

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 52, No 4 (2001)



### Vitamin A concentrations in dairy cows of Thessaloniki 's county

G. CHRISTODOULOPOULOS (Γ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΠΟΥΛΟΣ), N. ROUBIES (N. ΡΟΥΜΠΙΕΣ), H. KARATZIAS (Χ. ΚΑΡΑΤΖΙΑΣ), A. PAPASTERIADIS (Α. ΠΑΠΑΣΤΕΡΙΑΔΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15454](https://doi.org/10.12681/jhvms.15454)

Copyright © 2018, G CHRISTODOULOPOULOS, N ROUBIES, H KARATZIAS, A PAPASTERIADIS



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

#### To cite this article:

CHRISTODOULOPOULOS (Γ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΠΟΥΛΟΣ) G., ROUBIES (N. ΡΟΥΜΠΙΕΣ) N., KARATZIAS (Χ. ΚΑΡΑΤΖΙΑΣ) H., & PAPASTERIADIS (Α. ΠΑΠΑΣΤΕΡΙΑΔΗΣ) A. (2018). Vitamin A concentrations in dairy cows of Thessaloniki 's county. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 52(4), 257–263. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15454>

## Ερευνητικές εργασίες

### Επιζωοτιολογική έρευνα των συγκεντρώσεων βιταμίνης Α και καροτενίων σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής του Νομού Θεσσαλονίκης

Γ. Χριστοδουλόπουλος<sup>1</sup>, Ν. Ρουμπιές<sup>2</sup>, Χ. Καρατζιάς<sup>3</sup>, Αχ. Παπαστεριάδης<sup>2</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Η αβιταμίνωση Α εξακολουθεί να αποτελεί σοβαρό πρόβλημα για τα βοοειδή της χώρας μας. Βασικός σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η διερεύνηση των συγκεντρώσεων βιταμίνης Α στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες του Νομού Θεσσαλονίκης. Για το σκοπό της έρευνας ελήφθησαν δείγματα από 51 εκτροφές γαλακτοπαραγωγών αγελάδων του Νομού Θεσσαλονίκης. Από κάθε εκτροφή συλλέγονταν δείγματα των χρησιμοποιούμενων ζωοτροφών και δείγματα αίματος από δέκα θηλυκά ζώα αναπαραγωγής. Από τις 510 αγελάδες που εξετάστηκαν συνολικά στις 51 εκτροφές, ποσοστό 38% εμφάνιζε πενικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α πλάσματος (<0,20 µg/ml), 15% οριακές (0,20-0,24 µg/ml) και 47% φυσιολογικές (≥0,25 µg/ml). Ιδιαίτερα πρέπει να σημειωθεί ότι από τις 510 αγελάδες που εξετάστηκαν μόνο ποσοστό 7% παρουσίαζε πολύ πενικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α πλάσματος (<0,05 µg/ml). Ως ζωοτροφές πλούσιες σε καροτένια βρέθηκαν μόνο το ενσίρωμα καλαμποκιού και το φρέσκο χόρτο βοσκής. Η μείωση του ποσοστού αγελάδων με πενικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α, που καταγράφηκε εδώ σε σχέση με παλαιότερες έρευνες, μπορεί να αποδοθεί στη συχνότερη σήμερα χρήση ενσιρώματος και στη συστηματικότερη προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α στο μείγμα συμπυκνωμένων τροφών. Ακόμα, από αυτή την έ-

ρευνα προκύπτουν ενδείξεις ότι ορισμένοι γενότυποι γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, υψηλών αποδόσεων, πιθανόν να έχουν ανάγκη προστιθέμενης βιταμίνης Α για την κάλυψη των αναγκών τους σε βιταμίνη. Τέλος, τα αποτελέσματα της έρευνας οδηγούν στην υπόθεση ότι πιθανόν απουσιάζει ένας μηχανισμός ομοιοστασίας για τη συγκέντρωση καροτενίων στο πλάσμα του αίματος των βοοειδών.

**Λέξεις ευρητηρίασης:** Γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, βιταμίνη Α, καροτένια.

**ABSTRACT.** Christodouloupoulos G., Roubies N., Karatzias H., Papasteriades A.: Vitamin A concentrations in dairy cows of Thessaloniki's county. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 2001, 52(4):257-263.* Avitaminosis A is still a serious metabolic problem for cattle in Greece. The purpose of this research work was to investigate the blood vitamin A concentrations in dairy cows of Thessaloniki's area. The research was conducted in 51 dairy cow farms; whole blood samples from 10 female adult animals per farm, as well as samples from the feedstuffs in use, were collected. Of the total 510 examined cows, 38% showed lower than normal vitamin A concentration in blood plasma (<0,20 µg/ml), 15% marginal (0,20-0,24 µg/ml) and 47% normal concentration values (≥0,25 µg/ml). It should be noted that, of the total 510 examined cows only 7% showed extremely deficient concentration of vitamin A in blood plasma (<0,05 µg/ml). The determination of total carotene concentration in feedstuffs from those farms, indicated that only the corn ensilage and the fresh grass contained the appropriate amount of carotene. The above results, in correlation with corresponding results from previous researches, indicate that there is a decrease in the percentage of cows with subnormal vitamin A concentration. This may be attributed to more frequent use of corn silage, and more systematic addition of vitamin A in concentrate feeds. This research provides evidence that some dairy cow genotypes, with high milk yields, may balance their needs only by vitamin A supplementation, it means that maybe the ration carotenes alone are no sufficient vitamin A source for these cows. Furthermore, the results of this research suggest that the absence of a regulator mechanism for the carotene concentration in the cattle blood plasma may be possible.

<sup>1</sup>Κλινική Παθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

<sup>2</sup>Εργαστήριο Κλινικής Διαγνωστικής και Προπαιδευτικής Παθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

<sup>3</sup>Κλινική Παθολογίας Παραγωγικών Ζώων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

<sup>1</sup>Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

<sup>2</sup>Laboratory of Clinical Diagnosis and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, A.U.Th.

