010).

2.5 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΚΡΥΠΤΟΣΠΟΡΙΔΙΑΣΗΣ

Η διάγνωση της κρυπτοσποριδίασης γίνεται με την ανεύρεση των υπεύθυνων ωοκύστεων σε επιχρίσματα κοπράνων, τα οποία έχουν επεξεργαστεί με την χρώση Ziehl-Nielsen (Εικόνα 2.6). Τα επιχρίσματα, έπειτα, σαρώνονται σε οπτικό μικροσκόπιο στη μεγέθυνση x100. Η ταυτοποίηση του είδους είναι αρκετά δύσκολη

έως αδύνατη με τις συνήθεις τεχνικές. Αρκετές νέες ανοσολογικές και μοριακές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί για την διάγνωση της κρυπτοσποριδίου όπως της IFAT, ELISA και PCR. Προσφάτως, έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται μοριακές τεχνικές γενετικής για την ταυτοποίηση του είδους του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* (Van Metre et al., 2008).

2.6 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Τα ζώα μολύνονται, με το *Cryptosporidium* spp., με 2 τρόπους:

(Α) με την άμεση κατάποση των πρωτοζωικών ωοκύστεων (κοπρανοστοματική οδός) και

(Β) έμμεσα, μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων με το παράσιτο ζωοτροφών ή νερού.

Η εκδήλωση των κλινικών συμπτωμάτων εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να χωριστούν σε 3 κατηγορίες (Olson et al., 2004):

- παράγοντες που σχετίζονται με τους μόσχους (επίπεδο ζώου)
- παράγοντες που σχετίζονται με το περιβάλλον (επίπεδο περιβάλλοντος)
- διαχειριστικές πρακτικές (επίπεδο διαχείρισης)

Πιο συγκεκριμένα, η ένταση της μόλυνσης στους νεαρούς γαλουχούμενους μόσχους, καθώς και η εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων εξαρτάται από την ηλικία (ανοσία της ηλικίας) ενώ παράλληλα, εμφανίζει εποχιακές διακυμάνσεις, οι οποίες συμπίπτουν με το μεγάλο αριθμό των γεννήσεων κατά την άνοιξη και το φθινόπωρο. Αν και οι πρώτοι γεννηθέντες μόσχοι, συνήθως, μολύνονται χωρίς να εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα, αποτελούν τις κύριες πηγές μόλυνσης των μετέπειτα γεννηθέντων μόσχων, συντελώντας στην ταχύτερη μετάδοση του νοσήματος (Taylor et al., 2007). Αρκετές έρευνες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι πλειοψηφία των μολύνσεων με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. ξεκινούν από ξενιστές του ίδιου είδους.

Όπως αναφέρθηκε, η κύρια οδός μόλυνσης των μόσχων με το συγκεκριμένο παράσιτο είναι η κοπρανοστοματική οδός. Είναι λοιπόν εμφανές, ότι παράγοντες όπως ο υπερπληθυσμός-συνωστισμός των μόσχων, η διαχείριση του πρωτογάλακτος σε συνδυασμό με το χαμηλό επίπεδο υγιεινής της εκτροφής ενισχύουν τη μόλυνση και οδηγούν στην εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων. Επιπλέον, οι χαμηλές

θερμοκρασίες του περιβάλλοντος ανάλογα με την εποχή του έτους, οι υποκείμενες νόσοι (B.V.D., I.B.R.), η διατροφική καταπόνηση (nutritional stress) και οι ελλείψεις βιταμινών και ιχνοστοιχείων ευνοούν την εμφάνιση της κρυπτοσποριδίουσης (Meganck et al., 2014).

Μεταξύ των παραπάνω παραγόντων, η διαχείριση του πρωτογάλακτος αποτελεί το σημαντικότερο προληπτικό μέτρο, η οποία συμβάλει στην ανάπτυξη επαρκούς παθητικής ανοσίας (E.P.A.) από τους νεογέννητους γαλουχούμενους μόσχους και στη μείωση των περιστατικών διάρροιας, συμπεριλαμβανομένης και της διάρροιας που οφείλεται στη μόλυνση με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. (Koch et al., 2008, Furman-Fratczak et al., 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η σημασία της ορθής διαχείρισης του πρωτογάλακτος, η οποία συντελεί στην μεταφορά ικανοποιητικού αριθμού αντισωμάτων στους νεαρούς μόσχους και κατά συνέπεια, στην ανάπτυξη επαρκούς παθητικής ανοσίας (Ε.Π.Α.) είναι αδιαπραγμάτευτη στην πρόληψη της διάρροιας των νεογέννητων μόσχων (Koch et al., 2008, Chand et al., 2009, Furman-Fratczak et al., 2011). Ωστόσο υπάρχουν έρευνες, οι οποίες δεν αναφέρουν σημαντική επίδραση του πρωτογάλακτος στη μείωση της διάρροιας των μόσχων λόγω μόλυνσης με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. (Trotz-Williams et al., 2007, Gulliksen et al., 2009). Συγκεκριμένα, οι Trotz-Williams et al. (2007) αναφέρουν ότι η χορήγηση καλής ποιότητας πρωτογάλακτος με υψηλή περιεκτικότητα σε ανοσοσφαιρίνες G (IgG) δεν μείωσε τα περιστατικά διάρροιας, στα οποία ταυτοποιήθηκε ως αιτιολογικός παράγοντας το *Cryptosporidium parvum*.

Ελλιπής παθητική ανοσία (Ελ.Π.Α.) (μειωμένη μεταφορά αντισωμάτων στους νεογέννητους μόσχους), σε ποσοστό μικρότερο του 10% των νεογέννητων ζώων είναι εφικτή, εφόσον τεθεί ως κατώτερο όριο της περιεκτικότητας του πρωτογάλακτος σε IgG, τα 10 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος (Chigerwe et al., 2009). Ωστόσο, αρκετές έρευνες προτείνουν ως κατώτερο όριο της καλής ποιότητας του πρωτογάλακτος, τα 15 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος (Gungor et al., 2004, Windeyer et al., 2014). Τα ποσοστά της Ελ.Π.Α. στα νεογέννητα ζώα κυμαίνονται από 8.4 μέχρι και >90.5%, εξαρτώμενα από το όριο των IgG του πρωτογάλακτος που τέθηκε, τον υπό μελέτη πληθυσμό των ζώων καθώς και τη μέθοδο προσδιορισμού των IgG (Trotz-Williams et al., 2008, Beam et al., 2009, Todd et al., 2010). Τα ποσοστά της Ελ.Π.Α., συνήθως, αυξάνουν όταν δεν εφαρμόζονται τακτικές μέθοδοι προσδιορισμού των IgG σε επίπεδο εκτροφής (Beam et al., 2009). Συνεπώς, ο τακτικός προσδιορισμός των IgG στο χορηγούμενο πρωτόγαλα είναι ουσιαστικής σημασίας για την ορθή διαχείριση των νεογέννητων μόσχων. Τα τελευταία χρόνια, οι επιστήμονες προτείνουν τον προσδιορισμό των ολικών πρωτεϊνών με τη χρήση διαθλασίμετρου, ως δείκτη του επιπέδου ανοσίας, στον ορό του αίματος των μόσχων, μετά τη χορήγηση του μητρικού πρωτογάλακτος (Meganck et al., 2014).

Το πρωτόγαλα περιέχει ευεργετικές, για τους μόσχους, ουσίες σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από το φυσιολογικό γάλα όπως ανοσολογικής φύσης ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα, λίπος, πρωτεΐνη, λιποδιαλυτές βιταμίνες (π.χ. ρετινόλη, τοκοφερόλη, β καροτένιο), υδατοδιαλυτές βιταμίνες (π.χ. νιασίνη, θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, βιταμίνη B₁₂), μακροστοιχεία και μικροστοιχεία (π.χ. ασβέστιο, φωσφόρο, μαγνήσιο, νάτριο, κάλιο, ψευδάργυρο, σίδηρο, χαλκό, θείο, μαγγάνιο) καθώς και μη ειδικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες, όπως τη λακτοφερίνη (Kehoe et al., 2007).

Τα τελευταία χρόνια, μεγάλος λόγος γίνεται από τους ερευνητές για το ρόλο των λευκοκυττάρων του πρωτογάλακτος στην ενίσχυση της ανοσίας των νεογέννητων ζώων. Ωστόσο, η σημασία των λευκοκυττάρων του πρωτογάλακτος δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα συγκεκριμένα λευκοκύτταρα, ενισχύουν την απάντηση των λεμφοκυττάρων του οργανισμού σε μη ειδικά μιτογόνα, σε ειδικά αντιγόνα και παράλληλα ενισχύουν την αντιγονοπαρουσίαση (Reber et al., 2008 a, b). Άλλοι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο ρόλος τους είναι μάλλον υπερεκτιμημένος και ότι δεν συμβάλλουν ενεργά στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος των νεογέννητων μόσχων (Stieler et al., 2012). Καθώς η προστασία του οργανισμού έναντι του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. επιτυγχάνεται μέσω της κυτταρικής ανοσίας, είναι αναγκαία περισσότερη έρευνα για τον αποσαφήνισμό του ρόλου των λευκοκυττάρων του πρωτογάλακτος.

