

Witkowski M., Max A., Giziński S., Zając S. • Division of Animal Reproduction, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University.

Passive immunity in domestic mammals comes *via* colostrum with its high concentration of immunoglobulins and the pervious intestinal epithelium of the neonate. Epitheliochorial placenta in mares makes a barrier separating well maternal and fetal blood. If the passive immunity is not acquired, the newborn presents life-threatening immune deficit. Here causes and treatment of most common defects of passive immunity in foals are presented. Possibilities and protocols of treating this condition in foals by colostrum and plasma administration are described.

It may happen however, that during parturition red blood cells (RBC) of the offspring enter the maternal circulation. It may result in the production of antibodies, if some RBC antigens were different from the dam. A subsequent pregnancy from the same mating in which the foal of the same blood group is produced will result in hemolytic anemia in the newborn when maternal antibodies are transferred in colostrum. Diagnosis and treatment of isoerythrolysis and other immune disorders in foals are also presented.

Keywords: foals, passive immunity disorders, treatment, isoerythrolysis.

Żrebię rodzi się immunokompetentne, czyli zdolne do odpowiedzi immunologicznej. Odporność wrodzona zaczyna kształtować się już w wczesnym okresie życia płodowego. Limfocyty T pojawiają się w grasiwo od 80 dnia ciąży, w 140 dniu ciąży znaj-

Status immunologiczny źrebięcia

Maciej Witkowski, Andrzej Max, Sławomir Giziński, Sylwester Zając

z Zakładu Rozrodu Zwierząt Katedry Nauk Klinicznych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

dują się w krwiobiegu płodu, a około 200 dnia ciąży w śledzionie. Tuż po porodzie liczba limfocytów B stanowi jednak zaledwie 1/3 liczby tych komórek w jednostce krwi u zwierzęcia dorosłego, mniejsza jest również sprawność limfocytów T, neutrofilów oraz aktywność układu dopełniacza. Nowo narodzone źrebię pozbawione jest odporności swoistej w stosunku do antygenów występujących w środowisku zewnętrznym i ma bardzo niski poziom immunoglobulin we krwi (2–170 mg/dl IgG). Przyczyną takiego stanu jest budowa łożyska klaczy (łożysko nabłonkowo-kosmówkowe – *placenta epitheliochorialis*), nie pozwalająca na przechodzenie tak dużych cząsteczek, jakimi są immunoglobuliny. Czynna odporność swoista u źrebięcia zaczyna kształtować się w 2–4 tygodniu życia i proces ten ulega zakończeniu u 5–6-miesięcznego zwierzęcia (1, 2, 3, 4, 5, 6).

Z wymienionych względów przyswajanie immunoglobulin z siary matki staje się warunkiem koniecznym do uzyskania odporności swoistej, chroniącej źrebię w pierwszych tygodniach życia. Wchłanianie przez źrebię immunoglobulin znajdujących się w siarze odbywa się na drodze transportu biernego przez nabłonek jelit.

Bierny transport immunoglobulin siary z jelit i jego zaburzenia

Wchłanianie immunoglobulin u noworodka odbywa się w jelicie cienkim na drodze pinocytozy (3). Proces ten przebiega najintensywniej w okresie od 3 do 6 godzin po porodzie, następnie jego efektywność stopniowo maleje, utrzymując się jednak na poziomie pozwalającym na przyswajanie potrzebnych ilości immunoglobulin do około 12–16 godzin po porodzie. Później immunoglobuliny wchłaniane są w znikomej ilości, a pomiędzy 24 a 36 godziną po porodzie dochodzi do całkowitego zaniku zdolności przenikania przez jelita. Stężenie immunoglobulin we krwi źrebięcia zaczyna wzrastać po 3–6 godzinach od pierwszego spożycia siary i osiąga najwyższe wartości w wieku 24–48 godzin (6, 7). Wynika z tego, że źrebię powinno spożyć po raz pierwszy siarę do 3–4 godzin po porodzie. Wielce istotne jest, aby przyswajane biernie przeciwciała były skierowane przeciw czynnikom zakaźnym występującym w środowisku, w którym znajduje się noworodek. Z tego względu klacz nie powinna zmieniać miejsca swojego postoju w ostatnim miesiącu przed porodem, co pozwoli jej na wytworzenie swoistych przeciwciał, które następnie przenikają do siary.

Wszelkie opóźnienia w pobraniu siary czy też przyswajanie immunoglobulin przez źrebię w zbyt małej ilości określane są mianem zaburzeń transportu biernego i stanowią zagrożenie dla zdrowia i życia noworodka.

