

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 54, No 1 (2003)



### A pre- and postpartum study of selected biochemical parameters in ewes for the early detection of pregnancy toxemia

N. ROUBIES (N. ΡΟΥΜΠΙΕΣ), Z. S. POLIZOPOULOU (Ζ.Σ. ΠΟΛΥΖΟΠΟΥΛΟΥ), A. MINAS (Α. ΜΗΝΑΣ), A. PASTERIADIS (ΑΧ. ΠΑΠΑΣΤΕΡΙΑΔΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15213](https://doi.org/10.12681/jhvms.15213)

#### To cite this article:

ROUBIES (N. ΡΟΥΜΠΙΕΣ) N., POLIZOPOULOU (Ζ.Σ. ΠΟΛΥΖΟΠΟΥΛΟΥ) Z. S., MINAS (Α. ΜΗΝΑΣ) A., & PASTERIADIS (ΑΧ. ΠΑΠΑΣΤΕΡΙΑΔΗΣ) A. (2017). A pre- and postpartum study of selected biochemical parameters in ewes for the early detection of pregnancy toxemia. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 54(1), 11–20. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15213>

## Μελέτη βιοχημικών παραμέτρων στο αίμα προβατινών πριν και μετά τον τοκετό για τον έλεγχο υποκλινικών μορφών τοξιναιμίας εγκυμοσύνης

N. Ρουμπιές<sup>1</sup>, Ζ. Πολυζοπούλου<sup>1</sup>, Α. Μινάς<sup>2</sup>,  
Αχ. Παπαστεριάδης<sup>1</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Ερευνήθηκαν οι μεταβολές διάφορων βιοχημικών παραμέτρων στον ορό του αίματος προβάτων, από δύο επιλεγμένα αντιπροσωπευτικά ποιμνία της περιοχής της Θεσσαλίας κατά την περίοδο των τοκετών για τη διερεύνηση πιθανής υποκλινικής υπερκετοναϊμίας. Εξήντα τέσσερα πρόβατα χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα (ομάδα Μ) αποτελούνταν από 29 προβατίνες που δεν ήταν έγκυες και η δεύτερη ομάδα (ομάδα Π) από 35 προβατίνες που βρίσκονταν στο τελευταίο στάδιο της εγκυμοσύνης. Πάρθηκαν δείγματα αίματος σε εβδομαδιαία διαστήματα, από δύο εβδομάδες, περίπου, πριν από τον τοκετό μέχρι δύο εβδομάδες μετά τον τοκετό και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις του β-υδροξυβουτυρικού οξέος, του ακετοξικού οξέος, της γλυκόζης, της ολικής και άμεσης χολερυθρίνης, του ασβεστίου, του ανόργανου φωσφόρου, του νατρίου, του καλίου, του μαγνησίου και της δραστηριότητας της δεϋδρογονάσης της σορβιτόλης και της γ-γλουταμυλτρανσφεράσης. Όλα τα ζώα παρέμειναν υγιή καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού και ο τοκετός ήταν ομαλός. Δεκαοχτώ προβατίνες 51,4% γέννησαν από έναν αμνό, 12 (34,3%) από δύο αμνούς, 4 (11,4%) από τρεις και 1 (2,9%) τέσσερις αμνούς. Από την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της βιοχημικής ανάλυσης δε φαίνεται να υπάρχει υποκλινική κέτωση. Η γλυκόζη του αίματος των προβατινών της ομάδας Π παρέμενε σημαντικά χαμηλότερη ( $P < 0,05$ ) αυτής των μαρτύρων, ενώ η χαμηλότερη συγκέντρωσή της ( $2,3 \pm 0,34$  mmol/L) παρατηρήθηκε μια εβδομάδα πριν από τον τοκετό. Μπορεί όμως να εμφανιστεί μικρός αριθμός περιστατικών με υποκλινική κέτωση παρά τις καλές συνθήκες διαβίωσης των ποιμνίων.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** Βιοχημικές μεταβολές, υποκλινική κέτωση, πρόβατο, εγκυμοσύνη.

## A pre- and postpartum study of selected biochemical parameters in ewes for the early detection of pregnancy toxemia

Roubies N.<sup>1</sup>, Polizopoulou Z.<sup>1</sup>, Minas A.<sup>2</sup>,  
Papasteriades A.<sup>1</sup>

**ABSTRACT.** A field investigation on the incidence of subclinical ovine ketosis was performed in two large sheep flocks in an agricultural region of central Greece. Sixty - four animals were allocated in 2 study groups: group C, consisted of 29 non-pregnant females and group S of 35 end-term pregnant ewes. The trial lasted 6 weeks, including the immediate pre- and postpartal period. Blood samples were collected on weekly intervals and used for determining the concentrations of β-hydroxybutyrate (BHB), acetoacetate (AcAc), glucose, total (TB) and conjugated (CB) bilirubin, calcium (Ca), inorganic phosphorus (P), sodium (Na), potassium (K), magnesium (Mg) and the activity of sorbitol dehydrogenase (SDH) and γ-glutamyl transferase (γGT). All the animals remained clinically healthy throughout the trial and parturition was uneventful. Eighteen group S ewes (51.4%) delivered 1 lamb, 12 (34,3%) twins, 4 (11.4%) triplets and 1 (2.9%) 4 lambs. Although the overall evaluation of the biochemical analysis did not support the existence of subclinical ketosis, blood glucose remained significantly lower ( $P < 0.05$ ) in group S sheep, with its lowest value ( $2.3 \pm 0.34$  mmol/l) recorded 1 week prior to parturition. Sporadic cases of subclinical hyperketonemia may occur, despite optimal flock management.

**Keywords:** Biochemical changes, subclinical hyperketonemia, sheep, pregnancy

<sup>1</sup> Εργαστήριο Κλινικής Διαγνωστικής και Προπαιδευτικής Παθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

<sup>2</sup> Κτηνιατρικό Εργαστήριο Λάρισας

Ημερομηνία υποβολής: 05.04.1999  
Ημερομηνία εγκρίσεως: 21.01.2000

<sup>1</sup> Laboratory of Clinical Diagnosis and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Greece.

<sup>2</sup> Veterinary Laboratory, Larissa, Greece.

Submission date: 05.04.1999  
Approval date: 21.01.2000

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τοξιναιμία της εγκυμοσύνης είναι μία μεταβολική νόσος που εμφανίζεται κυρίως στο τελευταίο στάδιο της εγκυμοσύνης πολύδυμων προβατινών, όταν δεν καλύπτονται οι ενεργειακές ανάγκες τους<sup>1,2,3</sup>. Στις περιπτώσεις που η απαιτούμενη ενέργεια καλύπτεται σε οριακά επίπεδα, η εμφάνιση των συμπτωμάτων εξαρτάται από την ευαισθησία της κάθε προβατίνας. Η εμφάνιση της νόσου σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής είναι σπάνια, εμφανίζεται συνήθως σε ζώα που κριοφορούν περισσότερα από ένα έμβρυα, καθώς και κάτω από ορισμένες συνθήκες διαχείρισης των εκτροφών<sup>4,6</sup>.

Παρά το γεγονός, ότι η τοξιναιμία της εγκυμοσύνης είναι γνωστή εδώ και χρόνια στους κτηνιάτρους αλλά και στους κτηνοτρόφους, ο μηχανισμός πρόκλησης των μεταβολικών διαταραχών που αυτή προκαλεί δεν έχει διευκρινιστεί επαρκώς, ιδιαίτερα εφόσον δεν είναι γνωστό αν πρόκειται όντως για πρωτογενή νόσο ή για δευτερογενή επιπλοκή που παρουσιάζεται κάτω από ειδικές συνθήκες (υπεροιστιμός, υποοιστιμός, παρατεταμένη ανορεξία, συνυπάρχοντα νοσήματα)<sup>6-9</sup>.