3.1 ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η περιεκτικότητα του πρωτογάλακτος σε IgG είναι ένα σημαντικό κριτήριο, το οποίο καθορίζει το επίπεδο της ανοσίας (Ε.Π.Α. ή Ελ.Π.Α.) των νεογέννητων μόσχων (Godden et al., 2012). Η ποσότητα των IgG στο μητρικό πρωτόγαλα ποικίλει μεταξύ των προσφάτως γεννημένων αγελάδων με 29.4 έως 57.8% των δειγμάτων πρωτογάλακτος να μην φθάνουν στο επιθυμητό όριο (καλή ποιότητα πρωτογάλακτος), των 50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος (Swan et al., 2007, Gulliksen et al., 2008, Morrill et al., 2012). Παράλληλα, η ποιότητα του πρωτογάλακτος είναι δύσκολο να εκτιμηθεί με βάση την παραγόμενη ποσότητά του, την εμφάνισή του από τον παραγωγό ή τον αριθμό των σωματικών κυττάρων που περιέχει (υποκειμενικά-αναξιόπιστα στοιχεία). Η μέτρηση του όγκου του παραγόμενου πρωτογάλακτος, στο πρώτο άρμεγμα

μετά τον τοκετό, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αξιόπιστο κριτήριο για την εκτίμηση της ποιότητάς του επειδή δεν αντανακλά την περιεκτικότητα του σε IgG (Chigerwe et al., 2008). Ο αριθμός των σωματικών κυττάρων του πρωτογάλακτος (ως κριτήριο ποιότητας), αμέσως μετά τον τοκετό, βρέθηκε σημαντικά υψηλός σε περιπτώσεις μέτριας ή κακής ποιότητας πρωτογάλακτος σε σχέση με παρόμοιες μετρήσεις καλής ποιότητας πρωτογάλακτος (Gulliksen et al., 2008). Για τους παραπάνω λόγους, θεωρείται ουσιαστικής σημασίας, ο προσδιορισμός της ποιότητας του πρωτογάλακτος να γίνεται με αντικειμενικά κριτήρια. Συνεπώς, με στόχο την αντικειμενικότητα των μετρήσεων προτείνεται ο προσδιορισμός της ποιότητάς του με τον μετρητή πρωτογάλακτος (colostrum meter), με τη χρήση του διαθλασίμετρου Brix ή ακόμη με τη χρήση ειδικών ανοσολογικών τεχνικών γρήγορου προσδιορισμού του επιπέδου των IgG (Chigerwe et al., 2005, Biemann et al., 2010, Quigley et al., 2013).

Ο μετρητής πρωτογάλακτος έχει την ικανότητα να προσδιορίζει την ποιότητα του πρωτογάλακτος με βάση το ειδικό βάρος του δείγματος. Για να χαρακτηριστεί, λοιπόν, ένα δείγμα πρωτογάλακτος, ως καλής ποιότητας, πρέπει να έχει ειδικό βάρος 1045, το οποίο αντιστοιχεί σε περιεκτικότητα 50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος. Ο προσδιορισμός της Ε.Π.Α., με τη χρήση του διαθλασίμετρου Brix (μέτρηση του βαθμού διάθλασης του φωτός), επιτυγχάνεται όταν το αποτέλεσμα της εξέτασης του πρωτογάλακτος βρίσκεται πάνω από το όριο των 21-22% της κλίμακας Brix, που αντιστοιχεί στην προαναφερθείσα περιεκτικότητά του σε IgG (50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος). Τέλος, στις ειδικές ανοσολογικές τεχνικές γρήγορου προσδιορισμού του επιπέδου των IgG, η μονή γραμμή αποτελεί ένδειξη ποιοτικού πρωτογάλακτος, καθώς αντιστοιχεί σε περιεκτικότητα 50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος (Biemann et al., 2010, Quigley et al., 2013, Meganck et al., 2014).

Στην προσπάθεια για τον προσδιορισμό της ποιότητας των παραγόμενου πρωτογάλακτος, υπάρχουν κάποιοι παράγοντες, οι οποίοι πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν προκειμένου να αποφευχθεί η λανθασμένη εκτίμηση της ποιότητάς του. Πρωτόγαλα, το οποίο αρμέχθηκε από αγελάδα 2 ώρες μετά τον τοκετό, περιέχει σημαντικά μικρότερη ποσότητα IgG, πιθανώς, λόγω του φαινομένου της διάχυσης (dilution effect), το οποίο αρχίζει να εξελίσσεται ή λόγω της επαναρρόφησης των IgG του πρωτογάλακτος στο αίμα (κυκλοφορικό σύστημα) της μητέρας (Moore et al., 2005,

Morin et al., 2010). Πρωτόγαλα από αγελάδες, οι οποίες δεν διάνυσαν ξηρά περίοδο τουλάχιστον 60 ημερών, είναι υποβαθμισμένο ποιοτικά (Rastani et al., 2005). Αγελάδες, οι οποίες βρίσκονται στην 3^η ή 4^η γαλακτική περίοδο συνήθως παρέχουν πρωτόγαλα με αυξημένα επίπεδα IgG σε σχέση με ζώα τα οποία βρίσκονται στην 1^η ή 2^η γαλακτική περίοδο (Gulliksen et al., 2008, Morrill et al., 2012). Τέλος, είναι γνωστό ότι μόσχου προερχόμενοι από μοσχίδες, στην 1^η γαλακτική περίοδο, εμφανίζουν συχνότερα Ελ.Π.Α. σε αντίθεση με μόσχους γεννηθέντες από πολύτοκες αγελάδες. Ωστόσο, αυτή η σχέση μεταξύ γαλακτικής περιόδου και ποιότητας πρωτογάλακτος δεν είναι πάντα ενδεικτική (Chigerwe et al., 2008).

3.2 ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η χορήγηση συνολικά 150-200 γρ. IgG μέσω του πρωτογάλακτος, στους νεογέννητους μόσχους είναι ικανοποιητική, προκειμένου να εξασφαλιστεί η επιζητούμενη Ε.Π.Α. (Chigerwe et al., 2008). Για να εκτιμήσουμε τη συνολική παρεχόμενη ποσότητα των IgG είναι αναγκαίο να γνωρίζουμε την περιεκτικότητα τους ανά λίτρο πρωτογάλακτος. Πιο συγκεκριμένα, εάν το πρωτόγαλα περιέχει 50 γρ. IgG (ανά λίτρο) τότε η χορήγηση 4 λίτρων πρωτογάλακτος είναι επαρκής προκειμένου να παρέχει συνολικά 200 γρ. IgG στους νεογέννητους μόσχους και συνεπώς, να προσδώσει σε αυτούς Ε.Π.Α (Meganck et al., 2014).

Πληθώρα παραγόντων επηρεάζουν τη σχέση μεταξύ της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος και της ανάπτυξης Ε.Π.Α. Ο χρόνος χορήγησης του πρώτου γεύματος πρωτογάλακτος στους προσφάτως γεννηθέντες μόσχους είναι καθοριστικής σημασίας. Μεγαλύτερες ποσότητες IgG (4 λίτρα πρωτογάλακτος δεν επαρκούν) είναι αναγκαίες σε μόσχους, στους οποίους χορηγήθηκε πρωτόγαλα σε διάστημα μεγαλύτερο των 2 ωρών από τη γέννηση τους (Chigerwe et al., 2008). Σε περιπτώσεις χορήγησης πρωτογάλακτος 4 ώρες μετά τη γέννηση των μόσχων, τα ποσοστά της Ελ.Π.Α. των μόσχων είναι ιδιαίτερα αυξημένα (Beam et al., 2009).

Ο τρόπος παροχής του πρωτογάλακτος (π.χ. θηλασμός, παροχή πρωτογάλακτος με μπουκάλι ή οισοφαγικό καθετήρα) φαίνεται να επιδρά στην επαρκή μεταφορά ανοσοσφαιρινών στους νεογέννητους μόσχους. Μια μικρή καθυστέρηση στην αύξηση των IgG καταγράφηκε σε μόσχους, στους οποίους χορηγήθηκαν 4 λίτρα

πρωτογάλακτος με οισοφαγικό καθετήρα σε αντίθεση με μόσχους, στους οποίους χορηγήθηκαν 2 λίτρα πρωτογάλακτος με μπουκάλι (Kaske et al., 2005). Ωστόσο, η παράθεση του πρώτου γεύματος πρωτογάλακτος μέσω οισοφαγικού καθετήρα, ιδιαίτερα σε μόσχους με απροθυμία θηλασμού, θεωρείται ότι μειώνει σε σημαντικό βαθμό τις περιπτώσεις της Ελ.Π.Α., εξασφαλίζοντας υψηλότερες συγκεντρώσεις IgG (Kaske et al., 2005). Μόσχοι, στους οποίους επιτράπηκε να θηλάσουν γάλα από τις μητέρες τους, εμφάνισαν υψηλά ποσοστά Ελ.Π.Α., επειδή συνήθως σε τέτοιες περιπτώσεις, οι μόσχοι θηλάζουν είτε αρκετά καθυστερημένα, είτε καταναλώνουν μικρότερη από τη φυσιολογική ποσότητα πρωτογάλακτος (Trotz-Williams et al., 2008, Beam et al., 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. αποτελεί ένα από τους συχνότερους αιτιολογικούς παράγοντες πρόκλησης της διάρροιας των νεογέννητων μόσχων και παράλληλα, ένα σημαντικό πρόβλημα των ελληνικών εκτροφών γαλακτοπαραγωγών αγελάδων.

Ο στόχος όλων των προσπαθειών, για την μείωση της μόλυνσης των νεογέννητων μόσχων με το συγκεκριμένο πρωτόζωο παράσιτο, επικεντρώνεται στην πρόληψη. Η ορθή διαχείριση του πρωτογάλακτος αποτελεί καθοριστικό βήμα πρόληψης, το οποίο εγγυάται τόσο τον περιορισμό των κλινικών συμπτωμάτων του νοσήματος όσο και την διατήρηση της υγείας των γαλουχούμενων μόσχων.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι να διερευνηθεί η επίδραση της ποιότητας και της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος στην προκαλούμενη από το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. διάρροια των νεαρών γαλουχούμενων μόσχων, σε μία ελληνική εκτροφή γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, η οποία εφαρμόζει το εντατικό σύστημα εκτροφής.

4.2 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΤΗΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

Η εκτροφή αριθμούσε 350 αγελάδες της φυλής *Holstein* σε γαλακτοπαραγωγή, σύμφωνα με το εντατικό σύστημα εκτροφής, στην περιοχή της Λάρισας (Κεντρική Θεσσαλία). Τα ζώα κατανάλωναν ολικό σιτηρέσιο σύμφωνα με τις απαιτήσεις του παραγωγικού τους σταδίου. Μετά την ολοκλήρωση της γαλακτικής περιόδου, τα ζώα εισέρχονταν σε ξηρά περίοδο διάρκειας τουλάχιστον 2 μηνών. Κατά τον τελευταίο μήνα της ξηράς περιόδου (9^{ος} μήνας), στα ζώα εφαρμόζονταν εμβολιασμός κατά του *Clostridium* spp. με το εμπορικό σκεύασμα Covexin[®] (MSD, Animal Health, USA), καθώς επίσης, κατά των ροταϊών, κοροναϊών και *Escherichia coli* K99 με το εμπορικό σκεύασμα Rotavec Corona[®] (MSD, Animal Health, USA). Τέλος, ένας εμβολιασμός με στόχο την πρόληψη της μαστίτιδας εφαρμόζονταν σε όλα τα ζώα της ξηράς περιόδου, με το εμπορικό σκεύασμα Startvac[®] (Hipra, Ισπανία).

4.3 ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Η συλλογή των δειγμάτων κοπράνων πραγματοποιήθηκε από 100 τυχαία επιλεγμένους μόσχους της εκτροφής, οι οποίοι γεννήθηκαν κατά το έτος 2016. Κατά την περίοδο των 2 μηνών γαλουχίας, οι γεννηθέντες μόσχοι στεγάζονταν σε ατομικά κελιά (Εικόνα 4.7). Δείγματα κοπράνων συλλέχθηκαν ατομικά από τον κάθε μόσχο, απευθείας από το απευθυσμένο, με τη χρήση αποστειρωμένων γαντιών (Εικόνα 4.8). Αμέσως μετά τη συλλογή, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ισοθερμικό περιέκτη στους 4°C και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Παρασιτολογίας και Παρασιτικών Νοσημάτων, του Τμήματος Κτηνιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Κατά τη στιγμή της συλλογής πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση και καταγραφή της σύστασης των κοπράνων, σύμφωνα με τον ακόλουθο τρόπο:

- Φυσιολογική σύσταση των κοπράνων (1) (Εικόνα 4.9)
- Μαλακή σύσταση των κοπράνων (2) (Εικόνα 4.10)
- Υδαρής σύσταση των κοπράνων (3) (Εικόνα 4.11)

Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα κριτήρια ευζωίας και δεν προκάλεσε κάποιου είδους καταπόνηση στα ζώα.

4.4 ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΓΙΑ ΩΟΚΥΣΤΕΙΣ *CRYPTOSPORIDIUM SPP.*

Η εξέταση των δειγμάτων κοπράνων για την ανεύρεση και ταυτοποίηση των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium spp.* έγινε με την επεξεργασία των επιχρισμάτων κοπράνων με τη χρώση Ziehl-Nielsen. Στη συνέχεια, τα επιχρίσματα σαρώθηκαν για την πιθανή ανεύρεση των ωοκύστεων σε οπτικό μικροσκόπιο σε μεγέθυνση x100. Η ένταση της μόλυνσης, για κάθε δείγμα, πραγματοποιήθηκε με την καταμέτρηση του αριθμού των ωοκύστεων σε 10 τυχαία οπτικά πεδία (ημιποσοτικά). Για να αποφευχθεί η υποκειμενικότητα του παρατηρητή, όλα τα δείγματα αξιολογήθηκαν από το ίδιο πρόσωπο.

4.5 ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΓΙΑ ΡΟΤΑΪΟ, ΚΟΡΟΝΑΪΟ ΚΑΙ *ESCHERICHIA COLI K99*

Τα δείγματα κοπράνων εξετάστηκαν για την πιθανή ύπαρξη άλλων λοιμωδών αιτιολογικών παραγόντων πρόκλησης της Δ.Ν.Μ. Συγκεκριμένα, τα δείγματα ελέγχθηκαν, για την πιθανή ύπαρξη ροταϊού, κοροναϊού και *Escherichia coli K99*, με τη χρήση της ταχείας εμπορικής μεθόδου ανίχνευσης των παραπάνω παθογόνων «Test kit Bovine Feces (BIO 156)» (MSD, Animal Health, USA) (Εικόνα 4.12).

4.6 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η ποιότητα του πρωτογάλακτος αξιολογήθηκε για κάθε μία αγελάδα ξεχωριστά, αμέσως μετά τον τοκετό, με τη βοήθεια ενός μετρητή πρωτογάλακτος (Εικόνα 4.13). Ο μετρητής πρωτογάλακτος χρησιμοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το πρωτόγαλα ταξινομήθηκε, ανάλογα με την ποιότητά του σε 3 κατηγορίες:

- Κακής ποιότητας πρωτόγαλα, όπως υποδεικνύεται από τον κόκκινο χρωματισμό (<20 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος - ειδικό βάρος 1025-1035).
- Μέτριας ποιότητας πρωτόγαλα, όπως υποδεικνύεται από τον ανοιχτό πράσινο χρωματισμό (20-50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος - ειδικό βάρος 1035-1045).
- Καλής ποιότητας πρωτόγαλα, όπως υποδεικνύεται από τον έντονο πράσινο χρωματισμό (>50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος – ειδικό βάρος >1045).

4.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

Ο συνολικός όγκος των 2 πρώτων γευμάτων πρωτογάλακτος, μετά τη γέννηση των μόσχων, μετρήθηκε με τη βοήθεια ενός βαθμονομημένου ογκομετρικού κυλίνδρου (Εικόνα 4.14). Το σύνολο των μόσχων που συμμετείχαν στην παρούσα έρευνα κατανάλωσαν το πρώτο γεύμα πρωτογάλακτος μέσα στις 4 πρώτες ώρες από τη γέννηση τους.

4.8 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τόσο οι παραμετρικές (OUTPUT 2, 4) όσο και οι μη παραμετρικές μέθοδοι στατιστικής επεξεργασίας εφαρμόστηκαν για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας. Οι υποθέσεις της κανονικότητας και της ομοιογένειας των διακυμάνσεων των συνεχών μεταβλητών εξετάστηκαν με τις μεθόδους Shapiro-Wilk και Levene's test, αντίστοιχα. Στις περιπτώσεις, κατά τις οποίες δεν ικανοποιούνταν οι υποθέσεις της κανονικότητας της κατανομής του πληθυσμού, η μη παραμετρική μέθοδος Kruskal-Wallis (OUTPUT 1) εφαρμόστηκε για την αξιολόγηση των διαφορών μεταξύ των ομάδων, ενώ διαφορές της τιμής της διαμέσου σε συγκεκριμένες ομάδες αξιολογήθηκαν με τη βοήθεια της μη παραμετρικής μεθόδου Wilcoxon rank sum test (Mann-Whitney U-test) (OUTPUT 1). Για την αξιολόγηση της επίδρασης της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος στον αριθμό των *Cryptosporidium* spp. χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της απλής γραμμικής παλινδρόμησης (OUTPUT 3). Ως επίπεδο σημαντικότητας της τιμής P ορίστηκε το 0,05. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού στατιστικής επεξεργασίας SPSS (έκδοση 23.0).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά, 71 από τους 100 (71%) μόσχους βρέθηκαν θετικοί στη μόλυνση (ανεύρεση των ωοκύστεων) με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. Αναφορικά με τη σύσταση των κοπράνων, μεταξύ των θετικών δειγμάτων, τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν τα εξής (Γράφημα 5.1):

- 32 από τα 71 (45%) δείγματα είχαν φυσιολογική σύσταση.
- 18 από τα 71 (25.4%) δείγματα είχαν μαλακή σύσταση.
- 21 από τα 71 (29.6%) δείγματα είχαν υδαρή σύσταση.

Μεταξύ των αρνητικών, στην ανεύρεση των ωοκύστεων του *Cryptosporidium* spp., δειγμάτων 28 από τα 29 (96.6%) δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως φυσιολογικής σύστασης, ενώ 1 δείγμα από τα 29 (3.4%) χαρακτηρίστηκε ως μαλακής σύστασης (Γράφημα 5.1).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, ο αριθμός των κρυπτοσποριδίων (ένταση της μόλυνσης) επηρέασε σημαντικά ($P \leq 0.001$) τη σύσταση των κοπράνων των μόσχων, που συμμετείχαν στην παρούσα έρευνα. Ο μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. ανά κατηγορία σύστασης κοπράνων (φυσιολογικά, μαλακά, υδαρή) παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.1.

5.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΡΟΤΑΪΟΥ, ΚΟΡΟΝΑΪΟΥ ΚΑΙ *ESCHERICHIA COLI* K99

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα οποία προέκυψαν από την εφαρμογή της ταχείας εμπορικής μεθόδου ανίχνευσης των συγκεκριμένων παθογόνων «Test kit Bovine Feces (BIO 156)» (MSD, Animal Health, USA), όλα (100%) τα δείγματα κοπράνων που εξετάστηκαν βρέθηκαν αρνητικά.

5.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ *CRYPTOSPORIDIUM* SPP.