<sup>3</sup>Clinic of Farm Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, A.U.Th.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Προβλήματα από έλλειψη βιταμίνης Α έχουν επανειλημμένα διαπιστωθεί στα βοοειδή διαφόρων περιοχών της χώρας μας<sup>1,2,3,4</sup>. Εν τούτοις, μέχρι σήμερα δεν έχει πραγματοποιηθεί καμία εκτενής έρευνα που να περιγράφει με συστηματικό τρόπο τις συγκεντρώσεις της βιταμίνης Α στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες μας. Στην εργασία αυτή εξετάζονται οι συγκεντρώσεις βιταμίνης Α και καροτενίων σε ζωοτροφές και στο αίμα γαλακτοπαραγωγών αγελάδων από 51 εκτροφές του Νομού Θεσσαλονίκης, ώστε να γίνει μια ικανοποιητική προσέγγιση των επιπέδων βιταμίνης Α των αγελάδων του Νομού. Επίσης, στην εργασία διερευνάται η σχέση της συγκέντρωσης βιταμίνης Α στο πλάσμα του αίματος των αγελάδων με τη συγκέντρωση των καροτενίων σε αυτό. Ακόμη, επιχειρείται η διερεύνηση της επίδρασης ιδιαίτερα της προσθήκης συνθετικής βιταμίνης Α στην τροφή και της χορήγησης ενσιρώματος καλαμποκιού στη συγκέντρωση βιταμίνης Α στο αίμα των ζώων.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ο αριθμός των γαλακτοπαραγωγικών βοοτροφικών εκτροφών του Νομού Θεσσαλονίκης και η κατανομή τους σε τάξη μεγέθους φαίνονται στον πίνακα 1. Στο Νομό Θεσσαλονίκης, όπως και σε όλη την Ελλάδα, οι περισσότερες βοοτροφικές εκτροφές, που διατηρούν αγελάδες αναπαραγωγής, έχουν γαλακτοπαραγωγική κατεύθυνση<sup>5</sup>. Η έρευνα αυτή περιορίστηκε σε εκείνες τις γαλακτοπαραγωγικές εκτροφές που είχαν περισσότερες από δέκα αγελάδες αναπαραγωγής.

Ο αριθμός των εκτροφών που εξετάστηκαν υπολογίστηκε έτσι, ώστε η εκτίμηση του μέσου όρου της συγκέντρωσης βιταμίνης Α στο πλάσμα του αίματος που προκύπτει, να μην αποκλίνει περισσότερο από 0,03 από την πραγματικότητα (σφάλμα δειγματοληψίας  $e = 0,03$ ), με συντελεστή εμπιστοσύνης 95%, δηλ. κίνδυνο σφάλματος  $\alpha = 5\%$ . Με δεδομένους αυτούς τους στόχους, ο αριθμός (n) των εκτροφών δίνεται από τον τύπο:

$$n = \frac{Z\alpha/2^2 SD^2 N}{e^2 (N-1) + Z\alpha/2^2 SD^2}$$

όπου:  $N = 1342$ , ο αριθμός των γαλακτοπαραγωγικών εκτροφών του νομού Θεσσαλονίκης, με περισσότερες από δέκα αγελάδες αναπαραγωγής (πίνακας 1).

$Z_{\alpha/2} = 1,96$ , η τιμή κανονικής κατανομής για  $\alpha = 5\%$  και

$SD = 0,128$ , η τυπική απόκλιση των μέσων όρων της συγκέντρωσης βιταμίνης Α στο πλάσμα του αίματος των αγελάδων, στις τριάντα πρώτες εκτροφές, που επιλέχθηκαν τυχαία<sup>6</sup>. Με αντικατάσταση στον παραπάνω τύπο προκύπτει, κατά προσέγγιση,  $n = 51$ .

Οι 51 εκτροφές επιλέχθηκαν τυχαία, με μόνο περιορισμό, να αντιπροσωπεύονται όλες οι τάξεις μεγέθους των

**Πίν. 1.** Αριθμός γαλακτοπαραγωγικών βοοτροφικών εκτροφών στο νομό Θεσσαλονίκης και κατανομή τους σε τάξη μεγέθους (αριθμό θηλυκών ζώων αναπαραγωγής) (Στοιχεία από Δ/ση Κτηνιατρικής Θεσ/κης, 1995)

Μέγεθος εκτροφών	Αριθμός εκτροφών
1-10	1052
11-30	697
31-50	361
51-100	225
> 100	59
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>	<b>2394</b>

εκτροφών, ανάλογα με τη συχνότητά τους στον πίνακα 1. Επιπλέον, καταβλήθηκε προσπάθεια να αντιπροσωπευθούν όλες οι περιοχές του Νομού Θεσσαλονίκης, περίπου ανάλογα με τον αριθμό των εκτροφών που υπήρχαν σε κάθε περιοχή.

Σε κάθε εκτροφή λαμβάνονταν δείγματα από τις ζωοτροφές που χρησιμοποιούνταν και δείγματα αίματος από δέκα αγελάδες κλινικά υγιείς, που χρησιμοποιούνταν ή επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν για αναπαραγωγή. Τα ζώα επιλέγονταν τυχαία, ενώ λαμβανόταν πρόνοια να αντιπροσωπεύονται τα διάφορα ποσοστά ηλικιών, γενοτύπων και φάσεων αναπαραγωγικής περιόδου των αγελάδων της εκτροφής. Ο αριθμός των δέκα αγελάδων θεωρείται ικανός για να δώσει αντιπροσωπευτική εικόνα για τις συγκεντρώσεις βιταμίνης Α και καροτενίων των ζώων της εκτροφής<sup>4</sup>.

Η αιμοληψία γινόταν με παρακέντηση της σφαγιτίδας φλέβας, με βελόνα από ανοξείδωτο χάλυβα. Το αίμα, περίπου 10 ml, συλλεγόταν με ελεύθερη ροή, σε γυάλινα φιαλίδια που περιείχαν αντιπηκτικό ηπαρίνη.

Στα δείγματα όλων των ζωοτροφών γινόταν προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών καροτενίων, σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρονται από την ΑΟΑΚ (1990)<sup>7</sup>. Στα μείγματα συμπυκνωμένων ζωοτροφών που αναφερόταν ότι είχε γίνει προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α γινόταν επιπλέον προσδιορισμός της βιταμίνης Α, σύμφωνα με τη μέθοδο της ΑΟΑΚ (1990)<sup>8</sup>.

Στο πλάσμα από τα δείγματα αίματος γινόταν προσδιορισμός της βιταμίνης Α και των ολικών καροτενίων με τη μέθοδο των Neeld και Pearson (1963), όπως αυτή τροποποιήθηκε από τους Roels και Trout (1972)<sup>9</sup>.