Η υποκλινική κέτωση, που είναι η πρόδρομη κατάσταση του αντίστοιχου κλινικού συνδρόμου, χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένες βιοχημικές μεταβολές, όπως η βαθμιαία αύξηση της συγκέντρωσης των κετονικών σωμάτων (β-υδροξυβουτυρικό οξύ, ακετοξικό οξύ και ακετόνη) στο αίμα και το ούρο σε κρίσιμα επίπεδα, και από μη ειδικά συμπτώματα, όπως ανορεξία, απώλεια βάρους και μείωση των αποδόσεων, έτσι ώστε η έγκαιρη διάγνωσή της να είναι δύσκολη<sup>4,10,14</sup>.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των κετονικών σωμάτων, ιδιαίτερα του β-υδροξυβουτυρικού οξέος, στο αίμα, το ούρο και το γάλα, δίνει σαφή εικόνα της κατάστασης του ζώου πριν από την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Θα πρέπει όμως να τονιστεί ότι η συγκέντρωσή τους στα προαναφερθέντα βιολογικά υλικά παρουσιάζει διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του 24ώρου. Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρούνται πριν από τη χορήγηση τροφής γεγονός που επιβάλλει τη λήψη δειγμάτων σε καθορισμένη ώρα<sup>15,16</sup>.

Σταθερό εύρημα στην τοξιναιμία της εγκυμοσύνης είναι η υπογλυκαιμία, αποτέλεσμα του αρνητικού ισοζυγίου ενέργειας και υδατανθράκων λόγω των αυξημένων απαιτήσεων του οργανισμού της μητέρας<sup>6,7,16</sup>. Οι ηπατοπάθειες είναι σημαντικοί παράγοντες που προδιαθέτουν στην εμφάνιση της κέτωσης, εξαιτίας της διαταραχής της σύνθεσης της γλυκόζης, που είναι και μια από τις σημαντικότερες μεταβολές που τη χαρακτηρίζουν<sup>17,19</sup>. Η εκτίμηση της λειτουργικής ακεραιότητας του ήπατος για το σκοπό αυτό, γίνεται με τον προσδιορισμό στον ορό του αίματος της δραστηριότητας της δεϋδρογονάσης της σορβιτόλης, της γ-γλουταμυλοτρανσφεράσης και της συγκέντρωσης της ολικής και της άμεσης χολερυθρίνης<sup>18,19</sup>. Ακόμη, ιδιαίτερη σημασία στη διερεύνηση των περιστατικών έχει ο προσδιορισμός του νατρίου, καλίου, φωσφόρου, αββεστίου και μαγνησίου, εφόσον η διαταραχή της οξεο-

## INTRODUCTION

Pregnancy toxemia, a metabolic disease of polytocous ewes, appears to occur when glucose demands of the fetal-placental unit cannot be met, leading to a negative energy balance, especially during the late gestation period<sup>1,2,3</sup>. Even when energy intake is subnormal, the incidence of this metabolic disease is reported to vary from susceptible to resistant ewes. The syndrome is rare in dairy cows, its prevalence depending on a number of factors, such as herd management, parity and season<sup>4,6</sup>.

Despite the fact that pregnancy toxemia has been known for years to veterinarians and flock masters, detailed knowledge of its characteristic metabolic disturbances is still lacking. In particular, it must be clarified whether signs are caused by the actual disease process or are a consequence of diminished appetite<sup>6-9</sup>.

Subclinical ketosis, which is considered a prodromal condition of the clinical syndrome, is characterized by specific biochemical abnormalities, such as gradual elevation to the critical point of ketone bodies (β-hydroxybutyrate, acetoacetate, acetone) concentration in blood and urine and vague clinical signs such as inappetence, loss of body condition and decreased productivity<sup>4,10,14</sup>.

Generally, the determination of blood, urine and milk ketone bodies, especially β-hydroxybutyrate (BHB) are considered adequate indicators of preketotic status. Limitations occur due to diurnal variations in ketone body values (peak prior to feeding), which urges the setting of standard sampling time<sup>15,16</sup>.

Hypoglycaemia is a consistent finding of pregnancy toxemia due to negative energy balance<sup>6,7,16</sup>. Since the synthesis of glucose is carried out by liver, liver's insufficiency is a main factor that predisposes the occurrence of hyperketonaemia<sup>17,19</sup>. The estimation of serum sorbitol dehydrogenase (SDH), γ-glutamyl transferase (γGT), total (TB) and conjugated bilirubin (CB) are used for assessment of liver function<sup>18,19</sup>. Additionally, hyperketonaemia causes acid-base imbalance that is influenced by the concentration of potassium (K), sodium (Na), inorganic phosphorus (P), calcium (Ca) and magnesium (Mg), which are components of the intracellular and extracellular fluids<sup>17,19</sup>.

Other metabolic indicators, such as plasma glucose and non-esterified fatty acids (NEFA), are impractical, because of the observed value fluctuations<sup>4,6,10,20</sup>.

Sampling schemes for flock subclinical ketosis assessment should be designed on a weekly basis, since false negative results have been obtained, when sample collection was performed monthly<sup>4,20</sup>.

The purpose of this study was to investigate pre- and postpartum blood biochemical changes, when the risk of hyperketonaemia is greater, in two selected sheep flocks in Greece.

## MATERIALS AND METHODS

Two sheep flocks were selected to be evaluated, from

βασικής ισορροπίας είναι από τις συχνότερες βιοχημικές μεταβολές που χαρακτηρίζουν την κέτωση<sup>17,19</sup>.

Άλλες βιοχημικές παράμετροι, όπως τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα (non-esterified fatty acids, NEFA) στο πλάσμα του αίματος δεν έχουν πρακτική διαγνωστική αξία, διότι το εύρος διακύμανσης των συγκεντρώσεων των ουσιών αυτών είναι πολύ μεγάλο<sup>4,6,10,20</sup>.

Για την εκτίμηση της κατάστασης ενός ποιμνίου σε ό,τι αφορά την υποκλινική κέτωση, θα πρέπει να γίνεται δειγματοληψία των βιολογικών υλικών ένα μήνα πριν από τον τοκετό, σε εβδομαδιαία βάση, διότι η εξέτασή τους σε αργότερα χρονικά διαστήματα μπορεί να οδηγήσει σε παραπλανητικά αποτελέσματα<sup>4,20</sup>.

Ο σκοπός της μελέτης ήταν να ερευνηθούν οι μεταβολές των ενδεικτικών παραμέτρων της τοξιναιμίας της εγκυμοσύνης, σε δύο αντιπροσωπευτικά ποιμνία προβάτων κατά την περίοδο των τοκετών, οπότε αυξάνονται οι πιθανότητες εμφάνισης υπερκετοναϊμίας.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η έρευνα έγινε στην περιοχή της Λάρισας την περίοδο Δεκεμβρίου - Μαρτίου σε δύο ποιμνία προβάτων, τα οποία διαβιούσαν σε ανοιχτούς από τη νότια πλευρά στάβλους. Επιλέχθηκαν εξήντα τέσσερα πρόβατα που ανήκαν στη φυλή Χίου, η οποία προτιμάται στην ελληνική κτηνοτροφία επειδή είναι προσαρμοσμένη στις κλιματολογικές συνθήκες της χώρας μας, αλλά και διότι εμφανίζει υψηλό ποσοστό πολυδυμίας, τα οποία χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η ομάδα των μαρτύρων (Μ) αποτελούνταν από 29 πρόβατινες που δεν κνοφορούσαν και η ομάδα των πειραματοζώων (Π) από 35 έγκυες πρόβατινες που αναμενόταν να γεννήσουν μετά από 15-20 ημέρες, σύμφωνα με τις αναφορές των κτηνοτρόφων αλλά και την εκτίμηση μετά από εξέτασή τους.

