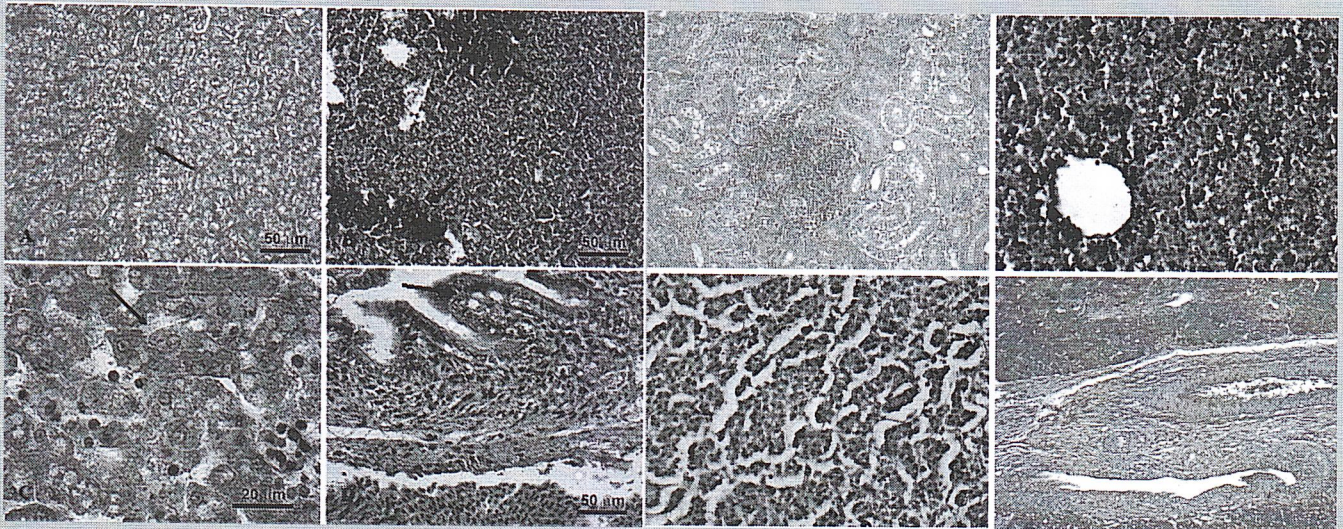


БРАНИМИР НИКОЛОВ

АКТУАЛНОСТ
И ПЕРСПЕКТИВА
НА *IN OVO* МОДЕЛИТЕ



София
2025

БРАНИМИР НИКОЛОВ

**АКТУАЛНОСТ И ПЕРСПЕКТИВА
НА *IN OVO* МОДЕЛИТЕ**

София, 2025

АКТУАЛНОСТ И ПЕРСПЕКТИВА НА *IN OVO* МОДЕЛИТЕ

© Автор: д-р Бранимир Николов, д.в.м.

Рецензенти: доц. д-р Роман Пепович Петков, д.в.м.

доц. д-р Илиян Манев Манев, д.в.м.

Тази книга е публикувана на базата на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ в научна област 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление 6. 4. „Ветеринарна медицина“, научна специалност „Патология на животните“ на тема „Алтернативни *in ovo* тестове за ембриотоксичност, мутагенност и канцерогенност“, защитен на 14.09.2015 г. в Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей към Българската академия на науките.

Българска, второ преработено и допълнено издание

Формат: 70x100/16, печатни коли: 6,875

Авторски коли (8 стр./1800 зн./стр.): 14

ISBN: 978-619-7703-78-8

Издателство: Интел Ентранс

Отпечатване: Интел Ентранс

София, 2025

Всички права са запазени. Не се разрешават копирането и размножаването на тази книга или части от нея, под никаква форма и с никакви средства, без писменото съгласие на автора.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	6
1. ВЪВЕДЕНИЕ	7
2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ МОДЕЛИ ЗА КАНЦЕРОГЕННОСТ	10
3. <i>IN OVO</i> ТЕСТОВЕ ЗА КАНЦЕРОГЕННОСТ (ЮСА).....	17
4. НИТРОЗАМИНИ	26
5. ИЗТОЧНИЦИ НА НИТРОЗАМИНИ.....	31
6. N-НИТРОЗОДИЕТИЛАМИН (NDEA) И N- НИТРОЗОДИМЕТИЛАМИН (NDMA)	34
6.1. N-нитрозодиетиламин (NDEA; CAS № 55-18-5).....	34
6.2. N- нитрозодиметиламин (NDMA; CAS № 62-75-9)	37
7. ЛИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ	43
7.1. Влияние на <i>in ovo</i> прилагането на химичните канцерогени NDEA и NDMA върху смъртността, телесната маса, абсолютното и релативно тегло на черния дроб при ембриони от пуйки, кокошки Бял Легхорн – линия 15 I, токачки и японски пъдпъдъци.	43
7.1.1. Влияние на <i>in ovo</i> прилагането на химичните канцерогени NDEA и NDMA върху смъртността, телесната маса, абсолютното и релативно тегло на черния дроб при ембриони от пуйки.....	43
7.1.2. Влияние на <i>in ovo</i> прилагането на химичните канцерогени NDEA и NDMA върху смъртността, телесната маса, абсолютното и релативно тегло на черния дроб при ембриони от кокошки Бял Легхорн – линия 15 I.	45
7.1.3. Влияние на <i>in ovo</i> прилагането на химичните канцерогени NDEA и NDMA върху смъртността, телесната маса, абсолютното и релативно тегло на черния дроб при ембриони от токачки.	48
7.1.4. Влияние на <i>in ovo</i> прилагането на химичните канцерогени NDEA и NDMA върху смъртността, телесната маса, абсолютното и релативно тегло на черния дроб при ембриони от японски пъдпъдъци.	51
7.2. Патологоанатомично изследване на ембриони от пуйки, кокошки Бял Легхорн – линия 15 I, токачки и японски пъдпъдъци.	52
7.2.1. Патологоанатомично изследване на ембриони от пуйки.	52

7.2.2. Патологоанатомично изследване на ембриони от Бял Легхорн – линия 15 I.	55
7.2.3. Патологоанатомично изследване на ембриони от токачки.	57
7.2.4. Патологоанатомично изследване на ембриони от японски пъдпъдъци.	59
7.3. Влияние на <i>in ovo</i> прилагането на химичните канцерогени NDEA и NDMA върху спектъра на чернодробните лезии при ембриони от пуйки, кокошки Бял Легхорн – линия 15 I, токачки и японски пъдпъдъци.	62
7.3.1. Спектър на чернодробните лезии при третирани <i>in ovo</i> с NDEA и NDMA ембриони от пуйки.	62
7.3.2. Спектър на чернодробните лезии при третирани <i>in ovo</i> с NDEA и NDMA ембриони от Бял Легхорн – линия 15 I.	63
7.3.3. Спектър на чернодробните лезии при третирани <i>in ovo</i> с NDEA и NDMA ембриони от токачки.	64
7.3.4. Спектър на чернодробните лезии при третирани <i>in ovo</i> с NDEA и NDMA ембриони от японски пъдпъдъци.	64
7.4. Сравнителна характеристика на установените макроскопски и хистопатологични чернодробни лезии при ембриони от пуйки, кокошки Бял Легхорн – линия 15 I, токачки и японски пъдпъдъци, третирани <i>in ovo</i> с NDEA и NDMA.	65
7.4.1. Сравнителна характеристика на установените макроскопски и хистопатологични чернодробни лезии при ембриони от пуйки.	65
7.4.2. Сравнителна характеристика на установените макроскопски и хистопатологични чернодробни лезии при ембриони от кокошки Бял Легхорн – линия 15 I.	67
7.4.3. Сравнителна характеристика на установените макроскопски и хистопатологични чернодробни лезии при ембриони от токачки.	67
7.4.4. Сравнителна характеристика на установените макроскопски и хистопатологични чернодробни лезии при ембриони от японски пъдпъдъци.	69
7.5. Патологоанатомично изследване на пуйчета, пилета Бял Легхорн – линия 15 I и токачки третирани през ранното им ембрионално развитие с NDEA и NDMA.	69

7.5.1. Патологоанатомично изследване на пуйчета, третирани през ранното им ембрионално развитие с NDMA 0.3 mg/яйце.	69
7.5.2. Патологоанатомично изследване на пилета Бял Легхорн – линия 15 I, третирани през ранното им ембрионално развитие с NDMA 0.3 mg/яйце.	72
7.5.3. Патологоанатомично изследване на токачки, третирани през ранното им ембрионално развитие с NDEA 0,2 mg/яйце.	75
7.6. Хематологично и биохимично изследване на кръв от пуйчета, пилета Бял Легхорн – линия 15 I и токачки третирани през ранното им ембрионално развитие с NDEA и NDMA.	79
7.6.1. Хематологично и биохимично изследване на кръв от пуйчета, третирани през ранното им ембрионално развитие с 0.3 mg/яйце NDMA.	79
7.6.2. Хематологично и биохимично изследване на кръв от пилета Бял Легхорн – линия 15 I, третирани през ранното им ембрионално развитие с NDMA 0,3 mg/яйце.	81
7.6.3. Хематологично и биохимично изследване на кръв от токачки, третирани през ранното им ембрионално развитие с NDEA 0,2 mg/яйце.	84
8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	88
9. ПРИНОСИ.....	89
9.1. Приноси с оригинален характер.....	89
9.2. Приноси с потвърдителен характер.....	89
10. ЛИТЕРАТУРНИ ИЗТОЧНИЦИ.....	90

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

(E 14) – ембрион на 14 дни	RLF – rat liver foci
(E 18) – ембрион на 18 дни	Thr – тромбоцити
(E 22) – ембрион на 22 дни	WBC – левкоцити
(E 24) – ембрион на 24 дни	БА-ФПХ – базофилни фокуси от променени хепатоцити
ALAT – аланин аминотрансфераза	ВК – валпроева киселина
ASAT – аспартат аминотрансфераза	ЕО-ФПХ – еозинофилни фокуси от променени хепатоцити
DNA – desoxyribonucleic acid	ЛП – лекарствени продукти
FAH – foci of altered hepatocytes	ННС – хепатоцелуларен карцином
GGT – гама-глутамилтрансфераза	НС – нитрозаминни съединения
GRA – гранулоцити	Пд-Е – ембриони от пъдпъдъци
H/E – хематоксилин/еозин	Пл-Е – ембриони от кокошки
Hct – хематокрит	ПХДД – полихлорирани дибензодиоксини
HET-MN – hen's egg test for micronucleus induction	ПХДФ – полихлорирани дибензофурани
Hgb – хемоглобин	Пч-Е – ембриони от пуйки
IOCA – <i>In ovo</i> carcinogenicity assay	СВ-ФПХ – светли фокуси от променени хепатоцити
LYM – лимфоцити	СМ-ФПХ – смесени фокуси от променени хепатоцити
MID – междинни по обем клетки	Тк-Е – ембриони от токачи
MST – mouse skin tumour	ФПХ – фокуси от променени хепатоцити
NDEA – N-нитрозодиетиламин	ХПЛ – хиперпластични лезии
NDMA – N-нитрозодиметиламин	ХХП – холангиоцитна хиперплазия
RBC – еритроцити	

1. ВЪВЕДЕНИЕ

В световен мащаб значителен интерес за експерименталната онкология представлява търсенето на алтернативни модели на експериментите върху опитни животни и доусъвършенстването на съществуващите *in vitro* тестове за канцерогенност. С приемането през 2010 г. и влизането в сила от 1 януари 2013 г. на новата Директива 2010/63/ЕС на Европейския парламент и Съвета на ЕС относно защитата на животните, използвани за научни цели, изследванията, насочени към разработване на алтернативни модели и методи, стават все по-популярни и актуални. Като алтернатива на експерименталните животни, използвани при оценката на канцерогенния, мутагенния и ембриотоксичния потенциал на химични вещества, все по-широко се прилагат различни *in vitro* методи, а също така се разработват и *in silico* модели (компютърни модели), при които въз основа на химичната структура се правят предвиждания за потенциален канцерогенен ефект.

Неопластичните заболявания са един от най-големите здравни и социални проблеми на човечеството. До момента са проучени много от причините, водещи до развитие на доброкачествени и злокачествени новообразувания. Въпреки това все още съществуват много неизвестни фактори, отговорни за тяхното индуциране и развитие. Механизмите, чрез които тези фактори проявяват своя ефект, също остават частично проучени. Във връзка с това осезателно се усеща нуждата от създаване на нови и бързи методи и разработване на алтернативни модели за доказване на суспективните канцерогени, техните механизми на действие и спектъра на индуцираните неоплазии.

Понастоящем съществуват множество експериментални модели, които използват основно лабораторни гризачи за доказване на канцерогенен, мутагенен и токсичен ефект на различни вещества, потенциално опасни както за хората, така и за животните. Основните проучвания се извършват главно върху плъхове и мишки и се приемат в световен мащаб като „златен стандарт“. Разработени са дългосрочни, средносрочни и краткосрочни *in vivo* модели при различни видове гризачи, като последните два модела са най-често използвани и са признати от различни регулаторни организации, като Международната агенция за изследване на рака (IARC) и Международната конференция за хармонизация (ICH), като потенциални биологични модели за доказване на канцерогенни, мутагенни и ембриотоксични

вещества. Примери за това са два класически и най-често използвани модела – кожният тумор при мишки (MST модел) и фокусите от променени хепатоцити (FАН) в черния дроб на плъхове (RLF модел). Същността на моделите се основава на ранното откриване на пренеопластични лезии в таргетните органи, като се счита, че същите притежават способността да прогресират до неоплазии. В тези опитни постановки са тествани редица химични вещества и съединения, като е доказан техният канцерогенен, мутагенен и ембриотоксичен потенциал. Освен това, посочените лабораторни животни се използват и при разработване на модели на неопластични заболявания в други органи и системи.

През последните години ембрионите от птици все повече се налагат като иновативна и надеждна експериментална моделна система (*in ovo* модели) за проучване на различните механизми на канцерогенезата. С цел хуманно отношение към лабораторните животни и скъсяване времето за експериментиране са разработени *in ovo* тестове върху ембриони от различни видове птици. Птичите ембриони са едни от най-новите и перспективни алтернативни модели за краткосрочно експериментално доказване на генотоксичния и канцерогенния ефект на различни химични вещества. Проведените с тях *in ovo* тестове за канцерогенност (IOCA) са свързани основно с хепатоканцерогенезата и включват развитие на пренеопластични чернодробни лезии, изразяващи се в еозинофилни и базофилни фокуси от променени хепатоцити (FАН). Смята се, че въпросните лезии имат способността да се развият до доброкачествени и злокачествени чернодробни неоплазии. Птичите ембриони се оказват успешен модел за изучаване и доказване на мутагенния ефект на различни вещества. Крайният показател за оценка при тези експерименти е наличието на микроядро или ядра в ембрионалните еритроцити от птици (HET-MN тест).

Редица автори изтъкват факта, че чувствителността на *in ovo* тестовете и спектъра на патологичните изменения, особено в черния дроб, са напълно идентични с тези при лабораторни гризачи. Резултатите утвърждават посочения алтернативен (на опитните животни) подход като перспективен и потвърждават актуалността на *in ovo* моделите за проучване ефекта на различни химични вещества. В допълнение, все повече се налага схващането, че *in ovo* тестовете са липсващото звено между *in vivo* и *in vitro* експериментите и с успех могат да запълнят празнината между тях. В този

аспект *in ovo* моделите се превръщат в съществена част от панела от тестове, необходим за комплексното изследване на дадено вещество за канцерогенност, мутагенност, ембриотоксичност и тератогенност.



UNIVERSITY OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE OF BUCHAREST
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE



SCIENTIFIC WORKS

SERIES C. VETERINARY MEDICINE

VOL. LX (1)

2014
BUCHAREST

SCIENTIFIC COMMITTEE

- Sarah BAILLIE - Bristol Veterinary School, University of Bristol, United Kingdom
- Alin BÎRȚOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Emilia CIOBOTARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae CORNILĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae DOJANĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Lucian IONIȚĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Mariana IONIȚĂ - University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Horst Erich KÖNIG - Institute of Anatomy, Histology and Embriology, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria
- Manuella MILITARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Aneta POP - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Gabriel PREDOI - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Andreea Iren ȘERBAN - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Laurențiu TUDOR - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Constantin VLĂGIOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania

EDITORIAL BOARD

General Editor: Prof. D.V.M. PhD. Gabriel PREDOI

Executive Editor: Prof. PhD. Aneta POP

Members: Alin BÎRȚOIU, Emilia CIOBOTARU,
Nicolae CORNILĂ, Nicolae DOJANĂ,
Mariana IONIȚĂ, Lucian IONIȚĂ, Andreea Iren ȘERBAN,
Constantin VLĂGIOIU, Sarah BAILLIE, Horst Erich KÖNIG

Secretariat: Cornelia FĂFĂNEAȚĂ, Mărgărita GHIMPEȚEANU

PUBLISHERS:

**University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania -
Faculty of Veterinary Medicine**

Address: 105 Splaiul Independentei, District 5, Zip code 050097, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 318 04 69, E-mail: veterinarymedicinejournal@usamv.ro, Webpage: www.fmvb.ro

CERES Publishing House

Address: 1 Piața Presei Libere, District 1, Zip code 013701, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 317 90 23, E-mail: edituraceres@yahoo.com, Webpage: www.editura-ceres.ro

Copyright 2014

To be cited: Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LX (1), 2014

*The publishers are not responsible for the opinions published in the Volume.
They represent the authors' point of view.*

ISSN 2065-1295, ISSN-L 2065-1295

International Database Indexing: CABI

SUMMARY

FUNDAMENTAL SCIENCES

Effects of protein level from forages on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	9
Effects of vegetal fiber level of diets on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	13
Immunological status of the puerperial uterus in cow - Tiberiu CONSTANTIN, Ion Alin BÎRTOIU	18
Comparative morphological study of oral cavity in rabbits and Guinea pigs - Florin STAN	27
Carcass quality and abdominal fat fatty acid composition of chickens fed with different vegetable oil additions - Vladislav STANAČEV, Dragan MILIĆ, Niko MILOŠEVIĆ, Vidica STANAČEV, Zlatica PAVLOVSKI, Dejan BEUKOVIĆ, Nikola PUVAČA	33
Blood serum protein profiles in dogs with experimentally induced acute inflammation - Dimitrinka ZARPYANOVA, Teodora MIRCHEVA, Aleksandar ATANASOV	38

CLINICAL SCIENCES

Pathology related with "novel" emerging infectious agents in livestock - Stelian BĂRĂITĂREANU, Doina DANES	41
Laser treatment of iris cysts in a flat coated Retriever - Andra ENACHE, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alexandru ȘONEA	47
Risk factors influencing the prevalence of subclinical mastitis in goats - Kalin HRISTOV, Parvan PARVANOV, Borislav KASHAMOV, Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV	53
Treatment of bullous keratopathy in the dog - Lia ION, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alin BÎRTOIU	58
The potential zoonotic risk due to cloacal flora in intensively raised broilers - Aurel VASIU, Mihaela NICULAE, Eموke PALL, Marina SPÎNU	62
Comparative studies of the effect of applied probiotics Laktiferm basic® 300 and Llaktina® on survival and mortality in pheasants infected with <i>E. coli</i> O 103 - Tandzhu Mehmedov, Branimir Nikolov, Geno Angelov	66
In ovo tests for carcinogenicity, mutagenicity and embryotoxicity - Minireview Branimir NIKOLOV, Any GEORGIEVA, Vasil MANOV, Anton KRIL	72
Occurence of paramphistomidae (Trematoda: Digenea) in small ruminants in spread Belgrade area -Ivan PAVLOVIC, Snezana IVANOVIC, Bozidar SAVIC, Dragica VOJINOVIC	81
Clinical and paraclinical studies in enzootic pneumonia in industrial swine-breeding of Bulgaria - Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV, Kalin HRISTOV, Krasimira GENOVA, Tandju MEHMEDOV	85
Comparative clinical, hematological and biochemical parameters in a horse with progression of melanoma - Petar STAMBEROV	89

IN OVO TESTS FOR CARCINOGENICITY, MUTAGENICITY AND EMBRYOTOXICITY

MINIREVIEW

Branimir NIKOLOV¹, Any GEORGIEVA², Vasil MANOV¹, Anton KRIL²

¹University of Forestry, 10 Kliment Ohridski Street, 1756, Sofia, Bulgaria

²Institute of Experimental, Morphology, Pathology and anthropology with museum, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., bl. 25, 1113, Sofia, Bulgaria

Corresponding author email: br_nikolov@abv.bg

Abstract

The significance of avian models for studying pathological processes including carcinogenesis, both from a chemical and from a biological viewpoint, has been already clearly demonstrated. The in ovo models appear to be the missing link between the in vitro and the in vivo experiments. This approach has considerable advantages: the tests are rapid, less expensive than animal experiments, less hazardous to the personnel, performing the experiments and they have reliable endpoints. Examples include preneoplastic liver lesions in embryonic avian livers in the In Ovo Carcinogenicity Assay (IOCA) and the induction of micronuclei in embryonic avian erythrocytes in hen's egg test for micronucleus induction (HET-MN). In addition, the use of avian embryos in embryotoxicity testing is discussed.