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν κατά περίπτωση η δοκιμή σημαντικότητας και η ανάλυση παλινδρόμησης. Όλοι οι έλεγχοι έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας 5%<sup>6,10,11</sup>.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των συγκεντρώσεων της βιταμίνης Α και των καροτενίων στο πλάσμα του αίματος στα ζώα κάθε μίας από τις 51 εκτροφές

γαλακτοπαραγωγών αγελάδων που εξετάστηκαν δίνονται στον πίνακα 2. Στη στήλη με επικεφαλίδα "θηλυκά ζώα αναπαραγωγής" αναφέρεται ο συνολικός αριθμός θηλυκών ζώων αναπαραγωγής που διατηρούνταν στην εκτροφή.

Μεταξύ της συγκέντρωσης βιταμίνης Α στο πλάσμα του αίματος (x) και της συγκέντρωσης καροτενίων σε αυτό (y) δεν υπήρχε γραμμική συσχέτιση, όταν χρησιμοποιήθηκαν τα ζεύγη τιμών, βιταμίνης Α - καροτενίων, από το σύνολο των ζώων που εξετάστηκαν στις εκτροφές (n=510). Η αντίστοιχη εξίσωση παλινδρόμησης ήταν  $y=0,257-0,0004(\pm 0,0019)x$  και είχε συντελεστή προσδιορισμού  $r^2=0,00012$ .

Γραμμική συσχέτιση, όμως, δεν βρέθηκε ούτε όταν ελέγχθηκαν τα ζεύγη τιμών, βιταμίνης Α (x) - καροτενίων (y), των ζώων που κατανάλωναν σιτηρέσιο χωρίς προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α (n=210, εκτροφές: 1-21). Συγκεκριμένα, η εξίσωση παλινδρόμησης σε αυτή την περίπτωση ήταν  $y=0,146+0,0049(\pm 0,0019)x$  και είχε συντελεστή προσδιορισμού  $r^2=0,03182$ .

Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των συγκεντρώσεων καροτενίων στις ζωοτροφές που χρησιμοποιούνταν στις 51 εκτροφές φαίνονται στον πίνακα 3.

Οι συγκεντρώσεις βιταμίνης Α στα μείγματα συμπυκνωμένων ζωοτροφών, όπου αναφερόταν ότι είχε γίνει προσθήκη συνθετικής βιταμίνης, ήταν  $1,8\pm 2,75$  μg βιταμίνης Α/g Ξ.Ο. μείγματος (n=30).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τις 510 αγελάδες που εξετάστηκαν συνολικά στις 51 εκτροφές, ποσοστό 38% εμφάνιζε πενικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α πλάσματος (<0,20 μg/ml), 15% οριακές (0,20-0,24 μg/ml) και 47% φυσιολογικές ( $\geq 0,25$  μg/ml).

Ο προσδιορισμός της βιταμίνης Α και των καροτενίων στο πλάσμα του αίματος θεωρείται η πιο άμεση μέθοδος διάγνωσης της αβιταμίνωσης. Οι φυσιολογικές τιμές βιταμίνης Α πλάσματος για τα βοοειδή κυμαίνονται από 0,25 έως 0,60 μg βιταμίνης Α/ml<sup>1,12,13</sup>. Ελάχιστο επίπεδο επαρκείας θεωρείται η τιμή 0,20 μg/ml. Πρόδρομο σύμπτωμα της αβιταμίνωσης Α είναι το οίδημα της οπτικής θηλής, που εμφανίζεται σε συγκεντρώσεις κάτω από 0,18 μg/ml. Το οίδημα της οπτικής θηλής προηγείται ακόμα και της νυκταλωπίας, η οποία για τα μηρυκαστικά αποτελεί το αμέσως μετά προωμότερο σύμπτωμα της αβιταμίνωσης αυτής<sup>13,14</sup>. Κάτω από 0,18 μg/ml η βαρύτητα των κλινικών συμπτωμάτων της αβιταμίνωσης μπορεί να σχετίζεται με το βαθμό πενίας της βιταμίνης στο πλάσμα. Πάντως, τα χαρακτηριστικά κλινικά συμπτώματα της αβιταμίνωσης για τα μηρυκαστικά, όπως η τύφλωση και τα νευρικά συμπτώματα, συνήθως αναμένονται σε συγκεντρώσεις βιταμίνης κάτω από 0,05 μg/ml<sup>13</sup>.

Οι συγκεντρώσεις καροτενίων στο πλάσμα ποικίλλουν ευρέως ανάλογα με το σιτηρέσιο. Στα βοοειδή, σύμφωνα

**Πίν. 2.** Μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις των συγκεντρώσεων της βιταμίνης Α (μg/ml) και των καροτενίων (μg/ml) στο πλάσμα του αίματος, στα ζώα καθεμιάς από τις 51 εκτροφές γαλακτοπαραγωγών αγελάδων που εξετάστηκαν (n=10).

α/α εκτροφής	Θηλυκά ζώα αναπαραγωγής	Βιταμίνη Α	Καροτένια
1	48	0,01±0,004	3,0±0,88
2	28	0,19±0,089	2,8±0,54
3	28	0,06±0,021	0,5±0,13
4	16	0,06±0,022	0,5±0,12
5	17	0,03±0,012	0,7±0,34
6	11	0,32±0,128	3,3±1,95
7	40	0,22±0,054	9,5±2,64
8	13	0,25±0,050	10,8±2,11
9	23	0,25±0,128	4,6±0,83
10	15	0,23±0,030	1,5±0,60
11	49	0,22±0,033	4,6±1,19
12	25	0,19±0,041	1,2±0,19
13	18	0,16±0,013	2,9±0,28
14	26	0,24±0,035	1,3±0,12
15	40	0,15±0,052	8,1±2,85
16	80	0,20±0,098	4,7±1,64
17	15	0,10±0,031	7,3±0,65
18	11	0,14±0,111	8,7±2,16
19	45	0,03±0,015	3,2±1,38
20	24	0,17±0,062	2,7±0,56
21	50	0,06±0,012	11,8±3,04
22	127	0,33±0,075	2,3±0,84
23	95	0,38±0,076	6,4±0,96
24	83	0,50±0,133	9,4±2,58
25	230	0,28±0,087	2,2±0,46
26	96	0,40±0,085	1,4±0,53
27	30	0,27±0,108	1,9±0,47
28	18	0,38±0,068	2,2±0,24
29	12	0,36±0,047	2,5±0,95
30	29	0,32±0,084	10,4±3,40
31	44	0,32±0,079	9,5±1,64
32	100	0,37±0,058	3,3±1,52
33	45	0,49±0,078	2,6±0,56
34	48	0,47±0,053	4,8±0,63
35	45	0,21±0,064	12,1±2,67
36	22	0,34±0,067	1,1±0,35
37	40	0,42±0,075	1,4±0,31
38	30	0,45±0,078	1,3±0,28
39	40	0,39±0,115	0,8±0,25
40	85	0,40±0,089	2,0±0,61
41	50	0,37±0,112	2,1±0,95
42	90	0,15±0,068	0,3±0,07
43	11	0,14±0,045	0,8±0,39
44	70	0,20±0,052	0,4±0,09
45	20	0,20±0,022	1,0±0,12
46	26	0,62±0,185	3,0±0,21
47	92	0,25±0,021	2,0±0,55
48	15	0,26±0,013	4,5±0,63
49	12	0,17±0,038	1,9±0,24
50	17	0,14±0,020	0,7±0,12
51	50	0,18±0,047	4,7±0,87

