

**UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE**

Saša S. Lauš

**ZASTUPLJENOST OSNOVNIH FRAKCIJA
SERUMSKIH PROTEINA, IMUNOGLOBULINA G I
TITAR ANTITELA PROTIV HERPESVIRUSA 1 U
NOVOROĐENE ŽDREBADI POREKLOM OD
VAKCINISANIH I NEVAKCINISANIH KOBILA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2013.

Mentor:

Dr Dragiša R. Trailović, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Komisija:

1. Dr Dragiša R. Trailović, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

2. Dr Miodrag Lazarević, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

3. Dr Slavča Hristov, redovni profesor,
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane: _____

ZASTUPLJENOST OSNOVNIH FRAKCIJA SERUMSKIH PROTEINA, IMUNOGLOBULINA G I TITAR ANTITELA PROTIV HERPESVIRUSA 1 U NOVOROĐENE ŽDREBADI POREKLOM OD VAKCINISANIH I NEVAKCINISANIH KOBILA

Rezime

Neonatalne infekcije bakterijama i virusima, pre svega infekcija konjskim herpesvirusom 1 i neonatalna septikemija, predstavljaju glavni uzrok gubitaka novorođene ždrebadi. Ključni problem je najčešće nedovoljan transfer kolostralnog imuniteta. Procena imunog statusa kod novorođene ždrebadi ima veliki značaj u dijagnostici, predviđanju i preveniranju neonatalnih infekcija. Pravovremenom supstitucijom imunoglobulina u slučaju nedovoljnog transfera kolostralnih antitela, naime, mogu se sprečiti komplikacije koje su veoma često odgovorne za uginuće novorođene ždrebadi.

Ispitivanje pasivnog transfera kolostralnih imunoglobulina, sadržaja pojedinih frakcija serumskih proteina, IgG i titra specifičnih antitela protiv konjskog herpesvirusa 1 kod novorođene ždrebadi izvedeno je na dve ergele lipicanera i kasača. Ispitivanjem je obuhvaćeno 12 kobila lipicanske rase, koje nisu vakcinisane protiv konjskog herpesvirusa 1, uključujući i njihovih 12 ždrebadi, zatim na 12 kobila rase američki i srpski kasač, koje su tokom graviditeta trokratno vakcinisane protiv herpesvirusa 1, uključujući, takođe, i njihovih 12 ždrebadi. Po 6 ždrebadi iz svake grupe je, pri tome, neposredno posle rođenja u prvom napoju dobilo kolostrum sa dodatkom mineralnog adsorbenta na bazi zeolita, dok je drugih 6 dobilo kolostrum bez zeolita.

Analizom dobijenih rezultata dokazana je korelacija između koncentracije gama globulina u krvnom serumu kobila i sadržaja imunoglobulina u njihovom kolostrumu, bez statistički značajnih razlika između dve grupe kobila, uz postojanje statistički značajnih razlika između dve grupe kobila u titru specifičnih antitela protiv konjskog herpesvirusa 1.

Dobijeni rezultati takođe ukazuju na odsustvo specifičnih antitela protiv konjskog herpesvirusa 1 i prisustvo minimalnih količina imunoglobulina u krvnom serumu novorođene ždrebadi pre uzimanja kolostruma, zatim na značajno povećanje koncentracije ukupnih proteina, pre svega gama globulina i imunoglobulina G u krvnom serumu novorođene ždrebadi nakon uzimanja kolostruma.

Povećanje koncentracije gama globulina i imunoglobulina G najveće je u prvih 24 časa. Pri tome je potvrđena korelacija između sadržaja gama globulina i imunoglobulina G u serumu novorođene ždrebadi sa sadržajem gama globulina i imunoglobulina G u serumu i kolostrumu njihovih majki.

Kod ždrebadi poreklom od vakcinisanih kobilica nakon uzimanja kolostruma dolazi do značajnog povećanja titra specifičnih antitela protiv herpesvirusa 1. Sadržaj imunoglobulina u krvnom serumu je pri tome nešto veći u grupi ždrebadi koja su u napojku kolostruma dobijala i zeolit, međutim, ova razlika nije statistički značajna.

Ključne reči: EHV-1, IgG, kobile, kolostrum, novorođena ždrebada, pasivni transfer kolostralnih imunoglobulina, proteinske frakcije, vakcinacija

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Klinička patologija i terapija konja

UDK: 636.1.09:616

PRESENCE OF MAIN SERUM PROTEIN FRACTION CONTENT, IMMUNOGLOBULIN G AND TITERS OF ANTIBODIES AGAINST HERPESVIRUS 1 IN NEWBORN FOALS ORIGINATING FROM VACCINATED AND UNVACCINATED MARES

Summary

Neonatal infections caused by bacteria and viruses, primarily by equine herpes virus 1, together with neonatal septicaemia, present the major causes of newborn foal loss. The key problem is most often insufficient transfer of colostral immunity. Assessment of immunity status in newborn foals has a great importance in diagnostics, prediction and prevention of neonatal infection. By timely substitution of immunoglobulin in cases of insufficient transfer of colostral antibodies, complications leading to death of newborn foals can be prevented.

Testing of passive transfer of colostral immunoglobulin, content of certain serum protein fraction, IgG and titres of specific antibodies against equine herpes virus 1 in newborn foal was done in two Lipizzaner and Trotter farms. The testing included 12 Lipizzaner mares, not vaccinated against equine herpes virus 1, including their 12 foals, and 12 American and Serbian Trotter mares which were three times vaccinated during pregnancy against equine herpes virus 1, including their 12 foals too. Six foals from each group received their first colostrums with zeolite based mineral adsorbent, while the other 6 foals received colostrums without zeolite.

Analysis of the obtained results proved correlation between gamma globulin concentration in mare serum and the content of immunoglobulin in their colostrum, without statistically significant differences between the two groups of mares, but with statistically significant differences in titres of specific antibodies against equine herpes virus 1.

The results obtained also pointed to absence of specific antibodies against equine herpes virus 1 and presence of minimum quantities of immunoglobulin in blood serum of the newborn foals before taking colostrum, as well as to a significant increase of total protein concentration, primarily gamma globulin and immunoglobulin G in blood serum of the newborn foals after taking colostrum.

The increase of gamma globulin and immunoglobulin G was at the highest during the first 24 hours. Also, the correlation between the content of gamma globulin and immunoglobulin G in serum of the newborn foals and the content of gamma globulin and immunoglobulin G in serum and colostrum of their mothers was confirmed.

In foals delivered by vaccinated mares, after taking colostrum, there was a significant increase of titres of specific antibodies against herpes virus 1. The content of immunoglobulin in blood serum of the foals fed by colostrum with zeolite, was a little bigger, but without statistical significance.

Keywords: *EHV-1, IgG, mares colostrum, newborn foal, passive transfer of colostral immunoglobulins, protein fraction, vaccination*

Scientific field: *Veterinary medicine*

Main scientific field: *Equine clinical pathology and therapy*

UDK: 636.1.09:616

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	PREGLED LITERATURE	5
2.1.	Imunologija novorođene ždrebadi	6
2.1.1.	Adaptivni imunitet	7
2.1.2.	Pasivni transfer kolostralnih imunoglobulina	11
2.1.3.	Procenjivanje imunoglobulinskog statusa novorođene ždrebadi	17
2.2.	Najčešća oboljenja ždrebadi uslovljena nedovoljnim transferom pasivnog imuniteta	30
2.2.1.	Herpesvirusne infekcije konja	30
2.2.2.	Neonatalna septikemija ždrebadi	40
2.3.	Terapija poremećaja pasivnog transfera imunoglobulina	48
2.4.	Mere za poboljšanje kolostralnog imuniteta	52
3.	CILJ I ZADACI RADA	55
4.	MATERIJA I METODE	57
4.1.	Materijal	57
4.2.	Metode istraživanja	58
4.2.1.	Hematološka ispitivanja	58
4.2.2.	Biohemijska ispitivanja krvnog seruma	58
4.2.3.	Serološka ispitivanja	59
4.2.4.	Analiza kolostruma i mleka	59
4.3.	Statistička obrada rezultata	61
5.	REZULTATI	62
5.1.	Rezultati ispitivanja kobilu	62
5.1.1.	Klinička opservacija kobilu	62
5.1.2.	Rezultati hematoloških ispitivanja	64
5.1.3.	Rezultati biohemijskih ispitivanja krvi	64
5.1.4.	Rezultati seroloških ispitivanja	70

5.1.5.	Rezultati analize kolostruma i mleka kobila	73
5.2.	Rezultati ispitivanja ždrebadi	77
5.2.1.	Rezultati hematoloških ispitivanja	77
5.2.2.	Rezultati ispitivanje sadržaja ukupnih proteina i pojedinih frakcija proteina u krvnom serumu novorođene ždrebadi	81
5.2.3.	Rezultati ispitivanja koncentracije imunoglobulina G u krvnom serumu novorođene ždrebadi imunoturbidimetrijskom metodom	85
5.2.4.	Rezultati ispitivanja titra antitela protiv herpesvirusa 1 u krvnom serumu novorođene ždrebadi	87
5.2.5.	Rezultati ispitivanja koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu novorođene ždrebadi primenom semikvantitativnog testa	89
5.2.6.	Koncentracija kortizola u serumu ždrebadi	89
5.2.7.	Rezultati ispitivanja koncentracije ostalih biohemijskih parametara u krvnom serumu novorođene ždrebadi	91
6.	DISKUSIJA	95
6.1.	Sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina i imunoglobulina u krvnom serumu kobila pred ždrebljenje i neposredno posle ždrebljenja	95
6.2.	Sadržaj pojedinih frakcija proteina i imunoglobulina G u kolostrumu i mleku kobila	100
6.3.	Vrednosti hematoloških parametara u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života	102
6.4.	Sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina i imunoglobulina G u novorođene ždrebadi	104
6.5.	Titar specifičnih antitela na EHV-1	107
6.6.	Koncentracija imunoglobulina dobijena brzim – terenskim metodama	108
6.7.	Koncentracija kortizola u serumu novorođene ždrebadi	109
6.8.	Koncentracija ostalih biohemijskih parametara u krvnom serumu novorođene ždrebadi	110

7.	ZAKLJUČAK	112
8.	LITERATURA	114
9.	PRILOZI	134

1. UVOD

Neonatalne infekcije bakterijama i virusima, pre svega infekcija konjskim herpesvirusom 1 i neonatalna septikemija, predstavljaju glavni uzrok gubitaka novorođene ždrebadi. Ključni problem je najčešće nedovoljan transfer kolostralnog imuniteta. Ždrebadi koja nisu unela dovoljnu količinu kolostruma na vreme ili u dovoljnim količinama, ili su dobila kolostrum lošeg kvaliteta, ostaju uskraćena u potrebnim imunoglobulinima koji su osnovni preduslov za njihovo preživljavanje u prvih nekoliko meseci života. Najvažniji faktor u prevenciji neonatalnih infekcija je rano otkrivanje visokorizične ždrebadi, koje omogućava pravovremeno preduzimanje terapije. Za povećanje efikasnosti preventive i terapije neophodno je ispitati sve činioce koji utiču na transfer kolostralnih imunoglobulina i mogućnost povećanja kvaliteta i apsorpcije kolostralnih imunoglobulina.

Konjski herpes virus 1 i neonatalna sepsa su bez sumnje najvažniji uzroci uginuća novorođene ždrebadi. Prisustvo konjskog herpesvirusa 1, uzročnika virusnog abortusa kobila, neuroloških oboljenja kod ždrebadi kobila i novorođene ždrebadi, respiratornih oboljenja mlađih kategorija konja, uginuća novorođene ždrebadi u prvih nekoliko dana života i nedavno prepoznatog sindroma opisanog kao perakutni vaskulitis, potvrđeno je u našoj zemlji devedesetih godina. Pored infekcije konjskim herpes virusom 1 koja je od 1981. do 1990. godine na pojedinim ergelama u Srbiji izazvala velike gubitke, narednih godina je utvrđeno da su mnogi slučajevi teških oboljenja i uginuća novorođene ždrebadi izazvani bakterijama iz okruženja koje kod odraslih životinja ne dovode ni do kakvih problema. Neposredan uzrok uginuća je obično bila sepsa. Ovo su najznačajniji uzroci gubitaka ždrebadi i u drugim zemljama (Rumaugh i sar, 1983; Trailović i sar, 1992 i 2004; Sanchez, 2005). Ždrebadi se, kao što je poznato, rađa bez imunoglobulina, pri čemu je ključni izvor antitela neophodnih za njihovo preživljavanje u prvih nekoliko meseci života kolostrum. Uzimanje i apsorpcije adekvatne količine kolostralnih imunoglobulina, shodno tome, predstavlja najvažniji preduslov za sticanje pasivnog imuniteta.

Nedovoljan transfer kolostralnih imunoglobulina predstavlja osnovni faktor pojavljivanja septikemijskih bolesti kod svih vrsta životinja i ima veliki uticaj na pojavu crevnih i respiratornih oboljenja, zatim infekcije pupka, zglobova i sl., koje odmah posle neonatalne septikemije predstavljaju najvažniji uzrok uginuća ždrebadi. Najveći rizik od pojave pomenutih oboljenja prisutan je u prvoj nedelji života, mada je nedovoljan transfer odgovoran i za pojavu kasnijih oboljenja, sve do 4. meseca života (Trailović i sar., 2003, 2004; Wohlfender, 2009). Proučavanje faktora koji dovode do nedovoljnog transfera kolostralnog imuniteta, utvrđivanje faktora koji mogu povećati apsorpciju proteina iz kolostruma i rano prepoznavanje visokorizične ždrebadi omogućava da se gubici koje prouzrokuju ova oboljenja smanje.

Teško je definisati količinu imunoglobulina u kolostrumu kobilica i serumu ždrebadi koja obezbeđuje adekvatnu zaštitu, jer na pojavu oboljenja utiču i drugi faktori kao što su uslovi držanja, ishrane i nege. Smatra se, ipak, da koncentracija IgG1 od 4 g/l seruma obezbeđuje dovoljnu zaštitu od septikemijskih oboljenja, dok je koncentracija od 8 g/l dovoljna da umanjí rizik od pojave većine infektivnih bolesti (Trailović i sar., 2003; Giguere and Polkes, 2005). Nije, međutim, važan samo kvantitet imunoglobulina već i kvalitet. Visok nivo IgG za konjski herpes virus 1, na primer, pruža adekvatnu zaštitu od ove bolesti, ali ne i od bakterijskih infekcija (Palmer, 2010). Nivo pasivnog imuniteta koji se stiče kolostrumom primarno je zavisán od dva faktora: količine imunoglobulina u kolostralnom napoju i efikasnosti apsorpcije kolostralnih imunoglobulina (LeBlanc, 1986, 1992; Giguere i Polkes, 2005). Pored tradicionalnog shvatanja da kolostrum ima primarnu ulogu u transferu IgG i obezbeđenju odgovarajućeg titra humoralnih antitela, novija shvatanja su znatno kompleksnija. Tako se danas sve više ističe uloga kolostruma u obezbeđenju efikasne imunske barijere za bakterije u lumenu creva - najvažnijem putu za prodor mikroorganizama iz spoljašnje sredine u organizam novorođenčeta. Kolostrum je važan izvor IgG, ali sadrži i druge biološki aktivne proteine, imuno modulatore i pro i anti inflamatorne supstance. Činjenica je da bi bez nekih sastojaka kolostruma razvoj nekih imunoloških funkcija kod ždrebadi zakasnio. To se, na primer, odnosi na uspostavljanje i sazrevanje celularnog odbrambenog sistema. Sve funkcije imunog sistema koje nedostaju kod novorođenog ždrebeta se, dakle, nadoknađuju uz pomoć kolostruma (Allen i sar., 1993; Bernoco, 1987, 1994; Demmers i sar., 2001).

Procena imunog statusa kod novorođene ždrebadi ima veliki značaj u dijagnostici, predviđanju i preveniranju neonatalnih infekcija. U svim slučajevima infekcije, ne samo u prvih nekoliko dana već tokom prvih mesec dana, treba posumnjati na poremećaj pasivnog imuniteta. Na žalost, precizna dijagnostika nije jednostavna i uglavnom zavisi od dostupnosti dobro opremljenih laboratorija. Procenjivanje imunoglobulinskog statusa predstavlja važnu preventivnu meru koja se na ergelama obično obavlja od 12-72 sata posle ždrebljenja, premda bi bilo još korisnije kada bi se pregled obavio već posle 6 do 12 sati, pre svega kod ugrožene ždrebadi. Pravovremena procena nedovoljnog transfera kolostralnih imunoglobulina omogućava peroralno dodavanje dodatnih količina kolostruma. Dodatnu količinu kolostruma trebalo bi dati ugroženoj ždrebadi ukoliko se utvrdi da je koncentracija IgG u krvnom serumu uzetom 6 do 12 sati po rođenju manja od 4 g/l (Trailović i sar, 2000, 2003; Giguere i Polkes, 2005).

Najvažniji preduslov za donošenje odluke o nadoknadi kololostruma je procena koncentracije IgG u serumu ždrebeta. Iako postoji niz laboratorijskih metoda za precizno utvrđivanje koncentracije imunoglobulina (elektroforeza, radioimunološke metode, test radiodifuzije, indirektno procenjivanje koncentracije imunoglobulina na osnovu spektrofotometrijskog ispitivanja koncentracije ukupnih proteina i albumina), većina nema praktičnu važnost pošto zahtevaju nošenje uzorka u laboratoriju i dugo čekanje na rezultat. U terenskim uslovima mogu se koristiti polukvantitativni brzi testovi za dokazivanje imunoglobulina, koji omogućavaju grubu procenu za samo desetak minuta, zatim test zamućenja seruma cink sulfatom. Naravno, ako se u blizini nalazi dobro opremljena laboratorija, ne treba odbaciti mogućnost provere i dobijanje daleko preciznijih rezultata (Giguere i Polkes, 2005).

Pošto je kolostralni unos imunoglobulina ključni faktor humoralnog imuniteta novorođenih životinja, mnogi autori su ispitivali mogućnost poboljšanja apsorpcije kolostralnih imunoglobulina. Stojić i sar., (1995, 1998) i Fratrić i sar., (2005) ispitivali su efekte adsorbensa na bazi klinoptilolita dodatog kolostrumu u svrhu povećanja apsorpcije IgG kod novorođenih životinja. Ovi autori su utvrdili da klinoptilolit dodat u kolostrum, u količini od 5 g/l, dovodi do značajnog povećanja apsorpcije IgG kod novorođene prasadi i teladi. Trailović i saradnici (2004) su ispitivali uticaj zeolita na apsorpciju imunoglobulina kod novorođene ždrebadi rase engleski punokrvnjak,

međutim, zbog velikih individualnih varijacija nisu utvrdili statistički značajne razlike u transferu IgG između ždrebadi koja su dobijala napoj kolostruma sa zeolitom i bez zeolita. Lazarević i sar.(2010) navode da dodavanje manan-oligosaharida teladima i prasadima dovodi do značajnog povećanja apsorpcije IgG.

Novorođena ždrebada dobijaju maternalna antitela protiv patogenih agensa koji ih najviše ugrožavaju, zbog čega je posebno važan kvalitet kolostruma koji bi trebalo da sadrži specifična antitela protiv onih patogena koji najviše ugrožavaju ždrebada u određenom ambijentu. To se može postići vakcinacijom kobilica i podsticanjem sinteze specifičnih antitela protiv određenih vrsta bakterija i virusa, na primer protiv herpes virusa. Potvrđeno je, na primer, postojanje pozitivne korelacije između titra specifičnih antitela u krvnom serumu i kolostrumu kobilica i serumu novorođene ždrebadi nakon uzimanja kolostruma. Važno je, dakle, da se dobro ispita epizootiološka situacija u zapadu i ustanovi potreba za specifičnim antitelima protiv određenih patogena, zatim da se pored minimalne ili potrebne količine ukupnih imunoglobulina ustanovi potrebna količina ili titar specifičnih imunoglobulina za određenu bolest, da bi se obezbedila adekvatna zaštita od oboljenja i kasnije napravio dobar program vakcinacije. Tako na primer, vakcinacija kobilica u zadnjem trimestru graviditeta protiv EHV-1 povećava sadržaj imunoglobulina u kolostrumu protiv ove bolesti.

2. PREGLED LITERATURE

Imuni sistem ima zadatak da omogući organizmu da se odupre delovanju stranih antigena. Imunološka reakcija je nužna za preživljavanje, jer bez nje neminovno nastupa smrt zbog infekcija. Svi organizmi su, naime, osuđeni da žive u sredini prepunoj virusa, bakterija, parazita, gljivica, njihovih toksina i sopstvenih izmenjenih i/ili istrošenih ćelija, koji skupa mogu izazvati različita oboljenja (Allegretti i sar., 1989; Giguere i Polkes, 2005; Crisman i Scarratt, 2008). Nespecifični imunitet predstavlja urođenu otpornost organizma na različite štetne agense i on štiti organizam bez prethodnog dodira sa tim agensom. To je prva linija odbrane koja se sastoji od anatomskih prepreka (koža, sluznice), mehaničke neprobojnosti, fizičkog odstranjivanja, lokalnih hemijskih agenasa i saprofitske flore.

Bakterijska flora igra izuzetno važnu ulogu u odbrani organizma domaćina (Davis, 2004). U različitim tkivima i organskim sistemima, kao što su koža, gastrointestinalni trakt, urogenitalni i respiratorni sistem, nalazi se normalna bakterijska flora. Ova flora sprečava patogene vrste koje, ako se nađu u velikom broju mogu kolonizovati epitelne površine. Normalna bakterijska flora u respiratornom traktu ekvida uključuje: *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Pasteurella spp.*, *Escherichia coli*, *Actinomyces spp.* i *Streptococcus spp.* Anaerobi su pedominantna normalna flora u usnoj duplji i tu spadaju *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Veillonella spp.* i *Megasphaera spp.* Postoji, naravno, i sistemska nespecifična odbrana koju čine: ćelijska odbrana (fagociti, NK ćelije), humoralna odbrana: sistem komplekta, lizozim, interferon i dr. (Giguere i Polkes, 2005; Crisman i Scarratt, 2008; Allegretti, 1989). S druge strane, postoji i specifični imunitet koji se stiče i za njegov razvoj je potrebno vreme - on se razvija posle kontakta sa uzročnicima bolesti – prilikom prvog kontakta je nesposoban da se suprotstavi štetnim agensima, pri čemu su za njegovo uspostavljanje i razvoj potrebni dani, nedelje i meseci. Obe ove komponente deluju zajedno sa istim ciljema, a to je zaštita organizma.

Nespecifični imunitet određuje vrstu specifičnog imunskog odgovora, dok specifični imunitet dalje usmerava i pojačava nespecifični. Zahvaljujući ovakvom uzajamnom dejstvu, imunitet poseduje sposobnost razlikovanja sopstvenog od tuđeg (imunološku toleranciju prema ćelijama sopstvenog organizma), pamćenja (imunološku memoriju), samoograničenja, specifičnosti i raznovrsnosti.

2.1. Imunologija novorođene ždrebadi

Govoreći o imunom statusu ždrebadi, LeBlanc (1990), ističe da su ždrebadi imunološki kompetentna na rođenju, mada su pre dojenja agamaglobulinemična. To je fiziološka agamaglobulinemija. Plod se razvija u sterilnoj sredini i imunološki sistem ploda ne dolazi u kontakt sa mikrobnim antigenima. Placenta ne propušta imunoglobuline i ždrebe dolazi na svet bez imunoglobulina.

Imuni sistem se razvija u fetalnom periodu. U brojnim istraživanjima je dokazana reaktivnost imunog odgovora ždrebadi u fetalnom periodu. Timus je prvi limfoidni organ koji počinje da funkcioniše u toku gestacije. Timusna kortikomedularna organizacija limfocita uspostavlja se do 80. dana gestacije, pri čemu su limfociti prisutni u perifernoj krvi 120. dana i do 140. dana počinju da proliferišu pod uticajem mitogena, s tim što se reakcija limfocita na mitogene sa 200 dana zapaža i u slezini. Periferni limfni čvorovi i lamina propria mukoze creva naseljeni su limfocitima oko 90. dana, pri čemu se reakcija na mitogene može registrovati u mezenterijalnim limfnim čvorovima do 200. dana (Becht i Semrad, 1985; Giguere i Polkes, 2005; Tizard, 1996).

Produkcija imunoglobulina IgM i njihovo prisustvo u serumu fetusa može se registrovati otprilike sa 185 dana, u koncentraciji od 4-10 mg/dl. Zahvaljujući fetalnoj produkciji, u krvnom serumu novorođene ždrebadi se pre prvog sisanja može registrovati oko 16 mg/dl imunoglobulina (Becht i Semrad, 1985; Tizard, 1996; Giguere i Polkes, 2005). Koncentracija IgG je po pravilu niska i verovatno odražava stepen intrauterine antigenske stimulacije.

Aktivnost komplementa kod novorođene ždrebadi nije poznata. Kod drugih vrsta sisara (teladi, jagnjadi, prasadi, ljudi) aktivnost komplementa kod novorođenčadi je smanjena u poređenju sa odraslim jedinkama datih vrsta. To dokazuje sklonost novorođenčadi

prema infekciji. Ispitivanje ćelija dobijenih bronhoalveolarnom lavažom od novorođene ždrebad ukazuju na prisustvo manjeg broja alveolarnih makrofaga u odnosu na odraslog konja. Fagocitna sposobnost ovih makrofaga je, pri tome, bila smanjena (Giguere i Polkes, 2005; Tizard, 1996).

2.1.1. Adaptivni imunitet

Ždrebad se rađa sa brojem limfocita u cirkulaciji koji je jednak broju kod odraslih konja. Pa ipak, broj limfocita u cirkulaciji se linearno povećava, dostižući vrednosti otprilike 2,5 puta veće od onih kod odraslih konja u starosti od tri do šest meseci (Flaminio i sar., 1999). Ovo, sa uzrastom povezano povećavanje broja limfocita u perifernoj krvi, prouzrokovano je povećavanjem broja CD4⁺ i CD8⁺ T limfocita i B limfocita (Flaminio i sar., 1999; Smith i sar., 2002). Ovaj period koincidira sa povećanjem koncentracija IgG i IgM u serumu, što navodi na aktiviranje humoralnog imunskog odgovora. Za razliku od ukupnog broja ćelija, procenat CD4⁺ i CD8⁺ T limfocita i B limfocita ostaje prilično konstantan od rođenja do šest meseci starosti (Flaminio i sar., 1999). Apsolutni broj i procenat B limfocita u perifernoj krvi su viši kod ždrebad nego kod odraslih konja (Flaminio i sar., 1999; Tizard, 1996; Giguere i Polkes, 2005).

Proliferacija limfocita u perifernoj krvi kao odgovor na mitogene je blago redukovana na rođenju ali se rapidno povećava na nivo odraslih jedinki (Flaminio i sar., 2000; Sanada i sar., 1992). Ždrebad takođe imaju normalnu limfokin-aktiviranu ubilačku (LAK) ćelijsku aktivnost limfocita u perifernoj krvi na rođenju i tokom ranog post-natalnog života (Brock, 1978). Izražavanje mRNA za interferon- γ (IFN γ), interleukin (IL)-1 α i transformišući faktor rasta- β (TGF β) u krvnim limfocitima stimulisan sa konkavalinom A (ConA) povećava se sa uzrastom tokom prvog meseca života (Boyd i sar., 2003). Nasuprot tome, izražavanje drugih citokina ili hemokina, kao što su IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 i TNF α se ne menja sa rastućom starošću (Boyd i sar., 2003; Breathnach i sar., 2006). Relativno niska IFN γ ekspresija na rođenju može navoditi na redukovani T helper 1 (Th1) odgovor u neonatalnom periodu. Nekoliko proučavanja je pokazalo da ždrebad mogu razviti ćelijski-posredovane imunske odgovore na različite patogene, uključujući *Strongylus vulgaris*, *R. equi* i konjski

herpesvirus tipa 1 (Prescot i sar., 1979; Ellis i sar., 1997). Starost u kojoj se razvijaju protektivni ćelijski-posredovani imunski odgovori na značajne patogene ždrebadi i poređenje jačine ovih odgovora sa reakcijama odraslih konja ipak zahtevaju dalja proučavanja. Novorođena ždrebadi imaju znatno manje T limfocita koji izražavaju veći histokompatibilitet (MHC) antigena klase II na svojoj površini. Izražavanje MHC molekula klase II se progresivno povećava, dostižući nivo odraslih jedinki do otprilike četiri meseca starosti (Flaminio i sar., 2000). To navodi na zaključak o progresivnom razvoju antigen-aktivirane memorije T limfocita. Sveukupno, rezultati ovih proučavanja ukazuju na to da su neonatalna ždrebadi imunokompetentna, ali u trenutku rođenja do uzimanja kolostruma nemaju dovoljno antitela (Tizard, 1996; Giguere i Polkes, 2005; Matthew, 2005).

Premda ždrebadi mogu odgovoriti na strane antigene od dana rođenja, pasivno preneti antitela majke ispoljavaju značajno supresivno dejstvo na proizvodnju antitela. To potvrđuje činjenica da je proizvodnja antitela kod ždrebadi kojima je uskraćen kolostrum efikasnija u odnosu na ždrebadi sa adekvatnim transferom pasivnog imuniteta počinje ranije (Giguere i Polkes, 2005). U prisustvu transfera pasivnog imuniteta proizvodnja IgG_A, IgG(T) i IgA dostiže vrhunac koji se može uporediti sa nivoima kod odraslih jedinki u uzrastu od 8-12 nedelja. Nasuprot tome, proizvodnja IgG_B je odložena i još uvek znatno ispod nivoa kod odraslih jedinki i ždrebadi stare godinu dana (Holcnagel i sar., 2003).

Brzina kojom materinska antitela opadaju varira, u zavisnosti od pojedine životinje i prirode antigena. Za mnoge važne patogene koncentracija maternalnih antitela kod ždrebadi pada na neprotektivne nivo do drugog-trećeg meseca starosti. Za influencu konja i tetanus maternalna antitela kod ždrebadi koje su oždrebile kobile vakcinisane u poslednja dva meseca graviditeta se mogu održati do otprilike šest meseci starosti i sprečiti adekvatne imunске odgovore kod ždrebadi vakcinisane pre dostizanja tog uzrasta (Giguere i Polkes, 2005).

Imuni sistem konja je prilagodljiv odbrambeni mehanizam koji služi za borbu protiv patogenih organizama. Organizam mora biti spreman za borbu protiv invazije patogena, korišćenjem arsenala koji sadrže ćelije koje su sposobne da prepoznaju i eliminišu ove strane mikrobe. Imunoglobulini su molekuli koji mogu da prepoznaju i vežu strane

antigene. Ovi veliki molekuli glikoproteina se nalaze na membrani B ćelija, a takođe ih sekretuju plazma ćelije. Nalaze se u krvi, sluznicama i eksternim sekretima. Imunoglobulini koje sintetise gravidna kobila utiču na preživljavanje njihove ždrebadi, jer je kolostrum koji ždrebadi uzimaju izvor antitela u prvih nekoliko nedelja života (Mc Guire i Ceawford, 1973; Spearman, 2004). Posle ovog vremena imuni sistem ždrebeta je spreman da proizvodi imunoglobuline u dovoljnoj količini, da može pružiti dobar imuni odgovor.

Imunoglobulini su velika grupa glikoproteinskih molekula, koja se nalazi u krvnom serumu i ostalim telesnim tečnostima. Deo su proteinske frakcije koja se naziva globulinima i igraju važnu ulogu u imunološkom odgovoru (Peakman i Vergani, 1997). Antitela su imunoglobulini i imaju sposobnost da vežu antigen. Stoga su sva antitela imunoglobulini, ali nisu svi imunoglobulini antitela. Pored sposobnosti vezivanja sa antigenom, imunoglobulini imaju i različita biološka svojstva. Prepoznavanje antigena je topološki vezano za zajedničko delovanje varijabilnih delova teškog i lakog lanca. Druge osobine nisu vezane za specifičnost antitela, a neka svojstva dolaze do izražaja samo nakon vezanja sa antigenom. Antitela takođe neutrališu toksine. Ispitivanje prisustva antitela u krvi ima veliki dijagnostički značaj. Tako na primer, kod novorođene ždrebadi se ispitivanjem koncentracije IgG u serumu proverava stepen pasivnog transvera kolostralnih antitela.

Kod konja postoje četiri glavna izotipa imunoglobulina i to: IgG, IgM, IgA i IgE (Nezlin, 1998). IgG se nalaze u najvećoj koncentraciji u serumu i kolostrumu. Stvaraju ih i sekretuju plazma ćelije slezine, limfnih čvorova i koštane srži (Tizard, 1996). Plazma ćelije nastaju iz B limfocita. IgG su najmanji molekuli imunoglobulina pa tako lako mogu migrirati iz krvi u druga tkiva. Ova klasa imunoglobulina lako veže strane antigene kada dođe u kontakt sa njima. Tako dolazi do aglutinacije i opsonizacije, čime se strani antigeni čine sposobnim da ga fagocituju neutrofilima. Takođe igraju ulogu u aktivaciji komplementa, pa nastaje citoliza. IgG, osim toga, imaju mogućnost neutralizacije bakterijskih toksina.

Kod konja postoji pet podklasa imunoglobulina G: IgG2a, IgG2b, IgG2c, IgG(B) i IgG(T), koji se takođe dele na IgG(T)a i IgG(T)b (Tizard, 1996; Stojić, 2004). Ove

potklase IgG se razlikuju u sekvenci γ lanaca i malim razlikama u biološkoj funkciji (Goldsby i sar., 2003).

Imunoglobulini klase M (IgM) se u serumu nalaze u manjoj koncentraciji, dok su treći po koncentraciji u kolostrumu. To je prva klasa imunoglobulina koja se detektuje u primarnom imunološkom odgovoru i prvi imunoglobulini koje stvara novorođenče (Goldsby i sar. 2003). Ovi imunoglobulini su najveći, imaju pet monomernih jedinica pa imaju mnogo mesta za vezivanje antigena. Uspešno vezuju komplement pa izazivaju citolizu efikasno. Takođe efikasno izazivaju aglutinaciju i neutrališu virusne partikule. Zbog svoje veličine teško izlaze iz krvi. Pomoću specifičnih veznih mesta sekretorne ćelije u respiratornom i gastrointestinalnom traktu su sposobne da transportuju IgM kroz sluzokožu. IgM se nalaze i na površini sluzokoža, a proizvode se u submukozi. Plazma ćelije putem krvi dospevaju u submukozu digestivnog, respiratornog trakta i tu pored IgA, sintetišu i IgM (Stojić 2004).

Imunoglobulini A (IgA) predstavljaju klasu imunoglobulina koja je posle IgG najzastupljenija u kolostrumu. Primarna uloga ove klase imunoglobulina je zaštita sluzokoža. Važno je da ždrebe u dovoljnoj količini posisa kolostrum od majke, sa kolostrumom će uneti dovoljnu količinu sIgA koja će prekriti sluzokožu digestivnog trakta i zaštititi je od mikroorganizama sa kojim mladunče dolazi u kontakt u prvim nedeljama života (Abbas i sar., 2000).

Najviše imunoglobulina A se sintetiše od strane plazma ćelija u mukozni. Dnevna produkcija sekretornih IgA je veća nego proizvodnja bilo kojeg drugog izotipa imunoglobulina, verovatno zbog dužine samog gastrointestinalnog trakta (Abbas i sar., 2000). Najveća invazija patogena nastaje ingestijom ili inhalacijom. U crevima sekretorni IgA vezuju patogene organizme i sprečavaju njihovo vezivanje za ćelije sluzokože (Goldsby i sar., 2003).

Imunoglobulini E (IgE) su klasa imunoglobulina koja je najmanje zastupljena u serumu zdravih konja. Imunoglobuline E klase, kao i imunoglobuline A, sintetišu plazma ćelije ispod površine sluzokože (Tizard, 1996). Primarna uloga IgE je aktivacija mastocita, što je karakteristično za hipersenzitivne reakcije kao što su urtikarija ili anafilaktički šok. Takođe su odgovorni za imunitet protiv parazita, naročito helminata.

Svaka klasa imunoglobulina, naravno, ima svoju ulogu u zaštiti, kako kobile, tako i ždrebeta. Optimalna funkcija imunološkog sistema kobile je neophodna da bi donela na svet zdravo i vitalno ždrebe. Pošto je posteljica kobile epiteliohorialnog tipa, nema značajnog transfera imunoglobulina kroz nju u toku graviditeta (Jeffcott, 1974). Glavni izvor imunoglobulina od strane kobile za ždrebe, dakle, predstavlja kolostrum.

2.1.2. Pasivni transfer kolostralnih imunoglobulina

Transfer maternalnih antitela na novorođene životinje putem kolostruma navodi još Erlich 1892. godine. Howe (1921) je ovu pojavu ispitivao detaljnije i došao do zaključka da se molekuli imunoglobulina kod novorođenih životinja apsorbuju celi, bez promena u njihovoj strukturi. Brambell (1958) i Simpson-Morgan i Smeaton (1972), ukazuju na razlike između pojedinih vrsta životinja u dužini vremena kada je moguća ovakva apsorpcija. Lecce (1964) uvodi termin “zatvaranje sluznice”, za prestanak apsorpcije molekula imunoglobulina kroz sluzokožu creva novorođenčeta. Koncept zatvaranja se pominje i kasnije (Lecce i Broughton (1973), u definiciji po kojoj zatvaranje sluznice predstavlja prestanak unosa putem pinocitoze.

Pasivni imunitet se stiče uzimanjem kolostruma i apsorpcijom intaktnih molekula imunoglobulina kolostruma u crevima. Ovo je omogućeno niskom aktivnošću proteolitičkih enzima u digestivnom traktu u prvim satima po rođenju, kao i prisustvom tripsin inhibitora u kolostrumu. Kolostralni imunoglobulini se preko C terminalnog kraja vezuju za specijalizovane Fc receptore (FcRn) na površini intestinalnih epitelnih ćelija jejunuma i ileuma i apsorbuju pinocitozom. Ovako apsorbovani intaktni molekuli IgG najpre dospevaju u limfotok, a zatim u cirkulaciju. Ovo traje relativno kratko vreme i opada linearno sa vremenom (Stojić i sar., 1995, 1998; Bush i sar; 1980). Iako se u nekim slučajevima i pre ždrebljenja može utvrditi izvestan stepen produkcije antitela u organizmu fetusa, ždrebad se uglavnom rađaju bez imunoglobulina, zbog difuzne epiteliohorionske placente kobile koja intrauterino ne dozvoljava transfer njenih imunoglobulina fetusu (Jeffcott, 1974). Kolostrum kobila je jedini izvor imunoglobulina za novorođeno ždrebe, jer difuzna epiteliohorijalna placenta ne propušta antitela u toku graviditeta (Mc Guire i Crawford, 1973; Steven i Samuel, 1975; Perryman i sar., 1980). Novorođena ždrebad su sposobna da apsorbuju različite klase i

podklase kolostralnih imunoglobulina putem specijalizovanih ćelija koje se nalaze u tankim crevima u prvih 18-24 časa posle rođenja, pri čemu posle ovog vremena apsorpcije intaktnih imunoglobulina više nema i može doći do poremećaja u pasivnom transferu (McGuire i Crawford, 1973; Jeffcott, 1974; Morris i sar., 1985; Saikku i sar., 1989; Waelchli i sar., 1990; Sheoran i sar., 2000), što je glavni predisponirajući momenat u nastanku sepse ždrebad u periodu od rođenja do 4. meseca starosti.

Transfer imunoglobulina i ostalih odbrambenih faktora kod ekvida odigrava se preko kolostruma. Premda su novorođena ždrebad imunokompetentna po rođenju, primarni imunski odgovor zahteva otprilike dve nedelje da bi obezbedio zaštitu. Pasivan imunitet dobijen iz kolostruma majke je, shodno tome, od suštinske važnosti za sprečavanje infekcija u periodu od izlaganja patogenim mikroorganizmima do razvitka zaštitnog (protektivnog) imunskog odgovora.

Kolostrum je sekret mlečne žlezde koji počinje da se stvara otprilike četiri nedelje pre ždrebljenja. U početku ovaj sekret po boji i konzistenciji podseća na krvni serum od koga i potiče. Očiglednije promene u izgledu i intenzitetu sekrecije uočavaju se dve nedelje pred ždrebljenje, pri čemu se u pojedinim slučajevima najdinamičnije promene na mlečnoj žlezdi zapažaju bukvalno 24-48 časova pred ždrebljenje. Vrednost kolostruma se prvenstveno meri količinom imunoglobulina, koja odražava imunski status kobile. Na njen imunski status utiče okruženje u kojem boravi i antigeni izazovi kojima je bila izložena. Zbog toga bi bilo veoma korisno da kobile razumno vreme pre ždrebljenja provedu u istim ambijentalnim uslovima u kojima će se i oždrebiti, kako bi njihov imuni sistem optimalno odgovorio na sve bitne antigene ambijenta. Stvaranje kolostruma je, najintenzivnije tokom poslednje dve nedelje graviditeta i pod direktnim je uticajem estrogena i progesterona.

Kolostrum sadrži mnogo veću koncentraciju antitela nego serum ili inicijalni sekret mlečne žlezde. Samo ždrebljenje, pri tome, dovodi do značajnog povećanja imunoglobulinskog sadržaja kolostruma, znatno iznad nivoa u predporođajnom kolostrumu. Dokazano je, naime, da nivo ukupnih globulina u kolostrumu neposredno pre ždrebljenja može da poraste za preko 65 odsto (od 94 g/l na preko 140 g/l) tokom 20-minutnog perioda oko ždrebljenja (Giguere i Polkes, 2005; Johnson, 2007; Butler 1974).

Kolostrum sadrži veći broj solubilnih i celularnih komponenti koje igraju veoma značajnu ulogu u neonatalnom imunitetu i sazrevanju crevnog epitela. Solubilne komponente uključuju, između ostalih, imunoglobuline, hormone, faktore rasta, citokine, laktoferin i različite enzime. Celularne komponente uključuju limfocite, makrofage, neutrofile i epitelijalne ćelije (Bernoco, 1994; Demmers i sar., 2001; Donovan i sar., 2007). Kod konja su samo imunoglobulini sveobuhvatno proučavani. Imunoglobulini se prenose iz krvi kobile u sekret mlečnih žlezda preko selektivnih Fc γ receptora na površini epitelijalnih ćelija. Ne postoji korelacija između koncentracije imunoglobulina u serumu i kolostrumu kobilica, što navodi na zaključak da se imunoglobulini verovatno sintetišu i u samoj mlečnoj žlezdi (Becht i Semrad, 1985).

Većina kobilica proizvodi između 1,8 i 2,8 litara kolostruma. Najvažniji imunoglobulin u kolostrumu kobilica je IgG, uz manje učešće IgA i IgM. Dominantna potklasa IgG je IgGb, koju prate IgGa i IgG(T) (Giguere i Polkes, 2005). Koncentracija IgA rapidno opada u prvih osam sati po ždrebljenju i postaje zanemarljiva u roku od 12 do 24 sata ukoliko ždrebe aktivno sisa. Na koncentraciju IgG u kolostrumu utiču i drugi faktori, kao što su rasa i starost. Tako su najviše koncentracije IgG u kolostrumu registrovane kod kobilica starih između 3 i 10 godina (Giguere i Polkes, 2005; Johnson, 2007).