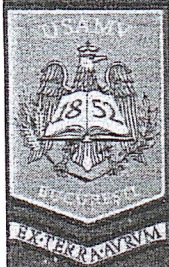
Key words: embryonic avian, experimental carcinogenicity, foci altered hepatocyte, rats liver foci.

INTRODUCTION

Neoplastic diseases are one of the biggest problems of mankind. So far many of the causes leading to the development of malignancies have been explored. However, there are still many unproven factors responsible for their occurrence (Doll and Peto, 1981; Schmahl et al, 1989). The mechanisms through which these factors exert their effect are also not fully elucidated. The discovery of new and rapid methods for proving these causes is crucial. Nowadays a large number of experimental models in laboratory rodents for proving carcinogenic, mutagenic and toxic effects of various substances that are potentially hazardous to both people and animals (Weisburger, 1999; Iatropoulos et al., 2001; Pitot et al., 2007). The main carcinogenicity studies have been conducted mainly on rats and mice and are considered by most regulatory agencies worldwide as the "golden standard" (Enzmann et al., 1998a; 1998b). In relation to these studies long-term and short-term in vivo models using different rodents have been developed (Weisburger and Williams, 1984). The short-term tests are the most commonly

used and have wide application. They are recognized by various organizations such as the "International Agency for Research on Cancer" (IARC, 1998) and the "International Conference on Harmonization" (ICH, 1997) as potential biological models for proving carcinogens. The two classic prototypes used for short-term carcinogenic tests in rodents are the skin of mice (MST) and the liver of rats with foci (RLF) of altered hepatocytes (FAH). However, experimentally carcinogenesis in other organs and systems as well. The essence of the models is based on early detection of pre-neoplastic lesions in the target organs since it is considered that they have the ability to progress to malignant tumors. In these experiments a number of substances and compounds have been tested in order to prove their potential to induce neoplastic alterations (Williams and Whysner, 1996).

For the welfare of laboratory animals, and for shortening the time for experimentation, in ovo tests on embryos from various birds have been developed. Avian embryos are one of the newest and most promising alternative models of short-term experiments on genotoxicity Tempel et al. (1992) and carcinogenicity



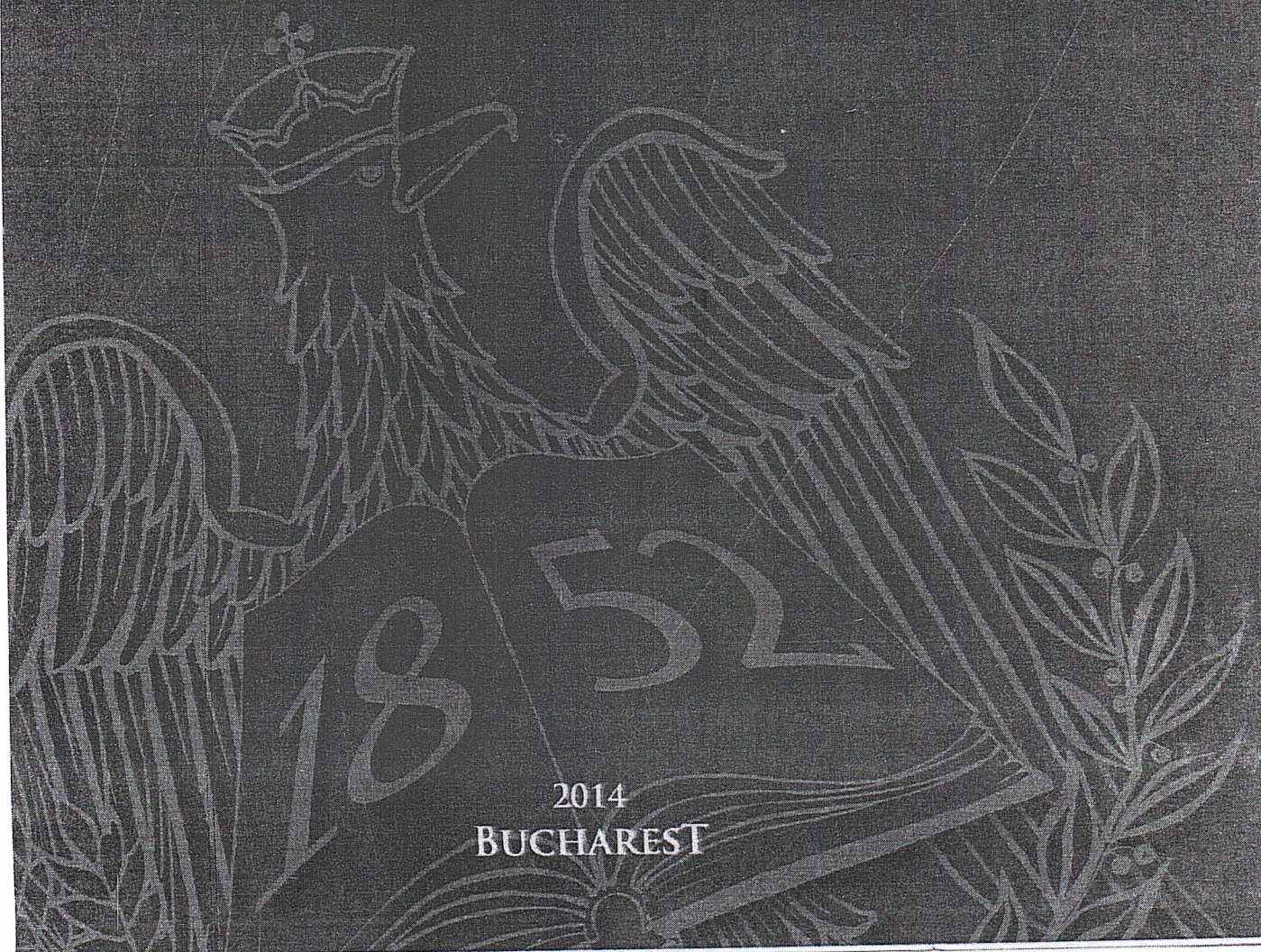
UNIVERSITY OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE OF BUCHAREST
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE



SCIENTIFIC WORKS

SERIES C. VETERINARY MEDICINE

VOL. LX (1)



2014
BUCHAREST

SCIENTIFIC COMMITTEE

- Sarah BAILLIE - Bristol Veterinary School, University of Bristol, United Kingdom
- Alin BÎRTOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Emilia CIOBOTARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae CORNILĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae DOJANĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Lucian IONIȚĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Mariana IONIȚĂ - University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Horst Erich KÖNIG - Institute of Anatomy, Histology and Embriology, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria
- Manuella MILITARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Aneta POP - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Gabriel PREDOI - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Andreea Iren ȘERBAN - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Laurențiu TUDOR - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Constantin VLĂGIOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania

EDITORIAL BOARD

General Editor: Prof. D.V.M. PhD. Gabriel PREDOI

Executive Editor: Prof. PhD. Aneta POP

Members: Alin BÎRTOIU, Emilia CIOBOTARU,
Nicolae CORNILĂ, Nicolae DOJANĂ,
Mariana IONIȚĂ, Lucian IONIȚĂ, Andreea Iren ȘERBAN,
Constantin VLĂGIOIU, Sarah BAILLIE, Horst Erich KÖNIG

Secretariat: Cornelia FĂFĂNEAȚĂ, Mărgărita GHIMPEȚEANU

PUBLISHERS:

**University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania -
Faculty of Veterinary Medicine**

Address: 105 Splaiul Independentei, District 5, Zip code 050097, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 318 04 69, E-mail: veterinarymedicinejournal@usamv.ro, Webpage: www.fmvb.ro

CERES Publishing House

Address: 1 Piața Presei Libere, District 1, Zip code 013701, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 317 90 23, E-mail: edituraceres@yahoo.com, Webpage: www.editura-ceres.ro

Copyright 2014

To be cited: Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LX (1), 2014

*The publishers are not responsible for the opinions published in the Volume.
They represent the authors' point of view.*

ISSN 2065-1295, ISSN-L 2065-1295

International Database Indexing: CABI

SUMMARY

FUNDAMENTAL SCIENCES

Effects of protein level from forages on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	9
Effects of vegetal fiber level of diets on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	13
Immunological status of the puerperial uterus in cow - Tiberiu CONSTANTIN, Ion Alin BÎRTOIU	18
Comparative morphological study of oral cavity in rabbits and Guinea pigs - Florin STAN	27
Carcass quality and abdominal fat fatty acid composition of chickens fed with different vegetable oil additions - Vladislav STANAČEV, Dragan MILIĆ, Niko MILOŠEVIĆ, Vidica STANAČEV, Zlatica PAVLOVSKI, Dejan BEUKOVIĆ, Nikola PUVAČA	33
Blood serum protein profiles in dogs with experimentally induced acute inflammation - Dimitrinka ZARPYANOVA, Teodora MIRCHEVA, Aleksandar ATANASOV	38

CLINICAL SCIENCES

Pathology related with "novel" emerging infectious agents in livestock - Stelian BĂRĂITĂREANU, Doina DANES	41
Laser treatment of iris cysts in a flat coated Retriever - Andra ENACHE, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alexandru ȘONEA	47
Risk factors influencing the prevalence of subclinical mastitis in goats - Kalin HRISTOV, Parvan PARVANOV, Borislav KASHAMOV, Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV	53
Treatment of bullous keratopathy in the dog - Lia ION, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alin BÎRTOIU	58
The potential zoonotic risk due to cloacal flora in intensively raised broilers - Aurel VAȘIU, Mihaela NICULAE, Eموke PALL, Marina SPÎNU	62
Comparative studies of the effect of applied probiotics Laktiferm basic® 300 and Llaktina® on survival and mortality in pheasants infected with <i>E. coli</i> O 103 - Tandzhu Mehmedov, Branimir Nikolov, Geno Angelov	66
In ovo tests for carcinogenicity, mutagenicity and embryotoxicity - Minireview Branimir NIKOLOV, Any GEORGIEVA, Vasil MANOV, Anton KRIL	72
Occurrence of paramphistomidae (Trematoda: Digenea) in small ruminants in spread Belgrade area - Ivan PAVLOVIC, Snezana IVANOVIC, Bozidar SAVIC, Dragica VOJINOVIC	81
Clinical and paraclinical studies in enzootic pneumonia in industrial swine-breeding of Bulgaria - Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV, Kalin HRISTOV, Krasimira GENOVA, Tandju MEHMEDOV	85
Comparative clinical, hematological and biochemical parameters in a horse with progression of melanoma - Petar STAMBEROV	89

RISK FACTORS INFLUENCING THE PREVALENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS IN GOATS

Kalin HRISTOV¹, Parvan PARVANOV¹, Borislav KASHAMOV²,
Roman PEPOVICH¹, Branimir NIKOLOV¹

¹Faculty of Veterinary Medicine, 10 Sv. Kliment Ohridski Blvd.,
University of Forestry, 1000, Sofia, Bulgaria

²National Reference Laboratory for milk and milk products, BFSa, 1000 Sofia, Bulgaria

Corresponding author email: kalin_ss@abv.bg

Abstract

The study included 120 randomly selected lactating goats of the Bulgarian breed dairy and local cross. The animals were housed in two licensed farms in Bulgaria, under the same technological systems. Goats are grouped in to treatment groups according to age and number of lactation periods. The study aims to clarify the impact of the number of lactation and age as a factor in the spread of subclinical mastitis. Sterile milk samples have been taken of all the animals for bacteriological status and for the performance of physical and chemical analysis. The results show a clear trend of increasing intramammary infection with age and raise in number of lactation, while caprine animals aged 2-3 years, the affected dairy halves are 20%, while those age over 8 years affected halves are 56.7 %. Isolated pathogens are mainly from the group of coagulase-negative staphylococci

Key words: goats, risk factors, mastitis, mammary gland, lactating period

INTRODUCTION

Successful geographical distribution and increase in the population of goats in the world shows remarkable adaptability of this type of ruminants to different climatic and terrain conditions. This quality of goats can be explained by the characteristics and advantages of the species, including full use of scarce roughage, adaptability to difficult conditions for other animals, unpretentiousness in terms of the type of farming. Today there are more than 300 breeds of goats living in different climatic conditions, from varying mountains with high altitude to desert regions. The inflammation of the mammary gland is a major problem in dairy goats, due to the fact that the development of mastitis, leads to the application of substantial economic loss (Seegers et al., 2003). They arise from the reduction in milk production, premature culling of animals, cost of treatment and the changes occurring in the composition of milk (Leitner et al., 2004 a, b; Kifaro et al.,

2009). Beside all milk obtained from goats with mastitis is serious risk in epidemiological terms.

Development and prevalence of mastitis in goats include a wide range of exogenous and endogenous factors, which are age, parity of the doe, stage of lactation, type of housing systems rearing, milking hygiene, breed and others. (East et al., 1989, Contreras et al., 1995, Ndegwa et al., 2000)

MATERIALS AND METHODS

Animals

The study included 120 goats from two licensed farms in Bulgaria. Most of the goats were of the established in Bulgaria, Bulgarian white milky goats, but also local breed of different ages. Conditions and technology of growing in both farms are the same and milking all was manually done. The herds were free of brucellosis, tuberculosis and mycoplasmosis. All the animals were clinically



Original Scientific Article

CLINICAL TESTING OF COMBINED VACCINE AGAINST ENZOOTIC PNEUMONIA IN INDUSTRIAL PIG FARMING IN BULGARIA

Roman Pepovich¹, Branimir Nikolov², Ivo Sirakov⁴, Krasimira Genova³,
Kalin Hristov², Elena Nikolova⁴, Radka Hajiolova⁵, Boika Beltova⁵

¹Department of Infectious Pathology & Hygiene, Technology and Control of Food of Animal Origin, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

²Department of Obstetrics, Gynecology, Biotechnology of Reproduction & Pathological Anatomy and Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

³Department of Animal Breeding Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

⁴Department of Virology and Viral Diseases, National Diagnostic and Research Veterinary Institute, Sofia, Bulgaria

⁵Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Medical University, Sofia, Bulgaria

Received 27 April 2015; Received in revised form 10 July 2015; Accepted 13 July 2015

ABSTRACT

In the pig farm with signs of a respiratory disease complex and laboratory confirmed enzootic pneumonia, the prophylactic efficacy of the combination vaccine (*M. hyo*+PCV2), a single injection administered intramuscularly 21 days after birth, at a dose of 2 ml was tested. The clinical condition, pathological changes in the lungs and some epidemiological and economic results were reported. It was found that vaccinated pigs are in a better clinical condition in comparison with the control group. Morbidity in the rearing period was reduced from 16.3% in the control group to 6.0% in vaccinated pigs, and in the fattening period, respectively, from 30.6% in the control group to 10.0% in the vaccinated group. Pathological features in the lung characteristic for the enzootic pneumonia in the vaccinated pigs were reduced from 25.5%±7.24 to 4.0%±2.44, and PCV1 - from 13.0%±4.66 to 0%. Vaccination of pigs has been received and a higher average daily gain in groups for rearing (0.624 kg) and for fattening (0.723 kg) was recorded.

Key words: Enzootic pneumonia, *Mycoplasma hyopneumoniae*, pigs, vaccination

INTRODUCTION

Porcine enzootic pneumonia (EP) is a chronic respiratory disease caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*, *M. hyo*) (13). This is one of the most common respiratory diseases in swine and causes considerable economic

losses worldwide as a result of poor feed efficiency, growth retardation, higher morbidity and mortality, emergency slaughter and prophylaxis and treatment costs (2, 5, 11).

Immunoprophylaxis is a key tool in the overall infection control program. Although the existing vaccines do not prevent lung colonization by *M. hyo*, what they do provide is partial protection against pathological changes in organs (9). Vaccination has a marked positive effect: improvement of clinical signs, reduced severity of pathological lesions in the lungs, improvement in mean daily gain, shorter fattening period, and last but not least, lower mortality (3, 10, 12, 14, 15).

Eggen et al. (4) studied the effect of different combinations of *M. hyo* and porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in swine and reported that

Corresponding author: Dr. Roman Pepovich, PhD.

E-mail address: rpepovich@abv.bg

Present address: Department of Infectious Pathology & Hygiene, Technology and Control of Food of Animal Origin, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria
Phone: +359 87 731 1511

Copyright: © 2015 Pepovich R. This is an open-access article published under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Available Online First: 24 July 2015

<http://dx.doi.org/10.14432/j.macvetrev.2015.07.051>

HEPATIC PRENEOPLASIA INDUCED BY N-NITROSODIMETHYLAMINE AND N-NITROSODIETHYLAMINE IN JAPANESE QUAIL EMBRYOS

**Branimir Nikolov¹, Ani Georgieva¹, Roman Pepovich², Kalin Hristov²,
Tandzhu Mehmedov², Vasil Manov², Elena Nikolova³, Reneta Petrova³,
Ivelin Vladov¹, Anton Kril¹**

¹*Institute of Experimental, Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine, Sofia, Bulgaria*

³*National Diagnostic and Research Veterinary Medical Institute, Sofia, Bulgaria*

E-mail: br_nikolov@abv.bg

ABSTRACT

Toxic and carcinogenic effects induced *in ovo* by N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine in Japanese quail embryos were studied by histopathological methods. The obtained results indicate that both compounds induce preneoplastic hepatic alterations. The spectrum of macroscopic and microscopic lesions identified in carcinogen-treated embryos has been presented. The significance of avian embryos as an inexpensive and reliable model system for studies on hepatocarcinogenesis has been briefly discussed.

Key words: hepatocarcinogenesis, preneoplasia, avian embryos, japanese quail, N-nitrosodimethylamine, N-nitrosodiethylamine.

Introduction

Neoplastic diseases are a serious health problem with a great importance for both veterinary and human medicine. Experiments with laboratory rodents are still the main approach used in the scientific investigations on the factors and mechanisms responsible for the initiation and progression of cancer.

In recent years, issues related to the ethical aspects of biomedical research and the welfare of experimental animals have been gaining an increasing significance. There is a growing interest and a desire for implementation of more reliable, rapid and cost-effective alternative methods to supplement and/or replace animal experiments (Knight et al., 2006; Benigni et al., 2013; Anadón et al., 2014; Marone et al., 2014).

Avian embryos are a model system attracting the attention of experimental oncologists as an alternative to laboratory animals, which provides a multitude of possibilities for exploration of various processes related to carcinogenesis such as genotoxicity, mutagenicity, metastasis, angiogenesis, etc. as well as for assessment of carcinogenic/antineoplastic activity of various environmental factors (Enzmann et al., 1997; Wolf et al., 2008; Enzmann et al., 2013; El Hasasna et al., 2016).

Here, we present results from a study of the ability of the known carcinogenic compounds N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine to induce preneoplasia in the Japanese quail embryonal liver.

Materials and methods

Avian embryos. Fertilized Japanese quail (*Coturnix japonica*) eggs were obtained from pathogen-free flocks bred in a certified Bulgarian farm.



PATHOLOGICAL OBSERVATION IN PIGS NATURALLY INFECTED WITH *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE*

R. PEPOVICH¹, B. NIKOLOV², K. HRISTOV³ & K. GENOVA⁴

¹Department of Infectious Pathology, Hygiene, Technology and Control of Foods from Animal Origin, ²Department of Internal Diseases, Pathology and Pharmacology,

³Department of Surgery, Radiology, Obstetrics and Gynecology, ⁴Department of Animal Breeding Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

Summary

Pepovich, R., B. Nikolov, K. Hristov & K. Genova, 2017. Pathological observation in pigs naturally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Bulg. J. Vet. Med.*, 20, Suppl. 1, 338–344.

The purpose of this study was to evaluate and analyse the extent and severity of pathomorphological lesions in lungs of pigs naturally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. The reported results are from 2-year studies in four industrial pig farms from different regions of Bulgaria, with laboratory proven Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC), with the participation of *M. hyopneumoniae*. A total of 178 pigs of various technological groups were included. In 114 pigs postmortem (64%) were found macroscopic changes characteristic of enzootic pneumonia, mainly in the lungs and respiratory lymph nodes. The signs in 40.4% were specific for monoinfection with *M. hyopneumoniae* and in 59.6% - for co-infection with *M. hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Depending on the extent of the pulmonary lesions in the separate lobules, it was determined that in 18% the lungs were affected in a low degree, 52% were affected at a mild extent and 30% were severely affected. The histopathological examination of the lungs revealed the presence of exudate localised in the alveoli, bronchioles and interalveolar septa. The major cellular components of the exudate were neutrophilic leukocytes, lymphocytes and single macrophages.

Key words: enzootic pneumonia, *M. hyopneumoniae*, pathomorphological changes, pigs

INTRODUCTION

The enzootic pneumonia (EP) in pigs is a chronic respiratory disease, caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* (Thacker, 2006). It's one of the commonest respiratory diseases in pigs that causes great economic losses worldwide, which are expressed in poor feed utilization, growth reduction in pigs, increased morbidity and mortality, emergency slaughter, and prevention and therapy expenses (Thacker & Minion, 2012).