Όλα τα ζώα ήταν κλινικά υγιή, είχαν εμβολιαστεί κατά της κλωστηριδίασης και έπαιρναν κανονική αγωγή με αντιελμινθικά. Τα πρόβατα έβοσκαν και επιπλέον χορηγούνταν μίγμα καρπών του εμπορίου. Στους κτηνοτρόφους δόθηκαν οι κατάλληλες οδηγίες, ώστε μετά από καθημερινό έλεγχο, να αναφέρουν κάθε μεταβολή που αφορά τη γενική κλινική εικόνα των ζώων και την κατανάλωση τροφής.

Και από τις δύο ομάδες των προβάτων έγιναν λήψεις δειγμάτων αίματος πέντε φορές σε εβδομαδιαία διαστήματα, ανάλογα με την αναμενόμενη ημέρα του τοκετού. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες στις 15 και 7 ημέρες πριν από τον τοκετό, την ημέρα του τοκετού, την 7η και τη 15η ημέρα μετά από αυτόν. Οι αιμοληψίες γίνονταν στις 8 το πρωί, προτού τα ζώα οδηγηθούν στη βοσκή, ώστε να μην υπάρχουν παραπλανητικά ευρήματα που οφείλονται στις φυσιολογικές διακυμάνσεις των τιμών των παραμέτρων κατά τη διάρκεια του 24ώρου.

Υστερα από παρακέντηση της σφαγίτιδας φλέβας συλλέγονταν 15 ml αίματος σε ευρύστομα γυάλινα φιαλίδια. Το αίμα αμέσως μετά την πήξη και το διαχωρισμό του ορού υποβαλλόταν σε φυγοκέντρηση σε 3000 στροφές το

December to March, which is the period of lambing in Greece. The sheep of both flocks were housed in adjacent, open to the south sheds. Sixty-four sheep from these flocks were chosen to be allocated into 2 study groups. The sheep belonged to a Greek breed (Chios island sheep), preferred from many farmers because of its high twinning potential and its ability to adapt to adverse environmental conditions. Group C (control group) consisted of 29 non-pregnant ewes (not exposed to rams) and group S (study group) included 35 full term pregnant ewes, that were expected to lamb within 15 to 20 days, according to the managers' breeding records, as well as the clinical examination findings.

All the animals were in good condition, did not have serious health problems, were vaccinated routinely against clostridial infections and treated regularly with broad-spectrum anthelmintics. They were allowed to graze and received supplemental grain rations purchased commercially. The sheep animal caretakers were instructed to inspect the sheep every day and record any change in feed consumption and overall health.

For both groups, blood samples were collected 5 times at weekly intervals, according to the expected day of lambing, and specifically 15 and 7 days prepartum, at parturition day, 7 and 15 days postpartum, respectively. Sample collection was performed at 8:00 a.m., before the animals were let out to pasture, in order to avoid analytical errors due to diurnal variations.

Fifteen ml of blood were drawn via jugular venipuncture in plain glass tubes, allowed to clot and centrifuged immediately at 3.000 rpm (1600g). Serum samples were transferred in plastic vials and forwarded for biochemical analysis. The parameters to be evaluated included  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB), acetoacetate (ACAC) and glucose for determination of body energy balance; total (TB) and conjugated bilirubin (CB), sorbitol dehydrogenase (SDH) and  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ GT) for assessment of liver function; calcium (Ca), inorganic phosphorus (P), magnesium (Mg), potassium (K) and sodium (Na) for detection of electrolytes imbalances.

## Methods of Analysis

Glucose, TB and CB were assayed colorimetrically, using commercial kits and standard procedures, suggested by the manufacturing company (Boehringer Mannheim GmbH, Germany). Ca and Mg were determined by means of flame atomic absorption spectrophotometry, using a Perkin Elmer model 403 instrument<sup>22</sup>. Inorganic P was evaluated by the heteropoly blue method<sup>23</sup>. Potassium and Na were analyzed, using flame atomic emission spectrophotometry and an Eppendorf instrument. The activity of SDH and  $\gamma$ GT was estimated with enzymatic (kinetic) methods and the relevant commercial kits (SDH: Sigma Diagnostics, St. Louis USA,  $\gamma$ GT: Sclavo diagnostici, Siena, Italy). The assessment of BHB and AcAc concentrations was performed enzymatically<sup>24,25</sup>.

λεπτό (1600 g) για την παραλαβή του ορού. Ο ορός μεταφερόταν σε πλαστικά φιαλίδια και διαβιβαζόταν αμέσως στο εργαστήριο για ανάλυση. Οι βιοχημικές παράμετροι που προσδιορίστηκαν ήταν το β-υδροξυβουτυρικό οξύ (BHB), το ακετοξικό οξύ (AcAc) και η γλυκόζη για την εκτίμηση του ισοζυγίου ενέργειας, η ολική (TB) και άμεση (CB) χολερυθρίνη, η δεϋδρογονάση της σορβιτόλης (SDH) και η γ-γλουταμυλοτρανσφεράση (γGT) για την εκτίμηση της λειτουργίας του ήπατος. Επίσης προσδιορίστηκαν το ασβέστιο (Ca), ο ανόργανος φωσφόρος (P), το μαγνήσιο (Mg), το κάλιο (K) και το νάτριο (Na) για τον έλεγχο της οξεοβασικής ισορροπίας.

### Μέθοδοι ανάλυσης

Η γλυκόζη, η TB και η CB προσδιορίστηκαν με έτοιμα αντιδραστήρια και σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας (Boehringer Mannheim GmbH, Germany). Το Ca και το Mg προσδιορίστηκαν με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης σε όργανο της εταιρείας Perkin Elmer (τύπος του οργάνου 430)<sup>22</sup>. Ο ανόργανος φωσφόρος προσδιορίστηκε με χρωματομετρική μέθοδο<sup>23</sup>, το K και Na φλογοφωτομετρικά, σε όργανο της εταιρείας Erpendorf, ενώ οι δραστηριότητες των ενζύμων SDH και γGT με ενζυμικές μεθόδους χρησιμοποιώντας έτοιμα αντιδραστήρια των εταιριών Sigma Diagnostics, St Louis USA για τη SDH, της Sclavo Diagnostici, Siena, Italy για την γGT και σύμφωνα με την προτεινόμενη από αυτές μεθοδολογία. Τέλος, οι προσδιορισμοί των BHB και AcAc έγιναν με ενζυμικές μεθόδους<sup>24,25</sup>.

### Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη μέθοδο της ανάλυσης της διακύμανσης. Για την ακριβή επισήμανση των διαφορών χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος του πολλαπλού εύρους του Tukey. Για τον προσδιορισμό της σχέσης ανά δύο μεταξύ των παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ανάλυσης παλινδρόμησης. Όλοι οι έλεγχοι έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της βιοχημικής ανάλυσης στον ορό του αίματος των προβατινών, τόσο των πειραματοζώων (ομάδα Π) όσο και των μαρτύρων (ομάδα Μ), καθώς και φυσιολογικές τιμές, δίνονται στον πίνακα 1.

