



EESTI MAAÜLIKOOL

Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

**Grete Laarmann**

**VASIKATE AKUUTSE FAASI PROTEIINIDE MUUTUSED  
NUDISTAMISJÄRGSOLT NING NENDE VÕIMALIK SEOS  
JUURDEKASVU JA HAIGESTUMISEGA**

CHANGES IN ACUTE PHASE PROTEINS IN CALVES AFTER  
DISBUDDING AND ITS POSSIBLE ASSOCIATION WITH  
WEIGHT GAIN AND MORBIDITY

Loomaarstiõppe lõputöö

Veterinaarmeditsiini õppekava

Juhendajad: professor Toomas Orro, *DVM, PhD*

Elisabeth Dorbek-Kolin, *DVM*

Tartu 2018

Eesti Maaülikool  Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Loomaarstiõppe lõputöö  lühikokkuvõte	
Autor: Grete Laarmann		Õppekava: Veterinaarmeditsiini õppekava	
Pealkiri: Vasikate akuutse faasi proteiinide muutused nudistamisjärgselt ning nende võimalik seos juurdekasvu ja haigestumisega			
Lehekülgi: 42	Jooniseid: 8	Tabeleid: 6	Lisasid: -
Õppetool: Kliinilise veterinaarmeditsiini õppetool ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: 3. Terviseuuringud, 3.2 veterinaarmeditsiin B750 Veterinaarmeditsiin, kirurgia, füsioloogia, patoloogia, kliinilised uuringud Juhendajad: Toomas Orro, Elisabeth Dorbek-Kolin Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu 2018			
<p>Vasika esimesel eluaastal on mitmeid stressi tekitavaid olukordi, millest üks on nudistamine. Stress põhjustab vereseerumis akuutse faasi proteiinide tõusu. Uurimistöö eesmärk on analüüsida vasika immuunsüsteemi esimesel elukuul, mõõtes akuutse faasi proteiine enne ja peale nudistamist ning kehatemperatuuri ja vanuse mõju nende proteiinide kontsentratsioonile. Samuti analüüsitakse akuutse faasi proteiinide võimalikku seost haigestumise ja vasikate juurdekasvuga esimesel eluaastal ning suremusega. Andmed koguti 158 Eesti Holsteini tõugu vasikalt. Vereproovid analüüsiti laboris ja andmeid analüüsiti regressioonimudelites. Töös leiti, et nudistamine ei tõstnud 24 h jooksul akuutse faasi proteiinide kontsentratsioone. Lisaks leiti, et nooremalt nudistatud vasikad omasid väiksemat seerumi amüloid A kontsentratsioonide muutust ja et esimese kuu keskmise päevase juurdekasvu ja haptoglobiini muutuse vahel on negatiivne seos. Akuutse faasi proteiinid ei olnud seoses vasika keskmise päevase juurdekasvuga. Samuti leiti, et suurem haptoglobiini muutus põhjustab suuremat suremise riski. Mitmed leitud tulemused sarnanesid varem ilmunud artiklite tulemustega.</p>			
Märksõnad: seerumi amüloid A, haptoglobiin			

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Veterinary Medicine Study Thesis	
Author: Grete Laarmann		Curriculum: Veterinary Medicine	
Title: Changes in acute phase proteins in calves after disbudding and its possible association with weight gain and morbidity			
Pages: 42	Figures: 8	Tables: 6	Appendixes: -
Chair: Chair of Veterinary Clinical Medicine Field of research and (CERC S) code: 3. Health, 3.2. Veterinary Medicine B750 Veterinary medicine, surgery, physiology, pathology, clinical studies Supervisors: Toomas Orro, Elisabeth Dorbek-Kolin Place and date: Tartu 2018			
<p>In the first year of life, a calf experiences many stressful events, such as disbudding. Stress causes elevation of acute phase proteins in serum. The objective of the thesis is to analyze calf's immune system during the first month of its life. For this, the acute phase proteins are measured before and after disbudding, also relationships between these proteins and body temperature and age of disbudding will be analyzed. In addition, association between acute phase proteins and morbidity, daily weight gain and mortality will be analyzed. The data was collected of 158 Estonian Holstein calves. Blood was collected directly before disbudding and 24 hours after. Blood analysis was done in laboratory and statistical modelling by regression analysis. The result of this thesis was that disbudding didn't cause changes in acute phase proteins during 24 hours. Calves that were younger during disbudding, had small change in serum amyloid A concentrations. Also was found that the daily weight gain of first month had negative association with the change of haptoglobin. Acute phase proteins weren't associated with daily weight gain. In addition, mortality is higher if the change of haptoglobin concentration is bigger. These results indicate that disbudding doesn't cause changes in acute phase proteins, nor do acute phase proteins cause smaller daily weight gain, yet a bigger change of haptoglobin may cause higher mortality. Many results were similar to findings in previously published articles.</p>			
Keywords: serum amyloid A, haptoglobin			

# SISUKORD

LÜHENDITE LOETELU.....	5
SISSEJUHATUS.....	6
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	7
1.1 Nudistamine.....	7
1.1.1. Nudistamisviisid.....	7
1.1.2. Ravimite kasutamine nudistamisel.....	9
1.1.3. Seos haigestumisega.....	12
1.2. Akuutse faasi vastus.....	13
1.2.1. Tsütokiinid.....	14
1.2.2. Akuutse faasi proteiinid.....	15
1.2.2.1. Seerumi amüloid A.....	16
1.2.2.2. Haptoglobiin.....	17
1.2.2.3. Akuutse faasi proteiinid vasikatel.....	18
2. UURIMISTÖÖ EESMÄRGID JA HÜPOTEESID.....	21
3. MATERJAL JA METOODIKA.....	22
3.1. Loomad.....	22
3.2. Nudistamine.....	22
3.3. Andmete ja proovide kogumine.....	23
3.4. Laboranalüüs.....	23
3.5. Statistiline analüüs.....	24
4. TULEMUSED.....	25
5. ARUTELU.....	33
JÄRELDUSED.....	36
KASUTATUD KIRJANDUS.....	37

## LÜHENDITE LOETELU

AFP – akuutse faasi proteiin

AFV – akuutse faasi vastus

BRD – veiste hingamisteede põletik (*bovine respiratory disease*)

ELISA – ensüümivahendatud immunosorptsioonimeetod (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

Hb – hemoglobiin

Hp – haptoglobiin

HPA telg – hüpotalaamilis-hüpofüsaar-adrenaalne telg (*hypothalamic-pituitary-adrenal axis*)

IL-1 – interleukiin-1

IL-6 – interleukiin-6

NSAID – mittesteroidne põletikuvastane ravim (*non-steroidal anti-inflammatory drug*)

SAA – seerumi amüloid A

TNF $\alpha$  – tuumori nekroosi faktor  $\alpha$

## SISSEJUHATUS

Veise eluaja jooksul on mitmeid stressirohkeid etappe, mis mõjutavad vasikaeas näiteks kasvuiivet ja haigustele vastuvõtlikkust ning täiskasvanueas tiinestuvust (Kim *et al.* 2011). Varasemalt kasutati veterinaarmeditsiinis põletikulise protsessi kindlaks tegemiseks albumiini ja globuliini suhte määramist (Cray *et al.* 2009). Tänapäeval kasutatakse selleks aga fibrinogeeni mõõtmist (Ganheim *et al.* 2003), kuid kiirema tulemuse saamiseks vereseerumist akuutse faasi proteiinide mõõtmist (Petersen *et al.* 2004). Seerumi amüloid A ja haptoglobiin on akuutse faasi proteiinid, nende kontsentratsioon veres tõuseb viirus- ja bakterhaigustega ning stressiga, kuid tervel loomal on nad madalas kontsentratsioonis (Murata *et al.* 2004). Vasikas puutub esimestel elukuudel kokku mitmesuguste stressi tekitavate olukordadega. Peale sündi vasikas lahutatakse emast, pannakse eraldi boksi ning hiljem transporditakse ta grupisulgu, kus puutub kokku teiste vasikatega ning tõenäoliselt ka haigustekitajatega. Esimestel elukuudel toimub vasika nudistamine ning võõrutamine piimast. Kõik see tekitab stressi, mis omakorda suurendab haigestumise riski ja on samal ajal akuutse faasi vastuse stiimuliks (Hulbert, Moisa 2016). Teema olulisus seisneb selles, et Eestis elab enamik piimakarjadest vabapidamislautades, kus valdavalt kõik lehmvasikad nudistatakse. Vasikate nudistamise ja akuutse faasi proteiinide kohta on tehtud mitmeid uuringuid, kuid käesolev lõputöö uurib nende võimalikke mõjusid pikema aja vältel. Teema on oluline leidmaks võimalikke lehma tervist mõjutavaid tegureid juba vasikaeas. Sellel uuringul on mitmeid eesmärke. Uurimistöö peamine eesmärk on analüüsida vasika immuunsüsteemi esimesel elukuul, mõõtes akuutse faasi proteiine enne ja peale nudistamist ning kehatemperatuuri ja vanuse mõju nende proteiinide kontsentratsioonidele. Selle tööga otsitakse seost nudistamise ja akuutse faasi proteiinide kontsentratsiooni muutustega vasikatel ning otsitakse vastust küsimusele, kas akuutse faasi proteiinid on seoses vasika kasvuiibega ühe aasta jooksul. Uuringus koguti andmeid 158 Eesti Holsteini tõugu lehmvasikalt. Vasikatelt võetud vereproove analüüsiti laboris akuutse faasi proteiinide kontsentratsioonide määramiseks ja statistiline analüüs teostati Ms Excel ja STATA programmides. Töö autor osales laboranalüüsidel ja statistilisel analüüsil.

# 1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1 Nudistamine

Vasikal hakkavad sarved arenema alates teisest elukuust. Esialgu on sarvealgmed koljule kinnitumata, kuid hiljem need liituvad otsmikuluuga ja moodustavad sarvjätked, mis on ühendatud otsmikusiinusega ning siis omavad nad ka vere- ja närvivarustust (Knierim *et al.* 2015). Nudistamist on soovitatud, et vähendada sarvedega tekitatud traumasid liigikaaslastele kui ka inimestele (Cozzi *et al.* 2015), kuid lühiajaliselt tekitab protseduur siiski stressi ja valu (Heinrich *et al.* 2010). Nudistamisel tõuseb veres leiduv glükokortikoidhormoon kortisool kiiresti, mis on tingitud kudede vigastamisel tekkinud valust ja looma käsitlemisel tekkinud stressist ning see langeb normaaltasemele alles 7-9 tunni pärast (Stafford, Mellor 2005). Nudistatakse alla 8-nädalaseid vasikaid, kelle sarvealgmed on 5-10 mm pikkused (Stock *et al.* 2013). Mirra *et al.* (2018) otsisid erinevust eri vanuses vasikate nudistamisel ja leidsid, et võrdlusena ühe- või neljanädalasel vasikal ei esine erinevusi käitumuslike ja füsioloogiliste valutunnuste osas.

Lähtuvalt Loomakaitseseadusest on nudistamine lubatud veterinaarne tegevus, mida võib teostada lisaks veterinaarile ka vastava väljaõppe saanud isik (Loomakaitseseadus 2000, §9 lg 2, 3), kuid ravimeid võib süstida vaid veterinaar (Ravimite ning ravimsöötade... 2005, §6, lg 2, 3).

### 1.1.1. Nudistamisviisid

Nudistamisviise on mitmeid: kuuma rauaga (elektriga ja gaasiga) ja keemiliselt (aluselise pasta või pulgaga ja happega). Täiskasvanud loomal saab sarvi eemaldada kirurgiliselt või tross-saega (Stafford, Mellor 2005).

Kuuma rauaga nudistamisel rahustatakse loom ja asetatakse rinnakule. Seejärel tehakse sarnanärvi sarveharu blokaad ning sarvede kohalt ja nende ümbrusest pügatakse karv (Stock *et al.* 2013). Nudistamisaparaati kuumutatakse eelnevalt kümme minutit, kuni see on saavutanud temperatuuri 600°C, misjärel pannakse aparaat sarvealgme peale ning keeratakse aeglaselt 5-10 sekundit ning sarvealge eemaldatakse koos nahaga (Heinrich *et al.* 2010). Haavale pihustatakse antibiootikumi sisaldavat vahendit. Protseduuri lõppedes tekib lühiajaline kortisooli tõus, mis langeb normaaltasemele kahe tunni pärast (Stafford, Mellor 2005).

Happega nudistamiseks kasutatakse 58% lämmastikhappe (HNO<sub>3</sub>) lahust (Vasikate nudistamine 2003). Vasikas rahustatakse ja asetatakse rinnakule ning sarvede kohalt ja nende ümber pügatakse karv. Sarvedele ja nende ümber tilgutatakse 5 ml hapet. Happega nudistatud vasikas peab protseduurijärgselt olema teistest vasikatest eraldatud kaks päeva ning tekkinud koorik eemaldub kahe kuu pärast (Vasikate nudistamine 2003).