The pathoanatomical changes, characteristic for EP, are determined mainly in the lungs of 20 to 80% of the slaughtered pigs (Sarradell *et al.*, 2003; Leneveu *et al.*, 2005; Sibila *et al.*, 2007). The macroscopic changes are characterised by catarrhal bronchopneumonia, which affects the apical, cardiac, diaphragmatic and part of the intermediate lung lobes (Taylor, 1996). More often the changes cover the intermediate, left cardiac and apical lobes,

Histopathological findings in Dalmatian pelicans (*Pelecanus crispus*) naturally infected with avian influenza subtype A H5N1 in Bulgaria

**Georgi M. Stoimenov^{1*}, Gabriela V. Goujgoulova², Branimir Nikolov³,
Reneta Petrova², Atanaska Teneva⁴ and Ivona Dimitrova⁴**

¹*Department of Infectious Pathology and Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Forestry, 10 Kliment Ohridski St., 1756 Sofia, Bulgaria*

²*National Diagnostic Research Veterinary Medical Institute, 15 P. Slaveikov blvd., 1606 Sofia, Bulgaria.*

³*Department of Clinical Pathology, of Veterinary Medicine, University of Forestry, 14 Anton Naidenov St., Bulgaria*

⁴*Department of Plant Protection, University of Forestry, 14 Anton Naidenov St., Bulgaria*

ABSTRACT. The aim of this study is to estimate the histopathological changes in visceral organs of naturally infected with the avian influenza virus (AIV) subtype A H5N1 dalmatian pelicans in Bulgaria. The identified gross lesions are: haemorrhagic small intestine, sparse content in gizzard and proventriculus, well defined hyperemia of the tracheal mucosa associated with petechiae, as well as meningeal and brain congestion. The infected birds exhibited the following histopathological changes: edema of the tracheal mucosa with loss of mucosal glands, mild to moderate congestion with focal necrosis and multifocal non suppurative encephalitis and gliosis, mononuclear infiltration in the cecum, and diffuse mononuclear infiltration in the submucosa of the small intestine. The virus was detected by virus isolation (VI) and RT-PCR from tissue samples (lung, trachea, small intestine, brain, proventriculus, cloaca) from the infected birds.

Keywords: H5N1, Bulgaria, histopathology, natural infection.

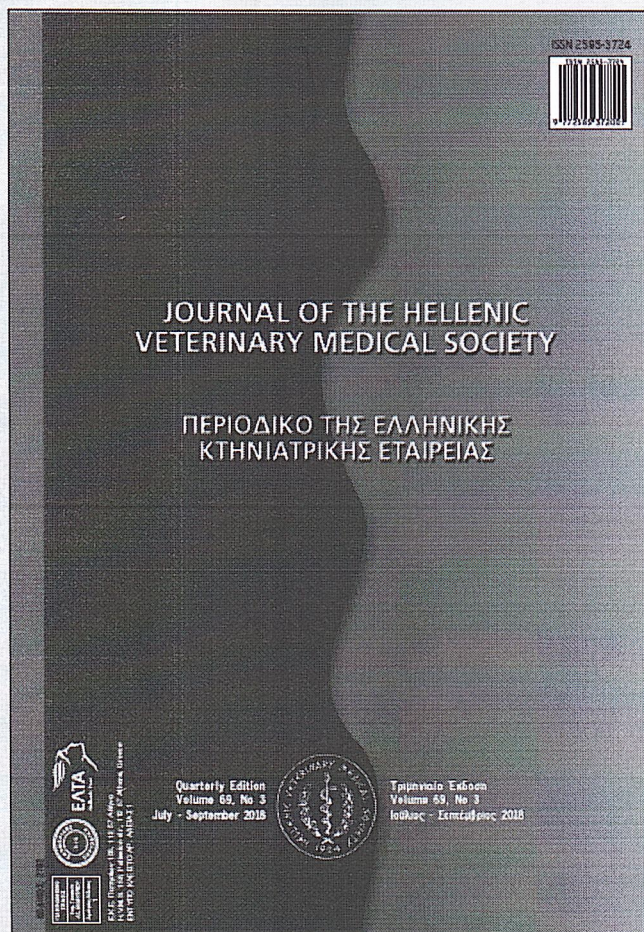
**Corresponding author:*

Georgi Stoimenov
Department of Infectious Pathology and Food Hygiene,
Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry,
10 Kliment Ohridski St., 1756 Sofia, Bulgaria
E-mail: georgi.stoimenov.vm@gmail.com

*Date of initial submission: 4.7.2016
Date of revised submission: 15.9.2016
Date of acceptance: 20.9.2016*

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol. 69, 2018

**In ovo hepatocarcinogenicity of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodimethylamine in White Leghorn chickens**

- KRIL A. Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences
- GEORGIEVA A. Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences
- NIKOLOV B. University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine
- PEPOVICH R. University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine
- HRISTOV K. University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine
- STOIMENOV G. University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine
- NIKOLOVA E. National Diagnostic Veterinary Research Institute
- PETROVA R. National Diagnostic Veterinary Research Institute
- ANANIEV J. Trakia University, Faculty of Medicine
- MANOV V. University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine

<http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.18884>

Copyright © 2018 A. KRIL, A. GEORGIEVA, B. NIKOLOV, R. PEPOVICH, K. HRISTOV, G. STOIMENOV, E. NIKOLOVA, R. PETROVA, J. ANANIEV, V. MANOV



**In ovo hepatocarcinogenicity of N-nitrosodimethylamine and
N-nitrosodimethylamine in White Leghorn chickens**

**A. Kril¹, A. Georgieva¹, B. Nikolov², R. Pepovich²,
K. Hristov², G. Stoimenov^{2*}, E. Nikolova³, R. Petrova³,
J. Ananiev⁴, Vassil Manov²**

¹ *Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

² *University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine, Sofia, Bulgaria*

³ *National Diagnostic Veterinary Research Institute, Sofia, Bulgaria*

⁴ *Trakia University, Faculty of Medicine, Stara Zagora, Bulgaria*

ABSTRACT. Avian embryos have been gaining an increasing scientific interest as a valuable model system for the experimental cancer research that could contribute to a significant reduction of the number of laboratory animals. In the present study, the liver lesions induced by N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine in 151 line, White Leghorn embryos were identified and studied by routine histopathological methods. Foci of altered hepatocytes with basophilic and eosinophilic phenotype, well known as preneoplastic alterations were identified in the avian embryonal livers after *in ovo* exposure to both N-nitroso compounds. These studies were further extended by histopathological, haematological and biochemical examinations on the effects of N-nitrosodimethylamine in chickens hatched from carcinogen-inoculated eggs. In addition to the preneoplastic lesions observed in the avian livers, proliferations of oval and hepatocellular carcinoma cells, with clearly expressed signs of malignancy were found. The *in ovo* application of the chemical carcinogen was found to affect both hematological and blood biochemistry parameters measured in experimental birds. The established conditions such as thrombocytopenia and increased levels of liver enzymes, as an essential part of the paraneoplastic syndrome, were associated with the process of hepatocarcinogenesis. The results of this study confirm the preneoplastic nature of the focal lesions in embryonal avian liver and their progression to liver neoplastic alterations after a single *in ovo* application of known hepatocarcinogens. Moreover, the results indicate that 151 line, White Leghorn embryos are a new, valuable *in ovo* model for studies on hepatocarcinogenicity of chemical compounds and underline the importance of research on the development of different avian models of carcinogenicity.

Keywords: *in ovo* models, avian embryos, nitrosamines, hepatocarcinogenesis

Corresponding Author:

Department of Infectious Pathology and Food Hygiene, Faculty of Veterinary
Medicine, University of Forestry, Kliment Ohridski
Street 10, Sofia 1797, Bulgaria.
E-mail: georgi.stoimenov.vet@gmail.com

Date of initial submission: 2-7-2017
Date of revised submission: 2-10-2017
Date of acceptance: 30-10-2017

Pathological changes in natural infection of pheasants with highly pathogenic avian influenza A (H5N8) in Bulgaria

Georgi M. Stoimenov¹, Gabriela V. Goujgoulova², Branimir Nikolov³,
Kalin Hristov⁴, Atanaska Teneva⁵

¹Department of Infectious Pathology and Food Hygiene, ³Department of Clinical Pathology,
⁴Department of Surgery, Radiology, Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Veterinary Medicine,
⁵Department of Plant Protection, Faculty of Agronomy,
University of Forestry, 1796 Sofia, Bulgaria
²National Diagnostic Research Veterinary Medical Institute, 1606 Sofia, Bulgaria
georgi.stoimenov.vm@gmail.com

Received: June 17, 2019

Accepted: November 22, 2019

Abstract

Introduction: The study of histopathological changes caused by influenza A (H5N8) viral infection in bird species is essential for the understanding of their role in the spread of this highly infectious virus. However, there are few such studies under natural conditions in minor gallinaceous species. This article describes the pathomorphological findings in Colchis pheasants infected naturally with H5N8 during an epizootic outbreak in Bulgaria. **Material and Methods:** Samples of internal organs of 10 carcasses were collected for histopathological and immunohistochemical evaluation, virus isolation and identification, and nucleic acid detection. **Results:** Consistent macroscopic findings were lesions affecting the intestine, heart, lung, and pancreas. Congestion and mononuclear infiltrate were common findings in the small intestine, as were necrosis and lymphoid clusters in the lamina propria of the caeca. Congestion with small focal necrosis and gliosis with multifocal nonpurulent encephalitis were observed in the brain. Myocardial interstitial oedema and degenerative necrobiotic processes were also detected. Immunohistological analysis confirmed systemic infection and revealed influenza virus nucleoprotein in all analysed organs. **Conclusion:** Variable necrosis was observed in the brain, liver, trachea, heart, small intestine, and caeca. Viral antigen was commonly found in the brain, heart, lung and trachea. Contact with migrating waterfowls was suspected as a reason for the outbreak.

Keywords: pheasants, avian influenza A virus, histopathology, immunohistochemistry, Bulgaria.

Introduction

Avian influenza, commonly known as fowl plague, is caused by viruses with segmented, negative-sense, single-stranded RNA genomes belonging to the influenza virus A genus of the *Orthomyxoviridae* family. Avian influenza viruses (AIVs) are divided into subtypes based on the antigenic surface glycoproteins haemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA). To date, 16 subtypes of HA (H1 to H16) and 9 of NA (N1 to N9) have been identified in birds (2). AIVs are classified as highly pathogenic for poultry when the intravenous pathogenicity index in six-week-old

chickens is either greater than 1.2 or causes at least 75% mortality in four-to-eight-week-old chickens infected intravenously. The same classification applies when the characteristic motif of basic amino acids in the cleavage site of HA is identified after sequence analysis (19).

H5N8 subtype clade 2.3.4.4 was first detected in domestic poultry in China in 2010. By 2014, H5N8 highly pathogenic avian influenza (HPAI) viruses had caused a series of outbreaks among domestic ducks, chickens, geese, and wild birds in South Korea, and outbreaks followed in Japan, China, Europe, and North America (13, 15).



Original Contribution

STUDY ON THE EFFECTIVENESS OF INTRACISTERNAL ANTIBIOTIC TREATMENT FOR THE CONTROL OF MASTITIS IN GOATS

K. Hristov¹, R. Pepovich¹, B. Nikolov², G. Stoimenov¹

¹Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

²Private Veterinary Clinic "Vet Serviz", Pleven, Bulgaria

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the healing and prophylactic effect of drying-off antibiotic therapy using the selective and non-selective approach of administration of the antibiotics. First experimental group at the start of the dry period were treated non-selectively (all halves) intracisternally with antibiotics. In the second group, we only treated those halves that were diagnosed with subclinical mastitis. The control group of 9 goats was not treated.

The number of somatic cells in treated groups after birth decreased from $2586 \times 10^3/\text{mL}$ to $560 \times 10^3/\text{mL}$ in the first group and from $1978 \times 10^3/\text{mL}$ to $526 \times 10^3/\text{mL}$ in the second. Post partum, 10% of the halves were found to have subclinical mastitis. A healing effect was achieved in 25% ($n=5$) milk halves. New intramammary infections developed during the dry period also occurred in 5% ($n=1$) of the milk halves. In the second post-partum study, subclinical mastitis was observed only in 5% ($n=1$). Healing was achieved in 30% ($n=6$) and the new intramammary infections (NIMIs) were 10% ($n=2$). In the control group, healing was only observed in 5% ($n=1$) and NIMI were 27.78% ($n=5$).

The application of both treatment approaches, results in reduction in prevalence and manifestation of mastitis, as well as reduction of somatic cells in milk after kidding. The selective treatment method may be preferred, in order to reduce the cost of medications in conducting treatment and prophylaxis programs.

Key words: dry period, goats, mastitis, prophylaxis

INTRODUCTION

Numerous factors such as breeding systems, breed, age, lactation, oestrus and intramammary infections (IMI) affect the number of somatic cells (SCC) in goat milk (1-3). Since the total number of SCC is indicative of the number of neutrophils and in turn they are the main symptom of infection, SCC is used as a marker for mastitis. Several authors (4-6) reported differences in milk SCC between uninfected and infected udder halves in goats.

Possibilities for control and prophylaxis of mastitis include genetic selection, nutrition, stress reduction, and good hygiene in stocking and milking. Feeding plays an important role in mammary gland resistance, because trace elements such as various antioxidants, vitamin

A, β -carotene, zinc and chromium affect the lactation protection mechanisms, including leukocyte function and deficiency of these trace elements, is associated with an increase in incidence, duration and severity of mammary diseases. Prophylaxis of subclinical mastitis involves a number of procedures: milking hygiene, disinfection post milking, dry-period treatment, and timely diagnosis of new cases (7, 8). In addition, different routes and regimens of antimicrobials usage are important (9).

The aim of our study was to investigate the curative and prophylactic effect of drying-off antibiotic therapy using selective and non-selective application of the formulations.

MATERIALS AND METHODS

Animals

This study was performed in goat farms located in the territory of 4 districts of Bulgaria. In order to investigate the possibility of prophylaxis of dry period mastitis and the

*Correspondence to: KALIN HRISTOV,
University of Forestry, Faculty Veterinary
Medicine, 10 Kliment Ohridsky Blvd., Sofia 1797,
Bulgaria, e-mail: khristov@ltu.bg, +359883336939



Short communication

SEROPREVALENCE OF *ACTINOBACILLUS*
PLEUROPNEUMONIAE INFECTION IN PIGS FROM BULGARIA

R. PEPOVICH¹, K. HRISTOV¹, B. NIKOLOV¹, K. GENOVA¹, E. IVANOVA²,
T. KUNDURZHIEV³, I. TSACHEV⁴, M. CICCOTZI⁵ & M. BAYMAKOVA⁶

¹Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria; ²National Diagnostic and Research Veterinary Medical Institute, Sofia, Bulgaria; ³Department of Occupational Medicine, Faculty of Public Health, Medical University, Sofia, Bulgaria; ⁴Department of Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria; ⁵Unit of Medical Statistics and Molecular Epidemiology, Università Campus Bio-Medico di Roma, Rome, Italy; ⁶Department of Infectious Diseases, Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria

Summary

Pepovich, R., K. Hristov, B. Nikolov, K. Genova, E. Ivanova, T. Kundurzhiev, I. Tsachev, M. Ciccozzi & M. Baymakova, 2022. Seroprevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs from Bulgaria. *Bulg. J. Vet. Med.*, **25**, No 2, 333–338.

Actinobacillus pleuropneumoniae (*App*) is the etiological agent of porcine pleuropneumonia. The purpose of the study was to present a serological report on *App* prevalence among pigs in industrial farms in Bulgaria. Seventy-two pigs from four industrial farms in four districts of Bulgaria – Eastern Bulgaria (Razgrad and Yambol districts) and Western Bulgaria (Lovech and Sofia districts) were included. Animals were divided in two age groups: weaners and fattening pigs. A commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, INgezim APP MIX, Eurofins Ingenasa, Madrid, Spain) for the detection of antibodies against *App* parasuis in porcine serum was used. Microtitre plate was coated with *App* antigen of the serovars 1, 2, 9 and 11. Positive results for anti-*App* antibodies were detected in 32 (44.4%) of all 72 tested sera. The overall seropositivity in weaners and fattening pigs was 22.2% (8/36), and 66.7% (24/36), respectively. The highest *App* seropositivity in pigs was found in Eastern Bulgaria – 61.1% (22/36; $P < 0.001$) in comparison to *App* seropositivity in Western Bulgaria – 27.8% (10/36; $P = 0.137$). This study on anti-*App* prevalence among pigs in Bulgaria gives new insights on *App* epidemiology in our country.

Key words: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Bulgaria, pigs, seroprevalence

Actinobacillus pleuropneumoniae (*App*) is the etiological agent of porcine pleuropneumonia. *App* was originally isolated in 1957 in the United Kingdom and first

named *Haemophilus pleuropneumoniae* (Pattison *et al.*, 1957; Shope, 1964). Twenty-six years later it was assigned to the *Pasteurellaceae* family and *Actinoba-*

СЛУЧАЙ НА ХЕПАТОЦЕЛУЛАРЕН КАРЦИНОМ ПРИ КУЧЕ

Бранимир Николов¹, Васил Манов¹, Калин Христов¹,
Юлиан Ананиев², Роман Пепович¹

¹Лесотехнически университет – София; ²Тракийски университет – Стара Загора

РЕЗЮМЕ

При клиничен преглед на 6-годишно женско куче от породата „Кавказка овчарка“ е констатирана треска с влошено общо състояние, наличие на твърд болезнен оток в чернодробната област, както и асцит. При проведено ехографско изследване в коремната кухина е визуализирана хепатомегалия с наличие на хиперехогенни проминиращи нодуляции и акумулация на течност. Извършен е хематологичен анализ и е предприета диагностична лапаротомия. Установен е хемоперитонеум и наличие на неопластични лезии в черния дроб и панкреаса. Предприето е хистологично, имунохистохимично и цитологично изследване.

Ключови думи: кучета, неоплазия, черен дроб, хепатоцелуларен карцином, имунохистохимия.

Въведение

В неопластичната патология на черния дроб при кучето хепатоцелуларният карцином може да се открие в 50 % от всички констатирани чернодробни тумори, като първична злокачествена неоплазия (Santalucia et al. 2012). Наблюдават се три форми: **масивна** – обхваща един чернодробен лоб и изглежда като голям раков възел, **нодуларна** – характеризира се с образуване на единични или множество възли с различни размери, и **дифузна** – открива се като множество малки възелчета, конфлуиралци помежду си (Santalucia et al. 2012). Хепатоцелуларните карциноми са със силно подчертана злокачественост и инвазивност. При напреднали случаи клинично най-често се наблюдават признаци на анорексия, загуба на тегло, полидипсия, летаргия, повръщане, подуване, болезненост при палпация на корема и иктерус (Santalucia et al. 2012). Неопластичните хепатоцити могат да варират от почти нормални до недиференцирани вретеновидни клетки, със силно изразени признаци на злокачественост (Patnaik et al. 1981). Тези признаци се изразяват в плеоморфизъм на клетките и техните ядра, проминиращи нуклеоли, множество митотични фигури, интензивно оцветена цитоплазма и пролиферация на туморните клетки в трабекуларни или псевдоацинарни структури. Възможно е клетките да наподобяват нормалните, но без да се откриват портални триади. Наличието на аномалии в портални съдове според авторите е единственият признак на злокачественост. Неопластичните клетки съдържат мазнини и в тях се наблюдават голям брой митотични фигури (Jones et al. 1997). Според McGavin et al. (2000) туморът представлява сиво-бяла или кафеникава лобирана трошлива маса. Неопластичните клетки са от добре диференцирани до атипични или със странна форма, инвазиращи границата със здравите хепатоцити и даващи метастази в лимфните възли, белите дробове и перитонеума.

ЧАСТИЧНО ИЗПАДАНЕ НА МАТКАТА ПРИ КОТКА СЛЕД РАЖДАНЕ, КОМПЛИЦИРАНО С ПИОМЕТРА В НЕПЛОДОНОСЕЩИЯ РОГ

Калин Христов¹, Васил Манов¹, Бранимир Николов¹,
Ренета Петрова², Теодора Попова¹

¹Лесотехнически университет – София;
²НДНВМИ „Проф. д-р Г. Павлов” – София

РЕЗЮМЕ

Разгледан е клиничен случай на едностранно изпадане на матката при 18-месечна котка. Пропалсът е настъпил след раждане на жив плод без оказване на акушерска помощ. При ехографско изследване е визуализирана хиперехогенна структура в десния маточен рог, която се проследява в краниална посока. След неуспешен опит за репониране на изпадналия ляв маточен рог е предприета оперативно намеса. При направената лапаротомия е констатирано наличие на пиометра в десния маточен рог. Извършена е тотална овариохистеректомия. Направено е микробиологично изследване на гнойния ексудат от неплодоносещия рог и хистологично изследване на материал от ектирпираните части от половата система на пациента.

Ключови думи: котка, раждане, изпадане на матката, пиометра.