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού σε σχέση με τις παραμέτρους AcAc, TB, CB, SDH, γGT, Ca, Na, K και Mg (πίνακας 1). Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης της γλυκόζης στον ορό του αίματος της ομάδας Π ήταν σημαντικά χαμηλότερος από αυτόν της ομάδας Μ ( $P < 0,05$ ) και έφθασε σχεδόν στα φυσιολογικά όρια, έχοντας όμως πάντα σημαντική διαφορά, μόνο στην τελευταία δειγματοληψία, η οποία έγινε δύο εβδομάδες μετά τον τοκετό. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του BHB στον ορό του αίματος της ομάδας Π ήταν σημαντικά

### Statistical analysis

The significance of the differences among groups were determined by using analysis of variance. The Tukey multiple comparison test was used to determine whether there were statistical differences. In addition, linear regression analysis was used for the estimation of the relationship between the parameters per couple. Significance was declared at  $P < 0.05$ .

### RESULTS

The results of serum biochemical analysis in experimental (group S) and control (group C) sheep, as well as normal values are presented in Table 1.

No significant differences between the two sheep groups were recorded throughout the observation period for the parameters AcAc, TB, CB, SDH, γGT, Ca, Na, K and Mg (Table 1). Mean glucose concentrations were consistently lower ( $P < 0.05$ ) in group S sheep, compared to the controls and rose to nearly normal values only in the last observation, which was 2 weeks postpartum. Mean BHB concentrations differed significantly from group C animals ( $P < 0.05$ ) in the first observation and remained slightly elevated in group S during the trial period, not to exceed 1 mmol/L. Lower mean P concentrations were consistently recorded in group S animals ( $P < 0.05$ ). The lowest value ( $1,4 \pm 0,35$  mmol/L) observed 2 weeks postpartum.

Both groups of sheep remained clinically healthy during the entire study period. Seventeen ewes (group S) delivered one lamb, 12 twins, 4 triplets and 1 ewe gave birth to 4 lambs. Two fully developed lambs of the twin group were born dead. The pregnant ewes were further divided in 2 subgroups, according to the number of delivered lambs (A-one lamb and B-more than one lamb), in order to compare and investigate the effect of twinning on the studied parameters (Table 2). Table 3 presents the laboratory findings in the subset of ewes carrying multiple fetuses.

Correlation analysis did not reveal the existence of any significant relation among the evaluated parameters.

### DISCUSSION

Overall evaluation of the findings in this study (Tables 1, 2 and 3) points to the conclusion that no evidence of hyperketonemia exists. Nevertheless, as it is presented in Table 3, sporadic cases of probable subclinical ketosis were seen in ewes carrying more than one lambs.

Elevated serum BHB and decreased glucose concentrations were observed in selected cases of the multiparous group (No 9, 20, 26 and 29, Table 2). These findings support the opinion that although the incidence of sheep ketosis has declined over the years, because of increasing awareness and knowledge of nutritional requirements, individual cases still occur under favorable situations<sup>3,9,26</sup>.

Blood glucose concentration reached its lowest value ( $2.3 \pm 0.34$  mmol/L) one week prior to parturition and

**Πίνακας 1.** Αποτελέσματα της βιοχημικής ανάλυσης στον ορό του αίματος των προβάτων (Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)\*

	Φυσιολογικές τιμές**	2 εβδομάδες πριν από τον τοκετό		1 εβδομάδα πριν από τον τοκετό		Τοκετός		1 εβδομάδα μετά τον τοκετό		2 εβδομάδες μετά τον τοκετό	
		Μ όχι έγκυα	Π έγκυα	Μ όχι έγκυα	Π έγκυα	Μ όχι έγκυα	Π έγκυα	Μ όχι έγκυα	Π έγκυα	Μ όχι έγκυα	Π έγκυα
Ca mmol/L	2.8–3.2	2.3±0.09	2.2±0.20	2.1±0.08	2.2±0.18	2.3±0.10	2.2±0.17	2.1±0.09	2.3±0.21	2.2±0.11	2.3±0.22
P mmol/L	1.6–2.3	1.9 <sup>a</sup> ±0.28	1.5 <sup>b</sup> ±0.28	1.8 <sup>a</sup> ±0.25	1.5 <sup>b</sup> ±0.26	1.9 <sup>a</sup> ±0.30	1.5 <sup>b</sup> ±0.44	1.9 <sup>a</sup> ±0.32	1.5 <sup>b</sup> ±0.37	1.8 <sup>a</sup> ±0.30	1.4 <sup>b</sup> ±0.35
Na mmol/L	139–152	140±8,3	142±4,8	141±8,7	143±5,7	144±4,4	141±11,3	143±7,8	137±6,9	138±6,5	140±7,8
K mmol/L	3.9–5.4	4.6±0.50	4.8±0.61	4.8±0.45	4.8±0.58	4.7±0.60	4.7±0.50	4.6±0.53	4.8±0.43	4.7±0.44	4.6±0.43
Mg mmol/L	0.9–1.2	1.2±0.10	1.2±0.14	1.1±0.11	1.2±0.13	1.2±0.14	1.2±0.14	1.2±0.08	1.2±0.09	1.1±0.13	1.2±0.11
Γλυκόζη mmol/L	2.8–4.5	2.9 <sup>a</sup> ±0.49	2.4 <sup>b</sup> ±0.31	2.8 <sup>a</sup> ±0.45	2.3 <sup>b</sup> ±0.34	2.9 <sup>a</sup> ±0.40	2.5 <sup>b</sup> ±0.64	3.0 <sup>a</sup> ±0.35	2.5 <sup>b</sup> ±0.55	2.9 <sup>a</sup> ±0.50	2.7 <sup>b</sup> ±0.47
Αμ. Χολ. mmol/L	0.0–4.6	1.4±0.28	1.7±1.51	1.5±0.35	2.1±2.36	1.7±0.51	1.9±1.25	1.5±0.31	1.5±0.27	1.6±0.35	1.7±0.50
Ολ. Χολ. mmol/L	1.7–8.5	3.4±0.76	3.9±2.44	3.8±0.80	4.4±3.60	4.0±1.1	4.6±3.40	3.5±0.70	3.7±0.57	3.6±0.90	4.1±1.13
SDH U/L	6–28	44±37	68±65	51±32	61±39	55±49	45±32	53±28	53±35	48±35	57±45
γGT U/L	20–52	37±7.0	35±18.5	39±10	43±20.4	32±5.0	46±24.9	40±11	47±16.3	44±9.0	38±18.6
BHB mmol/L	0.2–0.5	0.5 <sup>a</sup> ±0.14	0.7 <sup>b</sup> ±0.16	0.5±0.11	0.6±0.39	0.3±0.07	0.6±0.23	0.4±0.09	0.6±0.15	0.5±0.11	0.6±0.13
AcAc mmol/L	0.01–0.05	0.15±0.05	0.16±0.04	0.12±0.03	0.17±0.09	0.16±0.05	0.18±0.14	0.17±0.06	0.15±0.10	0.14±0.04	0.15±0.05

\*Οι μέσες τιμές της ίδιας σειράς με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (P&lt;0.05)

\*\*Kaneko J.J., Harvey J. W., and Bruss M.L., Clinical Biochemistry of Domestic Animals 5-th ed., 1997, Academic Press