Zaburzenia transportu biernego immunoglobulin mogą wynikać ze złej jakości siary, zaburzeń wchłaniania Ig na poziomie jelitowym lub niemożnością spożycia siary przez źrebię, a więc mogą leżeć zarówno po stronie noworodka, np. brak odruchu ssania, zespół słabego źrebięcia, wady fizyczne uniemożliwiające ssanie lub stanie, zaburzenia ogólnoustrojowe, jak też po stronie matki – klacz nie dopuszcza do siebie źrebięcia, nie produkuje siary lub produkuje siarę o nieprawidłowym składzie (5).

Ciężar właściwy siary (łatwy do ustalenia za pomocą odpowiedniego siaromierza) skorelowany jest wprost proporcjonalnie z zawartością immunoglobulin i tuż po porodzie przed pierwszym ssaniem nie powinien być mniejszy niż 1060 g/l, a siara powinna zawierać minimum 3000 mg IgG/dl (7, 8). Siara o mniejszym ciężarze właściwym powinna być traktowana jako niepełnowartościowa i w takim przypadku źrebię powinno zostać dokarmione pełnowartościową siarą pochodzącą z banku siary (zamrożona siara klaczy może być przechowywana do 3 lat).

Z nieprawidłowym składem siary można mieć do czynienia w przypadku, gdy laktacja wystąpi zbyt wcześnie (wśród najczęstszych przyczyn wymienia się zapalenie i odklejenie łożyska oraz ciężką bliźniaczą) lub zbyt późno (brak przygotowania gruczołu mlekowego) w stosunku do terminu porodu (5, 8).

Ocena stężenia immunoglobulin u źrebiąt

Właściwa ocena aktualnego statusu immunologicznego źrebięcia jest możliwa na podstawie oznaczania poziomu IgG w surowicy. Ze względu na czas, jaki potrzebny jest do wchłonięcia immunoglobulin do krwi, najkorzystniejszym momentem do oznaczenia ich stężenia jest 18–24 godzina życia. W tym okresie, za w pełni zadowalające stężenie IgG w surowicy, przyjmuje się wartości od 800 mg/dl. W przypadkach źrebiąt chorych, w złym stanie ogólnym, należy bardzo szybko zdecydować, czy muszą one otrzymać w celach leczniczych surowicę końską. Z tego powodu często wykonuje się wczesny test na zawartość immunoglobulin w surowicy krwi między 8 a 12 godziną po urodzeniu. Ze względu na to, że immunoglobuliny zawarte w sianie potrzebują czasu, by przeniknąć do krążenia ich stężenie w tym okresie nie osiąga jeszcze wartości maksy-

malnych, przyjmuje się jednak, że surowica źrebięcia powinna wtedy zawierać co najmniej 200–400 mg IgG/dl, podczas gdy mniejsza ich zawartość świadczy o zaburzeniach wchłaniania (5, 7). W przypadku, kiedy przyczyny upośledzenia transportu biernego nie wynikają ze złej jakości siary lub niemożności jej spożycia przez źrebię lub gdy jest ono starsze niż 12–14 godzin i nie może już przyswoić zadowalającej ilości immunoglobulin drogą pokarmową, należy rozważyć konieczność podania surowicy.

Prezyzyjne pomiary zawartości immunoglobulin w surowicy krwi przeprowadzają specjalistyczne laboratoria, dostępne są jednak na rynku testy jakościowe, pozwalające na szybką przybliżoną ocenę surowicy. W warunkach terenowych, we własnym zakresie łatwo można wykonać próbę zmętnieniową z siarczanem cynku, pozwalającą na ocenę jakościową surowicy pod względem zawartości immunoglobulin (5, 7).

W celu przygotowania potrzebnego roztworu należy 250 mg siarczanu cynku rozpuścić w 1 l przegotowanej wody destylowanej. Tak otrzymany roztwór powinien być przechowywany w naczyniu bez dostępu powietrza np. w probówkach próżniowych. Przeprowadzając test miesza się 6 ml roztworu siarczanu cynku z 0,1 ml badanej surowicy i pozostawia w temperaturze pokojowej na około 1 godz. Po tym czasie obserwujemy zmętnienie (precypitat), które jest wprost proporcjonalne do zawartości immunoglobulin. Próbę kontrolną stanowić może surowica klaczy. Przyjmuje się, że zmętnienie uniemożliwiające przeczytanie druku w gazecie przez probówkę, w której znajduje się testowana surowica z roztworem siarczanu cynku, świadczy o zawartości immunoglobulin większej niż 400 mg/dl.