Въведение

Изпадане на матката и влагалището при котките се наблюдава рядко. То може да бъде пълно, при което изпада цялата матка с двата рога или унилатерално, при което изпада само единият от маточните рога (Zyurtlu and Kaya 2012). Причина за изпадането на матката обикновено е оказването на неподходяща акушерска помощ, изразена в грубо манипулиране с животните, прилагане на прекомерна сила при екстракция на плода, непълно отделяне на плацентата, разкъсване на мезовариума или мезометриума (Nöthling et al. 2002). Причина за това състояние може да бъде и настъпването на аборт в напреднала фаза на бременността. Най-често изпадането се наблюдава при животни на възраст от 10 месеца до 6 години и е характерно за периода на самото раждане или до 48 часа след него. Често моментът на изпадане остава незабелязан поради липсата на наблюдение на процеса на раждане и в следродилния период (Vaughan and McGuckin 1993). Диагностицирането му не представлява трудност и се основава на явните клинични признаци.

Пиометрата е заболяване при женските кучета и котки, причиняващо дисфункция в репродукцията на животните и води до смърт поради септицемия и токсемия (Pretzer 2008). Въз основа на своите патологични характеристики болестта се означава като кистозна хиперплазия на ендометриума – пиометра комплекс (СЕН-Р) (Ajadi et al. 2008, Bigliardi et al. 2004). Тя се характеризира с патологични промени в маточната стена в резултат на прекомерното излагане на прогестерон при последователни полови цикли или прогестероново лечение. Другият основен фактор, предизвикващ СЕН-Р, е бактериалната обсеменация (Pretzer 2008).

Лесотехнически университет

**Сборник доклади
от научната конференция**

**Традиции и съвременност
във ветеринарната медицина**

**София
2012**

Научната конференция с международно участие на Факултета по ветеринарна медицина при Лесотехническият университет, София е проведена от 30 ноември до 2 декември 2012 г. в УОГС „Юндола“ под надслов „Традиции и съвременност във ветеринарната медицина“.

Изнесени са 41 доклада и постерни презентации в три тематични направления – „Морфология, екология и животновъдство“, „Незаразна патология“ и „Заразна патология“.

В научния форум участват специалисти от Институт по експериментална зоофилактика на Умбрия и Марке, Перуджа, Италия, както и колеги от академични и образователни институции в България – Медицински университет – София, Тракийски университет – Стара Загора, Аграрен университет – Пловдив, Висше училище по агробизнес и развитие на регионите – Пловдив, филиал Велико Търново, Институт по земеделие – гр. Карнобат, Опитна станция по земеделие – гр. Търговище, Институт по животновъдни науки – Костинброд, Национален диагностичен и научно-изследователски ветеринарномедицински институт „Проф. Г. Павлов“ – София, Център за оценка на риска – БАБХ, Институт по Екобиотехнологии ООД – гр. София, Институт по криобиология и хранителни технологии, Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН, Институт по микробиология „Ст. Ангелов“ – БАН, Институт по обща и неорганична химия – БАН, Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания – БАН, Институт по Биология и Имунология на Размножаването – БАН, Институт по невробиология – БАН, Институт по органична химия с център по фитохимия – БАН, Химически факултет към СУ „Св. Кл. Охридски“ – София, Ветеринарна клиника „Глобал Вет“ – София, „Санико-България“ АД – София и др.

По време на заседанията по секции са проведени ползотворни професионални творчески дискусии, в които взимат участие студенти от всички курсове на ФВМ към ЛТУ, София.

Редакционен съвет:

проф. д-мн Богдан Аминков

проф. д-мн Георги Георгиев

Членове:

проф. д-мн Емил Сапунджиев

проф. д-мн Жеко Байчев

проф. д-мн Йотко Каменов

проф. д-р Гено Ангелов

проф. д-р Първан Първанов

проф. д-р Янислав Илиев

доц. д-р Васил Манов

доц. д-р Запрянка Шиндарска

доц. д-р Илия Ралчев

доц. д-р Красимира Генова

доц. д-р Милослав Жиков

доц. д-р Теодора Попова

доц. д-р Тодор Маринков

доц. д-р Тони Тодоров

Всички доклади, изнесени на конференцията, са рецензирани преди отпечатването им в настоящия сборник.

Издателска къща при ЛТУ

София, 2013

ISSN 1313-4337

СРЕДСТВА И СХЕМИ ЗА ТЕРАПИЯ И МЕТАФИЛАКТИКА НА ЕНЗООТИЧНАТА ПНЕВМОНИЯ (ЕР) ПРИ СВИНЕТЕ В ПРОМИШЛЕНОТО СВИНЕВЪДСТВО (ОБЗОР)

Роман Пепович¹, Симеон Йорданов¹, Марина Драгойчева²,
Ралица Банкова¹, Бранимир Николов¹

¹Лесотехнически университет – София; ²Национален диагностичен
научноизследователски ветеринарномедицински институт – София

РЕЗЮМЕ

Респираторните болести са най-важните здравни разстройства, нанасящи големи икономически щети на свиневъдството в световен мащаб. Те са отговорни за повечето антибиотични третирания и обяснение за над 40 % от цялата смъртност при свинете. В групата на респираторните заболявания участват болести с първичен етиологичен агент, като PRRSV, PCV2, APP и *M. hyopneumoniae* и други вторични инфекции, усложняващи основното заболяване, което даде повод за определението PRDC. Ключов патоген в PRDC е *M. hyopneumoniae* (*M. hyo*), причинител на ензоотичната пневмония (ЕР) при свинете.

Контролът на ЕР включва широк спектър от мерки, от които имунопрофилактиката, терапията и метафилактиката заемат първите места. В настоящата обзорна статия са отразени най-новите проучвания върху предимствата и недостатъците на медикаментозната терапия и метафилактика на ЕР, с оглед контрола на заболяването и ограничаване на възможностите за изграждане на резистентност. Разгледани са потенциално активните антимикробни средства срещу *M. hyo*, оптималните дози, начините за прилагане и препоръчителни курсове. Отбелязани са някои схеми и средства, препоръчителни в различните случаи на ЕР, протичащата като моноинфекция, ко-инфекции или в асоциации с други вирусни и бактериални заболявания.

Ключови думи: *M. hyopneumoniae*, свине, ензоотична пневмония, терапия, метафилактика.

Респираторните болести са най-важните здравни разстройства, нанасящи големи икономически щети на свиневъдството в световен мащаб. Те са отговорни за повечето антибиотични третирания и обяснение за над 40 % от цялата смъртност при свинете (Loeffen 2001). В тази група влизат заболявания с първичен етиологичен агент като PRRS, PCVI, APP и ЕР и вторични инфекции, усложняващи основното заболяване, което даде повод да се появи определението респираторен болестен комплекс при свинете (PRDC) (Мотовски 2003, Bochev 2007). Ключов патоген в PRDC е *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyo*), причинител на ензоотичната пневмония (ЕР) при свинете (Thacker 2006).

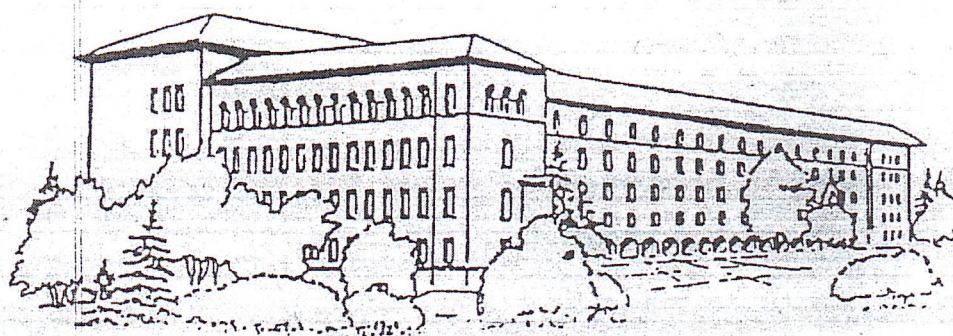
Ензоотичната пневмония засяга свинете от всички възрасти, но по-често и по-тежко боледуват прасетата от групите за подрастване и угодяване (Собко 1988). Клинично болестта се проявява с ремитираща треска (40,5 – 40,8° С), суха кашлица на пристъпи, серозно-гноен конюнктивит, носни изтечения, изкривяване на гръбначния стълб и стойка на „сещащо куче“ (Шафиев и Кудряшов 2002). Патологоанатомичните изменения при ЕР са локализирани предимно в апикалните, кардиалните, диафрагмалните и интермедиалните дялове на белите дробове, добре разграничени от нормалната тъкан, с бледолилави до сиви зони на консолидация,



Лесотехнически университет

**Сборник доклади
от научната конференция**

**Традиции и съвременност
във ветеринарната медицина**



София
2013

Научната конференция с международно участие на факултет „Ветеринарна медицина“ при Лесотехническият университет, София е проведена от 29 ноември до 1 декември 2013 г. в УОГС „Юндола“ под надслов „Традиции и съвременност във ветеринарната медицина“.

Изнесени са 50 доклада и постерни презентации в три тематични направления – „Морфология, екология и животновъдство“, „Незаразна патология“ и „Заразна патология“.

В научния форум участват специалисти от Вернадския институт по геохимия и аналитична химия, Москва, Русия, както и колеги от академични и образователни институции в България – Медицинският университет – София, Тракийският университет – Стара Загора, Нов български университет, Химикотехнологичният и металургичен университет – София, Института по животновъдни науки – Костинброд, Националният диагностичен научноизследователски ветеринарно-медицински институт „Проф. Г. Павлов“ – София, Центъра за оценка на риска – БАБХ, Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН, Националната научноизследователска станция по ловно стопанство, биология и болести по дивеча – София, Ветеринарната клиника „Итавет“ – София, Ветеринарната клиника „Есковет“ – София, Ветеринарната клиника „Вивавет“ – София, Ветеринарната клиника „Авицена“ – София, Ветеринарната клиника „Д-р Кунев“ – София, Ветеринарната клиника „Санте Вита“ – Козлодуй, Ветеринарната клиника „Син кръст“ – София, Медицинската диагностична лаборатория „Хемалаб-2003“ – София, Ветеринарната амбулатория „Д-р Пиндев“ – София, Ветеринарната амбулатория „Zoohelp“ – Кюстендил, Ветеринарната практика – с. Замфирово, обл. Монтана и др.

По време на заседанията по секции са проведени ползотворни професионални творчески дискусии, в които взимат участие студенти от всички курсове на ФВМ към ЛТУ, София.

Редакционен съвет:

проф. д-р Богдан Аминков, двмн

проф. д-р Георги Георгиев, двмн

Членове:

проф. д-р Емил Салунджиев, двмн

проф. д-р Жеко Байчев, двмн

проф. д-р Йотко Каменов, двмн

проф. д-р Гено Ангелов

проф. д-р Първан Първанов

проф. д-р Янислав Илиев

доц. д-р Теодора Попова, двмн

доц. д-р Васил Манов

доц. д-р Запрянка Шиндарска

доц. д-р Илия Ралчев

доц. д-р Красимира Генова

доц. д-р Милослав Жиков

доц. д-р Тодор Маринков

доц. д-р Тони Тодоров

Всички доклади, изнесени на конференцията, са рецензирани преди отпечатването им в настоящия сборник.

Издателска къща при ЛТУ

София, 2014

ISSN 1313-4337

ВЛИЯНИЕ НА ВАКСИНАЦИЯТА СРЕЩУ ЕНЗООТИЧНА ПНЕВМОНИЯ ПРИ СВИНЕТЕ ВЪРХУ ХУМОРАЛНИЯ ИМУНЕН ОТГОВОР И ПАТОЛОГОАНАТОМИЧНИТЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Роман Пепович¹, Бранимир Николов¹, Красимира Генова¹,
Калин Христов¹, Янко Иванов², Елена Иванова³

¹Лесотехнически университет – София; ²Българска агенция по безопасност на храните – София; ³Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт – София

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящето проучване е да се проследи влиянието на ваксинацията срещу ензоотична пневмония при свинете върху хуморалния имунен отговор, степента и тежестта на патологоанатомичните (макроскопски) изменения в белите дробове. Проучването е проведено в промишлена свинеферма за развъждане и уговяване. В опита са включени 150 броя прасета, разделени в три опитни групи, които бяха проследени от раждането им до клането. От трите опитни групи прасета по време на бозайния период, подрастването и уговяването бяха взети общо 92 броя кръвни проби и изследвани в лабораторни условия чрез blocking ELISA за доказване на специфични антитела срещу *Mycoplasma hyopneumoniae*. Резултатите показаха динамика на антителата през отделните технологични периоди. Патологоанатомичните изменения в белите дробове характерни за ензоотична пневмония от 25,5 % в контролната група, намаляха на 5,5 % при ваксинираните с моноваксина и съответно на 4,0 % при ваксинираните с комбинирана ваксина.

Ключови думи: свине, ензоотична пневмония, имунопрофилактика, патологоанатомични изменения, ELISA, хуморален имунен отговор.

Въведение

Ензоотичната пневмония при свинете (EP) е хронична респираторна болест, причинявана от *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*, *M. hyo*). Тя е една от най-разпространените болести на дихателните пътища при свинете, нанасяща големи икономически загуби на свиневъдството в световен мащаб, които се изразяват в лошо оползотворяване на фуража, намаляване на растежа на прасетата, повишена заболяемост и смъртност, клане по необходимост и разходи за профилактика и терапия (Georgakis et al. 2002, Maes et al. 2008).

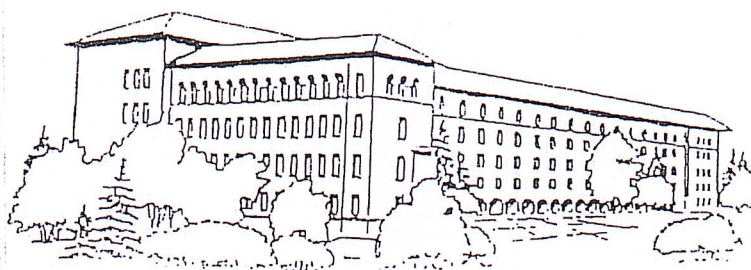
Имунопрофилактиката се явява важен инструмент в общата схема за контрол на микоплазмената инфекция. Въпреки че ваксините не предпазват животните от колонизация на белите дробове с *M. hyo*, а осигуряват частична защита от развитието на патологични изменения в органите (Maes et al. 1999), техният положителен ефект е очевиден. Той се изразява в намаляване на клиничните признаци, снижаване на тежестта на патологичните изменения в белите дробове, повишаване на среднодневния прираст; скъсяване на срока за уговяване и най-важното – намаляване на смъртността (Wallgren et al. 2000, Pallares et al. 2001, Dawson et al. 2002, Maes et al. 2003). Независимо че механизмът за защита на организма от



Лесотехнически университет

**Сборник доклади
от научната конференция**

**Традиции и съвременност
във ветеринарната медицина**



София
2013

Научната конференция с международно участие на факултет „Ветеринарна медицина“ при Лесотехническият университет, София е проведена от 29 ноември до 1 декември 2013 г. в УОГС „Юндола“ под надслов „Традиции и съвременност във ветеринарната медицина“.

Изнесени са 50 доклада и постерни презентации в три тематични направления – „Морфология, екология и животновъдство“, „Незаразна патология“ и „Заразна патология“.

В научния форум участват специалисти от Вернадския институт по геохимия и аналитична химия, Москва, Русия, както и колеги от академични и образователни институции в България – Медицинският университет – София, Тракийският университет – Стара Загора, Нов български университет, Химикотехнологичният и металургичен университет – София, Института по животновъдни науки – Костинброд, Националният диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт „Проф. Г. Павлов“ – София, Центъра за оценка на риска – БАБХ, Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН, Националната научноизследователска станция по ловно стопанство, биология и болести по дивеча – София, Ветеринарната клиника „Итавет“ – София, Ветеринарната клиника „Есковет“ – София, Ветеринарната клиника „Вивавет“ – София, Ветеринарната клиника „Авицена“ – София, Ветеринарната клиника „Д-р Кунев“ – София, Ветеринарната клиника „Санте Вита“ – Козлодуй, Ветеринарната клиника „Син кръст“ – София, Медицинската диагностична лаборатория „Хемалаб-2003“ – София, Ветеринарната амбулатория „Д-р Пиндев“ – София, Ветеринарната амбулатория „Zoohelp“ – Кюстендил, Ветеринарната практика – с. Замфирово, обл. Монтана и др.

По време на заседанията по секции са проведени ползотворни професионални творчески дискусии, в които взимат участие студенти от всички курсове на ФВМ към ЛТУ, София.

Редакционен съвет:

проф. д-р Богдан Аминков, д-р

проф. д-р Георги Георгиев, д-р

Членове:

проф. д-р Емил Сапунджиев, д-р

проф. д-р Жеко Байчев, д-р

проф. д-р Йотко Каменов, д-р

проф. д-р Гено Ангелов

проф. д-р Първан Първанов

проф. д-р Янислав Илиев

доц. д-р Теодора Попова, д-р

доц. д-р Васил Манов

доц. д-р Запрянка Шиндарска

доц. д-р Илия Ралчев

доц. д-р Красимира Генова

доц. д-р Милослав Жиков

доц. д-р Тодор Маринков

доц. д-р Тони Тодоров

Всички доклади, изнесени на конференцията, са рецензирани преди отпечатването им в настоящия сборник.

Издателска къща при ЛТУ

София, 2014

ISSN 1313-4337

ВЛИЯНИЕТО НА СТАДИЯ НА ЛАКТАЦИЯ ВЪРХУ РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА МАСТИТИТЕ ПРИ КОЗИТЕ

Калин Христов, Първан Първанов, Роман Пепович,
Станислав Радански, Бранимир Николов

Лесотехнически университет – София

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящото проучване е да се проследи влиянието на периода на лактация върху разпространението на маститите при козите. В опитната група са включени 35 броя лактиращи кози от породите „Българска бяла млечна“ и местни кръстоски в продължение на един лактационен период от март до септември. Животните са на различна възраст (от 2 до 9 г.) и се отглеждат в две лицензирани ферми в страната при еднакви условията. Преди вземането на млечните проби за лабораторно изследване е направен бърз маститен тест за експресна диагностика на състоянието на млечната жлеза. В лабораторни условия са проведени бактериологични, цитологични и физикохимични изследвания. Резултатите показваха, че възпалителните процеси засягат млечната жлеза най-често в началото и края на лактационния период, съответно 42,86 и 51,43 %.

Ключови думи: кози, лактация, мастити, субклиничен мастит, разпространение.

ВЪВЕДЕНИЕ

С нарастване на общия брой на козите в световен мащаб през последните години, маститните заболявания придобиват все по-голямо значение и актуалност. В това отношение в нашата страна се наблюдава намаляване на общия брой на този вид животни, но те все още остават значима част от животните, използвани за добив на мляко. Проучвания на различни автори показват широки граници на разпространение на маститите, като едни от тях посочват минимален процент на засягане от 17 % (Ameh and Tari 2000), 19 % (Boscoss et al. 1996), други съобщават стойности 27,3 % – 36,4 % (White and Hinckley 1999, McDougall et al. 2010), а трети представят категорично противоположни резултати с висок процент на разпространение на субклиничните мастити в границите 42 % – 75 % (Mhase et al. 2007, Mbilu 2007, Hall and Rycroft 2007). За България Божкова и кол. (2000) установяват 39,05 % разпространение на субклиничните мастити, а на клиничните – 7,26 %.

Наред с пряко действащите микроорганизми за възникването и развитието на маститите при животните, в т.ч. и при козите, пряко значение имат и редица предразполагащи фактори. Много често именно някои от тях се явяват отключващ момент за началото на възпалителен процес в млечната жлеза. Животните са в постоянен контакт с условията на външната среда и под постоянното влияние на различни въздействия от нея. Въз основа на тази постоянна връзка между околната среда, макроорганизма и микроорганизмите, те могат да бъдат разглеждани като единна система, в която всеки от елементите оказва влияние върху останалите (Божкова 1986, Филипов 1993, Косев и др. 1994, Edler et al. 1996).



Лесотехнически университет

**Сборник доклади
от научната конференция**

**Традиции и съвременност
във ветеринарната медицина**



София
2013

Научната конференция с международно участие на факултет „Ветеринарна медицина“ при Лесотехническият университет, София е проведена от 29 ноември до 1 декември 2013 г. в УОГС „Юндола“ под надслов „Традиции и съвременност във ветеринарната медицина“.

Изнесени са 50 доклада и постерни презентации в три тематични направления – „Морфология, екология и животновъдство“, „Незаразна патология“ и „Заразна патология“.