**Table 1.** Results of serum biochemical analysis in experimental and control sheep (Mean ± SD)\*

	Normal values**	2 weeks before parturition		1 week before parturition		Parturition		1 week after parturition		2 weeks after parturition	
		C non pregn.	S pregn.	C non pregn.	S pregn.	C non pregn.	S pregn.	C non pregn.	S pregn.	C non pregn.	S pregn.
Ca mmol/L	2.8–3.2	2.3±0.09	2.2±0.20	2.1±0.08	2.2±0.18	2.3±0.10	2.2±0.17	2.1±0.09	2.3±0.21	2.2±0.11	2.3±0.22
P mmol/L	1.6–2.3	1.9 <sup>a</sup> ±0.28	1.5 <sup>b</sup> ±0.28	1.8 <sup>a</sup> ±0.25	1.5 <sup>b</sup> ±0.26	1.9 <sup>a</sup> ±0.30	1.5 <sup>b</sup> ±0.44	1.9 <sup>a</sup> ±0.32	1.5 <sup>b</sup> ±0.37	1.8 <sup>a</sup> ±0.30	1.4 <sup>b</sup> ±0.35
Na mmol/L	139–152	140±8,3	142±4,8	141±8,7	143±5,7	144±4,4	141±11,3	143±7,8	137±6,9	138±6,5	140±7,8
K mmol/L	3.9–5.4	4.6±0.50	4.8±0.61	4.8±0.45	4.8±0.58	4.7±0.60	4.7±0.50	4.6±0.53	4.8±0.43	4.7±0.44	4.6±0.43
Mg mmol/L	0.9–1.2	1.2±0.10	1.2±0.14	1.1±0.11	1.2±0.13	1.2±0.14	1.2±0.14	1.2±0.08	1.2±0.09	1.1±0.13	1.2±0.11
Glucose mmol/L	2.8–4.5	2.9 <sup>a</sup> ±0.49	2.4 <sup>b</sup> ±0.31	2.8 <sup>a</sup> ±0.45	2.3 <sup>b</sup> ±0.34	2.9 <sup>a</sup> ±0.40	2.5 <sup>b</sup> ±0.64	3.0 <sup>a</sup> ±0.35	2.5 <sup>b</sup> ±0.55	2.9 <sup>a</sup> ±0.50	2.7 <sup>b</sup> ±0.47
C. Bil. mmol/L	0.0–4.6	1.4±0.28	1.7±1.51	1.5±0.35	2.1±2.36	1.7±0.51	1.9±1.25	1.5±0.31	1.5±0.27	1.6±0.35	1.7±0.50
T. Bil. mmol/L	1.7–8.5	3.4±0.76	3.9±2.44	3.8±0.80	4.4±3.60	4.0±1.1	4.6±3.40	3.5±0.70	3.7±0.57	3.6±0.90	4.1±1.13
SDH U/L	6–28	44±37	68±65	51±32	61±39	55±49	45±32	53±28	53±35	48±35	57±45
γGT U/L	20–52	37±7.0	35±18.5	39±10	43±20.4	32±5.0	46±24.9	40±11	47±16.3	44±9.0	38±18.6
BHB mmol/L	0.2–0.5	0.5 <sup>a</sup> ±0.14	0.7 <sup>b</sup> ±0.16	0.5±0.11	0.6±0.39	0.3±0.07	0.6±0.23	0.4±0.09	0.6±0.15	0.5±0.11	0.6±0.13
AcAc mmol/L	0.01–0.05	0.15±0.05	0.16±0.04	0.12±0.03	0.17±0.09	0.16±0.05	0.18±0.14	0.17±0.06	0.15±0.10	0.14±0.04	0.15±0.05

\*Means in the same row with different superscripts differ (P&lt;0.05)

\*\* Kaneko J.J., Harvey J. W., and Bruss M.L., Clinical Biochemistry of Domestic Animals 5-th ed., 1997, Academic Press

**Πίνακας 2.** Τιμές βιοχημικών παραμέτρων στον ορό του αίματος των προβατινών που γέννησαν έναν αμνό (Α) και των προβατινών που γέννησαν περισσότερους από έναν αμνούς (Β). (Μέση τιμή±τυπική απόκλιση)

	2 εβδομάδες πριν από τον τοκετό		1 εβδομάδα πριν από τον τοκετό		τοκετός		1 εβδομάδα μετά τον τοκετό		2 εβδομάδες μετά τον τοκετό	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ca mmol/L	2.2±0.24	2.3±0.16	2.2±0.19	2.3±0.18	2.2±0.10	2.3±0.21	2.2±0.18	2.3±0.24	2.3±0.21	2.3±0.20
P mmol/L	1.5±0.37	1.6±0.19	1.6±0.26	1.5±0.25	1.7±0.44	1.5±0.43	1.5±0.34	1.5±0.41	1.3±0.42	1.4±0.28
Na mmol/L	143±4,5	142±5,2	142±5,8	143±5,9	142±6,5	139±14,9	138±7,6	137±7,1	140±8,9	141±7,7
K mmol/L	4.8±0.65	4.8±0.58	4.8±0.55	4.8±0.63	4.5±0.54	4.8±0.45	4.6±0.47	4.9±0.37	4.6±0.43	4.7±0.44
Mg mmol/L	1.2±0.15	1.2±0.14	1.2±0.13	1.3±0.12	1.1±0.09	1.3±0.44	1.2±0.09	1.2±0.11	1.3±0.14	1.2±0.08
Γλυκόζη mmol/L	2.3±0.29	2.5±0.32	2.2±0.34	2.4±0.34	2.4±0.51	2.6±0.75	2.6±0.57	2.4±0.54	2.6±0.49	2.7±0.45
Αμ. Χολ. mmol/L	2.0±2.15	1.4±0.25	2.7±3.24	1.6±0.80	2.0±1.09	1.9±1.43	1.6±0.34	1.6±0.21	1.6±0.44	1.8±0.54
Ολ. Χολ. mmol/L	4.4±3.40	3.5±0.65	5.4±4.96	3.6±1.37	4.5±1.99	4.8±4.50	3.6±0.54	3.9±0.60	3.8±0.72	4.3±1.38
SDH U/L	69±46	51±29	74±44	48±27	42±17	39±19	57±34	43±23	63±54	51±39
γGT U/L	37±23	34±14	48±26	37±11	46±33	45±15	50±19	44±13	43±17	34±20
BHB mmol/L	0.6±0.17	0.6±0.19	0.7±0.52	0.6±0.22	0.6±0.30	0.6±0.17	0.6±0.16	0.6±0.15	0.6±0.15	0.6±0.12
AcAc mmol/L	0.16±0.03	0.16±0.06	0.19±0.13	0.16±0.04	0.18±0.15	0.19±0.15	0.14±0.10	0.17±0.10	0.17±0.05	0.14±0.05

**Table 2.** Results of serum biochemical analysis of pregnant ewes carrying one fetus (A) and multiple fetuses (B) on parturition (Mean ± SD)

	2 weeks before parturition		1 week before parturition		Parturition		1 week after parturition		2 weeks after parturition	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ca mmol/L	2.2±0.24	2.3±0.16	2.2±0.19	2.3±0.18	2.2±0.10	2.3±0.21	2.2±0.18	2.3±0.24	2.3±0.21	2.3±0.20
P mmol/L	1.5±0.37	1.6±0.19	1.6±0.26	1.5±0.25	1.7±0.44	1.5±0.43	1.5±0.34	1.5±0.41	1.3±0.42	1.4±0.28
Na mmol/L	143±4,5	142±5,2	142±5,8	143±5,9	142±6,5	139±14,9	138±7,6	137±7,1	140±8,9	141±7,7
K mmol/L	4.8±0.65	4.8±0.58	4.8±0.55	4.8±0.63	4.5±0.54	4.8±0.45	4.6±0.47	4.9±0.37	4.6±0.43	4.7±0.44
Mg mmol/L	1.2±0.15	1.2±0.14	1.2±0.13	1.3±0.12	1.1±0.09	1.3±0.44	1.2±0.09	1.2±0.11	1.3±0.14	1.2±0.08
Glucose mmol/L	2.3±0.29	2.5±0.32	2.2±0.34	2.4±0.34	2.4±0.51	2.6±0.75	2.6±0.57	2.4±0.54	2.6±0.49	2.7±0.45
C. Bil. mmol/L	2.0±2.15	1.4±0.25	2.7±3.24	1.6±0.80	2.0±1.09	1.9±1.43	1.6±0.34	1.6±0.21	1.6±0.44	1.8±0.54
Tot. Bil. mmol/L	4.4±3.40	3.5±0.65	5.4±4.96	3.6±1.37	4.5±1.99	4.8±4.50	3.6±0.54	3.9±0.60	3.8±0.72	4.3±1.38
SDH U/L	69±46	51±29	74±44	48±27	42±17	39±19	57±34	43±23	63±54	51±39
γGT U/L	37±23	34±14	48±26	37±11	46±33	45±15	50±19	44±13	43±17	34±20
BHB mmol/L	0.6±0.17	0.6±0.19	0.7±0.52	0.6±0.22	0.6±0.30	0.6±0.17	0.6±0.16	0.6±0.15	0.6±0.15	0.6±0.12
AcAc mmol/L	0.16±0.03	0.16±0.06	0.19±0.13	0.16±0.04	0.18±0.15	0.19±0.15	0.14±0.10	0.17±0.10	0.17±0.05	0.14±0.05