Postępowanie ze źrebiętami hipogammaglobulinemicznymi

Wykorzystanie banku siary

W każdym przypadku, kiedy mamy do czynienia z upośledzeniem transportu biernego nie wynikającym z braku zdolności wchłaniania immunoglobulin (jak wspomniano wcześniej zdolność wchłaniania limituje wiek źrebięcia, do 12–16 godzin po urodzeniu) źrebię powinno być karmione zgodnie z następującymi zasadami (5, 7):

- jeżeli nie pobrało siary lub pojone było siarą o ciężarze właściwym <1050 g/l, należy mu podać od 1 do 2 l pełnowartościowej siary w porcjach po 200–300 ml,
- jeżeli pobrało siarę o ciężarze właściwym <1060 g/l, zaleca się dodatkowo podać około 0,5 l pełnowartościowej siary.

Zastosowanie surowicy końskiej

Stężenie IgG w surowicy krwi <200 mg/dl u źrebięcia w wieku 18–24 godzin świadczy o całkowitym braku transportu biernego i traktowane jest jako bezwzględne wskazanie do leczenia surowicą. Przy zawartości IgG między 200 a 400 mg/dl podanie surowicy zaleca się w zależności od występowania innych czynników ryzyka. Zawartość IgG w surowicy krwi w zakresie od 400 do 800 mg/dl jest do zaakceptowania u źrebięcia nie wykazującego objawów chorobowych, jednak wymaga ono częstej kontroli stanu zdrowia.

Surowica stosowana w celach terapeutycznych może pochodzić ze źródeł komercyjnych lub może zostać pozyskana od dawcy. Najlepiej, gdy dawca pochodzi z tej samej stajni i pozbawiony jest przeciwciał przeciwko antygenom erytrocytarnym A, Q oraz C, aby nie uniknąć ryzyka wystąpienia izoerytrolizy. W przypadku braku możliwości wykonania odpowiednich testów, jako dawcę wybiera się młodą klacz, która wcześniej nie rodziła, wałacha lub kuca szetlandzkiego. Potencjalny dawca nie może mieć w swojej historii przetaczanej krwi. Krew od dawcy pobieramy do specjalnych woreczków z antykoagulantem. Surowicę uzebrkuje się przez filtrowanie i sedymentację lub wirowanie krwi (pierwsza z wymienionych metod jest najlepsza, ponieważ uzyskana surowica nie jest zanieczyszczona krwinkami). Surowica może do 24 godzin być przechowywana w lodówce lub do 3 lat w stanie zamrożonym. W przypadku źrebiąt w wieku do 14 godzin można surowicę podawać doustnie, jednak metoda ta jest stosunkowo mało wydajna z powodu znacznie niższego stężenia IgG w surowicy niż w sianie. Metoda ta ze zrozumiałych względów nie ma również sensu w przypadku podejrzenia, że zaburzenia transportu biernego występują w jelitach. We wlewie dożylnym podaje się zwykle od 1 do 2 l surowicy, a u źrebiąt z posocznicą w ciężkim stanie – nawet do 6 l. Pierwszy litr u źrebięcia o masie ciała 45 kg można podać w ciągu 15 minut, a szybkość dalszego wlewu nie powinna przekraczać 1 l surowicy na godzinę. W przypadku zaobserwowania u przyspięszzonego tętna, zwiększenia liczby oddechów lub pocenia się wlew należy przerwać na około 10–15 minut, po czym wznowić. W przypadku ostrej reakcji wstrząsowej poleca się podanie prednizonu (100–200 mg) oraz leków przeciwhistaminowych (5, 7).

Wrodzone defekty immunologiczne

Oprócz występujących na różnym poziomie zaburzeń w przyswajaniu immunoglobulin siary nieprawidłowy status immunologiczny źrebięcia może również wynikać z defektów wrodzonych. Spośród zaburzeń tego typu opisywane są:

- ciężki złożony niedobór immunologiczny występujący u źrebiąt czystej krwi arabskiej oraz rasy appaloosa (9, 10),
- selektywny niedobór IgM (11),
- pierwotna agammaglobulinemia źrebiąt (12),
- przemijająca hipogammaglobulinemia (13).

Ciężki złożony niedobór immunologiczny występuje u źrebiąt czystej krwi oraz półkrwi arabskiej, natomiast pierwotna agammaglobulinemia dotyczy wyłącznie źrebiąt pełnej krwi. Choroby te dziedziczne są jako autosomalne cechy recesywne. Tło dwóch pozostałych defektów immunologicznych występujących u wszystkich ras koni, pozostaje niewyjaśnione, jednak podejrzewa się, że i w tych przypadkach dużą rolę odgrywają uwarunkowania genetyczne. Istotą wspomnianych defektów jest wrodzony niedobór immunoglobulin lub w przypadku złożonego niedoboru immunologicznego źrebiąt arabskich zarówno odporności humoralnej, jak i komórkowej. Objawy tych defektów występują w różnym czasie po urodzeniu w zależności od typu zaburzenia jakie wywołują.