В научния форум участват специалисти от Вернадския институт по геохимия и аналитична химия, Москва, Русия, както и колеги от академични и образователни институции в България – Медицинският университет – София, Тракийският университет – Стара Загора, Нов български университет, Химикотехнологичният и металургичен университет – София, Института по животновъдни науки – Костинброд, Националният диагностичен научноизследователски ветеринарно-медицински институт „Проф. Г. Павлов“ – София, Центъра за оценка на риска – БАБХ, Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН, Националната научноизследователска станция по ловно стопанство, биология и болести по дивеча – София, Ветеринарната клиника „Итавет“ – София, Ветеринарната клиника „Есковет“ – София, Ветеринарната клиника „Вивавет“ – София, Ветеринарната клиника „Авицена“ – София, Ветеринарната клиника „Д-р Кунев“ – София, Ветеринарната клиника „Санте Вита“ – Козлодуй, Ветеринарната клиника „Син кръст“ – София, Медицинската диагностична лаборатория „Хемалаб-2003“ – София, Ветеринарната амбулатория „Д-р Пиндев“ – София, Ветеринарната амбулатория „Zoohelp“ – Кюстендил, Ветеринарната практика – с. Замфирово, обл. Монтана и др.

По време на заседанията по секции са проведени ползотворни професионални творчески дискусии, в които взимат участие студенти от всички курсове на ФВМ към ЛТУ, София.

Редакционен съвет:

проф. д-р Богдан Аминков, двмн
проф. д-р Георги Георгиев, двмн

Членове:

проф. д-р Емил Сапунджиев, двмн
проф. д-р Жеко Байчев, двмн
проф. д-р Йотко Каменов, двмн
проф. д-р Гено Ангелов
проф. д-р Първан Първанов
проф. д-р Янислав Илиев
доц. д-р Теодора Попова, двмн
доц. д-р Васил Манов
доц. д-р Запрянка Шиндарска
доц. д-р Илия Ралчев
доц. д-р Красимира Генова
доц. д-р Милослав Жиков
доц. д-р Тодор Маринков
доц. д-р Тони Тодоров

Всички доклади, изнесени на конференцията, са рецензирани преди отпечатването им в настоящия сборник.

Издателска къща при ЛТУ
София, 2014

ISSN 1313-4337

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ: НЕВРОЕНДОКРИНЕН ТУМОР И ЗАТВОРЕН ПНЕВМОТОРАКС ПРИ ТАНЦУВАЩА ЕВРОАЗИАТСКА КАФЯВА МЕЧКА (*URSUS ARCTOS ARCTOS*)

Васил Манов¹, Богдан Аминков¹, Юлиан Ананиев², Антон Крил³,
Бранимир Николов¹, Константин Аминков¹

¹Лесотехнически университет – София; ²Тракийски университет – Стара Загора;

³Институт по експериментална морфология, патология и антропология
с музей – БАН – София

РЕЗЮМЕ

Извършено е образно диагностично, патоморфологично и имунохистохимично изследване на танцуваща евроазиатска кафява мечка, боледуваща с белодробна и гастроинтестинална симптоматика.

При ехографското изследване на черния дроб се установиха множество нехомогенни хиперехогенни маси. При СТ проучване е установен затворен левостранен пневмоторакс и хиподенсни огнища, пръснати в лобовите на черния дроб. Патоморфологично освен ателектаза в белите дробове са констатирани множество плътни, сиво-бели структури и хемодинамични разстройства. Установени са множество проминиращи възловидни лезии в черния дроб и удебеление на част от стената на илеума и прилежащия ѝ мезентериум. Хистопатологично в белите дробове е доказана антракоза, ателектаза, венозен застой, кръвоизливи и минерални отлагания. В белите дробове и черния дроб са открити разраствания от неопластични клетки с полигонална форма, светла цитоплазма и хиперхромни ядра, оформящи жлезни структури, характерни за невроендокринните тумори. Проведеното имунохистохимично изследване затвърждава поставената диагноза.

Ключови думи: кафява мечка, невроендокринен тумор, пневмоторакс.

Въведение

Евроазиатската кафява мечка (*Ursus arctos arctos*) живее в Европа, включително в България, в Западна и Централна Азия до Хималаите и в Северна Америка. В далечното минало голям брой мечки са обитавали нашите гори, докато днес видът е застрашен и е включен в Червената книга на България. Мечката е най-големият хищник в България. Живее поединично, рядко на двойки.

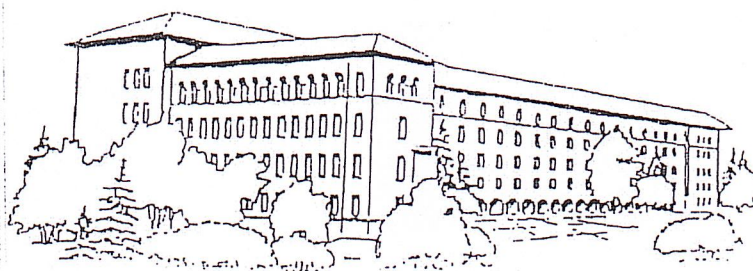
До преди десетина години циганите мечкадари у нас са гледали малки мечета у дома като членове на семейството. Научени да играят под звуците на гъдулката, по-късно те носели доходи на стопаните си. Със създаването на Парка за танцуващи мечки край Белица се сложи край на тази варварска традиция у нас. В парка изтерзаните животни от цялата страна са намерили приют и професионална грижа.

Има ограничена информация за установени тумори при мечки живеещи в неволя и в дивата природа. За семейство мечки (*Ursidae*) са публикувани само няколко случая на неоплазии като: аденокарцинома при хималайска черна мечка (Sharma 2012), тубулопапиларен карцином на млечната жлеза и наличие на епидермални кисти при евроазиатска кафява мечка (Nak et al. 2008), сквамозноклетъчна карци-



Лесотехнически университет

**Сборник доклади
от научната конференция
Традиции и съвременност
във ветеринарната медицина**



София
2013

Научната конференция с международно участие на факултет „Ветеринарна медицина“ при Лесотехническият университет, София е проведена от 29 ноември до 1 декември 2013 г. в УОГС „Юндола“ под надслов „Традиции и съвременност във ветеринарната медицина“.

Изнесени са 50 доклада и постерни презентации в три тематични направления – „Морфология, екология и животновъдство“, „Незаразна патология“ и „Заразна патология“.

В научния форум участват специалисти от Вернадския институт по геохимия и аналитична химия, Москва, Русия, както и колеги от академични и образователни институции в България – Медицинският университет – София, Тракийският университет – Стара Загора, Нов български университет, Химикотехнологичният и металургичен университет – София, Института по животновъдни науки – Костинброд, Националният диагностичен научноизследователски ветеринарно-медицински институт „Проф. Г. Павлов“ – София, Центъра за оценка на риска – БАБХ, Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН, Националната научноизследователска станция по ловно стопанство, биология и болести по дивеча – София, Ветеринарната клиника „Итавет“ – София, Ветеринарната клиника „Есковет“ – София, Ветеринарната клиника „Вивавет“ – София, Ветеринарната клиника „Авицена“ – София, Ветеринарната клиника „Д-р Кунев“ – София, Ветеринарната клиника „Санте Вита“ – Козлодуй, Ветеринарната клиника „Син кръст“ – София, Медицинската диагностична лаборатория „Хемалаб-2003“ – София, Ветеринарната амбулатория „Д-р Пиндев“ – София, Ветеринарната амбулатория „Zoohelp“ – Кюстендил, Ветеринарната практика – с. Замфирово, обл. Монтана и др.

По време на заседанията по секции са проведени ползотворни професионални творчески дискусии, в които взимат участие студенти от всички курсове на ФВМ към ЛТУ, София.

Редакционен съвет:

проф. д-р Богдан Аминков, д-р
проф. д-р Георги Георгиев, д-р

Членове:

проф. д-р Емил Сапунджиев, д-р
проф. д-р Жеко Байчев, д-р
проф. д-р Йотко Каменов, д-р
проф. д-р Гено Ангелов
проф. д-р Първан Първанов
проф. д-р Янислав Илиев
доц. д-р Теодора Попова, д-р
доц. д-р Васил Манов
доц. д-р Запрянка Шиндарска
доц. д-р Илия Ралчев
доц. д-р Красимира Генова
доц. д-р Милослав Жиков
доц. д-р Тодор Маринков
доц. д-р Тони Тодоров

Всички доклади, изнесени на конференцията, са рецензирани преди отпечатването им в настоящия сборник.

Издателска къща при ЛТУ
София, 2014

ISSN 1313-4337

ВЛИЯНИЕ НА ПРОБИОТИЦИТЕ LAKTIFERM BASIC 300® И LAKTINA® ВЪРХУ СМЪРТНОСТТА НА ФАЗАНИ, ЗАРАЗЕНИ С ЕНТЕРОПАТОГЕНЕН ЩАМ НА *E. COLI*

Танджу Мехмедов, Бранимир Николов, Петър Стамберов

Лесотехнически университет – София

РЕЗЮМЕ

Целта на проведеното изследване бе да се сравни ефектът на пробиотиците Laktiferm Basic 300® и Laktina® с антибиотиците Colivet Oral powder® и Pharmastim 8 %® за профилактика и лечение на *E. coli* инфекциите при фазанчета на възраст от 1 до 30 дни. Опитната постановка включва 5 групи заразени с *E. coli* 10⁸ CFU/ml (положителна контрола с Colivet Oral powder®, отрицателна контрола и три опитни с: Laktiferm Basic 300®, Laktina® и Pharmastim®). По време на експеримента проследихме смъртността, преживяемостта и патологоанатомичните изменения на заразените с *E. coli* фазанчета.

Ключови думи: фазанчета, *E. coli*, пробиотици, патологоанатомични изменения.

Въведение

Във връзка с наложената през 2006 г. от Европейския съюз цялостна забрана на антибиотичните растежни стимуланти във всички видове животински храни, пре- и пробиотиците се явиха, като едно алтернативно и перспективно решение срещу забранените нутритивни антибиотици. Използването на пробиотиците е обективно обусловено от редица положителни ефекти върху организма.

От началото на века в много страни се провеждат задълбочени проучвания с цел селекция и използване на специфични видове полезни пробиотични микроорганизми с оглед регулиране на екологичното равновесие в чревния тракт, което би довело до възникване на стабилна микробна популация с подчертано антагонистично действие спрямо патогенните микроорганизми.

В условията на интензивното животновъдство е трудно да се поддържа баланс в гастроинтестиналния тракт на животните, тъй като те са подложени на редица стресови фактори: пренаселеност в помещенията за отглеждане, внезапни промени в условията на средата и храненето, както и третирането с различни антибиотици. Тези фактори довеждат до доминиране на вредната микрофлора и причиняват понижено усвояване на фуража, спад в прираста на угодяваните животни, диарии, повишена чувствителност към вторични инфекции и смърт.

Някои автори правят експериментални изследвания относно инхибиращото въздействие на млечнокиселите бактерии и доказват, че при отсъствието на тези микроорганизми в червата се нарушава процесът на разграждане на белтъците, в резултат на което се образуват нерезорбируеми компоненти, които допринасят за развитието на вредната микрофлора и поява на ентерити (Аппук et al. 2003, Dunne et al. 1999).

Тези констатации пораждат идеята млечнокиселите бактерии и/или техните метаболити да се дават орално под формата на добавки към фуражите. Оттук



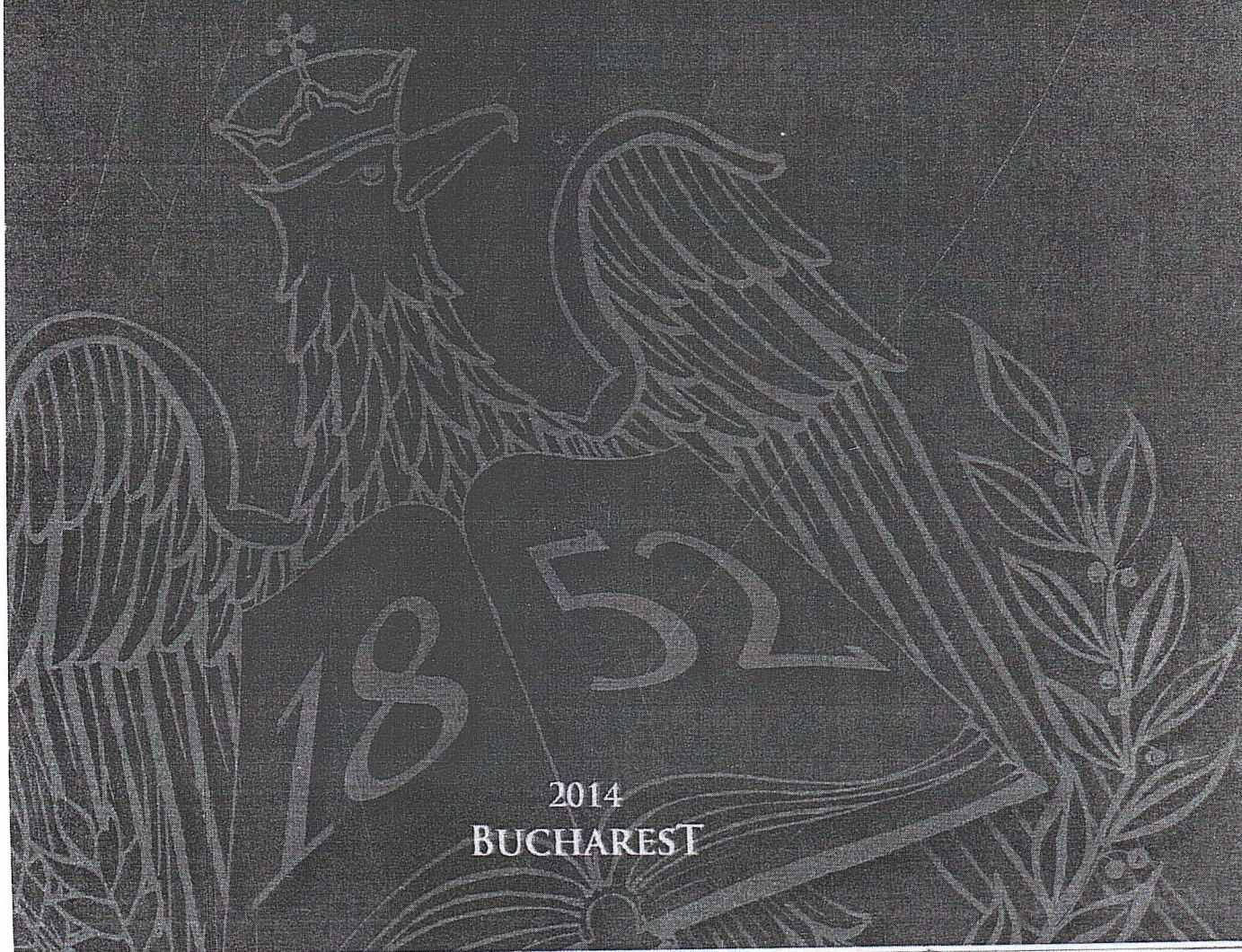
UNIVERSITY OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE OF BUCHAREST
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE



SCIENTIFIC WORKS

SERIES C. VETERINARY MEDICINE

VOL. LX (1)



SCIENTIFIC COMMITTEE

- Sarah BAILLIE - Bristol Veterinary School, University of Bristol, United Kingdom
- Alin BÎRTOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Emilia CIOBOTARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae CORNILĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae DOJANĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Lucian IONIȚĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Mariana IONIȚĂ - University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Horst Erich KÖNIG - Institute of Anatomy, Histology and Embriology, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria
- Manuella MILITARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Aneta POP - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Gabriel PREDOI - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Andreea Iren ȘERBAN - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Laurențiu TUDOR - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Constantin VLĂGIOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania

EDITORIAL BOARD

General Editor: Prof. D.V.M. PhD. Gabriel PREDOI

Executive Editor: Prof. PhD. Aneta POP

Members: Alin BÎRTOIU, Emilia CIOBOTARU,
Nicolae CORNILĂ, Nicolae DOJANĂ,
Mariana IONIȚĂ, Lucian IONIȚĂ, Andreea Iren ȘERBAN,
Constantin VLĂGIOIU, Sarah BAILLIE, Horst Erich KÖNIG

Secretariat: Cornelia FĂFĂNEAȚĂ, Mărgărita GHIMPEȚEANU

PUBLISHERS:

**University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania -
Faculty of Veterinary Medicine**

Address: 105 Splaiul Independentei, District 5, Zip code 050097, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 318 04 69, E-mail: veterinarymedicinejournal@usamv.ro, Webpage: www.fmvb.ro

CERES Publishing House

Address: 1 Piața Presei Libere, District 1, Zip code 013701, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 317 90 23, E-mail: edituraceres@yahoo.com, Webpage: www.editura-ceres.ro

Copyright 2014

To be cited: Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LX (1), 2014

*The publishers are not responsible for the opinions published in the Volume.
They represent the authors' point of view.*

ISSN 2065-1295, ISSN-L 2065-1295

International Database Indexing: CABI

SUMMARY

FUNDAMENTAL SCIENCES

Effects of protein level from forages on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	9
Effects of vegetal fiber level of diets on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	13
Immunological status of the puerperial uterus in cow - Tiberiu CONSTANTIN, Ion Alin BÎRTOIU	18
Comparative morphological study of oral cavity in rabbits and Guinea pigs - Florin STAN	27
Carcass quality and abdominal fat fatty acid composition of chickens fed with different vegetable oil additions - Vladislav STANAČEV, Dragan MILIĆ, Niko MILOŠEVIĆ, Vidica STANAČEV, Zlatica PAVLOVSKI, Dejan BEUKOVIĆ, Nikola PUVAČA	33
Blood serum protein profiles in dogs with experimentally induced acute inflammation - Dimitrinka ZARPYANOVA, Teodora MIRCHEVA, Aleksandar ATANASOV	38

CLINICAL SCIENCES

Pathology related with "novel" emerging infectious agents in livestock - Stelian BĂRĂITĂREANU, Doina DANES	41
Laser treatment of iris cysts in a flat coated Retriever - Andra ENACHE, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alexandru ȘONEA	47
Risk factors influencing the prevalence of subclinical mastitis in goats - Kalin HRISTOV, Parvan PARVANOV, Borislav KASHAMOV, Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV	53
Treatment of bullous keratopathy in the dog - Lia ION, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alin BÎRTOIU	58
The potential zoonotic risk due to cloacal flora in intensively raised broilers - Aurel VAȘIU, Mihaela NICULAE, Eموke PALL, Marina SPÎNU	62
Comparative studies of the effect of applied probiotics Laktiferm basic® 300 and Llaktina® on survival and mortality in pheasants infected with <i>E. coli</i> O 103 - Tandzhu Mehmedov, Branimir Nikolov, Geno Angelov	66
In ovo tests for carcinogenicity, mutagenicity and embryotoxicity - Minireview Branimir NIKOLOV, Any GEORGIEVA, Vasil MANOV, Anton KRIL	72
Occurrence of paramphistomidae (Trematoda: Digenea) in small ruminants in spread Belgrade area - Ivan PAVLOVIC, Snezana IVANOVIC, Bozidar SAVIC, Dragica VOJNOVIC	81
Clinical and paraclinical studies in enzootic pneumonia in industrial swine-breeding of Bulgaria - Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV, Kalin HRISTOV, Krasimira GENOVA, Tandju MEHMEDOV	85
Comparative clinical, hematological and biochemical parameters in a horse with progression of melanoma - Petar STAMBEROV	89

CLINICAL AND PARACLINICAL STUDIES IN ENZOOTIC PNEUMONIA IN INDUSTRIAL SWINE-BREEDING OF BULGARIA

Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV, Kalin HRISTOV,
Krasimira GENOVA, Tandju MEHMEDOV

Faculty of Veterinary Medicine, 10 Sv. Kliment Ohridski Bul, University of Forestry, 1000, Sofia,
Bulgaria

Corresponding author email: rpepovich@abv.bg

Abstract

Two licensed industrial pig farms from different regions of Bulgaria, with laboratory confirmed enzootic pneumonia had clinical and hematological studies. In the study farms the disease occurs in acute and subclinical form. According to the severity of clinical signs studied pigs were grouped into treatment groups. Of all pigs in the group were taken into sterile blood samples for paraclinical study. The results showed changes in red blood cell (eritropeniya, hemoglobinopeniya and decrease in hematocrit) in the white blood cell count (leukopenia, lymphopenia and eosinofilopeniya) and biochemical parameters (hypoproteinaemia, hypoalbuminaemia and hyperglycaemia) of experimental pigs.

Key words: swine, enzootic pneumonia, clinical and paraclinical studies.

INTRODUCTION

In the industrial swine breeding, despite of the used technologies and the herd size, the respiratory diseases are a current problem (Ganovski and Dinev, 1996). Most frequently they flow as a polyethiologic, mixed or associated infections. The structure of the swine respiratory disease became extremely complicated especially after the occurrence of the Porcine Respiratory and Reproductive syndrome (PRRS) and the Porcine Circovirus disease (PCVD). On this occasion was created the definition – Porcine respiratory disease complex (PRDC) (Motovski, 2003; Bochev, 2007). One of the most important pathologic agents in PRDC that affects the epithelial cells of the respiratory tract and disturbs the function of the lymphoid system is *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*, *M. hyo*) (Stipcovic, 2001; Opriessing et al., 2004; Thacker, 2006).

M. hyopneumoniae cause the swine enzootic pneumonia (EP). Being one of the most widely distributed chronic respiratory diseases in swine, it cause big economic losses in the global swine-breeding. The losses

proceed from the poor forage assimilation, retarded growth, high morbidity and mortality, casualty and prevention expenses and therapy (Georgakis et al., 2002; Maes et al., 2008).