μεγαλύτερος του αντίστοιχου της ομάδας M ( $P < 0,05$ ) μόνον κατά την πρώτη δειγματοληψία, αλλά παρέμεινε πιο αυξημένος σε όλη τη διάρκεια του πειραματισμού, χωρίς όμως να ξεπεράσει την κρίσιμη τιμή του 1 mmol/L. Ακόμη, στατιστικά χαμηλότερος ( $P < 0,05$ ) ήταν ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του P στον ορό του αίματος των πειραματοζώων. Η μικρότερη τιμή ( $1,4 \pm 0,35$  mmol/L) παρατηρήθηκε στη δειγματοληψία που έγινε δύο εβδομάδες μετά τον τοκετό.

Οι προβατίνες και από τις δύο ομάδες παρέμειναν κλινικά υγιείς σε όλη τη διάρκεια της έρευνας. Δέκα επτά προβατίνες (ομάδας Π) γέννησαν από έναν αμνό, δώδεκα από δύο, τέσσερις από τρεις και μία τέσσερις. Σε 2 από τις διδυμες κησείς, το 1 από τα 2 γεννήθηκαν νεκρά, αν και ήταν πλήρως ανεπτυγμένα. Οι προβατίνες της ομάδας Π χωρίστηκαν σε 2 επιμέρους υποομάδες με βάση τον αριθμό των εμβρύων που κυοφορούσαν (Α-μονόδυμες και Β-πολύδυμες κησείς), έτσι ώστε να γίνει η αντίστοιχη σύγκριση των τιμών των παραμέτρων που διερευνήθηκαν (πίνακας 2), από την οποία όμως δεν προέκυψαν σημαντικές διαφορές ( $P > 0,05$ ). Στον πίνακα 3 δίδονται τα αποτελέσματα των βιοχημικών αναλύσεων στον ορό του αίματος των πολύδυμων προβατινών κατά την ημέρα του τοκετού.

Επισημαίνεται ότι με τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων δε βρέθηκε αξιοσημείωτος συσχετισμός μεταξύ των βιοχημικών παραμέτρων που μελετήθηκαν.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής (πίνακες 1, 2 και 3), δεν παρατηρήθηκε υπερκετοναϊμία στα πρόβατα που μελετήθηκαν. Βέβαια, όπως φαίνεται και από τον πίνακα 3, παρατηρήθηκαν σποραδικές περιπτώσεις υποκλινικής κέτωσης, οι οποίες αφορούσαν επίτοκες πολύδυμες προβατίνες.

Αυξημένη συγκέντρωση του BHB και μειωμένη της γλυκόζης στον ορό του αίματος παρατηρήθηκε σε μεμονωμένες περιπτώσεις πολύδυμων προβατινών (αριθμός 9, 20, 26 και 29 του πίνακα 3). Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται ότι με τη βελτίωση των συνθηκών εκτροφής η συχνότητα της κέτωσης των προβάτων έχει μειωθεί στην κλινική πράξη, αν και εξακολουθούν να καταγράφονται σποραδικές περιπτώσεις<sup>3,9,26</sup>.

Η χαμηλότερη συγκέντρωση της γλυκόζης στον ορό του αίματος ( $2,3 \pm 0,34$  mmol/L) παρατηρήθηκε στην ομάδα Π μία εβδομάδα πριν από τον τοκετό και σταδιακά έφθασε σχεδόν στα επίπεδα της ομάδας M. Αυτό εξηγείται από το γεγονός, ότι στα πρόβατα υπογλυκαιμία παρατηρείται συνήθως στο τέλος της περιόδου εγκυμοσύνης και όχι κατά την έναρξη της γαλουχίας. Στη σχετική βιβλιογραφία με την υποκλινική κέτωση σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, αναφέρονται συγκεντρώσεις γλυκόζης στον ορό του αίματος της τάξης των 1,1-2,2 mmol/L<sup>3,4,27</sup>. Αλλωστε η υπογλυκαιμία δε συνοδεύεται απαραίτητα από υπερκετοναϊμία κατά το τέλος της περιόδου εγκυμοσύνης<sup>26</sup>.

subsequently rose almost to the level of control animals. This is in agreement with the fact that in sheep, glucostasis fails most commonly in late pregnancy and not in early lactation. Values of 1.1-2.2 mmol/L have been reported in retrospective studies of subclinical ketosis in dairy cows<sup>3,4,27</sup>. It should be emphasized, however, that hypoglycemia associated with hyperketonemia is by no means the rule in healthy end-term pregnant ewes<sup>26</sup>.

Serum BHB concentrations in pregnant sheep remained constantly above the upper normal value of 0.5 mmol/L, but lower than the "critical" limit of 1 mmol/L, when signs of ketosis are observed. The detection of ketonuria is the simplest way in assessing subclinical ketosis in field practice<sup>6,7</sup>. However, technical difficulties did not permit the concurrent collection of urine samples, in order to evaluate the association of mild hyperketonemia with ketonuria<sup>4,5,14</sup>. Serum BHB concentrations follow dietary fluctuations and are considered a sensitive indicator of alterations in glucose and lipid metabolism in ovine and bovine ketosis<sup>10,26</sup>.

There were no significant findings concerning mean serum AcAc concentrations, which were ranged from 0.03-0.10 mmol/L<sup>19,21,28</sup>. An interesting observation is the fact that these values are somewhat higher of those reported in the literature, even for the control animals. Since no possible explanation can be given at present for this phenomenon, perhaps it would be of interest to investigate if this finding is caused by differences in methodology, dietary factors (increased concentrate intake, poor feedstuff quality during winter months) or it poses a normal feature of the sheep population in this region.

The relatively low Ca values, as well as the elevated concentrations of serum Na, recorded for both pregnant and control animals, are a common finding in Greek sheep<sup>18,29</sup>. On the other hand, low blood Ca levels have been recorded in ketotic animals, but the significance of this finding is unclear<sup>30</sup>.

Mineral inputs may be important, where either deficiency or excess influences the efficiency of energy metabolism<sup>5</sup>. It has been suggested that blood Mg concentrations are potentially associated with fatty metabolism in the liver, hence playing a role in the pathogenesis of ketosis<sup>31,32</sup>.

Although a diagnosis of ovine ketosis in its "classic" form has not been established in the present study, there is evidence that some animals were at a greater risk for developing metabolic imbalances. Individual susceptibility factors and sudden changes in environmental conditions (such as adverse weather, dietary changes, stress) can lead to progressive elevation of total body ketone concentrations to the threshold of clinical disease.