Izoerytroliza noworodków

Izoerytroliza, czyli niedokrwistość hemolityczna, występuje u źrebiąt jako konsekwencja spożycia siary matki zawierającej przeciwciała skierowane przeciwko antygenom erytrocytarnym źrebięcia odziedziczonym po jego ojcu. Niedokrwistość ta jest typową reakcją nadwrażliwości typu II (cytotoksyczna), prowadzącą do niszczenia erytrocytów źrebięcia. W 90% przypadków dotyczy to antygenów erytrocytarnych Aa i Qa lub antygeny RBC występującego wyłącznie u osłów, a więc stwarzającego zagrożenie u każdej klaczy pokrytej osłem.

Aby doszło do konfliktu serologicznego prowadzącego do izoerytrolizy, muszą zaistnieć określone okoliczności. Klacz-matka musi być pozbawiona antygenów Aa i Qa, a źrebię odziedziczyć te antygeny po ogierze. Do wytwarzania przez klacz przeciwciał przeciwko tym antygenom erytrocytarnym dochodzi wówczas, gdy jakiś czas przed porodem dostaną się one do jej krążenia. Może do tego dojść podczas wcześniejszych porodów, w następstwie uszkodzeń łożyska umożliwiających mieszanie się krwi matki i płodu lub na drodze transfuzji krwi. Z wymienionych powodów ryzyko wystąpienia izoerytrolizy u źrebiąt pochodzących od wieloródek jest znacznie większe niż w przypadku pierworódki.

Najwyższe miano przeciwciał, a co za tym idzie ryzyko ostrego przebiegu izoerytrolizy, występuje u klaczy wcześniej uczulonych, które tuż przed porodem mają ponownie kontakt z wymienionymi antygenami erytrocytów. Wytworzo-

ne przeciwciała w organizmie źrebięcia opłaszczają jego erytrocyty, co po aktywacji dopełniacza doprowadza do ich lizy lub eliminacji przez makrofagi.

Ponieważ budowa łożyska klaczy umożliwia przechodzenie przeciwciał do krążenia płodu, źrebię bezpośrednio po urodzeniu jest zdrowe, a pierwsze objawy choroby pojawiają się najwcześniej kilka lub kilkanaście godzin po spożyciu siary (najczęściej 24–36 godziny). Źrebię staje się osłabione i osowiałe, błony śluzowe są blade, w późniejszym okresie mogą być zażółcone. Ze względu na rozpad krwinek, powodujący upośledzenie transportu tlenu, obserwuje się tachykardię i przyspieszony, płytki oddech, czasem ziewanie. W ostrym przebiegu choroby mogą występować drgawki i śpiączka prowadząca do śmierci. Przy przebiegu nadostrym może dojść do wstrząsu (zwykle 8–9 godzin po porodzie). Z oczywistych względów, im później po spożyciu siary wystąpią pierwsze objawy, tym przebieg choroby jest łagodniejszy, a rokowanie lepsze. W badaniach laboratoryjnych stwierdza się niedokrwistość, obniżenie hematokrytu, czasem hiperbilirubinemię, hiperkaliemię oraz hemoglobinurię. Izoerytrolizie często towarzyszą kwasica oraz hipoglikemia. W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić krwotoki wewnętrzne, trombocytopenię, wrodzone zaburzenia krzepnięcia krwi, zespół krzepnięcia wewnątrznaczyniowego oraz zakażenia ogólnoustrojowe.

Leczenie polega przede wszystkim na wstrzymaniu podawania siary oraz zapewnieniu źrebięciu optymalnych warunków bytowania, w tym właściwej temperatury otoczenia. Wstrzymanie podawania siary klaczy źrebięciu jest bezdyskusyjne w przypadku ostrego przebiegu objawów klinicznych pojawiających się w kilkanaście godzin po pierwszym karmieniu. W przypadkach, które ujawniają się po kilkudziesięciu godzinach skuteczność tej metody jest problematyczna, ponieważ zawartość immunoglobulin w sianie w tym okresie drastycznie spada, a możliwość przyswajania jest minimalna. Stosuje się też osłonę antybiotykową, a w ciężkich przypadkach należy rozważyć podanie tlenu. W przypadku, gdy liczba erytrocytów spada poniżej $3 \times 10^6/\mu\text{l}$, a hematokryt poniżej 0,15 l/l lub zawartość hemoglobiny jest niższa niż 5g/dl, istnieje wskazanie do przetoczenia krwi w ilości od 1 do 4 l. Najlepiej jednak dokonać przetoczenia erytrocytów matki przepłukanych kilkakrotnie roztworem fizjologicznym, gdyż konieczne jest usunięcie przeciwciał znajdujących się w surowicy klaczy.