A typical clinical sign for EP is the chronic paroxysmal nonproductive (dry) cough. It occurs mainly in the morning when the pigs move during feeding time. The cough is accompanied by fever, serous leaks from the nose, serous-purulent conjunctivitis, skin paling, bristle shagging, kyphosis, poor forage assimilation, reduction of the average daily gain and growth retarding (Morris et al., 1994; Sibila et al., 2009; Tazayan, 2009). The affected pigs reveal changes in hematologic and biochemical blood samples. In the red blood count there is erythropenia, low haemoglobin and haematocrit. The leucogram in *M. hyo* induced EP shows leucopenia, eosinopenia, lymphopenia and monocytopenia. The biochemical changes are related with hypoproteinemia and hyperglycemia (Tazayan, 2009).

The goal of the following work is to study the clinical forms and signs, hematologic and biochemical changes in the blood of the



UNIVERSITY OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE OF BUCHAREST
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE



SCIENTIFIC WORKS

SERIES C. VETERINARY MEDICINE

VOL. LX (1)

2014
BUCHAREST

SCIENTIFIC COMMITTEE

- Sarah BAILLIE - Bristol Veterinary School, University of Bristol, United Kingdom
- Alin BÎRTOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Emilia CIOBOTARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae CORNILĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Nicolae DOJANĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Lucian IONIȚĂ - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Mariana IONIȚĂ - University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Horst Erich KÖNIG - Institute of Anatomy, Histology and Embriology, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria
- Manuella MILITARU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Aneta POP - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Gabriel PREDOI - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Andreea Iren ȘERBAN - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Laurențiu TUDOR - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania
- Constantin VLĂGIOIU - University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania

EDITORIAL BOARD

General Editor: Prof. D.V.M. PhD. Gabriel PREDOI

Executive Editor: Prof. PhD. Aneta POP

Members: Alin BÎRTOIU, Emilia CIOBOTARU,
Nicolae CORNILĂ, Nicolae DOJANĂ,
Mariana IONIȚĂ, Lucian IONIȚĂ, Andreea Iren ȘERBAN,
Constantin VLĂGIOIU, Sarah BAILLIE, Horst Erich KÖNIG

Secretariat: Cornelia FĂFĂNEAȚĂ, Mărgărita GHIMPEȚEANU

PUBLISHERS:

**University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania -
Faculty of Veterinary Medicine**

Address: 105 Splaiul Independentei, District 5, Zip code 050097, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 318 04 69, E-mail: veterinarymedicinejournal@usamv.ro, Webpage: www.fmvb.ro

CERES Publishing House

Address: 1 Piața Presei Libere, District 1, Zip code 013701, Bucharest, Romania
Phone: + 40 21 317 90 23, E-mail: edituraceres@yahoo.com, Webpage: www.editura-ceres.ro

Copyright 2014

To be cited: Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LX (1), 2014

*The publishers are not responsible for the opinions published in the Volume.
They represent the authors' point of view.*

ISSN 2065-1295, ISSN-L 2065-1295

International Database Indexing: CABI

SUMMARY

FUNDAMENTAL SCIENCES

Effects of protein level from forages on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	9
Effects of vegetal fiber level of diets on the rabbit carcass quality - Rosalie BĂLĂCEANU DOJANĂ, C. SAVU	13
Immunological status of the puerperial uterus in cow - Tiberiu CONSTANTIN, Ion Alin BÎRȚOIU	18
Comparative morphological study of oral cavity in rabbits and Guinea pigs - Florin STAN	27
Carcass quality and abdominal fat fatty acid composition of chickens fed with different vegetable oil additions - Vladislav STANAČEV, Dragan MILIĆ, Niko MILOŠEVIĆ, Vidica STANAČEV, Zlatica PAVLOVSKI, Dejan BEUKOVIĆ, Nikola PUVAČA	33
Blood serum protein profiles in dogs with experimentally induced acute inflammation - Dimitrinka ZARPYANOVA, Teodora MIRCHEVA, Aleksandar ATANASOV	38

CLINICAL SCIENCES

Pathology related with "novel" emerging infectious agents in livestock - Stelian BĂRĂITĂREANU, Doina DANES	41
Laser treatment of iris cysts in a flat coated Retriever - Andra ENACHE, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alexandru ȘONEA	47
Risk factors influencing the prevalence of subclinical mastitis in goats - Kalin HRISTOV, Parvan PARVANOV, Borislav KASHAMOV, Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV	53
Treatment of bullous keratopathy in the dog - Lia ION, Pip BOYDELL, Iuliana IONAȘCU, Alin BÎRȚOIU	58
The potential zoonotic risk due to cloacal flora in intensively raised broilers - Aurel VASIU, Mihaela NICULAE, Eموke PALL, Marina SPÎNU	62
Comparative studies of the effect of applied probiotics Laktiferm basic® 300 and Llaktina® on survival and mortality in pheasants infected with <i>E. coli</i> O 103 - Tandzhu Mehmedov, Branimir Nikolov, Geno Angelov	66
In ovo tests for carcinogenicity, mutagenicity and embryotoxicity - Minireview Branimir NIKOLOV, Any GEORGIEVA, Vasil MANOV, Anton KRIL	72
Occurrence of paramphistomidae (Trematoda: Digenea) in small ruminants in spread Belgrade area -Ivan PAVLOVIC, Snezana IVANOVIC, Bozidar SAVIC, Dragica VOJINOVIC	81
Clinical and paraclinical studies in enzootic pneumonia in industrial swine-breeding of Bulgaria - Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV, Kalin HRISTOV, Krasimira GENOVA, Tandju MEHMEDOV	85
Comparative clinical, hematological and biochemical parameters in a horse with progression of melanoma - Petar STAMBEROV	89

**Comparative studies of the effect of applied probiotics
LAKTIFERM BASIC 300® and LAKTINA® on survival and mortality
in pheasants infected with *E. COLI* O 103**

Tandzhu Mehmedov, Branimir Nikolov and Geno Angelov

University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal disease,
Kliment Ohridski Blvd, №10, 1756, Sofia, Bulgaria, Phone: +359.898.20.76.92,
Email: tanju_mm@yahoo.com

Corresponding author email: tanju_mm@yahoo.com

Abstract

The effect of the application of probiotics Laktiferm Basic® 300 and Laktina®, and antibiotics Colivet Oral powder® and Pharmastim 8 %® at pheasants were compared. We explored the possibility of use of probiotics for the prevention and treatment of E. coli infections in pheasants aged from 1 to 30 days. In the experiment take part 5 groups pheasants infected with enteropathogenic strain of E.coli O 103 in an amount of 10⁸ cfu / ml (positive control - treated with Colivet Oral powder®, negative control and three test groups with: Laktiferm Basic 300®, Laktina® and Pharmastim®). Survival, mortality and post-mortem lesions in infected with E. coli pheasants of all groups were studied.

Key words: probiotics, pheasants, E.coli, post-mortem lesions, Laktiferm Basic 300®, Laktina®

INTRODUCTION

In 2006 The European Union imposed a complete ban on antibiotic growth promoters in all types of animal foods. Pre-and probiotics appeared as an alternative and promising solution to the nutritive banned antibiotics. The use of probiotics is objectively determined by a number of positive effects on the body. Since the beginning of the century in many countries conduct in-depth studies to selection and use of specific types of beneficial probiotic organisms to regulate the ecological balance in the intestinal tract, which would result in a stable microbial population with a strong antagonistic activity against pathogenic microorganisms.

Under the conditions of intensive livestock production is difficult to maintain a balance in the gastrointestinal tract of an animal, since they are exposed to many stress factors: congestion in animal houses, sudden changes in environmental conditions and diet, and the treatment with other antibiotics. These factors led to the dominance of harmful microflora and cause reduced feed conversion, a drop in the

growth of fattened animals, diarrhea, increased susceptibility to secondary infections and death. Some authors have made experimental studies on the inhibitory effects of lactic acid bacteria, and show that in the absence of these microorganisms in the gut is disrupted, degradation of the proteins in the results in the formation of non-resorbable component, which contribute to the growth of harmful micro-flora and occurrence of enteritis (Annuk al., 2003; Dunne al., 1999).

These findings raise the idea of lactic acid bacteria and / or their metabolites can be administered orally in the form of feed additives. From this arises the concept of probiotics as food supplements for prophylaxis of gastrointestinal disorders in animals and foster growth and growth through better feed conversion (Penkov al., 2004; Penkov al., 2004). Positive effect on growth, feed utilization and health of broiler chickens using probiotics produced by lactic acid bacteria and yeasts, some authors reported (Chotinsky al. 2002).

Other authors on the basis of numerous experiments with birds treated with probiotics reported to improve productive performance,

UNIVERSITY OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE OF BUCHAREST
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

SCIENTIFIC WORKS
SERIES C
VETERINARY MEDICINE

VOLUME LXI (1)

2015
BUCHAREST

EDITORIAL BOARD

General Editor: Prof. D.V.M. PhD. Gabriel PREDOI

Executive Editor: Prof. PhD. Aneta POP

Members: Sarah BAILLIE, Alin BÎRTOIU, Emilia CIOBOTARU,
Nicolae DOJANĂ, Horst Erich KÖNIG, Mariana IONIȚĂ,
Andreea Iren ȘERBAN, Dana TĂPĂLOAGĂ, Constantin VLĂGIOU

Secretariat: Cornelia FĂFĂNEAȚĂ, Mărgărita GHIMPEȚEANU

PUBLISHERS:

**University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania -
Faculty of Veterinary Medicine**

Address: 105 Splaiul Independentei, District 5, Zip code 050097, Bucharest, Romania

Phone: + 40 21 318 04 69,

E-mail: veterinarymedicinejournal@usamv.ro, Webpage: www.fmvb.ro

CERES Publishing House

Address: 1 Piața Presei Libere, District 1, Zip code 013701, Bucharest, Romania

Phone: + 40 21 317 90 23, E-mail: edituraceres@yahoo.com, Webpage: www.editura-ceres.ro

Copyright 2015

To be cited: Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LXI (1), 2014

The publishers are not responsible for the opinions published in the Volume.

They represent the authors' point of view.

ISSN 2065-1295, ISSN 2343-9394 (CD-ROM), ISSN 2067-3663 (Online), ISSN-L 2065-1295

International Database Indexing:

Index Copernicus; CABI; Google Scholar; Scipio; OCLC; PNB (Polish Scholarly Bibliography);

Cite Factor; Research Bible; Universal Impact Factor

PREVALENCE OF MASTITIS AND DYNAMICS OF HEALTH STATUS MAMMARY GLAND DURING LACTATION AND DRY PERIOD IN GOATS

Kalin HRISTOV, Parvan PARVANOV, Roman PEPOVICH, Branimir NIKOLOV

University of Forestry, Faculty Veterinary Medicine, 10 Kliment Ohridsky Blvd.,
Sofia 1756, Bulgaria, Phone: , e-mail: kalin_ss@abv.bg

Corresponding author email: kalin_ss@abv.bg

Abstract

The purpose of this study was to investigate the prevalence of mastitis and dynamics of different mastitis forms in goats during lactation and the dry period. The prevalence of mastitis was analyzed in 250 goats. Parallel traced 52 dairy halves with different mastitis forms during lactation and 56 halves during the dry period. Express diagnosis was made on the farm with rapid mastitis test CMT-Test (Kruuse, Denmark) and test Porta SCC (Porta Check, USA). For precise determination of the health condition of all dairy halves was conducted laboratory analysis including determining the number of somatic cells by Fossomatic (Foss, Denmark) and microbiological testing for isolation of pathogenic microorganisms. Prevalence of mastitis was found within 45.8 % and results indicated that 41.67 % of the cases diagnosed with subclinical mastitis in early lactation, persisted at the end of the lactation period. At the same time the latent infection persisted in 15.38 % while secretory disorder was in 26.67 %. During the dry period the highest percentage of persisting indicated subclinical mastitis - 71.43 % and only 14.29 % were found healing, compared with secretory disorder that persisted in 42.86 % as they were healed halves. The latent infection persisted also in 42.86 %, but healing again was found only in 14.29 %. Non-clinical mastitis in the absence of the treatment are stored in 76.19 %
Key words: goats, mammary gland, health status, mastitis, dynamics

INTRODUCTION

Mastitis is inflammation of the mammary gland, which causes biochemical, physical and bacteriological changes in the milk of affected animals (Matthews, 1999). Mastitis is commonly associated with poor hygienic practices as well as with trauma of the mammary tissue and papillae or other types of skin wounds, as the skin is an important barrier against infections. In goats, under the influence of stress factors, such as extreme temperature changes, unhygienic and damp rearing conditions or a sudden change in the diet, the immune system needs to respond quickly against the invasion of pathogens that cause mastitis. That is why it is of particular importance to study the dynamics of non-clinical inflammation of the mammary gland in goats during the lactation and dry period. This is commonly based on observations of the duration of infection, the shift from one form into another and cases of recovery without therapeutic intervention. Such studies are important to precisely identify the animals that should be subject to treatment and the choice of appropriate time for intracisternal infusion as

well as to develop a general strategy for control of mastitis in each particular farm.

MATERIALS AND METHODS

Animals included in the study

The prevalence of mastitis was analyzed in 250 goats. To study the dynamics of mammary gland inflammation, the animals were grouped into experimental groups consisting of a different number of animals depending on the condition of the mammary gland. The study included farms located in four different administrative districts in Bulgaria.

Sample collection

Milk samples were collected aseptically from all udder halves. Prior to sample collection, the udder and papillae were washed and then disinfected with 70° ethanol. The first portions of milk were discarded, then duplicate samples were collected from each udder half. Samples for microbiological analysis (10 ml) were collected in sterile tubes and those for somatic cell counts (50 ml), in milk containers. Milk samples were transported to the laboratory in an ice chest at 4°C and all analytical procedures

UNIVERSITY OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE OF BUCHAREST
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

SCIENTIFIC WORKS
SERIES C
VETERINARY MEDICINE

VOLUME LXI (1)

2015
BUCHAREST

EDITORIAL BOARD

General Editor: Prof. D.V.M. PhD. Gabriel PREDOI

Executive Editor: Prof. PhD. Aneta POP

Members: Sarah BAILLIE, Alin BÎRȚOIU, Emilia CIOBOTARU,
Nicolae DOJANĂ, Horst Erich KÖNIG, Mariana IONIȚĂ,
Andreea Iren ȘERBAN, Dana TĂPĂLOAGĂ, Constantin VLĂGIU

Secretariat: Cornelia FĂFĂNEATĂ, Mărgărita GHIMPEȚEANU

PUBLISHERS:

**University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania -
Faculty of Veterinary Medicine**

Address: 105 Splaiul Independentei, District 5, Zip code 050097, Bucharest, Romania

Phone: + 40 21 318 04 69,

E-mail: veterinarymedicinejournal@usamv.ro, Webpage: www.fmvb.ro

CERES Publishing House

Address: 1 Piața Presei Libere, District 1, Zip code 013701, Bucharest, Romania

Phone: + 40 21 317 90 23, E-mail: edituraceres@yahoo.com, Webpage: www.editura-ceres.ro

Copyright 2015

To be cited: Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LXI (1), 2014

The publishers are not responsible for the opinions published in the Volume.

They represent the authors' point of view.

ISSN 2065-1295, ISSN 2343-9394 (CD-ROM), ISSN 2067-3663 (Online), ISSN-L 2065-1295

International Database Indexing:

Index Copernicus; CABI; Google Scholar; Scipio; OCLC; PNB (Polish Scholarly Bibliography);

Cite Factor; Research Bible; Universal Impact Factor

HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS DURING THE EARLY STAGES OF N-NITROSODIETHYLAMINE- INDUCED HEPATOCARCINOGENESIS IN TURKEYS

Branimir NIKOLOV¹, Vassil MANOV¹, Roman PEPOVICH¹, Tandzhu MEHMEDOV¹,
Kalin HRISTOV¹, Krasimira GENOVA¹, Elena NIKOLOVA², Reneta PETROVA²,
Any GEORGIEVA³, Anton KRIL³

¹ University of Forestry, 10 Kliment Ohridski Street, 1756, Sofia, Bulgaria

² National Diagnostic Veterinary Research Institute, 15 Pencho Slaveikov bul., Sofia, Bulgaria

³ Institute of Experimental, Morphology, Pathology and anthropology with museum, Bulgarian
Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., bl. 25, 1113, Sofia, Bulgaria

Corresponding author email: br_nikolov@abv.bg

Abstract

Some haematological and biochemical parameters in turkeys, hatched from embryonated eggs inoculated with the proven hepatocarcinogen N-nitrosodiethylamine were studied. Histopathology confirmed the presence of clear-cell and basophilic foci of altered hepatocytes and hyperplasia of cholangiocytes. The application of the chemical carcinogen affected both haematological and biochemical parameters. The established conditions such as thrombocytopenia and increased levels of the major liver enzymes were associated with the process of malignancy. In addition, leukogram abnormalities (leukocytosis, lymphocytosis and neutropenia) as well as hypoproteinaemia, hypoalbuminaemia and hypoglycemia were also observed.

Keywords: *in ovo tests, turkeys, hepatocarcinogenesis, N-nitrosodimethylamine, haematological and biochemical parameters.*

INTRODUCTION

Preneoplastic liver lesions have been widely used as a reliable indicator of the early stages of hepatocarcinogenesis. Sasaki and Yoshida (1935) first showed that the appearance of foci of altered hepatocytes (FAHs) preceded the onset of chemically-induced liver tumors. These preneoplastic alterations have the ability to progress to benign or malignant neoplasms and have been accepted as an early and reliable indicator for the development of the neoplastic process (Howe & Knox 2002). Data from rodent experiments suggest that the hepatocarcinogenesis is a multistage process, beginning with the appearance of clear cell and acidophilic foci, storing glycogen in excess, followed by their progression to mixed cell foci, composed of acidophilic and basophilic hepatocytes, and then to basophilic, glycogen poor foci. The later are considered as the most advanced preneoplastic lesion, directly preceding the appearance of the hepatocellular carcinomas (Bannasch et al., 1989).

Preneoplastic foci of altered hepatocytes have been regularly detected in the livers of experimental rodents, as well as in the livers of people with an increased risk for the development of liver tumors (Fischer et al., 1986). It should be noted that the appearance of FAHs precede the development of liver tumors, irrespective of the mechanism by which the carcinogenic process is induced. It is generally accepted that focal liver lesions are a mandatory step in hepatocarcinogenesis and, thus, can be used as reliable endpoints in the carcinogenicity bioassays (Ito et al., 1989). There exist a variety of experimental models in laboratory rodents for the assessment of the carcinogenic, mutagenic and toxic effects of different substances potentially dangerous for both humans and animals. A large part of the experiments have been focused on the mechanisms of liver carcinogenesis (Weisburger, 1999; Iatropoulos et al., 2001; Pitot et al., 2007). The duration of the *in vivo* carcinogenicity tests in rodents is usually 18-24 months (long-term tests). The neoplastic

THE COMPARATIVE THERAPEUTIC EFFICACY OF ANTIMICROBIALS IN PIGS INFECTED WITH *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE*

Roman PEPOVICH¹, Branimir NIKOLOV¹, Krasimira GENOVA¹, Kalin HRISTOV¹,
Radka TAFRADJIJSKA-HADJIOLOVA³, Elena NIKOLOVA², Georgi STOIMENOV¹

¹University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine, 10 Kliment Ohridski blvd, Sofia, Bulgaria,
Email: rpepovich@gmail.com

²National Diagnostic and Research Veterinary Institute, 15 Pencho Slaveykov blvd, Sofia, Bulgaria,

³Medical University, Faculty of Medicine, 15 Academic Ivan Geshov blvd, Sofia, Bulgaria

Corresponding author email: rpepovich@gmail.com

Abstract

Respiratory diseases are current health problem for pig. Very often they have polietiological base which triggers defined Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC). One of the main and permanent etiologic agents in PRDC is *Mycoplasma hyopneumoniae*, the causative agent of enzootic pneumonia in pigs. The disease is widespread in Bulgaria, inflicting major economic damage, resulting in high morbidity, poor feed conversion, reduced average daily gains, cost of therapy and immunization. These indicators determine treatment as necessary and inevitable in control of mycoplasma infection. The purpose of this study was to compare the therapeutic potential of enrofloxacin and florfenicol in industrial pig farms in Bulgaria. The study was conducted in pig farm breeding and fattening, with laboratory proven acute form of enzootic pneumonia. It was conducted on 260 growing pigs divided into two experimental groups. The first group was treated with enrofloxacin injective at a dose of 1 ml/10 kg., for three days, and the second with florfenicol, at a dose of 1 ml/20 kg., intramuscularly twice in 48 hours. Received clinical and epidemiological data give reason to assume that the tested schemes are effective in the control of enzootic pneumonia. As a result of the treatment to stabilize by the clinical condition of the pigs, normalization of indicators of blood and limiting morbidity and mortality. The resulting high therapeutic effect in patients treated with enrofloxacin pigs - 89.6 % and respectively florfenicol - 75.6 %, presented both as equivalent antibiotic in the treatment of enzootic pneumonia.