Pošto sepsa predstavlja jedan od glavnih razloga za uginuće ždrebadi, razumevanje pasivnog transfera kolostralnih antitela ima izuzetan značaj. Pored tradicionalnog shvatanja da kolostrum ima primarnu ulogu u transferu IgG, novije shvatanje podrazumeva pored ovoga, da kolostrum ima ulogu da obezbedi zdravu imunsku barijeru između bakterija u lumenu creva i ždrebeta na gastrointestinalnoj mukozni. Kolostrum je važan izvor IgG, ali sadrži i druge biološki aktivne proteine, imuno modulatore i pro i anti inflamatorne substance. Ovaj „eliksir“ je namenjen za novorođenčeta koje još nije razvilo svoj imuni sistem u potpunosti. Veliki broj sastojaka u kolostrumu iniciraju ili povećavaju zaštitnu funkciju kod novorođenčeta koja je slabo razvijena. Činjenica je da bi bez nekih sastojaka u kolostrumu, razvoj nekih imunoloških funkcija kod ždrebadi zakasnio (sazrevanje neutrofila kod konja). Funkcije imunog sistema, koje nedostaju kod novorođenog ždrebeta nadoknađuju se uz pomoć kolostruma. Odbrambeni faktori iz kolostruma duže preživljavaju u digestivnom traktu nego faktori dobijeni iz plazme. Takođe odbrambeni faktori iz kolostruma štite bez izazivanja inflamacije, a neki sastojci

inhibiraju inflamaciju. U kolostrumu se nalaze i materije koje menjaju fiziologiju i biohemiju gastrointestinalnog trakta sa fetalnog na ekstrauterinu. Na kraju, možda i najvažnija činjenica jeste da faktori rasta iz kolostruma povećavaju proliferaciju komensalnih bakterija u crevima. Gastrointestinalni trakt predstavlja najčešće vrata za ulazak patogena, a faktori iz kolostruma preveniraju naseljavanje, proliferaciju i invaziju patogena što je važno u zaštiti od sepse (Reber i sar., 2008; Palmer, 2010).

U kolostrumu se nalaze antimikrobni faktori kao laktoferin (vrši bakteriostazu helacijom gvožđa), laktofericin (ubija bakterije), lizozim (bakterioliza degradacijom peptidoglikana), MUCI (inhibira vezivanje *E. coli* za epitelne ćelije), laktadhedin (vezuje viruse), oligosaharidni glikokonjugati (analozni receptora koji sprečavaju vezivanje patogena i toksina za epitelne ćelije), monogliceridi i masne kiseline (prekidaju omotače virusa, odbrana protiv *Giardie*). Tu se, naravno, nalaze i ostali faktori koji su ne manje značajni, kao što su PAF acetilhidrolaza (enzim koji degradira faktor aktivacije trombocita). Faktor aktivacije trombocita (PAF) je važan proinflamatorni medijator u gastrointestinalnom traktu i njegov nivo je visok kod novorođenčadi. Ovaj enzim štiti ćelije mukoze od oštećenja koje uzrokuje PAF, tako što ga razgrađuje). Eritropoetin nadalje, štiti epitelne ćelije od apoptoze, a epidermalni faktor rasta igra važnu ulogu u funkciji mukozne barijere (Reither, 1978; Swart i sar., 1998; Giguere i Polkes, 2005; Barton i sar, 2006; Adlerova i sar. 2008; Palmer, 2010).

U studiji koju su uradili Maria Claudia Curadi i sar. (2007), ispitivane su vrednosti imunoglobulina pojedinačnom radijalnom imunodifuzijom (SRID) u serumu kobilu, njihovom kolostrumu i koncentracija imunoglobulina u serumu ždrebadi. Koncentracija IgG 30 dana pre porođaja iznosila je 24,61 g/l; 22,63 - 15 dana pred porođaj; 22,95 g/l nedelju dana pred porođaj i 20,2 g/l u momentu porođaja, sa tendencijom opadanja pred sam porođaj. Posle porođaja, 12 sati kasnije, koncentracija imunoglobulina iznosi 20,5 g/l, da bi između 24-48 časova pala na 19 g/l. Kohn i sar. (1989) su 12 sati nakon ždrebljenja utvrdili vrednosti koje su iznosile 24,63 g/l. Slične vrednosti su registrovali Lavoie i sar., (1989).

Koncentracija imunoglobulina u kolostrumu predstavlja logičan odraz serumske koncentracije imunoglobulina (Maria Claudia Curadi i sar., 2007) – neposredno posle porođaja iznosila je 88,67 g/l; 3 sata po porođaju 65,73 g/l; 6 sati posle porođaja 12,83 g/l;

posle sledećih 6 časova (12 časova posle porođaja) pada na 6,59 g/l, da bi 24 časa posle porođaja pala na 2,05 g/l. Ispitivanjem koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu ždrebadi, isti autori su u 3 sata po rođenju utvrdili 2,11 g/l, da bi 18 časova po rođenju koncentracija Ig iznosila 21,06 g/l; posle 24 časa 17,98 g/l, malo manje posle 48 časova (17,16 g/l), da bi trećeg dana po rođenju pala na 14,46 g/l i sedmog na 11,72 g/l.

Nedovoljan transfer kolostralnih imunoglobulina ima za posledicu povećanu prijemčivost na infekcije izazvane, u prvom redu patogenim i fakultativno patogenim bakterijama iz okruženja, koje ne ugrožavaju normalne životinje (Giguère i Polkes, 2005., Kalinbacak i sar., 2005). Neki autori smatraju da je nedovoljan pasivni transfer jedan od glavnih predisponirajućih faktora za nastanak neonatalne sepse ždrebadi (Fairfield i Zent, 2009; Sanchez, 2007).

Prema nekim podacima, blizu 80% ždrebadi sa nedovoljnim transferom pasivnog imuniteta u neonatalnom periodu ispoljava simptome različitih infekcija, mada drugi autori smatraju da u slučajevima kada se broj ždrebadi sa nižom koncentracijom imunoglobulina od 4 g/l kreće oko 15% (na dobro organizovanim ergelama engleskih punokrvnih konja), svega oko 2% zahteva lečenje (Giguère i Polkes, 2005). Takav stav nameće pitanje pouzdanosti podataka o nedovoljnom transferu antitela. Metode ispitivanja serumske koncentracije imunoglobulina nisu uvek pouzdane, pa odluku o primeni imunoglobulina ili profilaktičkoj upotrebi antibiotika ne bi trebalo doneti olako. Sigurno ugroženim se mogu smatrati prevremeno rođena ili prenešena ždrebadi, ždrebadi izložena placentitisu, tromi i spora pri ustajanju i sisanju i kod njih bi trebalo učiniti sve da se nivo serumskih imunoglobulina poveća iznad 4 g/l (Baldwin, 1992; Giguère i Polkes, 2007; Brewer i sar., 1988; McClure, 1990). Podaci o pojavi parcijalnog ili kompletnog izostanka pasivnog transfera variraju od 3 do 37,8%. Ovo veliko variranje pokazuje da su uslovi na farmama kao i menadžment na farmama različiti. To svakako nije jedini faktor, postoje i drugi faktori rizika, koji uključuju mesec ždrebljenja, zdravstveno stanje kobile, starost kobile i sadržaj imunoglobulina u kolostrumu. U mnogim slučajevima je dobro vođena dokumentacija o peripartalnim događajima, ispitivanjima i analizama vršenim u tom periodu od velike važnosti za rano prepoznavanje slučajeva neadekvatnog pasivnog transfera. U najvećem broju slučajeva utvđeno je da je kobila

gubila kolostrum nekoliko dana pre ždrebljenja, što rezultira gubitkom imunoglobulina i ostalih sastojaka ovog „eliksira“.

Na loš pasivni transfer utiču razni faktori, pre svega nedovoljna količina IgG u kolostrumu, nemogućnost uzimanja kolostruma i nemogućnost apsorpcije (Clabought i sar, 1991). Nemogućnost kobile da proizvede kolostrum može se javiti iz više razloga:

Prevremeni porođaj - podrazumeva porođaj pre očekivanog vremena. U većini tekstova se pod prevremenim porođajem smatra porođaj pre 320. dana graviditeta. Takođe se u većini radova kao normalna dužina graviditeta pominje dužina od 334-340 dana. Ovo je naravno prosečna vrednost, ali svaka kobile ima svoju individualnu dužinu graviditeta i ona može iznositi od 315-390 dana. Ako je za neku kobilu normalna dužina graviditeta 365 dana, prevremeni porođaj bi bio i 340 dana (Palmer, 2005).

Ozbiljna oboljenja kobile u toku gestacije često dovode do neadekvatne produkcije kolostralnih imunoglobulina. Opstruktivno oboljenje pluća, na primer, dovodi do nedovoljnog snabevanja kiseonikom i do insuficijencije placente. Takođe smanjen krvni pritisak u šoku dovodi do smanjene cirkulacije u materici i takođe do insuficijencije placente. Pojava endotoksemije i gram-negativne sepse dovodi do prevremenog porođaja. U slučaju hroničnog laminitisa, infekcija ili neoplazija, tj. oboljenja koja dovode do hroničnih iscrpljujućih stanja, takođe dolazi do produkcije kolostruma lošeg kvaliteta (Pamela Wilkins, 2006).

Placentitis predstavlja vrlo čest razlog abortusa u kasnijoj fazi graviditeta, sa znacima ranog nalivanja vimena kod kobile, prevremene laktacije, zadebljanja cerviksa i pojave vaginalnog iscetka. Uzročnik najčešće dolazi ascendentnim putem, ređe hematogeno, poput nekih bakterijskih i virusnih agenasa, kao što su konjski herpesvirus 1 i virus atrteritisa (Wilkins, 2006). Prethodno navedena stanja dovode do prevremene laktacije i proizvodnje kolostruma lošeg kvaliteta.

Blizanački graviditet takođe predstavlja faktor odgovoran za gubitak ždrebadi i neadekvatnu produkciju kolostralnih antitela. Kobile su jedinstvene po tome što ne mogu da donesu dva ploda. U najmanju ruku razlozi za to nisu u potpunosti jasni – po svemu sudeći u ovakvim slučajevima dolazi do kompeticije dva ploda za uteroplacentarne veze, kompeticije za hranljive sastojke i kiseonik, kompeticije za prostor u materici i

značajno se povećava rizik od distokije (Palmer 2004). Le Blanc i sar. (1992) navode podatak da se nedovoljan kolostralni transfer javlja češće kod ždrebadi koja su rođena u periodu između januara i marta na severnoj hemisferi.

Količina IgG u kolostrumu je veća kod kobila između 3 i 10 godina starosti, dok su vrednosti IgG veće kod engleskih punokrvnjaka i arapskih kobila nego kod polukrvnih kobila. Važna je i količina kolostruma, jer kobila može proizvesti i kolostrum sa manje IgG - ako je količina kolostruma veća neće se javiti problem sa pasivnim transferom (Debra Selon, 2006). Kvalitetan kolostrum treba da bude gust i lepljiv, žućkaste boje. Ovakav kolostrum sadrži IgG u koncentraciji većoj od 30 g/l. Kvalitet kolostruma se meri kolostrometrom (Kohn i sar., 1989; Jeffcott, 1972,1974,; LeBlanc, 1988, 1992).

Drugi razlozi nedovoljnog unosa kolostralnih imunoglobulina su vezani za ždrebadi: porođajem iscrpljena ili avitalna ždrebadi, odsustvo refleksa sisanja, ždrebadi bez majke, urođene anomalije lokomotornog sistema kao što su kontrakture tetiva, nemogućnost stajanja, povrede ždrebeta tokom ždrebjenja, ako ždrebe ne prihvati kobila itd. Vreme uzimanja kolostruma takođe utiče na količinu apsorbiranih imunoglobulina. Uzimanje kolostruma bogatog IgG nakon 12 sati od rođenja daje manju količinu igG u serumu zbog slabije apsorpcije (Kohn i sar., 1989; Jeffcott, 1974,1985; LeBlanc, 1992).

2.1.3. Procenjivanje imunoglobulinskog statusa novorođene ždrebadi

Procena imunog statusa kod novorođene ždrebadi ima veliki značaj u dijagnostici, predviđanju i preveniranju neonatalnih infekcija. U svim slučajevima infekcije, ne samo u prvih nekoliko dana već tokom prvih mesec dana, treba posumnjati na poremećaj pasivnog imuniteta. Na žalost, precizna dijagnostika nije jednostavna i uglavnom zavisi od dostupnosti dobro opremljenih laboratorija. Dok se ne razviju metode za dijagnostikovanje kvaliteta IgG, koristimo se merenjem količine IgG za merenje pasivnog transfera (Giguère i Polkes, 2005; Jeffcott, 1985; LeBlanc, 1991). Watson (2009) smatra da količina imunoglobulina manja od 2 g/l govori o nedovoljnom pasivnom transferu, premda neki autori smatraju da je i 4 g/l nedovoljno. Do delimičnog – nedovoljnog transfera kolostralnih antitela dolazi češće nego do potpunog izostanka transfera. Nedovoljni transfer se definiše kao stanje kada je nivo IgG u serumu ždrebeta manji od

4 g/l, premda neki autori smatraju da su nedovoljne i koncentracije imunoglobulina od 4-8 g/l (Giguère i Polkes, 2005; Jeffcott, 1985; LeBlanc, 1991; Trailović i sar.; 2000, 2003). Količine od 8 g/l i više govore o dobrom pasivnom transferu.

Procenjivanje imunoglobulinskog statusa predstavlja važnu preventivnu meru koja se na ergelama obično obavlja od 12-72 sata posle ždrebljenja, premda bi bilo još korisnije kada bi se pregled obavio već posle 6 do 12 sati, pre svega kod ugrožene ždrebadi. Pravovremena procena nedovoljnog transfera kolostralnih imunoglobulina omogućava peroralno dodavanje dodatnih količina kolostruma. Dodatnu količinu kolostruma trebalo bi dati ugroženoj ždrebadi ukoliko se utvrdi da je koncentracija IgG u krvnom serumu uzetom 6 do 12 sati po rođenju manja od 4 g/l (Trailović i sar., 2000, 2003; Giguere i Polkes, 2005; Erhard i sar., 2001; Metzger i sar. 2006; Patric i sar., 2007).

Na tržištu postoji više brzih ELISA testova. Najčešće se koristi SNAP foal IgG test. Rezultati se dobijaju iz pune krvi ili plazme. To je ELISA polukvantitativni test koji daje rezultate manje od 4 g/l, 4 g/l, 4-8 g/l, 8 g/l i više od 8 g/l. Rezultat se dobija za desetak minuta. Ovaj test je jednostavan za primenu u praktičnim – terenskim uslovima. Upoređujući ga sa radijalnom imunodifuzijom, utvrđeno je da je to odličan test za dijagnostikovanje poremećaja u pasivnom transferu kod novorođene ždrebadi u prvim satima života (Pusterela i sar., 2002).

Horse Ig One-Step EVL diagnostic division je drugi tip testa. Ovaj test se koristi kao rutinski skrining test koji se može uraditi za nekoliko minuta u terenskim uslovima. On detektuje imunoglobuline konja metodom brze imunohromatske analize. Koristi se serum ili plazma. Rezultat koji se dobija je pozitivan (>8 g/l imunoglobulina), slabo pozitivan (5-8 g/l) i negativan (<5 g/l).

Test zamućenja cink sulfata se koristi za merenje ukupne koncentracije imunoglobulina u serumu. Ako se koristi plazma dobijaju se veće vrednosti jer se meri i fibrinogen. Test je brz, potrebno je oko 1 čas da se dobije rezultat, lak je za korišćenje, dobijaju se dosta pouzdani rezultati. Bazira se na precipitaciji imunoglobulina cinkom, što rezultira zamućenjem. Merenje se može vrši fotometrijom ili vizuelno. Za vizuelno procenjivanje se koristi još i poređenje sa serumom kobile. Kod ovog testa reagens je nestabilan. Mala hemoliza može dati falš pozitivan rezultat. Serum kobile treba koristiti kao kontrolu (Richer i Lohmann, 2005).

Radijalna imunodifuzija je najverovatnije najprecizniji test za određivanje koncentracije IgG u serumu novorođene ždrebadi. Test je skup, zahteva laboratorijske uslove i potrebno je 24 časa za dobijanje rezultata. To je kvantitativni test koji se koristi za određivanje koncentracije imunoglobulina u serumu novorođene ždrebadi, a takođe se može koristiti za testiranje kvaliteta kolostruma (Richer i Lohmann, 2005).

Imunoturbidimetrijski test se takođe koristi za određivanje koncentracije IgG. Bouer i Brooks (1990) su upoređivali koncentraciju IgG u serumu ždrebadi dobijenu imunoturbidimetrijom sa rezultatima dobijenim radijalnom imunodifuzijom, kao i sa koncentracijom proteina dobijenom elektroforezom. Dobili su pozitivnu korelaciju sa obe metode i došli do zaključka da se ova metoda može koristiti uspešno za ispitivanje koncentracije IgG u serumu novorođene ždrebadi. To je kvantitativna metoda kojom se koncentracija antigena određuje na osnovu apsorpcije svetlosti od strane solubilnih imunih kompleksa.

Neki kliničari koriste i druge metode, kao što su, na primer, merenje ukupnih proteina refraktometrijom, čime se utvrđuje razlika u koncentraciji proteina pre i posle podoja. Nešto ređe se koriste Lateks aglutinacioni test, test sa glutaraldehydom i elektroforeza (Beetson i sar. 1985; Sugiura i sar., 1997; Richer i Lohmann, 2005).

Korisni podaci se dobijaju i testovima koji se koriste za rutinsku procenu ukupnog zdravstvenog stanja ždrebadi, poput uobičajenih hematoloških i biohemijskih ispitivanja krvi kod ždrebadi ili kolostruma i mleka kobila. To se pre svega odnosi na proteinske frakcije krvnog seruma ždrebadi (Bertone i sar, 1988).

Krvni serum sadrži sve proteine plazme izuzev fibrinogena i faktora koagulacije V i VIII, koji se troše prilikom formiranja koaguluma. Elektroforetskim razdvajanjem dobijaju se frakcije i to albumini, globulini (α , β i γ globulin). Postoji širok raspon fizioloških vrednosti kod klinički zdravih jedinki. Prvi razlog tome su široke individualne varijacije vrednosti koje zavise od pola, starosti, uslova držanja, a drugi razlog su svakako, različiti uslovi izvođenja elektroforeze (Stojić, 2004).

Albumini i većina globulina (α i β globulini) sintetiše se u jetri. Imunoglobuline sekretuju plazma ćelije u mnogim tkivima, posebno u limfatičnim organima. Najvažnija

funkcija albumina je da održavaju koloidosmotski pritisak, kao i prenošenje velikog broja neorganskih, organskih i biološki aktivnih sastojaka krvnog seruma.

Globulini se dele u nekoliko elektroforetskih frakcija - α , β i γ globulin. Alfa globulini se dele na α -1 i α -2 globulin. Uloge su im razne i u najznačajnije komponente ove frakcije ubrajaju se alfa 1 - alfa 2 lipoproteidi, glikoproteidi, alfa 2 metal protein ili ceruloplazmin, kao i neke komponente koje učestvuju u koagulaciji krvi. U beta globuline spadaju transferin, takođe neki faktori koagulacije (Kristmasov faktor, antihemofilni globulin, plazminogen i dr.). Gama globulinsku frakciju, pri tome, najvećim delom čine imunoglobulini G klase (IgG).

Julian Stickle i saradnici (1994) su ispitivali proteinske frakcije kod novorođenih divljih unglata. I divlji unglati takođe zavise od pasivnog transfera koji se vrši kolostrumom, tako da je i kod ovih životinja vrednost gama globulinske frakcije mala kod novorođenih životinja koje nisu posisale kolostrum. Svakako da su i ovde zabeležene vrednosti gama globulina niže kod mladunčadi koja nisu preživela.

Koristan pokazatelj koncentracije albumina i globulina u kliničkoj patologiji jeste albuminsko-globulinski količnik (A/G), koji predstavlja odnos koncentracije albumina i globulina u krvi. Ako se koncentracije albumina i globulina menjaju u istom pravcu ovaj količnik se obično ne menja, dok se menja ako se promeni vrednost jedne frakcije (Stojić, 2004). Bauer (1990) je pokazao da se albuminsko-globulinski količnik može koristiti kao parametar koji pokazuje da li je ždrebe dobilo adekvatnu količinu kolostruma, tj. sastojaka koji se nalaze u kolostrumu.

Vrednosti pojedinih frakcija serumskih proteina su takođe korisne. Bauer (1990) iznosi podatke o vrednostima proteina i proteinskih frakcija u serumu ždrebadi u prvim danima života, pri čemu je prvi uzorak uzet u starosti manjoj od 12 sati, zatim u starosti od 1, 2 i 7 dana. U momentu uzimanja prvog uzorka, dakle, ždrebadi su najverovatnije dobila kolostrum. Bauer, osim toga, navodi i vrednosti albuminsko-globulinskog količnika (tabela 1).

Sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina kod novorođene ždrebadi tokom prvih sedam života ispitivali su Maria Claudia Curadi i sar., (2007). Pre uzimanja kolostruma ovi autori su ustanovili niže vrednosti ukupnih proteina, relativno visok sadržaj

albumina i nizak sadržaj globulina, prvenstveno zbog odsustva gama globulina. Nakon uzimanja kolostruma, pri tome, dolazi do povećanja koncentracije ukupnih proteina i globulina, na račun apsorbiranih gama globulina iz majčinog kolostruma. I drugi autori navode slične vrednosti albumina i globulina (Rumbaught i sar., 1978; Curadi i Orlandi, 1999) itd.

Tabela 1. Koncentracija ukupnih proteina, albumina i globulina u serumu ždrebadi

Koncentracija proteina u krvnom serumu ždrebadi				
Starost	U. proteini (g/l)	Albumini (g/l)	Globulini (g/l)	A/G
<12 h	40-79	27-39	11-48	0,7-2,8
1 dan	43-81	25-36	15-46	0,6-1,9
2 dana	44-76	28-37	16-45	0,7-2,1
7 dana	44-68	27-34	16-39	0,7-1,8

(Bauer, 1990)

Tabela 2. Koncentracija pojedinih frakcija serumskih proteina u novorođene ždrebadi

Frakcije serumskih proteina (g/l)						
Starost	Albumini	Alfa-1 globulini	Alfa-2 globulini	Beta-1 globulini	Beta-2 globulini	Gama-globulini
<12 h	23-42	1-2	1-9	1-6	1-6	1-29
1 dan	20-50	0-2	3-9	4-17	3-10	3-29
2 dana	15-37	2-3	4-14	5-16	2-5	2-29
7 dana	18-38	3-7	4-13	5-14	3-14	2-22

(Bauer, 1990)

Nakon uzimanja kolostruma i apsorpcije kolostralnih imunoglobulina dolazi do značajnog povećanja koncentracije globulina, koje uz stagnaciju sadržaja albumina menja albuminsko/globulinski količnik (Curadi i sar., 2007). Albuminsko-globulinski

količnik je indirektni pokazatelj pasivnog transfera imunoglobulina (Kotebra i sar., 1990; Bauer i Brooks, 1990; Trumel i sar., 1996).

I podaci o koncentraciji protinskih frakcije u serumu ždebnih kobila mogu biti korisni. Curadi i sar. (2007) su ispitivali vrednosti proteina u serumu ždebnih kobila tokom poslednje tri nedelje pre partusa i ustanovili porast koncentracije gama globulina - sa 13,8 g/l tri nedelje ranije na 15,7 g/l u momentu porođaja, kada je na gama globuline otpadalo 23% ukupnih proteina. Vrednosti ostalih frakcija serumskih proteina osciliraju poslednjih nekoliko nedelja pred partus, bez većih pravilnosti (Rumbaught i sar., 1978; Curadi i Orlandi, 1999).

Indirektni, mada korisni indikatori pasivnog transfera kolostralnih imunoglobulina mogu biti i ostali hematološki i biohemijski parametri krvi, koji se u prvom redu smatraju indikatorima zdravstvenog stanja uopšte.

Harvey (1990) iznosi podatke o vrednostima hematoloških parametara kod novorođene ždebadu na osnovu dve studije sprovedene na univerzitetu u Floridi. On je potvrdio da se vrednosti hematoloških parametara kod novorođene ždebadu menjaju u prvim danima života. Ove promene su normalne u razvoju ždebadu i treba ih razlikovati od promena koje se javljaju kod nekih oboljenja neonatalne ždebadu.

Hematokritska vrednost i hemoglobin rastu u toku fetalnog razvoja i dostižu nivo kao kod odraslih konja oko 300. dana gestacije. Za razliku od mnogih drugih sisara, konjski fetalni i adultni hemoglobin se ne razlikuju strukturno. Uprkos odsustva ove razlike, fetalna krv konja ima veći afinitet prema kiseoniku od krvi majke, jer ima niži nivo 2,3-difosfoglicerata od krvi majke. Ovo omogućuje transport kiseonika iz placente prema fetusu.

Harvey (1990) je uočio da su koncentracija hemoglobina i hematokritska vrednost u prvih 30 minuta po rođenju veće, uz osetan pad u naredne 2 nedelje. Ovo opadanje prvog dana života delom je posledica osmotskog efekta apsorbiranog kolostralnog proteina. Sa ekspanzijom volumena krvi eritrociti se razređuju, što rezultira smanjenjem hematokrita. U trenutku rođenja broj eritrocita je najčešće iznad ili na nivou normalnih vrednosti kod odraslih konja, pri čemu tokom prvog dana počinje da opada, uz istovremeno smanjenje vrednosti MCV i relativno konstantne vrednosti MCHC. Pad

broja eritrocita obično prati i porast koncentracije indirektnog bilirubina što ukazuje na povećano raspadanje eritrocita.

Mlade životinje kao i deca, generalno gledajući, imaju niže vrednosti hematokrita i hemoglobina nego što su one izmerene kod odraslih jedinki. Ovo stanje se naziva fiziološkom anemijom i u njenom nastajanju su uključeni razni faktori. Stimulusi za produkciju eritrocita su na rođenju slabi. Naime, transfuzija krvi iz placente na rođenju povećava količinu eritrocita kod ždrebadi i isključuje potrebu za podsticanjem hematopoeze. Isto tako, parcijalni pritisak kiseonika se povećava posle rođenja, povećava se i saturacija hemoglobina kiseonikom, pa tako dolazi do smanjenja stimulusa za produkciju eritropoetina (Harvey 1990).

Eritrociti koji su formirani u fetalnom periodu žive kraće nego oni proizvedeni posle rođenja. Broj eritrocita zbog toga opada u prve dve nedelje života. Takođe, snabdevanje gvoždem nije baš dovoljno za maksimalnu produkciju eritrocita, ali se retko klinički manifestuje nedostatak gvožđa.

Afinitet krvi fetusa i novorođenog ždrebeta prema kiseoniku je veća jer je nivo 2,3-difosfoglicerata niži. U toku prvih pet dana života ovaj afinitet prema kiseoniku se smanjuje, jer se povećava koncentracija 2,3 DPG-a u eritrocitima (Harvey, 1990).

Harvey (1990) je takođe ispitivao broj leukocita kod ždrebadi u prvim danima života (tabela 3).

Tabela 3. Ukupan broj leukocita i leukocitarna formula ždrebadi u prvih 7 dana života

	Normalan broj leukocita u novorođene ždrebadi					
Starost	Leukociti (x 10 ⁹ /l)	Neutrofil (x 10 ⁹ /l)	Limfociti (x 10 ⁹ /l)	Monociti (x 10 ⁹ /l)	Eozinofili (x 10 ⁹ /l)	Bazofili (x 10 ⁹ /l)
<12 h	6,9-14,4	5,55-12,38	0,46-2,54	0,04-0,43	0	0-0,02
1 dan	4,9-11,7	3,36-9,57	0,67-2,12	0,07-0,39	0-0,02	0-0,03
3 dana	5,1-10,1	3,21-8,58	0,73-2,17	0,08-0,58	0-0,22	0-0,12
1 nedelja	6,3-13,6	4,35-10,55	1,43-2,28	0,03-0,54	0-0,09	0-0,18

(Harvey, 1990)

Broj neutrofilnih granulocita raste u prvih 12 sati posle rođenja do $8,0 \times 10^9/l$, verovatno zbog oslobađanja glukokortikoida. Postoje i individualne varijacije, pri čemu kasnije broj neutrofila opada, da bi sa 6 meseci starosti srednja vrednost bila oko $4 \times 10^9/l$ (Harvey, 1990; Wichtel i sar., 1991).

Broj limfocita raste sa $1,4 \times 10^9/l$ po rođenju do visine od $5 \times 10^9/l$ sa oko 4 meseca starosti. Pošto limfociti rastu a neutrofilni opadaju, neutrofilno/limfocitni količnik generalno opada na 1,0 sa 4 meseca starosti (Harvey, 1990). Broj limfocita manji od $1,0 \times 10^9/l$ smatra se jednim od kriterijuma za dijagnostiku kombinovane imunodeficijencije kod ždrebadi. Ponekad, međutim, i neka normalna ždrebadi imaju ovako niske vrednosti limfocita.

Eozinofila obično nema kod fetusa i ždrebadi na rođenju. Vrednost im je niska do kraja prvog meseca i raste do nivoa od $0,4 \times 10^9/l$ sa 4 meseca starosti (Harvey, 1990). Vrednosti monocita se kreću oko $0,2-0,4 \times 10^9/l$, a bazofila $0,1 \times 10^9/l$.

Prema Harvey-u (1990), ukupna vrednost leukocita i leukocitna formula pokazuju razvijenost njihovog imuniteta. Prerano rođena ždrebadi sa neutropenijom i N/L odnosom manjim od 1,5 u prvih 24 časa života imaju lošu prognozu, dok ona koja imaju normalne vrednosti neutrofila i N/L odnos oko 3 imaju bolje šanse da prežive.

Vrednosti trombocita su relativno konstantne u toku prve godine života i iznose $100-450 \times 10^9/l$ (Harvey, 1990).

Slično hematološkim vrednostima, i vrednosti mnogih biohemijskih parametara se kod ždrebadi u prvim danima života razlikuju u odnosu na odrasle konje. Tracy Bennett Hawthorne (1990) ističe da je normalan nivo bilirubina kod odraslih konja manji od $34,2 \mu\text{mol/l}$, za razliku od novorođene ždrebadi kod koje se prvog dana života kreće u rasponu od $23,77-93,70 \mu\text{mol/l}$, u proseku $44,46 \mu\text{mol/l}$, pri čemu kasnije opada ($14,36-43,94 \mu\text{mol/l}$ sedmog dana). Kaneko i sar., (1997), navode da se vrednosti od $7,1-34,2 \mu\text{mol/l}$ (u proseku $17,1 \mu\text{mol/l}$) mogu smatrati referentnim za ždrebadi.

Bilirubin nastaje primarno degradacijom hemoglobina iz eritrocita. Male količine takođe nastaju katabolizmom ostalih hemoproteina kao što su mioglobin, citohromi i peroksidaze (Koterba, 1990). Iz raspalih eritrocita oslobađa se hemoglobin koji prelazi u krvnu plazmu, gde ga prihvata haptoglobin. Tako vezan hemoglobin kruži u krvi dok ga

ne prihvate ćelije RES-a jetre, slezine i kostne srži. U ovim ćelijama dolazi do odvajanja hema od globina, zatim dolazi do oksidacije jedne metinske grupe, čime se otvara porfirinska struktura. U sledećoj fazi gvožđe se odvaja od ove strukture. Dalja razgradnja porfirinskog lanca bez gvožđa odvija se u mikrozmima RES-a, pomoću enzimskog sistema hemoksigenaze. U ovim ćelijama nastaje biliverdin, žučni pigment zelene boje, a potom se pod uticajem biliverdin-reduktaze, redukuje u žuti pigment bilirubin. Bilirubin se vezuje za albumin krvnog seruma i tako dospeva do jetre (Koterba, 1990; Stojić, 2004).

Bilirubin se na površini hepatocita odvaja od albumina i putem prenosilaca smeštenih u membrani hepatocita unosi u ćeliju i transportuje do glatkog endoplazmatskog retikuluma (Koterba, 1990; Stojić, 2004). Konjugaciju bilirubina katalizuje enzim koji je lokalizovan u glatkom endoplazmatskom retikulumu hepatocita. Najveći deo bilirubina se konjuguje sa glukuronskom kiselinom pomoću enzima uridin-difosfat-glukuronil-transferaza (UDPG-T) i tako formira bilirubin mono i diglukuronid.

Konjugovani bilirubin se izlučuje u žučne kanale protiv koncentracionog gradijenta, pomoću nosača, a transport je energetski zavistan. Žučni pigmenti se izlučuju putem žuči u tanka creva. Mali deo konjugovanog bilirubina koji se formira u jetrinim ćelijama vraća se u plazmu, direktno u sinusoidne jetre ili indirektno resorpcijom iz žučnih puteva ili limfom. Posle prolaska kroz žučne kanale u tanko crevo, bilirubin glukuronid se delom hidrolizuje u terminalnom ileumu i kolonu pomoću bakterijske beta-glukuronidaze, dok se u isto vreme bilirubin redukuje u urobilinogen, a potom oksidiše i formira sterkobilin. Mali deo urobilinogena se apsorbuje iz debelog creva i ulazi u enterohepatičnu cirkulaciju. Deo apsorbovanog urobilinogena napušta sistemsku cirkulaciju i biva izlučen preko bubrega (Koterba, 1990; Stojić, 2004).

Kod novorođene ždrebad se javlja fiziološka hiperbilirubinemija. Najčešći uzrok nekonjugovane hiperbilirubinemije – tzv. fiziološke žutice novorođenčadi (*icterus neonatorum*) je ubrzana hemoliza fetalnih eritrocita, zatim nezrelost jetre da prihvati, konjuguje i izluči bilirubin. Ovo se može potvrditi povećanjem nivoa nekonjugovanog bilirubina u serumu novorođenog ždrebeta u prvim danima života (Koterba, 1990).

Uzroci patološke hiperbilirubinemije mogu biti hemolitičke bolesti (dovode do povećane produkcije bilirubina) i bolesti koje nastaju kao posledica hepatobilijarne

disfunkcije (smanjeno izlučivanje bilirubina). Agensi koji izazivaju hepatobilijarnu disfunkciju takođe se mogu podeliti na infektivne, toksične, mehaničke i nasledne faktore (Koterba, 1990). U infektivne agense koji izazivaju oboljenja jetre u prvim danima života spada i infekcija konjskim herpesvirusom 1 (EHV-1). Kobile najčešće pobace u kasnoj gestaciji. Fetus koji su inficirani pri kraju graviditeta obično bivaju mrtvi na rođenju. Mogu se roditi i živa ždrebadi koja su obično na rođenju slaba, ali mogu preživeti nekoliko dana. Patološki nalaz kod ovih životinja obično pokazuje karakteristične pulmonalne lezije i polja hepatične nekroze. Definitivna dijagnoza se postavlja izolacijom virusa iz promenjenog tkiva (Koterba, 1990; Megdasian, 2006).

Hiperbilirubinemija se javlja i kod septikemije. Žutica i hiperbilirubinemija je čest nalaz kod septične ždrebadi. Septikemija može takođe da izazove hepatitis bilo hematogeno ili ascendentno iz bilijarnog trakta. U toksične uzroke spadaju endodoksini, gvožđe, lekovi itd. U mehaničke uzroke spada gastroduodenalni ulkus, koji uzrokuje strikture u duodenumu i dovodi do razvoja holangiohepatitisa. Kao kongenitalni uzroci, na kraju, navode se bilijarna atrezija i hiperlipemija (Koterba, (1990); Megdasian, (2006).

Bauer (1990) ističe značaj holesterola i triglicerida u prvim nekoliko nedelja života kod normalne ždrebadi. Mala hipertrigliceridemija i lipidoza ždrebadi pokazatelj su nezrelosti jetre na rođenju. Jetra sazreva po rođenju i nije u mogućnosti da inkorporira trigliceride u lipoproteine, zbog čega dolazi do njihovog izlaska u plazmu. U tabeli 4 navode se vrednosti holesterola i triglicerida u prvim danima života ždrebeta.

Tabela 4. *Koncentracija holesterola i triglicerida u krvnom serumu ždrebadi*

Koncentracija holesterola i triglicerida u krvnom serumu novorođene ždrebadi		
Starost ždrebeta	Holesterol (mg/dl)	Trigliceridi (mg/dl)
< 12 časova	111-432	24-88
1 dan	110-562	30-193
3 dana	142-350	63-342
5 dana	127-361	52-340
7 dana	139-445	30-239

(Bauer, 1990)

Gvožđe je takođe važan parametar u proceni zdravstvenog stanja ždrebadi. Koncentracija gvožđa u serumu ždrebadi je visoka na rođenju, pri čemu zbog progresivnog opadanja vrlo brzo dolazi do vrednosti koje se smatraju normalnim za odrasle konje. Normalne vrednosti gvožđa u serumu ždrebadi prvih dana života, prema Baueru (1990), prikazane su u tabeli 5.

Isto se odnosi i na kalcijum i fosfor, čija je koncentracija u serumu strogo regulisana složenim homeostatskim mehanizmima organizma, iako u velikoj meri zavisi od unosa putem kolostruma i mleka. Zbog toga je koncentracija i kalcijuma i fosfora kod normalno oždrebljene i zdrave ždrebadi skoro uvek u granicama normale

Tabela 5. *Koncentracija gvožđa u krvnom serumu novorođene ždrebadi*

Koncentracija gvožđa		
Starost	µg/dl	µmol/l
< 1 sata	345-592	61,75-105,97
< 12 sati	262-488	46,89-87,35
1 dan	78-348	13,96-62,29
3 dana	29-191	5,19-34,19
5 dana	21-258	3,76-46,18
7 dana	30-273	5,37-48,87

(Bauer, 1990)

Bauer (1990) navodi da je koncentracija kalcijuma po rođenju veća, uz blagi pad tokom narednih dana, bez napuštanja fizioloških granica za odrasle konje. Slična zapažanja navodi i (Stoneham, 2006), koji uz to ističe blagi porast koncentracije fosfora paralelno sa smanjenjem koncentracije kalcijuma.

Kortizol je posebno važan parametar u proceni zdravstvenog stanja, naročito kod novorođene ždrebadi. Ždrebadi imaju relativno dug gestacioni period, na rođenju su zreli, za 20 minuta do 1 sata po rođenju već stoje i sisaju. Prema Lawrence-u (2006), prelazak sa placentalne ishrane na enteralnu dovodi do anatomskog rasta i diferen-

cijacije gastrointestinalnog trakta, razvoja gastrične i pankreasne sekrecije, kao i funkcionalne apsorbivne adaptacije. Prema istim autorima, razvoj i sazrevanje gastrointestinalnog trakta počinje *in utero* i nastavlja se u toku rasta. Gastrointestinalni trakt i akcesorne žlezde moraju da sekretuju pljuvačku, želudačnu kiselinu, proteolitičke enzime, glikolitičke enzime, kao i žuč. Želudačna i crevna sluzokoža, pri tome, imaju i zaštitnu i apsorbivnu funkciju.

Lawrence (2006) smatra da zadovoljavajuća ishrana novorođenog ždrebeta prevashodno zavisi od optimalne ishrane majke i apsorpcije kolostruma koji sadrži specifične nutrijente, faktore rasta i imunoglobuline. Promene koje nastaju u crevima i pankreasu u prvih 24 časa od rođenja, povećavaju digestiju i apsorpciju sastojaka koji se nalaze u mleku kobile. Sazrevanje organa i priprema fetusa za rođenje u uskoj je vezi sa produkcijom kortizola. Vrednosti kortizola fetusa rastu lagano u poslednjih 30 dana gestacije. U poslednjih 24 do 48 sati pre porođaja vrednosti kortizola rastu brzo, to se nastavlja za vreme porođaja, a pik dostižu otprilike 1 sat po rođenju. Kod fetusa konja vrednosti kortizola rastu pre nego što nadbubrežna žlezda postane senzitivna na ACTH. Na kraju gestacije se povećava osetljivost nadbubrežne žlezde na ACTH, dovodeći do povećanja vrednosti kortizola (Silver, 1990, 1994; Liggins, 1994; Fowden, 1995).

Proces sazrevanja fetalnih organa i mnogih enzimskih puteva pod jakim je uticajem glukokortikoida. Konačno sazrevanje (maturacija) fetalnih bubrega, gastrointestinalnog trakta, kao i maturacija i ćelijska diferencijacija fetalnih pluća dešava se tek nekoliko dana pre rođenja. Premda se surfaktant proizvodi mnogo pre rođenja, ipak se dramatično povećanje proizvodnje surfaktanta dešava neposredno pred sam porođaj. Uticaj kortizola na ovako orkestrirano sazrevanje dešava se u kasnom graviditetu. Ovo se dešava u okviru 48 sati i u tom periodu dolazi do finalnog sazrevanja organa. Ako se ždrebe rodi pre nego što se ova maturacija desi, javlja se prevremeno rođenje bez obzira na vreme provedeno u uterusu. Ova ždrebad imaju niske vrednosti kortizola (Castagneti i sar., 2008).

Lebenthal (1999) smatra da su brzina i stepen sazrevanja gastrointestinalnog trakta genetski zavisni, uslovljeni razvojnim biološkim satom, endogenim regulatornim mehanizmima kao i faktorima sredine. Pod uticajem glukokortikoida dolazi do promena u digestivnom traktu koje uključuju strukturalnu, celularnu i funkcionalnu diferencij-

jaciju. Trahair i sar., (1997) smatraju da pod uticajem kortizola kod prenatalne ždrebadi dolazi do sekrecije želudačne koseline, gastrina, kao i aktivnosti hidrolaza kao što su himosin, amilaza, laktaza i aminopeptidaze. U kolostrumu koje novorođeno ždrebe posisa nalaze se nutrienti, faktori rasta i hormoni koji imaju uticaj na razvoj gastrointestinalnog trakta.

Strukturalna i funkcionalna adaptacija gastrointestinalnog trakta novorođenčeta je takva da obezbeđuje pasivni transfer antitela i uključuje nisku proteolitičku aktivnost u lumen creva i transport makromolekula kroz sluznicu creva.

Fowden i sar., (2002) govore o uticaju kortizola na povećanje glukogeneze kod fetusa u kasnijim fazama graviditeta. Kortizol je važan i za sazrevanje endokrinog sistema u gastrointestinalnom traktu. Kod konja nivo fetalnog kortizola raste kasnije u graviditetu u odnosu na druge vrste životinja. Kod fetusa sistem hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlezda povećava aktivnost u toku poslednjih nekoliko nedelja gestacije (Fowden i sar., 1991). Ovim se može objasniti učestalost prevremeno rođene ždrebadi kao i neonatalna hipoglikemija kod konja.

Silver i Fowden, (1994), ističu da se značajan nivo kortizola može registrovati 2-3 dana pre porođaja. Susan Shaftoe (1990) je ispitivala funkciju kore nadbubrežne žlezde kod gravidnih kobila i kod normalno donešene ždrebadi kao i kod prevremeno rođene ždrebadi. Kod mnogih vrsta je dokazano da je prisustvo kortizola od vitalnog značaja za sazrevanje pluća, gastrointestinalnog trakta, u produkciji sulfaktanta i u deponovanju glikogena u jetri.

Zona fascikulata nadbubrežne žlezde povećava masu tokom gestacije. Studije koje su rađene kod prevremeno rođene ždrebadi pokazuju da ždrebadi duže prežive ako je ova zona šira. Ovo može da znači da je prenatalni rast ovog regiona nadbubrežne žlezde važan za preživljavanje posle porođaja.

Gravidne kobile imaju visok nivo kortizola pre porođaja. Koncentracija kortizola iznosi oko 60 ng/ml (165,54 μ mol/l). Najviši nivo kortizola je zabeležen u vreme porođaja ili neposredno posle i iznosio je oko 87,7 ng/ml (241,96 μ mol/l). Nema korelacije u nivou kortizola kod kobila i njihove ždrebadi (Shaftoe, 1990).

Ispitujući nivo kortizola kod normalno donešene i prevremeno rođene ždrebadi, Susan Shafto (1990) ukazuje na razlike u nivou kortizola kod ove dve grupe ždrebadi. Srednji nivo kortizola kod donešene ždrebadi je bio 80 ng/ml (220,72 μ mol/l), a kod prevremeno rođene 18-19 ng/ml (49,66-52,42 μ mol/l).

Kod donešene ždrebadi u toku prvog sata nivo kortizola je iznosio 69,4 ng/ml (191,47 μ mol/l), da bi posle prvog sata dostigao pik od 120-140 ng/ml (331,08-386,26 μ mol/l), posle čega opada na 60 ng/ml (165,54 μ mol/l) u toku šestog sata po rođenju. Za razliku od pravovremeno rođene, kod prevremeno rođene ždrebadi u istom periodu nivo kortizola je stalno bio nizak i iznosio od 8,4 ng/ml do 30 ng/ml (23,17-82,77 μ mol/l). Posle 2-3 dana kod donešene ždrebadi nivo kortizola na bazalnom nivou je 27,5 ng/ml (75,87 μ mol/l).