**Γενικός μέσος όρος (n=510)** **0,25±0,150** **3,8±3,52**

Οι εκτροφές με α/α: 1-21 χρησιμοποιούσαν σιτηρέσιο χωρίς προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α, στις υπόλοιπες εκτροφές α/α: 22-51 γινόταν προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α στο σιτηρέσιο.

με τη μέχρι τώρα κλασική άποψη, επίπεδα καροτενίων πάνω από 1,5 µg/ml πλάσματος καλύπτουν τις ανάγκες των ζώων σε βιταμίνη Α, ακόμα και σε απουσία προσθήκης συνθετικής βιταμίνης Α στο σιτηρέσιο. Στην τελευταία περίπτωση, δηλαδή όπου δε γίνεται προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α στο σιτηρέσιο, συμπτώματα αβιταμίνωσης Α εμφανίζονται όταν οι συγκεντρώσεις καροτενίων πέφτουν κάτω από 0,09 µg/ml<sup>13</sup>. Όμως, η εκτίμηση των επιπέδων βιταμίνης Α στα βοοειδή, μέσω μέτρησης της συγκέντρωσης των καροτενίων στο πλάσμα, έχει δύο βασικά μειονεκτήματα: Πρώτον, δεν μπορεί να εκτιμήσει την περίπτωση επάρκειας σε βιταμίνη Α, λόγω προσθήκης συνθετικής βιταμίνης Α στο σιτηρέσιο ή και ηπατικών αποθεμάτων βιταμίνης. Δεύτερον, ο προσδιορισμός φυσιολογικών συγκεντρώσεων καροτενίων δε συνεπάγεται πάντα και φυσιολογικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α, αφού υπάρχουν περιπτώσεις αδυναμίας μετατροπής των καροτενίων σε βιταμίνη Α. Ως τέτοιες περιπτώσεις αναφέρονται η αυξημένη συγκέντρωση νιτροδών ουσιών στο σιτηρέσιο, η έλλειψη φωσφόρου, διάφορα λοιμώδη και παρασιτικά νοσήματα, ο υποθυρεοειδισμός και αυτή η ίδια η αβιταμίνωση Α<sup>3,4,15</sup>.

Στη δική μας έρευνα, θα μπορούσε χαρακτηριστικά να αναφερθεί κανείς στα ζώα της εκτροφής 39, στα οποία οι συγκεντρώσεις βιταμίνης Α βρέθηκαν πολύ πάνω από 0,2 µg/ml πλάσματος (0,39 ± 0,115 µg/ml), αν και οι συγκεντρώσεις καροτενίων ήταν μικρότερες από 1,5 µg/ml (Πίν. 2). Η διαμόρφωση αυτών των τιμών οφειλόταν στο σιτηρέσιο της εκτροφής αυτής που αποτελούνταν από μείγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών στο οποίο γινόταν προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α, στέμφυλα σακχαροτεύτων, βαμβακοπλακούντα και άχυρο δημητριακών. Οι ζωοτροφές αυτές είναι φτωχές σε καροτένια (Πίν. 3), αλλά οι ανάγκες των ζώων για βιταμίνη Α προφανώς ικανοποιούνταν από τη συνθετική βιταμίνη που προσθετόταν στο μείγμα των συμπυκνωμένων τροφών.

Αντίθετα, τα ζώα των εκτροφών 1, 17, 19 και 21 είχαν συγκεντρώσεις βιταμίνης Α πολύ κάτω από 0,2 µg/ml πλάσματος, ενώ συγχρόνως είχαν συγκεντρώσεις καροτενίων πάνω από 1,5 µg/ml (Πίν. 2). Οι τέσσερις αυτές εκτροφές αποτελούνταν από ζώα Holstein, υψηλού γενετικού δυναμικού. Και στις τέσσερις εκτροφές το σιτηρέσιο αποτελούνταν από μείγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών, στην περίπτωση όμως της εκτροφής 1 σε συνδυασμό με ενσίρωμα καλαμποκιού και άχυρο δημητριακών, ενώ στην περίπτωση των εκτροφών 17, 19 και 21 σε συνδυασμό με ελεύθερη βόσκηση. Στο μείγμα συμπυκνωμένων τροφών, και των τεσσάρων εν λόγω εκτροφών, δε γινόταν προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α.

Η παρατηρούμενη εικόνα, σε ό,τι αφορά τα επίπεδα βιταμίνης Α και καροτενίων στα ζώα των εκτροφών 1, 17, 19 και 21, πρέπει να αποδοθεί σε δύο λόγους: Πρώτον, στην αβιταμίνωση Α που πιθανόν ανέπτυξαν τα ζώα κατά τη χειμερινή περίοδο. Το χειμώνα στη χώρα μας, η έξοδος

**Πίν. 3.** Συγκεντρώσεις καροτενίων στις ζωοτροφές που χρησιμοποιούνταν στις 51 εκτροφές που εξετάστηκαν

α/α	Είδος ζωοτροφής	Αριθμός δειγμάτων	Καροτένια (µg/g Ξ.Ο.)
1	Μείγμα συμπυκνωμένων	48	2,0 ± 3,8 <sup>α</sup>
2	Σογιάλευρο-44 <sup>β</sup>	7	<0,5 µg/g Ν.Ο.
3	Καλαμποκάλευρο	6	6,0 ± 3,9
4	Πίτυρα σιταριού	6	<0,5 µg/g Ν.Ο.
5	Βαμβακοπλακούντας	7	<0,5 µg/g Ν.Ο.
6	Στέμφυλα Σακχαροτεύτων	9	<0,5 µg/g Ν.Ο.
7	Ενσίρωμα καλαμποκιού	24	46,3 ± 18,7
8	Σανός μηδικής	16	13,4 ± 35,1 <sup>γ</sup>
9	Άχυρο δημητριακών	14	<0,5 µg/g Ν.Ο.
10	Χόρτο βοσκής	15	111,7 ± 19,9

<sup>α</sup> Οφείλεται στις μηδενικές τιμές καροτενίων (<0,5 µg/g Ν.Ο.) που προσδιορίστηκαν στα 27 από τα 48 δείγματα μείγματος συμπυκνωμένων.