Pastaga nudistamiseks on samuti soovitatud vasikas eelnevalt rahustada ja manustada lokaalanesteesia (Stock *et al.* 2013). Nudistamispasta sisaldab kaaliumhüdroksiidi (KOH) või naatriumhüdroksiidi (NaOH) (Weaver *et al.* 2018: 91). Sarvealgmetele ja nende ümber umbes 2 cm laiuselt määratakse õhuke kiht pastat, mis ümbritsetakse vaseliiniga, vältimaks pasta valgumist nahale (Vickers *et al.* 2005). Selline nudistamisviis on sobilik kuni 1-nädalaste vanuste vasikate nudistamiseks (Weaver *et al.* 2018: 91). Uuringutes on leitud, et pastaga nudistamine on vasikale vähem valusam kui kuuma rauaga nudistamine (Vickers *et al.* 2005).

Tross-saega sarvede eemaldamisel blokeeritakse eelnevalt sarnanärvi sarveharu, soovitatud on loom rahustada ja/või fikseerida. Täiskasvanud veistele on soovituslik manustada lisaks 5-10 ml lokaalanestetikumi sarvest kaudaalselt naha alla, blokeerides I kaelanärvi (Weaver *et al.* 2018: 93-94). Kümne minuti pärast saetakse ühtlase tempo ja jõuga, kuni sarv on täielikult läbistatud. Verejooksu peatamiseks kasutatakse hambatikke, mis lükatakse allesjäänud sarve sisse ning samuti kasutatakse kummipaela žgutina sarve ümber (Weaver *et al.* 2018: 93-94). Lisaks on kirjeldatud verejooksu takistamiseks kuuma raua kasutamist peale saagimist (Stafford, Mellor 2005).

Kirurgiline sarvede eemaldamine on ajamahukam, kuid eeliseks on väiksem sinusiidi tekkeoht võrreldes saagimisega (Weaver *et al.* 2018: 95). Loom fikseeritakse ning soovitatud



on sellist protseduuri teha sedatsioonis. Seejärel põetakse karv sarvede ümbrusest, sarvedevahemügaralt ja otsmikult ning valmistatakse ette operatsiooniväli (povidoonjodiidi või kloorheksidiiniga) (Miesner 2008). Lokaalanesteesiaga blokeeritakse sarnanärvi sarveharu ja lõikekohad sarve ümber. Lõiget alustatakse sarvedevahemügaralt ning läbistatakse kõik naha kihid. Lõikejoon läheb mõlemalt poolt sarve, kus jäetakse 0,5-1 cm varu sarve-naha piirilt, kuni lõikejooned ühinevad sarvest lateraalselt (Miesner 2008, Weaver *et al.* 2018: 95-96). Seejärel tuleb nahka pisut lahti prepareerida, misjärel eemaldatakse sarv kuni otsmikuluuni ning peatatakse võimalikud verejooksud (Miesner 2008). Sarve võib eemaldada tross-saega. Haav suletakse mitteresorbeeruva õmblusmaterjaliga, õmblused eemaldatakse kahe nädala pärast (Weaver *et al.* 2018: 95-96).

Kirurgilisel sarvede eemaldamisel tõuseb kortisool kiiresti ja püsib kõrgena 7-9 tundi, kuni langeb tagasi normaaltasemele (Stafford, Mellor 2005). Mullikatel paranevad otsmikusiinuse haavad nelja nädalaga, kuid täiskasvanud loomadel võtab see aega umbes kuus nädalat (Stafford, Mellor 2005).

Cozzi *et al.* (2015) küsitluses selgus, et 80% Euroopa piimafarmidest on nudistatud loomadega, kellest 89% nudistavad vasikaid ning 11% eemaldavad sarvi juba vanematelt loomadelt. Kõige sagedamini kasutatakse kuuma rauaga nudistamist (80%), sellele järgneb nudistamisepasta kasutamine (16%). Sarvede eemaldamiseks kasutatakse peamiselt saagimist (84%) (Cozzi *et al.* 2015).

Nudistamise võimalikud komplikatsioonid on ravimite kõrvaltoimed, sarve taaskasvamine ebakvaliteetse nudistamise tõttu ja sarvede eemaldamisel otsmikusiinuse sinusiit (Weaver *et al.* 2018: 95-96). Keemilise nudistamise korral võib kemikaal sattuda ka mujale – ümbritsevale nahale, silmadesse, teistele vasikatele – ja põhjustada seeläbi ebameeldivusi (Stafford, Mellor 2005).

### **1.1.2. Ravimite kasutamine nudistamisel**

Cozzi *et al.* (2015) küsitluses selgus, et vaid 35% Euroopa piimafarmidest kasutatavad vasikate nudistamisel ravimeid ja 57% farmidest kasutavad ravimeid sarvede saagimisel.

Vasikate nudistamine ilma ravimeid kasutamata tähendab vasikale valu tundmist ja kortisooli kontsentratsiooni kõrgel püsimist pikemalt kui üks ööpäev (Stafford, Mellor 2005). Valutunnuseid saab vähendada ravimite kasutusega sedatsiooniks, lokaalanesteesiaks ja valuvaigistamiseks, sealjuures tagades loomade heaolu (Heinrich *et al.* 2010).

Nudistamiseks tuleks vasikas eelnevalt rahustada ja asetada rinnakule (Stafford, Mellor 2005). Sedatsiooniks manustatakse intramuskulaarselt ksülasiini doosis 0,2 mg/kg (Vickers *et al.* 2005). Rahustatud vasikale on lokaalanesteesia manustamine mugav. Rahustamiseks kasutatud ksülasiin vähendab kortisooli tõusu esimese kolme tunni jooksul peale nudistamist (Stafford, Mellor 2005).

Lokaalanesteesiaga blokeeritakse sarnanärvi sarveharu. Selleks sisestatakse 18G või 20G nõel umbes 2,5 cm sarvealgmest rostraalselt oimujuone juurest närvi juurde ning peale aspireerimist süstitakse 5-10 ml 2% lidokaiini või 6 ml 0,25% bupivakaiini (Stock *et al.* 2013). Lokaalanesteesia kasutamine vähendab nudistamise ajal tekkivaid valutunnuseid, nagu saba vehkimine, põgenemine ning tagajalgadele tõusmine (Stafford, Mellor, 2005). Sylvester *et al.* (1998) kasutasid uuringus lokaalanesteesia testimiseks lisaks kortisooli mõõtmisele ka sarve ümbritseva naha torkimist nõelaga. Nahk muutus tundlikuks 2,5-3 tundi peale lokaalanesteesia tegemist, samal ajal tõusis ka kortisool ning vasikad hakkasid valutunnuseid näitama. Nudistamisel kasutatud lokaalanesteesia tõestas kortisooli tõusu puudumisega, et see vähendab valu (Sylvester *et al.* 1998). Kuid kahe tunni möödumisel nudistamisest näitavad vasikad valutunnuseid, mis langeb kokku lidokaiini toime kestusega.

Kuna nudistamisjärgselt on vasikatel valutunnuseid näha peaaegu kaks ööpäeva, siis soovitatakse kasutada valuvaigistina mittesteroidseid põletikuvastaseid ravimeid (*non-steroidal anti-inflammatory drug* - NSAID) (Heinrich *et al.* 2010). NSAID-idest kasutatakse nudistamisjärgse valuvaigistina meloksikaami (0,5 mg/kg intramuskulaarselt), ketoprofeeni (3 mg/kg intramuskulaarselt) ja fluniksiinmeglumiini (2,2 mg/kg intravenoosselt) (vt tabel 1) (Stock *et al.* 2013). Ketoprofeen vähendab nudistamisest tingitud valu väga hästi, kuid selle poolestusaeg on veise organismis väga lühike, 2-4 tundi. Fluniksiinmeglumiini poolestusaeg on 6-7 tundi, meloksikaami poolestusaeg on aga 26 tundi, seetõttu on meloksikaam nudistamisjärgseks kasutuseks parim NSAID. Lisaks on meloksikaam tsüklooksügenaas-2 (COX-2) selektiivne NSAID, kuid nii ketoprofeen kui ka fluniksiinmeglumiin on mitteselektiivsed COX inhibiitorid. Meloksikaami kasutamine vähendab võimalikke seedesüsteemi probleeme vasikatel, ent mitteselektiivsete NSAID-ide

kasutus seda just suurendab (Heinrich *et al.* 2010). Stewart *et al.* (2009) kasutasid oma uuringus lisaks lokaalanesteesia ühekordset NSAID-i süsti ning selle toimet esines nendel vasikatel vähem valutunnuseid kui kontrollgrupil, kes olid nudistatud vaid lokaalanesteesiaga. Ka Allen *et al.* (2013) ja Heinrich *et al.* (2010) leidsid, et nudistamisel NSAID-i saanud vasikatel ei esinenud peale lokaalanesteesia toime lõppemist valutunnuste teket ning kortisooli kontsentratsioon oli madalam kui kontrollgrupil.

**Tabel 1.** Vasikate nudistamiseks soovitatud ravimid koos nende dooside ja manustamiskohtadega (Stock *et al.* 2013, Vickers *et al.* 2005)

Eesmärk	Toimeaine	Doos	Manustamiskoht
sedatsioon	ksülasiin	0,2 mg/kg	lihasesse
lokaalanesteesia	2% lidokaiin	5-10 ml	naha alla
lokaalanesteesia	0,25% bupivakaiin	6 ml	naha alla
valu vaigistamine	meloksikaam	0,5 mg/kg	lihasesse
valu vaigistamine	ketoprofeen	3 mg/kg	lihasesse
valu vaigistamine	fluniksiinmeglumiin	2,2 mg/kg	veeni

Kirurgilisel sarvede eemaldamisel tõuseb kortisool kiiresti ning see püsib 7-9 tundi, kuni langeb tagasi normaaltasemele (Stafford, Mellor 2005). Ravimite kasutamine hoiab kortisooli taseme madalamana, millest esimese kahe tunni kortisooli tõusu hoiab ära lidokaiiniga tehtud sarnanärvi sarveharu lokaalanesteesia ning NSAID-i kasutamisel langeb kortisool juba kahe tunniga. Parem on kasutada nii lokaalanesteesiast kui ka NSAID-i, sel juhul on kortisooli tõus minimaalne (Stafford, Mellor 2005).

Ravimite kasutamine nudistamisel annab lisaks loomade heolule ka majandusliku aspekti. Vasikatel, kellel kasutatakse nudistamisel sedatsiooni ja lokaalanesteesiast, on suurem kasvuiive võrreldes vasikatega, kellel ravimeid ei kasutata (Bates *et al.* 2016). Samas on suurem kasvuiive ka vasikatel, kellel kasutati ainult NSAID-i võrreldes vasikatega, kellel ei kasutatud ühtegi ravimit. Kuid ainult NSAID-i kasutamine ei ole nudistamisest tingitud valu vaigistamiseks piisav, sest käitumuslikud valutunnused on sel juhul sama ulatuslikud kui ilma ravimiteta nudistamisel (Bates *et al.* 2016).

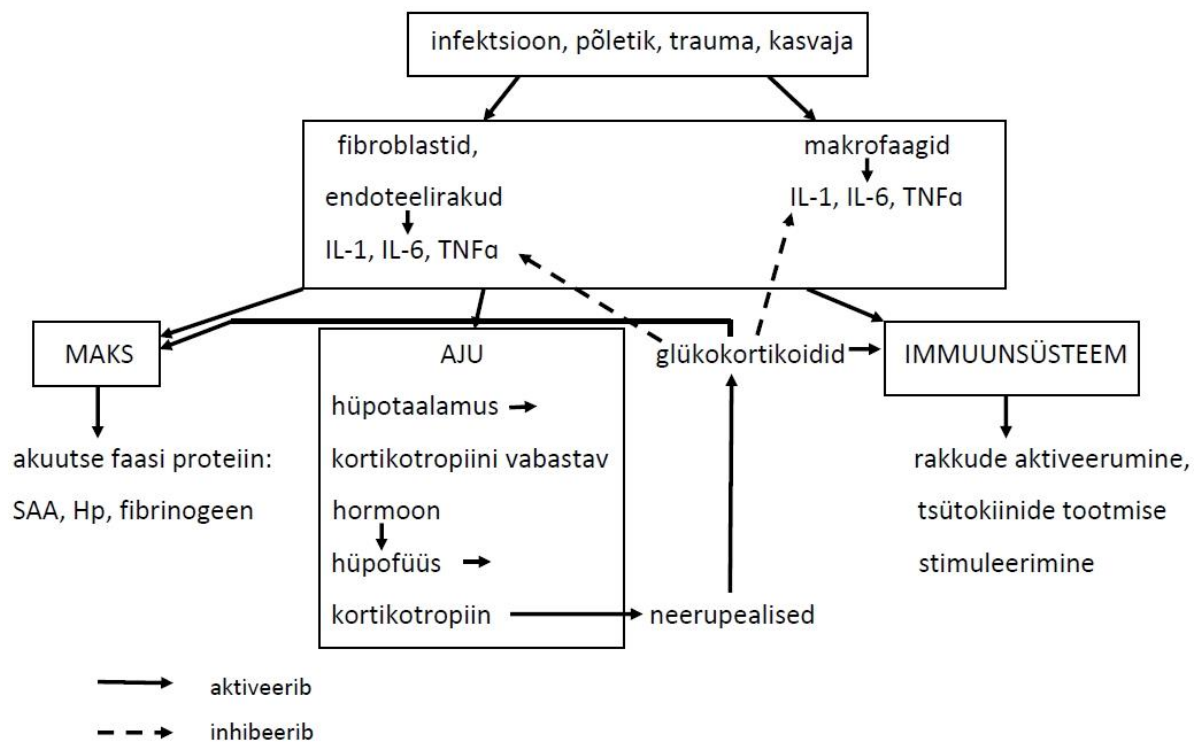
Loomade heaolu toetuse määruse §8 lõike 2 kohaselt saab toetust piimakarjale taotleda juhul, kui vasikad on nudistatud üldanesteesias koos analgeesiaga või sedatsioonis koos lokaalanesteesia ja analgeesiaga ning samuti peab ka olema selle kohta veterinaari kirjalik kinnitus.