Nedovoljan pasvni imunitet, generalno, nije oboljenje samo za sebe, pa tako ne postoji ni jedan karakterističan simptom za ovaj poremećaj. Ovaj poremećaj predstavlja preduslov za pojavu drugih neonatalnih oboljenja, mada se kod neke ždrebadi ne moraju javiti nikakvi problemi u prvih nekoliko dana, pa čak i nedelja života.

2.2. Najčešća oboljenja ždrebadi uslovljena nedovoljnim transferom pasivnog imuniteta

2.2.1. Herpesvirusne infekcije konja

Konjski herpes virus je veoma značajan patogen kod ekvida u čitavom svetu. Ovaj patogen svoj uspeh u preživljavanju kod ove vrste životinja može zahvaliti koevoluciji sa ekvidima od davnina, kao i adaptaciji virusnog ciklusa koji osigurava efikasno širenje u populaciji ekvida (O'Callaghan, 2008; Brown i sar., 2007).

Herpesvirusi konja kao i herpesvirusi drugih životinja i ljudi, imaju tako prefinjen životni ciklus koji je adaptiran da iskoristi stalno prisustvo u životinji domaćina i osigura perzistenciju. Životni ciklus uključuje infekciju mnogih ćelijskih tipova u različitim tkivima (O'Callaghan, 2008).

Latencija je važan mehanizam gde životinja nosi virus u stanju mirovanja (asimptomatski) duži period. Latencija obezbeđuje prisustvo virusa u inficiranom zapatu i

omogućava širenje virusa u druge zapate, kretanjem latentno inficiranih konja. Latentno inficirani konji su rezervoar koji prenosi virus reaktivacijom na druge osjetljive konje, sa kojima ovakvo grlo dođe u kontakt (Preston, 2008).

Konjski herpesvirusi prouzrokuju ogromne štete u konjskoj industriji širom sveta, kroz direktne uticaje na konje, uključujući respiratorna oboljenja, abortuse i paralize i kroz efekte na industriju vezanu za konje i konjički sport, uključujući kretanje konja, pripuste i takmičenja. Upravo zbog ovoga EHV-1 i EHV-4 su predmet izučavanja širom sveta u poslednjih pedeset godina. Ova izučavanja pružaju bogato znanje iz virusologije i imunologije, kao i patogeneze i interakcije između virusa i konja. Dobijeni rezultati koriste se u unapređenju menadžmenta i programa kontrole oboljenja prouzrokovanih ovim virusima, kao i za izradu kodeksa dobre prakse kod ovih oboljenja. U Velikoj Britaniji je to uobičajeno u dokumentu pod nazivom *Horserace Betting Boards Code of Practice*.

U poslednjih 10 godina oboljenja koja izaziva EHV-1 se javljaju u mnogim zemljama sveta (Velika Britanija, Francuska, Irska, Nemačka, Danska, Španija, Australija, Južnoafrička Republika, Japan, Argentina). U ovim izveštajima nema podataka o pojavi oboljenja u Srbiji iako je veliki procenat konja seropozitivan.

Ne postoje ni ažurni podaci o broju vakcinisanih grla u Srbiji protiv EHV-1, kao ni o vakcinama koje se koriste, iako se vakcinacija protiv EHV sprovodi već pedeset godina (od 1961. godine). U prometu se nalazi više varijanti mrtvih i živih komercijalnih vakcina, koje su dostupne na tržištu Evrope i Severne Amerike.

Savremena saznanja u oblasti molekularne biologije i virusologije konjskih herpesvirusa, mnogo su unapredila naše razumevanje patogeneze ovih oboljenja, replikacije virusa i širenja virusa u organizmu domaćina. Ovo je takođe preduslov za dizajniranje efikasne vakcine protiv ovog virusa.

EHV-1 i EHV-4 pripadaju subfamiliji Alfaherpesvirinae, kojoj takođe pripadaju i goveđi herpesvirus 1, svinjski herpesvirus 1, pseći herpesvirus 1, mačiji herpesvirus 1 i virus Marekove bolesti. Navedeni virusi pripadaju rodu Varicellovirus (Devison, 2008; O'Callaghan, 2008).

Varicelovirusi napadaju različite ćelije, od izuzetnog neurotropizma Varicella-zoster virusa (humani herpes virus), pa do izrazitog limfotropizma virusa Marekove bolesti.

Konjski herpesvirus-1 se nalazi negde između, pri čemu je neurotropan i limfotropan u toku svog ciklusa. EHV-1 inficiraju različite ćelijske tipove, uključujući respiratorne epitelne ćelije, endotelijalne ćelije, neurone i limfoidne ćelije.

Osam od devet herpesvirusa konja se svrstavaju u posebne vrste ili tipove unutar familije Herpesviridae. To su konjski herpesvirusi od 1 do 9 osim, konjskog herpesvirusa 6 koji još nije obeležen kao EHV-6. Virusi EHV-6, EHV-7, EHV-8 su herpesvirusi magaraca, pa su poznati i kao herpesvirusi magaraca 1, 2 i 3 (O'Callaghan, 2008). Dijametar herpesvirusa je oko 200 nm.

Poznata je sekvenca celog virusnog genoma konjskog herpesvirusa 1. Razvojem savremenih molekularnih tehnologija, došlo se do revolucionarnih otkrića u oblasti regulacije i funkcije gena konjskog herpesvirusa 1, pri čemu genetika virusa ima velike kliničke implikacije na virulencu, imunologiju i same programe kontrole ovog virusa. Otkrivanja gena koji su vezani za virulencu, važno je za razvoj atenuiranih vakcina.

Konjski herpesvirusi, inače, dele zajedničke antigene, ali su ipak antigen različiti. EHV-1, EHV-4 i EHV-9 su antigeno slični, pa se u ovom slučaju stvara unakrsni imunitet. EHV-2 i EHV-5 su takođe antigeno slični (O'Callaghan, 2008; Taniguchi i sar., 2000).

Konjski herpesvirus 1 se širi direktnim ili indirektnim kontaktom (ingestijom i inhalacijom). Virus se najlakše širi nazalnim iscetkom oko tri nedelje posle infekcije. Takođe, vrlo važan izvor infekcije predstavljaju abortirani fetusi i placenta. Nakon ulaska virusa u organizam može doći do klinički manifestnog oblika bolesti ili se uspostavlja latentna infekcija (Allen, 2002).

Kobile su najviše osetljive na infekcije konjskim herpesvirusom 1 između osmog i jedanaestog meseca graviditeta, pri čemu je pik u devetom i desetom mesecu, kada su abortusi najčešći (Foote, 2003, 2004).

Latencija i reaktivacija igraju kritičnu ulogu u epidemiologiji EHV-1 infekcija. Do infekcije može doći bez obzira da li je jedinka vakcinisana. Kada se virus reaktivira kod latentno inficirane kobile ona će zaraziti svoje ždrebe. Posle prve infekcije uspostavlja se latentna infekcija u trigeminalnom ganglionu i limforetikularnom sistemu. Tako je u jednoj studiji u Evropi virus direktno izolovan iz bronhijalnih limfnih čvorova kod 24 od 40 konja (60%), pri čemu je PCR tehnikom potvrđen kod 35 od 40 (88%) konja ove

populacije (Lunn i sar., 2009). U Kentakiju je, takođe, PCR metodom virus detektovan kod 66% starijih konja.

Bitna karakteristika familije Herpesviridae je doživotna latencija u inficiranom organizmu, uz čestu reaktivaciju (Krstić, 2000). Latencija je način preživljavanja herpesvirusa u prirodi i ona obezbeđuje prirodni rezervoar u prirodi. Dakle, za herpesviruse biološki rezervoar predstavljaju latentno inficirane životinje.

Latencija se definiše kao prisustvo virusnog genoma bez produkcije virusa, sa potencijalnom mogućnošću replikacije, kao odgovor na signale za reaktivaciju. Stres predstavlja okidač za početak replikacije virusa, ponekad sa pojavom oboljenja. Virus se ne širi kada je u latentnoj formi. Ova pojava ima tri faze i to: uspostavljanje, trajanje i reaktivaciju. Latencija se uspostavlja u senzornim ganglionima (Preston, 2008; Paillot, 2008).

Po ulasku u ćelije domaćina virus se razvija u dva pravca – litičkom ciklusu ili latentnoj infekciji. Ova dva puta su izgleda odvojena i verovatno se dešavaju simultano, a razvijaju se odmah po ulasku virusa u ćeliju. Litički ciklus rezultira oslobađanjem novih virusnih partikula iz inficirane ćelije. Replikacija nije neophodna za uspostavljanje latencije.

Sam mehanizam koji kontroliše litičku i latentnu infekciju nije kompletno rasvetljen. U toku latentne infekcije genom virusa postoji u cirkularnoj epizomalnoj formi, kao multiple kopije koje se formiraju u jedru inficirane ćelije. Latentno inficirane ćelije (neuroni trigeminalnog gangliona i CD8⁺ limfociti) nemaju prikazane viralne antigene na površini ćelije i organizam domaćina ih ne prepoznaje imunološki. Reaktivacijom sa oba ova mesta virus dolazi nazad na respiratorni epitel domaćina. Zavisno od sposobnosti lokalnog imunološkog mehanizma, dolazi do neutralizacije reaktiviranog virusa ili do širenja virusa nazalno i inficiranja novih životinja. Reaktivirani virus sa respiratornog epitela može dovesti do viremije i prodiranja u uterus i CNS, što rezultuje pojavom abortusa i mijeloencefalopatije (Preston, 2008; Slater i sar., 1994; Allen, 1985; Bell i sar, 2006).

Kod latentno inficiranih konja se periodično zapažaju epizode reaktivacije, u toku kojih se virus širi preko respiratornog trakta, zbog čega su ovakvi konji potencijalno infe-

ktivni za druge konje. Reaktivacija virusa u terenskim uslovima se dešava posle transporta, premeštanja, zalučenja, pri čemu se eksperimentalno može izazvati primenom visokih doza glukokortikosteroida (deset puta većim od terapijskih). Reaktivacija je generalno asimptomatska i rezultuje samo širenjem virusa (Preston, 2008; Slater i sar., 1994; Allen, 1985).

Prema Slater-u (2007), abortus ili neurološko oboljenje mogu biti rezultat lokalne reaktivacije virusa u krvnim sudovima uterusa, placente ili CNS-a, rezultujući infekcijom endotelnih ćelija i trombo-embolijskim promenama u tim organima. Čak se i abortusi koji nastaju mnogo nedelja ili meseci posle infekcije mogu objasniti reaktivacijom latentne infekcije.

Reaktivacija virusa i povremeno širenje u populaciji konja je najmanje proučen epidemiološki faktor. Poznato je da EHV-1 može da dospe u plod kod gravidnih kobila, i to obično završava abortusom. Ponekad, međutim, ždrebe uginu neposredno po rođenju kao posledica EHV-1 infekcija. Smatra se da je to posledica intrauterine infekcije, premda ždrebe može biti inficirano i na rođenju, zbog čega ne može da se izbori sa infekcijom.

Ždrebad kolostrumom dobija antitela protiv herpesvirusa. Ako kobilu koja je u latentnoj infekciji izložimo stresu, dolazi do reaktivacije virusa koji kobila sada prenosi na svoje mladunče preko respiratornog trakta. Ako su kod ždrebeta prisutna antitela protiv herpesvirusa, oboljenje neće nastupiti odmah, nego kasnije, u toku nekoliko narednih meseci. Ovako skriveni transfer sa majke na plod je i najčešći (Preston, 2008; Slater i sar., 1994; Allen, 1985).

Posle inhalacije, virus se replikuje u epitelnim ćelijama u gornjim respiratornim putevima. Replikacija virusa u ovim ćelijama dovodi do smrti ovih ćelija što se manifestuje epitelnim erozijama. Virus se brzo širi u epitelne ćelije, limfocite i monocite (na ovim ćelijama dolazi do ekspresije antigena). U limfnim čvorovima respiratornog trakta virus se detektuje za 48 časova. Sa ovih mesta virusom inficirani limfociti ulaze u cirkulaciju, gde se CD8+ T limfocitnom udruženom viremijom šire u vaskularni endotel uterusa i CNS-a. Paralelno sa ovim već za 48 časova od ulaska virusa, virus se nalazi u trigeminalnom ganglionu, gde se uspostavlja latentna infekcija (Allen i sar., 2006).

Viremijom se virus raznosi do uterusa i CNS-a, što je predispozicija za oboljenje. Međutim ne abortiraju sve viremične kobile, a još manje njih razvije neurološko oboljenje. Lokalna reaktivacija je takođe značajana za nastanak oboljenja. Viremija donosi virus i u druge organe (može se detektovati PCR tehnikom), ali nema znakova promena na ovim organima. Viremija je ćelijski udružena u CD5+/CD8+ T limfocitima, dok se slobodan virus u krvi retko detektuje.

Lunn i sar., (2009) opisuju patogenezu i širenje virusa ćelijski vezanom viremijom. Smatra se da viremija traje najmanje 14 dana i da je to preduslov za širenje u gravidni uterus i u nervni sistem. Infekcija izaziva oštećenje mikrovaskulature, dovodi do inicijacije zapaljenja, vasulitisa, mikrotromboze, ekstravazaciju mononuklearnih ćelija, lokalnog krvarenja.

Patogeneza EHV-1 abortusa uključuje translokaciju virusa iz cirkulacije u uteroplacentalnu jedinicu prouzrokujući uterovaskularne lezije. Infekcija endotelijalnih ćelija u gravidnom uterusu prouzrokuje vaskulitis malih arteriola u žljezdanom delu endometrijuma, na bazi mikrokotiledona. Ako su endometrijalne vaskularne lezije raširene, fetus može biti abortiran pre transplacentarnog ulaska virusa u fetus. Tada dolazi do abortusa virusološki negativnog fetusa. Pregledom 241 abortusa u Velikoj Britaniji između 2001. i 2003. godine, samo devet su bili tipični EHV-1 abortusi (i placenta i fetus su bili virus pozitivni), dok je šest bilo atipičnih gde virus nije mogao biti detektovan u fetusu PCR- ili imunohistohemijskim metodama. Osetljivost endotelijalnih ćelija uterusa na infekciju sa EHV-1 je manja u ranom graviditetu, nego u kasnijem, tako da uloga EHV-1 infekcija u ranom embrionalnom uginuću nije istražena (Allen, 1998; Smith i sar., 2002).

Patogeneza abortusa je slična kao i kod nervne forme oboljenja, pri čemu se abortus javlja u gotovo 50% inficiranih kobile. Za razumevanje mehanizma abortusa važna je infekcija endotelnih ćelija malih arteriola u glandularnom sloju endometrijuma i u bazi mikrokotiledona, što dovodi do vaskulitisa, infarkta na mikrokotiledonima, transplacentarnog širenja virusa na mestima oštećenog endotela i abortusa. Izgleda da adhezivni molekuli na endotelnim ćelijama i površini leukocita igraju važnu ulogu u infekciji vaskularnog endotela. Endotelne ćelije uterusa postaju osetljivije na infekcije u zadnjem trimestru graviditeta, što se u praksi pokazalo kao tačno jer se većina abortusa dešava u

tom periodu. Ekspresija adhezivnih molekula u uterusu potvrđena je u graviditetu i ona je verovatno povezana sa hormonalnim statusom u poslednjoj fazi graviditeta (Lunn sar., 2009).

Patogeneza neuroloških oboljenja izazvanih herpesvirusom 1 takođe uključuje vaskulitis i trombohemiju posle infekcije endotelne ćelije u krvnim sudovima mozga. Međutim, nema mnogo podataka o direktnoj neuropatologiji, tj. virus retko biva izolovan iz CNS-a. Kod inficiranih konja se vide mesta sa vaskulitisom, sa ili bez ekspresije virusnih antigena u mozgu ili kičmenoj moždini i sa ili bez lokalnih hemoragija i trombohemične nekroze. Neurološki simptomi se javljaju kao posledica ishemijske smrti nervnog tkiva. Pri tome, virus može izazvati mielopatiju, encefalopatiju ili mieloencefalopatiju, zavisno od regiona CNS-a koji je zahvaćen (Borchers i sar., 2006; Nugent i sar., 2006).

Inače, siva i bela masa kičmene moždine su najčešće zahvaćene, dok je mozak ređe zahvaćen. Svega 10% inficiranih konja pokazuje nervne simptome bolesti. Rezultat je diseminovana ishemična nekroza u kičmenoj moždini (Lunn i sar., 2009).

Inače, različiti izolati EHV-1 razlikuju se po virulenciji. Veću virulenciju imaju Ab4 i Army-183 koji su endoteliotropni, efikasno izazivaju viremiju, abortinogeni su, a posle eksperimentalne inokulacije kod konja izazivaju visoku stopu abortusa i neuroloških oboljenja, dok je V592 manje virulentan, ima smanjen epiteliotropizam, uzrokuje viremiju niskog intenziteta i retko uzrokuje abortuse ili neurološke oblike oboljenja.

Prema Powelu (1997), konjski herpesvirus 1 se po organizmu prenosi ćelijski vezanom viremijom (putem makrofaga i limfocita), pri čemu intraćelijska lokalizacija virusa obezbeđuje zaštitu od imunskog odgovora i omogućava pristup sekundarnim replicacionim žarištima, čak i kada su u krvi prisutna virus-neutralizujuća antitela. Virus napada endotelne ćelije krvnih sudova i izaziva lokalni vaskulitis, trombozu i hipoksičnu degeneraciju lokalnih makrofaga. Smatra se, pri tome, da su vaskularne lezije imunološke prirode i da ih stvaraju antitela ili T limfociti.

I drugi autori opisuju vaskulitis kao najvažniji patogeni proces, s tim što je kod nervne forme prisutna i produktivna infekcija nervnog tkiva. Vaskulitis je najvažniji patogeni proces i kod abortogene infekcije. Produktivna infekcija endotela krvnih sudova mate-

rice gravidnih kobila sa trombozom i fokalnom nekrozom najčešće dovodi do abortusa. Bowles i sar., 2000; Carvalho i sar., 2000).

EHV-1 i EHV-4 izazivaju respiratorne infekcije. EHV-1 je češći kod mlađih grla. Inkubacija je kratka, čak manja od jednog dana, nakon čega se javlja povišena telesna temperature (39-41°C), koja traje oko 1-4 dana, a mogući drugi pik je oko nedelju dana nakon prvog. U ovom period životinje imaju iscedak iz nosa, kogestiju nazalne mukoze i konjunktiva. Ne tako često se pojavljuje anoreksija i povećanje submandibularnih limfnih čvorova, kao i edematozni otok donjih partija ekstremiteta i nogu. Posle inicijalne leukopenije nastaje leukocitoza koja nestaje pre prestanka temperature. Životinje se obično od ove forme oporave za oko nedelju dana. Ako od ove forme obole starija grla onda simptoma nema, iako ove životinje mogu da šire virus (DelPiero, 2000, 2001; Allen, 2002; Foote, 2006).

Konjski herpesvirus 1 je izolovan i iz centralnog nervnog sistema inficiranih konja. Ovaj virus ne napada ekstravaskularno nervno tkivo i nije neurotropan, već se iz pluća do centralnog nervnog sistema širi preko inficiranih leukocita, pri čemu napada endotelijalne ćelije krvnih sudova kičmene moždine (Friday i sar., 2000; Olsen, 2001; Stierstorfer i sar., 2002).

Kod novorođene ždrebadi konjski herpesvirus 1 je jedan od najčešćih uzročnika intrauterine virusne infekcije i pneumonije. Slater (2007), međutim, smatra da neonatalna oboljenja ždrebadi izazvana konjskim herpesvirusom 1 nisu toliko česta - najčešće dolazi do abortusa - ždrebadi se rađaju mrtva ili uginu u prvim satima po rođenju. Ždrebadi se ponekad rađaju živa ali bolesna, ili će simptomi bolesti nastupiti narednih dan – dva. U takvim slučajevima nije baš jasno da li su inficirana *in utero* ili je do infekcije došlo odmah nakon rođenja, od kobile. Obolela ždrebadi pokazuje jake znake oboljenja donjih respiratornih puteva koji su progresivni i manifestuju se kao dispnea i tahipnea, što je posledica primarnog viralnog pneumonitisa, koji vodi u respiratorni distress, hipoksiju i uginuće. Sekundarna bakterijska pneumonija se javlja kod ždrebadi koja prežive dva ili tri dana. Ova ždrebadi mogu preživeti i 10-14 dana ali mogu i uginuti od oboljenja respiratornog trakta ili ostalih komplikacija (Carvalho i sar., 2000; Foote i sar., 2004).

Generalizovana kongenitalna infekcija ždrebadi nastaje kada se kobila inficira u poomaklom stadijumu graviditeta. Karakteriše se rađanjem žive, donešene, intrauterine inficirane ždrebadi, koja najčešće uginjava u prvoj nedelji života. Ždrebadi su slaba, teško ustaju, ne mogu da prihvate sisu. Povremeno su ispoljeni respiratorni simptomi, a ređe dijareja. Pred smrt se javljaju tonično-klonični grčevi. Smrt nastaje usled kongestije pluća ili dehidracije (Foote i sar., 2004; Allen, 2002).

Pored ovih oboljenja, EHV-1 izaziva abortuse kobila i neurološku formu bolesti, pri čemu je prepoznato i novo oboljenje koje je opisano kao perakutni vaskulitis, koji je fatalan za odrasle konje. Ovo oboljenje se ispoljava dramatično. Životinje mogu uginuti u toku noći, bez prethodnih simptoma. Karakteriše se oboljenjem pluća koje nastaje brzo i po pravilu je fatalno. Prema Fabiu del Pieru (2001), reč je o direktnoj infekciji krvnih kapilara u plućima.

Britanski naučnici su pronašli i EHV-1 u semenu pastuva posle eksperimentalne inokulacije, a da li mogu da šire virus na taj način nije potvrđeno. Pastuvi šire virus samo kad pokazuju znake kliničke infekcije. Brazilski naučnici su utvrdili EHV-1 u semenu i u embrionima, bez simptoma oboljenja (O'Callaghan i Osterrieder, 2008).

Kod ždrebadi uginule u prvoj nedelji života najznačajnije lezije se zapažaju na respiratornim organima. Pluća su voluminozna, tvrda (plavo-purpurna) sa masivnim atelektazama, pri čemu se hemoragične trake u submukozi zapažaju duž traheje i velikih bronha. Bronhijalni limfni čvorovi su povećani, kongestirani i edematozni (Crabb i Studdert, 1996). Mikroskopske lezije uključuju negnojni histiocitni alveolitis, akutni fokalni nekrotični bronhitis i/ili bronhiolitis sa intranuklearnim eozinofilnim inkluzijama. Za razliku od respiratornih lezija, mikroskopske lezije jetre su relativno neupadljive, pri čemu je fokalna adrenokortikalna nekroza i smanjenje i/ili degeneracija timusnih i limfocita iz slezine redovan nalaz kod manje od 50% ždrebadi. Intranuklearne inkluzije se uvek nađu u plućima, često u timusu, ređe u jetri, pri čemu nisu identifikovane u slezini i bubregu (Crabb i Studdert, 1996; Allen i sar., 1999; Paillet i sar., 2008).

Respiratorno oboljenje koje uzrokuje EHV-1 rezultat je inflamacije, kongestije, ponekad i nekroze tkiva gornjih respiratornih puteva. Karakteriše se ekstenzivnim otokom nazalne mukoze, pri čemu u kasnijim stadijumima bivaju zahvaćena i pluća.

Tipične intranuklearne inkluzije se nalaze u respiratornom epitelu. Respiratorna inflamacija postaje još teža ako dođe do sekundarne bakterijske infekcije i bakterijske pneumonije (O'Collghan, 2008)

Od promena koje se još mogu napomenuti treba navesti dehidraciju, fokalne ulceracije po crevima, kongestirana pluća i disajne puteve ispunjene sluzavom masom. Patohistološki nalaz je: fokalna nekroza jetre, intersticijalna pneumonija, degeneracija crevnog epitela i dr. (O'Collghan, 2008; Trailović i sar., 1992).

Prirodna ili eksperimentalna infekcija konjskim herpesvirusom 1 izaziva solidan, ali prolazan imuni odgovor koji štiti protiv reinfekcije 3-6 meseci. Životinje koje imaju ovaj imunitet ne šire virus i ne pokazuju znake oboljenja u ovom periodu. Retko se desi da kobile koje su jednom pobacile kao posledica EHV-1 infekcije pobace i u sledećem graviditetu (Paillot i sar., 2008).

Životni ciklus konjskog herpesvirusa 1 je kompleksan i uključuje infekciju različitih tipova ćelija. Inicijalna faza je kolonizacija mukoze i replikacija, na koju se nadovezuje faza invazije, u toku koje virus ulazi u laminu propriju i krvne i limfne sudove, odakle prodire u endotelne ćelije, zatim sledi faza distribucije gde se virus putem inficiranih leukocita distribuira po celom organizmu domaćina. Paralelno sa ovim, uspostavlja se i latentna infekcija. Iz ovoga sada vidimo da je za imunološku kontrolu potreban integrisan, multikomponentni imuni odgovor. Za konjski herpesvirus 1 sam humoralni imunološki odgovor nije dovoljan. Efikasan imunološki odgovor mora da uključi lokalni imunološki odgovor mukoze i sistemski humoralni i celularni imunološki odgovor. Inače, do današnjih dana nije mnogo proučavan celularni imunološki odgovor kod ove infekcije. U poslednjih deset godina je napravljen značajan napredak na tom polju, ali još nisu otkriveni epitopi koji su odgovorni za celularni odgovor (Paillot i sar., 2008; O'Collghan, 2008).

Infekcija indukuje sistemski humoralni odgovor koji je brz, pri čemu kratkotrajan (<3 meseca) odgovor imunoglobulina M (IgM) prati sporiji i dugotrajniji odgovor IgG (>12 meseci). Vrlo malo IgA je otkriveno u cirkulaciji u konvalescentnom serumu. U dijagnostičkim laboratorijama se koristi test vezivanja komplementa (CF) za IgM i virus neutralizujući test (VN) za IgG. Sam visok nivo antitela nije dovoljan za zaštitu. Infekcija takođe indukuje i imuni odgovor mukoze koji karakteriše produkcija muko-

znih IgA. Za razliku od virus neutrališućih antitela, mukozni IgA pokazuju korelaciju sa zaštitom od infekcije. Mukozni IgA su važna karika u prvoj liniji odbrane protiv EHV-1 infekcije (O'Collghan, 2008; Paillot i sar., 2008)

Pored humoralnog imunološkog odgovora, infekcija indukuje i celularni odgovor i to u tkivima i u cirkulaciji preko CD8+ citotoksičnih T limfocita. I ovaj imunitet je u korelaciji sa stepenom zaštite od EHV-1 infekcija. Citotoksični T limfociti su efektori celularnog imunološkog odgovora i uništavaju inficirane ćelije koje imaju na svojoj površini virusne antigene udružene sa MHC I (ELA-A) molekulima. U ovaj proces su uključene i antigen prezentujuće ćelije (dendritičke ćelije i makrofagi), T pomagačke ćelije (Th1), CD4+Th i citokini (interleukin 2 (IL2), interferon gama (IFN- γ), faktor neroze tumora alfa - TNF α) (O'Collghan, 2008; Paillot i sar., 2008)

Infekcija konjskim herpesvirusom 1 izaziva i promene u populaciji leukocita kod inficiranih konja, koja se manifestuje kao leukopenija posle koje dolazi do leukocitoze. Inicijalnu leukopeniju čine limfopenija i neutropenija, sa inicijalnim smanjenjem CD8+ ćelija. Ovo se očekuje između 7. i 13. dana od infekcije. Posle ovoga se javlja leukocitoza sa limfocitozom i to se nastavlja do 21-28 dana posle infekcije. Celularni imunološki odgovor se meri stepenom limfoproliferacije (O'Collghan, 2008; Paillot i sar., 2008)

2.2.2. Neonatalna septikemija ždrebadi

U patologiji novorođene ždrebadi izuzetno značajnu ulogu imaju neonatalne infekcije, pre svega bakterijska sepsa, koja u velikom broju slučajeva dovodi do uginuća u prvim danima života. Tokom poslednjih tridesetak godina u Srbiji je registrovan izuzetno visok broj slučajeva uginuća ždrebadi, naročito na nekim ergelama engleskog punokrvnjaka. Na ergeli „Ljubičevo“ je, na primer, osamdesetih godina prošlog veka registrovano više desetina slučajeva uginuća novorođene ždrebadi u prvoj nedelji života, pri čemu su uz herpesvirus tip 1 u značajnom procentu uzrok bile bakterijske infekcije, najčešće u vezi sa nedovoljnim transferom kolostralnih imunoglobulina, što je u više slučajeva potvrđeno (Trailović i sar., 1992, 2000, 2001, 2004; Urošević, 2001).

Sepsa predstavlja sistemski inflamatorni odgovor na infekciju ili povredu, koji se karakteriše kaskadnim oslobađanjem različitih inflamatornih medijatora koji mogu biti odgovorni za razvoj septičkog šoka i uginuće (Sanchez, 2005). Tradicionalno se dovodi u vezu sa prisustvom patogenih bakterija i/ili njihovih toksina u krvi, premda se sličan odgovor može razviti i kada u krv prodru virusi, gljivice i drugi infektivni agensi, ili pak u slučajevima nezavisnim od infekcije – kod trauma, hipovolemija, hemoragija, imunoloških reakcija ili reakcija na lekove (Murray i sar., 1998; Purvis i Kirby, 1994; McKenzie, i sar., 2001; Sanchez, 2005; Drummond i Kotebra, 1990). Promene koje su udružene sa kliničkim sindromom sepse su, ustvari, rezultat nespecifičnog inflamatornog odgovora. U literaturi se ovakav odgovor opisuje kao sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (*systemic inflammatory response syndrome - SIRS*) koji ne podrazumeva obavezno prisustvo bakterijske infekcije (Sanchez, 2005).

SIRS predstavlja terminalnu fazu inflamatornog odgovora koja se karakteriše malignom, globalnom aktivacijom multiplih proinflamatornih puteva sa hipertermijom ili hipotermijom (rektalna temperatura veća od 39,2°C ili niža od 37,2°C), tahikardijom (srčana frekvenca viša od 120/min), tahipnejom (frekvenca disanja veća od 30/min), hipokapnijom (parcijalni pritisak arterijskog CO₂ manji od 32 mmHg), leukocitozom ili leukopenijom (više od 12x10⁹/l ili manje od 4x10⁹/l), povećanjem broja nezrelih formi granulocita itd. (Mac Kay, 2000; Evans i Smithies, 1999; Sanchez, 2005). Promene koje su vezane za SIRS mogu voditi u šok, koji se karakteriše teškom hipotenzijom koja ne odgovara na intravensku terapiju tečnostima.

Šok može rezultirati hipoperfuzijom i disfunkcijom organa sa narušavanjem homeostaze, koja se ne može održati bez intervencije. Ovaj proces se u literaturi označava kao sindrom multiorganske disfunkcije ili *multiple organ dysfunction syndrome - MODS* (Sanchez, 2005), koji počinje sa progresivnom insuficijencijom kardiovaskularnog sistema, da bi se kasnije razvile kliničke manifestacije poremećaja respiratornog, gastrointestinalnog, urinarnog i nervnog sistema, sa refraktornom hipotenzijom, acidozom, oligurijom i uginućem (Evans i Smithies, 1999; Perkins i sar., 1996; Sanchez, 2005).

Inflamacija predstavlja odgovor tkiva na povredu ili prisustvo mikroorganizama. Prva faza ovog procesa je prepoznavanje povrede, napadnute ćelije u ovoj fazi oslobađaju

odgovarajuće medijatore (npr. histamin) i sintetišu proinflamatorne supstance uključujući eikosanoide (prostaglandini, tromboksani, leukotrijeni) i citokine (interleukin-1 (IL-1), tumor nekrosis faktor- α (TNF- α)). Ovi medijatori su odgovorni za inicijaciju inflamatornog odgovora. Infekcija mikroorganizmima može rezultirati povredom tkiva i tako inicirati ovaj proces, ili će specifične strukture na bakterijskim ćelijama biti prepoznate od strane imunih ćelija (makrofagi), sa posledičnom produkcijom inflamatornih medijatora i inicijacijom inflamatornog odgovora (Sanchez, 2005). Imuni sistem na bakterijskoj ćeliji može prepoznati komponente kao što su endotoksin (lipopolisaharid - LPS), egzotoksin gram-negativnih bakterija (peptidoglikan - PGs), lipoteihoičnu kiselinu (LTAs), enterotoksin i superantigeni egzotoksin iz gram-pozitivnih bakterija. Iako bakterijska infekcija može inicirati inflamatorni odgovor, inflamatorni proces sam za sebe zavisi isključivo od produkcije endogenih medijatora (Moore i Barton, 1998; Sanchez, 2005).

Kod ždrebadi sepsa je najčešće izazvana infekcijom gram-negativnim uzročnicima. Ove bakterije poseduju LPS, koji se nakon dospevanja u cirkulaciju vezuje za LPS-vezujućii protein (LBP). Ovaj kompleks se potom vezuje za receptore predstavljene na površini mononuklearnih fagocita (mCD14 ili sCD14) koji takođe veže PG i LTA iz gram-pozitivnih bakterija. LPS-LBP-CD14 kompleks ili PG-LTA-CD14 kompleks odgovoran je za aktivaciju mononuklearnih fagocitnih ćelija putem tzv. TLR receptora (toll-like receptor) i transmisije signala kroz membranu (Morris, 1991). Kod sisara su identifikovani brojni tipovi TLR, što nam govori da su različiti tipovi TLR receptora odgovorni za prepoznavanje različitih tipova patogenih mikroorganizama (Morris, 1991).

Do ćelijske aktivacije može doći i zbog razvijanja nespecifične oksidativne stres reakcije unutar mononuklearnog fagocita, praćene stimulacijom proinflamatornih stimulusa kao što su TNF- α , endotoksin ili egzotoksin. Razvijanje inflamatornog odgovora zavisi od produkcije brojnih medijatora inflamacije (na početku iz aktivisanih mononuklearnih fagocita), kao što su proinflamatorni citikini (TNF- α , IL-1, IL-6), proinflamatorni enzimi (inducibilna nitrat oksid sintaza, fosfolipaza A2, ciklooksigenaza-2) i adhezivni molekuli – selektini i intracelularni adhezioni molekuli (Moore i Barton, 1998; Sanchez, 2005; Robinson i sar., 1993).

Inicijalne promene kod inflamatornog odgovora su primarno rezultat lokalne vazodilatacije i povećanja propustljivosti krvnih sudova, kao posledica delovanja vazoaktivnih medijatora oslobođenih iz povređene ili inficirane ćelije. Ovi faktori uključuju histamin, serotonin, kinin, eikosoide, faktor aktivacije trombocita, produkte degradacije fibrina i produkte komplementa C3a i C5a (Mac Kay, 2000; Sanchez, 2005). Promene koje se dešavaju na vaskularnom endotelu pod uticajem molekula nastalih iz promenjenog tkiva (IL-1, TNF- α , histamin) imaju za posledicu diapedezu neutrofila i povećanje vaskularne propustljivosti. Nakon dospevanja u promenjeno područje, neutrofil i makrofagi fagocituju strani materijal, povređeno i mrtvo tkivo i uništavaju fagocitovani materijal oksidativnim mehanizmom (neutrofil) ili putem oksidativnih i neoksidativnih mehanizama (makrofagi). Makrofagi oslobađaju brojne faktore koji pojačavaju imuni odgovor, uključujući proinflamatorne citokine (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-12, IL-18). Proinflamatorni citokini daju signal ciljnim ćelijama, prevashodno neutrofilima, da povećaju produkciju sekundarnih inflamatornih medijatora kao što su derivati fosfolipida (prostaglandini, tromboksan A₂, leukotrijeni) i reaktivne vrste kiseonika (slobodni kiseonik, superoksid anjon, hidroksil radikal, vodonik peroksid, NO, hipohlorid jon) i pojačaju inflamatorni odgovor. Sistemske manifestacije inflamacije i/ili infekcije su groznica, anoreksija, letargija i depresija, primarno zbog dejstva TNF- α i IL-1 (Sanchez, 2005).

Interleukin-6, IL-1 i TNF- α iniciraju odgovor akutne faze, povećavajući sintezu proteina akutne faze. Ove supstance igraju veoma važnu ulogu u mnogim fazama odgovora na inflamatorne stimulse i uključuju aktivaciju komplementa, koagulaciju, fibrinolizu, transport supstanci kroz cirkulaciju, inhibiciju proteaza neutrofila i modulaciju inflamatornog odgovora. Odgovor akutne faze je važan u regulaciji antiinflamatornih komponenti i održavanju inflamatornog odgovora pod kontrolom (Mac Kay, 1998; Sanchez, 2005). Ovaj regulatorni mehanizam se postiže antiinflamatornim medijatorima koji inhibiraju aktivaciju makrofaga (IL-4, IL-10, IL-13, kortikosteroidi, prostaglandin E₂), antagonistima proinflamatornih citokina (antagonista za IL-1 receptor) i solubilnim receptorima proinflamatornih citokina (solubilni IL-1 receptor tip II, solubilni TNF receptor). Ravnoteža između proinflamatornih i antiinflamatornih komponenti je važna u određivanju karakteristika inflamatornog odgovora (Mac Kay, 1998).

Promene vezane za inflamatorni odgovor uglavnom imaju za u cilju da zaštite organizam i obezbede eliminaciju mikroorganizama antigen specifičnim i nespecifičnim mehanizmima, stimulišu imuni sistem i aktiviraju procese ozdravljenja oštećenog tkiva. Preterana inflamacija i odgovor akutne faze naziva se SIRS (sindrom sistemskog inflamatornog odgovora). SIRS se karakteriše sistemskom aktivacijom brojnih proinflamatornih medijatora uključujući citokine (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8), fosfolipidnih derivata (faktor aktivacije trombocita, prostaglandini, tromboksan A2, leukotrieni) komponenti komplekta (C3a, C5a), reaktivnih vrsta kiseonika i vazoaktivnih materija (NO, CO). Ovi medijatori su, kako je ranije opisano, komponente normalnog lokalizovanog inflamatornog odgovora, s tim što sistemska aktivacija ovih proinflamatornih medijatora može dovesti do prekomernog odgovora (Moore i Barton, 1998).

Prvi efekat vezan za SIRS je aktivacija endotela sa posledičnom produkcijom vazoaktivnih medijatora i narušavanjem vaskularne homeostaze. Inflamatorni citokini (IL-1 i TNF- α) su odgovorni za aktivaciju endotela, pri čemu aktivisane ćelije proizvode inflamatorne citokine i NO (pomoću inducibilne NO sintaze), prostaglandine (putem inducibilne ciklooksigenaze-2) i endotelin-1. Aktivisane endotelne ćelije se skupljaju, povećavajući veličinu intercelularnih pora, što vodi povećanju vaskularne propustljivosti. Opisanim promenama doprinosi pojačana produkcija tkivnih faktora, Wilebrandovog faktora, tromboza i adhezija trombocita (Sanchez, 2005).

Inicijalni sistemski efekat ovih promena je pulmonalna vazokonstrikcija, što vodi u pulmonalnu hipertenziju, verovatno prouzrokovanu tromboksanom-A2 (Moore i Barton, 1998). Na inicijalnu hipertenzivnu fazu se nastavlja sistemska hipotenzija, prouzrokovana smanjenjem arterijskog tonusa, sa proširenjem velikih vena (Lavoie i sar., 1990), koja napreduje do hiperdinamičkog šoka sa povećanjem srčane frekvence, zbog nemogućnosti srca da obezbedi adekvatnu perfuziju tkiva (Sanchez, 2005). Kao posledica oslobađanja depresora miokarda (NO, TNF- α , IL-1) opada miokardijalna osetljivost na β adrenergičnu stimulaciju, što doprinosi izlasku tečnosti u intersticijum i nastanku edema (Sanchez, 2005). Vazokonstrikcija arteriola prouzrokovana povećanom produkcijom supstanci koje izazivaju vazokonstrikciju (endotelin-1, tromboksan A-2), takođe dovodi do slabljenja autoregacionog sistema. Adhezija neutrofila za endotel i otok endotelne ćelije dovodi do smanjenja protoka krvi. Akumulacija fibrina i agregacija

cija trombocita i eritrocita dovode do aktivacije sistema koagulacije, sa posledičnim začepljenjem krvnih sudova i tkivnom hipoperfuzijom, na koju se nadovezuje povećanje vaskularne propustljivosti i ekstravazacija tečnosti u intersticijalni prostor, hipotenzija i hipovolemija (Hoffman i sar., 1992).

Aktivacija koagulationog sistema nastaje primarno spoljašnjim putem, jer je produkcija tromboplastina u endotelijalnim ćelijama i mononuklearnim fagocitima pod uticajem IL-6, čija se produkcija povećava pod uticajem proinflamatornih stimulusa. Kod SIRS-a je proces fibrinolize suprimiran zbog povećane koncentracije inhibitora plazminogen aktivatora u plazmi. Širenje aktivacije koagulationog sistema, kombinovano sa smanjenom fibrinolizom, rezultira razvojem diseminovane intravaskularne koagulacije (Levi i Ten Cate, 1999; Moore i Barton, 1998; Sanchez, 2005). Napredovanjem ovog procesa dolazi do sve ozbiljnih hemodinamskih poremećaja i šoka. Šok u stvari predstavlja stanje kada su kardiovaskularne funkcije toliko oštećene da se hipotenzija koja je nastala kao posledica navedenih promena ne može korigovati intravenskom terapijom tečnostima i zahteva upotrebu inotropnih i/ili vazopresornih lekova. Šok je najteža disfunkcija kardiovaskularnog sistema i osnova sindroma multiorganske disfunkcije (MODS). Septički šok se pri tome definiše kao šok nastao kao posledica infekcije (Drummond i Koterba, 1990; Lavoie i sar, 1990; Purvis i Kirby, 1994; Sanchez, 2005).

Kao posledica kardiovaskularnih poremećaja nastaje sindrom multiorganske disfunkcije, koji se karakteriše oštećenjem ostalih organa. Do ovih oštećenja dolazi prvenstveno usled hipoperfuzije tkiva i posledičnih promena ćelijskog metabolizma zbog smanjenog priliva koseonika. Tkivna hipoksija, pri tome, ima za posledicu metaboličku acidozu (Evans i Smithies, 1999). Pulmonalna disfunkcija se manifestuje refraktornom hipoksemijom, verovatno uzrokovanom povećanjem propustljivosti krvnih sudova pluća, mikrotrombozom, oštećenjem plućnog epitela, plućnim edemom i smanjenjem produkcije surfaktanta. Renalna disfunkcija se manifestuje akutnom bubrežnom insuficijencijom sa azotemijom i oligurijom, usled poremećaja u mikrocirkulaciji i hipoperfuzije bubrega (Evans i Smithies, 1999). Gastrointestinalni poremećaji prvenstveno obuhvataju narušavanje intestinalne barijere i prodor bakterija, koji su uz ileus veoma često i neposredan uzrok sepse. Kada je u pitanju gastrointestinalni trakt ne sme se zanemariti jetra, koja trpi posledice svih sistemskih poremećaja organizma. Disfunkcija

jetre sa hiperbilirubinemijom i porastom aktivnosti jetrinih enzima (sorbitol dehidrogenaza, aspartat-aminotransferaza) u serumu je, naime, uobičajen problem kod ždrebadi sa sepsom. Oštećenja jetre delom nastaju kao posledica hipoperfuzije, a delom zbog pojačanih metaboličkih potreba i povećane produkcije inflamatornih medijatora od strane Kupfferovih ćelija, kao odgovor na oslobađanje inflamatornih medijatora iz gastrointestinalnog trakta. Poremećaji nervnog sistema su takođe česti, manifestuju se depresijom ili tzv. septičkom encefalopatijom sa ekstenzivnim oštećenjem neurona. I u sklopu ovog sindroma javlja se diseminovana intrvaskularna koagulacija (Levi i Ten Cate, 1999; Sanchez, 2005)

Brojni faktori utiču na pojavu septikemije ždrebadi. Faktori rizika su placentitis, prenatalni poremećaji vulve, distokija, bolesti kobile, prerani ili odloženi porođaj, indukovani porođaj, poremećaj pasivnog transfera kolostralnih antitela, transport gravidne kobile i prisustvo lokalizovanih oboljenja kod novorođene ždrebadi, kao što su dijareja, pneumonija, infektivni artritis, otvorene rane i dr. (Mc Guire i sar., 1977; Brewer i Koterba, 1987 i 1988; Brewer 1990; Perkins i sar., 1996; Gayle i sar., 1998). Intrauterino fetus može biti izložen uzročnicima koji najčešće ascendentno dospevaju u posteljicu i preko placento-horijalne barijere u krvotok fetusa. Uzročnici placentitisa se mogu naći i u amnijskoj tečnosti i kroz respiratorni ili gastrointestinalni trakt dospeti u organizam fetusa. Posle rođenja, pri tome, bakterije mogu dospeti u organizam i krvotok novorođenčeta kroz pupak, ingestijom, inhalacijom ili preko rana (Platt, 1973; Cohen, 1994; Koterba, 1990; Sanchez, 2005).