<sup>β</sup> 44% ολικές πρωτεΐνες.

<sup>γ</sup> Οφείλεται στις μηδενικές τιμές καροτενίων (<0,5 µg/g Ν.Ο.) που προσδιορίστηκαν στα 3 από τα 16 δείγματα σανού μηδικής και το μεγάλο εύρος τιμών καροτενίων που προσδιορίστηκαν στα 16 αυτά δείγματα (τιμές από 0,5 µg/g Ν.Ο. έως 128,8 µg/g Ξ.Ο.).

των ζώων στη βοσκή μπορεί να περιοριστεί λόγω της κακοκαιρίας. Έτσι, σε εκτροφές όπου μοναδική ουσιαστική πηγή βιταμίνης Α είναι τα καροτένια του χόρτου βοσκής, τα ζώα το χειμώνα σταδιακά υπεισέρχονται σε κατάσταση αβιταμίνωσης Α. Στη συνέχεια την άνοιξη, όταν τα ζώα έχουν πάλι πρόσβαση στη βοσκή, δεν μπορούν να αξιοποιήσουν τα καροτένια του χόρτου, αφού η αβιταμίνωση Α προκαλεί δυσλειτουργία στο εντερικό επιθήλιο με αποτέλεσμα τη μείωση της απορρόφησης των καροτενίων αλλά και της μετατροπής τους σε βιταμίνη<sup>15</sup>. Τέτοιο ιστορικό, στην περίπτωση των τεσσάρων εν λόγω εκτροφών, υπήρχε μόνο στις εκτροφές 17 και 21, ενώ στην εκτροφή 19 δεν αναφερόταν διακοπή της εξόδου των ζώων στη βοσκή κατά τη διάρκεια του χειμώνα και στην εκτροφή 1 το χορηγούμενο σιτηρέσιο παρέμενε σταθερό όλο το χρόνο. Δεύτερον, στην καταπόνηση λόγω της αυξημένης γαλακτοπαραγωγής, η οποία φαίνεται ότι, σε ορισμένες γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, υψηλού γενετικού δυναμικού, πιθανόν μειώνει την ικανότητα μετατροπής των καροτενίων ή αυξάνει τις ανάγκες βιταμίνης Α, σε βαθμό που δεν είναι δυνατόν να καλυφθούν μόνο με πρόσληψη καροτενίων. Από αυτή την έρευνα, λοιπόν, προκύπτουν ενδείξεις ότι ορισμένοι γενότυποι γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, υψηλών αποδόσεων έχουν ανάγκη προσιθέμενης βιταμίνης Α για την κάλυψη των αναγκών τους. Στη διεθνή βιβλιογραφία έχει διατυπωθεί ανάλογη υπόθεση για τα ενσταβλισμένα κρεοπαραγωγά βοοειδή<sup>15</sup>.

Ενδείξεις για μειωμένη ικανότητα μετατροπής των καροτενίων σε βιταμίνη Α, σε κάποιους γενότυπους γαλακτοπαραγωγών αγελάδων προκύπτουν και από τη μεγάλη τυπική απόκλιση που βρέθηκε στις τιμές βιταμίνης Α πλάσματος των ζώων της εκτροφής 18. Το σιτηρέσιο της εκτροφής 18 αποτελούνταν από μείγμα συμπυκνωμένων τροφών χωρίς προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α και χόρτο βοσκής. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της εκτροφής αυτής ήταν η μεγάλη ανομοιογένεια γενοτύπων στο ζωικό πληθυσμό της.

Τα επίπεδα βιταμίνης Α που βρέθηκαν σε αυτή την έρευνα (Πίν. 2) είναι αρκετά βελτιωμένα σε σχέση με το παρελθόν<sup>1,2,3,16</sup>. Ιδιαίτερα πρέπει να σημειωθεί το μικρό ποσοστό αγελάδων που βρέθηκαν με πολύ χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Α (<0,05 μg/ml πλάσματος), δηλαδή επίπεδα στα οποία συνήθως εμφανίζονται τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της αβιταμίνωσης, όπως είναι η τυφλότητα στην περίπτωση των μηρυκαστικών<sup>13</sup>. Πράγματι, από τις 510 αγελάδες που εξετάστηκαν συνολικά, μόνο οι 38, δηλ. ποσοστό 7%, βρέθηκαν με συγκεντρώσεις βιταμίνης Α μικρότερες από 0,05 μg/ml πλάσματος. Ακόμη, μόνο 3 εκτροφές, δηλ. ποσοστό 9%, βρέθηκαν με μέσον όρο συγκέντρωσης βιταμίνης Α μικρότερο από 0,05 μg/ml. Όπως φαίνεται στον πίνακα 2, πρόκειται για τις εκτροφές με α/α: 1, 5, 19.

Και στις τρεις εκτροφές με μέσον όρο συγκέντρωσης βιταμίνης Α μικρότερο από 0,05 μg/ml, α/α: 1, 5, 19 (Πίν. 2) χορηγούνταν μείγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών στο οποίο δε γινόταν προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α. Όπως αναφέρθηκε, το σιτηρέσιο της εκτροφής 1 συμπληρωνόταν με ενσίρωμα καλαμποκιού και άχυρο δημητριακών, και της εκτροφής 47 με ελεύθερη βόσκηση. Το σιτηρέσιο της εκτροφής 5 συμπληρωνόταν με άχυρο δημητριακών. Η εξήγηση της αβιταμίνωσης που καταγράφηκε στην εκτροφή 5 είναι προφανής, λόγω των χορηγούμενων ζωοτροφών (Πίν. 3). Η συζήτηση για τις πιθανές εξηγήσεις τις αβιταμίνωσης στις εκτροφές 1 και 19 έχει γίνει ήδη παραπάνω.

Το σύνολο των κλινικών συμπτωμάτων που παρατηρήθηκαν στις εκτροφές 1, 5 και 19 προερχόταν από τους οφθαλμούς και το γεννητικό σύστημα, και ήταν κλασικά της αβιταμίνωσης Α<sup>1,4,12,13,14,15</sup>. Τα συμπτώματα από τους οφθαλμούς ήταν οίδημα της οπτικής θηλής, νυκταλωπία, και αμφοτερόπλευρη τυφλότητα. Τα συμπτώματα από το γεννητικό ήταν αγονιμότητα, κατακρατήσεις εμβρυϊκών υμένων και γεννήσεις λιποβαρών, θνησιγενών και τυφλών μόσχων.

Ειδικά το οίδημα της οπτικής θηλής παρατηρήθηκε σε όλα τα ζώα των εκτροφών 1, 5 και 19 που δεν ήταν τυφλά, αλλά και στο σύνολο σχεδόν των ζώων που στην έρευνα αυτή βρέθηκαν με συγκεντρώσεις βιταμίνης Α μικρότερες από 0,18 μg/ml πλάσματος. Το σύμπτωμα αυτό αποτελεί το πρόδρομο σύμπτωμα της αβιταμίνωσης Α, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, και οφείλεται στην αύξηση της πίεσης του εγκεφαλονωτιαίου υγρού<sup>13,14,17</sup>. Φυσιολογικά στα βοοειδή η οπτική θηλή έχει ωοειδές σχήμα με εγκάρσια

διάμετρο περίπου 5 χιλιοστά και κάθετη περίπου 3 χιλιοστά<sup>18</sup>. Όπως διαπιστώθηκε με επανειλημμένες οφθαλμοσκοπήσεις κατά την έρευνα αυτή, σε περίπτωση οίδηματος η οπτική θηλή χάνει το λαμπερό της χρωματισμό, παίρνει ένα χρώμα μεταξύ ωχρού και ροδίνου, αυξάνει 2-3 φορές σε μέγεθος, αποκτά ασαφή όρια ιδιαίτερα στο επάνω τμήμα της, και στο εσωτερικό αυτών των ασαφών ορίων διαγράφεται ένας "κεντρικός πυρήνας" σε σχήμα αντίστροφης καρδιάς. Επειδή η οπτική θηλή είναι επηρμένη, λόγω του οιδήματος, κατά τη βυθοσκόπηση ρίχνει σκιά στο γειτονικό της αμφιβληστροειδή. Τέλος, τα άφθονα αιμοφόρα αγγεία της γίνονται ελικοειδή και διαστέλλονται λόγω της συμφόρησής τους. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με αντίστοιχες περιγραφές της διεθνούς βιβλιογραφίας<sup>12,15,17</sup>. Διευκρινίζεται ότι το χαρακτηριστικό σχήμα αντίστροφης καρδιάς της οιδηματικής οπτικής θηλής, που περιγράφηκε παραπάνω, οφείλεται στο ότι το οίδημα ήταν μεγαλύτερο στο επάνω μέρος της θηλής, με αποτέλεσμα τα όριά της να είναι περισσότερο ασαφή στο τμήμα αυτό<sup>15</sup>. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι η έκταση του οιδήματος της οπτικής θηλής στην αβιταμίνωση Α ήταν ανάλογη του χρόνου κατά τον οποίο το ζώο βρισκόταν σε κατάσταση αβιταμίνωσης, γι' αυτό το οίδημα είναι δύσκολο να αναγνωρισθεί στα αρχικά του στάδια όταν η θηλή δεν έχει ακόμα αυξηθεί σε μέγεθος, αλλά απλώς τα όριά της είναι θαμπά και ασαφή, δηλαδή δεν ξεχωρίζουν έντονα από τον γύρω αμφιβληστροειδή<sup>17</sup>. Άλλωστε, η φυσιολογική οπτική θηλή στα βοοειδή δεν ξεχωρίζει έντονα κατά τη βυθοσκόπηση<sup>19</sup>.

Σε προχωρημένες καταστάσεις αβιταμίνωσης Α, όπως όταν υπήρχε τυφλότητα, η οπτική θηλή εμφανιζόταν με μικρότερο του φυσιολογικού μέγεθος, επίπεδη και γκριζου χρώματος. Τα ευρήματα αυτά επίσης συμπίπτουν με τις αντίστοιχες αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία<sup>12</sup>.

Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις καροτενίων που βρέθηκαν στις διάφορες ζωοτροφές που εξετάστηκαν. Οι τιμές αυτές, αναμενόμενες με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα<sup>20,21</sup>, δείχνουν ότι μόνο το ενσίρωμα καλαμποκιού και το χόρτο βοσκής μπορούν να θεωρούνται ικανοποιητικές πηγές καροτενίων. Ο σανός μηδικής, που στη βιβλιογραφία αναφέρεται ως επαρκής πηγή καροτενίων<sup>20,21</sup>, στην έρευνα αυτή μόνο κατά περίπτωση θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως τέτοιος.

Η μεγάλη διακύμανση των συγκεντρώσεων καροτενίων στα δείγματα του σανού μηδικής (Πίν. 3) οφείλεται στις μεγάλες διαφορές των συγκεντρώσεων αυτών μεταξύ των δειγμάτων διαφορετικών εποχών. Δείγματα σανού μηδικής, που πάρθηκαν μέσα στον πρώτο μήνα από τη συλλογή του, βρέθηκαν με υψηλές συγκεντρώσεις καροτενίων, της τάξης των 120 μg/g Ξ.Ο. Δείγματα που πάρθηκαν δύο έως τέσσερις μήνες μετά τη συλλογή του σανού βρέθηκαν με συγκεντρώσεις από 10 έως 35 μg/g Ξ.Ο., συγκεντρώσεις που ήταν αντιστρόφως ανάλογες με το χρό-

νο που κάθε φορά μεσολαβούσε από τη συλλογή. Από το σύνολο των δειγμάτων σανού μηδικής που εξετάστηκαν, μόνο τα πέντε προέρχονταν από σανό που είχε συλλεγεί πριν από πέντε ή περισσότερους μήνες, τα δείγματα αυτά βρέθηκαν με ελάχιστη έως μηδενική συγκέντρωση καροτενίων. Φαίνεται ότι, υπό ελληνικές συνθήκες, στο σανό μηδικής η καταστροφή των καροτενίων είναι σχεδόν πλήρης μετά τον τέταρτο μήνα αποθήκευσης του σανού. Επιπλέον, όσον αφορά το σανό μηδικής, λόγω του κόστους του, σπάνια χορηγείται σε ποσότητες που να καλύπτει εξ ολοκλήρου τις ανάγκες των ζώων σε χονδροειδείς τροφές και συνήθως συμπληρώνεται με άχυρο δημητριακών. Ακόμη, σπάνια στις εκτροφές υπάρχουν αποθέματα σανού για κάλυψη των αναγκών των ζώων όλο το χρόνο. Συνήθως, γύρω στις αρχές των χειμερινών μηνών, τα αποθέματα σανού μηδικής της εκτροφής εξαντλούνται και αντικαθίσταται πλήρως με άχυρο δημητριακών.

Αντίθετα με το σανό μηδικής, το ενσίρωμα καλαμποκιού βρέθηκε να διατηρεί μια ικανοποιητική συγκέντρωση καροτενίων ( $> 10 \mu\text{g/g}$  Ξ.Ο.) όλο το έτος. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το ότι συνήθως στις εκτροφές που χρησιμοποιείται ενσίρωμα (στη δική μας έρευνα: εκτροφές 1, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 22, 23, 25, 27, 32, 33, 34, 37, 38, 40, 41, 46, 47, 48, 51), υπάρχουν αποθέματα ώστε το ενσίρωμα να χορηγείται στα ζώα κατά βούληση όλο το χρόνο, φαίνεται ότι συνέβαλε στη διαμόρφωση επαρκών, κατά κανόνα, συγκεντρώσεων βιταμίνης Α πλάσματος.

Στα μείγματα συμπυκνωμένων ζωοτροφών που γινόταν προσθήκη βιταμίνης Α η μεγάλη τυπική απόκλιση τιμών βιταμίνης Α, που αναφέρθηκε στα αποτελέσματα, οφείλεται στις μηδενικές τιμές ( $< 0,1 \mu\text{g/g}$  Ν.Ο.) που προσδιορίστηκαν στα 13 από τα 30 δείγματα μειγμάτων. Κατά κανόνα, σύμφωνα με την ετικέτα σήμανσης των προϊόντων, το ύψος προσθήκης βιταμίνης Α στα βιομηχανικά συμπυκνώματα ήταν  $15.000 \text{ IU}$  βιταμίνης Α/Kg μείγματος, δηλ.  $4,5 \mu\text{g}$  ρετινόλης/g Νωπής Ουσίας (Ν.Ο.) μείγματος. Οι μικρότερες έως και μηδενικές τιμές βιταμίνης Α που προσδιορίστηκαν πρέπει να αποδοθούν στην καταστροφή της βιταμίνης κατά την αποθήκευση των μειγμάτων, γεγονός που υπό ελληνικές συνθήκες έχει επισημανθεί και στο παρελθόν<sup>4</sup>. Να σημειωθεί ότι οι ημερήσιες ανάγκες για βιταμίνη Α μιας γαλακτοπαραγωγού αγελάδας σωματικού βάρους  $500 \text{ Kg}$  που βρίσκεται σε γαλακτική ή ξηρά περίοδο είναι  $38.000 \text{ IU}$ , δηλαδή  $11.400 \mu\text{g}$  ρετινόλης<sup>22</sup>. Οι ανάγκες αυτές ικανοποιούνται με κατανάλωση περίπου  $3 \text{ Kg}$  μείγματος, στο οποίο έχει γίνει προσθήκη  $4,5 \mu\text{g}$  ρετινόλης/g Ν.Ο. Αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην πράξη, όταν τα "έτοιμα" βιομηχανικά μείγματα συμπυκνωμένων τροφών αναμειγνύονται με απλές συμπυκνωμένες τροφές (π.χ. σογιάλευρο) για τη διαμόρφωση του τελικού μείγματος που χορηγείται στα ζώα.

Στις περιπτώσεις εκτροφών που χορηγούνταν μείγμα συμπυκνωμένων τροφών με προσθήκη συνθετικής βιταμί-

νης Α σε συνδυασμό με ενσίρωμα καλαμποκιού (εκτροφές 22, 23, 25, 27, 32, 33, 34, 37, 38, 40, 41, 46, 47, 48, 51), μόνο ένα ποσοστό 9% των ζώων εμφάνιζε πενικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α πλάσματος ( $< 0,20 \mu\text{g/ml}$ ), το 12% οριακές ( $0,20-0,24 \mu\text{g/ml}$ ) και το 79% φυσιολογικές ( $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$ ). Τα ποσοστά αυτά είναι διαφορετικά, στατιστικώς σημαντικά, σε σχέση με τα αντίστοιχα ποσοστά στο σύνολο των ζώων, που αναφέρθηκαν παραπάνω ( $P < 0,001$ ). Φαίνεται ότι για τις γαλακτοπαραγωγούς αγελάδες, ο συνδυασμός μείγματος συμπυκνωμένων ζωοτροφών με προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α και ενσιρώματος καλαμποκιού είναι ο πλέον κατάλληλος για τη διατήρηση φυσιολογικών συγκεντρώσεων βιταμίνης Α πλάσματος. Άλλωστε, στη συχνότερη σήμερα χρήση ενσιρώματος και στη συστηματικότερη προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α στο μείγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών πρέπει να αποδοθεί η μείωση του ποσοστού αγελάδων με πενικές συγκεντρώσεις βιταμίνης Α που καταγράφεται εδώ σε σχέση με παλαιότερες έρευνες<sup>1,2,3,16</sup>.

Τέλος, αξιοσημείωτη είναι η μη ύπαρξη γραμμικής συσχέτισης, που καταγράφηκε μεταξύ της συγκέντρωσης βιταμίνης Α στο πλάσμα του αίματος και της συγκέντρωσης καροτενίων σε αυτό, στις αγελάδες που κατανάλωναν σιτηρέσιο με ή χωρίς προσθήκη συνθετικής βιταμίνης Α. Βέβαια, πρέπει να τονιστεί ότι το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από μία επιζωοτιολογική έρευνα, η οποία ως κύριο στόχο είχε μία πρώτη καταγραφή των επιπέδων βιταμίνης Α σε αγελάδες της χώρας μας. Όμως, σχεδόν στο σύνολο των εκτροφών που εξετάστηκαν, το σιτηρέσιο των ζώων ήταν σταθερό κατά τη διάρκεια του χρόνου. Έτσι, δε θα πρέπει να τεθεί ζήτημα προσαρμογής των συγκεντρώσεων βιταμίνης Α και καροτενίων πλάσματος σε κάποιο νέο επίπεδο βιταμίνης Α-καροτενίων σιτηρεσίου. Στην απουσία της ζητούμενης γραμμικής συσχέτισης θα πρέπει να συμβάλλουν: (1) Η αδυναμία μετατροπής των καροτενίων, που είναι γνωστό ότι παρατηρείται σε αρκετές περιπτώσεις, όπως ήδη αναφέρθηκε (αυξημένη συγκέντρωση νιτροδών ουσιών στο σιτηρέσιο, έλλειψη φωσφόρου, διάφορα λοιμώδη και παρασιτικά νοσήματα, υποθυρεοειδισμός, αβιταμίνωση Α<sup>3,4,15</sup>). (2) Το πιθανόν διαφορετικό ποσοστό αξιοποίησης των καροτενίων, ανάλογα με τον γενότυπο των ζώων. (3) Η πιθανή απουσία ενός μηχανισμού ομοιοστασίας για τη συγκέντρωση καροτενίων στο πλάσμα του αίματος των βοοειδών. Αντίθετα, στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι υπάρχει κάποιος μηχανισμός ομοιοστασίας για τη συγκέντρωση βιταμίνης Α πλάσματος<sup>23</sup>. Έτσι, η αύξηση της συγκέντρωσης καροτενίων πλάσματος πάνω από ένα ορισμένο όριο δεν ακολουθείται από ανάλογη αύξηση της συγκέντρωσης βιταμίνης Α πλάσματος, η οποία σε αυτά τα επίπεδα καροτενίων μάλλον εμφανίζει μέγιστη τιμή. Οπωσδήποτε χρειάζεται πιο εκτενής έρευνα, για την εξακρίβωση του τρίτου συλλογισμού που για πρώτη φορά διατυπώνεται.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Σπαής ΑΓ. Κτηνιατρική Ειδική Παθολογία. Τόμος Β', Θεσσαλονίκη, 1975:375-393
2. Τσακάλωφ Π, Βλάχος Ν, Αυγερινός Σ. Περιπτώσεις αβιταμίνωσης Α εις εκτροφάς μόσχων παχύνσεως. Δελτίον ΕΚΕ 1976, 27:30-37
3. Κουτίνας Α, Παπαστεριάδης Αχ, Ρουμπιές Ν, Σπαής ΑΓ. Αβιταμίνωση Α σε βοοειδή στο νησί Κως. Ελληνική Κτηνιατρική 1983, 26:326-337
4. Χριστοδουλόπουλος Γ, Καρατζιάς Χ, Ρουμπιές Ν, Παπαστεριάδης Αχ. Αβιταμίνωση Α σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής στην περιοχή Θεσσαλονίκης. Δελτίον ΕΚΕ 1996, 47:269-274
5. Μπελεμπασάκης ΝΓ. Βοοτροφία. Εκδόσεις Ζυγός, Θεσσαλονίκη, 1996
6. Κάτος Α. Στατιστική. Εκδόσεις Εγνατία, Θεσσαλονίκη, 1984
7. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. 15th ed, Washington DC, 1990:1048-1049
8. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. 15th ed, Washington DC, 1990:1045-1047
9. Roels OA, Trout M. Vitamin and carotene. In: Cooper GR, King JS (eds) Standard methods of Clinical Chemistry. Academic Press, New York, London, 1972, 7:215-230
10. Γιαννακόπουλος ΑΑ. Ανάλυση δεδομένων βιολογικών πειραματισμών. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη 1996
11. Μητακίδης ΘΑ. Μερικές στοιχειώδεις στατιστικές έννοιες και μέθοδοι και η εφαρμογή τους σε απλά γεωργικά πειράματα. Υπουργείου Γεωργίας-Διεύθυνσις γεωργικών εφαρμογών και εκπαιδεύσεως, Αθήναι 1963
12. Smith BP. Large Animal Internal Medicine. The C.V. Mosby Company, St Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto, 1990: 950-953
13. Blood DC, Radostits OM. Veterinary Medicine. 7th ed, Bailliere Tindall, London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto, 1989:1218-1223
14. McDowell Lee Russel. Vitamins in Animal Nutrition. Cunha T. J. (edr). Academic Press (ed) 1989: 10-54
15. Hungerford TG. Diseases of Livestock. 8th ed, McGraw-Hill Book Company, Sydney, 1989: 1033-1037
16. Βλάχος Ν, Τσακάλωφ Π. Έρευνα επί των συγκεντρώσεων της βιταμίνης Α και των καροτενίων εις το ήπαρ και το αίμα μόσχων παχύνσεως. Ελληνική Κτηνιατρική 1976, 19:78-87
17. Miller TR, Gelatt KN. Food animal ophthalmology. In: Veterinary ophthalmology, second edition, Kirk N. Gelatt (edr), Lea & Febiger (ed), Philadelphia-London, 1991, 16:611-655
18. Μιχαήλ ΣΓ. Συγκριτική ανατομική των κατοικιδίων θηλαστικών. Εκδόσεις Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη, 1996
19. Sisson S, Grossman JD: Aesthesiology. In: Sisson-Grossman Anatomy of domestic animals, fourth edition, W.B. Saunders Company (ed), Philadelphia-London, 1965: 879-927
20. Aitken FC, Hankin RG. Vitamins in feed for livestock. CAB, England, 1970:15-81
21. Ρουμπιές ΝΑ. Μελέτη των συγκεντρώσεων της βιταμίνης Α στο πλάσμα αίματος, στο ήπαρ και στο γάλα προβάτων περιοχής Θεσσαλονίκης. Διδακτορική διατριβή, Θεσσαλονίκη, 1988:19-20, 71-72
22. National Research Council (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle. 6th ed, National Academic Press, Washington, DC, 1988: 143
23. Donoghue S, Kronfeld DS, Ramberg CF. Plasma retinol transport and clearance in hypervitaminosis A. J Dairy Sci 1979, 62:326-332