Without doubt, it would be interesting to extent similar epidemiological studies to a greater sheep population and to include longer trial periods in order to assess energy balance throughout the seasons. □



**Πίνακας 3.** Τιμές βιοχημικών παραμέτρων στον ορό του αίματος των προβατινών που γέννησαν περισσότερους από έναν αμνούς

Προβατίνα	Αριθ. νεογνών	Ca mmol/L	P mmol/L	Na mmol/L	K mmol/L	Mg mmol/L	Γλυκ. mmol/L	Αμ.Χολ. mmol/L	Ολ. Χολ. mmol/L	SDH U/L	γGT U/L	BHB mmol/L	AcAc mmol/L
Αρ. 3,	3 αμνοί	2.1	1.8	152.2	4.6	1.1	3.2	1.5	3.6	39	45	0.24	0.18
Αρ. 7,	2 αμνοί	2.1	1.7	150.0	4.7	1.1	2.4	1.5	2.7	71	32	0.53	0.10
Αρ. 8,	3 αμνοί	2.1	1.4	140.1	4.1	1.1	2.3	1.4	3.4	27	24	0.47	0.26
Αρ. 9,	4 αμνοί	2.2	1.9	143.5	4.8	1.2	2.0	2.1	6.7	40	37	0.88	0.17
Αρ. 13,	3 αμνοί	2.1	1.9	137.0	4.2	1.1	2.9	1.5	3.6	32	32	0.37	0.06
Αρ. 14,	2 αμνοί	2.2	1.5	135.7	3.9	1.1	3.0	1.2	2.7	52	10	0.41	0.09
Αρ. 15,	2 αμνοί	2.4	1.2	150.1	4.3	1.3	2.3	1.4	3.3	38	33	0.42	0.13
Αρ. 17,	2 αμνοί	2.2	1.1	137.5	4.6	1.0	2.8	1.2	2.9	35	36	0.50	0.16
Αρ. 18,	2 αμνοί	2.1	1.6	138.3	4.5	1.2	2.9	1.4	3.2	76	45	0.57	0.20
Αρ. 19,	2 αμνοί	2.1	2.3	140.9	4.6	1.2	2.2	1.9	4.6	30	44	0.53	0.15
Αρ. 20,	2 αμνοί	2.4	1.6	144.4	5.9	1.3	1.6	1.5	3.4	43	14	1.41	0.53
Αρ. 22,	2 αμνοί	2.2	1.8	134.0	4.5	1.0	2.4	2.1	6.3	21	130	0.59	0.10
Αρ. 26,	2 αμνοί	2.3	2.6	141.8	4.7	1.1	1.5	3.6	7.8	32	46	1.10	0.10
Αρ. 27,	2 αμνοί	2.2	1.3	157.0	4.0	1.1	2.3	2.1	5.3	48	36	0.60	0.08
Αρ. 29,	3 αμνοί	2.1	1.4	138.7	3.6	1.1	2.1	5.6	9.7	56	51	1.00	0.20
Αρ. 34,	2 αμνοί	2.1	1.0	141.8	5.6	1.2	3.2	1.7	3.6	52	128	0.69	0.05
Αρ. 35,	2 αμνοί	2.2	2.3	136.1	4.5	1.2	2.0	1.7	4.6	13	45	0.68	0.55

**Table 3.** Results of serum biochemical analysis of pregnant ewes carrying multiple fetuses on parturition

Ewe	No of fetuses	Ca mmol/L	P mmol/L	Na mmol/L	K mmol/L	Mg mmol/L	Gluc. mmol/L	C. Bil. mmol/L	Tot. Bil. mmol/L	SDH U/L	γGT U/L	BHB mmol/L	AcAc mmol/L
No 3,	3 lambs	2.1	1.8	152.2	4.6	1.1	3.2	1.5	3.6	39	45	0.24	0.18
No 7,	2 lambs	2.1	1.7	150.0	4.7	1.1	2.4	1.5	2.7	71	32	0.53	0.10
No 8,	3 lambs	2.1	1.4	140.1	4.1	1.1	2.3	1.4	3.4	27	24	0.47	0.26
No 9,	4 lambs	2.2	1.9	143.5	4.8	1.2	2.0	2.1	6.7	40	37	0.88	0.17
No 13,	3 lambs	2.1	1.9	137.0	4.2	1.1	2.9	1.5	3.6	32	32	0.37	0.06
No 14,	2 lambs	2.2	1.5	135.7	3.9	1.1	3.0	1.2	2.7	52	10	0.41	0.09
No 15,	2 lambs	2.4	1.2	150.1	4.3	1.3	2.3	1.4	3.3	38	33	0.42	0.13
No 17,	2 lambs	2.2	1.1	137.5	4.6	1.0	2.8	1.2	2.9	35	36	0.50	0.16
No 18,	2 lambs	2.1	1.6	138.3	4.5	1.2	2.9	1.4	3.2	76	45	0.57	0.20
No 19,	2 lambs	2.1	2.3	140.9	4.6	1.2	2.2	1.9	4.6	30	44	0.53	0.15
No 20,	2 lambs	2.4	1.6	144.4	5.9	1.3	1.6	1.5	3.4	43	14	1.41	0.53
No 22,	2 lambs	2.2	1.8	134.0	4.5	1.0	2.4	2.1	6.3	21	130	0.59	0.10
No 26,	2 lambs	2.3	2.6	141.8	4.7	1.1	1.5	3.6	7.8	32	46	1.10	0.10
No 27,	2 lambs	2.2	1.3	157.0	4.0	1.1	2.3	2.1	5.3	48	36	0.60	0.08
No 29,	3 lambs	2.1	1.4	138.7	3.6	1.1	2.1	5.6	9.7	56	51	1.00	0.20
No 34,	2 lambs	2.1	1.0	141.8	5.6	1.2	3.2	1.7	3.6	52	128	0.69	0.05
No 35,	2 lambs	2.2	2.3	136.1	4.5	1.2	2.0	1.7	4.6	13	45	0.68	0.55

Η συγκέντρωση του BHB στον ορό του αίματος των εγκύων προβατινών κυμαινόταν συνήθως πάνω από την ανώτερη φυσιολογική τιμή του 0,5 mmol/L, δεν ξεπερνούσε όμως το 1 mmol/L, τιμή πάνω από την οποία παρατηρούνται συμπτώματα κέτωσης. Συνήθως για να εκτιμηθεί η κατάσταση ενός ποιμνίου σχετικά με την κέτωση, η διαπίστωση κετονουρίας είναι ένας από τους πιο απλούς τρόπους διάγνωσης σε επίπεδο εκτροφής<sup>6,7</sup>. Όμως, τεχνικές δυσκολίες δεν επέτρεψαν να γίνει ταυτόχρονη δειγματοληψία ούρου, ώστε να συσχετιστούν η ήπια υπερκετοναιμία με την κετονουρία<sup>4,5,14</sup>. Βέβαια, η συγκέντρωση του BHB στον ορό του αίματος θεωρείται ευαίσθητος δείκτης

#### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- Bauman DE and Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeothesis. *J Dairy Sci*, 1980, 63:1514-1529
- Wastney WE, Wolff JE, and Bickerstaffe R. Glucose turnover and hepatocyte glucose production of starved and toxemic pregnant sheep. *Aust J Biol Sci*, 1983, 36:271-284
- Marteniuk JV and Herdt TH. Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. *Vet Clin North Am : Food An Pract*, 1988,4(2): 307-315
- Andersson L. Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet Clin North Am: Food An Pract*, 1988, 4(2): 233-251

του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων στην κέτωση των μηρυκαστικών<sup>10,26</sup>.