Najčešći uzročnici neonatalne sepse su gram-negativne bakterije: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Actinobacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter sp.*, *Pasteurella sp.*, *Salmonella sp.* i *Serratia marcescens*. Od gram-pozitivnih bakterija sepsu mogu izazvati β -hemolitičke streptokoke, *Staphylococcus sp.* i *Clostridium sp.* Ređe, uzročnici sepse mogu biti konjski herpes virus 1, *Histoplasma capsulatum* itd. (Kosch, 1990; Koterba i sar., 1984; Brewer i sar., 1990; Murray i sar., 1998; Perkins i sar., 1996; Rasis i sar., 1996; Nelson i sar., 1996; Sanchez, 2005; Henson i sar., 2001.).

Sepsa je, inače, stanje koje se uvek smatra urgentnim zbog čega je izuzetno važno da se znaci bolesti uoče što pre, postavi dijagnoza i preduzme urgentna terapija. Kako se najčešće zapaža u prvih nekoliko dana života, na sepsu može ukazati gubitak refleksa

sisanja, hiperemija vidljivih sluzokoža, pojačano ili smanjeno kapilarno punjenje, tahikardija, povišena ili smanjena telesna temperatura, apatija i depresija, ležanje nauznak. (Brewer i Koterba, 1987; Brewer, 1990; Cohen, 1994; Koterba, 1990). Periferni puls je u većini slučajeva slabiji, krvni pritisak niži. Klinički se ponekad mogu videti hladni ekstremiteti, petehije na sluzokoži usta itd. (Brewer i Koterba, 1987; Brewer, 1990; Cohen, 1994; Koterba, 1990). Naravno, uz nespecifične simptome sepse mogu se uočiti i znaci poremećaja funkcija pojedinih organa kao posledica inflamatorne reakcije, pre svega akutni respiratorni distres, dijareja, otok zglobova, omfalitis, nervni simptomi itd.

Ma koliko izraženi, klinički simptomi su samo osnova za sumnju koju bi ipak trebalo potvrditi odgovarajućim laboratorijskim ispitivanjima. Izolacija uzročnika je svakako najbolji put za potvrdu dijagnoze ali se ne može obaviti tako brzo, zbog čega je korisno pogledati nalaze hematološke i biohemijskih analiza krvi. Leukogram je jedan od najboljih indikatora sepse, pregledom krvnog razmaza mogu se ustanoviti toksične promene u neutrofilima, kao i neutropenija sa leukopenijom, uz inverziju neutrofilno/limfocitnog količnika (Perkins i sar., 1996). Hipoglikemija je takođe značajan parametar, ako se uzmu u obzir normalne – očekivane oscilacije. Minimalne rezerve glikogena sa kojim novorođena ždrebada raspolažu istroše se relativno brzo, tokom samog porođaja, zbog čega se hipoglikemija može očekivati u svim stanjima većeg iscrpljivanja ili odloženog prihvatanja sise. Hipoglikemija je dakle nespificična, ali se uvek zapaža kod sepse. Endotoksemija smanjuje nivo glukoze u krvi, povećavajući perifernu potrošnju uz istovremeno smanjenje glukoneogeneze u jetri.

Ako je pre porođaja postojala insuficijencija placentne ili asfiksija tokom porođaja, kod novorođenog ždrebeta se može utvrditi povećanje koncentracije kreatinina, isto kao i kod septičnog ždrebeta. Povećana koncentracija kreatinina i ureje može biti rezultat prerrenalne azotemije izazvane dehidracijom, hipovolemijom i smanjenom perfuzijom bubrega, zbog čega je korisno u isto vreme sa pregledom krvi uraditi i analizu urina, kako bi se prerrenalna azotemija diferencirala od renalne. Pri tome, treba imati u vidu da neka ždrebada sa normalnom funkcijom bubrega na rođenju imaju povišenu ureju i kreatinin, koji se normalizuju posle 1-2 dana.

U stanjima sepse mogu se ustanoviti i određene promene u koncentraciji elektrolita, zatim gasnim analizama, pre svega zbog očekivane metaboličke acidoze, koja je često udružena sa respiratornom acidozom zbog hipoventilacije.

Koncentracija IgG u krvnom serumu je izuzetno važan parametar. Može se ispitati relativno rano, posle 8 časova od rođenja i utvrditi obim transfera kolostralnih antitela. Koncentracija imunoglobulina u serumu manja od 2 g/l smatra se indikatorom poremećenog transfera imunoglobulina, veća od 2 a manja od 4 g/l govori o parcijalnom poremećaju u transferu imunoglobulina, pri čemu vrednosti od 8 g/l i veće ukazuju na adekvatnu imunološku zaštitu. Zbog očekivanog oštećenja jetre kod ždrebadi sa sepsom može se ustanoviti povećanje koncentracije ukupnog bilirubina, koje je, ipak, daleko manje izraženo nego kod ždrebadi sa neonatalnom izoeritrolizom (Brewer i Koterba, 1988; Koterba i sar., 1984; Lavoie i sar., 1990; Perkins i sar., 1996). Iz istih razloga se može očekivati i povećanje serumske aktivnosti AST, SDH i GGT. Ako se pri tome utvrdi samo povećanje AST i možda CK, treba razmotriti mogućnost oštećenja mišića zbog dugog ležanja u sepsi ili možda zbog mišićne distrofije. Na kraju, bakterijska kultura krvi je osnova za potvrdu dijagnoze, s tim što se pozitivan nalaz može očekivati za najmanje 48 časova i to ne u svim slučajevima. Prema ispitivanjima više autora, u 20-40% slučajeva sepse koja je potvrđena na obdukciji, premortalno nije bilo moguće izolovati uzročnika (Brewer i Koterba, 1988; Koterba i sar, 1984; Lavoie i sar, 1990; Perkins i sar, 1996; Ware i Mathay, 2000). U praksi se na takvu potvrda sepse ne sme čekati. Veoma je važno da se obolelo ždreba identifikuje u početnoj fazi, kako bi se što pre primenila terapija i obezbedila povoljnija prognoza (Furr i sar., 1997; Koterba i sar., 1984; Koterba, 1990).

U cilju efikasnijeg otkrivanja septične ždrebadi razvijen je sistem bodovanja (sepsis scoring sistem), na bazi kombinacije informacija o prethodnom stanju i rizicima za pojavu sepse iz istorije bolesti, objektivnih nalaza i subjektivnih merenja koja se boduju od 0-4. Ovakav sistem može obezbediti pouzdanu procenu zdravstvenog stanja u skoro 90% slučajeva, iako se ne može govoriti o visokoj specifičnosti (Brewer i Koterba, 1988). Po mišljenju Brewera i Koterbe, broj bodova od 11 i više u 93% slučajeva sa sigurnošću ukazuje na sepsu (Cohen, 1994; Koterba i sar, 1984; Koterba, 1990; Makieue i sar., 2000).

2.3. Terapija poremećaja pasivnog transfera imunoglobulina

U nekim radovima se postavlja pitanje da li treba ili ne tretirati ovaj poremećaj. Sellon, 2006, navodi podatak da su ždrebadi kojima je namerno uskraćen kolostrum vrlo podložna neonatalnoj sepsi i vrlo brzo uginu od posledica sepse, bez obzira koliko se vodilo računa o čistoći ambijenta i menadžmentu. Baldwin i sar. (1991) nisu uspjeli da pronađu nikakvu statistički značajnu vezu između koncentracije imunoglobulina G i sklonosti ka bolestima, težini oboljenja, kao i smrtnosti kod novorođene ždrebadi. Stoga postoji i malo neslaganje oko toga da li je nedostatak pasivnog transfera ili parcijalni nedostatak kolostralnog imuniteta kod snažne, zdrave ždrebadi na farmama sa dobrim menadžmentom značajan.

Nedovoljan pasivni imunitet, generalno posmatrano, nije oboljenje samo za sebe, pa tako ne postoji ni jedan karakterističan simptom za ovaj poremećaj. Ovaj poremećaj predstavlja preduslov za pojavu drugih neonatalnih oboljenja, mada se kod neke ždrebadi ne moraju javiti nikakvi problem u prvih nekoliko dana, pa čak i nedelja života. Naravno da postoji veći rizik od pojave neonatalnih oboljenja kod ove ždrebadi. Ždrebadi koja potiču od kobila koje su već izgubila ždrebadi kao posledicu infekcije, takođe spadaju u rizičnu ždrebadi (Rumbaugh i sar., 1979; Sellon, 2006).

U slučaju potpunog ili delimičnog izostanka pasivnog transfera treba preduzeti nadoknadu imunoglobulina davanjem kolostruma druge kobile, smrznutog kolostruma, plazme ili drugih preparata imunoglobulina (Trailović i sar., 2003; Palmer, 2010).

Kada se postavi sumnja na nedovoljan pasivni transfer, neki od alternativnih izvora imunoglobulina može se dati oralno ili putem nazogastrične sonde, najbolje u roku od 2 do 6 časova po rođenju. Količina koju treba dati zavisi svakako od kvaliteta kolostruma i stepena apsorpcije. Za ždrebe teško oko 45 kg treba dati 1-2 litra kolostruma i to počev od 2. sata po rođenju, u pojedinačnim napojima ne većim od 200-400 ml. Kod parcijalnog izostanka pasivnog transfera daje se oko 1 litar kolostruma dobrog kvaliteta u više manjih napoja (Giguère i Polkes, 2005). Kvalitetan kolostrum je gust i lepljiv, žućkaste boje. Ovakav kolostrum sadrži IgG u koncentraciji većoj od 30 g/l (Jeffcot, 1974; Kohn i sar., 1989; LeBlanc, 1990).

Koncentracija imunoglobulina se može direktno izmeriti metodom radijalne imunodifuzije (RID). Alternativno, koncentracija imunoglobulina u kolostrumu može se brzo izmeriti u samom boksu metodom refraktometrije, na osnovu specifične težine ili koagulacije glutaraldehidom. Konjski kolostrometar (Jorgensen Laboratories, Loveland, Colorado) je modifikovani hidrometar koji meri specifičnu težinu kolostruma. Specifična težina veća od 1,060 odgovara koncentraciji IgG većoj od 30 g/l (LeBlanc i sar., 1986). Ručni refraktometar koji se koristi za merenje sadržaja alkohola i šećera u vinu (Bellingham & Stanley, Lawrenceville, Georgia), takođe se može upotrebiti. Očitavanje veće od 23% na skali šećera ili veće od 16° na skali alkohola odgovara koncentracijama IgG većim od 60 g/l (Giguere i Polkes, 2005, Pascale i sar., 1998). Konačno, sposobnost glutaraldehida da formira čvrst ugrušak u prisustvu gamaglobulina se može upotrebiti da bi se procenio sadržaj IgG u kolostrumu. Formiranje čvrstog ugruška za 10 minuta ili manje odgovara koncentracijama IgG većim od 38 g/l (Jones i Brook, 1995).

Kolostrum se može dobiti izmuzavanjem kobile-majke ako je ždrebe nesposobno da ustane i sisa, ili iz „banke kolostruma“. Za formiranje „banke“ kolostrum se može uzimati od kobilica koje se drže upravo u tu svrhu, ili od normalnih, zdravih, visoko-proizvodnih kobilica koje su se više puta ždrebile, izmuzavanjem oko 50 ml svaka dva sata tokom prvih 24 sata posle ždrebljenja. Ovakav kolostrum se može uskladištiti u plastičnim kesama duboko zamrznut dok ne zatreba. Pre zamrzavanja poželjno je proveriti kvalitet kolostruma ili bar specifičnu težinu koja ne bi smela da bude manja od 1,060 (Giguere i Polkes, 2005; Nath i sar., 2010).

U slučaju delimičnog podbacivanja preporučljivo je da najmanje jedan litar kolostruma dobrog kvaliteta bude dat peroralno: cuclom ili preko želudačne sonde, ukoliko je ždrebe staro manje od 24 sata. Jedan litar kolostruma može biti dovoljan ako se sa davanjem počne kada je ždrebe bilo staro dva sata i on se može podeliti na nekoliko obroka tokom sledećih šest do osam sati. Ako se sa davanjem kolostruma otpočne kasnije, potrebne su i znatno veće količine – 2, 3 ili 4 litra, zbog sve manje efikasne apsorpcije antitela (Giguere i Polkes, 2005).

Umesto kolostruma kobile može se koristiti i goveđi kolostrum, ali imunoglobulini iz goveđeg kolostruma imaju kratak poluživot, desetak dana (Giguere i Polkes, 2005; Mee

i sar., 1995; LeBlanc i sar., 1988, 1991; Holmes i sar., 1991; Warko i sar., 1993). Za obezbeđenje minimalnih potreba potrebno je više od 4 litra (Palmer, 2010).

Na tržištu mnogih zemalja dostupan je komercijalni koncentrat konjskih IgG (Sera-mune; Sera, Shawnee Mission, Kansas). Aplikacijom preporučene doze (dva puta po 150 ml dato u razmaku od 1-2 sata) pomoću nazogastrične sonde u roku od četiri sata po rođenju može se ostvariti koncentracija IgG od 30 g po boci, čime se ne mogu obezbediti veće koncentracije od 8 g/l u serumu ždrebadi (Vivrette i sar., 1998; Hammer i sar., 2001, Burton i sar., 1981).

Krvni serum ili plazma takođe se mogu dati oralno. Pa ipak, peroralna aplikacija plazme ili seruma ne predstavlja efikasan način supstitucije IgG zbog niske koncentracije i ograničene oralne apsorpcije imunoglobulina. Hammer i sar. (2000) su, na primer, davali konjski serum oralno u količini od 300 ml i to 150 ml 10 sati po rođenju i 150 ml 12 sati po rođenju, pri čemu su sva ždrebadi uz to sisala svoje majke po volji. Ispitivanjem koncentracije imunoglobulina u krvnim serumima ždrebadi radijalnom difuzijom nisu ustanovljene značajne razlike u koncentraciji IgG kod ždrebadi koja su dobijala serum oralno i sisala kolostrum i ždrebadi koja su uzimala samo kolostrum svojih majki (Franz i sar., 1998).

Intravenska aplikacija plazme je indikovana kod ždrebadi sa koncentracijama IgG ispod 4 g/l u prvih 18 do 24 sata po rođenju. Klinički zdrava ždrebadi bez primetnih faktora rizika za sepsu i koncentracijama IgG između 4 i 8 g/l ne moraju biti pod terapijom plazmom ukoliko se drže u relativno čistom okruženju. Pa ipak, korisno je i ovakvu ždrebadi tretirati intravenski plazmom, naročito ako nisu savršeno zdrava i vitalna. Plazmu bi trebalo dati intravenski u dovoljnoj količini, kako bi se podigla koncentracija IgG iznad 8 g/l (Liu i sar., 1991; Stoneham i sar., 1991).

U mnogim zemljama postoje registrovani donori plazme sa utvrđenim krvnim grupama. Donor mora biti negativan na Aa i Qa aloantigene eritrocita, zbog opasnosti od neonatalne izoeritrolize. Koncentracija IgG u plazmi donora treba da bude veća od 12 g/l da bi se obezbedilo dovoljno imunoglobulina.

Flamino (2006) smatra da je intravenska infuzija plazme dobar metod za transver adekvatne količine imunoglobulina kod ždrebadi kada prođe period u kome je moguća

oralna apsorpcija. Generalno, jedan litar plazme je dovoljan da podigne vrednosti imunoglobulina G na više od 8 g/l, kao i da poveća kapacitet za opsonizaciju. Naravno da su dodatne količine plazme potrebne kod ždrebadi koja imaju sepsu.

Plazma treba da bude odmrznuta i zagrejana na telesnu temperaturu pre aplikacije. Za infuziju se uvek koristi sistem sa filtrom, kakav se koristi kod transfuzije pune krvi. Preporuke za aplikaciju su mahom empirijske. Tako se prvih 50 ml obično daje polako, kako bi se uočile eventualne negativne reakcije, kao što su tahipneja, tahikadija, hipertermija, urtikarija ili promene u ponašanju. Ukoliko se ne zapaze nikakve reakcije, ostatak se može dati brzinom od 20 do 30 ml/kg/h, premda neki proizvođači preporučuju još brže davanje. Manja brzina je, generalno posmatrano, bezbednija. Ukoliko se uoče bilo kakve negativne reakcije brzina se dodatno smanjuje ili prekida dok se simptomi ne stišaju. Ako se negativne reakcije ne povuku posle usporavanja ili se javi ozbiljna reakcija, infuziju treba prekinuti (Giguere i Polkes, 2005).

Ispitivanje efikasnosti terapije plazmom je fokusirano na antitela IgG. Međutim neki drugi aspekti imuniteta kod ždrebadi su manje ispitivani, kao na primer funkcija neutrofila. U svakom slučaju, profilaktička upotreba plazme preporučuje se kod klinički zdrave ždrebadi sa suboptimalnom količinom IgG, mada efekat ovakvog tretmana nije izučavan (Raidal, 2005; McTaggart i sar., 2005).

Poslednja alternativa za terapiju je aplikacija koncentrovanog seruma. Prednost koncentrovanog seruma nad plazmom je u tome što se u frižideru može čuvati tri godine. Pa ipak, za adekvatno povećanje koncentracije imunoglobulina treba dati dve do tri jedinice koncentrovanog seruma, što se se postiže jednom jedinicom plazme (McClure i sar., 2001).

Jeannine i sar., (2002), upoređivali su efikasnost komercijalnih konjskih seruma za intravensku primenu sa komercijalnim preparatima konjske plazme za intravensku primenu kod novorođene ždrebadi u tretmanu poremećaja u pasivnom transferu. Ždrebadi koja su dobijala plazmu imala su značajno veću koncentraciju IgG u serumu nego ždrebadi koja su dobijala serum. Količina t.j. broj jedinica koje su date ždrebadi zavisila je od koncentracije IgG dobijenih testom zamućenja cink sulfata ili testom sa glutaraldehidom.

Ako je već došlo do oboljenja koja su posledica poremećaja u pasivnom transferu, preduzimaju se i druge terapijske mere koje su neophodne .

2.4. Mere za poboljšanje transfera kolostralnog imuniteta

Postoji niz mera koje se mogu preduzeti u cilju povećanja efikasnosti imuniteta koje ždrebe dobija kolosrtumom.

Schutzler, (1973) i Wilson i sar. (2001) i su ispitivali titar specifičnih antitela na virus influence i tetanusa u serumu ždrebadu koja potiču od kobila koje su dobile buster doze vakcina protiv ovih bolesti u poslednja dva meseca graviditeta i ustanovili visok titar antitela protiv ovih bolesti. Time su potvrdili da se vakcinacijom kobila protiv ovih bolesti u zadnjem trimestru graviditeta povećava sadržaj imunoglobulina u kolostrumu protiv ove bolesti.

Spearman (2004), nadalje, ističe da se dodatkom 10 g MOS-a (BIO-MOS Alltech) u hranu za kobile 56 dana pre očekivanog porođaja, značajno povećava koncentracija imunoglobulina u kolostrumu kobila. Lazarević i sar. (2010) navode da dodavanje manan- oligosaharida teladima i prasadima dovodi do značajnog povećanja apsorpcije IgG.

Stojić i sar. (1995, 1998) su ispitivali uticaj dodatka zeolita u kolostrum u količini od 5 g/l i utvrdili značajno povećanje apsorpcije kolostralnih imunoglobulina G kod novorođene prasadi i teladi, u odnosu na one životinje koje su dobijale kolostrum bez dodatka ovog mineralnog adsorbera.

Fratrić i sar. (2004) su takođe ispitivali uticaj mineralnog adsorbera na bazi klinoptilolita na stepen apsorpcije imunoglobulina G kod 60 teladi napajane različitom količinom kolostruma. Između teladi koja su dobijala 0,75 l kolostruma sa i bez zeolita, statistički značajna razlika u koncentraciji IgG utvrđena je samo 6 sati nakon rođenja. Između teladi koja su dobijala 1,5 l kolostruma sa i bez zeolita, statistički značajna razlika u koncentraciji IgG utvrđena je u svim posmatranim vremenima (6, 24 i 48 sati). Slične rezultate su dobili i Gvozdić i sar., (2008). Koncentracija IgG u serumu teladi koja su dobijala kolostrum sa 20 ml 25% zeolita u destilovanoj vodi je bila veća u

odnosu na telad koja su dobijala samo kolostrum bez dodatka ovog adsorbera. Dobijeni rezultati ukazuju da prisustvo mineralnog adsorbera (zeolita) u kolostrumu značajno povećava apsorpciju imunoglobulina G kod novorođene teladi.

Trailović i sar. (2004) su takođe ispitivali uticaj zeolita na apsorpciju imunoglobulina kod novorođene ždrebadi, pri čemu nisu utvrdili statistički značajne razlike u transferu IgG između ždrebadi koja su dobijala napoj kolostruma sa zeolitom i bez zeolita.

Vrednost kolostruma se prvenstveno meri količinom imunoglobulina, koja odražava imunski status kobile. Na njen imuni status utiče okruženje u kojem boravi i antigeni izazovi kojima je bila izložena. Zbog toga bi bilo veoma korisno da kobile razumno vreme pre ždrebljenja provedu u istim ambijentalnim uslovima u kojima će se i oždrebiti, kako bi njihov imuni sistem optimalno odgovorio na sve bitne antigene ambijenta (Ripatti i sar., 1990).

3. CILJ I ZADACI RADA

Neonatalne infekcije bakterijama i virusima, pre svega infekcija konjskim herpesvirusom 1 i neonatalna septikemija predstavljaju glavni uzrok gubitaka novorođene ždrebadi. Ključni problem je najčešće nedovoljan transfer kolostralnog imuniteta. Najveći rizik od pojave neonatalnih oboljenja prisutan je u prvoj nedelji života. Proučavanje faktora koji dovode do nedovoljnog transfera kolostralnog imuniteta, utvrđivanje faktora koji mogu povećati apsorpciju proteina iz kolostruma i rano prepoznavanje visokorizične ždrebadi omogućava da se gubici koje prouzrokuju ova oboljenja smanje.

U cilju što detaljnijeg uvida u važnost kolostruma po zdravstveno stanje novorođene ždrebadi, uticaj stresne reakcije izazvane manipulacijama za vreme porođaja i uzimanja kolostruma na imunološki status ždrebadi i korelaciju sa pojavom važnijih oboljenja novorođenčadi, poput herpesvirusnih infekcija, izdvojili smo sledeće zadatke:

1. Ispitati sadržaj ukupnih proteina i pojedinih frakcija serumskih proteina, koncentraciju IgG i titar specifičnih antitela protiv herpesvirusa 1 u krvnom serumu vakcinisanih i nevakcinisanih kobila u poslednjoj trećini graviditeta;
2. Ispitati sadržaj imunoglobulina u kolostrumu i mleku vakcinisanih i nevakcinisanih kobila;
3. Ispitati sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina, koncentraciju imunoglobulina G i titar specifičnih antitela protiv herpesvirusa-1 u krvnom serumu ždrebadi pre i nakon uzimanja kolostruma;

4. Ispitati uticaj modifikovanog klinoptilolita dodatog u kolostralni napoj na sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina, koncentraciju IgG i titar specifičnih antitela protiv herpesvirusa-1 u krvnom serumu novorođene ždrebadi;
5. Ispitati uticaj kolostruma i transfera kolostralnih imunoglobulina na vrednosti hematoloških parametara i koncentraciju kortizola, bilirubina, holesterola, kalcijuma, fosfora i gvožđa u krvnom serumu novorođene ždrebadi;
6. Proceniti uticaj vakcinacije gravidnih kobila protiv herpesvirusa tip 1 na kvalitet kolostruma, transfer kolostralnih imunoglobulina i zdravstveno stanje novorođene ždrebadi.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Materijal

Ispitivanja su sprovedena na 24 kobile i 24 ždrebadi poreklom od ovih kobila. U prvoj grupi je bilo 12 kobila koje nisu bile vakcinisane u toku graviditeta protiv konjskog herpesvirusa 1 i 12 novorođene ždrebadi poreklom od ovih kobila. U drugoj grupi je takođe bilo 12 kobila koje su vacinise trokratno u graviditetu protiv konjskog herpesvirusa 1 i 4 vakcinom i 12 njihove ždrebadi. Ždrebadi iz obe grupe su podeljena u dve podgrupe A i B po 6 ždrebadi u svakoj podgrupi. Ždrebadi podgrupa A poreklom od vakcinisanih i nevakvinisanih kobila, ukupno po 6 ždrebadi iz svake grupe, dobijala su kolostrum prirodnim putem, sisanjem majki, dok su ždrebadi podgrupa B bila napajana kolostrumom uz dodatak zeolita u količini od 5 g/l.

Sve kobile su bile podvrgnute kliničkoj opservaciji u poslednjoj trećini graviditeta. Uzorci krvi od kobila uzimani su u poslednjem mesecu graviditeta, na 30, 15 i 7 dana pred očekivani porođaj, zatim neposredno po porođaju, kada su uzimani i uzorci kolostruma. Novorođena ždrebadi su bila podvrgnuta svakodnevnoj kliničkoj opservaciji tokom prve nedelje života. Uzorci krvi od novorođene ždrebadi uzimani su neposredno po rođenju, zatim 24, 48, 72 i 168 časova (7. dana) po rođenju.

Terenska istraživanja su obavljena na ergelama „Radak“ i „Plamen“, u Vršcu. Vakcinisane kobile su bile rase američki i srpski kasač, stare od 5 do 12 godina, a nevakcinisane lipicanske rase, u starosti od 6 do 14 godina.

Kobile rase američki i srpski kasač su vakcinisane protiv konjskog herpesvirusa 1 i 4 vakcinom Duvaxyn® EHV 1,4 (Fort Dodge Animal Health, Holland), trokratno, u 5, 7. i 9. mesecu graviditeta.

4.2. Metode istraživanja

4.2.1. Hematološka ispitivanja

Za ispitivanje hematoloških parametara uzorci krvi su uzimani punkcijom v. jugularis u epruvete sa EDTA kao antikoagulansom, a hematološki pregled je rađen na automatskom brojaču krvnih elemenata marke Diatron najkasnije 12 časova po uzorkovanju. Ispitivanjem su obuhvaćeni sledeći parametri: broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i hematokrit, MCV, MCH i MCHC, broj leukocita i leukocitna formula, zatim broj i srednja zapremina trombocita.

4.2.2. Biohemijska ispitivanja krvnog seruma

Za ispitivanje biohemijskih parametara uzorci krvi su uzimani punkcijom jugularne vene u epruvete bez antikoagulansa. Posle odvajanja seruma uzorci su zamrzavani na -20°C i čuvani do analize. Laboratorijska ispitivanja su vršena u kliničkoj laboratoriji Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu i Veterinarskoj laboratoriji VetLab u Beogradu.

Biohemijskim ispitivanjem krvnog seruma obuhvaćeni su sledeći parametri: koncentracija ukupnih proteina i albumina, sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina i IgG, koncentracija kortizola, ukupnog bilirubina, holesterola, triglicerida, gvožđa, kalcijuma i fosfora.

Koncentracija ukupnih proteina i albumina ispitana je na automatskom analizatoru Olympus AU400, primenom odgovarajućih testova za kolorimetrijska i spektrofotometrijska ispitivanja (Olympus System Reagents, Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany).

Koncentracija ukupnog bilirubina je ispitana DIAZO metodom, trigliceridi su određivani enzimatskom kolorimetrijskom metodom, holesterol CHOD-PAP spektrofotometrijskom metodom, kalcijum je određivan o-krezolftalein spektrofotometrijskom metodom, fosfor UV spektrofotometrijskim metodom i nitro-PAPS metodom, pri-

menom odgovarajućih testova (Olympus System Reagents, Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany). Rezultati su očitani na automatskom analizatoru Olympus AU400, Ispitivanje koncentracije kortizola je obavljeno chemilumiscens immunoassay metodom na integrisanom automatskom analizatoru - Architect ci 8200.

Sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina ispitan je celulozo-acetatnom elektroforezom, dok je koncentracija imunoglobulina G ispitana imunoturbidimetrijskom metodom (Olympus AU400, Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany). Imunoturbidimetrija je metoda kojom se određuje koncentracija antigena na osnovu apsorpcije svetlosti od strane solubilnih imunih kompleksa. Solubilni imunokompleksi se formiraju dodavanjem uzorka antiserumu i pufera sa akceleratorom. Rezultati su prikazani u g/l.

Brzi testovi za određivanje imunoglobulina u serumu ždrebadi izvedeni su u terenskim uslovima iz krvi ždrebadi koja je uzimana 18 časova po rođenju. Kao brzi – skrining test za procenu transfera kolostralnih imunoglobulina korišćen je Horse Ig One-Step (EVL, Woerden, the Neatherlands). Ovim testom se rezultat grubo prikazuje kao pozitivan (>8 g/l), slabo pozitivan (5-8 g/l) i negativan (<5 g/l).

4.2.3. Serološka ispitivanja

Titar antitela na konjski herpesvirus je određivan virus neutralizacijom u mikrotitar pločama sa dvostrukim serijskim razređenjima seruma, na sledeći način: na mikrotitar pločama pripremaju se dvostruka serijska razređenja seruma i u svako razređenje se doda ista zapremina od 25 mikrolitara suspenzije konjskog herpesvirusa-1, koja sadrži 100 TCID – 50/25 mikrolitra. Nakon inkubisanja mikrotitar ploča od 60 minuta na 37°C, doda se 50 mikrolitara suspenzije RK-13. Svaka ploča uključuje kontrolu serumtoksičnosti, kontrolu virusa i kontrolu ćelija.

4.2.4. Analiza kolostruma i mleka

Uzorci mleka su uzimani iz obe polovine vimena u količini od 30 ml (po dve epruvete) pri čemu su biohemijska ispitivanja urađena primenom standardnih laboratorijskih metoda (koncentracija proteina metodom po Kjeldahlu, koncentracija masti metodom

po Gerberu, pri čemu je razdvajanje proteinskih frakcija izvedeno agaroza-gel elektroforezom).

Broj ćelija u mleku ispitivan je brojanjem ćelija na mlečnim razmazima. Iz svake polovine vimena pravljeno je po tri razmaza, tako što je na obezmaščenu pločicu nanešeno ezom po 0,1 ml mleka. Tako napravljeni razmazi su nakon sušenja obojeni metodom po Newmann-Lampert-u, modifikovanoj po Levowitz-Weber-u.

Boja je pripravljena na sledeći način: 378 ml 96% alokohola pomeša se sa 280 ml tetrahloretana i nakon mućkanja zagreva jedan sat na temperaturi od 60°C. U ovako zaagreganu smeša dodaje se 7 g metilenskog plavog i 42 ml glacijalne sirćetne kiseline i filtrira kroz Watman filter papir br. 42. Boja je čuvana u staklenim bocama sa brušenim čepom na temperaturi frižidera.

Samo bojenje je izvođeno na sledeći način:

Mlečni razmazi na staklenoj pločici su sušeni na sobnoj temperaturi. Nakon 24-časovnog sušenja stavljeni su u staklenu posudu i potapani pripremljenom bojom. Posle dvominutnog stajanja u posudi sa bojom preparati su vađeni i postavljeni u okomit položaj na upijajućem papiru da bi se bolje ocedili i osušili. Posle ceđenja i sušenja koje je trajalo oko 1 sat, preparati su pažljivo ispirani tri puta običnom vodom temperiranom na 37°C. Ovako dobijeni preparati su nakon sušenja mikroskopski pregledani pod mikroskopom sa imerzijom.

Za mikroskopski pregled i brojanje ćelija u obojenim mlečnim razmazima korišćen je Reichert-ov binokularni mikroskop sa prečnikom vidnog polja objektiva od 0,165 mm. Brojanje somatskih ćelija izvodili smo u jednom redu horizontalno, od sredine jedne ivice do sredine druge ivice kvadrata površine 1 cm² u kome se nalazio mlečni razmaz.

Površina dela razmaza na kojem su brojane ćelije iznosila je 0,165 mm x 10 mm = 1,65 mm². S obzirom da na površini kvadrata od 1 cm² ima ukupno 100 mm² : 1,65 mm² = 60,60 takvih površina, tada je ukupan broj ćelija na celoj površini kvadrata jednak nađenom broju x 60,60. Međutim, to predstavlja broj ćelija za 0,01 ml mleka, pa je prema tome, radni faktor za izračunavanje broja ćelija u 1 ml 100 puta veći, odnosno 6060. To znači da se nađeni broj ćelija tokom mikroskopskog pregleda množi sa 6060 da bi se dobio broj ćelja u 1 ml mleka.

4.3. Statistička obrada rezultata

Dobijeni rezultati su obrađeni primenom standardnih metoda za statističku obradu, analizom varijanse, Tukey testa (adaptiran po Snedecoru), Studentovog t-testa i korelacionom analizom, programskim paketom Statistica 10. Nivoi verovatnoće od $p < 0,05$ su smatrani statistički značajnim. Grafikoni su obrađeni programskim paketom Microsoft Excel 2007.

5. REZULTATI

Kompletnim ispitivanjem je obuhvaćeno ukupno 48 životinja - 24 kobile i njihova ždrebad. Kobile su bile podeljene u grupu od 12 kobila lipicanske rase, koje nisu obuhvaćene programom vakcinacije protiv herpesvirusa 1 i 4, i grupu kobila rase američki i srpski kasač, koje su bile redovno vakcinisane protiv EHV-1/4. Novorođena ždrebad od ovih kobila su pored podele po poreklu od nevakcinisanih i vakcinisanih kobila, bila podeljena u dve podgrupe: jednu koja je dobijala čist napoj kolostruma sisanjem svojih majki i drugu koja je pored napoja kolostruma dobijala i zeolit. Zbog preglednosti, prvo će biti prikazani rezultati kliničkih i laboratorijskih ispitivanja kobila, da bi u drugom delu bili prikazani rezultati ispitivanja njihove ždrebadi.

5.1. Rezultati ispitivanja kobila

Kao što je u prethodnom poglavlju navedeno, ispitivanjem je obuhvaćeno 12 kobila rase lipicaner, koje nisu bile podvrgnute vakcinaciji protiv EHV-1/4, i 12 kobila kasača koje su bile podvrgnute urednoj vakcinaciji protiv EHV-1/4. Sve kobile su u principu bile pod kontrolom tokom čitavog graviditeta, od pripusta, preko dijagnostike graviditeta i praćenja čitavog graviditeta, uz detaljniju kontrolu koja je sprovedena tokom poslednjih dva meseca graviditeta.

5.1.1. Klinička opservacija kobila

Za obe grupe kobila se može reći da su imale uredan tok graviditeta. Pre početka ispitivanja, su naime, na osnovu anamnestičkih podataka i kliničkog pregleda odabrane klinički zdrave kobile, kako bi se oformile što homogenije grupe. Pripust je u svim slučajevima bio uredan i graviditet je potvrđen ultrazvučnim pregledom, 15-20 dana posle pripusta.

Tok graviditeta je takođe bio uredan. Dužina graviditeta je bila približno ista u obe grupe kobila – kod nevakcinisanih $336,2 \pm 4,7$ dana, a kod vakcinisanih $339,2 \pm 8,4$ dana (tabela 6).

Tabela 6. Dužina graviditeta kod nevakcinisanih i vakcinisanih kobila

Red. br.	Dužina graviditeta	
	Nevakcinisane kobile	Vakcinisane kobile
1.	338	340
2.	342	335
3.	328	338
4.	334	364
5.	337	339
6.	345	340
7.	331	336
8.	334	342
9.	335	329
10.	342	331
11.	335	341
12.	334	336
X	336,2	339,2
SD	4,7	8,4

X – srednja vrednost; *SD* – standardna devijacija

Kao što se iz tabele 6 vidi, prosečna dužina graviditeta kod kobila koje su vakcinisane protiv konjskog herpes virusa bila je nešto veća u odnosu na nevakcinisanu grupu kobila, ali to nije bilo značajno. Statističkom analizom nije ustanovljena značajna razlika u dužini graviditeta između ove dve grupe kobila ($p > 0,05$).

Tokom poslednja dva meseca graviditeta, pri tome, nisu registrovani klinički slučajevi bilo kakvih oboljenja. Uzorci krvi za planirana hematološka i biohemijska ispitivanja uzimani su dva puta pre ždrebljenja - u 10. i 11. mesecu graviditeta (u razmaku od po 30 dana), da bi poslednji uzorak bio uzet na dan ždrebljenja, u isto vreme sa uzorcima kolostruma i prvim uzorcima krvi novorođene ždrebadi.

5.1.2. Rezultati hematoloških analiza krvi kobila

Ispitivanjem krvne slike kobila uglavnom su dobijene normalne vrednosti koje nisu izlazile iz fizioloških granica. To se odnosi i na parametre crvene krvne slike (broj eritrocita, koncentracija hemoglobin i hematokrit) i na broj leukocita i diferencijalnu krvnu sliku. Značajnijih odstupanja nije bilo, ni u slučaju upoređivanja rezultata dve grupe kobila, ni kod poređenja vrednosti dobijenih pre i u momentu ždrebljenja. Rezultati hematoloških ispitivanja prikazani su u tabeli 7.

Iako se stiče utisak da je broj eritrocita kod nevakcinisanih kobila lipicanske rase manje nego kod kobila kasača, ova razlika nije statistički značajna ($p>0,05$). Statistički značajnih odstupanja nema ni kod drugih parametara krvne slike.

5.1.3. Rezultati biohemijskih analiza krvi kobila

Koncentracija ukupnih proteina u posmatranom period pokazuje sasvim male varijacije, bez statistički značajnih odstupanja između dve grupe kobila, kako pre tako i nakon ždrebljenja ($p>0,05$). Najniža zabeležena vrednost ukupnih proteina iznosi $61,1\pm 2,7$ g/l kod nevakcinisanih koibila, a najviša $64,8\pm 3,3$ g/l kod vakcinisanih kobila (tabela 8).

Isto se odnosi i na koncentraciju albumina. Četiri nedelje pred očekivani partus nivo albumina iznosi $30,5\pm 1,4$ g/l kod nevakcinisanih kobila i $30,9\pm 1,2$ g/l kod vakcinisanih, da bi se u naredne tri nedelje zabeležio blagi pad i u momentu porođaja porast. Statističkom analizom dobijenih rezultata, međutim, nije utvrđena značajna razlika ($p>0,05$).

Oscilacije globulina je teže interpretirati zbog nepostojanja pravilnosti u razlikama, bar kada se radi o alfa i beta globulinima. Pažnju jedino zaslužuju nešto veće vrednosti gama globulinske frakcije kod vakcinisane grupe kobila. Statističkom analizom, međutim, ni u ovom slučaju nije potvrđena značajna razlika ($p>0,05$).

U skladu sa navedenim promenama u koncentraciji albumina i globulina menja se i albuminsko/globulinski količnik. On je veći u ranijoj fazi graviditeta, da bi sa približavanjem termina za ždrebljenje i povećanjem koncentracije gama globulina, neposredno nakon rođenja albuminsko/globulinski količnik bio najmanji.

Tabela 7. Rezultati hematoloških analiza krvi kod nevakcinisanih i vakcionisanih kobila ($X \pm SD$) pre i nakon ždrebljenja

Parametar	30 dana do porodaja		15 dana do porodaja		7 dana do porodaja		Posle porodaja	
	N	V	N	V	N	V	N	V
Er ($\times 10^{12}/l$)	7,35 \pm 1,2	8,23 \pm 0,6	7,6 \pm 1,2	8,2 \pm 0,6	7,4 \pm 1,2	8,11 \pm 0,6	7,67 \pm 1,3	8,15 \pm 0,6
Hb (g/l)	11,3 \pm 0,97	11,22 \pm 1	11,15 \pm 1	11,17 \pm 0,93	11,12 \pm 1,06	11,17 \pm 0,9	11,02 \pm 1,15	11,12 \pm 0,97
Hct (l/l)	32,5 \pm 3,8	32,7 \pm 5,9	32 \pm 3,2	32,2 \pm 5,8	32,8 \pm 3,4	33,7 \pm 5,6	32,8 \pm 3,6	32,2 \pm 6,2
MCV (fl)	40 \pm 2,3	40,1 \pm 3,8	39,6 \pm 2,3	40,6 \pm 3,7	39,5 \pm 2,2	40,3 \pm 3,7	39,7 \pm 1,7	40,4 \pm 3,2
MCH (pg)	16,3 \pm 2,4	15,8 \pm 2,1	16,6 \pm 2,4	15,8 \pm 1,8	16,6 \pm 2,3	15,6 \pm 1,6	16,8 \pm 2,3	15,6 \pm 1,7
MCHC (g/l)	32,8 \pm 1,5	33,5 \pm 1,8	32,8 \pm 1,3	33,5 \pm 1,6	32,9 \pm 1,2	33,6 \pm 1,4	32,8 \pm 1,2	33,6 \pm 1,4
RDW (%)	18,4 \pm 5,2	18,6 \pm 4,2	18,1 \pm 4,8	18,7 \pm 4,1	18,3 \pm 4,7	18,7 \pm 4,1	18,4 \pm 4,9	18,7 \pm 4,1
Le ($\times 10^9/l$)	8,75 \pm 1	8,8 \pm 1,34	8,78 \pm 1	9,06 \pm 1,1	8,75 \pm 0,9	8,95 \pm 1,1	8,7 \pm 1	8,87 \pm 1,1
Ne ($\times 10^9/l$)	4,8 \pm 0,5	4,94 \pm 1	4,81 \pm 0,53	5,03 \pm 0,9	4,7 \pm 0,5	4,93 \pm 1	4,77 \pm 0,5	5,05 \pm 1
Ly ($\times 10^9/l$)	3,43 \pm 0,9	3,5 \pm 0,7	3,48 \pm 1	3,6 \pm 0,8	3,48 \pm 0,9	3,64 \pm 0,7	3,33 \pm 0,9	3,39 \pm 0,7
Mo ($\times 10^9/l$)	0,46 \pm 0,3	0,32 \pm 0,13	0,4 \pm 0,13	0,36 \pm 0,1	0,49 \pm 0,3	0,26 \pm 0,2	0,52 \pm 0,3	0,37 \pm 0,1
Eo ($\times 10^9/l$)	0,06 \pm 0,02	0,07 \pm 0,01	0,09 \pm 0,03	0,07 \pm 0,02	0,08 \pm 0,04	0,03 \pm 0,01	0,08 \pm 0,04	0,06 \pm 0,02
Ba ($\times 10^9/l$)	0	0	0	0	0	0	0	0

N – nevakcinisane kobile; *V* – vakcinisane kobile; *Er* – eritrociti; *Hb* – hemoglobin; *Hct* – hematokrit; *Le* – leukociti; *Ne* – neutrofili; *Ly* – limfociti; *Mo* – monociti, *Eo* – eozinofili; *Ba* – bazofili

Tabela 8. Koncentracija pojedinih frakcija serumskih proteina kod nevakcinisanih i vakcinisanih kobil (X ± SD) pre i nakon ždrebljenja

Parametar	30 dana do porodaja		15 dana do porodaja		7 dana do porodaja		Posle porodaja	
	N	V	N	V	N	V	N	V
U. proteini (g/l)	62,6±5,2	61,4±1,8 ^a	61,3±2,5	62,8±2,6	61,1±3	61,1±2,7 ^a	63,6±6,7	64,8±3,3 ^b
Albumini (g/l)	30,5±1,4	30,9±1,2	29,7±2,1	30,7±1,6	29±2,5	28,3±1,6	29,6±4,6	30,4±2,6
α1-globulini (g/l)	2,1±1,6	1,1±0,6 ^a	1,6±0,9	1,8±1,4	1,5±0,7	2,1±1,4	3,2±2,1	2,1±0,9 ^b
α2-globulini (g/l)	8,4±0,9	7,7±0,8	7,8±1,3	8,1±1,4	8,1±1	8,5±1,6	8,4±0,9	8,9±1,5
β-globulini (g/l)	8,4±0,9	7,7±0,8	7,8±1,3	8,1±1,4	8,1±1	8,5±1,6	8,4±0,9	8,9±1,5
γ-globulini (g/l)	14,1±2,1	14,8±1,1	13,9±1,5	14,7±2,1	14,6±1,1	15,1±0,9	14,6±2,6	15,2±2,4

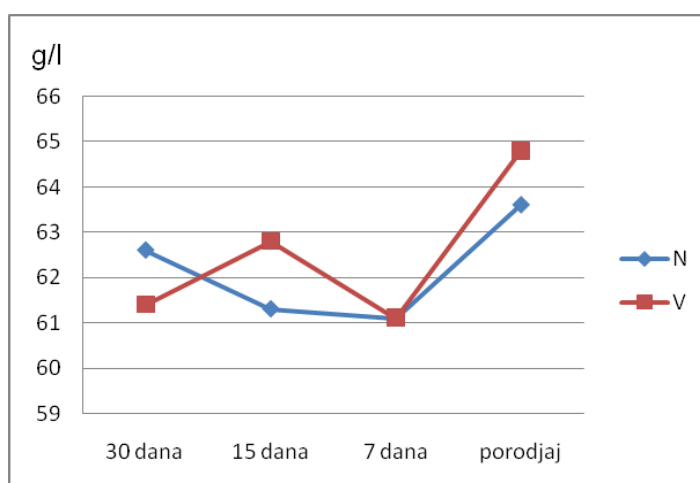
a b - razlika je značajna (p<0,05)

N – nevakcinisane kobile; V – vakcinisane kobile

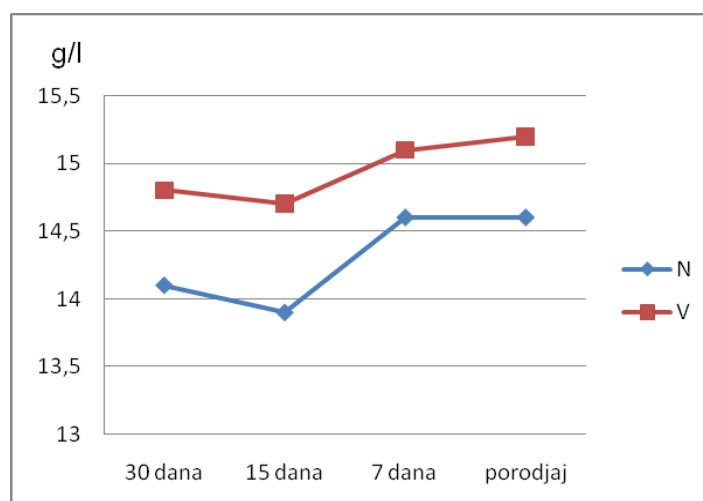
Tabela 9. Vrednosti albuminsko/globulinskog količnika kod nevakcinisanih i vakcinisanih kobila

Vreme	30 dana do porodaja		15 dana do porodaja		7 dana do porodaja		Posle porodaja	
	N	V	N	V	N	V	N	V
A/G	0,95	1,01	0,94	0,95	0,92	0,86	0,87	0,88

N – nevakcinisane kobile; V – vakcinisane kobile; A/G – albuminsko/globulinski količnik



Grafikon 1. Koncentracija ukupnih proteina kod nevakcinisanih (N) i vakcinisani (V) kobila pre i nakon ždrebljenja



Grafikon 2. Koncentracija γ -globulina kod nevakcinisanih (N) i vakcinisanih (V) kobila pre i nakon ždrebljenja

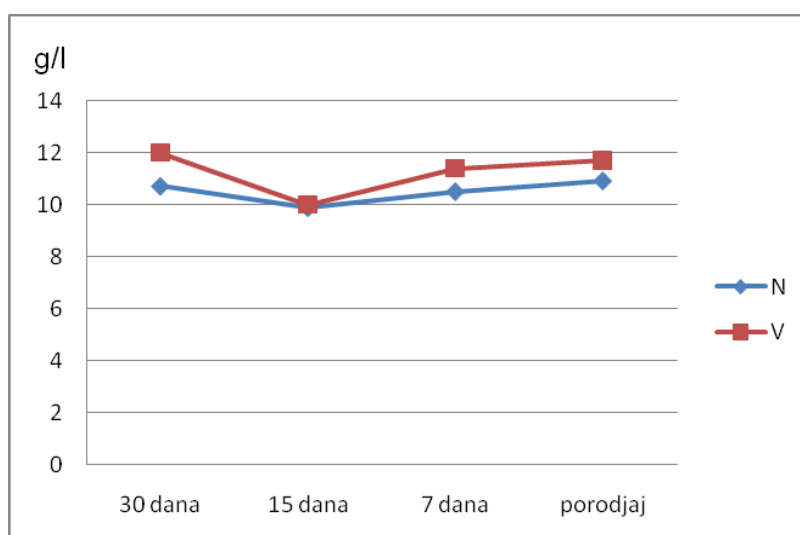
Rezultati ispitivanja koncentracije IgG poklapaju se sa rezultatima elektroforetskog ispitivanja gama-globulina. Koncentracija IgG je nešto veća kod kobila vakcinisanih protiv EHV-1/4, međutim, ni ovo odstupanje nije statistički značajno ($p > 0,05$).

Vrednosti IgG u krvnom serumu kobila prikazane su u tabeli 10 i na grafikonu 3.

Tabela 10. Koncentracija IgG (g/l - $X \pm SD$) u krvnom serumu nevakcinisanih i vakcinisanih kobila pre i nakon ždrebljenja

30 dana do porođaja		15 dana do porođaja		7 dana do porođaja		Posle porođaja	
N	V	N	V	N	V	N	V
10,7±2,3	12±2,5	9,9±2,3	10±2,5	10,5±1,5	11,4±1,9	10,9±2,4	11,7±2,7

N – nevakcinisane kobile; V – vakcinisane kobile



Grafikon 3. Koncentracija IgG kod nevakcinisanih (N) i vakcinisanih (V) kobila pre i nakon ždrebljenja

Korelacija između koncentracije gama globulina i imunoglobulina G u krvnom serumu kobila je logična što potvrđuju i visoke vrednosti koeficijenta varijacije u svim terminima poređenja vakcinisanih i nevakcinisanih kobila, 30, 15 i 7 dana pred ždrebljenje i neposredno posle ždrebljenja. Stepenn korelacije između koncentracije gama globulina i imunoglobulina G u krvnom serumu kobila, utvrđen Person-ovim koeficijentom korelacije (r), prikazan je u tabeli 11.

Tabela 11. *Stepen korelacije između koncentracije gama globulina i IgG u krvnom serumu nevakcinisanih i vakcinisanih kobila*

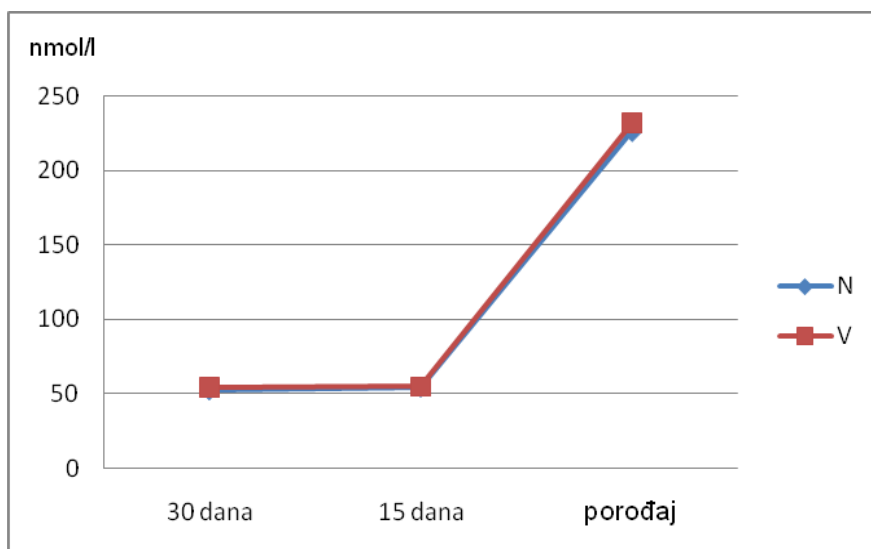
	Nevakcinisane kobile	Vakcinisane kobile
IgG:gama globulini		
30 dana pred porođaj	r=0,8974	r=0,7154
15 dana pred porođaj	r=0,9077	r=0,8094
7 dana pred porođaj	r=0,8242	r=0,7600
Neposredno po ždrebljenju	r=0,8724	r=0,8930

Vrednosti ostalih biohemijskih parametara uglavnom su se nalazile u granicama fizioloških vrednosti (tabela 12). Određene oscilacije u koncentraciji triglicerida, ukupnog holesterola, kalcijuma, fosfora i gvožđa nisu značajne niti se mogu dovesti u vezu sa nekim od postavljenih zadataka. Od ovoga treba izdvojiti kortizol, čija se koncentracija pred porođaj višestruko povećava. Ovo povećanje je statistički veoma značajno u odnosu na vrednosti izmerene 30 i 15 dana pred porođaj ($p < 0,001$).

Tabela 12. *Koncentracija triglicerida, ukupnog holesterola, Ca, P, Fe, ukupnog bilirubina i kortizola u serumu vakcinisanih i nevakcinisanih kobila*

Parametar	30 dana do porođaja		15 dana do porođaja		Posle porođaja	
	N	V	N	V	N	V
Triigliceridi (mmol/l)	2,0±0,5	2,2±0,8	2,0±0,5	2,3±0,8	2,1±0,6	2,3±0,7
Holesterol (mmol/l)	2,48±0,5	2,61±0,6	2,48±0,4	2,58±0,6	2,46±0,4	2,44±0,5
Ca (mmol/l)	3,0±0,2	2,96±0,2	2,97±0,2	2,91±0,2	2,8±0,1	2,87±0,2
P (mmol/l)	1,48±0,2	1,48±0,2	1,49±0,2	1,48±0,2	1,48±0,2	1,5±0,2
Fe (μmol/l)	16,24±2,6	16,94±3,3	16,44±2,8	16,86±3	16,96±2,6	16,94±3,1
Bilirubin (μmol/l)	18,7±4,7	18,5±2,5	18,43±4,2	18,43±2,38	17,86±3,25	18,18±2,37
Kortizol (nmol/l)	52,6±8,34	54,2±11	54,5±8,6	54,95±9,9	226,2±27,4	231,9±35,2

N – nevakcinisane kobile; V – vakcinisane kobile



Grafikon 4. *Koncentracija kortizola kod nevakcinisanih (N) i vakcinisanih (V) kobila pre i nakon ždrebljenja*

Korelacija između vrednosti kortizola kod kobila neposredno po partusu i koncentracije IgG u serumu kobila bila je niska $r = 0,3268$, isto kao i sa koncentracijom gama globulina u kolostrumu ($r = 0,3084$).

5.1.4. Rezultati seroloških ispitivanja

Serološkim ispitivanjem je obuhvaćen titar virus-neutralizujućih antitela protiv herpesvirusa 1 kod vakcinisanih i nevakcinisanih kobila.

Kod nevakcinisanih kobila titar antitela protiv EHV-1 je veoma nizak ili ga nema, za razliku od vakcinisanih kobila kod kojih je ustanovljen relativno visok titar antitela protiv ovog virusa. Kao što se iz tabele 13 vidi, kod većine nevakcinisanih kobila titar antitela protiv herpesvirusa 1 je manji od 1:2 (ili ga nema) – samo u jednom slučaju je iznosio 1:32 što i nije tako visok titar u poređenju sa nalazima kod vakcinisanih kobila.

Podaci o visini titra antitela na konjski herpesvirus 1 kod kobila koje nisu vakcinisane protiv ovog virusa u toku graviditeta prikazani su u tabeli 13.

Tabela 13. Visine titra antitela na EHV-1 u serumu nevakcinisanih kobila

Red. br	30 dana do ždrebljenja	15 dana do ždrebljenja	7 dana do ždrebljenja	Na dan ždrebljenja
1	1:8	1:8	1:8	1:8
2	1:4	1:4	1:4	1:4
3	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2
4	<1:2	1:2	1:2	1:2
5	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2
6	1:8	1:8	1:8	1:4
7	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2
8	1:4	1:4	1:4	1:4
9	1:16	1:16	1:16	1:16
10	1:32	1:32	1:16	1:16
11	1:4	1:4	1:4	1:4
12	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2
GSV	/			
LogGSV	/			
Ar.sred.vred.	6,25	6,25	5	4,8

GSV - geometrijska srednja vrednost; LogGSV - logaritamska vrednost GSV; - Ar.sred.vred - aritmetička srednja vrednost recipročne vrednosti titra.

Za razliku od nevakcinisanih kobila, kod vakcinisanih je ustanovljen relativno visok titar antitela protiv herpesvirusa 1. Kao što se u tabeli 14 vidi, u najvećem broju slučajeva titar antitela protiv herpesvirusa 1 je 1:128, u jednom slučaju čak 1:256, samo u nekoliko slučajeva je niži od 1:64. Ono što je takođe važno jeste činjenica da se, osim u jednom slučaju, titar ne menja u terminima kada je ispitivan, isti je 30 dana pred ždrebljenje i na ždrebljenje, čime se isključuje eventualna depresija uslovljena poslednjom vakcinacijom u 9. mesecu.

Rezultati su, inače, prikazani kao razređenja seruma, geometrijske srednje vrednosti recipročne vrednosti titra i logaritamske vrednosti za osnovu 10 geometrijske srednje vrednosti recipročne vrednosti titra, zatim, kao aritmetička srednja vrednost recipročne vrednosti titra.

Tabela 14. Visina titra antitela na konjski herpesvirus 1 u serumu vakcinisanih kobila

Red. br	30 dana do ždrebljenja	15 dana do ždrebljenja	7 dana do ždrebljenja	Na dan ždrebljenja
1	1:256	1:256	1:128	1:128
2	1:32	1:32	1:32	1:32
3	1:64	1:64	1:32	1:32
4	1:128	1:128	1:128	1:128
5	1:128	1:128	1:128	1:128
6	1:64	1:64	1:64	1:64
7	1:128	1:64	1:64	1:64
8	1:256	1:128	1:128	1:128
9	1:128	1:128	1:128	1:128
10	1:64	1:64	1:64	1:64
11	1:32	1:32	1:32	1:32
12	1:32	1:32	1:32	1:32
GSV	85,4	76,1	67,8	67,8
LogGSV	1,93	1,88	1,83	1,83
Aritm. sred.vred.	109,3± 75,56	93,3±61,91	80±42,33	80±42,33

GSV - geometrijska srednja vrednost; LogGSV - logaritamska vrednost GSV; Aritm.sred.vred. - aritmetička srednja vrednost recipročne vrednosti titra

Stepen korelacije između koncentracije IgG u serumu vakcinisanih kobila i recipročne vrednosti titra antitela na EHV-1, prikazan je u tabeli 15.

Tabela 15. Korelacija između koncentracije IgG u serumu vakcinisanih kobila i recipročne vrednosti titra antitela na EHV-1

	Vakcinisana grupa kobila
30 dana do porođaja	r = 0,3756
15 dana do porođaja	r = 0,4488
7 dana do porođaja	r = 0,2748
Neposredno po ždrebljenju	r = 0,3404

5.1.5. Rezultati analiza kolostruma i mleka kobila

Analizom kolostruma i mleka obuhvaćeni su osnovni biohemijski parametri: sadržaj vode, belančevina i masti, elektroforezogram i broj somatskih ćelija. Koncentracija belančevina u kolostrumu iznosi $94,68 \pm 19,25$ g/l i ona značajno pada već drugog dana, da bi najniža vrednost bila izmerena 7. dana ($49,42 \pm 24,86$ g/l), za razliku od sadržaja vode koji je najmanji u kolostrumu i progresivno se povećava do 7. dana laktacije. Koncentracija masti je takođe najveća u kolostrumu (tabela 16).

Tabela 16. Sadržaj belančevina, masti i vode u kolostrumu i mleku kobila tokom prvih 7 dana laktacije

Parametar	1. dan	2. dana	4. dan	7. dan
Belančevine (g/l)	$94,68 \pm 19,25^a$	$63,46 \pm 23,71^b$	$57,88 \pm 17,69$	$49,42 \pm 24,86$
Masti (%)	$3,23 \pm 0,33$	$2,18 \pm 0,29$	$2,08 \pm 0,16$	$2,18 \pm 0,26$
Voda (%)	$83,23 \pm 9,33$	$92,18 \pm 8,29$	$92,08 \pm 8,16$	$93,18 \pm 7,26$

a b- statistički značajna razlika ($p < 0,05$)

Kao što se i očekivalo, elektroforetskim razdvajanjem utvrđeno je da je sadržaj gama globulina najveći u kolostrumu, $53,43 \pm 3,47$, da bi se uz progresivan pad sveo na $16,80 \pm 4,57$ g/l sedmog dana laktacije. Prva dva dana se jasno razdvaja prealbuminska frakcija, da bi posle četvrtog dana, sa nestankom prealbuminske frakcije došlo do povećanja sadržaja albumina i alfa globulina. Procentualni odnos pojedinih frakcija belančevina razdvojenih elektroforezom u kolostrumu i mleku kobile tokom prvih 7 dana laktacije prikazan je u tabeli 17.

Tabela 17. Procentualni odnos pojedinih frakcija belančevina razdvojenih elektroforezom u kolostrumu i mleku kobila tokom prvih 7 dana laktacije

Parametar	1. dan	2. dan	4. dan	7. dan
Prealbumini	$11,555 \pm 4,333$	$9,341 \pm 7,190$	-	-
Albumini	$21,666 \pm 4,222$	$25,777 \pm 3,900$	$34,421 \pm 3,772$	$33,801 \pm 4,981$
Alfa globulini	$4,555 \pm 0,765$	$12,211 \pm 1,003$	$26,443 \pm 5,311$	$24,546 \pm 5,433$
Beta globulini	$12,333 \pm 4,356$	$14,999 \pm 2,400$	$14,232 \pm 2,228$	$12,333 \pm 1,989$
Gama globulini	$53,431 \pm 3,466$	$40,222 \pm 4,767$	$18,667 \pm 4,333$	$16,800 \pm 4,566$

Vrednosti proteinskih frakcija razdvojenih elektroforezom u kolostrumu i mleku kobila u prvih 7 dana laktacije prikazane su u tabeli 18.

Tabela 18. *Koncentracija ukupnih proteina i pojedinih frakcija proteina ($X \pm SD$) u kolostrumu i mleku kobila u prvih 7 dana laktacije*

Parametar	1. dan	2. dan	4. dan	7. dan
Ukupni protein (g/l)	94,68±19,25 ^a	63,46±23,71 ^b	57,88±17,69	49,42±24,86
Prealbumini (g/l)	10,94±2,22 ^c	5,92±2,21 ^d		
Albumini (g/l)	19,69±4,15	16,36±6,11	20,19±12,58	20,9±12,58
Alfa globulini (g/l)	4,99±1,75 ^a	7,74±2,89	15,45±4,74 ^b	12,78±6,13
Beta globulini (g/l)	10,9±1,91 ^a	9,59±3,68	9,34±3,06	6,29±3,3 ^b
Gama globulini (g/l)	48,16±10,65 ^c	23,85±8,82 ^{da}	12,88±3,75 ^{ba}	9,46±3,33 ^b

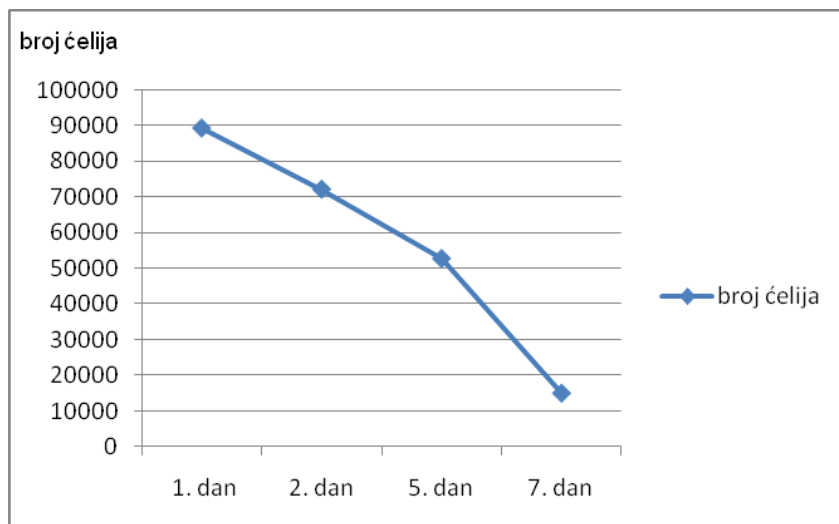
ab značajna razlika $p < 0,05$; cd razlika značajna $p < 0,01$

Statistički značajno smanjenje koncentracije ukupnih proteina i gama globulina vidi se već drugog dana laktacije, da bi sedmog dana koncentracija ukupnih proteina bila dvostruko manja, a koncentracija gama globulina čak petostruko manja.

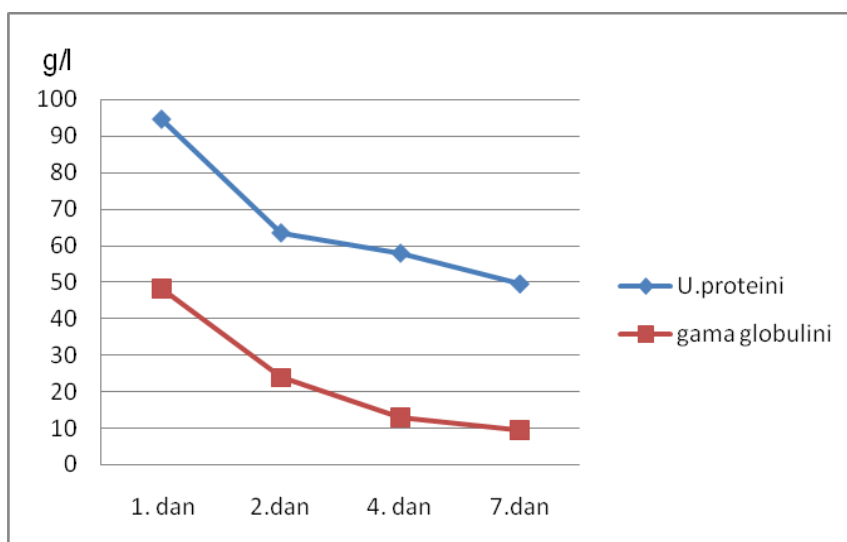
Broj somatskih ćelija je najveći u kolostrumu uz progresivno opadanje sa 89.324 ± 29.537 prvog dana, na 15.070 ± 3.150 sedmog dana (tabela 19). U poređenju sa brojem ćelija u kolostrumu, statističkom analizom je utvrđena značajna razlika 5. dana po ždrebljenju ($p < 0,05$) i vrlo značajna razlika 7. dana po ždrebljenju ($p < 0,001$). Značajna je, osim toga, i razlika između broja ćelija utvrđenih 5. i 7. dana ($p < 0,01$).

Tabela 19. *Broj ćelija u kolostrumu i mleku kobila tokom prvih 7 dana laktacije*

Broj ćelija	Porodaj	Drugi dan	Peti dan	Sedmi dan
X	89.324,24	72.214,84	52.794,72	15.070,17
SD	29.537,42	49.711,35	25.016,01	3.150,09
CV	33,07	68,84	47,38	20,90
IV	48.861-126.654	29.997-157.762	31.130-74.459	12.342-17.798



Grafikon 5. Broj ćelija u kolostrumu i mleku kobilica tokom prvih 7 dana laktacije



Grafikon 6. Koncentracija ukupnih proteina i gama globulina u kolostrumu i mleku kobilica

Stepen korelacije između koncentracije gama globulina u kolostrumu kobilica sa koncentracijom gama-globulina i IgG u serumu kobilica, prikazan je u tabeli 20. Kao što se u tabeli vidi, očigledna je korelacija između koncentracije gama globulina u kolostrumu i serumu, što nikako nije slučaj sa korelacijom između koncentracije gama globulina u kolostrumu i koncentracije IgG u krvnom serumu.

Tabela 20. *Stepen korelacije između koncentracije gama globulina u kolostrumu i koncentracije gama globulina i IgG u serumu kobila*

	Koeficijent korelacije
Koncentracija gama-globulina u serumu kobila po ždrebljenju	$r = 0,7897$
Koncentracija IgG u serumu kobila po ždrebljenju	$r = 0,2949$
Koncentracija gama-globulina u serumu kobila 7 dana pre ždrebljenja	$r = 0,4472$
Koncentracija IgG u serumu kobila 7 dana pre ždrebljenja	$r = -0,39129$
Koncentracija gama-globulina u serumu kobila 15 dana pre ždrebljenja	$r = -0,8432$
Koncentracija IgG u serumu kobila 15 dana pre ždrebljenja	$r = -0,25952$
Koncentracija gama-globulina u serumu kobila 30 dana pre ždrebljenja	$r = -0,5183$
Koncentracija IgG u serumu kobila 30 dana pre ždrebljenja	$r = -0,24302$

Stepen korelacije između koncentracije ukupnih proteina u kolostrumu kobila sa ispitivanim parametrima kod njihove ždrebadi prikazan je u tabeli 21.

Tabela 21. *Stepen korelacije između koncentracije ukupnih proteina u kolostrumu kobila i ostalih parametara kod njihove ždrebadi*

Ispitivani parametar	Stepen korelacije	Ispitivani parametar	Stepen korelacije
Kortizol, posle 24 h	$r = -0,6708$	Broj eritrocita, posle 24 h	$r = 0,4389$
Fe, posle 24 h	$r = -0,2562$	Broj leukocita, posle 24 h	$r = 0,5902$
Ca, posle 24 h	$r = 0,5265$	Broj neutofila, posle 24 h	$r = 0,7741$
P, posle 24 h	$r = -0,6701$	Broj limfocita, posle 24 h	$r = -0,4855$
Trigliceridi, posle 24 h	$r = -0,4625$		
Holesterol, posle 24 h	$r = -0,2426$		
Ukupni bilirubin, posle 24 h	$r = -0,4407$		

5.2. Rezultati ispitivanja ždrebadi

Ispitivanjem je obuhvaćeno 24 ždrebadi, po 12 od jedne i druge grupe kobila. Ždrebadi su podijeljena u četiri grupe: IA grupa ždrebadi koja potiče od kobila koje nisu vakcinisane protiv EHV-1; IB grupa ždrebadi koja potiče od kobila koje su vakcinisane protiv EHV-1; IIC grupa ždrebadi koja potiče od kobila koje nisu vakcinisane protiv EHV-1, a dobijala su zeolit u prvom napoju i IID grupa u kojoj su ždrebadi poreklom od kobila koje su vakcinisane protiv EHV-1, koja su dobijala zeolit u prvom napoju kolostruma. U svakoj grupi je bilo po 6 ždrebadi (n=6). Sva ždrebadi su pregledana klinički neposredno po rođenju, kao i svakih 24 časa do 7. dana života. Ždrebadi su bila na nogama za 30-60 minuta po rođenju i u prvih 1-2 sata posisala kolostrum. Samo jedno ždrebe je nakon dobijanja kolostruma majke kasnije hranjeno mlekom krave, jer je kobilica uginula po ždrebljenju.

5.2.1. Rezultati hematoloških ispitivanja

Hematološka ispitivanja su obavljena neposredno po rođenju (oko 1 sat posle porođaja), zatim nakon 24, 48, 72 časa i 7 dana. Ispitana je kompletna krvna slika: broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i hematokrit, MCV, MCH, MCHC i RDW (crvena krvna slika), broj leukocita, diferencijalna bela krvna slika (bela krvna slika), zatim broj i prosečna zapremina trombocita.

Tokom prvih sedam dana života zapaža se opadanje broja eritrocita. Statističkom analizom je utvrđeno da je razlika u broju eritrocita značajna već drugog dana života ždrebeta i to kod svih grupa ($p < 0,01$). Takođe opadaju i vrednosti za hemoglobin i one su značajne već prvog dana života ($p < 0,01$). I vrednosti hematokrita opadaju paralelno sa smanjenjem broja eritrocita, pri čemu je ova razlika statistički veoma značajna 1. dana za $p < 0,001$. Iako su ove promene statistički značajne, sve ispitivane vrednosti su se kretale u okviru fizioloških vrednosti za ždrebadi u ovom periodu. Vrednosti za MCV su bile na donjoj granici ili ispod minimalnih vrednosti za odrasla grla, dok su vrednosti za MCHC relativno konstantne posle rođenja.

Vrednosti crvene krvne slike prikazane su u tabeli 22.

Tabela 22. Crvena krvna slika ($x \pm SD$) u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života

Grupa i vreme uzorkovanja krvi	Er ($\times 10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hct (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/l)	RDW (%)
IA - 1. sat	9,8 \pm 0,5	128 \pm 6	40,8 \pm 1,3	34,2 \pm 1*	10,73 \pm 1	340 \pm 20	23,4 \pm 1,2
IB - 1. sat	9,9 \pm 1,7	124 \pm 10	39,8 \pm 2,1	32,9 \pm 1*	10,9 \pm 0,7	345 \pm 17	23,8 \pm 1,9
IIC - 1. sat	10, \pm 1,2	129 \pm 9	40,4 \pm 1,5	34,9 \pm 2,3*	10,7 \pm 1,2	335 \pm 21	23,6 \pm 0,9
IID - 1. sat	10,1 \pm 1,2	129 \pm 10	40,7 \pm 0,8	33,1 \pm 0,8*	11,8 \pm 0,7	342 \pm 21	23 \pm 0,9
IA - 24 h	9,3 \pm 0,4	113 \pm 6	37,5 \pm 1,1	37 \pm 2,1	10,8 \pm 1	333 \pm 20	24,7 \pm 1,4
IB - 24 h	9,3 \pm 1,4	118 \pm 6	38,4 \pm 2,1	33,2 \pm 1,2*	10,9 \pm 0,9	330 \pm 18	23 \pm 1,1
IIC - 24 h	9,5 \pm 1	125 \pm 9	40,5 \pm 1,6	33,4 \pm 1,3*	10,7 \pm 1,1	338 \pm 19	23,5 \pm 1,9
IID - 24 h	9,6 \pm 1,1	124 \pm 10	39,4 \pm 0,9	31,8 \pm 1,1	11,1 \pm 0,8	321 \pm 15	23 \pm 1,5
IA - 48 h	8,9 \pm 0,4	109 \pm 5	34,9 \pm 1,3	38,4 \pm 2,2	11,1 \pm 0,9	299 \pm 7	23 \pm 1
IB - 48 h	8,7 \pm 1,2	118 \pm 6	35,7 \pm 2,3	33,9 \pm 1,2*	11,6 \pm 0,7	355 \pm 15	23,4 \pm 1,2
IIC - 48 h	8,6 \pm 0,2	116 \pm 7	39,2 \pm 4,2	34,5 \pm 1,5*	11 \pm 1	346 \pm 15	22,8 \pm 1,1
IID - 48 h	8,7 \pm 0,7	118 \pm 9	34,5 \pm 2,1	33,6 \pm 1,4*	11,2 \pm 0,7	331 \pm 17	22,3 \pm 1,3

Tabela 22. Crvena krvna slika ($X \pm SD$) u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života (nastavak)

Grupa i vreme uzorkovanja krvi	Er ($\times 10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hct (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/l)	RDW (%)
IB - 72 h	8,5 \pm 1	104 \pm 4	35,9 \pm 3,9	34,2 \pm 1*	11,1 \pm 0,7	359 \pm 9	22,9 \pm 1,1
IA - 72 h	8,6 \pm 0,3	10,2 \pm 0,5	29,7 \pm 2,3	37,7 \pm 1,5	10,8 \pm 0,9	32,3 \pm 2,8	23,4 \pm 1,1
IIC - 72 h	8,3 \pm 0,2	11,9 \pm 0,7	36,8 \pm 4,4	35,8 \pm 1,1*	11,5 \pm 0,9	34,3 \pm 1,5	22,7 \pm 1,3
IID - 72 h	8,6 \pm 0,7	11,2 \pm 0,8	32,7 \pm 1,8	34,3 \pm 1,3*	10,6 \pm 0,6	33,4 \pm 1,7	22,5 \pm 0,6
IB - 7. dan	8,1 \pm 0,8	8,9 \pm 0,3	28,2 \pm 1,4	32,3 \pm 1,4*	12,1 \pm 0,8	35,6 \pm 1,7	23 \pm 1,2
IA - 7. dan	8,3 \pm 0,2	8,9 \pm 0,7	28 \pm 1,8	37 \pm 1,4	10,7 \pm 0,5	32,9 \pm 3	23,1 \pm 0,9
IIC - 7. dan	7,9 \pm 0,4	8,8 \pm 0,5	29,5 \pm 1,7	31,9 \pm 1,3*	11,6 \pm 0,8	34,6 \pm 1,3	22,5 \pm 1,1
IID - 7. dan	8,3 \pm 0,5	9,1 \pm 0,5	26,2 \pm 4,5	35,1 \pm 1,5*	11,3 \pm 0,7	31,7 \pm 1,3	22,4 \pm 1

Er – eritrociti; Hb – hemoglobin; Hct – hematokrit;

*Vrednosti su ispod fizioloških za odrasle životinje

Poput crvene krvne slike, u prvih 7 dana života broj leukocita ne izlazi iz fizioloških okvira za novorođenu ždrebadi. Do 7. dana primećuje se blagi porast broja leukocita, koji prati i porast broja neutrofila. U toku 1. dana dolazi do povećanja broja neutrofila kod svih ispitivanih grupa ždrebadi. Statističkom analizom, međutim, nije ustanovljena značajna razlika u broju neutrofila kod ždrebadi neposredno nakon rođenja i prvog dana života ($p>0,05$). Broj limfocita je na niskom nivou u toku prvih 7 dana života i njihova vrednost se ne menja značajno u toku ovog perioda. Odnos između broja neutrofila i limfocita kretao se od 1,77 do 2,53. Broj monocita, eozinofila i bazofila se ne menja značajno u toku prvih 7 dana (tabela 23).

Tabela 23. Bela krvna slika ($X\pm SD$) u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života

Grupa i vreme uzorkovanja	Leukociti ($\times 10^9/l$)	Ne ($\times 10^9/l$)	Ly ($\times 10^9/l$)	Mo ($\times 10^9/l$)	Eo ($\times 10^9/l$)	Ba ($\times 10^9/l$)
IA - 1 sat	7,27 \pm 1,2	4,36 \pm 1,4	2,46 \pm 1,1	0,45 \pm 0,2	0,02 \pm 0,02	0
IB - 1. sat	7,14 \pm 0,6	4,2 \pm 0,6	2,3 \pm 0,6	0,5 \pm 0,3	0,07 \pm 0,09	0
IIC - 1. sat	7,22 \pm 0,4	4,42 \pm 0,8	2,05 \pm 0,6	0,65 \pm 0,2	0,1 \pm 0,07	0
IID - 1. sat	7,25 \pm 0,6	4,41 \pm 1,1	2,39 \pm 0,6	0,39 \pm 0,4	0,05 \pm 0,03	0
IA - 4 h	7,92 \pm 0,2	5,02 \pm 1,1	2,49 \pm 0,4	0,62 \pm 0,4	0,12 \pm 0,1	0
IB - 24 h	7,86 \pm 0,4	4,69 \pm 0,8	2,4 \pm 0,7	0,59 \pm 0,3	0,16 \pm 0,1	0,03 \pm 0,06
IIC - 24 h	7,95 \pm 0,3	4,97 \pm 0,8	2,34 \pm 0,5	0,55 \pm 0,3	0,09 \pm 0,06	0
IID - 24 h	7,88 \pm 0,7	4,91 \pm 1,3	2,18 \pm 0,9	0,4 \pm 0,3	0,06 \pm 0,05	0
IA - 48 h	7,7 \pm 0,2	4,74 \pm 0,7	2,26 \pm 0,7	0,51 \pm 0,4	0,18 \pm 0,1	0
IB - 48 h	7,77 \pm 0,7	4,51 \pm 0,8	2,52 \pm 0,7	0,6 \pm 0,3	0,13 \pm 0,07	0,01 \pm 0,03
IIC - 48 h	8,13 \pm 0,6	5,05 \pm 1	2,2 \pm 0,5	0,74 \pm 0,4	0,14 \pm 0,1	0
IID - 48 h	7,5 \pm 1,2	4,75 \pm 1,4	2,35 \pm 0,8	0,33 \pm 0,3	0,07 \pm 0,04	0
IA - 72 h	7,8 \pm 0,2	4,68 \pm 0,7	2,47 \pm 0,6	0,46 \pm 0,3	0,19 \pm 0,1	0
IB - 72 h	8,19 \pm 1	4,8 \pm 0,8	2,6 \pm 0,9	0,58 \pm 0,3	0,21 \pm 0,07	0
IIC - 72 h	8,23 \pm 0,4	5,21 \pm 0,9	2,06 \pm 0,5	0,74 \pm 0,4	0,22 \pm 0,09	0
IID - 72 h	7,91 \pm 0,6	5,01 \pm 1,1	2,43 \pm 0,8	0,39 \pm 0,4	0,07 \pm 0,04	0
IA - 7. dan	7,66 \pm 0,4	4,62 \pm 0,6	2,39 \pm 0,5	0,5 \pm 0,2	0,15 \pm 0,1	0
IB - 7. dan	8,72 \pm 2,2	4,98 \pm 0,9	2,93 \pm 1,2	0,57 \pm 0,4	0,24 \pm 0,12	0
IIC - 7. dan	8,41 \pm 0,5	5,32 \pm 0,8	2,19 \pm 0,5	0,65 \pm 0,3	0,25 \pm 0,06	0
IID - 7. dan	8,06 \pm 0,6	5 \pm 1	2,37 \pm 0,7	0,63 \pm 0,6	0,04 \pm 0,03	0

Ne – neutrofili; Ly – limfociti; Mo – monociti, Eo – eozinofili; Ba - bazofili

Odnos između broja neutrofila i limfocita prikazan je u tabeli 24.

Tabela 24. *Neutrofilno/limfocitni količnik (N/L) u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života*

	IA	IB	IIC	IID
1. sat	1,77	1,82	2,15	1,84
24 h	2,01	1,95	2,12	2,25
48 h	2,09	1,79	2,29	2,02
72 h	1,89	1,84	2,53	2,06
7. dan	1,93	1,7	2,43	2,1

Broj trombocita nije izlazio iz okvira fizioloških granica, niti su uočene značajnije razlike između pojedinih grupa (tabela 25).

Tabela 25. *Broj trombocita ($\times 10^9/l$) i srednja zapremina trombocita (fl) u novorođene ždrebadi tokom prvih 48 časova života*

	IA ($\bar{X}\pm SD$)	IB ($\bar{X}\pm SD$)	IIC ($\bar{X}\pm SD$)	IID ($\bar{X}\pm SD$)
PLT - 1. sat	200 \pm 46	201 \pm 37,8	199 \pm 38,7	197,3 \pm 42,8
MPV - 1. sat	7,4 \pm 4,05	8,3 \pm 3,83	9,5 \pm 3,72	7,5 \pm 2,14
PLT - 24 h	188,8 \pm 38,45	186,8 \pm 34,18	190,8 \pm 38,18	183,6 \pm 39,07
MPV - 24h	6,9 \pm 3,49	7,6 \pm 3,08	8,7 \pm 3,19	7,1 \pm 2,06
PLT - 48 h	170,5 \pm 31,38	177,6 \pm 34,05	170,6 \pm 25,58	165,8 \pm 31,49
MPV - 48h	6,4 \pm 2,76	7 \pm 2,53	7,6 \pm 2,35	6,6 \pm 1,69
PLT - 72 h	158,5 \pm 23,78	164,8 \pm 32,15	151,2 \pm 22,16	156 \pm 29,88
MPV - 72 h	5,9 \pm 1,96	6,7 \pm 2,26	7,5 \pm 2,26	6,4 \pm 1,53
PLT - 7. dan	146,8 \pm 26,93	148,2 \pm 31,13	123 \pm 23,6	127 \pm 23,16
MPV - 7. dan	5,8 \pm 1,41	6,4 \pm 2,08	7,4 \pm 2,09	6,1 \pm 1,2

5.2.2. Sadržaj ukupnih proteina i pojedinih frakcija proteina u serumu ždrebadi

Uprkos očekivanjima, koncentracija ukupnih proteina u serumu ždrebadi tokom prvih 7 dana života se ne menja mnogo. Značajno povećanje koncentracije ukupnih proteina posle 24 časa života zapaža se kod IIC i IID grupe ždrebadi ($p < 0,05$). Razlike između grupa pri tome nisu statistički značajne. ($p > 0,05$).

Za razliku od ukupnih proteina, koncentracija albumina opada već tokom prvog dana. Statističkom analizom utvrđena je značajna razlika kod IB i IIC grupe ždrebadi ($p < 0,01$) i kod IID grupe ($p < 0,05$), dok je kod grupe IA izostala statistička potvrda zbog nešto većih individualnih varijacija. Kasnije, do sedmog dana života vrednosti albumina se ne menjaju značajnije. Alfa 1 globulini takođe opadaju prvog dana života, ali ne kod svih. Statističkom analizom je utvrđeno značajno kod IA grupe ždrebadi ($p < 0,05$). Kod IB grupe ovo smanjenje alfa 1 globulinske frakcije nije statistički značajno ($p > 0,05$), dok se kod ostalih grupa javlja mali porast, koji takođe nije statistički značajan ($p > 0,05$). Razlike koje se javljaju među grupama kod alfa 2 globulinske frakcije nisu statistički značajne ($p > 0,05$). U beta globulinskoj frakciji nema statistički značajnih razlika među grupama, niti po vremenu uzimanja uzoraka.

Vrednosti gama globulinske frakcije u serumu ždrebadi neposredno po rođenju su vrlo niske i iznose $0,8 \pm 0,2$ g/l kod IA i IB grupe, $1,2 \pm 0,6$ g/l kod IIC i $0,6 \pm 0,3$ g/l kod IID grupe ždrebadi. Porast se zapaža već prvog dana života. Ovo povećanje koncentracije gama-globulinske frakcije prvog dana statistički je vrlo značajno kod svih grupa ždrebadi, pri čemu između grupa nije bilo statistički značajnih razlika. Inače, posle ovog značajnog porasta dolazi do blagog opadanja vrednosti gama globulina sve do 7. dana, koje nije statistički značajno ($p > 0,05$).

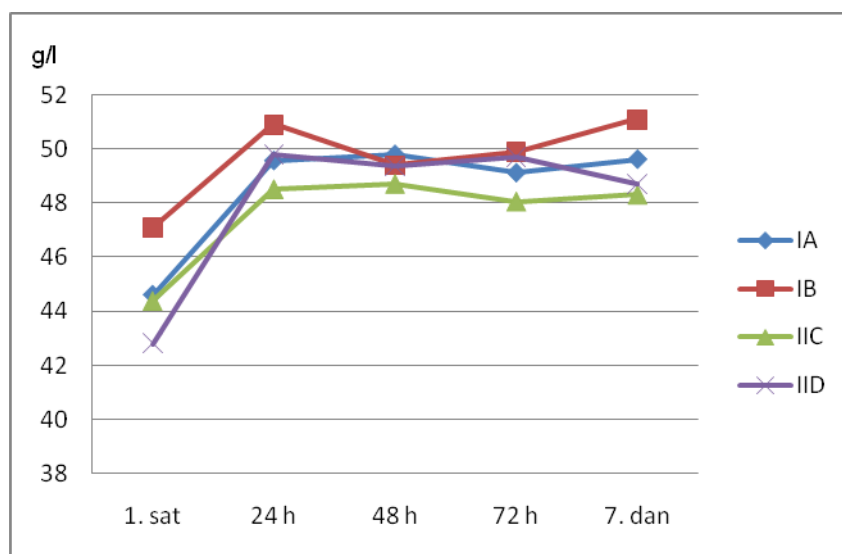
Tabela 26. Koncentracija pojedinih frakcija serumskih proteina ($X \pm SD$) u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života

Grupa i vreme uzorkovanja	U. proteini (g/l)	Albumini (g/l)	α 1-glob. (g/l)	α 2-glob. (g/l)	β -glob. (g/l)	γ -glob. (g/l)
IA - 1. sat	46,6 \pm 3,4	26,5 \pm 4,7	5,5 \pm 1,8	6,0 \pm 1,8	7,7 \pm 2,6	0,8 \pm 0,2
IB - 1. sat	47,1 \pm 3,8	28,1 \pm 4,4	5,7 \pm 2,4	5,9 \pm 3,2	6,6 \pm 0,9	0,8 \pm 0,2
IIC - 1. sat	44,4 \pm 2,9	24,4 \pm 1,7	3,8 \pm 1,8	7,4 \pm 1,9	7,5 \pm 1,8	1,2 \pm 0,6
IID - 1. sat	42,8 \pm 3,9	26,7 \pm 6,0	2,9 \pm 1,8	7,2 \pm 2,6	5,4 \pm 2,3	0,6 \pm 0,3
IA - 24 h	49,55 \pm 3,2	24,8 \pm 2,7	2,7 \pm 1,3	4,61 \pm 2,0	6,4 \pm 1,6	10,8 \pm 1,4
IB - 24 h	50,9 \pm 3,3	24,55 \pm 1,6	3,4 \pm 1,9	6,9 \pm 3,0	5,4 \pm 1,9	10,6 \pm 0,9
IIC - 24 h	48,5 \pm 1,8	24,2 \pm 1,6	3,4 \pm 1,3	5,7 \pm 1,4	6,0 \pm 0,5	9,6 \pm 1,1
IID - 24 h	49,8 \pm 5,15	23,6 \pm 1,46	3,1 \pm 2,7	4,3 \pm 0,8	7,0 \pm 2,1	11,7 \pm 3,0

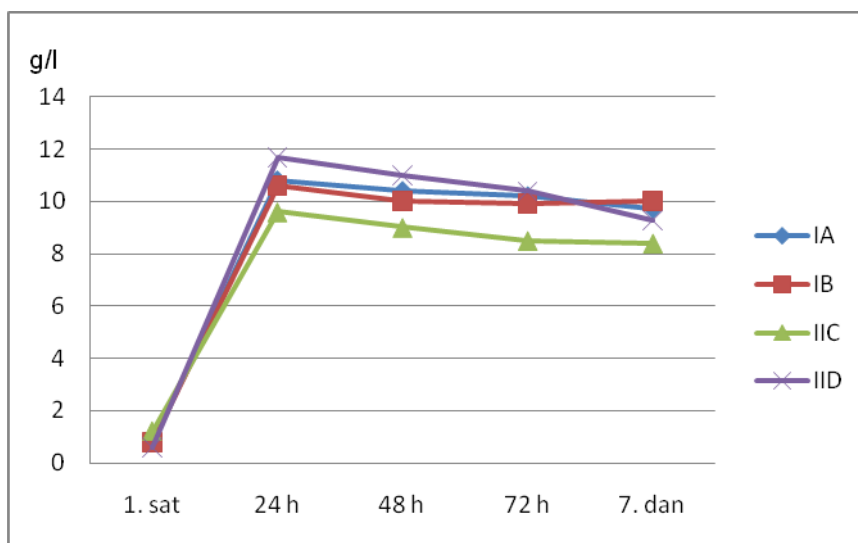
Tabela 26. *Koncentracija pojedinih frakcija serumskih proteina ($X \pm SD$) u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života (nastavak)*

Grupa i vreme uzorkovanja	U. proteini (g/l)	Albumini (g/l)	α 1-glob. (g/l)	α 2-glob. (g/l)	β -glob. (g/l)	γ -glob. (g/l)
IA - 48 h	49,78 \pm 2,75	25,08 \pm 1,4	2,1 \pm 1,3	5,3 \pm 2,4	6,8 \pm 1,0	10,4 \pm 1,7
IB - 48 h	49,4 \pm 2,9	24,2 \pm 1,3	3,2 \pm 0,9	6,4 \pm 1,9	5,5 \pm 1,2	10,0 \pm 0,8
IIC - 48 h	48,7 \pm 2,2	24,0 \pm 2,2	2,8 \pm 1,7	6,3 \pm 1,5	6,6 \pm 0,5	9,0 \pm 1,5
IID - 48 h	49,36 \pm 4,7	24,0 \pm 2,3	2,7 \pm 0,6	4,6 \pm 1,1	7,0 \pm 2,1	11,0 \pm 2,4
IA - 72 h	49,1 \pm 2,26	24,9 \pm 1,3	2,1 \pm 1,2	5,3 \pm 2,5	6,5 \pm 1,4	10,2 \pm 1,2
IB - 72 h	49,9 \pm 2,5	24,3 \pm 1,5	3,9 \pm 1,5	6,1 \pm 1,7	5,8 \pm 1,2	9,9 \pm 1,2
IIC - 72 h	48,05 \pm 2,3	23,7 \pm 1,1	2,9 \pm 1,6	6,2 \pm 1,5	6,7 \pm 0,4	8,5 \pm 1,8
IID - 72 h	49,7 \pm 4,1	24,2 \pm 2,4	3 \pm 0,4	5,4 \pm 1,3	6,7 \pm 1,9	10,4 \pm 1,9
IA - 7. dan	49,6 \pm 2,6	25,1 \pm 1,5	2,9 \pm 1,1	5,5 \pm 2,1	6,4 \pm 1,1	9,7 \pm 1,2
IB - 7. dan	51,1 \pm 2,3	24,3 \pm 1,1	4,2 \pm 1,4	6,9 \pm 2,1	5,7 \pm 0,5	10,0 \pm 1,2
IIC - 7. dan	48,3 \pm 2,05	23,8 \pm 1,4	3,2 \pm 1,9	6,1 \pm 1,3	6,7 \pm 0,5	8,4 \pm 1,7
IID - 7. dan	48,7 \pm 4,7	24,4 \pm 2,76	3,0 \pm 0,5	4,8 \pm 0,8	7,2 \pm 1,9	9,3 \pm 0,9

Kratanje gama globulinske frakcije u serumu ždrebadi dobijenih celulozo-acetatnom elektroforezom prikazani su na grafikonu 8.



Grafikon 7. *Koncentracija ukupnih proteina u serumu ždrebadi prvih 7 dana života*



Grafikon 8. Koncentracija γ -globulina u serumu ždrebadi u prvih 7 dana života

Vrednosti albuminsko globulinskog količnika kod ždrebadi opadaju prvog dana života kod svih grupa ždrebadi, a zatim se zadržavaju na konstantnim vrednostima do 7. dana života. Vrednost albuminsko/globulinskog količnika kod ždrebadi u prvih 7 dana života prikazane su u tabeli 27.

Tabela 27. Albuminsko/globulinski količnik kod novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života

	1.sat	24 h	48 h	72 h	7. dan
IA	1,4±0,5	0,95±0,1	1,02±0,13	1,04±0,1	1,02±0,1
IB	1,6±0,45	0,9±0,05	0,95±0,15	0,9±0,09	0,9±0,08
IIC	1,2±0,17	1±0,09	0,97±0,09	0,96±0,2	0,97±0,1
IID	1,8±0,8	0,9±1,5	0,9±0,13	0,95±0,12	1±0,12

Stepen korelacije između koncentracija gama globulina u serumu ždrebadi 1. dana života sa koncentracijom gama globulina u kolostrumu i serumu njihovih majki neposredno po porođaju, utvrđen Person-ovim koeficijentom korelacije, prikazan je u tabeli 28.

Tabela 28. *Stepen korelacije između koncentracije gama globulina u serumu ždrebadi 1. dana života sa koncentracijom gama globulina u kolostrumu i serumu njihovih majki*

Ispitivani parametar	Koeficijent korelacije IA grupe
IgG u serumu kobilu neposredno po ždrebljenju	r = 0,5076
Gama globulini u kolostrumu kobilu	r = 0,8187
	Koeficijent korelacije IIC grupe
IgG u serumu kobilu neposredno po ždrebljenju	r = 0,4169
Gama globulini u kolostrumu kobilu	r = 0,4767
	Koeficijent korelacije IID grupa
IgG u serumu kobilu neposredno po ždrebljenju	r = 0,7846
Gama globulini u kolostrumu kobilu	r = 0,4556

5.2.3. Koncentracija imunoglobulina G u krvnom serumu ždrebadi

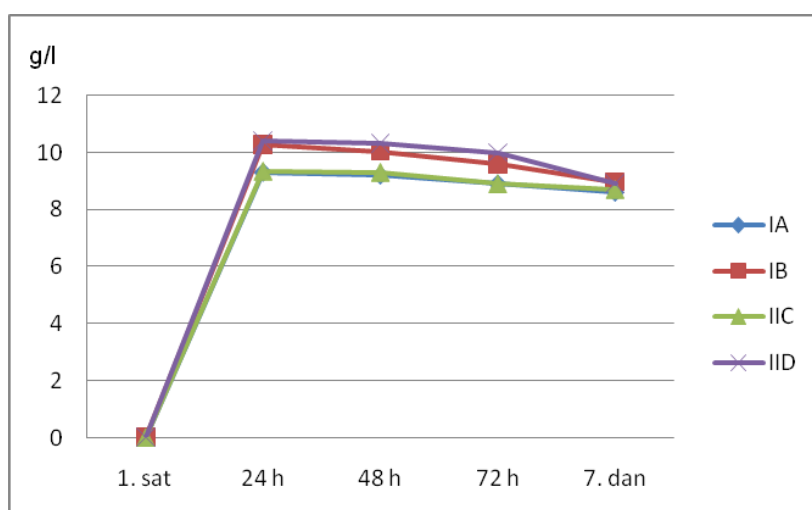
U uzorcima krvnih seruma koji su uzeti odmah po rođenju, pre unošenja kolostruma praktično nema imunoglobulina klase G (<1,08 g/l). Vrlo značajno povećanje se, pri tome, javlja u toku prvog dana života i na tom nivou se odrežava u prvih 7 dana života ždrebadi. Statističkom analizom razlika koje se javljaju među grupama ždrebadi, nije utvrđena statistička značajnost ($p > 0,05$). Vrednosti imunoglobulina G, dobijene metodom imunoturbidimetrije prikazane su u tabeli 29.

Tabela 29. *Koncentracija IgG u serumu ždrebadi tokom prvih 7 dana života*

Vreme uzorkovanja	IgG g/l	SD	MIN	MAX
IA - 1. sat	<1,08			
IB - 1. sat	<1,08			
IIC - 1. sat	<1,08			
IID - 1. sat	<1,08			

Tabela 29. *Koncentracija IgG u serumu ždrebadi tokom prvih 7 dana života (nastavak)*

Vreme uzorkovanja	IgG g/l	SD	MIN	MAX
IA - 24 h	9,3	1,4	6,29	11,65
IB - 24 h	10,3	1	9,21	11,89
IIC - 24 h	9,34	0,9	8,22	11,16
IID - 24 h	10,4	3,8	3,4	14,6
IA - 48 h	9,2	2,1	6,1	11,52
IB - 48 h	10,05	1	9,1	11,83
IIC - 48 h	9,3	1	8,15	11,2
IID - 48 h	10,3	3,7	3,6	14,6
IA - 72 h	8,9	1,7	6,15	10,72
IB - 72 h	9,6	0,8	8,58	11,28
IIC - 72 h	8,9	1,2	7,41	11,31
IID - 72 h	9,99	3,7	3,23	14,6
IA - 7. dan	8,6	1,7	6,21	10,2
IB - 7. dan	8,98	0,9	7,5	10,48
IIC - 7. dan	8,7	1,4	7,15	11,34
IID - 7. dan	8,9	3,1	3,11	12,32



Grafikon 9. *Koncentracija IgG u serumu ždrebadi tokom prvih 7 dana života*

Stepen korelacije između IgG u serumu ždrebadi 1. dana života sa gama globulinima u serumu ždrebadi prvog dan života, prikazan je u tabeli 30.

Tabela 30. *Stepen korelacije između IgG u serumu ždrebadi 1. dana života sa koncentracijom i ukupnih proteina i gama globulina u njihovom serumu 1. dana života*

Ispitivani parametar	Koeficijent korelacije	Ispitivani parametar	Koeficijent korelacije
IA grupa			
Gama globulini	r = 0,9861	Ukupni proteini	r = 0,3012
IB grupa			
Gama globulini	r = 0,9924	Ukupni proteini	r = 0,4484
IIC grupa			
Gama globulini	r = 0,9413	Ukupni proteini	r = 0,5327
IID grupa			
Gama globulini	r = 0,8792		

5.2.4. Virusološko-imunološka ispitivanja

Deo ispitivanja odnosio se na ispitivanje titra antitela na konjski herpes virus 1, metodom serum neutralizacije. Ždrebadi poreklom od majki koje nisu vakcinisane praktično nisu imala antitela protiv EHV-1/4 ili je titar bio minimalan, za razliku od ždrebadi poreklom od vakcinisanih kobilica (tabela 31 i 32).

Tabela 31. *Vrednosti titra serum-neutralizacionih antitela protiv EHV-1 u serumu ždrebadi čije majke nisu vakcinisane protiv EHV-1*

IA					IB				
R.br.	1. sat	24 h	72 h	7. dan	R.br.	1. sat	24 h	72 h	7. dan
1	<1:2	1:4	1:4	1:4	7	<1:2	1:4	1:4	1:4
2	<1:2	1:4	1:4	1:4	8	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2
3	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	9	<1:2	1:4	1:4	1:4
4	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	10	<1:2	1:8	1:8	1:8
5	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	11	<1:2	1:8	1:8	1:8
6	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	12	<1:2	1:4	1:4	1:4

Tabela 32. Vrednosti titra serum-neutralizacionih antitela protiv EHV-1 u serumu ždrebadi čije su majke vakcinisane protiv EHV-1

IIC					IID				
	1. sat	24 h	72 h	7. dan		1. sat	24 h	72 h	7. dan
1	<1:2	1:16	1:16	1:16	7	<1:2	1:32	1:32	1:32
2	<1:2	1:64	1:64	1:64	8	<1:2	1:64	1:64	1:64
3	<1:2	1:32	1:32	1:32	9	<1:2	1:32	1:32	1:32
4	<1:2	1:32	1:32	1:32	10	<1:2	1:16	1:16	1:16
5	<1:2	1:32	1:32	1:32	11	<1:2	1:8	1:16	1:16
6	<1:2	1:32	1:32	1:32	12	<1:2	1:32	1:32	1:32
SV		34,67	34,67	34,67	SV		30,67	32	32
SD		14,36	14,36	14,36	SD		17,54	16	16
GSV	/	32	32	32	GSV	/	25,3	28,5	28,5
Log GSV	/	1,5	1,5	1,5	Log GSV	/	1,40	1,45	1,45

SV-Srednja vrednost recipročne vrednosti titra; GSV-Geometriška srednja vrednost recipročne vrednosti titra; Log GSV-Logaritamska vrednost za osnovu 10 recipročne vrednosti titra

Razlike između IIC i IID grupe ždrebadi 1. dana života, nisu statistički značajne ($t=0,645$). Stepenn korelacije između recipročne vrednosti titra antitela na EHV-1 u serumu ždrebadi 1. dana života sa drugim ispitivanim parametrima, utvrđen Person-ovim koeficijentom korelacije, prikazan je u tabeli 33.

Tabela 33. Stepenn korelacije recipročne vrednosti titra antitela na EHV-1 1. dana života sa koncentracijom gama globulina i IgG u serumu kobila i njihove ždrebadi

Ispitivani parametar	IIC	IID
Koncentracija IgG u serumu ždrebadi 1. dana	$r = 0,8777$	$r = 0,4716$
Koncentracija gama globulina u serumu ždrebadi 1. dana	$r = 0,9488$	$r = 0,6175$
Koncentracija IgG u serumu kobila po ždrebljenju	$r = 0,3683$	$r = 0,0344$
Koncentracija gama globulina u serumu kobila po ždrebljenju	$r = 0,2720$	$r = 0,1669$
Recipročna vrednost titra antitela na EHV-1 u serumu kobila po ždrebljenju	$r = 0,5854$	$r = 0,6908$

5.2.5. Koncentracija imunoglobulina dobijena semikvantitativnim testom

U ogledu je korišćen Horse Ig one-step test. To je semikvantitativni test, a rezultati se interpretiraju kao: pozitivan (>8 g/l Ig), slabo pozitivan (5-8 g/l Ig), negativan (<5 g/l Ig) i nevalidan kada test treba ponoviti. Test je rađen kod sve novorođene ždrebadi koja su bila u ogledu u starosti 20-24 časa. Rezultati su dati u tabeli 34.

Tabela 34. Rezultati semikvantitativnog testa

IA grupa		IB grupa		IIC grupa		IID grupa	
Br. ždr.	Rezultat	Br. ždr.	Rezultat	Br. ždr.	Rezultat	Br. ždr.	Rezultat
1	P	7	P	13	P	19	P
2	P	8	P	14	SP	20	P
3	SP	9	SP	15	P	21	N
4	SP	10	P	16	SP	22	P
5	P	11	P	17	P	23	P
6	SP	12	P	18	SP	24	P

P - pozitivan rezultat (>8 g/l Ig); *SP* - slabo pozitivan rezultat (5-8 g/l Ig); *N* - negativan rezultat (<5 g/l Ig)

Rezultati koji su dobijeni, okvirno se slažu sa rezultatima dobijenim ostalim kvantitativnim testovima koji su primenjeni u ogledu.

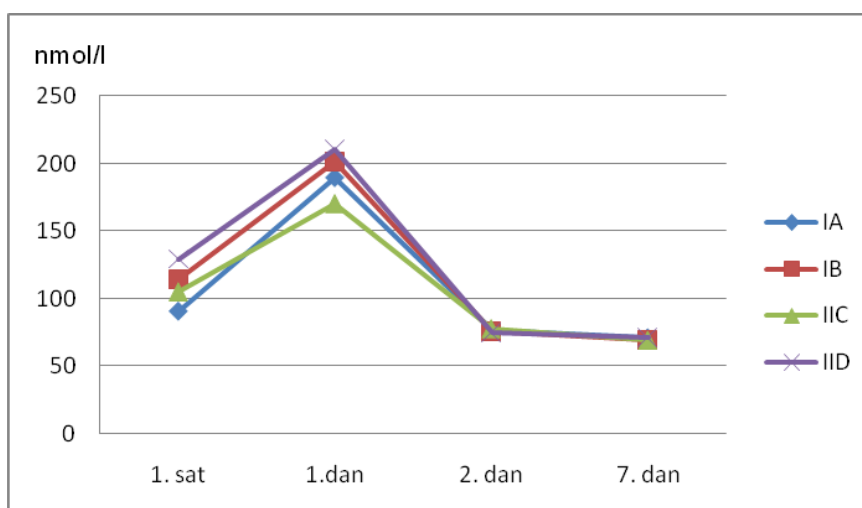
5.2.6. Koncentracija kortizola u serumu ždrebadi

Povećanje koncentracije kortizola u krvnom serumu ždrebadi zapaža se tokom prvog dana kod sve četiri grupe ždrebadi. Statističkom analizom utvrđena je statistički značajna razlika ($p<0,05$) za IA, IB i IIC grupu ždrebadi, a vrlo značajna razlika ($p<0,001$) kod IID grupe ždrebadi. Posle ovog povećanja, 2. dana sledi smanjenje koncentracije kortizola i na ovoj vrednosti ostaje do 7. dana života. Ovo smanjenje vrednosti drugog dana života ždrebadi je takođe statistički značajno i to kod IA grupe ($p<0,01$), a kod IB, IIC i IID grupe ždrebadi veoma značajno ($p<0,001$).

Statističkom analizom razlika koje se javljaju prvog dana života, značajna razlika između IIC i IID grupe ždrebadi ($p < 0,05$). Neposredno po rođenju između pojedinih grupa nema statistički značajnih razlika (tabela 35 i grafikon 10).

Tabela 35. *Koncentracija kortizola u krvnom serumu ždrebadi (nmol/l - $X \pm SD$) tokom prvih 7 dana života*

Grupa	1. sat	1. dan	2. dan	7. dan
IA	90,7 \pm 41,16	189,7 \pm 78,86	76,1 \pm 10,77	70,9 \pm 3,6
IB	114,3 \pm 51,2	201,4 \pm 57,83	75,9 \pm 17,88	69,5 \pm 6,16
IIC	104,8 \pm 43,71	169,9 \pm 38,02	77,5 \pm 11,31	68,9 \pm 3,77
IID	129,38 \pm 21,22	210,4 \pm 19,40	74,8 \pm 5,93	71,25 \pm 4,26



Grafikon 10. *Koncentracija kortizola u serumu ždrebadi tokom prvih 7 dana života*

Stepen korelacije između vrednosti kortizola u serumu ždrebadi prvog dana života i leukocita i neutrofila u krvi ždrebadi prvog dana života, utvrđen Person-ovim koeficijentom korelacije prikazan je u tabeli 36.

Tabela 36. *Stepen korelacije između vrednosti kortizola u serumu ždrebadi i broja leukocita i neutrofila u krvi ždrebadi 1. dana života*

Parametar	Koeficijent korelacije (IA grupa)	Parametar	Koeficijent korelacije (IIC grupa)
Broj leukocita	r=0,3167	Broj leukocita	r=0,4094
Broj neutrofila	r=0,6169	Broj neutrofila	r=0,6796
Parametar	Koeficijent korelacije (IB grupa)	Parametar	Koeficijent korelacije (IID grupa):
Broj leukocita	r=0,2794	Broj leukocita	r=0,5015
Broj neutrofila	r=0,5823	Broj neutrofila	r=0,8139

5.2.7. Koncentracija ostalih biohemijskih parametara krvi u serumu ždrebadi

Koncentracija kalcijuma i fosfora ne izlazi iz okvira normalnih vrednosti kod novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života, premda se kalcijum povremeno nalazi na donjoj granici normalnih vrednosti, za razliku od fosfora koji se nalazi u optimalnim fiziološkim vrednostima kod svih grupa ždrebadi (tabela 37).

Koncentracija gvožđa u krvnom serumu ždrebadi je jako visoka na rođenju, u odnosu na fiziološke vrednosti kod odraslih grla (14-25 $\mu\text{mol/l}$), da bi tokom prvog dana bio uočen značajan pad. Dobijeni nalazi su, inače, u granicama fizioloških vrednosti za ždrebac ovog uzrasta. Smanjenje koncentracije gvožđa je vrlo značajno ($p < 0,001$) kod svih grupa ždrebadi, da bi se u periodu od 3-7 dana života spustile u granice fizioloških vrednosti.

Koncentracija gvožđa u serumu ždrebadi prikazana je u tabeli 38.

Tabela 37. *Koncentracija kalcijuma i fosfora u serumu novorođene ždrebadi (mmol/l - X±SD) tokom prvih 7 dana života*

Grupa	0. dan		1. dan		2. dan		3. dan		7. dan	
	Ca	P	Ca	P	Ca	P	Ca	P	Ca	P
IA	2,63±0,12	1,42±0,2	2,55±0,28	1,65±0,24	2,55±0,24	1,72±0,22	2,49±0,19	1,63±0,19	2,38±0,06	1,61±0,23
IB	2,75±0,11	1,51±0,22	2,5±0,1	1,68±0,07	2,49±0,26	1,7±0,08	2,48±0,16	1,71±0,03	2,45±0,7	1,71±0,08
IIC	2,64±0,17	1,62±0,34	2,41±0,8	1,72±0,4	2,1±0,45	1,68±0,14	2,41±0,25	1,68±0,32	2,53±0,38	1,7±0,54
IID	2,7±0,09	1,47±0,13	2,57±0,19	1,59±0,09	2,36±0,06	1,59±0,18	2,39±0,04	1,59±0,13	2,44±0,12	1,58±0,13

Tabela 38. *Koncentracija gvožđa u serumu ždrebadi $\mu\text{mol/l}$ - $X \pm \text{SD}$ tokom prvih 7 dana života*

	0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	7. dan
IA	89,74 \pm 6,39	52,96 \pm 7,92	35,32 \pm 6,68	17,48 \pm 4,55	17,65 \pm 5,22
IB	89,48 \pm 6,03	52,88 \pm 6,57	42,13 \pm 7,8	21,35 \pm 4,33	19,68 \pm 4,5
IIC	88,14 \pm 7,2	53,61 \pm 7,44	39,04 \pm 6,52	20,26 \pm 6,48	18,3 \pm 4,85
IID	93,67 \pm 6,4	53,78 \pm 7,41	39,68 \pm 8,88	19,79 \pm 3,77	17,98 \pm 4,63

Koncentracija ukupnog bilirubina se progresivno povećava od rođenja ždrebeta. Ipak, razlika između koncentracije ustanovljene u prvim uzorcima krvi uzetim 1 sat posle ždrebljenja i koncentracije utvrđene posle 24 časa nije statistički značajna ($t = 1,71$). Povećanje postaje statistički značajno 2. dana života i to za IA i IB grupu ($p < 0,05$), dok je za preostale grupe povećanje još značajnije ($p < 0,001$ za grupu IIC i $p < 0,01$ za grupi IID). Vrednosti izmerene 3. dana života ždrebadi su manje, ali ovo smanjenje nije statistički značajno u odnosu na vrednosti izmerene 2. dana života. Vrednosti izmerene 7. dana života su značajno niže. Statističkom analizom je utvrđena vrlo značajna razlika - $p < 0,001$ kod IA, IIC i IID grupe i $p < 0,01$ za grupu IB (tabela 39).

Tabela 39. *Koncentracija bilirubina u krvnom serumu ždrebadi ($\mu\text{mol/l}$ - $X \pm \text{SD}$) tokom prvih 7 dana života*

Grupa	1.sat	24 h	48 h	72 h	7.dan
IA	55,2 \pm 8,1	70,9 \pm 20,8	90,2 \pm 24,2	88,4 \pm 30	40,1 \pm 4
IB	56,4 \pm 9,1	70,8 \pm 19,3	106,7 \pm 47	96,6 \pm 35	46 \pm 7,4
IIC	58,3 \pm 7,3	76,9 \pm 15,3	106,7 \pm 11,2	89,2 \pm 6,6	42,8 \pm 1,3
IID	52,6 \pm 13,4	60,7 \pm 18,2	85 \pm 18,3	92,8 \pm 4	44,2 \pm 4,2

Koncentracija triglicerida raste prvog dana života ždrebeta. Statističkom analizom utvrđen je značajan porast vrednosti triglicerida u grupama IA ($p < 0,01$), IB ($p < 0,05$) i IID ($p < 0,001$). Porast triglicerida se nastavlja i drugog dana života ždrebadi i on je

statistički značajan u odnosu na 1. dan života u grupama IA i IID ($p < 0,05$), zatim IIC ($p < 0,01$). Trećeg dana života vrednosti triglicerida počinju da opadaju, pri čemu ovakvo opadanje nije statistički značajno. Razlika postaje statistički značajna 7. dana života u odnosu na vrednosti izmerene trećeg dana u grupama IB, IIC i IID ($p < 0,05$).

I koncentracija holesterola raste prvog dana života. Statističkom analizom je utvrđena značajna razlika u grupama IA ($p < 0,01$) i IID ($p < 0,05$). Holesterol raste i drugog dana života ždrebadi i ovaj porast je statistički značajan u grupama IB i IIC ($p < 0,001$), kao i u grupi IID ($p < 0,01$). U daljem toku, do sedmog dana života, pri tome, ne zapažaju se statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Rezultati ispitivanja koncentracije triglicerida i holesterola prikazani su u tabeli 40.

Tabela 40. *Koncentracija triglicerida i holesterola u krvnom serumu ždrebadi (mmol/l - $\bar{X} \pm SD$) tokom prvih 7 dana života*

Vreme uzimanja uzoraka	Parametar	IA	IB	IIC	IID
0. dan	Trigliceridi	0,47±0,1	0,55±0,07	0,49±0,07	0,49±0,04
	Holesterol	2,97±0,32	3,11±0,61	3,54±0,61	3,18±0,53
1. dan	Trigliceridi	1,41±0,7	1,18±0,63	0,97±0,66	1,4±0,46
	Holesterol	5,01±1,51	3,63±0,69	3,21±0,76	3,76±0,19
2. dan	Trigliceridi	1,84±1,14	2,18±0,76	2,42±0,95	2,27±0,57
	Holesterol	5,14±0,85	6,4±0,9	6,52±1,45	5,77±1,29
3. dan	Trigliceridi	1,54±0,89	1,88±0,67	1,99±0,78	1,72±0,45
	Holesterol	5,2±0,67	5,84±0,91	6,28±1,07	5,63±0,7
7. dan	Trigliceridi	0,69±0,28	1,08±0,36	0,88±0,6	1,11±0,45
	Holesterol	5,87±0,86	5,95±0,71	5,57±1,23	5,57±0,83

6. DISKUSIJA

U kliničkoj patologiji konja neonatalna oboljenja ždrebadu zauzimaju značajno mesto. Etiologija oboljenja je različita, ali gotovo uvek se kao predisponirajući faktor javlja neadekvatan kolostralni imunitet. Kolostrum kobilica je jedini izvor imunoglobulina za novorođenu ždrebadu, jer difuzna epiteliohioralna placenta, praktično ne dopušta transfer antitela u toku graviditeta (McGuire i Cewford, 1973; Steven i Samuel, 1975; Parryman i sar., 1980). Ždrebadu su sposobna da apsorbiraju različite klase i podklase kolostralnih imunoglobulina preko specijalizovanih apsorptivnih ćelija epitela tankog creva tokom prvih 18 do 24 časa po rođenju. Posle ovog vremena apsorpcija intaktnih molekula imunoglobulina više nije moguća (McGuire i Cewford, 1973; Jeffcott, 1974; Morris i sar., 1985; Welchli i sar., 1990).

Veza između sadržaja proteina u krvnom serumu i kolostrumu kobilica i krvnom serumu novorođene ždrebadu po uzimanju kolostruma, predstavlja važnu kariku u proceni kvaliteta imunotransfera sa kobilica na ždrebe i preveniranju nedostataka u pasivnom transferu.

6.1. Sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina i imunoglobulina u krvnom serumu kobilica pred ždrebljenje i neposredno posle ždrebljenja

Vrednosti ukupnih proteina u krvnom serumu kobilica kretale su se u granicama fizioloških vrednosti i neposredno posle porođaja iznosile $63,6 \pm 6,7$ g/l kod nevakcinisane grupe i $64,8 \pm 3,3$ g/l kod kobilica koje su bile vakcinisane protiv konjskog herpesvirusa 1 (tabela 8). Razlika između jedne i druge grupe kobilica, pri tome, nije statistički značajna ($p > 0,05$). Curadi i sar. (2007), u studiji sličnoj ovoj, navode nešto veće vrednosti za ukupne proteine neposredno po porođaju ($67,7 \pm 8,5$ g/l). Sličan utisak se stiče i posmatranjem rezultata dobijenih u toku graviditeta. Nedelju dana pre

porođaja vrednosti su bile $61,1 \pm 3$ kod nevakcinisane grupe kobila i $61,1 \pm 2,7$ g/l kod vakcinisane grupe. Curadi i sar. (2007) su u ovom slučaju dobili slične vrednosti ($60,5 \pm 7$). Dve nedelje pred porođaj, koncentracija ukupnih proteina je iznosila $61,3 \pm 2,5$ g/l kod nevakcinisanih i $62,8 \pm 2,6$ g/l kod vakcinisanih kobila. Razlika između grupa nije statistički značajna i ove vrednosti su takođe slične vrednostima koje navode Maria Curadi i saradnici ($62,5 \pm 6,3$ g/l). Trideset dana pred porođaj koncentracija ukupnih proteina je iznosila $62,6 \pm 5,2$ g/l kod nevakcinisanih kobila i $61,4 \pm 1,8$ g/l kod vakcinisanih. Slične vrednosti su i ovoga puta dobili Curadi i saradnici ($61,2$ g/l), tri nedelje pred partus, za razliku od Rionda i saradnika (2009) koji su su registrovali znatno niže vrednosti ukupnih proteina ($51,0-72,0$ g/l).

Osvrnućemo se ukratko i na koncentraciju albumina, koja je četiri nedelje pred partus iznosila $30,5 \pm 1,4$ g/l kod nevakcinisanih i $30,9 \pm 1,2$ g/l kod vakcinisanih kobila. Navedene vrednosti se nalaze u okviru fizioloških vrednosti za odrasle konje ($29-38$ g/l), pri čemu razlika između dve grupe nije značajna. U naredne tri nedelje se beleži blagi pad vrednosti albumina, da bi u momentu porođaja došlo ponovo do blagog porasta kod obe grupe kobila. Ove promene nisu statistički značajne ($p > 0,05$), a to se sve poklapa sa vrednostima koje su dobili Curadi i saradnici (2007) - $31,3 \pm 3,8$ g/l tri nedelje pred porođaj; $31,5 \pm 3,1$ g/l dve nedelje pred porođaj, $28,5 \pm 3,8$ g/l nedelju dana pred porođaj i $31,9 \pm 3,9$ g/l neposredno posle porođaja. Najviše vrednosti su, dakle, zabeležene u momentu porođaja. Slične vrednosti navode i Curardi i Orlandi (1999), Bauer i Brooks (1990), zatim Riond i sar. (2009).

Globulinska frakcija je u ovom slučaju mnogo interesantnija, u prvom redu zbog važnosti gama-globulina. Četiri nedelje pred porođaj koncentracija globulina iznosi $32,1$ g/l kod nevakcinisanih kobila i $30,5$ g/l kod vakcinisane grupe kobila. Dve nedelje kasnije vrednosti globulina su iznosile $31,6$ g/l kod nevakcinisanih i $32,1$ g/l kod vakcinisanih kobila, da bi nedelju dana pred porođaj bio ustanovljen blagi porast na $32,1$ g/l kod nevakcinisane grupe i $32,8$ g/l kod vakcinisane grupe kobila. Neposredno po ždrebljenju dobijene su najveće vrednosti - 34 g/l kod nevakcinisanih i $34,4$ g/l kod vakcinisanih kobila. Slične rezultate i ovoga puta navode Curadi i saradnici (2007): 30 g/l tri nedelje pred porođaj, $31,5$ g/l dve nedelje pred porođaj, $33,5$ g/l nedelju dana pred porođaj i $34,4$ g/l neposredno nakon porođaja.

Kada su u pitanju globulinske frakcije, tu se naši rezultati donekle razlikuju od rezultata koje su dobili prethodno navedeni autori. Mi smo registrovali nešto veće vrednosti za alfa 1 globulinsku frakciju. Najveće vrednosti su izmerene neposredno po ždrebljenju kod nevakcinisane grupe kobila i one su iznosile $3,2 \pm 2,1$ g/l. Razlike koje su se javile među grupama kobila nisu statistički značajne ($p > 0,05$). Povećanje vrednosti alfa 1-globulinske frakcije, koje se javlja tokom poslednjeg meseca graviditeta, značajno je kod vakcinisane grupe kobila ($p < 0,01$), dok je kod nevakcinisane grupe nevažno ($p > 0,05$). Slične vrednosti i za alfa 2-globulinsku frakciju i za beta-globulinsku frakciju, navode i drugi autori.

Zadržaćemo se detaljnije na gama-globulinskoj frakciji, koja pokazuje blagi porast u poslednjem mesecu graviditeta. Najveća vrednost gama-globulina izmerena je kod vakcinisane grupe kobila neposredno nakon porođaja ($15,2 \pm 2,4$ g/l), dok je kod nevakcinisanih kobila bila nešto niža ($14,6 \pm 2,6$ g/l). Ova razlika, međutim, nije statistički značajna ($p > 0,05$). Neposredno nakon porođaja na gama-globuline kod nevakcinisane grupe kobila otpada 23% ukupnih proteina, a kod vakcinisane grupe 23,5%. Curadi i sar. (2007) navode identičan rezultat - 23%. Različite vrednosti navode Riond i sar. (2009) - ispitujući sadržaj serumskih proteina agarozna gel elektroforezom, oni su registrovali 1,9-3,1 g/l alfa 1 globulina, 5,3-8,7 g/l alfa 2 globulina i 5,8-12,7 g/l gama globulina.

Posebnu pažnju privlače vrednosti imunoglobulina G (IgG). Koncentracija IgG je naizgled veća kod vakcinisanih kobila, ali ova razlika nije statistički značajna ($p > 0,05$). Četiri nedelje pred porođaj koncentracija IgG iznosi $10,7 \pm 2,14$ g/l kod nevakcinisane i $12 \pm 2,5$ g/l kod vakcinisane grupe kobila, posle čega nastupa pad, da bi dve nedelje pred porođaj iznosila $9,9 \pm 2,3$ g/l kod nevakcinisanih i $10 \pm 2,5$ g/l kod vakcinisanih kobila. Nedelju dana pred porođaj vrednosti gama globulina blago rastu i iznose $10,5 \pm 1,5$ g/l kod nevakcinisane grupe i $11,4 \pm 1,9$ g/l kod vakcinisane grupe, da bi neposredno nakon porođaja iznosile $10,9 \pm 2,4$ g/l kod nevakcinisane i $11,7$ g/l kod vakcinisane grupe kobila. Najniža izmerena vrednost u nevakcinisanoj grupi kobila neposredno po partusu iznosila je 5,8 g/l, a najviša 15,1 g/l. Kod vakcinisanih kobila najmanja vrednost neposredno po partusu iznosila je 6,55 g/l, a najviša 16,3 g/l. Vrednosti koje su ustanovili Curadi i saradnici bile su veće nego naše i iznosile su $16,72 \pm 2,66$ g/l tri

nedelje pred partus, $10,74 \pm 3,76$ dve nedelje pred partus, $14,12 \pm 2,32$ nedelju dana pred partus i neposredno po partusu $15,23 \pm 7,31$ g/l. De Meo Scotoni i sar. (1992), međutim, negiraju postojanje razlika u koncentraciji IgG pre i posle porođaja. Kohen i sar. (1989) su, opet, 12 sati po ždrebljenju ustanovili znatno veće vrednosti od naših - $24,63$ g/l.

Korelacija između koncentracije gama globulina i IgG u serumu kobila je očigledna: 30 dana pred porođaj koeficijent korelacije iznosi $0,8974$ kod nevakcinisane grupe i $0,7294$ kod vakcinisane grupe kobila; petnaest dana pred očekivani porođaj koeficijent korelacije iznosi $0,9077$ kod nevakcinisanih i $0,8334$ kod vakcinisanih; sedam pred porođaj $0,8242$ kod nevakcinisanih i $0,7531$ kod vakcinisane grupe, da bi neposredno po ždrebljenju koeficijent korelacije iznosio $0,8724$ kod nevakcinisane grupe i $0,9013$ kod vakcinisane grupe kobila.

Sva dosadašnja ispitivanja transfera pasivnog imuniteta motivisana su učestalim oboljenjima i uginućima novorođene ždrebadi, pri čemu je herpesvirus 1 jedan od najvažnijih neposrednih uzročnika, bar na ovim prostorima. Period od 1980. do 1990. ostaće upamćen po velikom broju abortusa i uginuća novorođene ždrebadi na nekoliko ergela engleskih punokrvnih konja u Srbiji.

Infekcije konjskim herpesvirusom 1 su veoma česte kod konja, a najčešće posledice koje nosi ovo oboljenje su abortusi i herpesvirusna mieloencefalopatija. Lunn i sar. (2009) ukazuju na povećanje incidence herpesvirusne mijeloencefalopatije u Severnoj Americi, sa značajnim konsekvencama po konjsku industriju. Vakcinacija protiv ovog oboljenja primenjuje se već dugi niz godina. Da bi smo procenili uticaj vakcinacije gravidnih kobila na kvalitet kolostruma, transfer kolostralnih imunoglobulina i zdravstveno stanje novorođene ždrebadi, jednu grupu kobila smo vakcinisali u toku graviditeta protiv konjskog herpesvirusa 1 i 4 (u 5, 7. i 9. mesecu graviditeta) i upoređivali sa drugom - kontrolnom grupom koja nije bila vakcinisana.

Titar antitela na konjski herpesvirus 1 kod kobila koje nisu bile vakcinisane bio je nizak ili uopšte nije bilo antitela na ovaj virus (tabela 13). Najviši titar koji je zabeležen kod ove grupe kobila bio je 1:32 kod jedne kobile, 30 dana pred partus. Kod još 6 kobila je postojao titar na ovaj virus od 1:4 do 1:16, što ukazuje na činjenicu da su ove kobile bile izložene virusu.

Kobile koje su bile vakcinisane protiv herpesvirusa imale su visok titar antitela u krvnom serumu 30 dana pred očekivani porođaj. U prvoj kontroli 30 dana pred ždrebljenje, titar je iznosio $109,3 \pm 75,56$ (srednja vrednost recipročne vrednosti titra \pm SD), da bi dve nedelje pred očekivani partus pao na $93,3 \pm 61,91$. Ipak, ovo smanjenje vrednosti titra nije statistički značajno ($p > 0,05$). Sledeće nedelje se takođe zapaža mali pad ($80 \pm 42,33$), pri čemu je identična vrednost izmerena neposredno nakon porođaja. Treba istaći da se titar kod većine kobila (10) nije menjao u toku poslednjeg meseca graviditeta – pao je samo kod dve kobile. I nakon pada, titar antitela je bio na visini od 1:80, koja se smatra dovoljnom za prevenciju abortusa (Burrows i sar., 1984).

Burow i sar. (1984) su, inače, ispitivali visinu titra virus-neutralizujućih antitela kod poni kobila vakcinisanih inaktivisanom vakcinom „Pneumoabort K“ i infekcije drugim sojem virusa četiri nedelje kasnije. Titar postignut posle tri doze ove vakcine, iskazan kao logaritamska vrednost recipročne vrednosti razređenja seruma kretao se u granicama od 0,9 do 1,8. Od osam kobila, pri tome, dve su abortirale, jedna je oždrebla inficirano ždrebe, dok su ostale oždreble zdravu ždrebad. Vrednosti koje su ovi autori dobili bile su niže od naših. Logaritamska vrednost recipročne vrednosti razređenja seruma u našoj studiji iznosila je 1,83 neposredno po ždrebljenju. Povećanje titra virus-neutralizujućih antitela i smanjeno širenje virusa posle eksperimentalne vakcinacije ističu, takođe, Paillot i sar. (2008), zatim Heldens i sar. (2001).

Inače, korelacija između koncentracije IgG u serumu vakcinisanih kobila i recipročne vrednosti titra antitela na konjski hepesvirus 1 je slaba. Najveća korelacija ($r = 0,4488$) se zapaža 15 dana pred očekivani porođaj. Ovo bi moglo da se objasni povlačenjem imunoglobulina iz krvi i koncentrisanjem u mlečnoj žlezdi (LeBlanc, 1990).

Vrednosti ostalih biohemijskih parametara, kao što su trigliceridi, holesterol, kalcijum, fosfor i gvožđe, ne menjaju se značajno tokom poslednjeg meseca graviditeta ni kod jedne grupe kobila, što je i logično, s obzirom na relativno kvalitetne uslove ishrane, nege i držanja kobila u poslednjoj fazi graviditeta. Uostalom, na tako nešto ne ukazuju ni zapažanja drugih autora.

Izdvojićemo kortizol, kao parametar od višestrukog značaja u proceni zdravstvenog stanja i stresa kod kobila u vreme porođaja. Sam porođaj predstavlja svojevrsan stres za organizam kobile i zato podiže aktivnost kore nadbubrežne žlezde, usled čega se nivo

kortizola podiže nekoliko puta. Ovo je svakako fiziološki opravdano, budući da kortizol ima snažan uticaj na metabolizam, pojačava glukoneogenezu, podstiče mobilizaciju masti, stimuliše sintezu proteina i dr. Kortizol je, osim toga, značajan za ubrzavanje rasta mlečne žlezde i početak laktacije (Hydbring i sar., 1999; Mehrzad i sar., 2002; Collier i Tacker, 1978).

Vrednosti kortizola kod kobilica pre porođaja kretale su se u fiziološkim granicama i 30 dana pred partus iznosile $52,6 \pm 8,34$ nmol/l kod nevakcinisane grupe i $54,2 \pm 11$ nmol/l kod vakcinisane grupe. Dve nedelje pred očekivani porođaj vrednosti su slične - $54,5 \pm 8,6$ nmol/l kod nevakcinisane grupe i $54,95$ nmol/l kod vakcinisane grupe kobilica. Slične vrednosti navodi i Susan Shaftoe (1990). Naravno, promene nastupaju pred porođaj. Neposredno nakon porođaja koncentracija kortizola je nekoliko puta veća - $226,24 \pm 27,36$ nmol/l kod nevakcinisane grupe i $231,94 \pm 35,2$ nmol/l kod vakcinisane grupe kobilica. Razlike između grupa nisu statistički značajne ($p > 0,05$), s tim što je povećanje koncentracije kortizola kod obe grupe kobilica statistički vrlo značajno ($p < 0,001$). Slične vrednosti za kortizol opisuje i Susan Shaftoe (1990), ističući uz to značajnu korelaciju između vrednosti kortizola kod kobilica i njihove ždrebadi po rođenju. U ovom slučaju nije utvrđena korelacija između vrednosti kortizola u serumu kobilica neposredno nakon ždrebljenja i njihove ždrebadi, kako u prvom satu života tako i nakon 24 časa. Korelacija između koncentracije kortizola kod kobilica neposredno posle porođaja i koncentracije IgG u serumu kobilica bila je niska ($r = 0,3268$), isto kao i korelacija sa gama globulinima u njihovom kolostrumu ($r = 0,3084$).

6.2. Sadržaj pojedinih frakcija proteina i imunoglobulina G u kolostrumu i mleku kobilica

Kobilji kolostrum pre prvog napoja sadrži zadovoljavajuću količinu suve materije - preko 20% proteina uz nešto veću koncentraciju masti i ugljenih hidrata, da bi još u toku prvog dana došlo do postepenog opadanja koncentracije suve materije, uz drastičnu razliku koja se može utvrditi već narednog dana posle ždrebljenja. Za razliku od kolostruma bogatijeg ne samo u proteinima (imunoglobulini) već i u drugim materijama, kobilje mleko kasnije postaje prilično oskudan izvor hrane – za razliku od goveđeg sadrži znatno manje masti uz samo nešto više šećera, zbog čega ždrebe već sa

desetak dana počinje da njuška po boks u potrazi za dodatnim izvorom hrane (Pejić 1991). Koncentracija belančevina u kolostrumu u ovoj studiji iznosila je $94,68 \pm 19,25$ g/l (tabela 18). Pasquini i sar. (2005), iznose slične podatke o količini proteina u kolostrumu kobile posle porođaja ($93,61$ g/l), dok su niže vrednosti dobili Tishner i sar. (1996) i one 12 sati nakon partusa iznosile $36,42$ g/l, a 24 časa posle partusa $31,75$ g/l. Neki autori, opet, kao Wlodarszyk-Szydłowska i sar. (2005), iznose podatke o većem sadržaju belančevina kod punokrvnih kobila neposredno nakon partusa ($112,4$ g/l). Csapó-Kiss i sar. (1995), pri tome, iznose još veće vrednosti ($164,1$ g/l). U našim istraživanjima drugog dana dolazi do smanjenja vrednosti ukupnih proteina na $63,46 \pm 23,71$ g/l. Ovo smanjenje je statistički značajno ($p < 0,05$). Četvrtog dana laktacije ova vrednost je još niža, $57,88 \pm 17,69$ g/l, da bi se sedmog dana spustila na $49,42 \pm 24,86$ g/l. Ovakve rezultate iznose i drugi autori (Pasquini i sar., 2005; Dankow i sar., 2006; Pieszka, 2005).

Podaci o sadržaju pojedinih frakcija serumskih proteina u kolostrumu su posebno interesantni, zbog direktnih implikacija na sadržaj serumskih proteina kod novorođenog ždrebeta. Prva dva dana se razdvaja prealbuminska frakcija ($11,55 \pm 4,33\%$ ili $10,94 \pm 2,22$ g/l prvog dana, da bi već sledećeg značajno pala na $5,92 \pm 2,21$ g/l). Angelika i sar., (2009), takođe potvrđuju prisustvo prealbuminske frakcije i to u količini od $13 \pm 4,4\%$. Koncentracija albumina je prvog dana manja, $21,66 \pm 4,22\%$, da bi se sedmog dana podigla na $33,8 \pm 4,9\%$, paralelno sa nestajanjem prealbumina. Slične podatke iznose Angelika i sar. Koncentracija alfa globulina beleži blagi porast do 4. dana laktacije. Ovaj porast je statistički značajan 4. dana laktacije ($p < 0,05$), posle čega nastupa pad koji nije statistički značajan. Beta globulinska frakcija se ne menja mnogo u prvih 7 dana laktacije, premda ukupna količina beta globulina opada. U kolostrumu na nju otpada $12,33 \pm 4,35\%$ belančevina, da bi 7. dana procentualno iznosila gotovo identično ($12,33 \pm 1,99\%$). Prema navodima Angelika i sar. (2009), na alfa globuline kolostruma otpada $5,5 \pm 0,8\%$ belančevina kolostruma, dok je sadržaj beta globulina veći i znosi $15,2 \pm 5,5\%$.

Sadržaj gama globulina u kolostrumu iznosi $53,4 \pm 3,5\%$ ili $48,16 \pm 10,65$ g/l. Vrlo brzo počinje pad, drugog dana koncentracija gama globulina iznosi $40,22 \pm 4,76\%$ ili $23,85$ g/l, što je statistički značajno ($p < 0,05$), da bi narednih dana pad bio još izraženiji.

Između koncentracije gama globulina u kolostrumu i serumu kobila neposredno posle ždrebljenja postoji pozitivna korelacija, dok je korelacija sa sadržajem gama globulina u krvnom serumu 15 dana pre partusa negativna. Vrednosti ukupnih proteina u kolostrumu kobila koreliraju sa vrednostima kalcijuma u serumu ždrebadi 24 časa posle ždrebljenja, za razliku od koncentracije fosfora u serumu ždrebadi u istom periodu posle ždrebljenja.

Broj somatskih ćelija u kolostrumu kobila kretao se od $89.324,24 \pm 29.537,42$ po ždrebljenju do $15.070,17 \pm 3.150,09$ sedmog dana laktacije. Razlika u broju ćelija je značajna 5. dana ($p < 0,05$) i 7. dana laktacije ($p < 0,01$).

6.3. Vrednosti hematoloških parametara u novorođene ždrebadi tokom prvih 7 dana života

Rezultati hematoloških ispitivanja ždrebadi su očekivani. Broj eritocita je prvog sata veći, da bi se do sedmog dana beležio konstantan pad (tabela 22). Statističkom analizom je utvrđeno da je razlika u broju eritrocita značajna već drugog dana života ždrebadi i to kod svih grupa ($p < 0,01$). Između grupa ždrebadi nije bilo statistički značajnih odstupanja. Broj eritrocita kod ždrebadi je na nivou ili nešto iznad nivoa kod odraslih u toku prve godine (Harvey, 1990). Parcijalni pritisak kiseonika (pO_2) povećava se posle rođenja, povećava se i saturacija hemoglobina kiseonikom, zbog čega dolazi do smanjenja stimulusa za produkciju eritropoetina (Harvey, 1990). Eritrociti koji su formirani u fetalnom periodu, osim toga, žive kraće nego oni proizvedeni posle rođenja. Prema ovom autoru broj eritrocita opada u prve dve nedelje života. Slične rezultate smo dobili i mi u našem istraživanju.

Koncentracija hemoglobina kod ždrebadi opada proporcionalno smanjenju broja eritrocita. Razlike između grupa nisu statistički značajne, međutim, statistički značajan pad koncentracije hemoglobina primećuje se već nakon 24 časa ($p < 0,01$). Na isti način opada i hematokritska vrednost (statistički značajan pad ove vrednosti ($p < 0,01$)) zapaža se nakon 24 časa. Za razliku od mnogih drugih sisara, konjski fetalni i adultni hemoglobin se ne razlikuju strukturno. Uprkos odsustva ove razlike, fetalna krv konja ima veći afinitet prema kiseoniku od krvi majke, jer ima niži nivo 2,3 difosfoglicerata od krvi majke. Ovo omogućuje transport kiseonika iz placente prema fetusu (Harvey,

1990). Prema ovom autoru, hematokritska vrednost i koncentracija hemoglobina rastu u prvih 30 minuta po rođenju i padaju u narednih 2 nedelje. Ovo opadanje prvog dana života delom je posledica osmotskog efekta izazvanog apsorpcijom kolostralnih proteina i vode. Sa ekspanzijom volumena krvi eritrocitna masa se razređuje, što rezultuje padom hematokrita. Neke jedinke imaju niži nivo i hematokrita i hemoglobina do godinu dana starosti. U studijama sprovedenim na Univerzitetu Florida neposredno posle ždrebljenja kod novorođene ždrebadi je registrovan hematkrit u granicama od 40 do 52%; do 12 sati hematokritska vrednost pada na 37-49%, narednog dana na 32-46%, 3. dana na 30-46%, 5. dana na 30-44 % i 7. dana na 28-43%. U istom periodu sličnim trendom opada i koncentracija hemoglobina: 1. sata iznosi 134-199 g/l, do 12 sati pada na 126-174 g/l, 2. dana na 120-166 g/l, 3. dana na 115-167 g/l, 5. dana na 110-166 g/l, da bi se 7. dana spustio na 107-158 g/l.

Vrednosti za MCV su bile na donjoj granici ili ispod minimalnih vrednosti za odrasla grla, dok su vrednosti za MCHC relativno konstantne posle rođenja, što se slaže sa nalazom koji iznosi Harvey (1990), a koje se smatraju referentnim za ždrebadi u ovom periodu. Vrednosti MCH se nisu menjale značajnije u prvih sedam dana života (tabela 22).

Broj leukocita se kretao u okvirima fizioloških vrednosti tokom prvih 7 dana po rođenju. Do sedmog dana po rođenju primećuje se blagi porast leukocita, koji prati porast neutrofila. Ustvari, povećanje broja neutrofila uočava se već tokom prvog dana i to kod svih ispitivanih grupa ždrebadi. Broj leukocita ustanovljen u prvom satu života iznosi $7,27 \pm 1,2 \cdot 10^9/l$ kod IA grupe, $7,14 \pm 0,6 \cdot 10^9/l$ kod IB grupe, $7,22 \pm 0,4 \cdot 10^9/l$ kod IIC i $7,25 \pm 0,6 \cdot 10^9/l$ kod IID grupe (tabela 23). Ipak, promene u broju leukocita tokom prvih 7 dana života nisu statistički značajne.

U toku prvog dana dolazi do povećanja broja neutrofila kod svih ispitivanih grupa ždrebadi. Međutim, zbog većih individualnih varijacija statističkom analizom nije ustanovljena značajna razlika u broju neutrofila kod ždrebadi neposredno nakon rođenja i prvog dana života ($p > 0,05$). Posle prvog dana se trend povećanja broja neutrofila usporava. Broj neutrofila u toku prvih 24 časa verovatno raste zbog oslobađanja glukokortikosteroida. Postoji jaka korelacija između vrednosti kortizola 1. dana života ždrebadi sa brojem neutrofila kod ždrebadi 1. dana života i to kod svih grupa (tabela

36.) Veće vrednosti opisuje Harvey (1990). Ovaj autor ističe da se broj neutrofila u toku prvih 12 sati može povećati na $8 \times 10^9/l$. U svakom slučaju, vrednosti koje smo dobili kreću se u okvirima fizioloških vrednosti za ždrebad ovog uzrasta.

Broj limfocita je na niskom nivou u toku prvih 7 dana života i njihova vrednost se ne menja značajno. Vrednosti koje smo dobili u prvom satu života ždrebadi iznosile su: $2,46 \pm 1,1 \times 10^9/l$ kod IA grupe, $2,3 \pm 0,6 \times 10^9/l$ kod IB grupe, $2,05 \pm 0,6 \times 10^9/l$ kod IIC grupe i $2,39 \times 10^9/l$ kod IID grupe ždrebadi. Inače, broj limfocita manji od $1,0 \times 10^9/l$ uzima se kao jedan od kriterijuma za dijagnostiku kombinovane imunodeficijencije kod ždrebadi (Harvey, 1990). I neka normalna ždrebad po ovom autoru imaju ovako niske vrednosti. U svakom slučaju, rezultati koje smo dobili poklapaju sa nalazima koje ističe Harvey. Inače, Harvey ističe da broj limfocita polako raste do četvrtog meseca života, uz istovremeno opadanje broja neutrofila. Broj monocita, eozinofila i bazofila se pri tome ne menja značajno u prvoj nedelji života.

6.4. Sadržaj pojedinih frakcija serumskih proteina i imunoglobulina G u novorođene ždrebadi

Rezultati ispitivanja serumskih proteina i imunoglobulina su svakako značajniji i zahtevaju više pažnje. Neočekivano, koncentracija ukupnih proteina u serumu ždrebadi tokom prvih 7 dana života se ne menjaju mnogo. Postoji statistički značajno povećanje ukupnih proteina nakon 24 časa života kod IIC i IID grupe ždrebadi ($p < 0,05$). Razlog ovog povećanja jeste apsorpcija proteina iz kolostruma kobila. Povećanje ukupnih proteina je primerno i kod ždrebadi iz grupa IA i IB, ali to nije statistički značajno ($p > 0,05$). Ni razlike između grupa, pri tome, nisu statistički značajne ($p > 0,05$). Slične vrednosti su dobili Maria Claudia Curadi i sar. (2007). Ovi autori su registrovali veće vrednosti ukupnih proteina 24 časa nakon ždrebljenja ($52,9 \text{ g/l}$), pri čemu su gotovo identične vrednosti zabeležili i 7. dana po rođenju ($59,7 \text{ g/l}$). Mi smo 24 časa posle rođenja registrovali nešto niže vrednosti - $49,55 \pm 3,2 \text{ g/l}$ kod grupe IA, $50,9 \pm 3,3 \text{ g/l}$ kod grupe IB, $48,5 \pm 1,8 \text{ g/l}$ kod grupe IIC i $49,8 \pm 5,15 \text{ g/l}$ kod grupe IID. Slične vrednosti su zabeležene i 7. dana - $49,6 \pm 2,6 \text{ g/l}$ kod IA grupe, $51,1 \pm 2,3 \text{ g/l}$ kod IB grupe, $48,3 \pm 2,05 \text{ g/L}$ kod IIC i $48,7 \pm 4,7 \text{ g/l}$ kod grupe IID. Bauer (1990) iznosi podatke o vrednostima ukupnih proteina u serumu ždrebadi mlađe od 12 časova u rasponu od 40 do 79 g/l, uz

blagi trend povećanja (1. dana 43-81 g/l i 7. dana 44-68 g/l), što je u saglasnosti sa vrednostima dobijenim u našem istraživanju.

Koncentracija albumina u serumu ždrebadi neposredno posle rođenja u grupi IA iznosi $26,5 \pm 4,7$ g/l; $28,1 \pm 4,4$ g/l u grupi IB, $24,4 \pm 1,7$ g/l u grupi IIC i $26,7 \pm 6$ g/l u grupi IID. Slične vrednosti opisuju Curadi i sar. (2007), zatim Bauer (1990). Kod ždrebadi stare 24 časa koncentracija imunoglobulina iznosi $24,8 \pm 2,7$ g/l u grupi IA, $24,55 \pm 1,6$ g/l u grupi IB, $24,2 \pm 1,6$ g/l u grupi IIC i $23,6 \pm 1,46$ g/l kod grupe IID. Vrednosti koje su dobili Curadi i sar. (2007) bile su nešto veće - $29,5 \pm 2,5$ g/l kod ždrebadi stare 24 časa. Bauer (1990) iznosi vrednosti za albuminsku frakciju dobijene celulozo-acetatnom elektroforezom, koje se kreću u raspanu od 20-50 g/l kod ždrebadi stare 24 časa. Slične vrednosti navode Rumbaugh i sar. (1978), zatim Curadi i Orlandi (1999).

Rezultati ispitivanja koncentracije alfa globulina se delimično razlikuju od rezultata drugih autora. Koncentracija alfa 2 globulina je nešto veće od koncentracije alfa 1 globulina (tabela 26), s tim što između pojedinih grupa nema statistički značajnih razlika. Vrednosti koje smo dobili neposredno posle rođenja su veće od onih koje su dobili Curadi i sar. (2007), dok su vrednosti koje smo dobili sedmog dana života manje od onih koje su dobili ovi autori. Rezultate slične našim navodi Bauer (1990) i one se smatraju referentnim za novorođenu ždrebadi. Ispitivanjem koncentracije beta globulina kod novorođene ždrebadi nisu ustanovljene značajne razlike u prvih sedam dana života. Slične rezultate navode i drugi autori (Curadi i sar., 2007; Bauer, 1990).

Koncentracija gama globulina je neposredno posle rođenja, u prvom satu života ždrebeta niska kod svih grupa i iznosi 0,6-1,2 g/l. Govoreći o imunom statusu ždrebadi, LeBlanc (1990), ističe da su ždrebadi imunološki kompetentna na rođenju, mada su pre dojenja agamaglobulinemična. To je fiziološka agamaglobulinemija. Plod se razvija u sterilnoj sredini i imunološki sistem ploda ne dolazi u kontakt sa mikrobnim antigenima. Placenta ne propušta imunoglobuline i ždrebe dolazi na svet bez imunoglobulina.

Povećanje koncentracije gama globulina se uočava vrlo brzo nakon uzimanja kolostruma. Ovo povećanje je, pri tome, statistički vrlo značajno kod svih grupa ždrebadi ($p < 0,001$). Analizom varijanse, međutim, nije utvrđena značajna razlika između ispitivanih grupa. Posle ovog značajnog porasta dolazi do stagniranja ili čak blagog opadanja vrednosti gama globulinske frakcije, sve do 7. dana, koje nije

statistički značajno ($p > 0,05$). Koncentracija gama globulina u serumu ždrebadi stare 24 časa iznosi $10,8 \pm 1,4$ g/l kod IA grupe, $10,6 \pm 0,9$ g/l kod IB grupe, $9,6 \pm 1,1$ g/l kod IIC grupe i $11,7 \pm 3$ g/l kod IID grupe. Zanimljivo je da su kod ždrebadi poreklom od vakcinisanih kobilica koja su u prvom napoju dobijala zeolit, utvrđene veće vrednosti gama globulina nego kod ždrebadi koja potiču od vakcinisanih kobilica, a nisu dobijala zeolit. Ova razlika, međutim, nije statistički značajna. Takođe, nema statistički značajnih razlika ni između vrednosti gama globulina kod ždrebadi poreklom od nevakcinisanih kobilica koja su dobila kolostrum sa ili bez zeolita. Našim istraživanjima, dakle, nije potvrđeno da dodavanje zeolita u količini od 5 g/l, u prvom napoju kolostruma, značajno utiče na povećanje apsorpcije gama globulina kod novorođene ždrebadi, iako se stiče utisak da je kod grupa koje su dobijale zeolit koncentracije gama globulina veća. Odgovor bi se bez sumnje dobio u ponovljenim ispitivanjem na većem broju životinja.

Albuminsko-globulinski količnik može biti koristan pokazatelj za procenu imunoglobulinskog statusa, pogotovu u slučajevima kada ne postoje uslovi za preduzimanje osetljivijih laboratorijskih ispitivanja, zbog čega smo uz već navedene laboratorijske testove istakli i ovaj podatak. Neposredno posle ždrebljenja albuminsko/globulinski količnik u grupi IA iznosio je $1,4 \pm 0,5$; $1,6 \pm 0,45$ u grupi IB; $1,2 \pm 0,17$ u grupi IIC i $1,8 \pm 0,8$ u grupi IID. Nakon 24 časa ovaj količnik pada na vrednosti 0,9-1, zahvaljujući povećanju globulinske frakcije (tabela 27). Ove vrednosti se održavaju do sedmog dana života.

Postoji jasna korelacija između količine gama globulina u serumu ždrebadi sa sadržajem imunoglobulina G u serumu njihovih majki neposredno po ždrebljenju ($r = 0,5076$ za IA grupu i $0,7846$ za IIC grupu), i jaka korelacija sa sadržajem gama globulina u kolostrumu njihovih majki ($r = 0,8186$).

Podaci o sadržaju imunoglobulina klase G su posebno interesantni. Imunoglobulina G klase gotovo da i nema u uzorcima seruma koji su uzeti odmah po rođenju, pre unošenja kolostruma ($< 1,08$ g/l). Plod se razvija u sterilnoj sredini i imunološki sistem ploda ne dolazi u kontakt sa mikrobnim antigenima. Placenta ne propušta imunoglobuline i ždrebe dolazi na svet bez imunoglobulina. Vrednosti su niske i u ispitivanjima drugih autora (Curadi, 2007; Kohn, 1991; Massey i sar., 1992; Lee i sar., 1992). Na kraju prvog

dana života ždrebadi dolazi do značajnog povećanja koncentracije IgG – na $9,3 \pm 1,4$ g/l kod grupe IA, $10,3 \pm 1$ g/l kod grupe IB, $9,34 \pm 0,9$ g/l u grupi IIC i $10,4 \pm 3,8$ g/l u grupi IID (tabela 29). Najviša vrednost IgG u serumu ždrebadi bila je 14,6 g/l kod ždrebeta iz IID grupe posle 24 časa života. U istoj grupi je izmerena i najniža vrednost koja je iznosila 3,4 g/l kod ždrebeta koje je ostalo bez majke neposredno po rođenju. Vrednosti su veće kod ždrebadi koja su dobijala zeolit u količini 5 g/l u prvom napoju kolostruma, ali razlika nije statistički značajna. Slične vrednosti IgG u serumu ždrebadi stare 24 časa dobili su i Curadi i sar. (2007) - $10,58 \pm 5,7$ g/l. Ovi rezultati idu u prilog činjenici da se pasivni imunitet stiže uzimanjem kolostruma i apsorpcijom intaktnih molekula imunoglobulina kolostruma u crevima. Ovo je omogućeno niskom aktivnošću proteolitičkih enzima u digestivnom traktu u prvim satima po rođenju, kao i prisustvom tripsin inhibitora u kolostrumu (Stojić i sar., 1998 i 2004).

Posle prvih 24 časa vrednosti IgG lagano opadaju i sedmog dana iznose $8,6 \pm 1,7$ g/l kod IA grupe, $8,98 \pm 0,9$ g/l kod IB grupe, $8,7 \pm 1,4$ g/l kod IIC grupe i $8,9 \pm 3,1$ g/l kod IID grupe ždrebadi. Vrednosti dobijene na kraju prve nedelje života su nešto niže od onih koje su dobili Curadi i sar. (2007). Inače, između količine IgG u serumu ždrebadi stare 24 časa i količine gama globulina u serumu ždrebadi stare 24 časa postoji visok stepen korelacije (tabela 30).

6.5. Titar specifičnih antitela na EHV-1

U krvnim serumima novorođene ždrebadi pre uzimanja kolostruma nema specifičnih antitela protiv EHV-1, pri čemu kod ždrebadi poreklom od nevakcinisanih kobila izostaje pojava anti-EHV-1 antitela i nakon uzimanja kolostruma. Posle 24 časa, naime, kod najvećeg broja ždrebadi nije bilo specifičnih antitela na ovaj virus ili je titar vrlo mali iako su majke imale titar antitela na ovaj virus (1:4-1:8). Ovo pokazuje da ako majke nisu izlagane virusu, u serumu njihove ždrebadi nema specifičnih antitela protiv tog uzročnika (tabela 31). Ni ždrebadi poreklom od vakcinisanih kobila pre uzimanja kolostruma nemaju antitela protiv EHV-1. Ovo ide u prilog činjenici da epiteliohorijalna placenta kobila ne dozvoljava transfer antitela na plod. Nakon 24 časa, međutim, titar antitela protiv EHV-1 se značajno povećava - srednja vrednost recipročne vrednosti titra iznosi $34,67 \pm 14,36$ u grupi IIC i $30,67 \pm 17,54$ u grupi IID. Upoređujući vrednosti

titara antitela na konjski herpesvirus 1 kod ždrebadi koja potiču od vakcinisanih kobila, a dobijala su zeolit u napoju kolostruma u količini od 5 g/l, sa vrednostima kod ždrebadi koja nisu dobijala zeolit, nije utvrđena značajna razlika u visini titara specifičnih antitela na ovaj virus ($t=0,645$).

Upoređujući recipročne vrednosti titra antitela na EHV-1 prvog dana života ždrebeta sa koncentracijom IgG u serumu prvog dana, u grupi IIC utvrđen je visok koeficijent korelacije ($r = 0,8777$), a u grupi IID nešto niži ($r=0,4716$). Takođe je utvrđena korelacija sa količinom gama globulina u serumu ždrebadi 1. dana života i ona je kod IIC grupe bila vrlo visoka ($r=0,9488$), a kod IID visoka ($r=0,6175$). U IID grupi se nalazi ždrebe koje je neposredno po rođenju ostalo bez majke. Napojeno je kolostrumom kobile koji je uzet od kobile posle uginuća, a kasnije je napajano kravljim mlekom. Koncentracija IgG kod ovog ždrebeta je iznosila 3,4 g/l nakon 24 časa života, pri čemu je titar antitela na konjski herpes virus bio dobar i iznosio 1:32. Korelacija između recipročne vrednosti titra antitela na EHV-1 prvog dana života ždrebeta sa vrednostima gama globulina u serumu njihovih majki neposredno po ždrebljenju bila je niska – koeficijent korelacije r iznosio je 0,2720 kod IIC grupe i 0,1669 kod IID grupe ždrebadi. Dobijeni rezultati nam govore da vakcinacija kobila protiv EHV-1 u toku graviditeta obezbeđuje održavanje titra specifičnih antitela u zaštitnim granicama i da se specifična antitela prenose putem kolostruma na ždrebadi. Foote i sar. (2003, 2004, 2006), s druge strane, govore o pojavi infekcije ždrebadi u prvim nedeljama života, uprkos vakcinaciji kobila u toku graviditeta. Ove studije pokazuju da samo prisustvo maternalnih antitela, nije dovoljno da prevenira serokonverziju koja je posledica EHV-1 infekcije.

6.6. Koncentracija imunoglobulina dobijena brzim – terenskim metodama

Iako postoji niz laboratorijskih metoda za precizno utvrđivanje koncentracije imunoglobulina (elektroforeza, radioimunološke metode, test radiodifuzije, indirektno procenjivanje koncentracije imunoglobulina na osnovu spektrofotometrijskog ispitivanja koncentracije ukupnih proteina i albumina), većina nema praktičnu važnost pošto zahtevaju nošenje uzorka u laboratoriju i dugo čekanje na rezultat. U terenskim uslovima mogu se koristiti polukvantitativni brzi testovi za dokazivanje

imunoglobulina, koji omogućavaju grubu procenu za samo desetak minuta, zatim test zamućenja seruma cink sulfatom (Giguere i Polkes, 2005). Ovakvim testovima se za vrlo kratko vreme (10-15 minuta) može utvrditi dali je ždrebe unelo dovoljnu količini IgG putem kolostruma (Watson, 2009; Sedlinska i sar. 2005). Testovi se rade 16-24 časa po rođenju. U našem istraživanju, vrednosti koje smo dobili semikvantitativnim testom (Horse Ig one-step test) kod ždrebadi okvirno se slažu sa vrednostima koje su pokazali ostali testovi, kao što je imunoturbidimetrija za IgG, ili vrednostima gama globulina dobijenim celulozo-acetatnom elektroforezom, pri čemu je kod pet ždrebadi (25%) pokazao manje vrednosti nego što su izmerene imunoturbidimetrijom. Pozitivne vrednosti (>8 g/l imunoglobulina) izmerene brzim testom obuhvatale su vrednosti dobijene imunoturbidimetrijom od 8,4 g/l do 14,6 g/l. Slabo-pozitivne vrednosti (5-8 g/l imunoglobulina) izmerene brzim testom obuhvatale su vrednosti dobijene imunoturbidimetrijom od 6,29 g/l pa do 10,12 g/l. Rezultati ovog testa se dobijaju brzo za 10-15 minuta iz seruma ili plazme i svakako nam mogu poslužiti u brznoj proceni efikasnosti kolostralnog transfera imunoglobulina.

6.7. Koncentracija kortizola u serumu novorođene ždrebadi

Kod većine domaćih životinja porođaj počinje padom vrednosti progesterona majke, a okidač je povećanje nivoa kortizola u fetalnoj cirkulaciji. Ovaj kortizol se proizvodi u nadbubrežnoj žlezdi ploda i znak je da je plod zreo. Kortizol se proizvodi pod uticajem ACTH iz prednjeg režnja hipofize (Liggins, 1969; Kindahl, 2004; Duggan i sar., 2007). Procesi sazrevanja fetalnih organa i mnogih enzimskih puteva su pod jakim uticajem glukokortikoida. Konačno sazrevanje (maturacija) fetalnih bubrega, gastrointestinalnog trakta, kao i maturacija i ćelijska diferencijacija fetalnih pluća dešava se tek nekoliko dana pre rođenja. Premda se surfaktant proizvodi mnogo pre rođenja, ipak se dramatično povećanje proizvodnje surfaktanta dešava neposredno pred sam porođaj. Kod mnogih vrsta je dokazano, da je prisustvo kortizola izgleda, od vitalnog značaja za sazrevanje pluća, gastrointestinalnog trakta, u produkciji surfaktanta i u deponovanju glikogena u jetri.

Uticaj kortizola na ovako orkestrirano sazrevanje dešava se u kasnom graviditetu. Ovo se dešava u okviru 48 sati i u okviru toga se odvija finalno sazrevanje organa. Ako se

ždrebe rodi pre nego što se ova maturacija desi, javlja se prevremeno rođenje bez obzira na vreme provedeno u uterusu. Ova ždrebadi imaju niske vrednosti kortizola (Fowden i sar., 2002; Susan Shaftoe, 1990; Trahair i sar., 1997).

Vrednosti kortizola koje smo registrovali neposredno posle porođaja, tokom prvog sata života, u grupi IA iznosile su $90,7 \pm 41,16$ nmol/l; $114,3 \pm 51,2$ u grupi IB, $104,8 \pm 43,71$ u grupi IIC i $129,38 \pm 21,22$ nmol/l u grupi IID. Referentna vrednost za odraslo grlo je 36-81 nmol/l. Shaftoe, (1990), pri tome, navodi nešto veće vrednosti za kortizol u prvom satu života - 191,5 nmol/l kod normalno donešene ždebadi.

Tokom prvog dana života koncentracija kortizola se povećava na $189,7 \pm 78,86$ kod IA grupe, $201,4 \pm 57,83$ kod IB grupe, $169,9 \pm 38,02$ kod IIC grupe i $210,4 \pm 19,4$ kod IID grupe. Ovo povećanje vrednosti kortizola je statistički značajno ($p < 0,05$) kod IA, IB i IIC grupe, dok je kod IID grupe vrlo značajno ($p < 0,01$). Utvrđena je, takođe, statistički značajna razlika između grupa IIC i IID ($p < 0,05$). Nakon ovog rasta, vrednosti kortizola opadaju kod sve četiri grupe ždrebadi na fiziološku vrednost. Ovo je takođe statistički značajno i to kod IA za $p < 0,01$, a kod IB, IIC i IID za $p < 0,001$. Na ovim vrednostima kortizol ostaje do 7. dana života (tabela 35).

Postoji jasna korelacija između koncentracije kortizola u serumu ždrebadi stare 24 časa sa brojem leukocita i neutrofila u krvi ždrebadi stare 24 časa - koeficijent korelacije sa leukocitima bio je: $r = 0,3167$ kod IA, $r = 0,2794$ kod IB, $r = 0,4094$ kod IIC i $r = 0,5015$ kod IID grupe ždrebadi. Korelacija sa brojem neutrofila bila je još veća: $r = 0,6169$ kod IA, $r = 0,5823$ kod IB, $r = 0,6796$ kod IIC i $r = 0,8139$ kod IID grupe.

6.8. Koncentracija ostalih biohemijskih parametara u krvnom serumu novorođene ždebadi

Vrednosti gvožđa su vrlo visoke neposredno po rođenju u odnosu na fiziološke vrednosti kod odraslih grla (Susan Aiello, 1998), ali se ne mogu smatrati nenormalnim, naprotiv, karakteristične su za taj uzrast (Harvey, 1990). Razlike koje se javljaju između grupa, pri tome, nisu statistički značajne. Smanjenje koncentracije gvožđa se zapaža tokom prvog dana i ono je posle 24 časa vrlo značajno ($p < 0,001$) kod svih grupa

ždebadi, da bi se tokom narednih 3-7 dana koncentracija gvožđa spustila u granice fizioloških vrednosti za odrasle konje.

Bilirubin nastaje primarno degradacijom hemoglobina iz eritrocita. Male količine takođe nastaju katabolizmom ostalih hemoproteina, kao što su mioglobin, citohromi i peroksidaze (Koterba, 1990). Iz raspalih eritrocita oslobađa se hemoglobin koji prelazi u krvnu plazmu, gde ga prihvata haptoglobin.

Mi smo neposredno posle ždrebljenja ustanovili veće vrednosti za koncentraciju ukupnog bilirubina, bar u odnosu na fiziološke vrednosti za odrasle, koje uz to konstatntno rastu u svim grupama. Ovo povećanje postaje statistički značajno 2. dana života za IA i IB grupu ($p < 0,05$), i vrlo značajno za grupu IIC ($p < 0,001$) i grupu IID ($p < 0,01$). Od trećeg dana života koncentracija bilirubina polako opada, što nije statistički značajno u odnosu na vrednosti izmerene 2. dana. Vrednosti izmerene 7. dana života su pri tom i statistički značajno niže. Vrednosti dobijene sedmog dana života su u okvirima koje navodi Koterba (1990), mada su srednje vrednosti više od onih koje navodi ovaj autor.

Hiperbilirubinemija novorođene ždebadi se najčešće može nazvati fiziološkom žuticom (icterus neonatorum) koja nastaje zbog ubrzane hemolize fetalnih eritrocita i nezrelosti jetre za usvajanje, konjugaciju i ekskreciju bilirubina. Uostalom, slične vrednosti navode i drugi autori: Tracy B Hawthorne, (1990), Kaneko i sar., (2007), Koterba, (1990) itd.

Koncentracije triglicerida i holesterola, na kraju, uglavnom pokazuje očekivane oscilacije po kojima se poklapaju sa rezultatima drugih autora. Vrednosti holesterola i triglicerida rastu u prvih nekoliko nedelja života kod normalne ždebadi. Mala hipertrigliceridemija kod ždebadi i lipidoza pokazatelj su nezrelosti jetre na rođenju. Jetra sazreva po rođenju i nije u mogućnosti da inkorporira trigliceride jetre u lipoproteine, a to dovodi do njihove sekrecije u plazmu (Bauer, 1990).

7. ZAKLJUČAK

1. Kliničkom opservacijom i biohemijskim pregledom krvi ždrebni kobilica u poslednjoj trećini graviditeta nisu ustanovljene promene koje se mogu dovesti u vezu sa kvalitetom kolostruma i vitalnošću novorođenčadi. Jedino je registrovana statistički značajna razlika u titru antitela protiv EHV-1 između vakcinisanih i nevakcinisanih kobilica i pozitivna korelacija titra antitela protiv EHV-1 sa koncentracijom gamaglobulina u kolostrumu i serumu novorođene ždrebadi.
2. Sa izuzetkom kortizola, ni jedan od ispitivanih biohemijskih parametara u krvnom serumu kobilica tokom poslednje trećine graviditeta ne izlazi iz okvira normalnih vrednosti. Neposredno posle porođaja zapaža se višestruko povećanje koncentracije kortizola kod obe grupe kobilica. Pri tome nije potvrđena korelacija između koncentracije kortizola i kvaliteta kolostruma.
3. Sadržaj belančevina u kolostrumu kobilica je dvostruko veći nego u mleku, prvenstveno zahvaljujući gama globulinima čija je koncentracija trostruko veća nego u mleku. Broj somatskih ćelija je najveći u kolostrumu, da bi se sa progresivnim smanjenjem postepeno sveo na šest puta nižu vrednost 7. dana nakon ždrebljenja, bez statistički značajnih razlika između vakcinisanih i nevakcinisanih kobilica.
4. Ždrebadi se rađa sa nižom koncentracijom ukupnih proteina, koja se nakon uzimanja kolostruma povećava, pri čemu je porast koncentracije ukupnih proteina statistički značajno veći kod vakcinisanih kobilica.
5. U uzorcima krvi dobijenim pre prvog napoja kolostrumom utvrđene su minimalne količine gama globulina i imunoglobulina G, pri čemu se nakon uzimanja kolostruma zapaža statistički veoma značajno povećanje uz pozitivnu korelaciju između koncentracije gama globulina i imunoglobulina G.

6. Koncentracija IgG u krvnom serumu nešto je veća kod ždrebadi koja su u napoju dobijala kolostrum sa zeolitom, ali ova razlika nije statistički značajna. Ne postoji statistički značajna razlika ni u koncentraciji gama globulina kod ždrebadi koja su dobijala kolostrum sa zeolitom. Isto tako, ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji gama globulina i IgG između ždrebadi poreklom od vakcinisanih nevakcinisanih kobila.
7. Ždrebadi koja potiču od kobila vakcinisanih protiv konjskog herpesvirusa-1 imaju visok titar EHV-1 antitela u krvnom serumu nakon uzimanja kolostruma, za razliku od ždrebadi koja potiču od nevakcinisanih kobila kod kojih titar EHV-1 antitela ne postoji ili je značajno niži.
8. Sa uzimanjem kolostruma dolazi do povećanja broja limfocita, koji najvišu vrednost dostižu drugog dana posle ždrebljenja, za razliku od neutrofilnih granulocita čiji se broj postepeno povećava sve do 7. dana posle ždrebljenja. Uočava se takođe porast koncentracije triglicerida i holesterola, zatim smanjenje koncentracije gvožđa, bez statistički značajnih razlika između pojedinih grupa ždrebadi.
9. Koncentracija gama globulina u krvnom serumu novorođene ždrebadi je posle koncentracije IgG najbolji pokazatelj transfera kolostralnih imunoglobulina, vrednosti dobijene semikvantitativnim testom su manje precizne i niže, dok su koncentracija ukupnih proteina i albuminsko-globulinski količnik još manje precizan indikator transfera kolostralnih imunoglobulina.
10. Trokratna vakcinacija ždrebadih kobila protiv konjskog herpesvirusa 1 indukuje humoralni imunološki odgovor sa titrom antitela koji se smatra dovoljnim za preveniranje abortusa i dobijanje kvalitetnog kolostruma koji obezbeđuje pasivnu zaštitu ždrebadi od infekcije konjskim herpesvirusom tip 1, dok je kod kobila koje nisu vakcinisane za vreme graviditeta ovaj titar nedovoljan, kako za preveniranje abortusa tako i za sprečavanje postnatalnih infekcija herpesvirusom 1.

8. LITERATURA

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS: *Celular and Molecular Immunology*. WB Saunders Co., Philadelphia, 2000.
2. Adlerova L, Bartoskova A, Faldyna M: *Laktoferrin: review*. Vet Medicine, 53 (9):457-468, 2008.
3. Aiello SE: The Merck veterinary manual, 8th Edition; Whitehouse Station, NJ: Merck & Co., Inc., 1998.
4. Allen GK, Green EM, Robinson JA, Garner HE, Loch WE, Walsh DM: *Serum tumor necrosis factor alpha concentrations and clinical abnormalities in colostrum-fed and colostrum-deprived neonatal foals given endotoxin*. Am J Vet Res, 54 (9), 1404-1410, 1993,
5. Allen G: *A portrait of the pathogenesis of equine herpesvirus abortion*. Equine Disease Quarterly, 7 (1), 3-4, 1998.
6. Allen GP: *Respiratory infections by Equine herpesvirus types 1 and 4*. In Equine respiratory disease, P Lekeux (ED) (www.ivis.org), 2002.
7. Allen GP, Breathnach CC: *Quantification by real-time PCR of the magnitude and duration of leucocyte-associated viremia in horses infected with neuropathogenic vs. non-neuropathogenic strains of EHV-1*. Equine Vet J, 38 (3), 252-57, 2006.
8. Allerretti N, Andreis I, Čulo F, Marušić M, Taradi M: *Imunologija*. Školska knjiga, Zagreb, 1989.
9. Baldwin JL, Cooper WL, Vanderwall DK, Erb NH: *Prevalence (treatment days) and severity of illness in hypogammaglobulinemic and normogammaglobulinemic foals*. JAVMA 198 (3): 423-428, 1991.
10. Baldwin JL: *Failure of passive transfer in foals*. J Vet Intern Med, 6 (3), 197-198, 1992.
11. Barton MH, Hurley D, Norton N, Heusner G, Costa L, Jones S, Byars D, Watanabe K: *Serum lactoferrin and immunoglobulin G concentrations in healthy*

- or ill neonatal foals and healthy adult horse. *J Vet Intern Med*, 20 (6), 1457-1462, 2006.
12. Bauer JE: *Serumprotein reference values in foals during the first year of life: comparison of chemical and electrophoretic methods*. *Veterinary Clinical Pathology*, Volume 14, issue 1, 14-22, *J Vet Intern Med*, 1985.
 13. Bouer JE, Brooks TP: *Immunoturbidimetric quantification of serum immunoglobulin G concentration in foals*, *Am J Vet Res*, 51(8),1211-1214, 1990.
 14. Becht JL, Semrad SD: *Hematology, blood typing, and immunology of the neonatal foals*. *Vet Clin North Am Equine Pract* , 1 (1), 91-116, 1985.
 15. Beetson SA, Hilbert BJ, Mills JN: *The use of the glutaraldehyde coagulation test for detection of hypogammaglobulinaemia in neonatal foals*. *Aust Vet J*, 62 (8), 279-281, 1985.
 16. Bell SA, Balasuriya UB, Gardner IA, Barry PA, Wilson WD, Ferraro GL, MacLachlan NJ: *Temporal detection of equine herpesvirus infections of a cohort of mares and their foals*. *Vet Microbiol*, 116 (4), 249-257, 2006.
 17. Bernoco M, Liu IK, Wuest-Ehlert CJ, Miller ME, Bowers J: *Chemotactic and phagocytic function of peripheral blood polymorphonuclear leucocytes in newborn foals*. *J Reprod Fertil Suppl*, 35, 599-605, 1987.
 18. Bernoco MM, Liu IK, Willits NH: *Hemolytic complement activity and concentrations of its third component during maturation of the immune response in colostrum-deprived foals*. *Am J Vet Res*, 55 (7), 928-933, 1994.
 19. Bertone JJ, Jones RL, Curtis CR: *Evaluation of a test kit for determination of serum immunoglobulin G concentration in foals*. *J Vet Intern Med*, 2, 181-183, 1988.
 20. Borchers K, Thein P, Sterner-Kock A: *Pathogenesis of equine herpesvirus-associated neurological disease: a revised explanation*. *Equine Vet J*, 38, 283-287, 2006.
 21. Bowles DE, Kim SK, O'Callaghan DJ: *Characterisation of the trans-activation properties of equine herpesvirus-1 EICPO protein*. *J Virol*, 74, 1200-1208, 2000.
 22. Boyd NK, Cohen ND, Lim WS, Martens RJ, Chaffin MK, Ball JM: *Temporal changes in cytokine expression of foals during the first month of life*, *Vet Immunol Immunopathol*, 92:75, 2003.