Key words: pigs, *M. hyopneumoniae*, enrofloxacin, florfenicol, therapy.

INTRODUCTION

Porcine respiratory disease complex (PRDC) may be of various etiology in different production systems (Halbur, 1999; Motovski, 2003). It is commonly caused by a combination of one or two viruses, *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyo*) and other bacteriological agents, which results in severe respiratory diseases and, consequently, in considerable economic losses (Ganovski, D. & I. Dinev, 1996; Motovski, 2003). One of the major PRDC etiological agents is the causative agent of enzootic pneumonia, *M. hyo*. It damages the epithelial cells in the respiratory tract and inhibits the functions of the lymphatic system (Stipkovits et al., 2001; Opriessnig et al., 2004; Thacker, 2006). To combat PRDC, it is generally accepted that vaccination, stress reduction and the implementation of modern breeding

technologies prove useful and are thus considered necessary. However, even when utmost management care is taken, pigs can still become sensitive to bacterial infections. That is why Bosch (2004) considers the use of antibacterial agents as an integral part of the complex control measures against infectious diseases. Antibacterial agents offer several advantages in the control on enzootic pneumonia; these include flexibility of use, simple introduction via feedstock and drinking water, ease of use, possibility to optimize immunoprophylaxis programs and control of bacterial infections (Maes et al., 2011).

The antibacterials potentially active against *M. hyo* include tetracyclines, macrolides, lincosamides, pleuromutilins, fluoroquinolones, amphenicols and aminoglycosides (Hannan et al., 1989; Vicca, 2005). Of these, it is tetracyclines and macrolides that are most

HEMATOLOGICAL AND BLOOD-BIOCHEMISTRY PARAMETERS OF GUINEA FOWLS IN EARLY STAGE OF NITROSODIETHYLAMINE-INDUCED HEPATOCARCINOGENESIS

**Branimir Nikolov¹, Vasil Manov¹, Roman Pepovich¹, Tanzhu Mehmedov¹,
Kalin Hristov¹, Krasimira Genova¹, Elena Nikolova², Reneta Petrova²,
Ani Georgieva³, Anton Kril³**

¹*University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine, Sofia, Bulgaria*

²*National Diagnostic Research Veterinary Medical Institute, Sofia, Bulgaria*

³*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

E-mail: br_nikolov@abv.bg

ABSTRACT

In ovo models (avian embryos) are a novel alternative to laboratory animals used in the experimental cancer research. In the present study, the preneoplastic liver lesions induced by N-nitrosodiethylamine in guinea fowls were examined by histopathological methods. The alterations of some hematological and biochemical parameters were examined in guinea fowls hatched from carcinogen-inoculated eggs. Histopathology confirmed the presence of basophilic and eosinophilic foci of altered hepatocytes, strongly resembling the morphology of the preneoplastic lesions previously found in other avian species and laboratory rodents treated with the same carcinogen, as well as in humans with hepatocellular carcinomas. In addition to the focal hepatic lesions, pronounced hyperplasia of cholangiocytes and *spongiosis hepatis* were also detected in treated guinea fowls. The established alterations of hematological and biochemical parameters included thrombocytopenia and an increase of the levels of major liver enzymes and were related to the hepatocarcinogenesis. In addition, changes in the leukogram (leukocytosis, lymphocytosis and granulocytosis), as well as hypoproteinemia, hypoalbuminemia and hypoglycemia were observed.

Key words: *in ovo* tests, guinea fowl, hepatocarcinogenesis, N-nitrosodiethylamine, hematological and biochemical parameters.

Introduction

Animal experimentation is still one of the major approaches used for safety assessment of chemical substances intended for human or animal use. (Iatropoulos et al., 2001; Pitot, 2007, Marone et al. 2014). With the adoption and implementation of the new Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and the Council of EU on the protection of animals used for scientific purposes, studies aimed at the development of novel alternative models and methods have been gaining an increasing importance. A number of *in vitro* and *in silico* models and methods for evaluation of the carcinogenic potential of the chemical substances have been developed (Anadon et al., 2014). Some of them are now included in the test panels used for chemical risk assessment. The importance of avian embryos as an alternative to the laboratory animals for studies on various pathological processes, including carcinogenesis, is rising steadily (Williams et al., 2014). Moreover, *in ovo* tests for mutagenicity and carcinogenicity (using chicken, turkey or quail embryos) have been proposed and some of them have been subjected to validation studies (Enzmann and Brunnemann, 1997, Williams et al., 2011, Enzmann et al., 2013).

ASSESSMENT OF SEROLOGICAL TESTS OF THE INFLUENZA A INFECTION IN WILD MIGRATORY AND ZOO BIRDS DURING THE EPIZOOTIC IN BULGARIA, 2015

Georgi STOIMENOV¹, Gabriela GOUGOULOVA², Georgi GEORGIEV³,
Chavdar FILIPOV¹, Roman PEPOVICH¹, Kalin HRISTOV¹, Branimir NIKOLOV¹

¹University of Forestry, 10 Kliment Okhridsky Blvd., 1797, Sofia, Bulgaria

²NDSRVMI, 15 Pencho Slaveikov Blvd., 1606, Sofia, Bulgaria

³Risk Assessment Center on Food Chain, 136 Tsar Boris III Blvd., Sofia, Bulgaria

Corresponding author e-mail: georgi.stoimenov.vm@gmail.com

Abstract

The aim of our study was to assess the possibility of serological tests for a detection of antibodies against Influenza A virus in wild migratory, zoo birds and alive birds, presented on markets. The samples were collected in Bulgaria during the epizootic in 2015. Totally 209 specimens have been tested, of which 179 only by ELISA and 30 both by ELISA and HI assay. Some differences during the testing of two yolk sacs of eggs, from the found death Dalmatian pelicans, have been demonstrated, where ELISA and AGID were negative, but HI was positive; the following VNR found them to be partially positive. A possible explanation for the observed contradiction could be given by the specific haemagglutinin, located on the surface of viral particle. The obtained positive serum samples of wild birds from Sofia Zoo and those from a market for alive birds have shown that, the supervision of Avian influenza should not be focused only on the migratory birds, because the disease can be introduced by an import of exotic birds and their offer through auctions and markets.

Key words: Avian influenza A, AGID, Bulgaria, ELISA, HI.

INTRODUCTION

Influenza A infections are among the most dangerous and significant illnesses in many species of animals and people. Their zoonotic potential has always inspired a great interest among scientists and not once has struck fear among the populations of the world. Avian Influenza is particularly crucial since waterfowl migratory birds are the main reservoir and vector of infection. They can emit the virus 30 days after infection, which is a prerequisite for its dissemination over long distances during the migration of birds and subsequent introduction into populations of domestic flocks. Poultry farming is one of the traditional breeding industries for Bulgaria. There are a lot of industrial poultry sites almost everywhere in the country. At the same time, there are many "backyard" farms where the level of biosecurity is low. In addition, Bulgaria's market share of fattened duck liver in Europe is over 20%, and it is known that a large number of low pathogenic avian influenza A viruses circulate among the ducks.

The combination of these factors and the passage of large populations of wild birds throughout Bulgaria in two main migration routes, create conditions for outbreaks of avian influenza A. The strict compliance of biosecurity measures in industrial poultry farms and increased alertness of veterinary services and farmers in backyard farms are the necessary requirements for better control of the disease.

Although there are different studies on serum antibody responses in experimentally and naturally infected ducks (Suarez and Schultz-Cherry, 2000), the immune response in birds due to infection with Influenza A has not been well studied. This response is predominantly based on the virus-producing neutralizing antibodies directed against hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) glycoproteins (Marinova-Petkova, 2012).

MATERIALS AND METHODS

Blood samples were derived from a farm for hunting birds (Yambol region), hunting birds

HEMATOLOGICAL CHANGES ASSOCIATED WITH SUBCLINICAL MASTITIS IN GOATS

Kalin HRISTOV¹, Roman PEPOVICH¹, Branimir NIKOLOV²,
Georgi STOIMENOV¹, Petar STAMBEROV¹

¹University of Forestry, Faculty Veterinary Medicine, 10 Kliment Ohridsky Blvd.,
Sofia 1797, Bulgaria

²Private Veterinary Clinic "Vet Serviz", 19 Byalo more Str., Pleven, 5801, Bulgaria

Corresponding author email: kalin_ss@abv.bg

Abstract

The aim of this study was to investigate haematological changes in lactating goats with subclinical mastitis. Determination of mammary health status was based on CMT results, microbiological and cytological examination. Blood samples were taken from all goats included in the study by venopuncture of the jugular vein and blood was collected in vacuum blood collection tubes. The results showed that the mean $\pm$ SE in healthy animals and goats with subclinical mastitis were as follows: Red Blood Cell count (RBC) $10.43 \pm 0.63 \times 10^{12}/L$ and $9.38 \pm 0.42 \times 10^{12}/L$; Haemoglobin (Hb) 85.69 ± 2.43 g/L and 77.13 ± 1.73 g/L; Hematocrit (HCT) 18.77 ± 0.87 % and 17.77 ± 0.68 %; Red Blood Cell Distribution (RDW) 21.55 ± 0.16 % and 22.21 ± 0.13 %; Mean Cell Volume (MCV) 16.96 ± 0.29 fL and 15.63 ± 0.20 fL; Mean Cell Haemoglobin (MCH) 6.18 ± 0.10 pg and 6.73 ± 0.09 pg; Mean Cell Haemoglobin Concentration (MCHC) 379.81 ± 3.72 g/L and 378 ± 3.12 g/L; White Blood Cell Count (WBC) $13.37 \pm 1.60 \times 10^9/L$ and $16.66 \pm 1.23 \times 10^9/L$. The RBC and Hb were significantly higher ($P < 0.05$) in normal lactating compared to goats with subclinical mastitis. RDW, MCH and WBC count was significantly lower in healthy goats.

Key words: Hematological parameters, goats, subclinical mastitis.

INTRODUCTION

Inflammation of the mammary gland in lactating productive animals is one of the main diseases causing significant economic losses for farmers. Mastitis in small ruminants in its subclinical form is estimated with an annual prevalence of 5-30% (Bergonier et al., 2003). Diagnosis is based on the use of various indicators of inflammation and isolation of micro-organisms, most commonly coagulase-negative staphylococci being isolated (Wilson et al., 1995). The major changes include the migration of ions, proteins and enzymes from the blood into the milk due to an increased blood vessel permeability and active phagocytic invasion occurrence, resulting in an increase in cellular composition and reduction of several components in the milk. All of the affected halves produce specific inflammatory substances - acute phase proteins, which can also be used as indicators of an inflammatory process. Somatic cell levels and the isolation of microbial agents is accepted as the "gold standard" in the diagnosis of subclinical mastitis. In goats, the level of somatic cells as an indicator for

mammary gland infection should be carefully interpreted. Overall, goat milk contains a higher amount of cytoplasmic particles and epithelial cells than cows (Paape and Capuco, 1997), due to the peculiarities of milk secretion in this species. The existence of a correlation between somatic cell level and California mastitis test (CMT), has been investigated by other authors (Persson and Olofsson, 2011). According to Contreras et al. (1996) scores 0 and 1 show 79% of uninfected halves, and in the 2-3 score there is an increase in somatic cells and suspicion of infection, which requires sampling for microbiological examination.

MATERIALS AND METHODS

Animals

This study used 32 locally bred goats, between 3 and 7 years of age, from licensed farms in Bulgaria. Milking was done manually, herds were free of brucellosis, tuberculosis and mycoplasmosis. All of the animals were clinically healthy and free from internal and external parasites. Their health status was evaluated based on rectal temperature, heart rate,

FATAL EUROPEAN YEW (*TAXUS BACCATA*) POISONING IN TWO HORSES

Toni Todorov, Petar Stamberov, Branimir Nikolov, Greta Manova, Vasil Manov

University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine, Sofia, Bulgaria

E-mail: ttodorow@yahoo.com

ABSTRACT

A clinical case of European yew tree poisoning in two geldings in a mountain ranch for adventure riding is described. According to the owner, the horses have become suddenly ill. A more detailed history revealed that horses have eaten twigs and needles of coniferous tree, located in the immediate vicinity of a paddock. Prior to death nervousness, incoordination, muscle trembling, difficulty breathing, weakness and convulsions were observed. At necropsy the most prominent gross lesions include the presence of partially clotted blood, lung edema, cardiac dilatation and hyperemia of the stomach and small intestinal mucosa. In gastric content the presence of partially digested twigs and large number of needles of European yew was identified.

Key words: horses, poisoning, yew, paddock, heart.

Introduction

European yew (*Taxus baccata*) is an evergreen coniferous tree from Taxaceae family widely distributed throughout Europe. In Bulgaria as well as of other countries (e.g. in the Czech Republic, Slovakia, Romania, Russia, Iran), *Taxus baccata* is included in the Red Books (Hageneder, 2007). Its height rarely exceeds 20 m, but its trunks can be up to 4 m in diameter. The yew is a very long-living tree of up to 4000 years old (Benham et al., 2016). It is found in almost all Bulgarian mountains, but is represented by single trees or small groups. The largest habitats of yew in Bulgaria is the Stara Planina mountain over Skobeleva village. In Vitosha mountain the yew trees population is most dense over the area of the Boyana waterfall at an altitude of 1100–1200 m. Its bark is rust red and its dark green leaves (2–4 cm length) with pointed ends are closely spaced on the branches. Yew fruits are not strictly berries, but a naked seed wrapped on a fleshy, red-colored mucilaginous appendage called an aril.

Yew is highly poisonous plant for humans and animals because it contains the alkaloid *taxine* and the glycoside *taxicatin* in the whole plant and the seeds, except for the aril (Dilov, 2005). The seeds and leaves are most hazardous due to their content diterpenoid alkaloids, taxine A (Fig. 1a) and taxine B (Fig. 1b) (Wilson et al., 2001). Both taxine alkaloids are cardiotoxic, but taxine B is considered the most toxic. Taxine B exerts both negative inotropic and atrioventricular conduction delay effects and therefore occurs increase in the electrocardiographic QRS complex and the P wave may also be depressed or absent (Wilson et al., 2001; Cope, 2005). The metabolites of taxines (paclitaxel and docetaxel) have a broad spectrum anticancer activity, but are also cardiotoxic (Lee, 1998). In addition yews also contain nitriles, ephedrine and irritant oils, which cause gastrointestinal inflammation and bioflavonoids that experimentally depress the central nervous system (Sula et al., 2013).

Fatal cases of yew poisonings have been reported in a variety of animal species, including humans. However, the majority of lethal poisoning occur in domestic livestock, especially cattle and horses. Horses are considered more susceptible to yew poisoning than cattle, sheep, goats, dogs and fowl (Wilson et al., 2001). The minimal lethal dose of yew leaves for horses is 200–400 mg/kg body weight. Therefore 100–200 g parts of yew are enough to kill a 500 kg horse (Tiwarly et al., 2005).

<https://doi.org/10.61308/FIEQ6181>

***In ovo* induced hepatic preneoplasia by n-nitrosodimethylamine and n-nitrosodiethylamine in guinea fowl embryos**

Branimir Nikolov

Medical University, 1 Saint Kliment Ohridski Str., 5800, Pleven, Bulgaria

Corresponding author: br_nikolov@abv.bg

Citation: Nikolov, B. (2025). *In ovo* induced hepatic preneoplasia by n-nitrosodimethylamine and n-nitrosodiethylamine in guinea fowl embryos. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, 62(2), 51-56

Abstract: Avian embryos have been gaining increasing scientific interest as a valuable model system for the experimental cancer research, that could contribute to a significant reduction of the number of laboratory animals. The toxic and carcinogenic effects induced *in ovo* by N-nitrosodimethylamine (NDMA) and N-nitrosodiethylamine (NDEA) in guinea fowl embryos have been examined by means of pathoanatomical and histopathological methods. The obtained results indicate that both compounds induce preneoplastic hepatic alterations. The spectrum of macroscopic and microscopic lesions identified in carcinogen treated embryos has been presented and the potential use of avian embryos as an inexpensive and reliable model system for studies on the hepatocarcinogenesis has been discussed.

Keywords: *in ovo* tests; hepatic preneoplasia; avian embryos; guinea fowl; N-nitrosodimethylamine; N-nitrosodiethylamine

INTRODUCTION

In recent years, issues related to the ethical aspects of biomedical research and the welfare of experimental animals have been gaining an increasing significance. There is a growing interest and a desire for the implementation of more reliable, rapid and cost-effective alternative methods to supplement and/or replace animal experiments (Knight et al., 2006; Benigni et al., 2013; Anadón et al., 2014; Marone et al., 2014). During the last decades, avian embryos have attracted the scientific interest as new and reliable alternative model systems (*in ovo* models) for studies on carcinogenesis. It has been shown that *in ovo* experiments can provide valuable information about the carcinogenic potential of chemical compounds and may fill the gap between the *in vivo* and *in vitro* experiments, combining some advantages of both approaches (Enzmann and Brunnemann, 1997). The importance of avian embryos as model a system for studies on different pathological

processes, including virus-induced and chemical carcinogenesis has been growing. *In ovo* carcinogenicity tests have been described in detail by (Enzmann et al., 1992; 1995a; 1995b; Enzmann and Brunnemann, 1997 and Enzmann et al., 2013). It has been found that the *in ovo* exposure to chemical carcinogens resulted in the appearance of eosinophilic and basophilic foci of altered hepatocytes (FAHs) in the embryonal avian liver. These lesions are morphologically identical to the FAHs observed in the liver of adult rats, after treatment with hepatocarcinogens. The *in ovo* experiments are more rapid, less expensive and safer for the personnel than *in vivo* experiments in rodents. In the *in ovo* carcinogenicity studies, turkey and quail embryos are most frequently used as experimental models (Enzmann et al., 1992; 1996; Nikolov et al., 2016; Nikolov, 2024). Here, we present results from a study of the ability of the known carcinogenic compounds N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine, to induce preneoplasia in guinea fowl embryos.



СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
AGRICULTURAL ACADEMY

Ж[®]ИВОТНОВЪДНИ науки

ГОДИНА LII БРОЙ

VOLUME LII NUMBER

6

2015 ГОДИНА

2015 YEAR

JOURNAL of ANIMAL SCIENCE

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Проф. д-р Живко **КРЪСТАНОВ** – отг. редактор
Проф. д-р. Васил **АТАНАСОВ**
Акад. Мария **БАЛТАДЖИЕВА**
Проф. д-р Димитър **БЕЛОРЕЧКОВ**
Доц. д-р Мая **ИГНАТОВА**
Доц. д-р Станимир **ЙОТОВ**
Проф. д-р Лазар **КОЗЕЛОВ**
Доц. д-р Стайка **ЛАЛЕВА**
Проф. д-р Цонка **ПЕЕВА**
Проф. д-р Таня **ХУБЕНОВА**
Проф. д-р Паномир **ЦЕНОВ**

EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Jivko **KRASTANOV** – Editor-in chi
Prof. Dr. Vasil **ATANASOV**
Acad. Maria **BALTADJIEVA**
Prof. Dr. Dimitar **BELORECHKOV**
Assoc. Prof. Maya **IGNATOVA** PhD.
Assoc. Prof. Stanimir **YOTOV** PhD.
Prof. Lazar **KOZELOV** PhD.
Assoc. Prof. Stayka **LALEVA** PhD.
Prof. Dr. Tzonka **PEEVA**
Prof. Tanya **HUBENOVA** PhD.
Prof. Panomir **TZENOV** PhD.

E-mail: jivnauki@abv.bg

Зам.-отг. редактор - Соня **ПЪРВАНОВА**, 0897/098 904
Deputy editor-in-chief - Sonya **PARVANOV** phone ++359897/098 904

Адрес на редакцията

Институт по аграрна икономика – София
1113 София, бул. „Цариградско шосе“ 125, бл. 1, стая 212
Отдел „Специализирана научна периодика“

Editorial Secretariat

Institute of Agricultural Economics – Sofia
Bulgaria, 1113 Sofia, 125 Tzarigradsko Shosse, Blvd., bl. 1, room 212
Department "Specialized Scientific Periodicals"

Издаването на настоящия брой от списанието през 2015 г. е с финансовата подкрепа на:
Фонд „Научни изследвания“ при Министерството на образованието и науката.

СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ, 2015
c/o Jusautor, Sofia
ISSN 0514-7441

Предпечатна подготовка:
БПС ООД, София
Печат: БПС ООД, София

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**ПРОМЕНИ В СЪСТАВА И НЯКОИ ФИЗИКОХИМИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ
НА КОЗЕ МЛЯКОТО ПРИ СУБКЛИНИЧЕН МАСТИТ
И ТЯХНОТО ДИАГНОСТИЧНО ЗНАЧЕНИЕ**

КАЛИН ХРИСТОВ, СТАНИСЛАВ РАДАНСКИ,
РОМАН ПЕПОВИЧ, БРАНИМИР НИКОЛОВ, БОРИСЛАВ КАШЪМОВ*

Лесотехнически университет, Факултет по Ветеринарна медицина - София

*Национална референтна лаборатория за мляко и млечни продукти към ОДБХ-София град

Козето мляко се различава от овчето с по-ниското съдържание на мазнини и белтъчини, но се доближава по състав до кравето. То е особено ценно, тъй като в стомаха на човека коагулира в лесноусвоими маслени капчици, съдържа значителни количества калций, каприлова киселина, фосфор, кобалт и витамини, особено витамин С. Богато е на аминокиселини – таурин, участваща в обезвреждането на токсичните вещества в черния дроб. Полученото мляко от маститни кози представлява сериозна опасност за здравето на животните и епидемиологичната обстановка във фермата. Икономическото значение на маститите е свързано с намаляването на млечната продуктивност, преждевременното бракуване на животни и увеличаването на разходите за лекуването им.