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο μέσο όρο της συγκέντρωσης του AcAc στον ορό του αίματος, που κυμάνθηκε από 0,03-0,10 mmol/L<sup>19,21,28</sup>. Θα πρέπει να σημειωθεί, ότι οι τιμές αυτές είναι λίγο υψηλότερες από τις φυσιολογικές που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία, ακόμη και για τους μάρτυρες. Επειδή δεν μπορεί να δοθεί εξήγηση για το εύρημα αυτό, ίσως θα παρουσίαζε ενδιαφέρον η παραπέρα διερεύνηση της αιτιολογίας του, ώστε να διαπιστωθεί αν οι υψηλότερες συγκεντρώσεις του AcAc στον ορό του αίματος οφείλονται στη μεθοδολογία της ανάλυσης, σε διαιτητικούς παράγοντες (χορήγηση αυξημένης ποσότητας συμπυκνωμένων τροφών, κακή ποιότητα της τροφής κατά τη διάρκεια του χειμώνα), ή μπορεί να είναι χαρακτηριστικό των προβάτων της περιοχής.

Οι σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις του Ca καθώς και οι αυξημένες του Na που βρέθηκαν στις έγκυες προβατίνες και στους μάρτυρες, παρατηρούνται συχνά στα ποιμνία της χώρας μας<sup>18,29</sup>. Εξάλλου, αναφέρονται χαμηλές συγκεντρώσεις Ca σε ζώα με κέτωση χωρίς όμως να αξιολογείται η σημασία αυτού του ευρήματος<sup>30</sup>.

Ιδιαίτερη σημασία αποδίδεται στην ποσότητα των ανόργανων στοιχείων που προσλαμβάνονται με την τροφή, η έλλειψη ή η περίσσεια των οποίων έχει επιπτώσεις στο ενεργειακό ισοζύγιο<sup>5</sup>. Από διάφορες μελέτες φαίνεται ότι η συγκέντρωση του Mg στο αίμα έχει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της κέτωσης, διότι φαίνεται ότι υπεισέρχεται στο μεταβολισμό των λιπιδίων στο ήπαρ<sup>31,32</sup>.

Στα ζώα που μελετήθηκαν σ' αυτή την έρευνα δε διαπιστώθηκε κέτωση στην "κλασική" της μορφή, φαίνεται όμως ότι αρκετά ζώα διέτρεξαν άμεσα τον κίνδυνο της. Διάφοροι παράγοντες που σχετίζονται με την ιδιαίτερη ευαισθησία του κάθε ζώου, καθώς και πιθανές μεταβολές των περιβαλλοντικών συνθηκών (όπως καιρικές μεταβολές, αλλαγές στη διατροφή, καταπόνηση) δεν αποκλείουν τη σταδιακή αύξηση των κετονικών σωμάτων σε επικίνδυνα επίπεδα.

Αναμφίβολα, θα είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον να γίνει μια παρόμοια επιδημιολογική μελέτη σε μεγαλύτερο αριθμό προβάτων και σε μεγάλες χρονικές περιόδους, ώστε να εκτιμηθεί η ενεργειακή ισορροπία τους στις διάφορες εποχές του έτους. □

5. Lean IJ, Bruss ML, Baldwin RL, et al. Bovine ketosis: A review. I. Epidemiology and pathogenesis. *Vet Bull*, 1991, 61(12): 1209-1218
6. Rook JS. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Vet Clin North Am: Food An Pract*, 2000, 16(2): 293-317
7. Maine D. Role of nutrition in the prevention of toxemia. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72(1) Suppl: 298S-300S
8. Biyckhardt K, Neumann M and Steinmann C. Zur Bestimmung von Metabolism des Energiestoffwechsels in Leber-Biopsieproben-Ein Beitrag zur Charakterisierung der Schafketose. *J Vet Med A*, 1988, 35: 790-799
9. Ford EJ, Evans J and Robinson I. Cortisol in pregnancy toxemia of sheep. *Br Vet J*, 1990, 146: 539-542
10. Kelly JM. Changes in serum B-hydroxybutyrate concentrations in dairy cows kept under commercial farm conditions. *Vet Rec*, 1977, 101: 499-502
11. Rossow N, Staufenbiel B, Staufenbiel R, et al. Zur Bewertung erhohter Ketonkorperkonzutrationen bei der Milchkuh. *Mh Vet Med*, 1991, 46: 11-17
12. Wastney ME, Arcus AC, Bickerstaffe R, et al. Glucose tolerance in ewes and susceptibility to pregnancy toxemia. *Aust. J Biol Sci*, 1982, 35: 381-392
13. Lynch GP and Jackson C. A method for assessing the nutritional status of gestating ewes. *Can J Anim Sci*, 1983, 63:603-611
14. Haraszi J. Die diagnostische und prognostische Bedeutung der Ketonurie bei den Fruchtbarkeitsstorungen des Rindes. *Dtsch tierarztl Wschr*, 1990, 97:407-411
15. Manston R, Rowlands GJ, Little W, et al. Variability of the blood composition of dairy cows in relation to time of day. *J Agric Sci*, 1981, 96:593-598
16. Bines JA and Morand SV. The effect of body condition on metabolic changes associated with intake of food by the cow. *Br J Nutr*, 1983, 50:81-87
17. Kaneko JJ. Carbohydrate Metabolism and Its Diseases. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, (JJ Kaneko, JW Harvey, ML Bruss ed.). 5th ed, Academic Press, New York, 1997, 45-81.
18. Papasteriades A. Management of nutritional diseases of small ruminants in Greece. International seminar on the production and utilization of sheep and goat milk, Proceedings. Athens, 23-27 September 1985, 173-230.
19. Bruss ML. Lipids and Ketones. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, (JJ Kaneko, JW Harvey, ML Bruss ed.). 5th ed, Academic Press, New York, 1997, 83-115.
20. Herdt TH, Stevens JB, Olson WG, et al. Blood concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate in clinically normal Holstein-Friesian herds and in those with a high prevalence of clinical ketosis. *Am J Vet Res*, 1981, 42:503-508
21. Baird GD. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. *J Dairy Sci*, 1982, 65:1-9
22. The Perkin-Elmer Co: Analytical methods, 1977.
23. Boltz DF. Colorimetric Determination of Nonmetals. Interscience Publishers Inc, 1958, 32-34
24. Gau N. Acetoacetic acid. In *Methods in Clinical Chemistry* (AJ Pesce and LA Kaplan eds) CV Mosby Co, 1987, 97-100
25. Gau N. B-hydroxybutyric acid. In: *Methods in Clinical Chemistry* (AJ Pesce and LA Kaplan eds) CV Mosby Co, 1987, 101-104
26. Birkhardt K, Grocholl G and Konig G. Untersuchungen zum Glucosestoffwechsel von Schafen bei verschiedenen Reproduktionsstadien und bei Ketose mit Hilfe des intravenosen Glucose - Toleranz - Tests (IVGTT). *J Vet Med A*, 1989, 36:514-529
27. Garcia Partida P, Prieto F and Benedito JL. Propartale Ketose beim Rind, ihre Behandlung mit Clanobutin. *Tierarztl Umsch*, 1988, 43: 641-646

28. Halse K, Hove K and Erkaas P. A biological definition of ketonemia in cows. Proceedings of the 5th International Conference on Production Disease in Farm Animals. Uppsala, 1983, 137
29. Papasteriades A. Hypocalcaemia in sheep under Greek conditions. Year Book of Veterinary School, AUTH, 1973, 14:5-32.
30. Halse K and Velle W. Blood calcium in bovine ketosis. Am J Vet Res, 1977, 19: 575-579
31. Rayssiguier Y. Hypomagnesemia resulting from adrenaline infusion in ewes: its relation to lipolysis. Horm Metab Res, 1977, 9: 309-314
32. Grohn YT, Erb HN, McCulloch CE, et al. Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: association among host characteristics, disease and production. J Dairy Sci, 1989, 72: 1876-1885