23. Brambell FWR: *The passive immunity of the young mammal*. Biol Rev, 33:488, 1958.
24. Breathnach CC, Sturgill-Wright T, Stiltner JL, Adams AA, Lunn DP, Horohov DW: *Foals are interferon gamma-deficient at birth*, Vet Immunol Immunopathol, 112 (3-4), 199-209, 2006.
25. Brewer BD, Koterba AM: *Bacterial isolates and susceptibility patterns in foals in a neonatal intensive care unit*. Comp Cont Educ Pract Vet, 12, 1773–1781, 1990.
26. Brewer BD, Koterba AM: *Neonatal septicemia*. In Robinson EN: *Current therapy in equine medicine*, WB Saunders Company, Philadelphia, 1987.
27. Brewer BD, Koterba AM: *Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis*, Equine Vet J, 20, 18-22, 1988.
28. Brewer BD, Mair TS: *Failure of passive transfer: to treat or not to treat?*. Equine Vet J, 20 (6), 394-396, 1988.
29. Brewer BD: *Neonatal infection*. In Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC (eds): *Equine clinical neonatology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
30. Brock JH, Pineiro A, Lampreave F: *The effect of trypsin and chymotrypsin of the antimicrobial activity of complement, antibodies, lactoferrin and transferrin in bovine colostrum*. Ann De Rech Vèterin, 9, 287, 1978.
31. Brown WR: *Relationship between immunoglobulin and intestinal epithelium*. Gastroenterology, 75, 129–138, 1978.
32. Brown JA, Samantha Mapes, Ball BA, Aron DJ Hodder, Irwin KM, Nicola Pusterela: *Prevalence of equine herpesvirus-1 infection among Thoroughbred residing on a farm on the which the virus was endemic*. JAVMA, vol 231, No. 4, 2007.
33. Burrow R, Goodridge D, Denyer MS: *Trials of on inactivated hrpesvirus 1 vaccine: Challenge with a subtype 1 virus*. Vet Rec, 114, 369-374, 1984.
34. Burton SC, Hintz HF, Kemen MJ, Holmes DF: *Lyophilized hyperimmune equine serum as a source of antibodies for neonatal foals*. Am J Vet Res, 42 (2), 308-310, 1981.
35. Bush LJ, Staley TE: *Absorption of Colostral Immunoglobulins in Newborn Calves*. J Dairy Sci 63:672-680, 1980.

36. Butler JE: *Immunoglobulin of mammary secretion*. In Larson BL, Smith VL (eds), *Lactation, Comprehensive Treaties*, Academic Press, New York, 1974.
37. Carvalho R, Passos LMF, Guavea AMG, Resende M, Martins AS, Franco GC: *Use of an ELISA system for detection of equine herpesvirus 1(EHV-1) antibodies in non-symptomatic pregnant mares and neonatal foals*. *Bras med vet zotec*, vol. 52n, 3 Belo Horizonte, June, 2000.
38. Castagnetti C, Rammeta M, Tudor Popeia R, Gavoni N, Mariella J: *Plasma levels of ACTH and cortisol in normal and critically-ill neonatal foals*. *Vet Res Commun*, 32 (Suppl 1), 127-129, 2008.
39. Chavatte P, Clement F, Cash R, Grongnet JF: *Field Determination of Colostrum Quality by Using a Novel, Practical Method* 9 Vol. 44 9 AAEP PROCEEDINGS, 1998.
40. Ciesla A, Palacz R, Janiszewska J, Skorcka D: *Total protein, selected protein fractions and chemical elements in the colostrum and milk of mares*. *Archiv Tierzucht*, 52,1, 1-6, 2009.
41. Clabough DL, Levine JF, Grant GL, Conboy HS: *Factors associated with failure of passive transfer of colostral antibodies in Standardbred foals*. *J Vet Intern Med* 5 (6), 335-340, 1991.
42. Cohen ND: *Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals*. *J Am Vet Med Assoc* 204, 1644-1651, 1994.
43. Collier GJ, Tucker HA: *Regulation of cortisol uptake in mammary tissue of cow*. *J. Dairy Sci.* 61: 1709-1714, 1978.
44. Crabb BS, Studdert MJ: *Equine herpesviruses 4(equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus)*. *Adv Virus Res*, 45: 153-90, 1995.
45. Crisman MV, Scarratt WK: *Immunodeficiency disorders in horses*. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 24 (2), 299-310, 2008.
46. Csapó J, Salamon Sz, Lóki K, Csapó-Kiss Zs: *Composition of mares colostrum and milk II. Protein content, amino acid composition and contents of macro-and micro-elements*. *Acta Univ Sapientiae alimentaria*, 2 , 1 133-148, 2009.
47. Csapo-Kiss ZS, Stefler J, Martin TG, Makray S, Csapo J: *Composition of mares' colostrum and milk Protein content, amino acid composition and contents of macro- and micro-elements*. *Int Dairy J* 5, 1995.

48. Curadi MC, Orlandi M: *Lavalutazione dei contenuti sieroproteici ai fini del giudizio di immunotransfer nel puledro*. Atti Conv Naz Fossano, 179-183, 1999.
49. Curadi MC, Minori D, Demi S, Orlandi M: *Immunotransfer in the foal*. Ann Fac Med Vet, Pisa, 127-140, 2001.
50. Curadi MC, Leotta R, Voltini B, Orlandi M: *Thoroughbred breeding: passive immunity transfer to the newborn foal*: Annali fac med vet, LX 29-39, 2007.
51. Dankow R, Pikul J, Wojtowski J, Cais-Sokolińska D: *Chemical composition and physicochemical properties of colostrum and milk of Wielkopolska mares*. Pol J Natur Sci 20, 147-54, 2006.
52. Danvon SM, Odle J: *Growth factors in milk as mediators of infant development*. Annu Rev Nutr 14, 147-167, 1994.
53. Davis R, Giguère S: *Evaluation of five commercially available assays and measurement of serum total protein concentration via refractometry for the diagnosis of failure of passive transfer of immunity in foals*. J Am Vet Med Assoc 227 (10), 1640-1645, 2005.
54. Davison AJ: *Herpesviruses: General features*. In Encyclopedia of virology, Elsevier, 430-435, 2008.
55. De Meo Scotoni CM, Machado Neto R: *Transferencia de imunidade pasiva em equinos; características imunológicas do processo de farmaco do colostro*. Rev Soc Bras Zoot, 21:2,200-204, 1992.
56. Deem Morris D: *Bacterial infections of the newborn foal, Part 1. Clinical Presentation, Laboratory Findings, and Pathogenesis*. Comp Cont Educ Pract Vet. 332-339, 1984.
57. DelPiero F, Wilkins PA, Timiney PJ, Kadushin J, Vogelbacher H, Lee JW, Berkowitz SJ, La Perle KM: *Fatal nonneurological EHV-1 infection in a yearling filly*. Veterinary Pathology 37(6):672-676, 2000.
58. DelPiero F, Wilkins PA: *Pulmonary vasculotropic EHV-1 infection in equids*. Veterinary Pathology 38(4): 474, 2001.
59. DeLuca JL, McClure D, Lunn P, Miller J: *Evaluation of IgG concentration in foals with failure of passive transfer after administration of intravenous serum or plasma*. AAEP Proceedings; Vol 47.380-384, 2002.

60. Demmers S, Johannisson A, Gröndahl G, Jensen-Waern M: *Neutrophil functions and serum IgG in growing foals*. Equine Vet J 33 (7), 676-680, 2001.
61. Donovan DC, Reber AJ, Gabbard JD, Aceves-Avila M, Galland KL, Holbert KA, Ely LO, Hurley DJ: *Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves*. Am J Vet Res, 68 (7), 778-782, 2007.
62. Drummond WH, Kotebra AM: *Neonatal asphyxia*. In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC. Equine clinical neonatology, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
63. Drummond WH: *Neonatal shock: Pathophysiology and management*. In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC (eds): Equine clinical neonatology, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
64. Duggan VE, Holyoak GR, MaCallister CG, Confer AW: *Influence of induction of parturition on the neonatal acute phase response in foals*. Theriogenology, 67 (2), 372-381, 2007.
65. Ellis JA, Steeves E, Wright AK, Bogdan JR, Dawis WC, Kanara EW, Haines DM: *Cell-mediated cytolysis of equine herpesvirus-infected cells by leukocytes from young vaccinated horses*. Vet Immunol Immunopathol, 57, 201-14, 1997.
66. Erhard MH, Luft C, Remler HP, Stangassinger M: *Assessment of colostral transfer and systemic availability of immunoglobulin G in new-born foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system*. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 285 (5-6), 164-173, 2001.
67. Erlich P: *Ueber immunität durch vererbung und saugung*. Z Hyg Infektkr, 12:183-184, 1892.
68. Evans TW, Smithies M: *ABC of disfunction: Organ disfunction*. Br Med J, 318 (7198): 1606-1609, 1999.
69. Fairefield T, Bain and Walter W.Zent: *Placentitis*. In Current Therapy in Equine Medicine 6, Saunders Elsevier, 2009.
70. Firth MA, Shewen PE, Hodgins DC: *Passive and active components of neonatal innate immune defenses*. Animal Health Research Reviews, 6,143-158, 2005.
71. Flaminio MJ, Rush BR, Shuman W: *Peripheral blood lymphocyte subpopulation and immunoglobulin concentrations in healthy foals and foals with Rhodococcus equi pneumonia*. J Vet Intern Med, 13 (3), 206-212, 1999.

72. Foote CE, Glikerson JR, Whalley JM: *Seroprevalence of equine herpesvirus 1 In mares and foals on a large Hunter Valley stud farm in year pre-and postvaccination.* Aus Vet J, 81(283-288),2003.
73. Foote CE, Love DN, Glikerson JR i sar.: *Detection of EHV-1 and EHV-4 DNA unwended Thoroughbred foals from vaccinated mares on large stud farm.* Equine Vet J, 36(4):341-345, 2004.
74. Foote CE, Love DN, Glikerson JR i sar.: *EHV-1 and EHV-4 infection in vaccinated mares and their foals.* Vet Immunol Immunopathol, 111(1-2):41-46, 2006.
75. Fowden AL: *Endocrine regulation of fetal growth.* Reproduction, Fertility and Development, 7, 351-363, 1995.
76. Fowden AL, Forhead AJ, White KL, Taylor PM: *Equine uteroplacental metabolism at mid and late gestation.* Exsp Physiol, 85:539-545, 2002.
77. Franz LC, Landon JC, Lopes LA, Marinho LA, Sarma C, Bruemmer J, Squires EL: *Oral and intravenous immunoglobulin therapy in neonatal foals.* J Equine Vet Sci, 18, 742-748, 1998.
78. Fratrić N, Stojić V, Janković D, Šamanc H, Gvozdić D: *The effect of a clinoptilolite based mineral adsorber on concentrations of immunoglobulin G in the serum of newborn calves fed different amounts of colostrum.* Acta Vet Belgrade, 55 (1), 11-21, 2005.
79. Friday PA, Scarratt WK, Elvinger F, Timoney PJ, Bonda A: *Ataxia and paresis with equine herpesvirus type 1 infection in a herd of riding school horses.* Journal Vet Int Med,14, 197-201, 2000.
80. Furr M, Tinker MK, Edens L: *Prognosis for neonatal foals in an intensive care unit.* J Vet Int Med, 11, 183-188, 1997.
81. Gayle JM, Cohen ND, Chaffin MK: *Factors associated with survival in septicemic foals: 65 cases (1988-1995).* J Vet Int Med 12, 140-146, 1998.
82. Giguère S, Polkes AC: *Immunologic disorders in neonatal foals.* Vet Clin North Am Equine Pract, 21 (2), 24, 2005.
83. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kuby J: *Immunology.* W.H. Freeman and co., New York, 2003.

84. Gvozdić D, Stojić V, Šamanc H, Fratrić Natalija, Daković Aleksandra: *Apparent efficiency of immunoglobulin absorption in newborn calves orally treated with zeolite*. Acta Veterinaria (Beograd), Vol. 58, No 4, 345-355, 2008.
85. Hammer CJ, Tyler HD, Miller PA: *Effects of oral administration of concentrated equine serum IgG to newborn foals on passive immunity*. J Equine Vet Sci, 20, 5, 337-338, 2000.
86. Hammer CJ, Booth JA, Etzel L, Tyler HD: *Adequacy of a concentrated equine serum product in preventing failure of immune passive transfer in neonatal foals: preliminary study*. Equine Vet J, 33 (7), 734-736, 2001.
87. Harvey JW: *Normal haematologic values*. In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC (eds). Equine clinical neonatology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
88. Hawthorne TB: *Neonatal hyperbilirubinemia*. In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC (eds). Equine clinical neonatology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1990
89. Heldens JG, Hannant D, Cullinane AA i sar: *Clinical and virological evaluation of the efficiency of an inactivated EHV-1 and EHV-4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV-1,4). Vaccination/challenge experiment in foals and pregnant mares*. Vaccine 19(30):4307-4317, 2001.
90. Henson BS, Barton M: *Bacterial isolates and antibiotic sensitivity pattern from septicemic neonatal foals: a 15 year retrospective study (1986-2000)*; Darothy R. Havemeyer foundation neonatal septicemia workshop 3; Tallories, France, October 2001.
91. Hoffman AM, Staempfli HE, Willan A: *Prognostic variables for survival of neonatal foals under intensive care*. J Vet Int Med 6, 89-95, 1992.
92. Holcnagel DL, Hussey S, Mihalyi JE et al: *Onset of immunoglobulin production in foals*. Equine Vet J, 35 (6), 620-622, 2003.
93. Holmes M, Lunn DP: *A study of bovine and equine immunoglobulin levels in pony foals fed bovine colostrum*. Equine Vet J 23, 116-118, 1991.
94. Howe PE: *An effect of the ingestion of colostrum upon the composition of the blood of new born calves*. J Biol Chem, 49:115, 1921.
95. Hydbring E, Madej A, MacDonald E, Drugge-Boholm G, Berglund B, Olsson K: *Hormonal changes during parturition in heifers and goats are related to the phases and severity of labor*. J Endocrinol, 160: 75-85, 1999.

96. Jeffcott LB: *Passive immunity and its transfer with special reference to the horse.* Biol Rev Camb Philos Soc, 47 (4), 439-464, 1972.
97. Jeffcott LB, Jeffcott TJ: *Studies on passive immunity in the foal. III. The characterization and significance of neonatal proteinuria.* J Comp Pathol, 84 (4), 455-465, 1974.
98. Jeffcott LB: *Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals.* Equine Vet J, 6 (3), 109-115, 1974.
99. Jeffcott LB: *Studies on passive immunity in the foal. 1. Gamma-globulin and antibody variations associated with the maternal transfer of immunity and the onset of active immunity.* J Comp Pathol, 84 (1), 93-101, 1974.
100. Jeffcott LB: *Studies on passive immunity in the foal. II. The absorption of 125I-labelled PVP (polyvinyl pyrrolidone) by the neonatal intestine.* J Comp Pathol, 84 (3), 279-289, 1974.
101. Jeffcott LB: *The transfer of passive immunity to the foal and its relation to immune status after birth.* J Reprod Fertil Suppl, 23, 727-733, 1975.
102. Jeffcott LB: *Clinical aspects of passive immunity in foals.* J S Afr Vet Assoc, 46 (1), 57, 1975.
103. Jeffcott LB: *Immune passive transfer to foals: sixty years on.* Equine Vet J. 17 (3), 162-163, 1985.
104. Jones D, Brook D: *Investigation of the Gamma-Check-C test as a mean of evaluating IgG levels in equine colostrums.* J Equine Vet Sci, 34: 161-162, 1995.
105. Kalinbacak A, Guzel M, Altintas I: *Incidence of failure of immune passive transfer (FPT) in Thoroughbred foals - Interest of a rapid diagnosis for FPT.* Revue Méd Vét, 156, 3, 163-165, 2005.
106. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML: *Clinical biochemistry of domestic animals*, ed 5, San Diego, Academic Press, 1997.
107. Kindahl H, Kornmatitsuk B, Gustafsson H: *The cow in endocrine focus before and after calving.* Reprod Dom Anim, 39:217-221, 2004.
108. Kohn CW, Knight D, Hueston W, Jacobs R, Reed SM: *Colostrum and serum IgG, IgA, and IgM concentrations in Standardbred mares and their foals at parturition.* J Am Vet Med Assoc, 195 (1), 64-68, 1989.

109. Kohn W: *Die passive immunisierung und der fehlerhafte passive transfer(FPT) von immunoglobulinen bei neugeborenen fohlen (teill unt teil 2)*. Prakt Tierarzt, 11,72, 660-669; 983-995, 1991.
110. Kosch PC: *Equine clinical neonatology*. In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC (eds). *Equine clinical neonatology* Lea& Febiger, Philadelphia, 1990.
111. Koterba AM, Brewer BD, Tarplee FA: *Clinical and clinicopathological characteristics of the septicemic neonatal foal: review of 38 cases*. Equine Vet J, 16 (4), 376-382, 1984.
112. Koterba AM: *Diagnosis and management of the normal and abnormal foal: General considerations*. In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC (eds). *Equine clinical neonatology*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1990
113. Krstić Lj: *Medicinska virusologija*. Beograd, 2000.
114. Lavoie JP, Spensley MS, Smith BP, Bowling AT, Morse S: *Complement activity and selected hematologic variables in newborn foals fed bovine colostrum*. Am J Vet Res, 50 (9), 1532-1536, 1989.
115. Lavoie JP, Madigan JE, Cullor JS, Powell WE: *Haemodynamic, pathological, haematological and behaviural changes during endotoksin infusion in equine neonates*. Equine Vet J, 22(1): 23-29,1990.
116. Lawrence LA: *Nutrition of the dam influences growth and development of the foal*. Proc Kentucky Equine Research Nutr.Conf. 17:89-98, 2006.
117. Lawrence LA, Lawrence TJ: *Development of the gastrointestinal tract*. Advances in Equine Nutrition-IV 173-183, 2009.
118. Lazarević M, Spring P, Shabanovic M, Tokić V, Tucker LA: *Effect of gut active carbohydrates on plasma IgG concentrations in piglets and calves*. Animals 4, 6, 938-43, 2010.
119. Lebenthal A, Lebenthal E: *The ontogeny of the small intestinal epithelium*. J Parenteral Enteral Nutr Suppl, 23:S3-6, 1999.
120. LeBlanc MM, McLaurin BI, Boswell R: *Relationships among serum immunoglobulin concentration in foals, colostral specific gravity, and colostral immunoglobulin*. Anim Genet, 19 (4), 435-445, 1988.
121. LeBlanc MM, Pritchard EL. *Effects of bovine colostrum, foal serum immunoglobulin concentration and intravenous plasma transfusion on*

- chemiluminescence response of foal neutrophils. Anim Genet, 19 (4), 435-445, 1988.*
122. LeBlanc MM: *Is bovine colostrum a suitable alternative source of immunoglobulins for newborn foals. Equine Vet J, 23 (2), 78-80, 1991.*
 123. Le Blanc MM, Tran T, Baldwin JL, Pritchard EL : *Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. J Am Vet Met Ass, 200 (2), 179-183,1992.*
 124. Lecce JG, Morgan DO, Matrone G: *Effect of feeding colostrum and milk components on the cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in neonatal pigs. J Nutr, 84:43, 1964.*
 125. Lecce JG, Broughton CW: *Cessation of uptake of macromolecules by neonatal guinea pig, hamster and rabbit intestinal epithelium(closure) and transport in to blood. J. Nutr.103:744, 1973.*
 126. Lee JW, Elkins AS, Berkowitz SJ: *Early detection of immunoglobulin G levels in the equine neonate. Eq Pract, 14:5, 5-9. 1992.*
 127. Levi M, Ten Cate H: *Disseminated intravascular coagulation. N Engl J Med, 341 (8):586-592,1999*
 128. Liggins GC: *Premature delivery of fetal lambs infused with glucocorticoids. J Endocrinol, 45:515-523, 1969.*
 129. Liggins GC: *The role of cortisol in preparing the fetus for birth. Reproduction, Fertility and Development, 6, 141-150, 1994.*
 130. Liu IK, Brown C, Myers RC, Hao YL: *Evaluation of intravenous administration of concentrated immunoglobulin G to colostrum-deprived foals. Am J Vet Res. 52 (5), 709-712,1991.*
 131. Lunn DP, Davis-Poynter N, Flaminio MJBF, Horohov DW, Osterrieder K, Pusterla N, Townsend HGG: *Equine Herpesvirus-1 Consensus Statement; J Vet Intern Med, 23:450–461, 2009.*
 132. Mac Kay RJ: *Inflammation in horses. Vet Clin North Am Equine Pract, 16 (1): 15-27, 2000.*
 133. Magdasian KG, Wilkins PA: *Neonatology. In Orsini JA, Divers TJ, Equine emergencies treatment and procedures, 3rd edition, Saunders, Elsevier, 486-521, 2007.*
 134. Mahieu LM, Muynck Aime´O, Dedooy JJ, Laroche SM, VanAcker K: *Prediction of nosocomial sepsis in neonates by means of a computer-weighted bedside*

scoring sistem (NOSEP score):Critical care medicine, volume 28-Issue 6 2026-2033, 2000.

135. Massey RE, Le Blanc MM, Klapstein EF, Blake-Caddel L: *Colostrum feeding of foals and colostrums banking*. Proc 37^o AAEP, San Francisco, CA, december 1-4,1991, 1-8, 1992.
136. McCclure JJ: *Failure of passive transfer (FPT)*. In: Smith P.B editor Large animal internal medicine, CV Mosby, St. Louis, 1601-1604, 1990.
137. McClure JT, DeLuca JL, Lunn DP, Miller J: *Evaluation of IgG concentration and IgG subisotypes in foals with complete or partial failure of passive transfer after administration of intravenous serum or plasma*. Equine Vet J, 33 (7), 681-686, 2001.
138. McCue PM: *Evaluation of turbidimetric immunoassay for measurement of plasma IgG concentration in foals*. Am J of Vet Res. 68(9), 1005-1009, 2007.
139. McGuire TC, Crawford TB: *Passive immunity in the foal: measurement of immunoglobulin classes and specific antibody*. Am J Vet Res, 34: 1299-1303, 1973.
140. McGuire TC, Crawford TB, Hallowell AL, Macomber L: *Failure of colostral immunoglobulin transfer as an explanation for most infections and deaths of neonatal foals*. J Am Vet Med Assoc, 170 (11), 1302-1304, 1977.
141. McKenzie III HC, Furr MO: *Equine neonatal sepsis:The pathophysiology of severe inflammation and infection*. Compendium:Equine edition, Vol.23, No 7 July 2001.
142. McTaggart C, Penhale J, Raidala SL: *Effect of plasma transfusion on neutrophil function in healthy and septic foals*. Aust Vet J, 83 (8), 499-505, 2005.
143. Mee JF, Mehra R: *Efficacy of colostrum substitutes and supplements in farm animals*. Agro Food Indust. Hi – Tech. 6: 31 – 35, 1995.
144. Mehrzad J, Duchateau L, Py'r'l' S, Burvenich C: *Blood and milk neutrophil chemiluminescence and viability in primiparous and pluriparous dairy cows during late pregnancy, around parturition, and early lactation*. J Dairy Sci, 85:3268-3276, 2002.
145. Metzger N, Hinchcliff KW, Hardy J, Schwarzwald CC, Wittum T: *Usefulness of a commercial equine IgG test and serum protein concentration as indicators of*

- failure of transfer of passive immunity in hospitalized foals. J Vet Intern Med, 20 (2), 382-387, 2006.*
146. Moore JN, Barton MH: *An update on endotoxaemia. Part 1: Mechanisms and pathways. Equine Vet Educ, 10 (6):300-306, 1998.*
 147. Morris DD, Meirs DA, Merryman GS: *Passive transfer failure in horses : Incidence and causative factors on a breeding farm. Am J Vet Res, 46: 2294-2299, 1985.*
 148. Morris DD: *Endotoxemia in horses. A review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis. J Vet Intern Med 5 (3): 167-181, 1991*
 149. Murray MJ, del Piero F, Jeffrey SC, et al: *Neonatal equine herpesvirus type 1 infection on thoroughbred breeding farm. J Vet Intern Med,12 (1):36-41,1998.*
 150. Murray MJ, Del Piero F, Jeffrey SC: *Neonatal equine herpesvirus type 1 infection on thoroughbred breeding farm. J Vet Intern Med, 12 (1), 36-41, 1998.*
 151. Nath LC, Anderson GA, Savage CJ, McKinnon AO: *Use of stored equine colostrum for the treatment of foals perceived to be at risk for failure of transfer of passive immunity. JAVMA, 236, 10,1085-1090, 2010.*
 152. Nelson KM, Darien BJ, Konkle DM, Hartmann FA: *Actinobacillus suis septicaemia in two foals. Vet Rec, 138:39-40, 1996.*
 153. Nezlin R: *The Immunoglobulins: structure and function. Academic Press, San Diego, 1998.*
 154. Nugent J, Birch-Machin I, Smith KC, Mumford JA, Swann Z, Newton JR, Bowden RJ, Allen GP, Davis-Poynter N: *Analysis of equine herpesvirus type 1 strain variation reveals a point mutation of the DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus non-neuropathogenic disease outbreaks. J Virol, 80, 4047-4060, 2006.*
 155. O'Callaghan DJ, Osterrieder N: *Herpesviruses of horses. In Enciclopedia of virology, Elsevier 411-429, 2008.*
 156. Olsen TF: *Equine herpesvirus myeloencephalopathy in a 14-year-old quarter horse stallion. Can vet J, 42,217-220, 2001.*
 157. Orlandi M, Goracci J, Curadi MC: *Fat composition of mares milk with reference to human nutrition, Ann Fac Med Vet, Pisa, 97-105; 2003.*

158. Paillot R, Case R, Ross J, Newton R, Nugent J: *Equine herpes virus-1: Virus, immunity and vaccines*. Open Vet Sci J, 2, 68-91, 2008.
159. Palmer J: *Prematurity, Dysmaturity, Postmaturity*. New Bolton Center, University of Pennsylvania, 2005.
160. Palmer J: *Failure of passive transfer*. New Bolton Center, University of Pennsylvania, December 10, 2010.
161. Pasquini M, Tommei B, Trenti G, Falaschini A: *Pre-foaling period in Trotter mares-2: variations of protein fractions in pre-colostrum secretion*. Ital J Anim Sci, 4 Suppl, 2, 424-6, 2005.
162. Peakman M, Vergani D: *Basic and Clinical Immunology*. Churchill, 1997.
163. Pejić N: *Ishrana konja*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1991.
164. Perkins G, Ainsworth DM, Erb HN: *Clinical, haematological and biochemical findings in foals with neonatal equine herpesvirus-1 infection compared with septic and premature foals*. Equine Vet J, 31 (5), 422-426, 1996.
165. Perryman LE, McGuire TC: *Evaluation for immune system failures in horses and ponies*. J Am Vet Med Assoc, 176 (12), 1374-1377, 1980.
166. Pieszka M: *The composition of Arabian mares' milk*, <http://www.waho.org/History/ArabianMaresMilk.htm>, 2005.
167. Platt H: *Septicaemia in the foal. A review of 61 cases*. Brit Vet J, 129:221-229, 1973.
168. Powel DG, Vickors Mary Lyhne: *Equine herpesvirus-1: Equine disease Quarterly*, 6, 1997.
169. Prescott JF, Markham RJF, Johnson JA: *Celular and humoral immune response of foals to vaccination with Corynebacterium equ*. Can J Comp Med, 43:356-364, 1979.
170. Preston CM: *Herpesviruses: Latency*. In Encyclopedia of virology, Elsevier 436-442, 2008.
171. Purvis D, Kirby R: *Systemic inflammatory response syndrome: Septic shock*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 24 (6), 1225-1247, 1994.
172. Pusterla N, Pusterla JB, Spier SJ, Puget B, Watson JL: *Evaluation of the SNAP foal IgG test for the semiquantitative measurement of immunoglobulin G in foals*. Vet Rec, 151 (9), 258-260, 2002.

173. Raidal SL: *The incidence and consequences of failure of passive transfer of immunity on a thoroughbred breeding farm.* Aust Vet J, 73(6):201-206, 1996.
174. Raidal SL, McTaggart C, Penhale J: *Effect of withholding macromolecules on the duration of intestinal permeability to colostral IgG in foals.* Aust Vet J, 83 (1-2), 78-81, 2005.
175. Rasis AL, Hodgson JL, Hodgson DR: *Equine neonatal septicaemia: 24 cases.* Austr Vet J, 73:137-140, 1996.
176. Reber AJ, Donovan DC, Gabbard J, Galland K, Aceves-Avila M, Holbert KA, Marshall L, Hurley DJ: *Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system Part II. Effects on neonatal lymphocytes.* Vet Immunol Immunopathol, 123 (3-4), 305-313, 2008.
177. Reber AJ, Donovan DC, Gabbard J, Galland K, Aceves-Avila M, Holbert KA, Marshall L, Hurley DJ: *Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system I. Effects on monocyte lineage cells.* Vet Immunol Immunopathol, 123 (3-4), 186-196, 2008.
178. Reiter B: *Review of the progress of dairy science: antimicrobial systems in milk.* J. Dairy Res, 45: 131 – 147, 1978.
179. Richter C, Lohmann K: *Failure of passive transfer in foals: A review.* Large animal veterinary rounds, vol 5, 10, 2005.
180. Riond B, Wenger-Riggenbach B, Hofman-Lehmann R, Lutz H: *Serum protein concentrations from clinically health horses determined by agarose gel electrophoresis.* Vet Clin Pathol, 38(1):73-77, 2009.
181. Ripatti T, Koskela P, Kotimaa M, Koskinen E, Mäenpää PH: *Serum IgG antibody concentrations against environmental microbes in mares and foals during different seasons and effect of stabling practices.* Am J Vet Res, 51 (4), 550-555, 1990.
182. Robinson JA, Allen GK, Green EM, Fales WH, Loch WE, Wilkerson CG: *A prospective study of septicaemia in colostrum-deprived foals.* Equine Vet J, 25 (3), 214-219, 1993.
183. Robinson JA, Allen GK, Green EM, Garner HE, Loch WE, Walsh DM: *Serum interleukin-6 concentrations in endotoxin-infused neonatal foals.* Am J Vet Res, 54 (9), 1411-1414, 1993.

184. Rumbaugh GE, Ardans AA, Douglas G., Trommershausen-Smith A: *Measurement of neonatal equine immunoglobulins for assessment of colostral immunoglobulin transfer: comparison of single radial immunodiffusion with the zinc sulfate turbidity test, serum elektrophoresis, refractometry for total serum protein, and the sodium sulfite precipitation test.* J Am Vet Med Assoc, 172:321-325 1978.
185. Rumbaugh GE, Ardans AA, Ginno D, Trommershausen-Smith A: *Identification and treatment of colostrum-deficient foals.* J Am Vet Med Assoc, 174 (3), 273-276, 1979.
186. Rumbaugh GE, Ardans AA: *Imunological disorders.* In Robinson NE (ed) *Current therapi in equine medicine*, WB Saunders, Philadelphia, 1983
187. Saikku A, Koskinen E, Sandholm M: *Sequential changes of IgG and antitrypsin in different compartments during the colostral-intestinal transfusion of immunity to the newborn foal.* Zentralbl Veterinarmed B, 36 (5), 391-396, 1989.
188. Sánchez L, Clavo M, Brock, JH: *Biological role of lactoferrin.* Arch Dis Child, 67: 657 – 661, 1992.
189. Sanchez LC: *Equine neonatal sepsis.* Vet Clin Equine, 21, 273-293, 2005 .
190. Sangild PT: *Uptake of colostral immunoglobulins by the compromised newborn farm animal.* Acta Vet Scand Suppl, 98, 105-122, 2003.
191. Schützler H: *Immunization of foals against tetanus toxin. II. Transmission of tetanus antibodies with the colostrum to newborn foal and subsequent active immunization.* Arch Exp Veterinarmed, 27 (2), 245-250, 1973.
192. Sedlinska M, Krejčí J, Vyskočil M: *Evaluation of field methods for determining immunoglobulins in sucking foals* Acta vet, Brno, 74:51-58, 2005.
193. Sellon DC: *Secondary Immunodeficiencies of Horses.* Vet Clin North Am Equine Pract, 16(1): 117-130, 2000.
194. Selon DC: *Foal with failure of passive transfer.* In *Equine neonatal medicine: a case-based approach*, 31(8), Saunders, 2006.
195. Shaftoe S: *Peripartum endocrine adaptation;* In Kotebra AM, Drummond WH, Kosch PC (eds). *Equine clinical neonatology.* Lea & Febiger, Philadelphia, 1990

196. Sheoran AS, Timoney JF, Holmes MA, Karzenski SS, Crisman MV: *Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses*. Am J Vet Res, 61 (9), 1099-1105, 2000.
197. Silver M: *Prenatal maturation, the timing of birth, and how it is regulated in domestic animals*. Experimental Physiology, 75, 285-307, 1990.
198. Silver M, Fowden AL: *Prepartum adrenocortical maturation in the fetal foal: Response to ACTH*. J Endocrinol, 142:417-425, 1994.
199. Simpson-Morgan MW, Smeaton TC: *The transfer of antibodies by neonates and adults*. Adv Vet Sci Comp Med, 16:355, 1972.
200. Slater J: *Equine herpesviruses*. In Equine infectious disease. Saunders Elsevier, 2007.
201. Slater JD, Borchers K, Thackray AM, Field HJ: *The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus 1 latency and reactivation in the horse*. J Gen Virol, 75, (Pt8), 2007-2016, 1994.
202. Smith R 3rd, Chaffin MK, Cohen ND, Martens RJ: *Age-related changes in lymphocyte subsets of quarter horse foals*. Am J Vet Res, 63 (4), 531-537, 2002.
203. Smith W, Foster DM: *Short Communication: Absorption of protein and Immunoglobulin G in Calves Fed a colostrum replacer*, J Dairy Sci, 90(6): 2905 – 2908, 2007.
204. Spearman RK: *Effect of mannan oligosaharide (MOS) supplementation on the immune status of mares and their foals*. University of Florida, 2004
205. Steven S, Samuel CA: *Anatomy of the placental barrier in the mare*. J reprod Fert Suppl, 23,579-582, 1975.
206. Stickle JE, Miller DC, Lewandowski AH: *Serum protein fractions of viable and nonviable neonatal ungulates*. Jurnal of Zoo and Wildlife Medicine 25(4): 555-560, 1994.
207. Stierstorfer B, Eichhorn W, Schmahl W, Bradmüller C, Kadden O-R, Neubauer A: *Equine hepesvirus type 1 (EHV-1) myeloencephalopathy: Case report*. J Vet Med, series B, 49(1), 37-41, 2002.
208. Stojić V, Šamanc H, Fratrić Natalija: *The effect of a clinoptilolite based mineral adsorber on colostrum immunoglobulin G adsorption in newborn calves*. Acta Veterinaria, 45,2-3, 67-74, 1995.

209. Stojić V, Gagrčin M, Fratrić N, Tomašević Čanović M, Kirovski D: *The effect of a clinoptilolite based mineral adsorbent on colostral immunoglobulin G absorption in newborn piglets*. Acta Veterinaria, 48, 19-26, 1998.
210. Stojić V: *Veterinarska fiziologija*. Naučna KMD, Beograd 2004.
211. Stoneham SJ, Digby NJ, Ricketts SW: *Failure of passive transfer of colostral immunity in the foal: incidence, and the effect of stud management and plasma transfusions*. Vet Rec, 128 (18), 416-419, 1991.
212. Stoneham SJ: *Normal foal*. In Equine neonatal medicine: a case approach. Saunders, 1 (12), 2006.
213. Sugiura T, Kondo T, Imagawa H, Kamada M, Suzuki H: *Development of a new quantitation test for horse IgG using nephelometry and clinical application of the test*: Journal of Eqine Science, vol. 8 No 3 63-67, 1997.
214. Swart PJ, Kuipers ME, Smit C, van der Strate BWA, Harmsen MC, Meijer DKF: *Lactoferrin: antiviral activity of lactoferrin*. 205–213. In : G. Spik, D. Mazurier LJ, Pierce A, Perraudin J (eds); Advanced in lactoferrin research. Plenum Press. New York, 1998.
215. Taniguchi A, Fukushi H, Matsumura T, Yanai T, Masegi T, Hirai K: *Pathogenicity of a new neurotropic equine herpesvirus-9 (gazelle herpesvirus 1) in horses*. J Vet Med Sci, 2000.
216. Tishner M, Niezgoda J, Wiczorek E, Mękarska A, Lisowska A: *The evaluation of mare colostrum quality*. Med Weter, 52, 381-3 [in Polish], 1996.
217. Tizard IR: *Veterinary Immunology: An Introduction*. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1996.
218. Trachair JF, Songild PT: *Systemic and luminal influences on the perinatal development of the gut*. Equine Vet J Suppl, 24:40-50, 1997.
219. Trailović D, Petrujkić T, Jermolenko Gordana, Trailović Ružica, Sinovec Z: *Neonatal mortality of Thoroughbred foals in Serbia from 1981 to 1991*. Proceedings of first european simposium on horse reproduction, Bad Harzburg, 1992.

220. Trailović D, Stepanović P, Urošević M: *Kolostralni imunitet i patologija novorođene ždrebadu*. Zbornik radova 2. savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, Clinica veterinaria 2000, Budva, 2000.
221. Trailović D, Lazarević M, Urošević M, Jovanović M, Tikvicki G, Pražić M: *Poremećaj transfera kolostralnih imunoglobulina kod novorođene ždrebadu*. Zbornik radova Petog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, Clinica veterinaria 2003, Budva, 2003.
222. Trailović D, Urošević M, Lazarević M, Marinković D: *Značaj poremećaja transfera kolostralnih antitela u patologiji novorođene ždrebadu*. Zbornik radova 6. međunarodnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, Clinica veterinaria 2004, Budva 2004.
223. Trumel CSF, Braun JP, Guelfi JF: *Serum protein electrophoresis: guidelines for diagnosis evaluation in dog, cat, and horses*. Revue de Médecine Vétérinaire. 147, 123-130, 1996.
224. Urošević M, Rađenović Ž, Trailović D, Lazić S: *Prilog poznavanju faktora značajnih za procenu rizika od pojave herpesvirusnih abortusa u zapatima sa latentnom EHV-1 infekcijom*. Zbornik radova trećeg savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja Clinica veterinaria 2001, Budva, 2001.
225. Vivrette SL, Young K, Manning S, Evans P, Cross D: *Efficacy of seramune in the treatment of failure of passive transfer in foal*. Proceedings of the 45th Annual convention of the American Association of Equine practitioners (AAEP), 44, 136-137, 1998.
226. Waelchli RO, Hossing M, Eggenberger E. , Nussbaumer M: *Relationships of total protein, specific gravity, viscosity, refractive index and latex agglutination to immunoglobulin G concentration in mare colostrum*. Eq Vet J, 22, 1, 39-42, 1990.
227. Ware LB, Mathay MA: *The acute respiratory distress syndrome*. N Engl Med, 342 (18), 1334-1349, 2000.
228. Watson DL, Bennell MA, Griffiths JR: *A rapid, specific test for detecting absorption of colostrum IgG by the neonatal foal*. Aust Vet J, 56 (11), 513-516, 1980.
229. Watson JL: *Assays for evaluation of transfer of passive immunity*. In Robinson Current therapy in equine medicine 6, (860-861), Saunders, Philadelphia, 2009.

230. Wichtel MG, Anderson KL, Johnson TV, Nathan U, Smith L: *Influence of age on neutrophil function in foals*. Equine Vet J, 23 (6), 466-469, 1991.
231. Wilkins PA, Dewan-Mix S: *Efficacy of intravenous plasma to transfer passive immunity in clinically healthy and clinically ill equine neonates with failure of passive transfer*. Cornell Vet, 84 (1), 7-14, 1994.
232. Wilkins PA: *Placentitis in peripartum mare*. In Equine neonatal medicine 13(9), Saunders, 2006.
233. Wilson WD, Mihalyi JE, Hussey S, Lunn DP: *Passive transfer of maternal immunoglobulin isotype antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals to vaccination*. Equine Vet J, 33 (7), 644-650, 2001.
234. Włodarczyk-Szydłowska A, Nowacki W, Wierzbicki H: *The effect of selected factors on the quality of mare colostrum and the level of colostrum immunoglobulins in foals*. Med Weter 61, 923-6[in Polish], 2005.
235. Wohlfender FD, Barrelet FE, Doherr MG, Straub R, Meier HP, *Diseases of neonatal foals: Part 2: Potential risk factors for a higher incidence of infectious diseases during the first 30 days post partum*. Equine Vet J, 41, 2, 186-191, 2009.

8. PRILOZI

BIOGRAFIJA

Saša Lauš je rođen 22. 07. 1968. godine u Vršcu, gde je završio i osnovnu i srednju poljoprivrednu školu, smer veterinarski tehničar. Fakultet veterinarske medicine u Beogradu je upisao 1988. godine, a završio 1994. Odmah po završetku studija zapošljava se u PDPP „Panonija“ Vršac kao veterinar. Od 1997. godine radi u PP „Agrovršac“ DD, na farmi krava. Početkom 2002. godine otvara sopstvenu privatnu veterinarsku ambulantu u Vršcu, da bi od 2005. godine postao suvlasnik privatne veterinarske stanice „Praxis veterinaria“ u Vršcu. Posdiplomske studije na Fakultetu veterinarske medicine u Beogradu je upisao 1995. na smeru Klinička patologija i terapija kopitara. Magistarsku tezu sa temom „Humoralni imunološki odgovor gravidnih kobilica na konjski herpes virus 1 u uslovima prirodne infekcije i eksperimentalne vakcinacije“ odbranio je 2001. godine na Fakultetu veterinarske medicine u Beogradu. Objavio je više stručnih i naučnih radova. Oblast interesovanja mu je interna medicina i reprodukcija kopitara. Oženjen suprugom Slađanom sa kojom ima dve ćerke Katarinu i Teodoru.

IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKE DISERTACIJE

Ime i prezime autora: Saša Lauš

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije: 01-12/17

Naslov doktorske disertacije: Zastupljenost osnovnih frakcija serumskih proteina, imunoglobulina G i titar antitela protiv herpesvirusa 1 u novorođene ždrebadi poreklom od vakcinisanih i nevakcinisanih kobilica

Mentor: Prof. dr Dragiša Trailović

Potpisani: Saša Lauš

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji koju sam predao za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda



U Beogradu

IZJAVA O AUTORSTVU

Potpisani: Saša Lauš

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije: 01-12/17

Izjavljujem

Da je moja doktorska disertacija pod naslovom “Zastupljenost osnovnih frakcija serumskih proteina, imunoglobulina G i titar antitela protiv herpesvirusa 1 u novorođene ždrebadi poreklom od vakcinisanih i nevakcinisanih kobilu”

- Rezultat sopstvenog istraživačkog rada
- Da predložena doktorska disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova
- Da su rezultati korektno navedeni i
- Da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica

Potpis doktoranda



U Beogradu

IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod nazivom “Zastupljenost osnovnih frakcija serumskih proteina, imunoglobulina G i titar antitela protiv herpesvirusa 1 u novorođene ždrebadi poreklom od vakcinisanih i nevakcinisanih kobila“ koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio

1. Autorstvo
2. Autorstvo nekomercijalno
3. Autorstvo nekomercijalno bez prerade
4. Autorstvo nekomercijalno deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo bez prerade
6. Autorstvo deliti pod istim uslovima

Potpis doktoranda



U Beogradu