Навременното и точно диагностициране на скритите възпаления на млечната жлеза е изключително важен момент в стратегиите за борба с тези заболявания. То се осъществява основно чрез определяне нивото на соматичните клетки и изолиране на патогенни микроорганизми. За диагностика могат да известна степен да се използват и други индикатори като например нивата на различни ензими, остро-фазовите протеини, лактоферин и промяната в електропроводимостта на млякото (Maisi and Ripinen, 1988; Schüppel and Schwoppe, 1999; Bartha et al., 2010). В същото време ехографското изследване позволява да бъдат диагностицирани структурни промени като стенози и обструкции (Фасулков, 2014) и така да се изясни напълно здравословното състояние на жлезата.

Основните промени при развитие на субклиничен мастит включват преминаването на йони, протеини и ензими от кръвта в млякото в резултат на повишената пропускливост на кръвоносните съдове и настъпващата активна фагоцитна инвазия, проявяваща се в повишаване на клетъчния състав и намаляване на някои съставки в млякото. На базата на това целта на нашето изследване беше да проучим промените в рН, лактоза, протеин, сухото вещество (TS), точката на замръзване (FPD), фосфор (P) и калций (Ca) в млякото при състояние на субклиничен мастит и възможността тези показатели да бъдат ползвани като индикатори на възпаление.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Предмет на изследване и получаване на проби. За да проучим промените в някои физикохимични показатели на млякото (рН, лактоза, масленост, точка на замръзване) и нивата на Са и Р при млечни жлези със субклиничен мастит, изследвахме общо 80 млечни проби. Разграничаването на здрави млечни половини и тези със субклиничен мастит направихме чрез определяне нивото на соматичните клетки и изолиране на патогенни микроорганизми.

Непосредствено преди получаването на стерилните млечни проби предварително папилите бяха почиствани с 70° спирт. От всяка половина след отстраняване на първите струи мляко вземахме двойни проби в стерилни спруветки по 10 ml за микробиологично изследване и в контейнери за мляко по 50 ml за определяне броя на соматичните клетки и физикохимичен анализ. Млечните проби транспортирахме до лабораториите в хладилника, при температура 4°C, като изследването на същите се осъществяваше до 16 h след вземането им.

Изследване на млякото. Директното броене на клетъчните елементи проведохме по БДС EN ISO 13366-2/IDF148-2 посредством Fossomatic (Foss, Дания) в Националната референтна лаборатория за мляко и млечни продукти към ОДБХ-София град. Лабораторията е акредитирана съгласно БДС EN ISO/IEC17025. Микробиологичното изследване извършихме според акредитираната методика на **National Mastitis Council** (1999) за изолиране и диференциране на маститните причинители. Определянето на маслеността, протеинна, лактозата, точката на замръзване и на сухото вещество извършихме съгласно БДС ISO 9622, използвайки Milcoscan (Foss, Дания). Водородно-йонната концентрация измерихме чрез електронен рН метър - Radelkis-Hungary.

Определянето на съдържанието на калций в млечните проби извършихме по метода перманганатометрия. Нивата на фосфора в същите проби определихме колориметрично по метода на Герике и Курмис с измерване на оптичната плътност на Спекол 11 при дължина на вълната 470 nm.

Статистически анализ. Статистическата обработка на данните извършихме с компютърна програма SPSS



СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
AGRICULTURAL ACADEMY

Ж[®]ИВОТНОВЪДНИ науки

ГОДИНА LII БРОЙ 2 2015 ГОДИНА
VOLUME LII NUMBER 2 2015 YEAR

JOURNAL of ANIMAL SCIENCE

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Проф. д-р Живко **КРЪСТАНОВ** – отг. редактор
Проф. д-р. Васил **АТАНАСОВ**
Акад. Мария **БАЛТАДЖИЕВА**
Проф. д-р Димитър **БЕЛОРЕЧКОВ**
Доц. д-р Мая **ИГНАТОВА**
Доц. д-р Станимир **ЙОТОВ**
Проф. д-р Лазар **КОЗЕЛОВ**
Доц. д-р Стайка **ЛАЛЕВА**
Проф. д-р Цонка **ПЕЕВА**
Проф. д-р Таня **ХУБЕНОВА**
Проф. д-р Паномир **ЦЕНОВ**

EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Jivko **KRASTANOV** – Editor-in chief
Prof. Dr. Vasil **ATANASOV**
Acad. Maria **BALTADJIEVA**
Prof. Dr. Dimitar **BELORECHKOV**
Assoc. Prof. Maya **IGNATOVA** PhD.
Assoc. Prof. Stanimir **YOTOV** PhD.
Prof. Lazar **KOZELOV** PhD.
Assoc. Prof. Stayka **LALEVA** PhD.
Prof. Dr. Tzonka **PEEVA**
Prof. Tanya **HUBENOVA** PhD.
Prof. Panomir **TZENOV** PhD.

E-mail: jivnauki@abv.bg

Зам.-отг. редактор - Соня **ПЪРВАНОВА**, 02/971 00 14
Deputy editor-in-chief - Sonya **PARVANOV** phone ++359 2/971 00 14

Адрес на редакцията

Институт по аграрна икономика – София
1113 София, бул. „Цариградско шосе“ 125, бл. 1, стая 212
Отдел „Специализирана научна периодика“

Филипа **КУНОВА** - индексирание в AGRIS

Editorial Secretariat

Institute of Agricultural Economics – Sofia
Bulgaria, 1113 Sofia, 125 Tzarigradsko Shosse, Blvd., bl. 1, room 212
Department "Specialized Scientific Periodicals"

Filipa **KUNOVA** - indexing in AGRIS

Издаването на настоящия брой от списанието през 2015 г. е с финансовата подкрепа на
Фонд “Научни изследвания” при Министерството на образованието и науката.

СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ, 2015
c/o Jusautor, Sofia
ISSN 0514-7441

Предпечатна подготовка:
Тодор Тодоров - ИАИ, София
Печат: БПС ООД, София

ВАКСИНАЦИОННИ СТРАТЕГИИ ЗА КОНТРОЛ НА ЕНЗООТИЧНАТА ПНЕВМОНИЯ ПРИ СВИНЕТЕ

РОМАН ПЕПОВИЧ, БРАНИМИР НИКОЛОВ,
КАЛИН ХРИСТОВ, КРАСИМИРА ГЕНОВА, ЕЛЕНА НИКОЛОВА*
Лесотехнически университет, Факултет по Ветеринарна медицина – София
*Национален диагностичен научноизследователски
ветеринарномедицински институт – София

Ензоотичната пневмония при свинете (ЕР) е респираторна болест, причинявана от *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*, *M. hyo*). Те е една от най-разпространените болести на дихателните пътища при свинете, нанасяща големи икономически загуби на свиневъдството в световен мащаб, които се изразяват в лошо оползотворяване на фуража, изоставане в растежа на прасетата, повишена заболяемост и смъртност, клане по „неотложност“ и разходи за терапия и имунопрофилактика (Georgakis et al., 2002; Maes et al., 2008).

Един от основните и постоянни първични етиологични агенти, участващи в Респираторния болестен комплекс при свинете (Porcine respiratory disease complex –PRDC) е *M. hyopneumoniae* (Stipkovits et al., 2001; Thacker, 2006). Терминът PRDC беше възприет, за да се означава синдромът на тежко респираторно заболяване при свинете, в резултат на ко-инфекции от множество вирусни и бактериални патогени (PRRSV, PCV2, ADV, SIV, *M. hyo*, App, P.m., H.ps. и др.) (Janke, 2001; Stipkovits et al., 2001; Choi et al., 2003). В различните производствени системи, етиологията на PRDC варира значително (Мотовски, 2003). Инфектирането на прасетата с *M. hyo* е съпроводено с изразена имуносупресия, което предразполага към развитие на вторични инфекции на респираторния тракт (Baccaro et al., 2006). Всичко това, заедно с високите нива на заболяемост, трудностите при диагностиката и терапията на болните животни и не на последно място и икономическите загуби, правят имунопрофилактиката срещу ЕР, като необходима и неизбежна (Андросик, 1989).

1. Методи за контрол на ензоотичната пневмония

Контролът върху микоплазмената инфекция може да се постигне чрез редица мерки, които включват оптимизирането на управлението (мениджмънта) и условията в свинефермите, чрез метафилактика и имунопрофилактика.

Подобряването на условията в свинефермите (температурен режим, вентилация, хигиена, гъстота на животните) и на мениджмънта (производствена система, внос на животни, предотвратяването на други болести и стресови състояния и мерки за биосигурност) са едни от първите стъпки, които трябва да се предприемат за контрол на ЕР (Clark et al., 1991; Thomsen et al., 1992; Hege et al., 2002; Thacker et al., 2002).

Прилагането на ефективни антибиотици с храната и водата за пиене за контрол на респираторните заболявания при прасетата, включително и срещу ЕР, води до намаляване на клиничните признаци и белодробните лезии на заболяването и предотвратяване на вторичните бактериални инфекции (Thacker, 2006). Те обаче не могат да предотвратят инфектирането на прасетата с *M. hyo*. От друга страна, неправилната им употреба увеличава риска от развитие на антимикробна

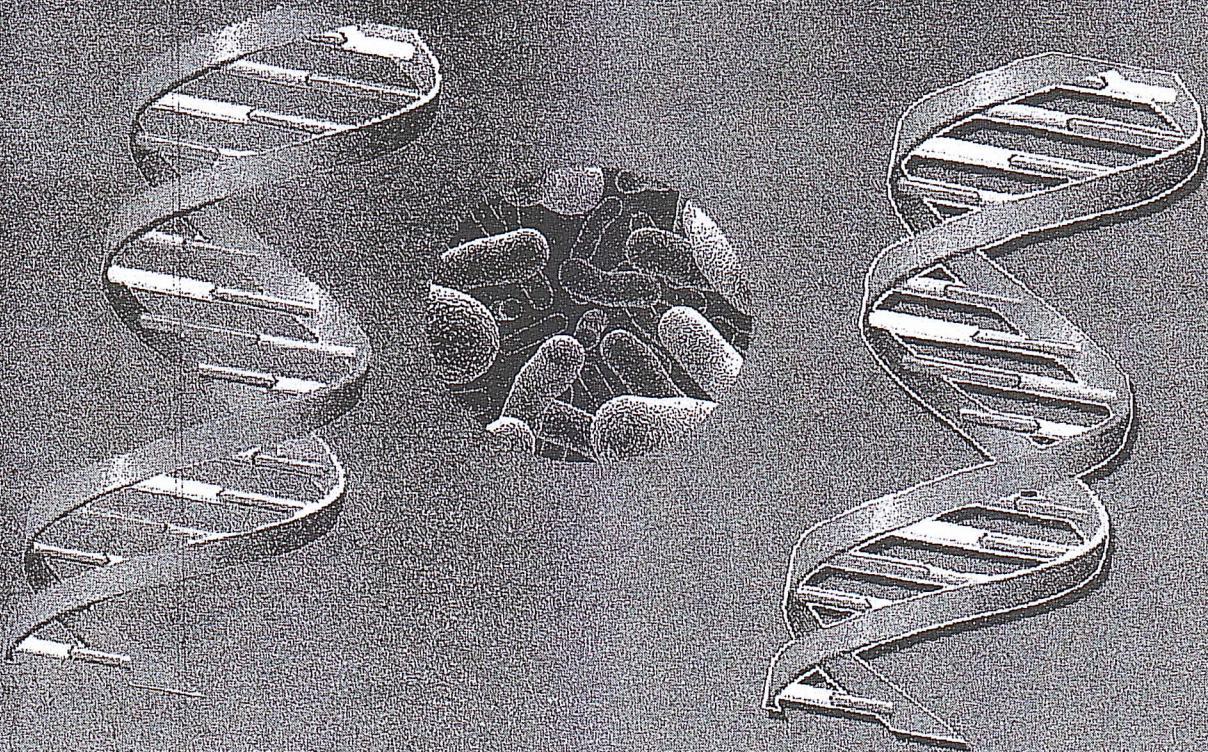
БЛАГОДАРНОСТИ: Тази изследователска работа се провежда с подкрепата на Лесотехнически университет – София и проект BG051PO001-3.3.06-0056 „Подкрепа за развитието на младите хора в Лесотехнически университет“, финансиран от Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси (2007 – 2013)“, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз и Министерството на образованието и науката.

ISSN:2319-7692 (Print)
ISSN:2319-7706 (Online)

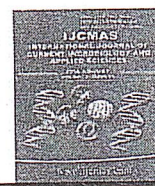
IJCMAS

INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT MICROBIOLOGY AND APPLIED SCIENCES

Published By
EXCELLENT PUBLISHERS



www.ijcmas.com



Original Research Article

<http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.508.034>

Characterization of Microbial Causative Agents of Subclinical Mastitis in Goats in Bulgaria

Kalin Hristov*, Teodora Popova, Roman Pepovich and Branimir Nikolov

Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry,
10 Kliment Ohridski Blvd., Sofia, Bulgaria

*Corresponding author

ABSTRACT

Keywords

Goat,
mastitis,
microorganisms,
Staphylococcus
spp.,
mammary gland.

Article Info

Accepted:

17 July 2016

Available Online:

10 August 2016

Mastitis is the most prevalent mammary gland disease in goats. It has a number of unfavorable health effects in the affected animals and leads to economic losses in the farms. The aim of this study was to isolate and identify microorganisms causing subclinical mastitis (SCM) in goats. Two hundred and twenty-nine milk samples from lactating goats were studied. Microorganisms were isolated from 189 of these samples (82.53%), but not from the remaining 40 ones (17.47%). Isolation and identification of microbial pathogens was carried out using elective and selective growth media for various groups of bacteria. Identification was done using biochemical tests and additional oxidase and catalase tests. The results showed highest prevalence of *Staphylococcus* spp. (52.75%), and particularly, of coagulase-negative staphylococci (CNS). Apart from the samples with a single bacterial species, 42 samples (23.86%) were shown to contain different isolates in associations. The most prevalent associations were those of *Staphylococcus caseolyticus* + *S. adjacens* and *Staphylococcus caseolyticus* + *Proteus penneri* (9.52%).

Introduction

Milk produced from goats with mastitis poses a serious veterinary-sanitary and epidemiological hazard. In addition to causing hygiene and health issues, the mammary gland inflammatory processes also cause economic losses due to reduced milk productivity, early culling of animals and treatment costs. Although the microbial pathogens involved in mastitis have been widely studied, they are still focus of research, as the isolated species of etiological agents change over time. Over 100 species of microorganisms are involved

in mammary gland inflammatory conditions, although it is about 10 species that are most prevalent. A large number of microbiological studies report staphylococci as the most prevalent mastitis pathogens in goats (Bergonier *et al.*, 2003; Contreras, 2003; Ajuwape *et al.*, 2005; Mhase *et al.*, 2007; Moroni *et al.*, 2007; Byeng *et al.*, 2007; Aydin *et al.*, 2007; Islam *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2011; Marogna *et al.*, 2012).

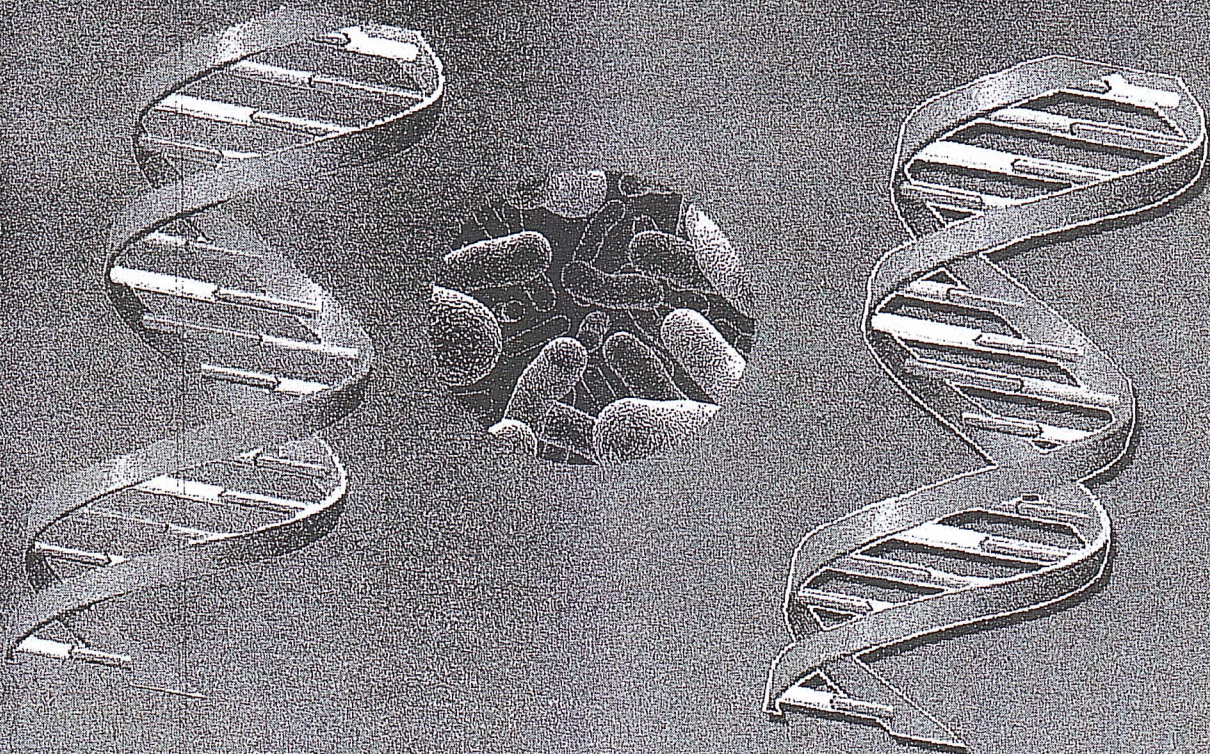
The aim of this study was to isolate and identify microorganisms in milk samples

ISSN:2319-7692 (Print)
ISSN:2319-7706 (Online)

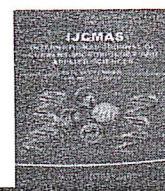
IJCMAS

INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT MICROBIOLOGY AND APPLIED SCIENCES

Published By
EXCELLENT PUBLISHERS



www.ijcmas.com



Original Research Article

<http://dx.doi.org/10.20546/ijemas.2016.509.062>

Investigation of Bacterial Infections in Pig Farms affected by Respiratory Disease Complex in Bulgaria

Roman Pepovich^{1*}, Branimir Nikolov², Kalin Hristov³, Krasimira Genova⁴,
Radka Hadjiolova-Tafradjiyska⁵ and Stanislav Radanski¹

¹Department of Infectious Pathology and Hygiene, Technology and Control of Foods from Animal Origin, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

²Department of Internal Diseases, Pathology and Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

³Department of Surgery, Radiology, Obstetrics and Gynecology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

⁴Department of Animal Breeding Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria

⁵Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Medical University, Sofia, Bulgaria

*Corresponding author

ABSTRACT

Keywords

Pigs, respiratory disease complex, bacterial infections, antimicrobial susceptibility.

Article Info

Accepted:
20 August 2016
Available Online:
10 September 2016

This study attempted to identify bacterial pathogens and determine their importance in porcine respiratory disease complex in order to identify effective and adequate measures for their control. The study was conducted in three industrial intensive pig farms in different regions of Bulgaria. Nasal swab samples from weaners and fattening pigs affected by respiratory infection were examined, as well as from the lungs of animals that had died or had been emergency slaughtered, with changes characteristic of pneumonia. The results showed that mono-infection was prevalent in the analyzed nasal samples in weaners - 54.2%, and in 70.8% *alpha hemolytic Streptococcus* was detected. In fattening pigs, associated infections dominated with 54.2%. In a significant part of the samples (62.5%) there were observed *alpha hemolytic Streptococcus* and *S. epidermidis*. The results from the microbiological examinations of the lungs showed that the prevailing cases were mono-infections in weaners pigs (70.8%), as well as in fattening pigs (75.0%). A significant proportion of lung specimens were shown to contain *E. coli*, probably due to coli septicemia potentiated by *M. hyopneumoniae*.

Introduction

Respiratory diseases remain a current problem in industrial pig farming, regardless of the herd size and the rearing technologies. These diseases very often occur with

multiple etiology, which has historically led to the coining of the term Porcine respiratory disease complex (PRDC) (Motovski, 2003; Bochev, 2007).