### **1.1.3. Seos haigestumisega**

Sarnaselt nudistamisele tekitab lühiajalist valu, traumat, põletikku ja stressi kastratsioon. Nii nudistamine kui kastratsioon on riskifaktoriks erinevatesse haigustesse, eelkõige hingamisteede põletikku, haigestumisel (Lorenz *et al.* 2011). Uuringutes lihaveise vasikatega on leitud, et kastratsioon põhjustab suuremat riski hingamisteede haigustesse haigestumisel võrreldes kontrollgrupiga, keda ei kaстреeritud (Coetzee *et al.* 2012, Richeson *et al.* 2013). Lisaks leidsid Coetzee *et al.* (2012), et haigestumine respiratoorhaigusse oli väiksem, kui vasikate kastratsioonil kasutati meloksikaami.

## 1.2. Akuutse faasi vastus

Akuutse faasi vastus (AFV) on kaasasündinud mittespetsiifiline immuunreaktsioon, mille stiimuliteks on näiteks põletik, trauma, infektsioon, stress ja kasvaja (Cray *et al.* 2009). Stiimuli mõjul hakkavad makrofaagid tootma põletikutsütokiine (vt joonis 1) (Petersen *et al.* 2004), mis hakkavad ringlema veres ja rakuvälises vedelikus (Gruys *et al.* 2005). Proinflammatoorsete tsütokiinide, peamiselt interleukiin-1 (IL-1), interleukiin-6 (IL-6) ja tuumori nekroosi faktori  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) toimel suureneb maksas akuutse faasi proteiinide tootmine (AFP) (Murata *et al.* 2004, Petersen *et al.* 2004). Lisaks hepatotsüütide poolt toodetud AFP-le on võimalik ka ekstrahepaatiline süntees, mille eesmärk on koes vähendada oksüdatiivset stressi ja soodustada fagotsütoosi (Ceciliani *et al.* 2012). Ekstrahepaatiliselt AFP sünteesi või AFP mRNA avaldumist on veistel kirjeldatud udarakoes, emakas, hingamisteedes, seedeorganites ja rasvkoos (Ceciliani *et al.* 2012). Tsütokiinide toimel aktiveerub hüpotalaamilis-hüpofüsaar-adrenaalne telg (HPA telg), mis aitab hoida kontrolli all põletiku ulatust (Spencer *et al.* 2011). AFV on suunatud põletikulise stiimuli eemaldamisele, taastades samal ajal homöostaasi ja aidates kaasa paranemisprotsessidele (Murata *et al.* 2004). Akuutse faasi vastuse tagajärjel tekkinud palavik on organismile kasulik, sest see on bakteritele ja viirustele ebasobivaks keskkonnaks ning samuti suureneb palaviku toimel patogeenide hävitamine (Spencer *et al.* 2011). Akuutse faasi vastuse teke on kiirem ja tugevam bakterhaiguste korral võrreldes viirushaigustega (Ganheim *et al.* 2003, Gruys *et al.* 2005).



**Joonis 1.** Akuutse faasi proteiinide tootmine organismis (kohandatud Petersen *et al.* 2004 järgi). IL, interleukiin; TNF $\alpha$ , tuumori nekroosi faktor  $\alpha$ ; SAA, seerumi amüloid A; Hp, haptoglobiin.

### 1.2.1. Tsütokiinid

Interleukiin-1, interleukiin-6 ja tuumori nekroosi faktor  $\alpha$  on peamised AFP sünteesi soodustavad tsütokiinid (Murata *et al.* 2004). Tsütokiinide toimet aktiveerub HPA telg, väheneb kasvuhormoonide sekretsioon, tekib palavik, anoreksia ja lihasrakkude katabolism (Gruys *et al.* 2005). Tsütokiinid stimuleerivad fibroplastide ja makrofaagide tootmist (Gruys *et al.* 2005).

IL-1 toimet suureneb loomal valutundlikkus ning tekib palavik (Del Giudice *et al.* 2018). TNF- $\alpha$  tõstab veres glükoositaset, põhjustab lihaste katabolismi ja tekitab palavikku (Del Giudice *et al.* 2018, Gruys *et al.* 2005). IL-6 on tsütokiinidest kõige olulisem AFP sünteesi mediaator (Gruys *et al.* 2005). IL-6 vabaneb IL-1 ja TNF- $\alpha$  stimulatsioonil, kuid IL-6 toimet väheneb IL-1 ja TNF- $\alpha$  vabanemine (Del Giudice *et al.* 2018). Nende tsütokiinide toimet

väheneb söömus ning samuti on mõjutatud süsivesikute, rasvade ja proteiini metabolism. Loomal võib tekkida negatiivne energiabilanss ning seetõttu kasvuiive väheneda (Gruys *et al.* 2005).

Akuutse stressi korral tõuseb 10-30 min jooksul IL-1 ja TNF- $\alpha$  produktsioon. IL-6 tõus on aeglasem ja see võtab aega 90-120 min (Del Giudice *et al.* 2018). Nende poolestusaeg on väga lühike, mistõttu neid ei kasutata diagnostikas nii palju nagu AFP-e (Gruys *et al.* 2005). Tsütokiinide abil toimub organismis väliste stiimulite vastu võitlemine ja kudede taastamine ning sidekoe formeerumine (Del Giudice *et al.* 2018).

### **1.2.2. Akuutse faasi proteiinid**

Akuutse faasi proteiinide mõõtmist kasutatakse diagnostilistel eesmärkidel (Murata *et al.* 2004). Nende taseme järgi ei saa panna diagnoosi, kuid see annab teavet organismis toimuvatest protsessidest ning karja tervisest (Cray *et al.* 2009, Petersen *et al.* 2004). Akuutse faasi proteiinid jagatakse nende muutuse järgi kaheks - positiivseteks ja negatiivseteks. Positiivsete AFP-de tase tõuseb seerumis AFV-e ajal ja negatiivsete AFP-de tase langeb. Seerumi amüloid A, Hp, C-reaktiivne proteiin, alfa-1-happe glükoproteiin, tseruloplasmiin ja fibrinogeen on positiivsed AFP, negatiivsete AFP-de hulka kuuluvad albumiin ja transferriin (Cray *et al.* 2009, Petersen *et al.* 2004). Positiivsed AFP jagatakse nelja gruppi nende kontsentratsiooni tõusu järgi (vt tabel 2). Veistel on AFP-st uuritud enim SAA ja Hp (Heegaard *et al.* 2000). Akuutse faasi proteiinide tase tõuseb lehmal ka poegimisel, füüsilise stressi korral ja glükokortikoidide kasutamisel (Murata *et al.* 2004).

**Tabel 2.** Akuutse faasi proteiinide jaotus nende kontsentratsiooni tõusu järgi stiimulijärgselt (Murata *et al.* 2004)

AFP	AGP	Cp	CRP	Fb	Hp	Proteaasi inhibiitor	SAA	Tf
jaotus	K	V	K	K	S	V - K	K - S	L

Märkused: S, suure tõusuga (10-100-kordne tõus stiimulijärgselt); K, keskmise tõusuga (2-10-kordne tõus); V, väikse tõusuga (<2-kordne tõus); L, väikse langusega (<2-kordne langus); AFP, akuutse faasi proteiin; AGP, alfa-1-happe glükoproteiin; Cp, tseruloplasmiin; CRP, C-reaktiivne proteiin; Fb, fibrinogeen; Hp, haptoglobiin; SAA, seerumi amüloid A; Tf, transferriin.

Akuutse faasi proteiinid tõusevad ühekordse stiimuli korral juba nelja tunni pärast (Gruys *et al.* 2005) ning saavutavad kõige kõrgema kontsentratsiooni seerumis 24 tunni jooksul pärast stiimulit (Petersen *et al.* 2004). Peale 48 tundi on AFP tase vähenenud, kuid kroonilise haiguse korral toimub pidev stimulatsioon, mistõttu AFP püsivad kõrges kontsentratsioonis pikka aega (Gruys *et al.* 2005).

Haiguse jälgimisel tuleb kasutada mitme AFP mõõtmist (Cray *et al.* 2009). Positiivse ja negatiivse AFP mõõtmisel samaaegselt on õigem määrata põletikulise protsessi raskusastet (Cray *et al.* 2009).

### 1.2.2.1. Seerumi amüloid A

Seerumi amüloid A on ühendis lipoproteiiniga ning tema kontsentratsioon seerumis tõuseb juba nelja tunni jooksul pärast põletikulist stiimulit (Petersen *et al.* 2004). Seerumi amüloid A kontsentratsioon terve vasika (vanus 5-55 päeva) vereseerumis on <178 mg/l (Seppälä *et al.* 2013). Seerumi amüloid A soodustab bakterite opsonisatsiooni, on immunomoduleeriva toimega ning kaitseb kudesid põletiku kahjuliku mõju eest (Ceciliani *et al.* 2012, Cray *et al.* 2009). Opsoniseerimise tulemusel fagotsüteeritakse gram-positiivsed ja gram-negatiivsed bakterid makrofaagide ja neutrofiilide poolt (Ceciliani *et al.* 2012). Veistel tõuseb SAA mitmete haiguste korral (vt tabel 3) (Petersen *et al.* 2004). On leitud, et



mastiidiga lehmadel on SAA tase piimas tõusnud, kuid see tõuseb ka sünnitusel ja stressi korral (Murata *et al.* 2004). Seega ei ole SAA tõus seotud vaid põletikulise protsessiga.

### 1.2.2.2. Haptoglobiin

Haptoglobiin on  $\alpha_2$ -globuliin ja seda leidub terve veise vereseerumis vähesel hulgal (Petersen *et al.* 2004). Haptoglobiin vähendab hemolüüsi oksüdatiivset mõju, samuti esineb tal bakteriostaatiline ja immunomoduleeriv toime (Cray *et al.* 2009, Petersen *et al.* 2004). Haptoglobiin seondub vaba hemoglobiiniga (Hb), mis on vigastatud erütrotsüütide tõttu vabanenud plasmasse, moodustades ühendi, mis ei läbi oma suuruse tõttu glomerulaarfiltrit (Van Vlierberghe *et al.* 2004). Moodustunud Hp-Hb ühend liigub edasi maksa. Haptoglobiin on bakteriostaatilise toimega, sest seondudes vaba Hb-ga jääb raud seda vajavatele bakteritele (nt *Escherihia coli*) kättesaamatuks (Ceciliani *et al.* 2012, Van Vlierberghe *et al.* 2004). Haptoglobiini osaleb põletikuprotsessis ja tema immunomoduleeriv toime seisneb põletikuvastaste mediaatorite vabanemise stimuleerimisel Hp-Hb ühendina (Ceciliani *et al.* 2012, Van Vlierberghe *et al.* 2004). Haptoglobiini kontsentratsioon seerumis tõuseb SAA-st hiljem ja püsib kõrgena kaks nädalat (Petersen *et al.* 2004). Tervel veisel on Hp kontsentratsioon seerumis  $<0,1$  g/l, kuid AFV korral on tõus üle 100-kordne (Ceciliani *et al.* 2012). Tervel vasikal (vanuses 5-55 päeva) on Hp kontsentratsioon  $<196$  mg/l (Seppälä *et al.* 2013). Haptoglobiini taset veise organismis tõstavad mitmed haigused (vt tabel 3) (Petersen *et al.* 2004) ning vasikatel ka transpordist tingitud stress (Murata *et al.* 2004). Haptoglobiini tase seerumis korreleerub haiguse raskusastmega (Heegaard *et al.* 2000), nimelt see on kroonilise haiguse korral kõrgem kui ägeda haiguse korral (Alsemgeest *et al.* 1994). Bakteriaalse nakatumise korral tõuseb Hp tõenäolisemalt kui viirushaiguse korral, sest esimesel juhul on kudede kahjustus suurem (Orro *et al.* 2011). Haptoglobiini hulk võib väheneda hemolüüsi korral, mistõttu selle mõõtmine hemolüüsi korral võib anda ebatäpseid tulemusi (Gruys *et al.* 2005). Haptoglobiini taseme tõus järgneb SAA tõusule, kuid väikesele SAA tõusule ei järgne Hp tõusu (Heegaard *et al.* 2000).

**Tabel 3.** Veistel esinenud seerumi amüloid A ja haptoglobiini kontsentratsiooni tõusu põhjused (Cray *et al.* 2009, Petersen *et al.* 2004)

Akuutse faasi proteiin	Põhjus
Seerumi amüloid A	Põletik Subkliiniline põletik Veise viirusdiarröa nakkus Veiste respiratoor-süntsütsiaalviiruse nakkus <i>Mannheimia haemolytica</i> nakkus Veiste koronaviiruse nakkus Veiste adenoviiruse nakkus Mastiit Transportimine
Haptoglobiin	Põletik Veise viirusdiarröa nakkus Veiste respiratoor-süntsütsiaalviiruse nakkus <i>Pasteurella multocida</i> nakkus <i>Mannheimia haemolytica</i> nakkus Suu- ja sõrataudi nakkus Veiste koronaviiruse nakkus Veiste adenoviiruse nakkus Mastiit Metriit Kastratsioon Transportimine

### 1.2.2.3. Akuutse faasi proteiinid vasikatel

Vastsündinud vasikatel on AFP-d tõusnud, mis on tingitud kolostrumist imendunud põletikutsütokiinidest, mille ülesandeks on AFP tootmine vastsündinud vasika maksas (Orro *et al.* 2008). Vasikad, keda abistatakse sünnil, on kõrgema SAA kontsentratsiooniga kui teised (Orro *et al.* 2008).

Nudistamise ja AFP tõusu kohta on uuringuid tehtud peamiselt vaid ravimikasutuse kohta. Allen *et al.* (2013) leidsid, et Hp kontsentratsioon ei erine peale nudistamist vasikatel, kes said nudistamisel lisaks sedatsioonile ja lokaalanesteesiale NSAID-i, ja vasikatel, kes ei saanud lisaks NSAID-i. Haptoglobiini tase hakkas tõusma alles 12 tundi peale nudistamist (Allen *et al.* 2013).

Lisaks nudistamisele põhjustab vasikatel AFP-de tõusu kastratsioon, kusjuures 5,5-kuustel vasikatel oli suurem Hp tõus kui 1,5-2,5-kuustel vasikatel (Ting *et al.* 2005), mis võib olla põhjendatud looma kasvades rohkem arenenud HPA teljega ja selle aktiveerumisega (Hulbert, Moisa 2016). Early ja Crowe (2002) leidsid samuti, et 5,5-kuuste vasikate kastratsioon põhjustab Hp kontsentratsiooni tõusu nii esimesel kui ka kolmandal päeval peale protseduuri, kuid nad leidsid ka seda, et NSAID-i kasutamisel Hp tase nii kõrgele ei tõuse. Peale nudistamise ja kastratsiooni on järgmine suur stressor võõrutamine. Kim *et al.* (2011) leidsid, et nii Hp kui ka SAA tõusid vasikatel kolmandal ja viiendal päeval võõrutusjärgselt (42-päevaselt) selgelt kõrgemale, kui seda oli AFP-de tase võõrutuseelselt.

Ka kõhulahtisus põhjustab vasikatel AFP-de tõusu (Balicki, Al 2014). Balicki ja Al (2014) leidsid, et suurima tõusu põhjustas *Escherichia coli* F5, uuritustest järgmisena eimerioos ning kolmandana rota- ja koronaviirused. Nende uuringus oli Hp parem AFP määramaks gruppidevahelist haigestumist kui SAA. Ka krüptosporidioosi korral on vasikatel *Cryptosporidiumi* ootsüstide eritamine ja AFP tase omavahel seotud, kus on tõusnud Hp ja SAA kahenädalastel vasikatel (Niine *et al.* 2018).

Vasikatel tõuseb hingamisteede viirushaiguste korral SAA (Orro *et al.* 2011). Uuringutes on leitud, et viirusega nakatunud veistel ei tõuse Hp kontsentratsioon vereseerumis nii selgesti (Heegaard *et al.* 2000) kui bakterhaiguse korral (Angen *et al.* 2009).

Kim *et al.* (2009) nakatasid kolme nädala vanuseid vasikaid bakterite ja viirusega ning nad leidsid, et Hp tõusis kolme päeva jooksul, saavutades kõrgeima kontsentratsiooni vereseerumis kolmandal päeval peale nakatamist, kuid selle tase ja tõus varieerus vasikatel tugevalt, mistõttu Kim *et al.* on kahtleval seisukohal, kas Hp on vaktsineerimise staatuse või infektsiooni määramiseks hea biomarker.

Ganheim *et al.* (2007) leidsid, et transpordijärgselt ja erinevatest farmidest pärit loomade ühte sulgu panemisel tõuseb vasikatel AFP kontsentratsioon. Nad leidsid, et tervete ja haigete vasikate eristamiseks on Hp taseme määramine tulemustandvam kui SAA määramine. Seerumi amüloid A on stimulatsioonile tundlikum, mistõttu see tõuseb ka stressi korral ja seega on tervise seisundi määramiseks ebakorreksem (Ganheim *et al.* 2007). Ka Angen *et al.* (2009) leidsid, et SAA oli tervetel ja haigetel vasikatel üksteisega sarnase kontsentratsiooniga, kuid sama ei olnud Hp.

Viirusega nakatatud vasikatel esineb kahefaasiline AFP-de tõus. Esmalt tõuseb SAA tase vastusena viirusele (nädal 1) ja seejärel (nädal 3) tõusevad nii SAA kui Hp, mis on vastus sekundaarsele bakteriaalsele haigestumisele (Orro *et al.* 2011). Ka Ganheim *et al.* (2003) leidsid, et vasikad, kes olid nakatatud nii bakter- kui viirushaigusega, omasid kahefaasilist AFP-de tõusu ning nendel püsis AFP-de tase kõrgemal pikemat aega kui ainult bakterhaiguse või ainult viirushaigusega nakatatud grupil, samuti leidsid, et bakterhaiguste korral on AFP-de tõus kiirem kui viirushaiguste korral.

Kokkuvõtteks on arvamusi AFP-de kasutamisest erinevaid. Kuid enim võib kohata arvamust, et haigete vasikate eristamiseks tervetest on tulemuslikum kasutada Hp määramist võrreldes teiste AFP-ga (Angen *et al.* 2009, Ganheim *et al.* 2007). Haptoglobiini kontsentratsioon on seoses haiguse raskusastmega (Heegaard *et al.* 2000), kuid akuutse haiguse korral on SAA mõõtmine Hp-st parem selle kiire tõusu tõttu (Alsemgeest *et al.* 1994). Kroonilise, subakuutse ja akuutse haiguse diagnoosimiseks soovitatakse mõõta Hp/SAA suhet (Alsemgeest *et al.* 1994) ning alati soovitatakse mõõta mitut AFP-i (Cray *et al.* 2009).

## 2. UURIMISTÖÖ EESMÄRGID JA HÜPOTEESID

Uurimistöõ eesmärgid on:

- analüüsida vasika immuunsüsteemi esimesel elukuul, mõõtes AFP-e enne ja peale nudistamist ning kehatemperatuuri ja vanuse mõju nende proteiinide kontsentratsioonidele;
- analüüsida nudistamisjärgselt SAA ja Hp kontsentratsiooni muutuse ja kehatemperatuuri seost vasikate juurdekasvuga esimesel eluaastal;
- analüüsida hingamisteede põletiku episoodide arvu seost juurdekasvuga;
- analüüsida suremuse seost AFP-de muutustega nudistamisjärgselt.

Uurimistöös püstitati järgmised hüpoteesid:

- nudistamisjärgselt tõuseb vasikatel vereseerumis SAA ja Hp kontsentratsioon;
- SAA ja Hp tõus ja palaviku olemasolu nudistamise hetkel vähendab juurdekasvu;
- mida rohkem hingamisteede põletiku episoodide, seda väiksem on juurdekasv;
- SAA ja Hp tõus vasikal põhjustab suuremat suremust.

## **3. MATERJAL JA METOODIKA**

### **3.1. Loomad**

Uurimuses kasutati ühes Eesti piimafarmis sündinud Eesti Holsteini tõugu lehmvasikaid. Antud farmis on ligikaudu 1800 piimalehma. Valimi maht oli 158 vasikat. Valim moodustati kõigist kahe kuu jooksul sündinud vasikatest.

Vasikad eraldati emast kohe peale sünni ning neid peeti individuaalsulgudes neli nädalat. Peale seda viidi nad grupisulgudesse, kus igas sulus oli kokku 8-10 vasikat. Individuaal- ja grupisulud asuvad samas ehitises.

Vasikatele söödeti kolm liitrit pastöriseerimata kolostrumi esimese kahe tunni jooksul peale sünni. Kolostrum pärines vasika enda emalt ning seda hinnati visuaalselt ja kolostromeetriga. Edasi söödeti kuni 17-päevastele vasikatele 2-3 kg pastöriseerimata piima kaks korda päevas. Neil oli vaba juurdepääs heinale, startersöödale ja veele. Seejärel vahetati piim piimapulbrisegu vastu ning selle kogust vähendati kuni võõrutamiseni, mis toimus 70-80-päevaselt. Võõrutamisjärgselt oli vasikatel vaba juurdepääs startersöödale, heinale, silole ja veele.

### **3.2. Nudistamine**

Nudistamine toimus sedatsiooniga, selleks manustati 10 minutit enne protseduuri ksülasiini intramuskulaarselt (0,2 mg/kg) ja loom asetati rinnakule. Seejärel püüti karv sarvede kohalt ja nende ümbrusest. Lokaalanesteesiaks tehti 2% lidokaiiniga sarnanärvi sarveharu blokaad, süstides mõlemale poole 5 ml. Nudistamiseks kasutati elektrilist kuumarauda, millega eemaldati nahajupp ja sarvealge. Peale protseduuri töödeldi haav antiseptilise vahendiga.

### **3.3. Andmete ja proovide kogumine**

Kõik vasikad kaaluti sünnijärgselt digitaalkaaluga. Loomi kaaluti ka 1-, 3-, 9- ja 12-kuuselt. Nudistamiseelselt ja –järgselt koguti vereproovid jugulaarveenist 18G nõelaga steriilsetesse vaakumkatsutitesse. Vereproovid viidi laborisse ning need tsentrifugeeriti kümme minutit kiirusel 3000 rpm. Saadud seerum säilitati -20°C juures kuni analüüsimiseni. Kahe verevõtu vahe oli 24 tundi. Peale nudistamist mõõdeti rektaalselt vasika kehatemperatuuri. Registreeriti hingamisteede põletiku ja diarröa juhtumid ja raviskeemid.

### **3.4. Laboranalüüs**

Seerumi amüloid A ja Hp kontsentratsioonid määrati Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi laboratooriumis. Seerumi amüloid A määramiseks kasutati testikomplekti (Tridelta Development Limited, Iirimaa), mis põhineb ensüümivahendatud immunosorptsioonimeetodil (ELISA). Esmalt lahjendatakse seerum puhverlahusega 1:500. Seejärel kantakse antigeeni sisaldavad proovid, standardlahused ja kontroll-lahused ELISA-plaadi kannusesse, mis on kaetud antikehadega. Neile lisatakse märgistatud antikeha mädarõika peroksüdaas ning plaadid inkubeeritakse 37°C juures tund aega. Seerumis olev antigeen on nüüd kahe antikeha vahel seotuna kinni. ELISA-plaadid pestakse neli korda, et eemaldada sidumata jäänud materjal. Kannusesse lisatakse substraat tetrametüülbensidiin ja plaate inkubeeritakse toatemperatuuril 15 minutit. Kannud on värvunud siniseks. Värvuse intensiivsus sõltub SAA kontsentratsioonist – mida rohkem on SAA antud proovis, seda tugevamalt lahus värvub. Reaktsioon peatatakse ja tulemused loetakse spektrofotomeetriga.

Haptoglobiini määramiseks kasutati Makimura ja Suzuki (1982) välja töötatud meetodit veiste Hp jaoks, mis põhineb Hp ja Hb seandumisel. Erinevalt nende kirjeldusest, kasutati kromogeenina tetrametüülbensidiini (Alsemgeest *et al.* 1994). Katseklaasidesse kantakse seerumiproovid, standardlahused ja kontroll-lahused. Igasse katseklaasi lisatakse 100 µl tsüanomethemoglobiini lahust (0,3 mg/ml), mille järel need inkubeeritakse toatemperatuuril 10 minutit. Selle tulemusena on moodustunud Hp-Hb ühend. Reaktsioon lõpetatakse 2,5 ml

0,9% NaCl lisamisega. Igast katseklaasist kantakse mikrotiiterplaadi kannudesse kolm 20 µl suurust proovi. Seejärel lisatakse kannudesse 200 µl tetrametüülbensidiini lahust (0,06 mg/ml) ning plaadid inkubeeritakse 37°C juures tund aega. Pärast seda lisatakse 50 µl substraati (vesinikperoksiidi lahust) ja inkubeeritakse toatemperatuuril 15 minutit, mille jooksul lahused värvuvad siniseks – mida kõrgem on Hp kontsentratsioon, seda tugevamalt on lahus värvunud. Reaktsioon peatatakse lisades igasse kannu 50 µl soolhapet (20%). Tulemused loetakse spektrofotomeetriga.

### 3.5. Statistiline analüüs

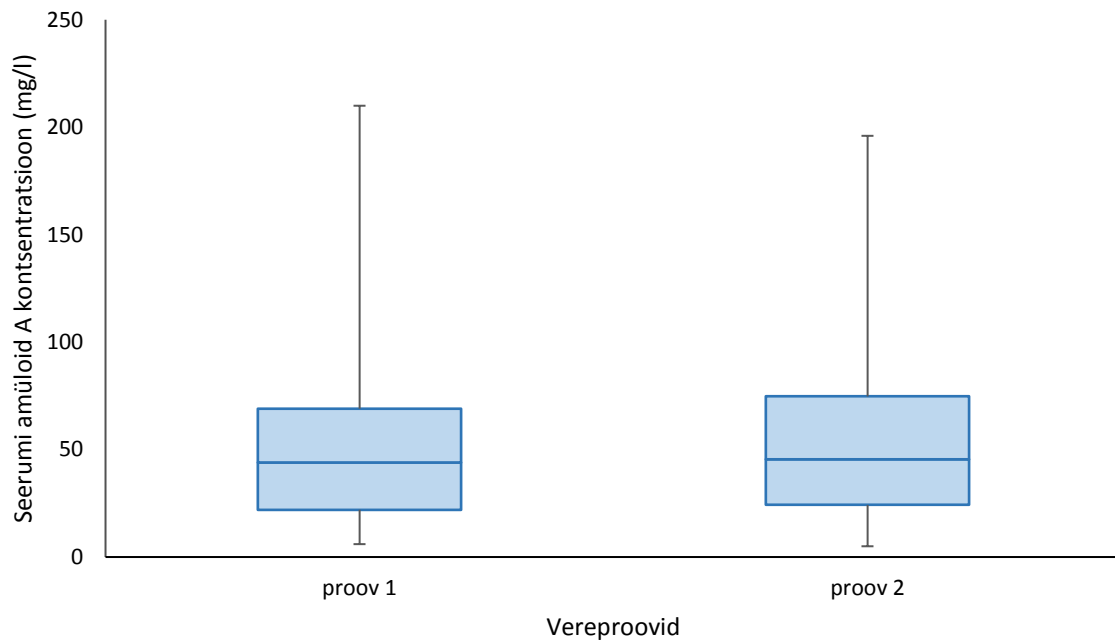
Andmed sisestati MS Exceli ja STATA programmidesse, kus teostati statistiline analüüs ja modelleerimine. Otsiti seoseid tunnuste vahel, tunnusteks olid: vasika sünnimass, keskmised päevased juurdekasvud 1., 3., 9. ja 12. elukuul, kehatemperatuur nudistamisel, SAA tase enne (SAA1) ja pärast nudistamist (SAA2) ja SAA muutus (SAA2 miinus SAA1), Hp tase enne (Hp1) ja pärast nudistamist (Hp2) ja Hp muutus (Hp2 miinus Hp1), hingamisteede põletiku ja kõhulahtisuse episoodid. Iibe leidmiseks lahutati vastava kuu kehamassist sünnimass ning jagati vasika vanusega päevades. Akuutse faasi proteiinide seoste hindamiseks kehatemperatuuri ja vanusega nudistamisel kasutati lineaarset regressiooni. Kuna AFP kontsentratsioonid ei ole normaaljaotunud, kasutati selles analüüsis SAA logaritmilist ja Hp  $1/\sqrt{Hp}$  transformatsiooni. Lineaarset regressiooni kasutati ka analüüsima AFP-de muutuste mõju vasikate juurdekasvule, kus erinevate perioodide juurdekasvud olid mudelites sõltuvad muutujad. Nudistamise mõju hindamiseks AFP-de kontsentratsiooni muutusele kasutati lineaarse regressiooni segamudelit, kus vasikas oli lisatud juhusliku muutujana. Hingamisteede põletike episoodide arvu ja erinevate perioodide juurdekasvude vaheliste seoste leidmiseks kasutati Poissoni regressiooni, kus sõltuva muutujana oli hingamisteede põletiku episoodide arv 12 kuu jooksul. Hindamaks AFP-de nudistamisaegsete muutuste seoseid vasika suremusega, kasutati Cox elulemus mudelit. Mudelid koostati tunnuste elimineerimise teel ning alles jäeti muutujad, mis olid olulised. Oluliseks loeti tulemused, mille p-väärtus oli  $\leq 0,05$ .



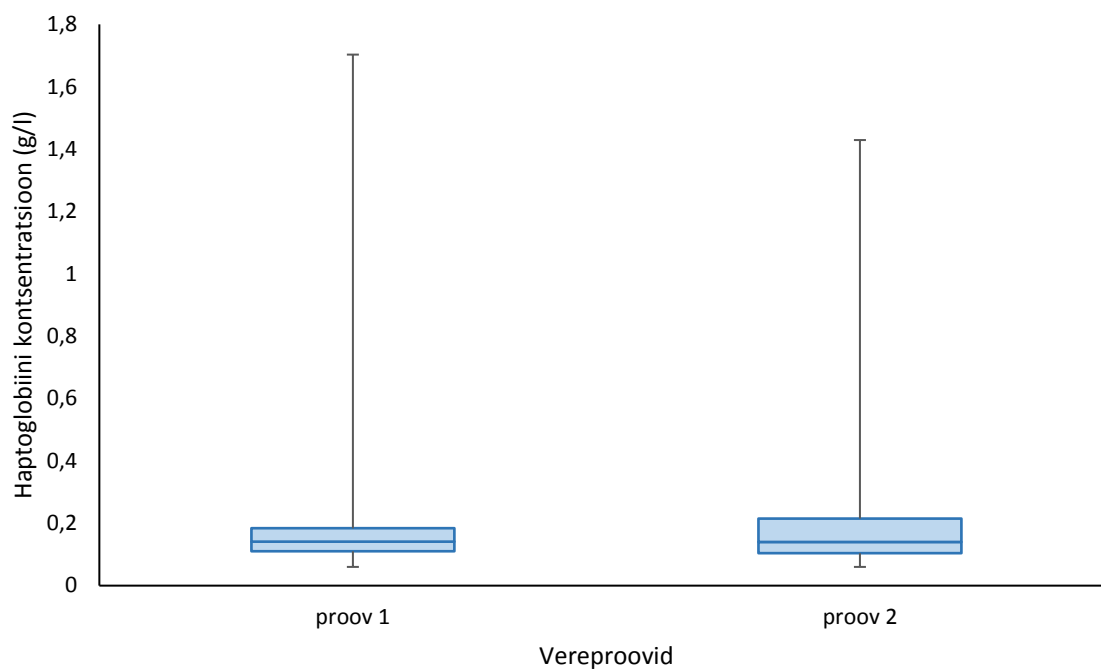
## 4. TULEMUSED

Uuringus osales 158 lehmvasikat. Uuringu käigus müüdi üks loomadest, suri üheksa (5,7%) vasikat, kelle keskmine eluiga oli 126 päeva (SD  $\pm$ 41). Surma põhjusteks olid märgitud eimerioos (neli vasikat), kopsuprobleem (üks vasikas), veiste viirusdiarröa viiruse positiivsus (kaks vasikat) ning kahel vasikal puudus info surma põhjustest.

Nudistamine ei kutsunud esile olulisi muutuseid vasikate AFP kontsentratsioonides (vt joonis 2 ja 3).

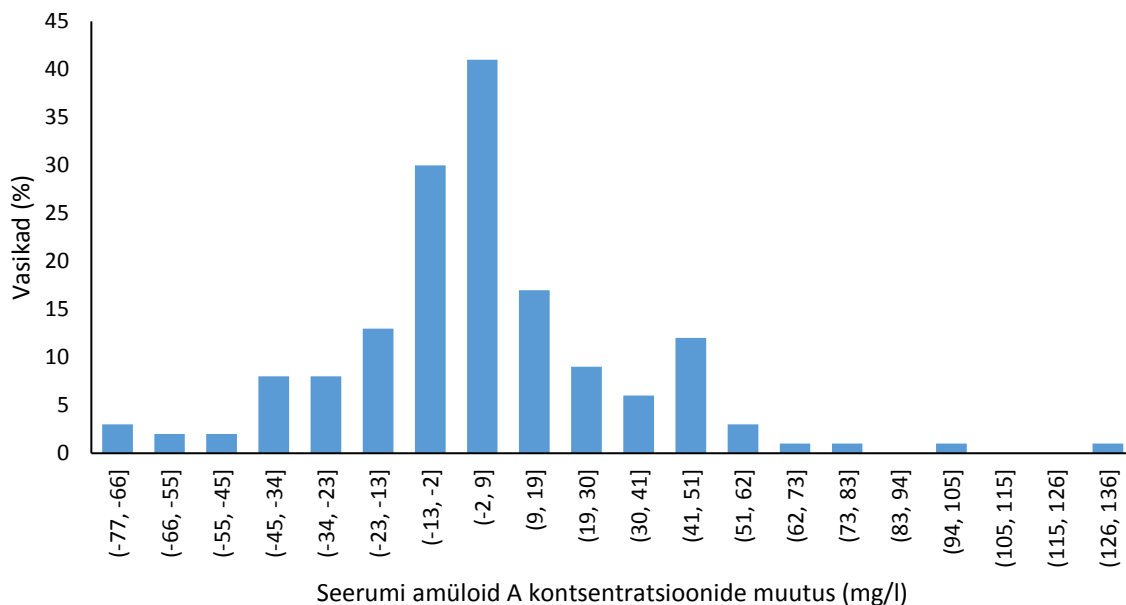


**Joonis 2.** Vasikate (n=158) seerumi amüloid A (SAA) kontsentratsioonid (mg/l) vahetult enne nudistamist (proov 1) ja 24 tundi peale nudistamist (proov 2). Joonisel kujutab alumine jooneots miinimumväärtust ja ülemine jooneots maksimumväärtust, kasti alumine serv alumist kvartiili (25%), keskmine joon mediaani (50%) ja ülemine serv ülemist kvartiili (75%).

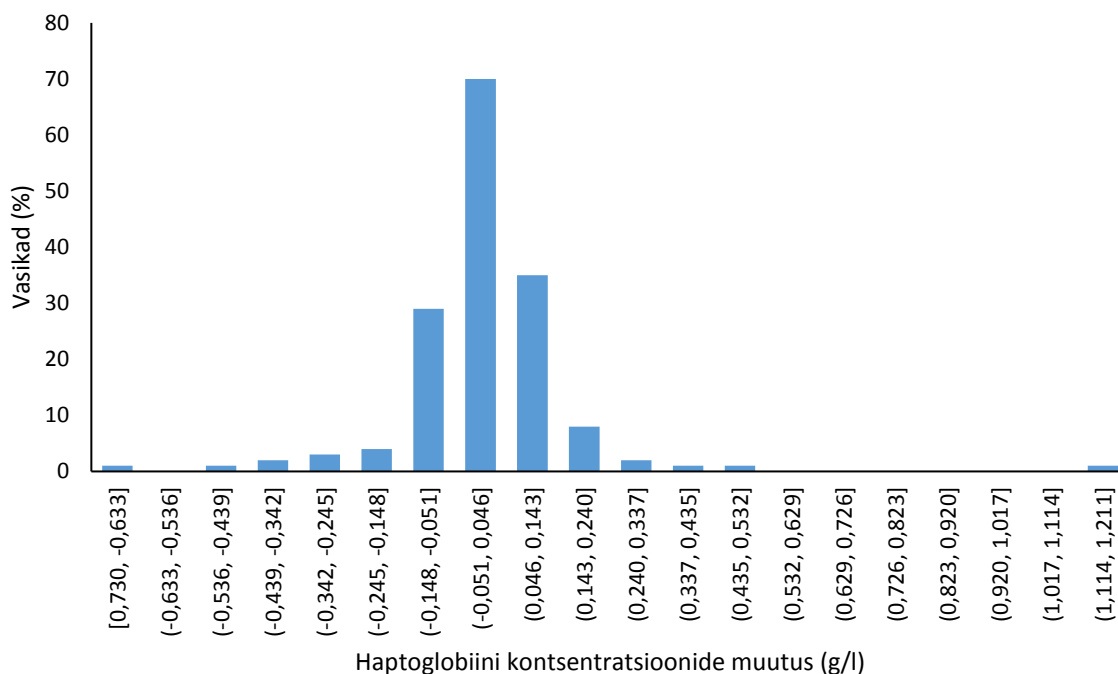


**Joonis 3.** Vasikate (n=158) haptoglobiini kontsentratsioonid (g/l) vahetult enne nudistamist (proov 1) ja 24 tundi peale nudistamist (proov 2). Joonisel kujutab alumine jooneots miinimumväärtust ja ülemine jooneots maksimumväärtust, kasti alumine serv alumist kvartiili (25%), keskmine joon mediaani (50%) ja ülemine serv ülemist kvartiili (75%).

Seerumi amüloid A kontsentratsioonide muutus oli positiivne 86 vasikal ja negatiivne 72 vasikal ning Hp kontsentratsioonide muutus oli positiivne 83 vasikal ja negatiivne 72 vasikal, kolmel vasikal oli Hp muutus 0 (vt joonis 4 ja 5). Analüüsidest leiti, et 54 vasikal oli positiivne nii SAA kui ka Hp muutus; 32 vasikal oli SAA muutus positiivne, kuid Hp muutus negatiivne; 41 vasikal oli negatiivne nii SAA kui ka Hp muutus; 31 vasikal oli SAA muutus negatiivne, kuid Hp muutus positiivne.



**Joonis 4.** Seerumi amüloid A (SAA) kontsentratsioonide muutus (SAA2 miinus SAA1) (mg/l) ja selle jaotus vasikatel (n=158) sageduse järgi.



**Joonis 5.** Haptoglobiini (Hp) kontsentratsioonide muutus (Hp2 miinus Hp1) (g/l) ja selle jaotus vasikatel (n=158) sageduse järgi.

Vasikate vanus nudistamisel oli 21-46 päeva (vt tabel 4). Vasika vanus nudistamisel oli positiivselt seotud SAA kontsentratsiooniga nudistamisjärgselt ( $p=0,002$ ). Seerumi amüloid A kontsentratsioonide muutus (SAA2 miinus SAA1) oli positiivselt seotud vasika vanusega nudistamisel ( $p=0,004$ ). Nooremalt nudistatud vasikad omasid väiksemat SAA kontsentratsioonide vahet.

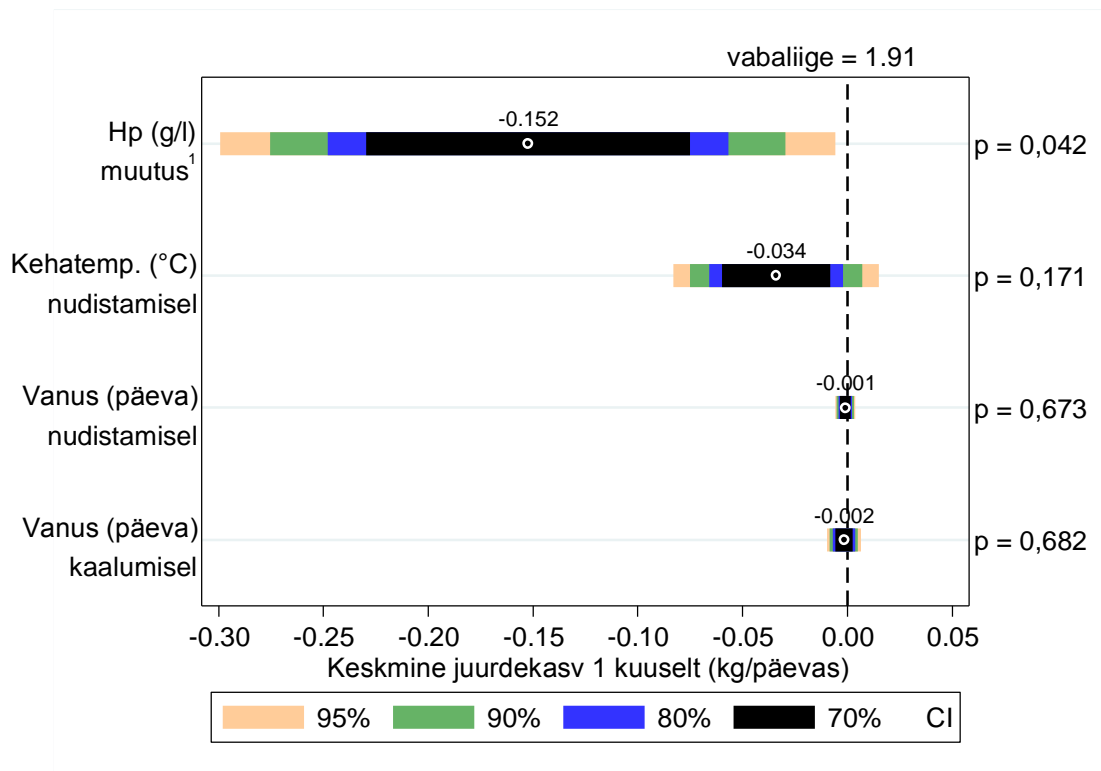
**Tabel 4.** Uurimuses osalenud loomade andmete aritmeetilised keskmised  $\pm$  standardhälve

	Loomade arv	Keskmine	Standardhälve
Vanus nudistamisel (päevi)	158	31,9	$\pm 6,5$
Hp muutus (g/l)	158	0,008	$\pm 0,166$
SAA muutus (mg/l)	158	3,11	$\pm 29,80$
Kehatemperatuur nudistamisel ( $^{\circ}\text{C}$ )	158	38,9	$\pm 0,5$
Iive 1 kuu (kg/päevas)	158	0,508	$\pm 0,156$
Vanus 1 kuu iibe määramisel (päevi)	158	22,7	$\pm 3,7$
Iive 3 kuud (kg/päevas)	157	0,716	$\pm 0,115$
Vanus 3 kuu iibe määramisel (päevi)	157	91,4	$\pm 9,0$
Iive 9 kuud (kg/päevas)	149	0,759	$\pm 0,091$
Vanus 9 kuu iibe määramisel (päevi)	149	240,2	$\pm 9,5$
Iive 12 kuud (kg/päevas)	148	0,833	$\pm 0,074$
Vanus 12 kuu iibe määramisel (päevi)	148	349,3	$\pm 14,6$

Märkused: Hp, haptoglobiin; SAA, seerumi amüloid A

Vasikate kehatemperatuur nudistamisel oli positiivselt seotud vasikate nudistamisaegse ja nudistamisjärgse SAA kontsentratsiooniga ( $p<0,001$  mõlemal) ja vasikate nudistamisaegse ja -järgse Hp kontsentratsiooniga (vastavalt  $p=0,009$  ja  $p=0,032$ ). Vasikate kehatemperatuur nudistamisel ei olnud seotud AFP kontsentratsioonide muutustega peale nudistamist.

Esimese elukuu keskmise päevase juurdekasvu ja Hp muutuse vahel on oluline seos ( $p<0,05$ ) (vt joonis 6), kuid seost ei leitud 1. kuu keskmise päevase juurdekasvu ja Hp1, Hp2, SAA vahe, SAA1, SAA2 vahel ( $p>0,05$ ). Samuti ei leitud olulisi seoseid 3., 9. ja 12. kuu keskmiste päevaste juurdekasvude ja AFP-de vahel ( $p>0,05$ ).



**Joonis 6.** Vasikate (n = 158) esimese elukuu keskmise juurdekasvu seosed vastavalt lineaarsele regressioonimudelile. Mudeli regressioonikordajate usaldusvahemikud on esitatud horisontaalsel tulpadel ja regressioonikordaja on toodud tulpade peal. Mitteolulised seletavad muutujad on jäetud mudelisse tegurimõju segamise kontrollimiseks.

<sup>1</sup> Haptoglobiini (Hp) kontsentratsioonide muutus peale nudistamist (peale nudistamist miinus enne nudistamist)

Akuutse faasi proteiinid ei olnud olulises seoses keskmiste päevaste juurdekasvudega. Hingamisteede põletikku haigestunud vasikate vanusevahemik oli 16-61 päeva. Suurim episoodide arv ühel vasikal oli kolm (vt tabel 5). Kolmekümnel vasikal tekkis nelja päeva jooksul peale nudistamist hingamisteede põletik. Kõhulahtisust esines vasikatel vanuses 2-19 päeva ning kõhulahtisuse episoodide suurim arv vasikal oli kaks.

**Tabel 5.** Vasikate arv hingamisteede põletiku ja kõhulahtisuse episoodide arvu kohta esimese eluaasta jooksul

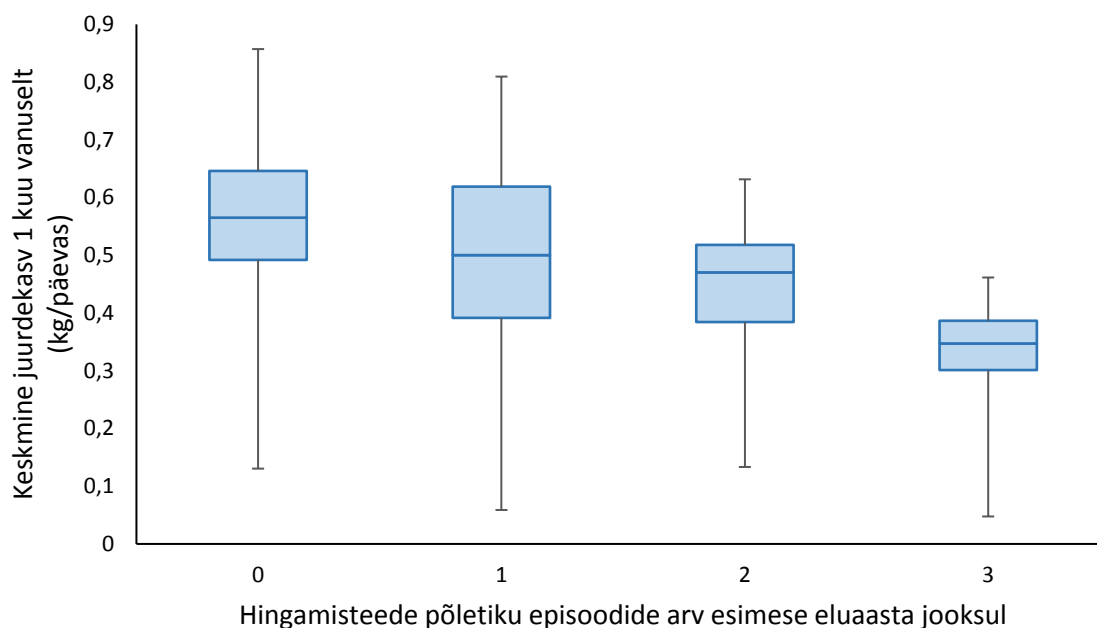
Episoodid	Hingamisteede põletik	Kõhulahtisus
0	67	62
1	65	90
2	18	6
3	8	-

Hingamisteede põletiku episoodide arv ühe aasta jooksul ja vasika keskmine päevane juurdekasv olid omavahel seoses 1. ja 3. kuul, nendest tugevam seos oli 3. kuul. Mida väiksem on päevane juurdekasv antud kuul, seda rohkem hingamisteede põletiku haigusjuhtumeid esineb tema esimese eluaasta jooksul. Olulist seost ei olnud 9. ja 12. kuul (vt tabel 6). Olulised seosed 1. ja 3. kuu kohta on esitatud graafiliselt joonistel 7 ja 8.

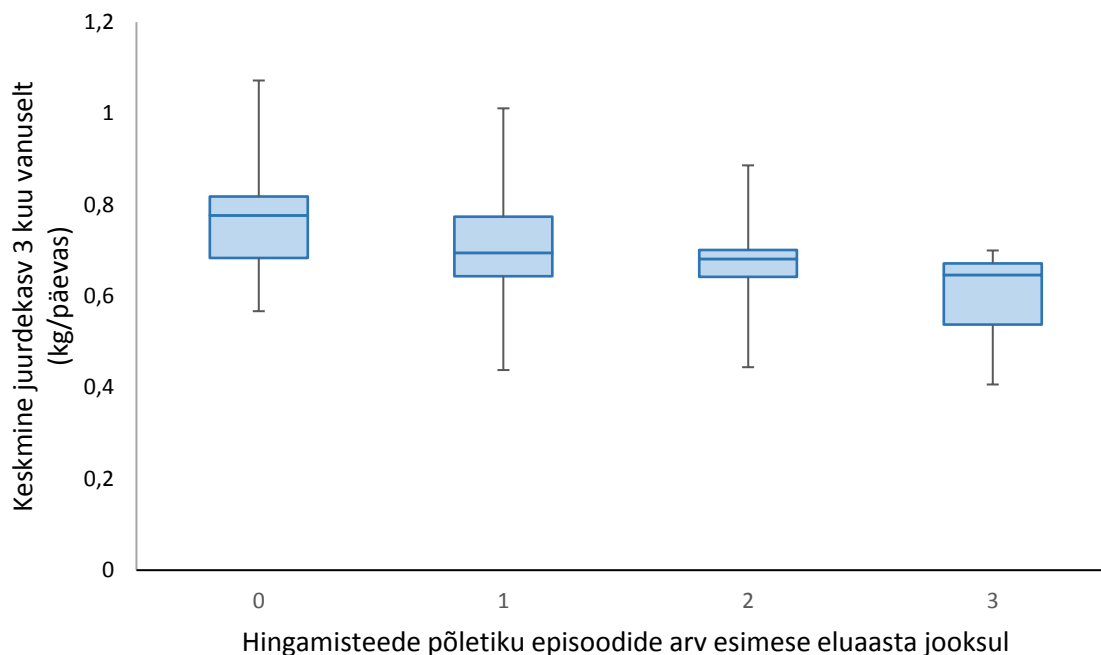
**Tabel 6.** Poissoni regressioonimudelite tulemused, kus hingamisteede põletike episoodide arv vasikatel 12 kuu jooksul on sõltuv muutuja ja vasikate keskmised päevased juurdekasvud erinevatel perioodidel kui seletavad muutujad (iga eraldi juurdekasvu mõju on hinnatud eraldi mudelis)

	IRR <sup>1</sup>	95% usaldusvahemik	p-väärtus
Juurdekasv 1-kuuselt (kg/päevas)	0,09	0,03-0,24	<0,001
Juurdekasv 3-kuuselt (kg/päevas)	0,04	0,01-0,17	<0,001
Juurdekasv 9-kuuselt (kg/päevas)	1,60	0,22-11,74	0,643
Juurdekasv 12-kuuselt (kg/päevas)	2,08	0,17-25,25	0,566

<sup>1</sup> Sündmuse suhteline sagedus (*incidence rate ratio* – IRR)



**Joonis 7.** Lehmvasikate (n=158) esimese elukuu keskmise juurdekasvu ja hingamisteede põletike esimesel eluaastal esinemise seos ( $p < 0,001$ ). Hingamisteede põletiku episoodideta vasikate arv – 67, ühe episoodiga vasikate arv – 65, kahe episoodiga vasikate arv – 18, kolme episoodiga vasikate arv – 8. Joonisel kujutab alumine jooneots miinimumväärtust ja ülemine jooneots maksimumväärtust, kasti alumine serv alumist kvartiili (25%), keskmine joon mediaani (50%) ja ülemine serv ülemist kvartiili (75%).



**Joonis 8.** Lehmvasikate (n=157) esimese kolme kuu keskmise juurdekasvu ja hingamisteede põletike esimesel eluaastal esinemise seos ( $p < 0,001$ ). Hingamisteede põletiku episoodideta vasikate arv – 67, ühe episoodiga vasikate arv – 65, kahe episoodiga vasikate arv – 18, kolme episoodiga vasikate arv – 7. Joonisel kujutab alumine jooneots miinimumväärtust ja ülemine jooneots maksimumväärtust, kasti alumine serv alumist kvartiili (25%), keskmine joon mediaani (50%) ja ülemine serv ülemist kvartiili (75%).

Kõhulahtisuse episoodide ja 1., 3., 9. ja 12. kuu keskmiste päevaste juurdekasvude vahel ei leitud olulisi seoseid ( $p > 0,05$ ).

Vasika suremise risk on suurem, kui Hp muutus nudistamise ajal on suurem. Riskisuhe 1,25 (95% usaldusvahemik = 1,04-1,51;  $p = 0,018$ ), kui tema Hp kontsentratsioonide vahe (Hp2 miinus Hp1) pärast nudistamist on 1 dg/l võrra suurem.



## 5. ARUTELU

Antud uuringus osales 158 lehmvasikat, kellelt koguti nudistamiseelselt ja –järgselt andmeid ning prooviti leida nende omavahelisi seoseid. Selles uuringus ei kasutatud vasikate nudistamisel valuvaigistit, kuid kirjandus seda soovitab (Stafford, Mellor 2005).

Uuringus ei leitud, et nudistamine põhjustaks Hp ega SAA tõusu. Teine vereproov võeti vasikatel 24 tundi peale nudistamist, selle ajaga oleks võinud AFP-de kontsentratsioon tõusta. AFP-d saavutavad sageli oma maksimaalse kontsentratsiooni 24-48 tundi peale stiimulit (Petersen *et al.* 2004). Allen *et al.* (2013) täheldasid Hp tõusu vasikatel 12-72 tundi peale nudistamist, seega oleks võinud käesolevas uuringus olla vereproovi võtt ka 48 ja 72 tundi peale nudistamist. Kusjuures, tema uuringust selgub, et ilma valuvaigistita nudistatud vasikatel langes Hp peale nudistamist oma algtasemelt kuni 24 tundi ja alles seejärel hakkas selle tase tõusma, olles 48 tunni pärast umbes samal tasemel kui nudistamisel ja 72 tunni pärast kõrgemal tasemel kui nudistamise ajal.

Vasikate SAA ja Hp muutused olid nii positiivsete kui negatiivsete väärtustega. Vasika AFP-de sisaldus vereseerumis sõltub väga paljudest faktoritest ning tõenäoliselt seetõttu ei saadud kõikidel vasikatel sarnaseid tulemusi. Vasika AFP-de kontsentratsiooni mõjutab juba stress emakas olles, raske sünnitus, kolostrumi kvaliteet ja selle manustamise aeg (Hulbert, Moisa 2016). Nende faktorite põhjal sõltub vasika edasine immuunvastus erinevatele stressi põhjustavatele olukordadele ja haigustekitajatele (Hulbert, Moisa 2016, Petersen *et al.* 2004). Käesolevas uuringus on iga vasikas saanud oma emalt pärinevat kolostrumi, mistõttu varieerub nende antikehade arv. Kõik eelpool loetud tegurid võivad olla põhjustanud vasikate erineva AFP-de kontsentratsioonide muutuse. Immuunvastus on olnud individuaalne ning vasika kokkupuude stressori või haigustekitajaga on arvatavasti põhjustanud kõrgemaid AFP-de kontsentratsioone.

Vasika vanus nudistamisel põhjustas erisusi AFP-de kontsentratsioonides, kuigi vasikad ei erinenud oma vanuselt palju, olles 21-46 päeva vanad. Uuringus leiti, et nooremalt nudistatud loomad on madalam SAA2 kontsentratsioon ja ka väiksem SAA kontsentratsioonide muutus (SAA2 miinus SAA1). Ting *et al.* (2005) leidsid, et kastratsioonil sõltub Hp tase vanusest, mida noorem loom, seda madalam tase, kuid nende uuringus olid vasikad vanuses 1,5-5,5 kuud. Selline tulemus võib olla põhjustatud vasika

arenevast immuunsüsteemist. Kolmandal elunädalal ei paku enam kaitset vanemalt saadud antikehad ning on välja arenemas vasika enda immuunsüsteem. Vanemal vasikal on HPA telg arenenum võrreldes noorema vasikaga, mistõttu on suurem ka AFP-de tootmine (Hulbert, Moisa 2016).

Käesolevas uurimustöös leiti oluline seos AFP-de ja kehatemperatuuri vahel. Mida kõrgem oli vasika kehatemperatuur, seda kõrgem oli SAA ja Hp kontsentratsioon vahetult enne nudistamist ja 24 h peale nudistamist. Kaasasündinud immuunvastuse toimel tõuseb patogeenide sisenemisel organismi kehatemperatuur (Spencer *et al.* 2011) ja suureneb AFP-de tootmine (Murata *et al.* 2004). Murray *et al.* (2014) uuringus leiti samuti, et tõusnud kehatemperatuuriga vasikatel oli vereseerumis Hp suuremas kontsentratsioonis.

Käesolevas uuringus leiti, et suur Hp muutus omab negatiivset seost 1-kuuste vasikate kasvuiibega. Akuutsed ja kroonilised haigused tõstavad AFP-e ja samal ajal mõjutavad looma kasvukõverat. See on tingitud vähenenud söömusest ja nõrgenenud toitainete imendumise protsessist, kuid samal ajal on suurenenud organismi vajadused toitainetele (Gruys *et al.* 2005). On leitud, et suurenenud Hp tase omab negatiivset seost 3-kuuste vasikate kasvuiibega (Niine *et al.* 2018). Ka erinevate vanustega (4-13 nädalat) vasikate grupis täheldati haigetel kõrgemate keskmiste AFP kontsentratsioonidega vasikatel väiksemat juurdekasvu võrreldes tervete ja madalamate AFP kontsentratsioonidega vasikatega (Gangeim *et al.* 2007). Käesolevas uuringus tuli välja, et SAA ega Hp kontsentratsioon vereseerumis nudistamise hetkel ei mõjutanud vasikate keskmist ööpäevast juurdekasvu. Põhjapõdravasikatel ei leitud samuti Hp kontsentratsiooni ja kasvuiibe vahel poole aasta vältel seost, kuid leiti negatiivne seos teise elunädala SAA kontsentratsiooni ja poole aasta kasvuiibe vahel (Orro *et al.* 2006).

Selles lõputöös leiti, et hingamisteede põletikku haigestumise ja 1. ja 3. elukuu keskmise päevase kasvuiibe vahel on oluline negatiivne seos. Samuti kirjeldasid Ganheim *et al.* (2007), et hingamisteede põletikuga vasikate grupis oli tunduvalt väiksem juurdekasv. BRD ja juurdekasvu seost on kirjeldanud ka Stanton *et al.* (2012), leides et 13. elukuu lõpuks oli haigete kehamass 14,3 kg väiksem kui tervete grupis. Ka Thompson *et al.* (2006) leidsid oma uuringus, et hingamisteede põletikuga vasikate grupis oli väiksem keskmine päevane juurdekasv kui tervete vasikate grupis. Päevase juurdekasvu vahe nendel kahel grupil oli 21 grammi. Erinevalt antud uuringust ei leidnud Thompson *et al.* (2006) olulist seost haiguseepisoodide arvu ja keskmise päevase juurdekasvu vahel. Käesolevas uuringus oli 3.

kuu kasvuiibe ja hingamisteede põletiku episoodide vahel statistiliselt oluline seos. Virtala *et al.* (1996) leidsid samuti seose 3. elukuu päevase juurdekasvu ja hingamisteede põletiku episoodide vahel. Nende uuringus põhjustas iga uus haigusnädal 14 g väiksemat juurdekasvu päevas. Lisaks leidsid nad 1. elukuu päevase juurdekasvu ja hingamisteede põletiku episoodide vahel seose, kus pneumoonia põhjustas 66 g väiksemat päevast juurdekasvu (Virtala *et al.* 1996). Käesolevas uuringus leiti küll seosed 1. ja 3. kuu keskmise päevase juurdekasvu ja hingamisteede põletiku episoodide vahel, kuid ei leitud seost hingamisteede põletiku episoodide ning 9. ja 12. kuu päevase juurdekasvu vahel. Alguses väiksema kasvuiibega vasikad on tõenäoliselt hiljem oma kasvus sarnanenud teiste vasikate kasvuiibega ning on justkui teistele järele kasvanud ning kasvuiibed on ühtlustunud. Seda näitab ka iivete hajuvuse vähenemine vasikate suuremaks kasvamisel.

Seega võib eelnevatele uuringutele ja antud uuringule toetudes väita, et vasikate kasvuiibe on seoses hingamisteede põletikuga. Madal kehakonditsioon võib mullikatel põhjustada tiinestuvusprobleeme (Hulbert, Moisa 2016). Kuid siin uuringus oli vasikatel kasvuprobleemid vaid 1.-3. elukuul, hiljem kasv taastus teistega samale tasemele.

Seerumi Hp kontsentratsioon vasikal on tema tuleviku haigestumise ja suremise jaoks tõenäoliselt hea indikaator, kuid seda pole veel sügavuti uuritud (Murray *et al.* 2014). Käesolevas uuringus selgus, et Hp tõusmine peale nudistamist tähendab suuremat riski vasika hilisemale suremisele. Ka Murray *et al.* (2014) tõestasid, et Hp tase on seotud suremusega.

## JÄRELDUSED

Uurimistöös saavutati kõik eesmärgid ja püstitatud hüpoteesidest leidsid osad kinnitust, kuid osad mitte. Vasikatel ei tõusnud nudistamisjärgselt SAA ega Hp kontsentratsioon vereseerumis. Leiti, et nooremalt nudistatud vasikatel oli väiksem SAA muutus peale nudistamist. Vasika kehatemperatuur nudistamisel oli positiivselt seotud nudistamisaegse ja –järgse SAA kontsentratsiooniga ja nudistamisaegse ja –järgse Hp kontsentratsiooniga. Akuutse faasi proteiinid ei olnud olulises seoses keskmiste päevaste juurdekasvudega. Keskmist päevast juurdekasvu mõjutas AFP-dest vaid Hp muutus ja seda ainult esimesel elukuul. Kehatemperatuur nudistamisel ei mõjutanud vasika keskmist päevast juurdekasvu. Vasikal esimese eluaasta jooksul esinenud hingamisteede põletiku episoodid olid negatiivses seoses 1. ja 3. kuu keskmise päevase juurdekasvuga, kuid seost ei leitud vasika hilisemas eas. Uurimistöös leiti, et Hp tõus põhjustab vasikal suuremat suremust, kuid sellist seost ei leitud SAA-ga. Praeguse uurimistöö tulemusena saab väita, et nudistamine ei põhjustanud 24 tunni jooksul muutusi seerumi AFP-des ega põhjustanud väiksemat juurdekasvu ning vasikad, kes olid väiksema keskmise juurdekasvuga, võrdsustusid kasvult hiljem teiste vasikatega. Tulevikus tuleks uurida vasikate AFP-de kontsentratsiooni nudistamisest ka 72 tundi hiljem ja leida nende omavaheline seos. Samuti tuleks uurida, kas nudistamine põhjustab haigestumist, sest selle teema kohta on vähe artikleid avaldatud, kuid sellisel uurimisel on vaja kontrollgruppi.

## KASUTATUD KIRJANDUS

- Allen, K.A., Coetzee, J.F., Edwards-Callaway, L.N., Glynn, H., Dockweiler, J., KuKanich, B., Lin, H., Wang, C., Fraccaro, E., Jones, M., Bergamasco, L.** (2013). The effect of timing of oral meloxicam administration on physiological responses in calves after cautery dehorning with local anesthesia. *Journal of Dairy Science* 96, 5194-5205.
- Alsemgeest, S.P.M., Kalsbeek, H.C., Wensing, Th., Koeman, J.P., van Ederen, A.M., Gruys, E.** (1994). Concentrations of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Veterinary Quarterly* 16, 21-23.
- Angen, O., Thomsen, J., Larsen, L.E., Larsen, J., Kokotovic, B., Heegaard, P.M.H., Enemark, J.M.D.** (2009). Respiratory disease in calves: Microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Veterinary Microbiology* 137, 165-171.
- Balicki, E., Al, M.** (2014). Some serum acute phase proteins and immunoglobulins concentrations in calves with rotavirus, coronavirus, *E.coli* F5 and *Eimeria* species. *Iranian Journal of Veterinary Research* 15, 397-401.
- Bates, A.J., Laven, R.A., Chapple, F., Weeks, D.S.** (2016). The effect of different combinations of local anaesthesia, sedative and non-steroidal anti-inflammatory drugs on daily growth rates of dairy calves after disbudding. *New Zealand Veterinary Journal* 64, 282-287.
- Cecilian, F., Ceron, J.J., Eckersall, P.D., Sauerwein, H.** (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics* 75, 4207-4231.
- Coetzee, J.F., Edwards, L.N., Mosher, R.A., Bello, N.M., O'Connor, A.M., Wang, B., KuKanich, B., Blasi, D.A.** (2012). Effect of oral meloxicam on health and performance of beef steers relative to bulls castrated on arrival at the feedlot. *Journal of Animal Science* 90, 1026-1039.
- Cozzi, G., Gottardo, F., Brscic, M., Contiero, B., Irrgang, N., Knierim, U., Pentelescu, O., Winding, J.J., Mirabito, L., Kling Eveillard, F., Dockes, A.C., Veissier, I., Velarde, A., Fuentes, C., Dalmau, A., Winckler, C.** (2015). Dehorning of cattle in the EU Member States: A quantitative survey of the current practices. *Livestock Science* 179, 4-11.
- Cray, C., Zaias, J., Altman, N.H.** (2009). Acute phase response in animals: a review. *Comparative Medicine* 59, 517-526.

- Del Giudice, M., Gangestad, S.W.** (2018). Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain, Behaviour and Immunity*, doi: 10.1016/j.bbi.2018.02.013.
- Early, B., Crowe, M.A.** (2002). Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological, and inflammatory responses. *Journal of Animal Science* 80, 1044-1052.
- Ganheim, C., Hulten, C., Carlsson, U., Kindahl, H., Niskanen, R., Waller, K.P.** (2003). The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus and/or *Mannheimia haemolytica*. *Journal of Veterinary Medicine B* 50, 183-190.
- Ganheim, C., Alenius, S., Waller, K.P.** (2007). Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *The Veterinary Journal* 173, 645-651.
- Gruys, E., Toussaint, M.J.M., Niewold, T.A., Koopmans, S.J.** (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University Science* 6B, 1045-1056.
- Heegaard, P.M.H., Godson, D.L., Toussaint, M.J.M., Tjørnehoj, K., Larsen, L.E., Viuff, B., Ronsholt, L.** (2000). The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 77, 151-159.
- Heinrich, A., Duffield, T.F., Lissemore, K.D., Millman, S.T.** (2010). The effect of meloxicam on behaviour and pain sensitivity of dairy calves following cautery dehorning with a local anesthetic. *Journal of Dairy Science* 93, 2450-2457.
- Hulbert, L.E., Moisa, S.J.** (2016). Stress, immunity, and the management of calves. *Journal of Dairy Science* 99, 3199-3216.
- Kim, M.H., Yun, C.H., Ko, J.Y., Kang, J.S., Kim, H.S., Kang, S.J., Lee, W.S., Kim, J.H., Ha, J.K.** (2009). Changes of immunophysiological characteristics in neonatal calves experimentally challenged with mixture of live bacteria and virus. *Journal of Dairy Science* 92, 5534-5543.
- Kim, M.H., Yang, J.Y., Upadhaya, S.D., Lee, H.J., Yun, C.H., Ha, J.K.** (2011). The stress of weaning influences serum levels of acute-phase proteins, iron-binding proteins, inflammatory cytokines, cortisol, and leukocyte subsets in Holstein calves. *Journal of Veterinary Science* 12, 151-157.
- Knierim, U., Irrgang, N., Roth, B.A.** (2015). To be or not to be horned – Consequences in cattle. *Livestock Science* 179, 29-37.
- Loomade heaolu toetus. (vastu võetud 30.04.2015, muudetud, täiendatud, viimati jõustunud 07.01.2018). – *Riigi Teataja* <https://www.riigiteataja.ee/akt/104012018012> (10.04.2018).
- Loomakaitseeadus. (vastu võetud 13.12.2000, muudetud, täiendatud, viimati jõustunud 01.02.2018). – *Riigi Teataja* <https://www.riigiteataja.ee/akt/128122017022> (10.04.2018).

- Lorenz, I., Earley, B., Gilmore, J., Hogan, I., Kennedy, E., More, S.J.** (2011). Calf health from birth to weaning. III. housing and management of calf pneumonia. *Irish Veterinary Journal* 64, 14.
- Makimura, S., Suzuki, N.** (1982). Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *The Japanese Journal of Veterinary Science* 44, 15-21.
- Miesner, M.D.** (2008). Bovine surgery of the skin. *Veterinary Clinics of North America: Food animal practice* 24, 517-526.
- Mirra, A., Spadavecchia, C., Bruckmaier, R., Gutzwiller, A., Casoni, D.** (2018). Acute pain and peripheral sensitization following cauterization of disbudding in 1- and 4-week-old calves. *Physiology & Behavior* 184, 248-260.
- Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M.** (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal* 168, 28-40.
- Murray, C.F., Windeyer, M.C., Duffield, T.F., Haley, D.B., Pearl, D.L., Waalderbos, K.M., Leslie, K.E.** (2014). Associations of serum haptoglobin in newborn dairy calves with health, growth, and mortality up to 4 months of age. *Journal of Dairy Science* 97, 7844-7855.
- Niine, T., Dorbek-Kolin, E., Lassen, B., Orro, T.** (2018). *Cryptosporidium* outbreak in calves on a large dairy farm: Effect of treatment and the association with the inflammatory response and short-term weight gain. *Research in Veterinary Science* 117, 200-208.
- Orro, T., Nieminen, M., Tamminen, T., Sukura, A., Sankari, S., Soveri, T.** (2006). Temporal changes in concentrations of serum amyloid-A and haptoglobin and their associations with weight gain in neonatal reindeer calves. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 29, 79-88.
- Orro, T., Jacobsen, S., LePage J.P., Niewold, T., Alasuutari, S., Soveri, T.** (2008). Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *The Veterinary Journal* 176, 182-187.
- Orro, T., Pohjanvirta, T., Rikula, U., Huovilainen, A., Alasuutari, S., Sihvonen, L., Pelkonen, S., Soveri, T.** (2011). Acute phase protein changes in calves during an outbreak of respiratory disease caused by bovine respiratory syncytial virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 34, 23-29.
- Petersen, H.H., Nielsen, J.P., Heegaard, P.M.H.** (2004). Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research* 35, 163-187.
- Ravimite ning ravimsõotade loomahaiguste ennetamiseks ja raviks kasutamise tingimused ja kord. (vastu võetud 23.02.2005, muudetud, täiendatud, viimati jõustunud 07.02.2011). – *Riigi Teataja* <https://www.riigiteataja.ee/akt/104022011012> (10.04.2018).
- Richeson, J.T., Pinedo, P.J., Kegley, E.B., Powell, J.G., Gadberry, M.S., Beck, P.A., Falkenberg, S.M.** (2013). Association of hematologic variables and castration status at the time

- of arrival at a research facility with the risk of bovine respiratory disease in beef calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 243, 1035-1041.
- Seppä-Lassila, L., Orro, T., LePage, J.-P., Soveri, T.** (2013). Reference values for acute phase proteins in calves and its clinical application. *Veterinary Record*, doi: 10.1136/vr.101233.
- Spencer, S.J., Galic, M.A., Pittman, Q.J.** (2011). Neonatal programming of innate immune function. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 300, 11-18.
- Stafford, K.J., Mellor, D.J.** (2005). Dehorning and disbudding distress and its alleviation in calves. *The Veterinary Journal* 169, 337-349.
- Stanton, A.L., Kelton, D.F., LeBlanc, S.J., Wormuth, J., Leslie, K.E.** (2012). The effect of respiratory disease and a preventative antibiotic treatment on growth, survival, age at first calving, and milk production of dairy heifers. *Journal of Dairy Science* 95, 4950-4960.
- Stewart, M., Stookey, J.M., Stafford, K.J., Tucker, C.B., Rogers, A.R., Dowling, S.K., Verkerk, G.A., Schaefer, A.L., Webster, J.R.** (2009). Effects of local anesthetic and a nonsteroidal anti-inflammatory drug on pain responses of dairy calves to hot-iron dehorning. *Journal of Dairy Science* 92, 1512-1519.
- Stock, M.L., Baldrige, S.L., Griffin, D., Coetzee, J.F.** (2013). Bovine dehorning: Assessing pain and providing analgesic management. *Veterinary Clinics of North America: Food animal practice* 29, 103-133.
- Sylvester, S.P., Mellor, D.J., Stafford, K.J., Bruce, R.A., Ward, R.N.** (1998). Acute cortisol responses of calves to scoop dehorning using local anaesthesia and/or cautery of the wound. *Australian Veterinary Journal* 76, 118-122.
- Thompson, P.N., Stone, A., Schultheiss, W.A.** (2006). Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 84, 488-498.
- Ting, S.T.L., Earley, B., Veissier, I., Gupta, S., Crowe, M.A.** (2005). Effects of age of Holstein-Friesian calves on plasma cortisol, acute-phase proteins, immunological function, scrotal measurements and growth in response to Burdizzo castration. *Animal Science* 80, 377-386.
- Tridelta Ltd.** Serum Amyloid A Multispecies Assay Kit. <http://www.trideltald.com/Serum-Amyloid-A-Assay-Kit.html> (30.04.2018).
- Van Vlierberghe, H., Langlois, M., Delanghe, J.** (2004). Haptoglobin polymorphisms and iron homeostasis in health and in disease. *Clinica Chimica Acta* 345, 35-42.
- Vasikate nudistamine. (2003). – *Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontroll*. <https://www.jkkeskus.ee/jkk/piimaveised/piimaveiste-j%C3%B5udluskontrolli-kasulik-teave/vasikate-nudistamine-juuli-2003.html> (02.03.2018).
- Vickers, K.J., Nlel, L., Klehlbauch, L.M., Weary, D.M.** (2005). Calf response to caustic paste and hot-iron dehorning using sedation with and without local anesthetic. *Journal of Dairy Science* 88, 1454-1459.



**Virtala, A.-M.K., Mechor, G.D., Gröhn, Y.T., Erb, H.N.** (1996). The effect of calfhood diseases on growth of female dairy calves during the first 3 months of life in New York State. *Journal of Dairy Science* 79, 1040-1049.

**Weaver, A.D., Atkinson, O., Jean, G.S., Steiner, A.** (2018). *Bovine surgery and lameness*, third edition. John Wiley & Sons Ltd. 378 lk.

**Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Mina, Grete Laarmann,

sünniaeg 11.09.1993

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö Vasikate akuutse faasi proteiinide muutused nudistamisjärgselt ning nende võimalik seos juurdekasvu ja haigestumisega,

mille juhendaja(d) on Toomas Orro, Elisabeth Dorbek-Kolin,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor Grete Laarmann

Tartu, 22.05.2018

---

**Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Luban lõputöö kaitsmisele.

---

*(juhendaja nimi ja allkiri)*

---

*(kuupäev)*

---

*(juhendaja nimi ja allkiri)*

---

*(kuupäev)*