Η ποιότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος επηρέασε στατιστικώς σημαντικά ($P \leq 0.05$) των αριθμό των αποβαλλόμενων με τα κόπρανα ωοκύστεων του εν λόγω πρωτόζωου παρασίτου. Ο μέσος όρος ($\pm SD$) του αριθμού των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. ανά κατηγορία ποιότητας του πρωτογάλακτος παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.2.

5.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ *CRYPTOSPORIDIUM* SPP.

Η μέθοδος της γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε ότι η ποσότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος, στα 2 πρώτα γεύματα μετά τη γέννηση των μόσχων, επέδρασε αρνητικά στον αριθμό των ωοκύστεων του *Cryptosporidium* spp., οι οποίες βρέθηκαν στα κόπρανα. Με άλλα λόγια, αυξανόμενη της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος στους γαλουχούμενους μόσχους, μειώθηκε ο αριθμός των συγκεκριμένων ωοκύστεων στα δείγματα κοπράνων (Γράφημα 5.2).

Η παρακάτω εξίσωση (Εξίσωση 1) συνοψίζει τον τρόπο δράσης του πρωτογάλακτος στον αριθμό των κρυπτοσποριδίων.

Αριθμός των *Cryptosporidium* spp. = $29.589 + (-3.258)$ ποσότητα πρωτογάλακτος (λίτρα)
 $t_a=5.134$ $t_b=-3.096$ ($P \leq 0.05$, CI 95%, 98)
(Εξίσωση 1)

5.5 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΟΧΗΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΣΧΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ *CRYPTOSPORIDIUM* SPP.

Κατά τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων με το πολυμεταβλητό μοντέλο, οι μεταβλητές της ποιότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος καθώς και της εποχής γέννησης των μόσχων φάνηκε να συσχετίζονται. Για το λόγο αυτό, επεξεργάστηκαν με το συγκεκριμένο μοντέλο ως αλληλεπιδρώντες παράγοντες. Ο Πίνακας 5.3 συνοψίζει τις μεταβολές στον αριθμό των *Cryptosporidium* spp., σύμφωνα με την αλληλεπίδραση της ποιότητας του πρωτογάλακτος και της εποχής γέννησης των μόσχων ($P \leq 0.001$). Οι πιο σημαντικές διαφορές καταγράφηκαν μεταξύ του καλοκαιριού και του χειμώνα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μέχρι σήμερα, έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 20 είδη του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp., η πλειοψηφία των οποίων θεωρείται ειδική των ξενιστών. Συνεπώς, αυτά τα είδη δεν έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν κλινικό νόσημα σε άλλα είδη ξενιστών (Xiao, 2010, de Waal, 2012). Αντίθετα, το *Cryptosporidium parvum*, το οποίο έχει ταυτοποιηθεί σε ποσοστό μεγαλύτερο του 85% των περιστατικών κρυπτοσποριδίωσης (Meganck et al., 2014), μπορεί να μολύνει μια μεγάλη ποικιλία ξενιστών και ιδιαίτερα τα βοοειδή, στα οποία έχει χαρακτηριστεί ως η κυριότερη αιτία της Δ.Ν.Μ. (Xiao, 2010).

Το ποσοστό της μόλυνσης των μόσχων, στην παρούσα έρευνα, με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. ήταν 71%. Τα ποσοστά μόλυνσης, στα οποία κατέληξαν οι Trotz-Williams et al. (2007) και οι Delafosse et al. (2015) ήταν μικρότερα από τα ποσοστά της δικής μας έρευνας. Συγκεκριμένα, τα ποσοστά της μόλυνσης ήταν 62% για τους γαλουχούμενους μόσχους στην περιοχή Οντάριο του Καναδά και 41.5% για γαλουχούμενους μόσχους σε περιοχή της Δυτικής Γαλλίας, αντίστοιχα. Σύμφωνα με τους Meganck et al. (2014), το ποσοστό της Δ.Ν.Μ. εξαιτίας της μόλυνσης με το *Cryptosporidium parvum* κυμάνθηκε μεταξύ 27,8 και 63%. Αυτή η διαφορά του ποσοστού της μόλυνσης μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι στις συγκεκριμένες χώρες, οι εκτροφές των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων εφαρμόζουν πιο σύγχρονα προγράμματα διαχείρισης από τις αντίστοιχες στην Ελλάδα. Σε παρόμοια έρευνα, η οποία πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα από τους Panousis et al. (2007), καταγράφηκε 25.05% ποσοστό μόλυνσης με *Cryptosporidium* spp. μεταξύ των διαφορετικών ηλικιών των ζώων (μόσχοι και αγελάδες) και 48.62% μόλυνση με *Cryptosporidium* spp. σε νεαρούς μόσχους ηλικίας μικρότερης των 14 ημερών.

Επιπλέον, διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση του αριθμού των *Cryptosporidium* spp., με το ποσοστό (39/71, 55%) εμφάνισης μη φυσιολογικών κοπράνων (μαλακά και υδαρή κόπρανα), από τους θετικούς στο συγκεκριμένο πρωτόζωο μόσχους της έρευνας, οδηγώντας σε υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας στην εκτροφή. Οι Torsein et al. (2011) αναφέρουν ότι εκτροφές με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας μεταξύ των νεαρών γαλουχούμενων μόσχων εμφάνισαν έντονη μόλυνση με το πρωτόζωο

παράσιτο *Cryptosporidium* spp. σε σχέση με εκτροφές χαμηλής θνησιμότητας. Συνεπώς, φαίνεται ότι το κρυπτοσπορίδιο παραμένει σημαντικός παράγοντας πρόκλησης της Δ.Ν.Μ. στις εκτροφές γαλακτοπαραγωγών αγελάδων.

Το γεγονός ότι, ένας αρνητικός στο *Cryptosporidium* spp. μόσχος απέκρινε μαλακής σύστασης κόπρανα επιβεβαιώνει την παρουσία και άλλων αιτιολογικών παραγόντων, κυρίως μολυσματικών, οι οποίοι συμβάλουν στην πρόκληση της Δ.Ν.Μ. (Bartels et al., 2010, Silverlas et al., 2010). Αιτιολογικοί παράγοντες όπως ο ροταϊός, ο κοροναϊός και *Escherichia coli* K99 πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν σε καταστάσεις με παρόμοια κλινική εικόνα (de Graaf et al., 1999, Delafosse et al., 2015). Μόσχοι, οι οποίοι γεννήθηκαν από εμβολιασμένες αγελάδες έναντι των συγκεκριμένων παθογόνων απεκκρίνουν λιγότερες ωοκύστες του παρασίτου *Cryptosporidium* spp. (Trotz-Williams et al., 2007). Το χαμηλότερο ποσοστό απέκκρισης των ωοκύστεων του συγκεκριμένου παρασίτου αντανακλά ένα καλύτερο επίπεδο διαχείρισης των εκτροφών και δεν οφείλεται σε καλύτερο επίπεδο προστασίας των μόσχων εξαιτίας του εμβολιασμού των επίτοκων αγελάδων. Αντίθετα, οι παραπάνω αιτιολογικοί παράγοντες (ροταϊός, κοροναϊός και *Escherichia coli* K99) μπορούν να απομονωθούν σε δείγματα κοπράνων από υγιείς μόσχους, με αποτέλεσμα η παρουσία τους να μην είναι πάντα η κύρια αιτία πρόκλησης της Δ.Ν.Μ. (Silverlas et al., 2010). Στην παρούσα έρευνα, όλες οι αγελάδες, κατά τη διάρκεια του 9^{ου} μήνα της ξηράς περιόδου, εμβολιάστηκαν έναντι του ροταϊού, κοροναϊού και *Escherichia coli* K99 με το εμπορικό σκεύασμα Rotavec Corona[®] (MSD, Animal Health, USA), ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι επιπτώσεις των συγκεκριμένων παθογόνων στην πρόκληση του συνδρόμου της Δ.Ν.Μ.

Η διαχείριση του πρωτογάλακτος αποτελεί το πιο σημαντικό προληπτικό μέτρο στη μείωση της Δ.Ν.Μ., στην οποία συμβάλλει το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. (Berge et al., 2009). Ειδικότερα, τόσο η ποιότητα όσο και η ποσότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος στους νεαρούς μόσχους αποτελούν τα πιο κρίσιμα σημεία στο πλαίσιο βελτίωσης του επιπέδου διαχείρισης των νεογέννητων μόσχων (Meganck et al., 2014).

Η ποιότητα του πρωτογάλακτος καθορίζεται από την περιεκτικότητά του σε IgG, η οποία με τη σειρά της καθορίζει το επίπεδο της παθητικής ανοσίας που λαμβάνουν οι νεογέννητοι μόσχοι (Godden et al, 2012). Σύμφωνα με αρκετές έρευνες,

η περιεκτικότητα του μητρικού πρωτογάλακτος σε IgG ποικίλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων ζώων με εύρος από 1 έως 235 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος (Gulliksen et al., 2008, Chigerwe et al., 2009, Morrill et al., 2012). Ως αποτέλεσμα του μεγάλου εύρους, το 29.4-57.8% των δειγμάτων πρωτογάλακτος δεν περιέχουν το επιθυμητό όριο των 50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος, το οποίο εξασφαλίζει το επιθυμητό επίπεδο αντισωμάτων στους νεογέννητους μόσχους (Swan et al., 2007, Chigerwe et al., 2009, Morrill et al., 2012). Επιπλέον, η καταλληλότητα του μητρικού πρωτογάλακτος δεν θα πρέπει να βασίζεται σε υποκειμενικά κριτήρια (π.χ. παραγόμενη ποσότητα, χρωματισμός του πρωτογάλακτος). Για όλους τους παραπάνω λόγους, η περιεκτικότητά του σε IgG και συνεπώς, η ποιότητά του θα πρέπει να καθορίζεται με τη βοήθεια εργαλείων όπως του μετρητή πρωτογάλακτος ή του διαθλασίμετρου Brix (Bielmann et al., 2010, Quigley et al., 2013). Στην παρούσα έρευνα, για τον προσδιορισμό της ποιότητας των διαφόρων δειγμάτων πρωτογάλακτος, χρησιμοποιήθηκε ο μετρητής πρωτογάλακτος (προσδιορισμός του ειδικού βάρους του πρωτογάλακτος).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, η ποιότητα του πρωτογάλακτος επηρέασε τον αριθμό των αποβαλλόμενων με τα κόπρανα παρασιτικών ωοκύστεων του *Cryptosporidium* spp. Συγκεκριμένα, στους μόσχους στους οποίους χορηγήθηκε καλής ποιότητας πρωτόγαλα (>50 γρ. IgG ανά λίτρο πρωτογάλακτος), καταγράφηκε μικρότερος αριθμός ωοκύστεων του παρασίτου στα δείγματα κοπράνων, που εξετάστηκαν. Ομοίως, αρκετές έρευνες απέδειξαν ότι η χορήγηση καλής ποιότητας πρωτογάλακτος, η οποία οδηγεί σε Ε.Π.Α., παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της Δ.Ν.Μ. (Berge et al., 2009, Furman-Fratczak et al., 2011). Αντίθετα, οι Trotz-Williams et al. (2007) δεν κατέληξαν σε σαφή συσχέτιση μεταξύ της ποιότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος (μεταφορά παθητικής ανοσίας) και της Δ.Ν.Μ. Τέλος, οι Windeyer et al. (2014) συμπέραναν ότι η Δ.Ν.Μ. δεν σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με το επίπεδο της παθητικής ανοσίας των μόσχων.

Η ποσότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος αποτελεί ουσιαστικό σημείο στην προσπάθεια μείωσης των περιστατικών της Δ.Ν.Μ., η οποία οφείλεται σε μόλυνση με *Cryptosporidium* spp. στις εκτροφές γαλακτοπαραγωγών αγελάδων. Αυτό γιατί, η συνολική ποσότητα των IgG που πρέπει να χορηγηθούν σε νεογέννητους μόσχους, προκειμένου να επιτευχθεί Ε.Π.Α., κυμαίνεται από 150 έως 200 γρ. ανά ζώο

(Chigerwe et al., 2008). Επομένως, εάν το μητρικό πρωτόγαλα περιέχει 50 γρ. IgG ανά λίτρο τότε απαιτούνται 4 λίτρα πρωτογάλακτος προκειμένου να επιτευχθεί ο στόχος των 200 γρ. IgG ανά ζώο (Meganck et al., 2014).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας μας, η ποσότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος συσχετίστηκε αρνητικά με τον αριθμό των αποβαλλόμενων με τα κόπρανα ωοκύστεων του εν λόγω παρασίτου. Επιπρόσθετα, η μέση ποσότητα πρωτογάλακτος που κατανάλωσαν οι μόσχοι, στα 2 πρώτα γεύματά τους μετά τη γέννησή τους, ήταν 5.25 λίτρα. Είναι εμφανές ότι αυξανόμενης της ποσότητας πρωτογάλακτος, που κατανάλωσαν οι μόσχοι και η οποία εξασφαλίζει Ε.Π.Α., μειώθηκε ο αριθμός των ωοκύστεων του παρασίτου στα δείγματα κοπράνων. Δυστυχώς, μόνο το 8.9% της τυπικής απόκλισης του αριθμού των *Cryptosporidium* spp. μπορεί να ερμηνευθεί από την ποσότητα του πρωτογάλακτος που κατανάλωσαν οι μόσχοι. Κατά συνέπεια, και άλλοι παράγοντες, σε συνδυασμό με την ποσότητα του πρωτογάλακτος, φαίνεται να επηρεάζουν τον αριθμό των παρασπίτων (*Cryptosporidium* spp.) στα κόπρανα. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, οι Trotz-Williams et al. (2008) πρότειναν την άμεση απομάκρυνση των νεογέννητων μόσχων από τις μητέρες τους, την άμεση χορήγηση επαρκούς ποσότητας πρωτογάλακτος εντός 6 ωρών από τη γέννηση τους, η οποία θα μειώσει τον κίνδυνο της Ελ.Π.Α., οδηγώντας σε ισχυροποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Αντίθετα, άλλες έρευνες κατέληξαν σε μια θετική συσχέτιση μεταξύ της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος, κατά τη διάρκεια του πρώτου εικοσιτετράωρου ζωής των μόσχων και του αριθμού των απεκκρινόμενων ωοκύστεων του παρασίτου *Cryptosporidium* spp. (Trotz-Williams et al., 2007) Σύμφωνα με τους Blaszkowska και Twardon (2005) και Furman-Fratczak et al. (2011), μόσχοι οι οποίοι κατανάλωσαν 1.3 και 1.7 λίτρα πρωτογάλακτος, ως πρώτο γεύμα αντίστοιχα, ανέπτυξαν Ε.Π.Α. ενώ μόσχοι με Ελ.Π.Α. κατανάλωσαν μόνο 1 λίτρο πρωτογάλακτος. Σε μία άλλη έρευνα, οι Vasseur et al. (2009) βρήκαν ότι οι μόσχοι που κατανάλωσαν 3.3 λίτρα μητρικού πρωτογάλακτος, την πρώτη ημέρα της ζωής τους, είχαν ικανοποιητικό επίπεδο IgG (Ε.Π.Α.) ενώ το 22% αυτών που κατανάλωσαν 2 λίτρα ανέπτυξαν Ελ.Π.Α.

Η εποχή επέδρασε στην ποιότητα του μητρικού πρωτογάλακτος και αυτοί οι δύο παράγοντες συνδυαστικά, επηρέασαν την ένταση της μόλυνσης με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, οι μόσχοι, οι οποίοι κατανάλωσαν κακής ποιότητας πρωτόγαλα, απέκριναν μεγαλύτερες ποσότητες παρασιτικών ωοκύστεων κατά τη διάρκεια του χειμώνα σε σχέση με το καλοκαίρι. Αυτό το συμπέρασμα συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Frank και Kaneene (1993), Maddox-Hyttel et al. (2006) και Hammes et al. (2006) ενώ διαφωνεί με τα ευρήματα των Trotz-Williams et al. (2007), οι οποίοι αναφέρουν αυξημένη απέκκριση ωοκύστεων στα κόπρανα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Οι Delafosse et al. (2015) απέτυχαν να καταλήξουν σε μία στατιστικώς σημαντική σχέση μεταξύ της εποχής γέννησης των μόσχων και του αριθμού των απεκκρινόμενων ωοκύστεων του εν λόγω παρασίτου. Μια πιθανή εξήγηση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας, είναι ότι η υψηλή πυκνότητα των μόσχων, οι χαμηλές θερμοκρασίες του περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια του χειμώνα σε συνδυασμό με τα υψηλά ποσοστά υγρασίας ενισχύουν το επίπεδο των λοιμωδών αιτιών (π.χ. *Cryptosporidium* spp.) της εκτροφής, οδηγώντας σε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της Δ.Ν.Μ. (Fayer et al., 2005, Gulliksen et al., 2009). Οι Gulliksen et al. (2009) διαπίστωσαν επίδραση της εποχής στην ποιότητα του παραγόμενου πρωτογάλακτος. Πιο συγκεκριμένα, οι νορβηγικές αγελάδες, οι οποίες γέννησαν κατά τη διάρκεια του χειμώνα, παρήγαγαν πρωτόγαλα κατώτερης ποιότητας σε σχέση με άλλες εποχές.

Από τα παραπάνω, είναι εμφανές ότι η χορήγηση επαρκούς ποσότητας πρωτογάλακτος στους νεογέννητους μόσχους εξαρτάται από τη διαφορετική εποχή γέννησης, προκειμένου να εκδηλωθούν τα ευεργετικά αποτελέσματα του πρωτογάλακτος (π.χ. μείωση του ποσοστού της Δ.Ν.Μ, ανάπτυξη Ε.Π.Α) στον οργανισμό των μόσχων. Συνεπώς, η κατανάλωση κατώτερης ποιότητας πρωτογάλακτος (χαμηλή περιεκτικότητα σε IgG) στην εγκεκριμένη ποσότητα (4 λίτρα στις πρώτες 4 ώρες από τη γέννηση των μόσχων) μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα εκδήλωσης του διαρροϊκού συνδρόμου σε μόσχους, οι οποίοι γεννήθηκαν σε συγκεκριμένη εποχή (π.χ. χειμώνα).

Τελειώνοντας, η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή προσπαθεί να καταδείξει τη σημασία της ποιότητας και της ποσότητας του πρωτογάλακτος, το οποίο όταν

καταναλωθεί από τους νεογέννητους μόσχους, επηρεάζει την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων της κρυπτοσποριδίουσης. Το αποτέλεσμα αυτό ποικίλει σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών εποχών του έτους, εξαρτώμενο από την ποιότητα του πρωτογάλακτος. Τα αποτελέσματα της έρευνας επιβεβαιώνουν την αξία της σωστής διαχείρισης του πρωτογάλακτος, τόσο για τα ζώα (βελτίωση της υγείας, μείωση της νοσηρότητας κ.α.) όσο και για τους ανθρώπους (μείωση απώλειας μόσχων, μείωση εξόδων θεραπείας, βελτίωση της δημόσιας υγείας κ.α.).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η διαχείριση του πρωτογάλακτος παίζει ουσιαστικό ρόλο στη μείωση του διαρροϊκού συνδρόμου των νεογέννητων μόσχων και συνεπώς, στη διατήρηση της υγείας τους.
- Η ποιότητα του πρωτογάλακτος επηρέασε την ένταση της μόλυνσης (αριθμός ωοκύστεων στα κόπρανα) με το πρωτόζωο παράσιτο *Cryptosporidium* spp.
- Η ποσότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος συσχετίστηκε αρνητικά με τον αριθμό των παρασιτικών ωοκύστεων του συγκεκριμένου πρωτόζωου στα απεκκρινόμενα κόπρανα.
- Η ποιότητα του πρωτογάλακτος αλληλεπίδρασε με την εποχή γέννησης των μόσχων, στον αριθμό των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bartels, C.J.M., Holzhauser, M., Jorritsma, R., Swart, W.A.J.M. & Lam, T.J.G.M. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine* 93:162–169.
- Beam, A.L., Lombard, J.E., Koprak, C.A., Garber, L.P., Winter, A.L., Hicks, J.A. & Schlater, J.L. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *Journal of Dairy Science* 92:3973–3980.
- Berge, A.C.B., Moore, D.A., Besser, T.E. & Sisco, W.M. (2009). Targeting therapy to minimize antimicrobial use in preweaned calves: Effects on health, growth, and treatment costs. *Journal of Dairy Science* 92:4707–4714.
- Bielmann, V., Gillan, J., Perkins, N.R., Skidmore, A.L., Godden, S. & Leslie, K.E. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 93:3713–3721.
- Blaszkowska, M. & Twardon, J. (2005). Level of IgGg, IgG2 and IgM in colostrum and calves serum obtained during different periods following birth. *Die Medizinische Welt* 61:1308–1311.
- Caccio, S.M., Thompson, R.C., McLauchlin, J. & Smith H.V. (2005). Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends in Parasitology* 21:430–437.
- Chand, N., Pandey, N.N. & Mondal, D.B. (2009). Effect of timing and frequency of colostrums feeding on immunoglobulin G status and susceptibility to colibacillotic diarrhoea in neonatal calves. *Indian Journal of Animal Science* 79:653–657.
- Chigerwe, M., Dawes, M.E., Tyler, J.W., Middleton, J.R., Moore, M.P. & Nagy, D.M. (2005). Evaluation of a cow-side immunoassay kit for assessing IgG concentration in colostrum. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 227:129–131.
- Chigerwe, M., Tyler, J.W., Middleton, J.R., Spain, J.N., Dill, J.S. & Steevens, B.J. (2008). Comparison of four methods to assess colostrum IgG concentration in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 233:761–766.

- Chigerwe, M., Tyler, J.W., Schultz, L., Middleton, J.R., Stevens, B.J. & Spain, J.N. (2008). Effect of colostrum administration by use of oroesophageal intubation on serum IgG concentrations in Holstein bull calves. *American Journal of Veterinary Research* 69:1158–1163.
- Chigerwe, M., Tyler, J.W., Summers, M.K., Middleton, J.R., Schultz, L.G. & Nagy, D.W. (2009). Evaluation of factors affecting serum IgG concentrations in bottle-fed calves. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 234:785–789.
- De Graaf, D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi, H. & Peeters, J.E. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal of Parasitology* 29:1269–1287.
- De Waal, T. (2012). Advances in diagnosis of protozoan diseases. *Veterinary Parasitology* 189:65–74.
- Delafosse, A., Chartier, C., Dupuy, M.C., Dumoulin, M., Pors, I. & Paraud, C. (2015). *Cryptosporidium parvum* infection and associated risk factors in dairy calves in western France. *Preventive Veterinary Medicine* 118:406–412.
- Fayer, R., Santin, M. & Xiao, L. (2005). *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Journal of Parasitology* 91:624–629.
- Frank, N.A. & Kaneene, J.B. (1993). Management risk factors associated with calf diarrhea in Michigan dairy herds. *Journal of Dairy Science* 76:1313–1323.
- Furman-Fratczak, K., Rzasa, A. & Stefaniak, T. (2011). The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *Journal of Dairy Science* 94:5536–5543.
- Godden, S.M., Smolenski, D.J., Donahue, M., Oakes, J.M., Bey, R., Wells, S., Sreevatsan, S., Stabel, J. & Fetrow, J. (2012). Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *Journal of Dairy Science* 95:4029–4040.
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Hamnes, I.S., Loken, T., Akerstedt, J. & Osteras, O. (2009). Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science* 92:5057–5066.

- Gulliksen, S.M., Lie, K.I., Solverod, L. & Osteras, O. (2008). Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91:704–712.
- Gungor, O., Bastan, A. & Erbil, M.K. (2004). The usefulness of the γ -glutamyltransferase activity and total proteinemia in serum for detection of the failure of immune passive transfer in neonatal calves. *Revue de Medecine Veterinaire* 155:27–30.
- Hannes, I.S., Gjerde, B. & Robertson, L. (2006). Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. *Veterinary Parasitology* 140:204–216.
- Kaske, M., Werner, A., Schuberth, H.J., Rehage, J. & Kehler, W. (2005). Colostrum management in calves: effects of drenching vs. bottle feeding. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 89:151–157.
- Kehoe, S.I., Jayarao, B.M. & Heinrichs, A.J. (2007). A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. *Journal of Dairy Science* 90:4108–4116.
- Koch, A. & Kaske, M. (2008). Clinical efficacy of intravenous hypertonic saline solution or hypertonic bicarbonate solution in the treatment of inappetent calves with neonatal diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22:202–211.
- Maddox-Hyttel, C., Langkjaer, R.B., Enemark, H.L. & Vigre, H. (2006). *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs-occurrence and mangement associated risk factors. *Veterinary Parasitology* 141:48–59.
- Meganck, V., Hoflack, G. & Opsomer, G. (2014). Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Veterinaria Scandinavica* 56:75.
- Moore, M., Tyler, J.W., Chigerwe, M., Dawes, M.E. & Middleton, J.R. (2005). Effect of delayed colostrum collection on colostrum IgG concentration in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 226:1375–1377.
- Morin, D.E., Nelson, S.V., Reid, E.D., Nagy, D.W., Dahl, G.E. & Constable, P.D. (2010). Effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and

- photoperiod on colostral IgG concentrations in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 237:420.
- Morrill, K.M., Conrad, E., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J.D. & Tyler, H. (2012). Nationwide evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States. *Journal of Dairy Science* 95:3997–4005.
- Olson, M.E., O' Handley, R.M., Ralston, B.J., McAllister, T.A. & Thompson, R.C. (2004). Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends in Parasitology* 20:185–191.
- Panousis, N., Diakou, A., Papadopoulos, E., Giadinis, N., Karatzias, H. & Haralampidis, S. (2007). Prevalence of *Cryptosporidium* infection in dairy farms with a history of calves' diarrhea. *Cattle Practice* 15:89–92.
- Pohlenz, J., Moon, H.W. & Cheville, N.F. (1978). Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 172:452–457.
- Quigley, J.D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P. & Polo, J. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science* 96:1148–1155.
- Rastani, R.R., Grummer, R.R., Bertics, S.J., Gümen, A., Wiltbank, M.C., Mashek, D.G. & Schwab, M.C. (2005). Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. *Journal of Dairy Science* 88:1004–1014.
- Reber, A.J., Donovan, D.C., Gabbard, J., Galland, K., Aceves-Avila, M., Holbert, K.A., Marshall, L. & Hurley, D.J. (2008). Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system Part I. Effects on monocyte lineage cells. *Veterinary Immunology Immunopathology* 123:186–196.
- Reber, A.J., Donovan, D.C., Gabbard, J., Galland, K., Aceves-Avila, M., Holbert, K.A., Marshall, L. & Hurley, D.J. (2008). Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system Part II. Effects on neonatal lymphocytes. *Veterinary Immunology Immunopathology* 123:305–313.

- Silverlas, C., de Verdier, K., Emanuelson, U., Mattsson, J.G. & Bjorkman, C. (2010). *Cryptosporidium* infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitology Research* 107:1435–1444.
- Stieler, A., Bernardo, B.S. & Donovan, G.A. (2012). Neutrophil and monocyte function in neonatal dairy calves fed fresh or frozen colostrum. *Journal of Applied research in Veterinary Medicine* 10:328–334.
- Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., Fetrow, J. & Chester-Jones, H. (2007). Passive transfer of immunoglobulin G and preweaning health in *Holstein* calves fed a commercial colostrum replacer. *Journal of Dairy Science* 90:3857–3866.
- Taylor, M.A., Coop, R.L. & Wall, R.L. (2007). Parasites of cattle, Endoparasites, Parasites of the digestive system. In: M.A. Taylor, R.L. Coop and R.L. Wall (Eds.), *Veterinary Parasitology* (pp. 213-216), London: Blackwell Publishing Ltd.
- Todd, C.G., Millman, S.T., McKnight, D.R., Duffield, T.F. & Leslie, K.E. (2010). Nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy for neonatal calf diarrhea complex: Effects on calf performance. *Journal of Animal Science* 88:2019–2028.
- Torsein, M., Lindberg, A., Dandgren, C.H., Waller, K.P., Tornquist, M. & Svensson, C. (2011). Risk factors for calf mortality in large Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 99:136–147.
- Trotz-Williams, L.A., Leslie, K.E. & Peregrine, A.S. (2008). Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *Journal of Dairy Science* 91:3840–3849.
- Trotz-Williams, L.A., Martin, S.W., Leslie, K.E., Duffield, T., Nydam, D.V. & Peregrine, A.S. (2007). Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine* 82:12–28.
- Van Metre, D.C., Tennant, B.C. & Whitlock, R.H. (2008). Infectious diseases of the gastrointestinal tract. In: T. Divers and S. Peck (Eds.), *Rebhun's diseases of dairy cattle* (pp. 217-219), Missouri: Saunders.
- Vasseur, E., Rushen, J. & de Passille, A.M. (2009). Does a calf's motivation to ingest colostrum depend on time since birth, calf vigor, or provision of heat? *Journal of Dairy Science* 92:3915–3921.

- Windeyer, M.C., Leslie, K.E., Godden, S.M., Hodgins, D.C., Lissemore, K.D. & Le Blanc, S.J. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine* 113:231–240.
- Xiao, L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Experimental Parasitology* 124:80–89.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U. & Upton, S.J. (2004). *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Review* 17:72–97.
- Yoder, J.S., Harral, C. & Beach, M.J. (2010). Centers for disease control and prevention. Cryptosporidiosis surveillance-United States, 2006-2008 and Giardiasis surveillance-United States, 2006-2008. *Surveillance Summaries* 59:6.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΕΙΚΟΝΕΣ



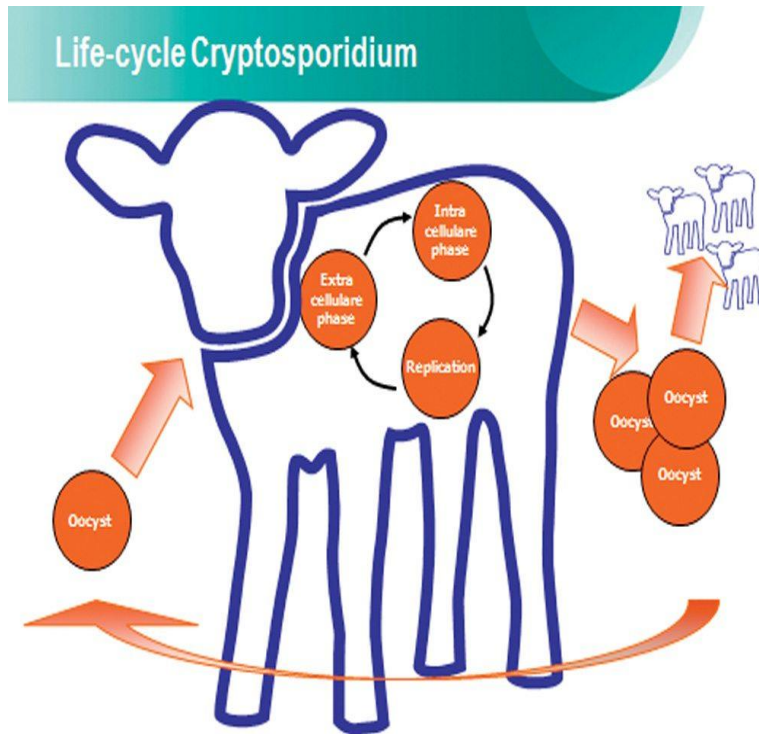
Εικόνα 2.1. Ωοκύστες *Cryptosporidium* spp.

(<http://www.marvistavet.com/html/cryptosporidium.html>)



Εικόνα 2.2. Σποροζώδια *Cryptosporidium* spp.

(http://www.waterfilterreview.com/info_h2o/contaminants/)



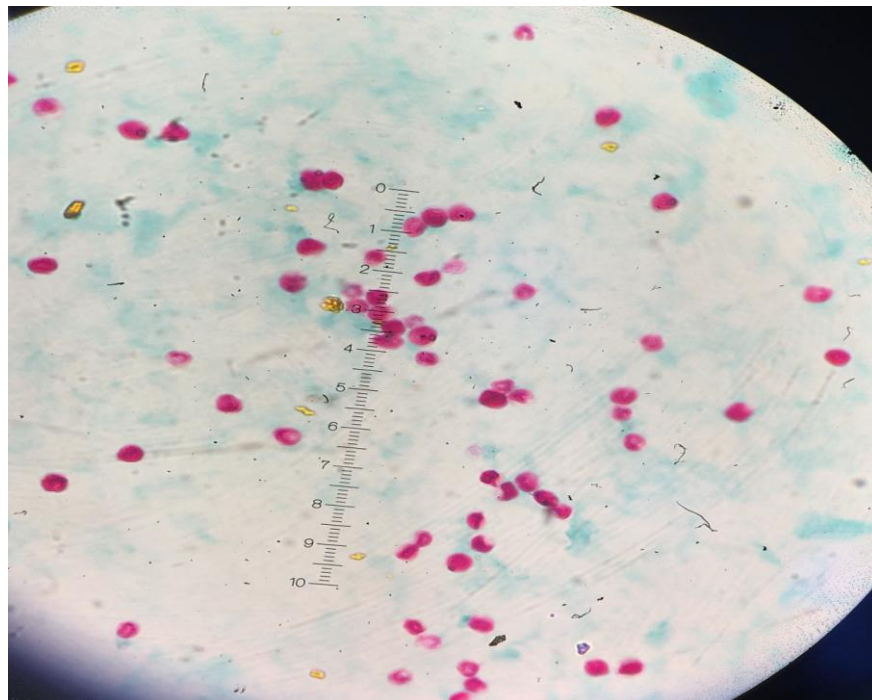
Εικόνα 2.3. Ο βιολογικός κύκλος του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp.



Εικόνα 2.4. Διάρροια των νεογέννητων μόσχων οφειλόμενη σε μόλυνση με *Cryptosporidium* spp.



Εικόνα 2.5. Υδαρή κόπρανα μύσχων λόγω μόλυνσης με *Cryptosporidium* spp.



Εικόνα 2.6. Ωοκύστες του πρωτόζου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. σε επίχρισμα κοπράνων, το οποίο έχει βαφεί με τη χρώση Ziehl-Nielsen (x100)



Εικόνα 4.7. Ατομική διαβίωση των γαλουχούμενων μόσχων (0-2 μηνών) σε εκτροφή γαλακτοπαραγωγών αγελάδων



Εικόνα 4.8. Συλλογή των ατομικών δειγμάτων κοπράνων μέσα σε αποστειρωμένο γάντι



Εικόνα 4.9. Κόπρανα μόσχων με φυσιολογική σύσταση



Εικόνα 4.10. Κόπρανα μόσχων με μαλακή σύσταση



Εικόνα 4.11. Κόπρανα μόσχων με υδαρή σύσταση



Εικόνα 4.12. «Test kit Bovine Feces (BIO 156)» της εταιρείας MSD

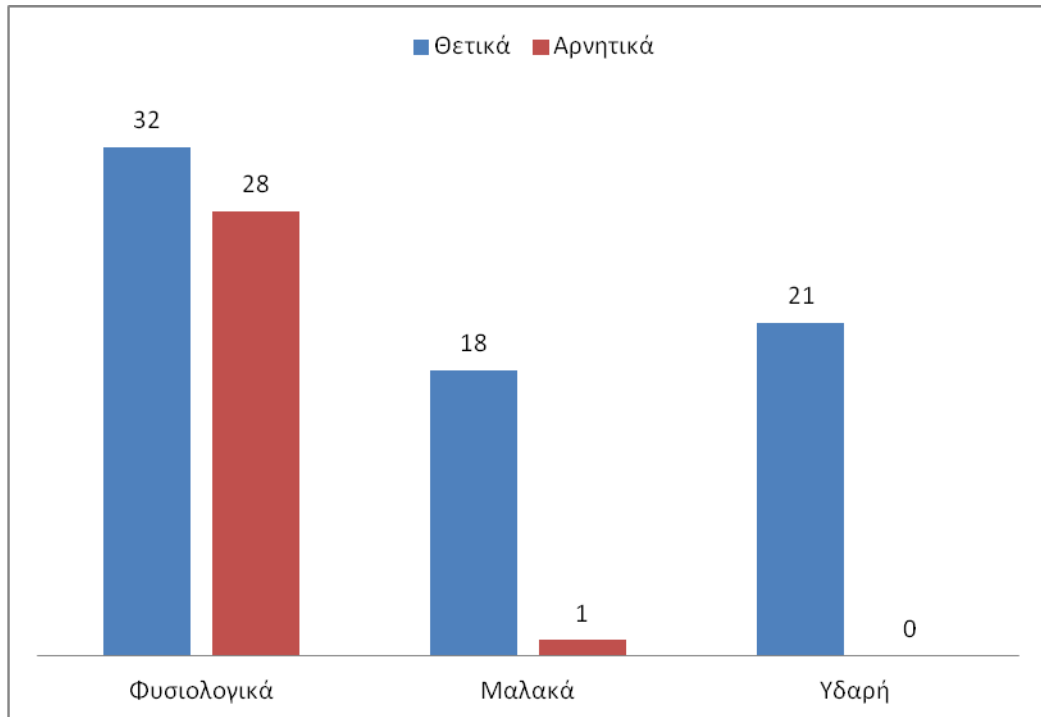


Εικόνα 4.13. Μετρητής πρωτογάλακτος (colostrum meter)

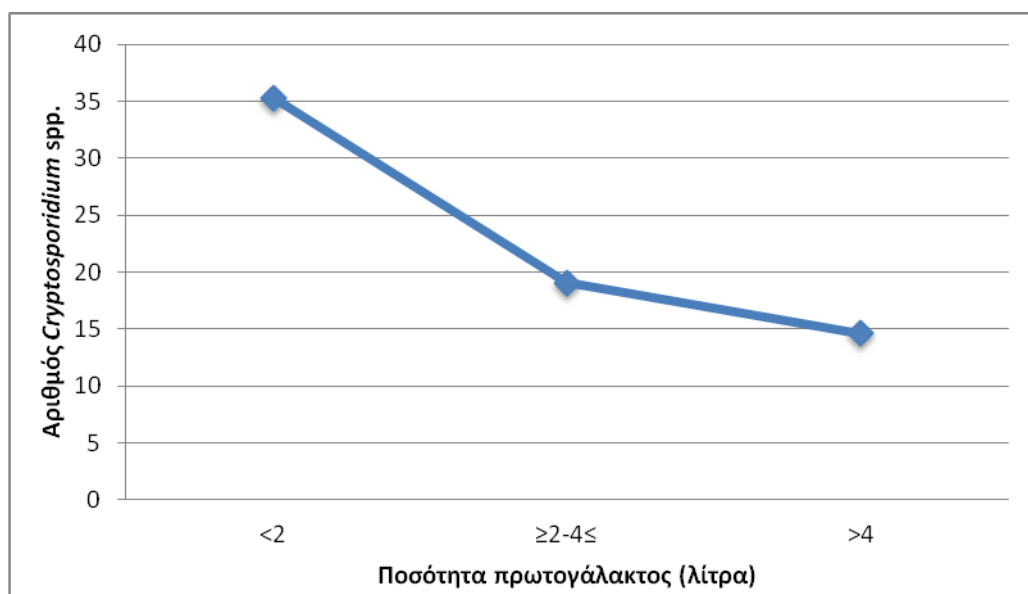


Εικόνα 4.14. Βαθμονομημένος ογκομετρικός κύλινδρος

ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ



Γράφημα 5.1. Σχηματική παράσταση της κατανομής των θετικών και αρνητικών στο *Cryptosporidium* spp. δειγμάτων κοπράνων, αναλόγως της σύστασής τους (φυσιολογικά, μαλακά, υδαρή).



Γράφημα 5.2. Γράφημα το οποίο δείχνει τη σχέση μεταξύ της ποσότητας του χορηγούμενου πρωτογάλακτος και του αριθμού των *Cryptosporidium* spp.

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 5.1. Μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. ανά κατηγορία σύστασης κοπράνων (φυσιολογικά, μαλακά, υδαρή) των γαλουχούμενων μόσχων (%)

Σύσταση κοπράνων	Μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωοκύστεων του <i>Cryptosporidium</i> spp.
Φυσιολογικά 32/71 (45%)	7.37 ^a \pm 4.46
Μαλακά 18/71 (25.4%)	14.55 ^b \pm 8.42
Υδαρή 21/71 (29.6%)	35.67 ^c \pm 22.11

Οι εκθέτες ^{a, b, c} δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές του αριθμού των *Cryptosporidium* spp. ανά κατηγορία σύστασης κοπράνων ($P \leq 0.05$).

Πίνακας 5.2. Μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp. ανά ποιότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος

Ποιότητα πρωτογάλακτος	Μέσος όρος (\pm SD) του αριθμού των ωοκύστεων του <i>Cryptosporidium</i> spp.
Καλή 26/71 (36.6%)	7.73 ^a \pm 7.41
Μέτρια 27/71 (38%)	17.03 ^b \pm 14.31
Κακή 18/71 (25.4%)	32.55 ^c \pm 22.55

Οι εκθέτες ^{a, b, c} δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές του αριθμού των *Cryptosporidium* spp. ανά ποιότητα του χορηγούμενου πρωτογάλακτος ($P \leq 0.05$).

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

Πίνακας 5.3. Αλληλεπίδραση της ποιότητας του πρωτογάλακτος και της εποχής γέννησης των μόσχων, στον αριθμό των ωοκύστεων του πρωτόζωου παρασίτου *Cryptosporidium* spp.

Εποχή	Ποιότητα πρωτογάλακτος		
	Κακή	Μέτρια	Καλή
Άνοιξη	25.00 ^a A (4.59)	27.88 ^a A (3.98)	3.00 ^a B (2.81)
Καλοκαίρι	29.75 ^{ab} A (5.63)	5.67 ^b B (6.50)	0.67 ^a B (3.75)
Φθινόπωρο	10.50 ^{ab} A (7.96)	6.78 ^b A (3.75)	3.41 ^a A (2.73)
Χειμώνας	49.33 ^b A (4.59)	17.67 ^{ab} A (3.75)	8.09 ^a B (3.40)

Οι εκθέτες ^{a, b} δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές του αριθμού των *Cryptosporidium* spp. μεταξύ των διαφορετικών εποχών του έτους στις στήλες του πίνακα ($P \leq 0.05$).

Τα γράμματα A, B δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές του αριθμού των *Cryptosporidium* spp. μεταξύ της ποιότητας του πρωτογάλακτος στις γραμμές του πίνακα ($P \leq 0.05$).

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

SPSS OUTPUT

OUTPUT 1

NPAR Tests

Kruskal-Wallis Test

Faeces			Crypto	
		N		
Crypto	Normal	32	Chi-Square	55.982
	Soft	18	df	2
	Watery	21	Asymp. Sig.	.000
Total		71		

NPAR Tests

Mann-Whitney Test

Faeces			Crypto	
		N		
Crypto	Normal	32	Mann-Whitney	168.000
	Soft	18	Wilcoxon W	1.998.000
Total		50	Z	-4.733
			Asymp. Sig	.000

Faeces			Crypto	
		N		
Crypto	Normal	32	Mann-Whitney	30.000
	Watery	21	Wilcoxon W	1.860.000
Total		53	Z	-6.608
			Asymp. Sig	.000

Faeces			Crypto	
		N		
Crypto	Soft	18	Mann-Whitney	71.500
	Watery	21	Wilcoxon W	261.500
Total		39	Z	-3.470
			Asymp. Sig	.001

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

OUTPUT 2

Univariate Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Crypto

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	17164.203 ^a	11	1560,382	12,306	,000
Intercept	16886,403	1	16886,403	133,170	,000
Colostrum	7454,683	2	3727,342	29,395	,000
Season * Colostrum	3519,868	6	586,645	4,626	,000
Error	11158,707	88	126,803		
Total	43873,000	100			
Corrected Total	28322,910	99			

a. R Squared = ,606 (Adjusted R Squared = ,557)

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: Crypto

(I) Colostrum		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^b
Red (low)	Yellow (medium)	14.149 [*]	3,739	,001
	Green (high)	24.853 [*]	3,339	,000
Yellow (medium)	Red (low)	-14.149 [*]	3,739	,001
	Green (high)	10.704 [*]	2,821	,001
Green (high)	Red (low)	-24.853 [*]	3,339	,000
	Yellow (medium)	-10.704 [*]	2,821	,001

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

b. Adjustment for multiple comparisons: Bonferroni.

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

OUTPUT 3

Correlations

		Crypto	Litre 1st day
Pearson Correlation	Crypto	1,000	-,298
	Litre 1st day	-,298	1,000
Sig. (1-tailed)	Crypto		,001
	Litre 1st day	,001	

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	
1	.298 ^a	,089	,080	

a. Predictors: (Constant), Litre 1st day

b. Dependent Variable: Crypto

ANOVA^a

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1 Regression	2522,958	1	2522,958	9,583	.003 ^b
Residual	25799,952	98	263,265		
Total	28322,910	99			

a. Dependent Variable: Crypto

b. Predictors: (Constant), Litre 1st day

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
	B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1 (Constant)	29,589	5,763		5,134	,000		
Litre 1st day	-3,258	1,052	-,298	-3,096	,003	1,000	1,000

a. Dependent Variable: Crypto

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

OUTPUT 4

Univariate Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Crypto

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	17164,203 ^a	11	1560,382	12,306	,000
Intercept	16886,403	1	16886,403	133,170	,000
Colostrum	7454,683	2	3727,342	29,395	,000
Season * Colostrum	3519,868	6	586,645	4,626	,000
Error	11158,707	88	126,803		
Total	43873,000	100			
Corrected Total	28322,910	99			

a. R Squared = ,606 (Adjusted R Squared = ,557)

Pairwise Comparisons

Dependent

Variable: Crypto

Season			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^b
Spring	Red (low)	Yellow (medium)	-2,875	6,081	1,000
		Green (high)	22,000*	5,391	,000
	Yellow (medium)	Red (low)	2,875	6,081	1,000
		Green (high)	24,875*	4,876	,000
	Green (high)	Red (low)	-22,000*	5,391	,000
		Yellow (medium)	-24,875*	4,876	,000
Summer	Red (low)	Yellow (medium)	24,083*	8,601	,019
		Green (high)	29,083*	6,767	,000
	Yellow (medium)	Red (low)	-24,083*	8,601	,019
		Green (high)	5,000	7,507	1,000
	Green (high)	Red (low)	-29,083*	6,767	,000
		Yellow (medium)	-5,000	7,507	1,000
Autumn	Red (low)	Yellow (medium)	3,722	8,803	1,000

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

		Green (high)	7,088	8,418	1,000
	Yellow (medium)	Red (low)	-3,722	8,803	1,000
		Green (high)	3,366	4,642	1,000
	Green (high)	Red (low)	-7,088	8,418	1,000
		Yellow (medium)	-3,366	4,642	1,000
Winter	Red (low)	Yellow (medium)	31.667*	5,935	,000
		Green (high)	41.242*	5,715	,000
	Yellow (medium)	Red (low)	-31.667*	5,935	,000
		Green (high)	9,576	5,061	,185
	Green (high)	Red (low)	-41.242*	5,715	,000
		Yellow (medium)	-9,576	5,061	,185

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

b. Adjustment for multiple comparisons: Bonferroni.