Podstawą zapobiegania niedokrwistości hemolitycznej źrebiąt jest identyfikacja klaczy, które w przeszłości miały źrebięta dotknięte izoerytrolizą oraz klaczy nie posiadających antygenów erytrocytarnych Aa oraz

Qa. Klacze te powinny być kojarzone tylko z ogierami wolnymi od antygenów Aa oraz Qa, a jeśli ten warunek nie zostanie spełniony, źrebię nie może być karmione siarą matki do 36 godzin po porodzie. Alternatywnie, na 2–3 tygodnie przed wyźrebieniem można u klaczy wykonać testy wykrywające obecność przeciwciał antyerytrocytarnych przeciw antygenom Aa oraz Qa. Wykonywanie takich badań wcześniej może być mało miarodajne ze względu na niewykrywalne w tym czasie miano przeciwciał. W warunkach terenowych przed pierwszym podaniem siary można wykonać badanie, w celu sprawdzenia czy aglutynuje ona erytrocyty źrebięcia (jaundice foal agglutination test; 5). Problem izoerytrolizy nie dotyczy noworodków pochodzących od klaczy pierworódek, które nie miały możliwości wytworzenia przeciwciał przeciw wymienionym antygenom, gdyż nie miały wcześniej kontaktu z takimi erytrocytami (w czasie ciąży i porodu lub przetoczenie krwi; 5, 7, 9, 14, 15, 16, 17).

Piśmiennictwo

1. Perryman L.E.: Immunological management of young foals. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1981, 3, 223–227.
2. Jeffcott L.B.: Studies of passive immunity in the foal. *J. Comp. Pathol.* 1974, 84, 93–98.
3. Jeffcott L.B.: Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biol. Rev.* 1972, 47, 439–443.
4. McGuire T.C., Crawford T.B.: Passive immunity in the foal. *Am. J. Vet. Res.* 1973, 34, 1299–1303.
5. Koterba A.M.: *Equine Clinical Neonatology*. Lea & Febiger, Philadelphia 1990.
6. Warko G., Bostedt H.: Gehalt an IgG in peripheralen Blutplasma bei Fohlen waehrend und nach dem Geburt. *Tierarztl.Prax.* 1993, 21, 528–530.
7. Madigan J.E.: *Manual of Equine Neonatal Medicine*. 2nd ed., Live Oak Publishing, Woodland 1994, s. 128.
8. Le Blanc M.M., Mc Laurin B.I., Boswell R.: Relationship among serum immunoglobulin concentration in foals, colostral specific gravity and colostral immunoglobulin concentration. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986, 189, 57–61.
9. McGuire, T.C., Poppie M.J., Banks K.L.: Combined (B- and T-lymphocyte) immunodeficiency: A fatal genetic disease in Arabian foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1974, 164, 70–76.
10. Perryman L.E., Boreson C.R., Conaway M.W., Bartsch R.C.: Combined immunodeficiency in Appaloosa foal. *Vet. Path.* 1984, 21, 547–548.
11. Perryman L.E., McGuire T.C., Hilbert B.J.: Selective immunoglobulin M deficiency in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1977, 170, 212–215.
12. Banks K.L., McGuire T.C., Jerrels T.R.: Absence of B lymphocytes in a horse with primary agammaglobulinemia. *Clin. Immunol. Immunopath.* 1976, 5, 282–290.
13. McGuire T.C., Poppie M.J., Banks K.L.: Hypogammaglobulinemia predisposing to infection in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1975, 166, 71–75.
14. Bailey E., Conboy S., McCarthy P.F.: Neonatal isoerythrolysis of foals: an update on testing. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.* 1987, 123, 341–353.
15. Walser K., Bostedt H.: *Neugeborenen – und Sauglingskunde der Tiere*. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1990.
16. Bailey E., Albright D.G., Henney P.J.: Equine neonatal isoerythrolysis: evidence for prevention by maternal antibodies to Ca blood group antigen. *Am. J. Vet. Res.* 1988, 8, 1218–1222.
17. Zaruby J.E., Hearn P., Colling D.: Neonatal isoerythrolysis in foal involving anti – Ca alloantibody. *Equine Vet. J.* 1992, 24, 71–76.

Dr M. Witkowski, Katedra Nauk Klinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa