

Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola



**A tejhasznú szarvasmarhák redox-státusza, energia
forgalma, egészségi állapota és teljesítménye közötti
összefüggések vizsgálata alternatív állomány-egészségügyi
monitor-rendszerek fejlesztése céljából**

PhD értekezés

Hejel Péter

2021

Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskola

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....

Dr. habil. Könyves László Péter témavezető

egyetemi docens, Ph.D

Állatorvostudományi Egyetem, Állathigiéniai, Állomány-egészségtani Tanszék és
Mobilklinika

.....

Dr. Brydl Endre

professzor emeritus, CSc

Állatorvostudományi Egyetem, Állathigiéniai, Állomány-egészségtani Tanszék és
Mobilklinika

Készült 8 példányban. Ez azsz példány.

.....

Hejel Péter

Tartalom

1	BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK	12
1.1	BEVEZETÉS	12
1.2	CÉLKITŰZÉSEK.....	15
2	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	16
2.1	A SZABADGYÖKÖK, AZ ANTIOXIDÁNSOK ÉS AZ OXIDATÍV STRESSZ	16
2.2	AZ OXIDATÍV STRESSZ ÉS AZ EGYES ÉLETTANI ÉS KÖRNYEZETI HATÁSOK KAPCSOLATA TEJELŐ SZARVASMARHÁKBAN.....	19
2.3	A TEHENEK FERTILITÁSA ÉS A REDOX STÁTUSZ KAPCSOLATA	21
2.4	AZ ÚJSZÜLÖTT ÁLLATOK EGÉSZSÉGE, A TEJTÁPLÁLÁS IDŐSZAKA ÉS A SZERVEZET REDOX STÁTUSZA KÖZÖTTI ÖSSZEFÜGGÉSEK	23
2.5	A VÁLASZTÁS ÉS A VÁLASZTÁS UTÁNI IDŐSZAK HATÁSA AZ ÁLLATOK REDOX STÁTUSZÁRA.....	25
2.6	A VÁLASZTÁS KÖRÜLI IDŐSZAK SIKERÉT BEFOLYÁSOLÓ KÖRNYEZETHIGIÉNIAI TÉNYEZŐK	25
2.7	A LEGGYAKORIBB BORJÚKORI MEGBETEGEDÉSEK ÉS A REDOX STÁTUSZ KAPCSOLATA.....	27
2.8	AZ ANTIOXIDÁNS VÉDELEM MEGERŐSÍTÉSÉNEK JELENTŐSÉGE ÉS ANNAK VÉGREHAJTÁSA.....	27
2.9	AZ OXIDATÍV STRESSZ KIMUTATÁSÁRA LEGGYAKRABBAN ALKALMAZOTT BIOMARKEREK	29
2.10	A FRAS-4 BERENDEZÉS, MINT EGY LEHETSÉGES ÁLLOMÁNYMONITORING ESZKÖZ	32
2.10.1	A DROM TESZT	33
2.10.2	A PLAZMA ANTIOXIDÁNS TESZT (PAT)	33
2.10.3	AZ OXIDATÍV STRESSZ INDEX (OSI) KISZÁMÍTÁSA	34
2.10.4	A FRAS4 ALKALMAZÁSA OS VIZSGÁLATÁRA TEJELŐTEHÉN-ÁLLOMÁNYOKBAN	34
2.11	A REFERENCIAÉRTÉK TARTOMÁNY SZÁMÍTÁS	35
3	SAJÁT VIZSGÁLATOK	36
3.1	ELSŐ VIZSGÁLAT.....	36
3.1.1	VIZSGÁLAT MEGNEVEZÉSE	36
3.1.2	A VIZSGÁLAT ELVÉGZÉSÉNEK INDOKLÁSA	36
3.1.3	ANYAG ÉS MÓDSZER	36
3.1.4	EREDMÉNYEK	38
3.1.5	MEGVITATÁS.....	41
3.2	MÁSODIK VIZSGÁLAT	45
3.2.1	A VIZSGÁLAT MEGNEVEZÉSE.....	45
3.2.2	A VIZSGÁLAT ELVÉGZÉSÉNEK INDOKLÁSA	45

3.2.3	ANYAG ÉS MÓDSZER	45
3.2.4	EREDMÉNYEK	47
3.2.5	MEGVITATÁS.....	52
3.3	HARMADIK VIZSGÁLAT.....	56
3.3.1	A VIZSGÁLAT MEGNEVEZÉSE.....	56
3.3.2	A VIZSGÁLAT ELVÉGZÉSÉNEK INDOKLÁSA	57
3.3.3	ANYAG ÉS MÓDSZER	57
3.3.4	EREDMÉNYEK.....	58
3.3.5	MEGVITATÁS.....	61
3.4	NEGYEDIK VIZSGÁLAT	63
3.4.1	A VIZSGÁLAT MEGNEVEZÉSE.....	63
3.4.2	A VIZSGÁLAT ELVÉGZÉSÉNEK INDOKLÁSA	63
3.4.3	ANYAG ÉS MÓDSZER	63
3.4.4	EREDMÉNYEK	70
3.4.5	MEGVITATÁS.....	85
4	<u>ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK</u>	<u>91</u>
5	<u>IRODALOMJEGYZÉK</u>	<u>92</u>
6	<u>SAJÁT KÖZLEMÉNYEK.....</u>	<u>108</u>
6.1	A DOLGOZAT TÉMÁJÁBAN, REFERÁLT LAPOKBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK	108
6.2	A DOLGOZAT TÉMÁJÁBAN TARTOTT ELŐADÁSOK	108
6.3	NEM A DOLGOZAT TÉMÁJÁBAN, REFERÁLT LAPOKBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK.....	109
7	<u>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</u>	<u>110</u>
8	<u>MELLÉKLETEK.....</u>	<u>112</u>

Rövidítések jegyzéke

Rövid név	Jelentés
8-OGdG	8-hidroxi-2'-deoxiguanozin
AAPH	2,2'-azobis (2-amidinopropán) dihidroklorid
ALB	albumin
AOPP	előrehaladott fehérje oxidációs termékek (advanced oxidised protein products)
AO	antioxidáns (antioxidant)
AST	aszpartát-aminotranszferáz enzim
ASVCP	Amerikai Állatorvosi Klinikai Patológiai Társaság (American Society for Veterinary Clinical Pathology)
BHB	béta-hidroxivajsav (beta-hydroxybutyrate)
BHB_{Tej}	béta-hidroxivajsav a tejben
BHB_{Vér}	béta-hidroxivajsav a vérben
BRDC	szarvasmarhák komplex légzőszervi tünetegyüttese (bovine respiratory disease complex)
Brix%	A refraktométerrel mért Brix fok vagy cukorfok az oldatok cukortartalmának hagyományos mértékegysége, amellyel szoros korrelációt mutat a kolosztrum IgG tartalma
BUN	vérkarbamid (blood urea nitrogen)
CAT	kataláz enzim
CFU	telepképző egység (colony forming unit)
CHE	kolinészteráz
DNS	dezoxi-ribonukleinsav
DBL	direkt bilirubin
dROM	reaktív oxigén metabolitok derivátumai (derivates of reactive oxygen metabolites)
FRAP	a plazma vasredukciós képessége (ferric reducing ability of plasma)
FRAS	Szabadgyök Analitikai Rendszer (Free Radical Analytical System)
GLU	glükóz
GPx	glutation-peroxidáz enzim
GR	glutation-reduktáz enzim
GSH	glutation
GSSG	glutation-diszulfid
GST	glutation-S-transzferáz
H₂O₂	hidrogén-peroxid
HGBA1	hemoglobin-A1
HO₂	hidroperoxil

ICP-OES	induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria (inductively coupled plasma optical emission spectrometry)
IFCC	Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (International Federation of Clinical Chemistry)
Ig	immunglobulinok
IGF	inzulin-szerű növekedési faktor (insulin-like growth factor)
IR	inzulinrezisztencia
NEB	negatív energiamérleg (negative energy balance)
NEFA	nem észterifikált zsírsavak (non-esterified fatty acids)
NRC	Nemzeti Kutatási Bizottság (National Research Council)
MDA	malondialdehid
OHV	oltógyomor helyzetváltozás
OR	esélyhányados (odds ratio)
OS	oxidatív stressz
OSI	oxidatív stressz index
PAT	plazma antioxidáns teszt
PGF2α	prostaglanin F2 alfa hormon
PM_{2.5}	$\leq 2,5 \mu\text{m}$ levegőben lebegő részecskék
PM₁₀	$\leq 10 \mu\text{m}$ levegőben lebegő részecskék
Redox státusz	Az oxidánsok (szabadgyökök és egyéb reaktív anyagok) illetve az antioxidáns hatású anyagok aránya az élő szervezetben.
ROM	reaktív oxigén metabolitok
ROS	reaktív oxigén származékok (reactive oxygen species)
SE	szenzitivitás
SP	specifititás
SOD	szuperoxid dizmutáz enzim
TBARS	tiobarbitursav reaktív anyagok (thiobarbituric acid reactive substances)
TBIL	összes bilirubin (total bilirubin)
THI	hőmérséklet-páratartalom index (temperature-humidity index)
TMR	teljes takarmány keverék (total mixed ration)
TNFα	tumor nekrozis faktor alfa (tumor necrosis factor alpha)
TP	összes fehérje (total protein)
TrxR	tioredoxin-reduktáz enzim
U. Carr	Carratelli egység (Carratelli unit)
U. Cor	Cornelli egység (Cornelli unit)

Összefoglalás

A doktori munkámmal olyan alternatív monitoring eljárások fejlesztéséhez kívántam hozzájárulni, amelyek alkalmasak lehetnek a tejelő szarvasmarhák energiaforgalmának és redox státuszának állományszintű, gyakorlatias vizsgálatára.

Az értekezés tejhasznú szarvasmarhákön végzett négy vizsgálat eredményeit foglalja össze.

Az első vizsgálat célja az oxidatív stressz kiváltásában meghatározó jelentőségű dekompenzált negatív energiamérleg - mint metabolikus stressztényező - jelentőségének és előfordulásának becslése volt magyarországi tejelő szarvasmarha állományokban. A szubklinikai ketózisban megnyilvánuló metabolikus stressz magas prevalenciája önmagában is indokolhatja az oxidatív stressz elleni védekezés szükségességét. Az első vizsgálatban 1669 tehén bevonásával 52 hazai nagylétszámú állományban (187-1815 tehén/állomány) megállapítottuk a ketolakciában megnyilvánuló szubklinikai ketózis előfordulását és vizsgáltuk kapcsolatát az állománymérettel, a tejtermelés színvonalával, egyes megbetegedésekkel, továbbá más a szakirodalmi adatokból ismert fontosabb hajlamosító tényezőkkel. A szubklinikai ketózis monitorozására egy, az eddigi állomány-egészségügyi gyakorlatban csak korlátozottan alkalmazott, ugyanakkor gyakorlatias alternatív módszert, a tej BHB koncentrációjának szemikvantitatív mérését választottuk, mivel az -istállópróba jelleggel - egyszerűen elvégezhető. Eredményeink alapján a ketolakcia szemikvantitatív mérése alkalmas a szarvasmarha állományokban előforduló szubklinikai ketózis prevalenciájának monitorozására. Megállapítottuk, hogy a szubklinikai ketózis prevalenciája a vizsgált mintákban 29,3% volt és a laktáció tizedik napja körül volt a legvalószínűbb az előfordulása. A ketolakcia szignifikáns, nem lineáris kapcsolatot mutatott az ellésszámmal és a 3-4. laktációban volt a legnagyobb a kialakulás esélye. Szignifikáns kapcsolatot találtunk a ketolakcia és az állományméret között, a termelési szint hatását azonban nem tudtuk kimutatni. A ketolakcia szignifikáns összefüggést mutatott az ikerelléssel, a nehéz elléssel, a vetéléssel, a magzatburok-visszamaradással és a tőgygyulladás kialakulásával.

Második vizsgálatunkban azt kutattuk, hogy a tejelő szarvasmarhák egyes jól elkülöníthető élettani és termelési szakaszaiban - úgymint az előkészítés (ellés -21 nap), az ellés (ellés+7 nap), a fogadó (7-30. nap) és a csúcstermelés (30-150. nap) időszakában - miként változik azok redox státusza. Vizsgálatainkhoz a FRAS4 Evolve (H and D s.r.l., Parma, Olaszország) készüléket használtuk, amely alkalmas vérből a reaktív oxigén metabolitok derivátumainak (dROM) és a plazma antioxidáns kapacitásának (PAT) mérésére. Ebből a két változóból

kiszámítható az oxidatív stressz index (OSI), ami pontosabban leírja a szervezet redox egyensúlyi állapotát.

Megállapítottuk, hogy ezen változók normál eloszlást mutattak, így az átlag $\pm 2SD$ képlettel meghatároztuk a vizsgált élettani szakaszokra vonatkozó dROM, PAT és OSI normálértékeket. Eredményeink alapján a dROM és OSI emelkedett értékei az ellés körüli napokban fordultak elő a leggyakrabban. Megállapítottuk, hogy a vérplazma dROM értéke szignifikánsan magasabb volt a vérplazma $>0,2$ mmol/l NEFA és $>18,9$ $\mu\text{mol/l}$ Cu koncentrációja mellett. A plazma PAT szignifikánsan magasabb értéket mutatott a vérplazma $>0,8$ mmol/l BHB és $>18,9$ $\mu\text{mol/l}$ Cu koncentrációja továbbá >80 U/l AST enzimaktivitási értéke mellett. Ugyanakkor a $<5,6$ $\mu\text{mol/l}$ vérplazma összkarotin koncentráció szignifikánsan alacsonyabb PAT értékekkel társult. Az OSI értéke szignifikánsan magasabb volt a vérplazma $>0,2$ mmol/l NEFA, $>0,8$ mmol/l BHB és $>18,9$ $\mu\text{mol/l}$ Cu koncentrációja mellett.

A harmadik vizsgálatban felmértük a borjak redox státuszában bekövetkező változásokat az itatásos borjúnevelés időszakában, 3-8; 14-16; 21-25 és 42-74 napos életkorban. Elemeztük továbbá a vizsgált redox (dROM, PAT, OSI) és egyes metabolikus (ALB, TP, BUN, GLU, BHB, AST) változók közötti kapcsolatot. A dROM átlagos értéke 3-8 napos korban volt a legalacsonyabb és 42-74 napos korban a legmagasabb. A PAT értékei a 3-8 napos kortól a 21-25 napos korig csökkenő tendenciát mutattak, majd 42-74 napos korban ismét megemelkedtek és szignifikánsan meghaladták a 3-8 napos korban mért értékeket. Az OSI átlagos értéke 3-8 napos korban volt a legalacsonyabb és 21-25 napos korban a legmagasabb, majd 42-74 napos korban ismét csökkent. A vizsgált metabolikus változókat illetően a dROM értéke közepes erősségű szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a vérplazma ALB ($r= 0,48$) és gyenge korrelációt a TP ($r= 0,31$) koncentrációjával. A PAT gyenge szignifikáns pozitív korrelációban volt a vér AST enzimaktivitási értékével ($r= 0,31$), BHB ($r= 0,31$), BUN ($r= 0,21$), ALB ($r= 0,26$) és TP ($r= 0,37$) koncentrációjával. Az OSI gyenge szignifikáns negatív korrelációban állt a vérplazma AST ($r= -0,30$), enzimaktivitásával és BHB ($r= -0,21$) koncentrációjával, továbbá gyenge szignifikáns pozitív kapcsolatot mutatott a plazma ALB ($r= 0,31$) értékével.

A negyedik vizsgálatban a választásig azonos, majd a választást követően eltérő környezeti feltételek között tartott borjak, testtömeg gyarodását, egészségi állapotát és redox státuszát jellemző változásokat kutattuk. A kísérleti csoport borjai ($n=12$) 2 kiscsoportos, fedett kifutós műanyag borjúházban, a kontroll ($n=16$) csoport állatai pedig egy csoportban, hagyományos borjúnevelő istállóban lettek elhelyezve. Vizsgáltuk, hogy az egyes lényeges környezeti tényezők (hőmérséklet, relatív páratartalom, levegő CO_2 koncentráció, $\text{PM}_{2,5}$ - PM_{10} frakcióba

tartozó lebegő részecske és élőcsíra tartalom) mennyiben térnek el az eltérő tartástechnológiai környezetben. Az állatok egészségi állapotát kétnaponként végzett klinikai vizsgálatokkal és a vér fehérvérsejt számának meghatározásával követtük nyomon. A maternális immunstátusz jellemzésére mértük a vérszérum Brix% értékét. A redox státuszt a vér dROM, PAT és OSI értékének meghatározásával jellemeztük.

A környezeti változók közül a választást követően a kísérleti csoport tarási környezetében mért paraméterek közül a levegő CO₂ koncentrációja, a PM_{2,5}-PM₁₀ frakcióba tartozó lebegő részecskék mennyisége és a relatív páratartalom szignifikánsan alacsonyabb, a hőmérséklet pedig szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz képest. A levegő élőcsíra tartalmában nem találtunk szignifikáns különbséget a két tartási hely között.

A borjak testtömeggyarapodási mutatói és szérum Brix% értékei nem különböztek lényegesen.

A redox paraméterek vizsgált időszakban történt változásai nem vettek fel egyértelmű irányt és a kísérleti csoportok között mért különbségek nem mutattak lényeges, jól értelmezhető eltérést, továbbá nem függték össze a lázas állapottal és a klinikai megbetegedésekkel sem. Ugyanakkor a mintavétel napján emelkedett fehérvérsejtszámmal rendelkező borjakban szignifikánsan magasabb volt a dROM és az OSI értéke.

Eredményeink alapján a ketolakciában megnyilvánuló szubklinikai ketózis előfordulása jelentős a hazai tejelő szarvasmarha állományokban. A ketolakcia szemikvantitatív kimutatásán alapuló ketózis monitoring a jelenleg alkalmazott metabolikus vizsgálatok hatékony és gyakorlatias alternatívája lehet a jövőben.

Összefüggést találtunk a negatív energiamérleget jellemző vérplazma NEFA és BHB koncentrációk, a vérplazma Cu és összkarotin koncentrációja és az általunk vizsgált redox változók között. Meghatároztuk a dROM, PAT és OSI redox változók tejelő tehének egyes élettani szakaszra vonatkozó referencia értéktartományait, továbbá adatokat nyertünk a borjak redox státuszának változásairól a tejtáplálás időszakában és a választást követően.

A dROM, PAT és OSI bioindikátorok FRAS-4 készülékkel történő meghatározása hasznos információt nyújt a tejelő tehének és borjak aktuális redox státuszáról és alkalmas módszert képvisel az oxidatív stressz gyakorlati állományegészségügyi monitoringjára és lehetővé teszi a megalapozott védekezési stratégiák kidolgozását.

Summary

The aim of the present PhD work was to contribute to the development of alternative monitoring protocols, making it possible to assess the metabolic and redox status of dairy herds in a practical way.

This work summarizes the results of four studies on dairy cattle.

The first study aimed to estimate the importance and the prevalence of decompensated negative energy balance - a decisive metabolic stress factor in the development of oxidative stress - in Hungarian dairy cow herds. A high prevalence of subclinical ketosis as a manifestation of metabolic stress may justify the need for measures against oxidative stress. In the first study, we determined the prevalence of subclinical ketosis manifesting as ketolactia (ketone bodies in milk) in 1669 cows in 52 large dairy farms (187 to 1815 cows/farm) in correlation with herd size, milk production level, specific diseases, and other predisposing factors mentioned in the literature. To monitor subclinical ketosis, we used a practical but rarely used alternative method of determining β -hydroxybutyrate in milk because this semi-quantitative test is easy to perform as a cow-side test. Based on our results, the semi-quantitative measurement of ketolactia is suitable for monitoring the prevalence of subclinical ketosis in dairy cows. We determined a prevalence of 29.3% in the tested samples, with the probability of subclinical ketosis being the highest around the 10th day of lactation. A significant, non-linear correlation was found between ketolactia and parity, with the highest probability of ketolactia developing in 3rd and 4th lactation. A significant correlation was found between ketolactia and herd size but not between ketolactia and the level of milk production. A significant correlation was shown between ketolactia and birth to twins, dystocia, abortion, retained placenta, and mastitis.

In a second study, we assessed the changes of the redox status in dairy cows at different physiological and production stages: close-up (parturition -21 days), calving and maternity (parturition +7 days), early lactation (7–30 DIM), and peak lactation (30–100 DIM). We performed the tests with the FRAS4 Evolve (H and D s.r.l., Parma, Olaszország) analytical system, which is capable of measuring derivatives of reactive oxygen metabolites (dROM) and plasma antioxidant capacity (PAT) from blood samples. The oxidative stress index (OSI) can be calculated from these values and gives a more accurate description of the cow's redox status.

The variables showed a normal distribution, so we used the formula mean \pm 2SD to determine the normal values of dROM, PAT, and OSI for the evaluated phases. According to our results, elevated dROM and OSI levels occurred most frequently during the few days around

parturition. We determined that plasma dROM levels were significantly higher when plasma levels exceeded 0.2 mmol/l for NEFA and 18.9 μ mol/l for Cu. Plasma PAT levels were significantly higher when plasma levels exceeded 0.8 mmol/l for BHB, 18.9 μ mol/l for Cu, and 80 U/l for AST. Significantly lower PAT levels were associated with total carotene concentrations lower than 5.6 μ mol/l. OSI levels were significantly higher in cases where plasma levels exceeded 0.2 mmol/l for NEFA, 0.8 mmol/l for BHB, and 18.9 μ mol/l for Cu.

In the third study, we assessed the changes of the redox status in calves in milk feeding period at the ages of days 3-8; days 14-16; days 21-25 and days 42-74. We also evaluated the relationship between the measured redox parameters (dROM, PAT, and OSI) and specific metabolic variables (ALB, TP, BUN, GLU, BHB, and AST). The mean of dROM values was lowest at the age of days 3-8 and highest at the age of days 42-74. PAT values showed a decreasing tendency between the ages of days 3-8 and days 21-25 while increasing again by the age of days 42-74 to a level significantly higher than at days 3-8. The mean OSI value was the lowest at the age of days 3-8, the highest at days 21-25, decreasing again by the age of days 42-74. Regarding the metabolic parameters, a significant positive medium strength correlation could be shown between the dROM value and plasma ALB ($r= 0.48$) and TP ($r= 0.31$) concentrations. PAT was weakly positively correlated in a significant manner with AST ($r= 0.31$), BHB ($r= 0.31$), BUN ($r= 0.21$), ALB ($r= 0.26$) and TP ($r= 0.37$) values. A weak significant negative correlation could be shown between OSI and plasma AST ($r= -0.30$) and BHB ($r= -0.21$) concentrations, as well as a weak significant positive correlation with plasma ALB ($r= 0.31$) values.

In the fourth study, calves were kept under the same environmental conditions until weaning and then were moved to different housing conditions: we evaluated weight gain, health status, and redox status of the calves. Calves in the experimental group ($n=12$) were placed in two small groups in plastic hutches with a roof covered the pen, while the control group ($n=16$) was placed in a traditional calf barn in a single group. We measured the differences in the major environmental factors (temperature, relative humidity, air CO₂ concentrations, amount of particulate matter in the PM_{2.5}-PM₁₀ fraction, and total germ count) in the two housing environments. Health status was monitored with clinical examinations, and the determination of white blood cell counts every two days. To determine maternal immunity status, we measured the Brix% values of blood sera. The redox status was characterised by dROM, PAT, and OSI values.

Of the measured parameters, air CO₂ concentrations, amount of particulate matter in the PM_{2.5}-PM₁₀ fraction, and relative humidity were significantly lower, while the temperature

was significantly higher in the environment of the experimental group compared to the control. No significant difference was observed in the total viable counts under the different housing conditions.

Weight gain and serum Brix% values did not differ significantly among the calves. No clear trend could be shown in the change of redox parameters in the studied period. The differences between the groups were not significant or clearly interpretable and were not correlated with hyperthermia or clinical disease. However, dROM values were significantly higher in calves with higher white blood cell counts on the day of sampling.

Our results indicate a high prevalence of subclinical ketosis with ketolactia in Hungarian dairy farms. In the future, ketosis monitoring based on the semi-quantitative determination of ketolactia may be an effective and practical alternative to metabolic monitoring methods used today.

We found a correlation between serum NEFA and BHB concentrations characteristic of a negative energy balance, as well as serum Cu and total carotene concentrations and the studied redox parameters. We determined the reference ranges for the redox parameters dROM, PAT, and OSI for the different production phases in dairy cows and obtained information regarding the changes in the redox status of calves during milk feeding and the period after weaning.

The determination of the bioindicators dROM, PAT, and OSI yield relevant information regarding the redox status of dairy cows and calves and is a suitable method for the herd level monitoring of oxidative stress, providing a basis for the development of targeted control strategies.

1 Bevezetés, célkitűzések

1.1 Bevezetés

A világ növekvő népességének élelmiszerigénye csak fejlett mezőgazdasági technológiákkal elégíthető ki. Az emberiség fehérjeellátásában az intenzív állattenyésztésnek jelentős szerepe van. A nagy hozamok előállítására nemesített fajták és hibridek állományai egyre érzékenyebbek a környezeti hatásokra (Bertoni és mtsai., 2010). Az optimálistól eltérő környezeti tényezők termeléseszkökenést, illetve az egészségi állapot romlását idézik elő és végsősoron hatásukra a gazdálkodás jövedelmezősége, illetve a megtermelt élelmiszerek minősége jelentősen romlik (Sejian és mtsai., 2012).

A korszerű állomány-egészségügyi gondozás preventív szemléletet igényel (Mulligan és Doherty, 2008). Az már jól ismert, hogy a kedvezőtlen hatású környezeti tényezők előfordulását minél inkább mérsékelni kell. Fontos viszont a még nem ismert, vagy az állományban újonnan megjelenő kockázati tényezők minél korábbi azonosítása, a veszélyek mérséklése, illetve megszüntetése. A környezeti hatások jó része mérésekkel objektíven meghatározható, azok hatását azonban az állatok környezeti hatás-változásokra adott reakcióinak ismeretében lehet igazán értékelni. Ezeket már abban a korai fázisban célszerű felismerni, amikor még nem idéznek elő irreverzibilis negatív változásokat az állati szervezetben. A korai felismerés klinikai tünetek híján egyrészt az állományok termelésre és egészségi állapotra utaló adatainak folyamatos nyomon követésén keresztül, másrészt a szervezetben bekövetkező változásokat megfelelően érzékeny és specifikus módon jelző biomarkerek mérésén keresztül lehetséges (Wisnieski és mtsai., 2019). Az intenzíven tartott tejtermelő tehénállományok hozamai - elsősorban tejtermelésük -, generációról-generációra jelentős növekedést mutat (Mulligan és Doherty, 2008). Az állatok szervezetét leginkább az ellés körüli időszak és maga az ellés terheli meg, amikor a vemhesség utolsó harmadában a magzat növekedése felgyorsul, illetve megindul a tejszekréció, az ellés után pedig elkezdődik a nagy mennyiségű tej termelése. Ennek következtében csaknem kétszeresére emelkedik a szervezet energiaigénye. Az állatok energiaforgalmára ebben az időszakban az ún. negatív energiamérleg (**NEB**) jellemző, ami a kompenzációs élettani folyamatok ellenére rövidebb-hosszabb ideig érvényesül a laktáció elején (Gumen és mtsai., 2011, Wisnieski és mtsai., 2019).

A kompenzáció a szervezet energiatermelő folyamatainak intenzívebbé válásában, majd ezt követően a lipogenezis-lipolízis egyensúly lebontási irányába történő eltolódásában nyilvánul meg (Abuelo és mtsai., 2015, Wankhade és mtsai., 2017).

Az előbbi hatására fokozódik a sejtekben a mitokondriális aktivitás, intenzívebbé válnak az oxidatív jellegű energiatermelő folyamatok, aminek következtében fokozódik a reaktív oxigén származékok (**ROS**) keletkezése, ami idővel elérheti vagy meg is haladhatja a szervezet antioxidáns (**AO**) védekező kapacitását. Az egészséges szervezet redox státuszára jellemző, hogy a ROS és AO egyensúlyban vannak, ha viszont ez a ROS javára felborul, akkor ún. oxidatív stressz (**OS**) alakul ki (Sies és mtsai., 1985, Riera, 2012, Abuelo és mtsai., 2015).

Az OS tudományos kutatások keretében történő mérésére számos biomarker áll rendelkezésre (Celi, 2011). Ugyanakkor nagy szükség lenne egy olyan gyakorlatias, megbízható, könnyen és gyorsan végrehajtható, az oxidatív státuszt jellemző mérési módszerre, ami bevezethető lenne az állomány-egészségügyi monitoring vizsgálatok rendszerébe. Ezt hangsúlyozzák

Abuelo és munkatársai (2015) dolgozatukban, amikor felhívják a figyelmet arra, hogy a tejtermelő tehenek oxidatív státuszának vizsgálata fontos részét képezheti az AO hatású takarmányozási stratégiáknak, és ennek első eleme a mérési módszer egységesítése és a kritikus határértékek meghatározása (Abuelo és mtsai., 2015).

A lipolízis túlsúlya számos kóros folyamat kiváltó oka lehet. Egyrészt a fokozódó glükoneogenezis, - mint a kérődző állatok primer energiaforrása - jelentősen megterheli a májat, aminek következtében zavart szenved számos májfunkció, mint például az immunsejtek termelődése, illetve a máj kóros elváltozása közvetlen kórokként szerepelhet olyan, akár letális megbetegedésekben, mint például a máj zsíros elfajulásával (steatosis) kapcsolatos tünetegyüttes (Graugnard és mtsai., 2013).

A fokozódó zsírmobilizáció nyomán megnő a vér szabad- vagy nem észterifikált zsírsav (**NEFA**), illetve béta-hidroxivajsav (**BHB**) koncentrációja. E metabolitokról feltételezik, hogy citotoxikus hatásúak lehetnek, ami közrejátszhat a fertilitási zavarok kialakulásában olyan módon, hogy a női ivarsejtek érési folyamata során akár közvetlenül a petesejtek károsodást idézhetik elő, vagy közvetve, az érési folyamatok szabályozó mechanizmusait is megzavarhatják (Leroy és mtsai., 2008).

A fenti példák és a témában megjelent további szakirodalmi adatok is jól mutatják, hogy tejtermelő állományokban az ellés körüli időszak fokozott figyelmet igényel (Drackley és mtsai., 2005). Gyakorlati tapasztalat, hogy a laktáció során előforduló egészségzavarok, megbetegedések közel 80 százaléka ekkor jelentkezik.

A borjak szervezetét a választás szintén számos kihívás elé állítja és az ilyenkor jelentkező veszteségek mérséklésére irányuló intézkedések kiemelt figyelmet érdemelnek. A fiatal állatokat érő erős stressz-tényezők, mint például a napi takarmány felvétel jelentős mértékű megváltozása, továbbá a szociális stressz következtében gyengülő természetes ellenálló képesség szintén számos betegég kialakulását segítheti elő. Ebben az időszakban az OS kialakulása is megfigyelhető a fiatal állatokban (Buchet és mtsai., 2017).

A preventív intézkedéseket tehát ezen kritikus időszakokra érdemes időzíteni. A védekezés fontos eleme a hatékony, monitoring jellegű, állomány szintű megfigyelés. A monitoringra általában igaz, hogy segítségével az ismert és releváns biomarkerek mérése alapján idejekorán felismerhetők a kedvezőtlen folyamatok. A kritikus technológiai elemek és kockázati tényezők változtatásával, illetve célzott preventív kezelésekkel megakadályozható az egészségi állapot romlásának elmélyülése (Oeztel, 2004, LeBlanc, 2006).

A kutatások célja lehet az újabb biomarkerek azonosítása, valamint az ezekre épülő gyakorlatias diagnosztikai módszerek kifejlesztése és meghonosítása.

A legfontosabb célterületek lehetnek a metabolikus stressz, a hőstressz, a szociális stressz, a tartástechnológia eredetű stressz, illetve a magas környezeti élősíratelhelés káros hatásainak jobb megértése, ezen keresztül a termelékenység és szaporaság javítása, a természetes ellenállóképesség fokozása, így az antibiotikum és más gyógyszer-felhasználás mérséklése.

1.2 Célkitűzések

Számos tudományos eredmény hívja fel a figyelmet arra, hogy az intenzíven termelő tehenek a laktáció korai szakaszában gyakran szenvednek az ilyenkor jellemző metabolikus stressztől, amelynek egyik lehetséges következménye az OS. Emiatt az OS gyorstesztel való mérése hasznos eleme lehet a rutinszerű monitoring vizsgálatoknak. A doktori fokozat megszerzésére irányuló munkám során olyan alternatív, a szarvasmarha fajban eddig nem alkalmazott, módszerek és paraméterek vizsgálatát tűztem ki célul, amelyek alkalmasak lehetnek arra, hogy megbízhatóan, időben jelezzék a szervezetben meginduló káros, a redox-egyensúly felborulását jelző folyamatokat. További cél, hogy a módszer alacsony vizsgálati költsége és szerény időigénye miatt beilleszthető legyen a szarvasmarhák állomány-egészségügyi gondozásának gyakorlati protokolljába.

A Free Radical Analytical System 4 Evolve (**FRAS4**) (H&D Limited s.r.l., Parma, Olaszország) berendezést a hidroperoxidok (**dROM test**, Diacron, Grosseto, Olaszország), illetve a plazma AO kapacitásának mérésére (**PAT test**, Diacron, Grosseto, Olaszország) fejlesztették ki és validálták a „gold-standard”-nek tekinthető elektron spin rezonancia mérésének módszerével (Alberti és mtsai., 2000). Így válhatott az OS kimutatásának széleskörben elfogadott módszerévé (Kusano és mtsai., 2016). A berendezés mind laboratóriumi, mind helyszíni mérések elvégzésére alkalmas. Szarvasmarha fajra vonatkozóan - ismereteink szerint - még nem állítottak fel normálérték- vagy referencia tartományt, holott csupán ennek ismeretében válik a berendezés alkalmassá a kóros folyamatok jelzésére.

1) A kutatási munka előkészítési szakaszában vizsgálatokat végeztünk az OS egyik legjelentősebb hajlamosító tényezőjeként számontartott, metabolikus stresszt okozó energiaforgalmi zavarnak, a ketózisnak előfordulásáról a hazai tejtermelő szarvasmarha állományokban.

2) Doktori munkámban termelési és/vagy élettani csoportonként (úgy mint: 60-45 nappal a várható ellés előtt lévő szárazonálló-, 15-1 nappal a várható ellés előtt álló előkészítő-, 1-7 nappal az ellés után lévő elletői, az ellést követő 7-30 nap közötti fogadó és a laktáció 31 – 100. napja között csúcstermelésű csoportok) 80-100, klinikailag egészséges állatokból vett

mintákat a berendezéssel megvizsgálva meghatározzuk a vizsgált dROM, PAT és OSI paraméterek biológiai varianciáját és statisztikai eloszlását, amely a későbbiekben felhasználható a normálérték tartományok meghatározásához.

3) A tejtáplálás időszakában lévő borjakban egy beállított kísérlettel megvizsgáljuk a dROM, PAT és OSI paraméterek változását, illetve ezek kapcsolatát egyes, gyakran használt metabolikus paraméterekkel.

4) Egy beállított kísérlettel megvizsgáljuk az eltérő környezet-higiéniai feltételekkel bíró választás utáni tartástechnológia és környezet hatását a borjak egészségi állapotára, különös tekintettel az állatok redox-állapotára, abból kiindulva, hogy a stressz és az egyes megbetegedések befolyásolhatják a szervezet redox-státuszát, illetve a redox-státusz is hatással lehet a szervezet természetes ellenállókéességére.

2 Irodalmi áttekintés

2.1 A szabadgyökök, az antioxidánsok és az oxidatív stressz

Az oxigén az aerob élőlények számára életfontosságú, azonban egyúttal akár toxikus is lehet ugyanezen szervezetek számára. Ez a biológiai paradoxon az aerob szervezetek energiatermelő folyamatai során keletkező, oxigén eredetű szabadgyökökre és a párosítatlan elektronnal nem rendelkező, így nem szabadgyökök közé sorolható, de azok képződésében kulcsszerepet játszó hidrogén-peroxidra, továbbá a szinglet oxigénre, gyűjtőnéven a ROS szerepére vezethető vissza (Gerschman és mtsai., 1954, Miller és mtsai., 1993, Soares és Costa, 2009).

Sejtszinten az energiatermelés leginkább a mitokondriumban végbemenő folyamatok során történik (Frandsen és mtsai., 2013). Az oxidációk láncolatán alapuló folyamat végső, ún. terminális oxidáció és az oxidatív foszforiláció szakaszában képződnek folyamatosan, - a citokrom-oxidáz enzim közreműködésével keletkező víz, mint normál végtermék mellett – a ROS-ok is. Ez az ún. elektron szivárgási folyamat (*electron univalent leak* vagy *electron leake pathway*) a szuperoxid-anion ($O_2^{\bullet-}$) állandó képződésének a fő forrása. Feltételezik, hogy az előbbiekben ismertetett módon keletkező $O_2^{\bullet-}$ reakcióba léphet egy energetizált protonnal így perhidroxil szabadgyököt ($HO\bullet_2$) hozva létre. Ez utóbbi rendkívül reaktív és képes behatolni a sejtmembránba, ahol ún. proton szivárgást indukál, ami megzavarhatja az ún. „*proton-pumpa*” jelenségen (Mitchell, 1961) alapuló mitokondriális energia-termelő folyamatot (Liu és mtsai., 1996).

Az oxigén eredetű szabadgyökök rendkívül reakcióképesek. Közös jellemzőjük, hogy külső elektronhéjukon legalább egy szabad elektron található. Folyamatos elektron iránti igényük következtében reakcióba léphetnek többek között a lipidekkel, a fehérjékkel, de a nukleinsavakkal is, ezzel jelentősen károsítva az élő szervezet strukturális és funkcionális alkotóit, a sejteket, a szöveteket és a biológiai membránokat, stb. (Miller és mtsai., 1993, Sordillo és Aitken, 2009).

A ROS képződés tehát folyamatos és elkerülhetetlen. Ma már az is ismert, hogy ezek a reaktív kémiai anyagok, káros hatásaik mellett, számos fontos életfolyamatokban töltenek be kulcsszerepet. Szerepük van többek között egyes sejtszignálok közvetítésében, az apoptózis szabályozásában, a fagocitózisban (Palmieri és Sblendorio, 2007, Sordillo és Aitken, 2009), a petesejtek érési folyamatának és ovulációjának szabályozásában (Al-Gubory és mtsai., 2010). Túlzott mértékű képződésük ugyanakkor megzavarja a szervek, szervrendszerek normális működését, emiatt negatívan hat az állatok egészségi állapotára és az állatok által megtermelt élelmiszerek minőségére és eltarthatóságára is (Palmieri és Sblendorio, 2007, Castillo és mtsai., 2013). A szabadgyökök szerepet játszanak olyan humán betegségekben, mint a cukorbetegség, a daganatok kialakulása, a szív- és érrendszeri, valamint a neuro-degeneratív elváltozások (Soares és Costa, 2009), de egyes állatbetegségekkel kapcsolatban is említik, mint például tejelő tehenek tüdőgyulladás, a magzatburok-visszamaradás (**MBV**) és a méhgyulladások (Kankofer és mtsai., 1996), a megnövekedett nátrium és víz retenció következtében jelentkező tüdőödéma (Miller és mtsai., 1993, Celi, 2010, Józwik és mtsai., 2012, Talukder és mtsai., 2014), egyes anyagforgalmi rendellenességek, mint például a ketózis, a zsírmáj szindróma és az inzulin rezisztencia (Pedernera és mtsai., 2010, Xu és mtsai., 2014) vagy az immunszuppresszió (Miller és mtsai., 1993). A fertilitási zavarok kialakulásában játszott szerepüket magyarázhatja, hogy OS állapot fennállásakor zavart szenved a szexuálissteroid-hormonok termelődése (Miller és mtsai., 1993). Feltehetően szerepük van a korai embrióelhalásban (Celi és mtsai., 2012) és a folliculáris ciszták kórfejlődésében is (Rizzo és mtsai., 2007, 2009). A fertilitási zavarok kialakulásában közre játszhat az is, hogy a nyugalmi fázisban lévő tüszőket csupán egy egyrétegű, nem folytonos fal, mint részleges határ választja el a sztrómától, aminek következtében a petesejt gyakorlatilag közvetlen kapcsolatban van a vérrel, így a vérben lévő bizonyos anyagcseretermékek azt károsíthatják (Zamboni, 1974). Ilyen esetben az oxigén szabadgyökök hatására bekövetkező lipidperoxidációs folyamatok egyik metastabil végterméke, a tiobarbitursav reaktív anyagok (**TBARS**) (Bernabucci és mtsai., 2002), illetve a

NEB következtében jelentős koncentrációban jelenlévő NEFA citotoxikus (Leroy és mtsai., 2008) hatása érvényesül (Vanholder és mtsai., 2006).

Az élő szervezet a ROS-k elleni hatékony védelmi mechanizmusok hiányában elpusztulna. Az oxidánsok képződésének ellensúlyozására, illetve azok hatásának mérséklésére, endogén védelmi rendszerek alakultak ki az evolúciós fejlődés során. Ezen rendszerek hatékony működéséhez endogén antioxidáns (AO) hatású anyagokra van szükség. Az elsődleges AO rendszerek működését részben különböző metalloenzimek biztosítják. Ilyen például a réz/cink tartalmú, és preventív hatású, szuperoxid-dizmutáz (SOD), a szelén tartalmú glutation-peroxidázok (GPx), a szintén szelén tartalmú tioredoxin-reduktáz (TrxR) és a vas tartalmú a kataláz (CAT). A másodlagos AO rendszerek legismertebb tagjai a tokoferolok, a β -karotin, a flavonoidok, az ubiquinol, a C-vitamin, a glutation (GSH), a liponsav, a húgysav, a metallothionein és a bilirubin (Palmieri és Sblendorio, 2007, Descalzo és Sancho, 2008, Sordillo és Aitken, 2009). A metallo-enzimek bioszintézisében és aktivitásának fenntartásában fontos szerepe van olyan mikroelemeknek, mint például a réz, a mangán, a cink, a szelén, a molibdén és a vas (Miller és mtsai., 1993).

Elsőként 1985-ben használták az OS fogalmát, hangsúlyozva a ROS és az AO-k közötti dinamikus egyensúly fontosságát. Amennyiben az egyensúly felborul és túlsúlyba kerülnek a szabadgyökök, kialakul az OS (Sies és mtsai., 1985, Soares és Costa, 2009).

Az OS kialakulásának oka lehet, hogy a szabadgyökök az anyagcsere során történő képződése vagy külső forrásból történő szervezetbe jutása meghaladja a szervezet AO kapacitását. Ennek két kézenfekvő oka lehet, egyrészt a túlzott mértékű ROS képződése, illetve ha a szervezet AO kapacitása nem kielégítő (Sordillo és Raphael, 2013).

Mivel a ROS jelenléte az aerob élet velejárója, általában igaz, hogy minden olyan folyamat során, amikor megnő a szervezet oxigén igénye, (pl. légzésszám növekedés hőstressz esetén, oxidatív anyagcsere folyamatok fokozódása metabolikus stressz esetén, vagy éppen egy olyan aerob életjelenség, mint a légzés megindulása az újszülöttnél), mind elősegítik a fokozott ROS képződést (Gaál és mtsai., 2006, Habashy és mtsai., 2018).

Ezen kívül ROS természetű anyagok kívülről is kerülhetnek a szervezetbe (pl.: avas takarmányok, sugárzó anyagok által). Emellett a gyulladási folyamatok szabályozási zavara is a ROS-koncentráció megemelkedéséhez vezethet (Celi, 2011).

Az AO kapacitás csökken minden olyan esetben, amikor az AO védekezőrendszer egyes enzimeit, mint például a preventív hatású SOD, CAT, GPx, GSSG-R, illetve a javító, helyreállító hatású lipáz, proteáz, DNS javító enzimek, a transzferáz károsodnak. Előidéheti továbbá az is, ha az azok működéséhez szükséges másodlagos AO hatású anyagok, mint

például egyes vitaminok és pro-vitaminok (pl.: E-vitamin, C-vitamin, ubiquinol, karotinoidok), mikroelemek (pl.: szelén, mangán, cink, vas, réz stb.) és egyéb AO hatású anyagok (pl.: polifenolok, és ezen belül bioflanovoidok, melatonin, urát, bilirubin, albumin (**ALB**), aminosavak, omega-3 és omega-6 zsírsavak) hiányosan, vagy egyáltalán nem állnak rendelkezésre. Előfordulhat az AO-kapacitás csökkenése az AO természetű anyagok termelésért felelős szervek (pl. máj, vese) megbetegedésekor is (Palmieri és Sblendorio, 2007, Spears és Weiss, 2008, Heidarpour és mtsai., 2012, Celi és Gabai, 2015, Talukder és mtsai., 2017, Park és mtsai., 2019).

Mivel ROS-ok számos életfolyamathoz nélkülözhetetlenek, az AO-k alkalmazását körültekintően kell végezni, mert jelenleg még nem tisztázott, hogy milyen koncentrációban tekinthető kórosnak a ROS-k jelenléte (Pedernera és mtsai., 2010). További kutatások szükségesek annak megismerésére is, hogy milyen környezeti, élettani vagy kórélettani hatások esetén szükséges a beavatkozás. A helytelenül végzett AO kezelés ugyanis esetleg az ellenkező hatást válthatja ki, azaz OS-t indukálhat, mivel az AO-anyagok bizonyos koncentrációban és kombinációban pro-oxidánsokká válhatnak (Mézes és Balogh, 2009, Rizzo és mtsai., 2013).

2.2 Az oxidatív stressz és az egyes élettani és környezeti hatások kapcsolata tejelő szarvasmarhákban

Tejelő szarvasmarhák esetében hazai kutatók megállapították, hogy a lipidperoxidáció egyik általánosan elfogadott indikátora, a malondialdehid (**MDA**) teljes vérből mért koncentrációja borjakban a megszületéskor volt a legnagyobb és később, a szilárd táplálékra való átálláskor (metabolikus változások) a 2-3. héten is emelkedést mutatott. A SOD aktivitása a megszületéskor viszonylag alacsony szinten volt, majd az élet első három hetében emelkedést mutatott, míg a megszületéstől kezdve jelentős ROS koncentráció csak ugyanebben a korban kezdett el csökkenni, bizonyítva ezzel a SOD AO-védelemben kiemelten fontos szerepét. A vörösvérsejtekben a GPx enzim, már a megszületés pillanatától aktív volt. A tehének vörösvérsejtjeinek vasredukáló képességében (**FRAP**) az ellés körüli időszakban talált változások alapján megállapították, hogy az ellés OS-t idéz elő a tehének szervezetében is, de ez csupán rövid ideig áll fenn (Gaál és mtsai., 2006).

Az ellés körüli időszak gyakori megbetegedéseinek (méhgyulladás, tőgygyulladás, MBV) és oltógyomor helyzetváltozás (**OHV**), ketózis) kialakulásában jelentős hajlamosító tényező az anyagszere folyamatok zavara és az így kialakuló metabolikus stressz. A ketolactia a nem

kompenzált NEB következtében kialakuló ketózis egyik tünete, amelynek előfordulása hazánkban csaknem 30% (Hejel és mtsai., 2018), ezért feltehetően az OS kialakulásának egyik jelentős oka lehet a NEB miatt kialakuló metabolikus stressz a hazai tejtermelő tehénállományokban is.

A NEB kompenzálására a szervezet lipolízis során mobilizálja az energia tartalékokat. A fokozott lipolízis miatt a vérben megnövekszik a NEFA koncentráció. A megnövekedett NEFA-koncentráció OS-t idéz elő, valamint gátolja a sejtek glükózfelvételét az inzulin-jelátvitel zavara miatt (Bernabucci és mtsai., 2005, Shi és mtsai., 2014, Xu és mtsai., 2014). Az inzulinrezisztencia (**IR**) tehető felelőssé az elléskörűli időszakban az anyagcsere-alkalmazkodás és az energiaforgalom zavaraiért is (Sordillo és Mavangira, 2014). Az állatokat érő metabolikus stressz ebben az időszakban tehát a NEB, az immunrendszer működési zavara és az OS együttes hatása (Sordillo és Mavangira, 2014, Talukder és mtsai., 2015).

Egyes vérplazma paraméterek, mint az aszpartat-aminotranszferáz (**AST**), a direkt bilirubin (**DBIL**), az összes bilirubin (**TBIL**), a kolinészteráz (**CHE**), az összes fehérje (**TP**) rendellenes májfunkcióra utalnak, ami inzulin rezisztenciával (**IR**) párosulhat (Xu és mtsai., 2014). Az **IR** tehát felelőssé tehető az elléskörűli időszak metabolikus adaptációjának zavaraiért (Sordillo és Mavangira, 2014). Minden olyan stressztényező, ami a napi szárazanyag-felvétel csökkenését idézi elő, metabolikus stressz kialakulásához vezethet, amely állapot egyúttal kedvez az OS létrejöttének is. Ilyen technológiai kockázati tényező a választás, amikor a fiatal állatok viszonylag rövid időszakon belül elszenvedik a korábban megszokott takarmány és a tartási hely egyidejű megváltozását. A választás utáni időszakban emiatt időlegesen csökken a takarmányfelvétel, illetve a pihenéssel töltött idő és a szervezet kimerülése esetén gyengül a természetes ellenállóképesség, azaz fokozódik a betegségekkel szembeni fogékonyság. Amennyiben a szervezet számára rendelkezésre álló energiamennyiség jelentősen elmarad az aktuális energiaigénytől, metabolikus stressz és következményes OS alakul ki (Pastorelli és mtsai., 2013).

A hőstressz egyre nagyobb kihívást jelentő környezeti tényező az intenzív hazai tejtermelő tehenészetek számára. Hőstressz alatt a tehenek vörösvérsejtjeiben magasabb SOD-, GPx-, SH- és TBARS-értékeket mértek, ami arra utal, hogy nyáron, az ellés körűli időszakban lévő tehenek jelentős OS-nek vannak kitéve (Bernabucci és mtsai., 2002). A percenkénti légzésszám a hőmérséklet-páratartalom index (**THI**) értékének egységnyi növekedésével kettővel növekszik (Zimbelman és Collier, 2011). Feltételezhető, hogy az vörösvérsejtek oxidatív károsodásának kockázata nagyobb a hőstressz hatására megnövekedett

légzésintenzitás következtében, mivel ilyenkor nő a vérben az oxigén parciális nyomása, ami egyidejűleg intenzívebb $O_2\bullet^-$ -képződést is előidézhet (Lacetera és mtsai., 2003). Hőstressz hatására csökken a szárazanyagfelvétel is (Zimbelman és Collier, 2011), ami a korábban már említett metabolikus változásokon keresztül idézhet elő OS-t. Összefoglalva tehát megállapítható, hogy tehenek esetében – különösen az ellés körüli időszakban – a hőstressz egyik lehetséges kiváltója lehet az OS kialakulásának (Bakony és mtsai., 2019a, 2019b).

Az elmúlt évek adatai alapján úgy tűnik, hogy a takarmányok mikotoxin szennyezettsége egyre növekvő veszélyt jelent az állatok egészségi állapotára, továbbá ennek a megtermelt élelmiszereken keresztül közegészségügyi vonatkozásai is vannak. Mára tudott, hogy egyes mikotoxinok szervezetbe való bejutását követően, azok xenobiotikum transzformációja során, a citokróm P-450 izoenzimek aktivitásának fokozása révén OS-t indukál (Miller és mtsai., 1993).

Az említett néhány példa rámutat arra, hogy a tejtermelő teheneket érő azon élettani és/vagy környezeti hatások, amelyek stresszt idéznek elő az állatban közvetve vagy közvetlenül OS kialakulását idézhetik elő, ami veszélyeztetheti az állatok egészségét és ronthatja a termelékenységét. A fokozott ROS-termelődést, illetve a szervezet csökkent AO kapacitását időben észlelve azonban hatékonyan be lehet avatkozni a folyamatba és ezzel visszaállítható az egyensúly (Abuelo és mtsai., 2016 [b]).

2.3 A tehenek fertilitása és a redox státusz kapcsolata

A tejtermelés élettani előfeltétele a vemhesség és az ellés. A szarvasmarha-tenyésztés gazdaságosságának egyik meghatározója, hogy a vemhes üszők első ellése legkésőbb 24 hónapos korban megtörténjen (Donovan és mtsai., 1998), illetve az is, hogy a tehenek ellés után legkésőbb a 110-120 napon belül ismét vemhessé váljanak. A megtermékenyülést és a vehem fejlődését befolyásolja a tehén tápláltsági és egészségi állapota, illetve számos menedzsmet tényező is. A termékenyülés sikertelenségét előidéző tényezők között szerepel az OS is (Celi és mtsai., 2012).

A vemhesség átlagos időtartama 279-288 nap. A vemhesség hosszát több, állattól függő és független, tényező is befolyásolja. Így például a fajta, az életkor, az egészségi állapot, a magzat ivara, az évszak, stb. Ha a vemhesség 10-15 nappal hosszabb a fajra jellemzőnél, az már kórosnak tekinthető. A megtermékenyült petesejt a petevezetőből a méhbe történő bejutását követően az intrauterin élet a megtermékenyülést követő 72-96. órától az ellésig tart. Az úgynevezett csíra állapot a 11-45. napig, míg a magzati fázis a 45. naptól a megszületésig tart. A vehemfejlődés során a magzat különböző intenzitással fejlődik, növekedik. A kb.

0,000003 g tömegű zigóta 9 hónap alatt 35-45000 g tömegű magzattá növekszik, miközben jelentős mértékű sejtosztódás és differenciálódás megy végbe. A legnagyobb ütemű növekedés a csíra fázisban történik, amikor a csíra tömege kétszázszerezésére nő, de még a vemhesség végén is számottevő, mivel ekkor egy hónap alatt kétszerezésére növekszik a magzat testtömege. A vemhesség utolsó 60 napja alatt a magzat növekedése mintegy 20 kg. A vemhességnek tehát jelentős energia és egyéb táplálóanyag igénye van (Jasiorowski, 1973). Az eredménytelennek regisztrált termékenyítések mintegy 40%-ban korai embrióelhalásra vezethető vissza, ami a blasztula képződés idején, a megtermékenyülés utáni 7-8. napon, következik be és ezt az állattartó legtöbbször nem is észleli, hiszen nem jár semmilyen külső tünettől. Szintén gyakran fordul elő embrióelhalás a nidáció idején is, a vemhesség 16-32. napja között. Az embrióelhalás okaként többek között az esszenciális táplálóanyagok, illetve a makro- és mikroelemek hiányát, klimatikus tényezőket, centrális vagy perifériás eredetű hormonális diszfunkciót, valamint bizonyos immunológiai tényezőket tartanak számon (Haraszti, 1993). A korai embrionális mortalitás egyik közvetlen okaként említik a nem szabályozott OS-t is (Rizzo és mtsai., 2007, Józwick és mtsai., 2012, Konvičná és mtsai., 2015), de az embrió ezen kívül még számos más okból is károsodhat. Például úgy, hogy az OS gyulladást idéz elő és a keringésben megjelenő különböző gyulladás stimulátorok és mediátorok (pl. citokinek), valamint az ezek hatására elválasztódó egyéb molekulák, vagy éppen a nagy számban megjelenő neutrofilek aktivitásának köszönhetően megnövekedett ROS termelés vezet az embrió elhalásához. Előfordulhat, hogy az OS valamely más tényező, például hőstressz, hatására alakul ki és ez az embrió károsodásának elsődleges oka (Bernabucci és mtsai., 2010, Józwick és mtsai., 2012). Gazdaságossági szempontból az ellés után a tehén mihamarabbi újra vemhesülése és a minél produktívabb laktációs termelés a cél. Számos tényező mellett az OS is szerepet játszhat a méh ellés utáni involúciójának zavaraiiban és az ehhez köthető fertilitási zavarokban, illetve megbetegedésekben is. Endometritis esetén az endometriumban kimutatható magas polimorfonukleális leukocita sejt szám és a hozzá köthető, szintén emelkedett OS biomarker, az előrehaladott protein oxidációs termékek (advanced oxidation protein products; AOPP) mennyisége arra utal, hogy az OS is egy lehet a nem megfelelő fertilitáshoz vezető okok között (Gabai és mtsai., 2019).

A fent leírtak alapján az eredményes megtermékenyülést és az egészséges magzati fejlődést több tényező is befolyásolhatja, és ebben az OS is jelentős tényező lehet.

2.4 Az újszülött állatok egészsége, a tejtáplálás időszaka és a szervezet redox státusza közötti összefüggések

A normál lefolyású megszületés során - az újszülött saját légzőrendszerének működésbe lépésével – mérsékelt, de fiziológiás, OS alakul ki (Gaál és mtsai., 2006, Mutinati és mtsai., 2014, Ranade és mtsai., 2014). Az ellés során fellépő komplikációk emiatt közvetve és közvetlenül is veszélyeztethetik az újszülött életét, az alacsony vitalitással született állatok további fejlődése pedig általában elmarad egészséges társaikétól (Vermorel és mtsai., 1989, Besser és mtsai., 1990, Szenci és mtsai., 2012, Barrier és mtsai., 2013). Az általában további komplikációkhoz vezető nehézellés esetén is kimutatható OS (Yildiz és mtsai., 2011, Kandemir és mtsai., 2016), bár ezzel ellentétes megfigyelések is ismertek (Yokus és mtsai., 2007).

Az újszülött állatok gyors ütemű fejlődése miatt gyakran a fehérje oxidációs folyamatok dominálnak és ebből fakadóan nagyobb arányban képződhetnek fehérje-peroxidációs termékek. Az intenzív fehérje-oxidációs folyamatokat jelzi, hogy a plazma AOPP koncentrációja és az AOPP/ALB aránya progresszíven csökken a megszületéstől a választásig, míg fordított trend figyelhető meg az ALB és tiol csoportok között (Celi és Gabai, 2015).

Az újszülött borjú esetében kulcsfontosságú a jó minőségű, immunglobulinokban (**Ig**), táplálóanyagokban és AO-ban gazdag, ugyanakkor csíraszegény kolosztrum megfelelő mennyiségben (4 liter) történő mihamarabbi felvétele (Blum és mtsai., 1997, Morin és mtsai., 1997).

Az Ig molekulák bélsatornából történő eredeti állapotban való felszívásának képessége 6 órával a megszületés után már 50%-kal csökken (Leslie, 2012). Az elégtelen maternális passzív immuntranszfer gyakori, a borjak mintegy 32-35%-ában fordul elő (Weaver és mtsai., 2000, Šlosárková és mtsai., 2014). Ennek oka lehet a kolosztrum nem megfelelő minősége, de például a megszületéskor kialakuló súlyos fokú acidózis hatására is 52%-kal csökken a kolosztrum felvétel, illetve 35%-kal alacsonyabb szérum immunglobulin G (**IgG**) szint mérhető (Besser és mtsai., 1990). Borjúkori megbetegedések során gyakran megállapítható, hogy azok kialakulásának valószínűsége nagyobb azokban a borjakban, amelyeknek alacsony a maternális IgG szérum szintje (Van Donkersgoed és mtsai., 1993, Waldner és Rosengren, 2009, Leslie, 2012).

A kolosztrumnak azonban nem csupán a maternális ellenanyagok biztosítása az egyetlen funkciója. A kolosztrum ugyanis AO-okban is gazdag, ezzel védve az újszülöttet az OS ellen.

Kimutatható, hogy a kolosztrum termelése terheli a tehén AO védelmi rendszereit is, és azokban OS kialakulását idézheti elő (Goff és Horst, 1997, Abuelo és mtsai., 2016 [a]), különösen akkor, ha a tehén metabolizmusa az ellést követően fellépő NEB kompenzálása során felborul, és metabolikus stressz alakul ki, amely az ellés körüli időszakban negatív hatású az immunműködésre, az egészségre és a termelésre, továbbá hozzájárulhat az OS kialakulásához (Kehrli és mtsai., 1989, Sordillo és Aitken, 2009, Abuelo és mtsai., 2019). A metabolikus stressz gyakran már az ellés előtti időszakban is kimutatható és hatással lehet a borjak egészségi állapotára. Az ellést megelőzően magasabb NEFA értékkel bíró tehenek borjaiban megszületésük után magasabb volt a ROS koncentráció, míg OS-es tehenek borjainak vérében magasabb volt a haptoglobin és a tumor nekrozis faktor (**TNF α**) koncentrációja, ami az állatok emelkedett szintű bazális gyulladásra adott válaszát jelzi. Az ilyen borjak lipopoliszacharid kezelésre kevésbé erélyes immunválaszt produkáltak, ami az immunszuppresszív állapot indikátora (Abuelo és mtsai., 2019).

A borjak egészségi állapotára nézve kedvező, hogy a kolosztrumban lévő AO-ok csökkentik a megszületéskor fellépő OS sejtkárosító hatását. A szabadgyökök vérben mért koncentrációja alacsonyabb az élet első 3-7. napján, mint a megszületéskor, de 2-3 hetes korban ismét emelkedik (Gaál és mtsai., 2006). Mások is felhívták a figyelmet ennek az átmenetnek tekinthető ROS/AO egyensúly zavarnak a jelentőségére, amelynek ismerete megalapozhatja az újszülött borjak körüli teendők újabb meghatározását (Albera és Kankofer, 2011). A tejpótló tápszereknek általában alacsony az AO tartalma, ezért az így táplált borjak esetében előnyös lehet az AO kiegészítés (Lindmark-Månsson és Åkesson, 2000, Friel és mtsai., 2002, Chen és mtsai., 2003, Clausen és mtsai., 2009, Soberon és mtsai., 2012, McGrath, 2016, Abuelo és mtsai., 2019). A modern borjúnevelési rendszerekben a kolosztrum itatás után jellemzően tejpótló tápszerekkel takarmányozzák a borjakat, amelyek AO tartalma változó, így az AO kiegészítés indokolt lehet (McGrath, 2016).

A választás előtti, mintegy két hónapot felölelő, első életszakaszban jellemző testtömeggyarapodásnak meghatározó szerepe van a kifejlett állatok produktivására. Már csekély, 5-10 kg, növekedés a testtömeggyarapodásban a választás előtti időszakban szignifikánsan növeli a későbbi laktációs termelést (Soberon és Van Amburgh, 2013, Van De Stroet és mtsai., 2016). Abban az esetben viszont, ha a nagyobb növekedési ütemet a tejpótló tápszerek nagyobb mennyiségben történő felvétele idézi elő, az a későbbiekben negatívan hat a szilárd takarmányok felvételére és a bendő fejlődését is hátráltatja (Suarez-Mena és mtsai., 2011, Margerison és mtsai., 2013, McGrath, 2016). Később a napi takarmányadagok jellemzően sok tartósított zöldtakarmányt tartalmaznak, amelyekből legtöbbször hiányoznak a

természetes AO-okban gazdag friss zöld takarmányok. Ezen túlmenően környezeti stressz tényezők is gyakran előfordulnak ebben az időszakban és mind ezek miatt is nő a borjak AO igénye, amelynek beviteléről érdemes gondoskodni (Mcgrath, 2016), mert az AO-kal kiegészített takarmányok ebben az időszakban segíthetik az egészség megőrzését, így az intenzívebb tömeggyarapodás elérését (Mcgrath, 2016).

2.5 A választás és a választás utáni időszak hatása az állatok redox státuszára

A tejitatásos borjúnevelési időszak lezárása a választás. Mivel a borjak választása megkerülhetetlen eleme a szarvasmarha-tenyésztésnek, az egyetlen lehetőség az állatjóllétet negatívan érintő hatások- és a gazdasági károk csökkentésére a választás technológiájának, illetve a választás körüli takarmányozásnak, tartástechnológiának és higiéniának a javítása.

Az állattenyésztésben alkalmazott választás jelentősen eltér a természetes körülmények között lezajló folyamattól, mivel a fiatal állatok anyjuktól történő elválasztása jóval korábban és hirtelen történik és legtöbbször az utód és az anyaállat teljes elkülönítésével jár. Mindez jelentős stresszt okoz a fiatal állatokban (Weary és mtsai., 2008, Kumar és mtsai., 2012). Az egyik, a stresszhatások felmérésére gyakran használt, indikátor a glükokortikoid hormon, a kortizol, amely a vérből jól meghatározható. Korábbi vizsgálatokból ismert, hogy választáskor emelkedik a kortizol koncentrációja a vérben, ami azt igazolja, hogy a szervezetet jelentős stressz éri ebben az időszakban (Mandel és mtsai., 2016).

2.6 A választás körüli időszak sikerét befolyásoló környezethigiéniai tényezők

A választás jelentős változást jelent a borjak takarmányozásában. A megszokott takarmány, a tej vagy tejpótló tápszer elvonása után az új takarmányt gyakran elutasítják az állatok.

Fakultatív patogén mikroorganizmusok is folyamatosan jelen vannak az állatok környezetében és akkor okoznak megbetegedést, ha: *a)* az állatok természetes védekezőképessége leggyengül (pl. stressz, hiányos tápanyag ellátottság, stb.), *b)* amikor jelentősen feldúsulnak a kórokozók a környezetben (emelkedő élőcsíra terhelés), *c)* a kórokozók erős virulenciával rendelkeznek.

Az állatok megbetegedésének esélye jelentősen megnő, ha a fentiek közül több feltétel is egyidejűleg jelen van, például akkor, ha az immunszuppresszió mellett jelentős a környezeti élőcsíra terhelés is (Windeyer és mtsai., 2014).

A stresszt kiváltó tényezők minimalizálása a modern haszonállattartás egyik legfontosabb feladata. Az állatok természetes ellenállóképességét növeli, ha a szükségletüknek megfelelő táplálóanyag tartalmú takarmányozásban részesülnek, illetve, ha tartási helyük higiénikus, komfortos és a jelentősebb stressztényezők megfelelően kontrolláltak (Rafai és mtsai., 2004).

A választást követően gyakrabban lépnek fel betegségek, ami sok esetben az immunrendszer meggyengülésére vezethető vissza (Lorenz és mtsai., 2011). Az ennek hátterében álló tényezők közül fontosak a választás által okozott diszkomfort, a takarmányváltozáshoz és a stresszhez köthető takarmányfelvétel csökkenés és a megváltozott környezeti mikrobióta (Weary és mtsai., 2008, Buchet és mtsai., 2017). Az ilyenkor előforduló állatelhullások közvetlen gazdasági kárt jelentenek, a betegség következtében elmaradhat a várttól az állatok fejlődése, és nem utolsó sorban a betegségek gyógyszeres kezelése is jelentős költséggel és gyakran antibiotikumok alkalmazásával jár, ami mind állat- mind közegészségügyi, továbbá gazdasági szempontból egyaránt negatív következményekkel járhat (Page, 2003). A fiatal állatok szervezete fejlődésének zavara akár a kifejlítettkori termelékenységre nézve is hátrányos következményekkel járhat, ezáltal további gazdasági károkat okozva az állattartó számára (Raeth-Knight és mtsai., 2009).

A választás következtében a szervezetben bekövetkező változások egy része biokémiai indikátorokkal jól detektálható. A választás, mint jelentős stresszor, kimerítheti a szervezet AO védelmi kapacitását és OS kialakulásához vezethet (Ranade és mtsai., 2014, Buchet és mtsai., 2017). A választás OS stimuláló hatását megfigyelték malacokban is. A választás hatására felborult a ROS/AO egyensúly, amely csak később, az AO védelmi rendszerek kifejlődésével állt helyre (Yin és mtsai., 2014, Celi és Gabai, 2015). A választást követően jelentkező OS jelenlétét igazolta, hogy a vérben emelkedett a hidroperoxidok koncentrációja és az OSI számított értéke, így ezek a választás utáni ellenállóképesség, illetve a betegségek iránti nagyobb fogékonyság jó indikátorai is lehetnek (Buchet és mtsai., 2017).

Az OS kialakulásának egyik kiváltó oka lehet, ha az állatok a számukra újonnan kínált takarmányból nem veszik fel a szükségleteik fedezésére elegendő mennyiséget. Ez NEB-et idézhet elő, amelynek kompenzálására fokozódhat a metabolizmus, aminek következtében megnövekedhet a ROS képződés (Bernabucci és mtsai., 2005, Pastorelli és mtsai., 2013, Shi és mtsai., 2014).

Az OS kialakulása összefügghet továbbá azzal is, ha a környezeti élőcsíra terheléstől függően felerősödnek az immunológiai folyamatok (Windeyer és mtsai., 2014). A nagyobb csíratelhelés következtében a veleszületett immunrendszer működése fokozódik (Curtis és

mtsai., 1985), a bekebelezett antigének elpusztítása során pedig intenzívebbé válhat a ROS-ok képződésének mértéke (Puppel és mtsai., 2015). A ROS-ok azonban az állati szervezet saját sejtjeire nézve is veszélyesek lehetnek, mivel károsítják a lipoprotein membránokat, a fehérjéket és a nukleinsavakat is (Miller és mtsai., 1993, Sordillo és Aitken, 2009).

2.7 A leggyakoribb borjúkori megbetegedések és a redox státusz kapcsolata

A megszületett borjak választás előtti elhullásának mértéke az USA-ban, 2012-ben 15,9% volt.. Ebből 8,1%-ot az ellés körüli időszakban történő elhullások, míg 7,8%-ot leginkább a különböző kórokozók által okozott megbetegedések idézték elő (Leslie, 2012). Leggyakrabban az újszülött kori hasmenés és a légzőszervi betegségek, mint például a szarvasmarhák komplex légzőszervi tünetegyüttese (**BRDC**) okoznak elhullást ebben az időszakban (Windeyer és mtsai., 2014). BRDC esetén a lipid-peroxidok koncentrációja magasabb, az AO védelmi kapacitás pedig alacsonyabb volt (Al-Qudah, 2009, Joshi és mtsai., 2018, Blakebrough-Hall és mtsai., 2020). A borjúkorban jelentkező, változatos kóroktanú, hasmenés szintén gyakran fordul elő és jelentős gazdasági kárt okozhat. A betegségben szenvedő borjak vizsgálata során megállapították, hogy az OS jelentős szerepet játszhat a betegség kialakulásában (Ranjan és mtsai., 2006). Hasonló eredményt kaptak a *Cryptosporidium parvum* által megbetegített borjak vizsgálatakor is, mivel jelentősen megemelkedett a MDA és csökkent SOD valamint CAT szinteket mértek (Gaadee és mtsai., 2018).

2.8 Az antioxidáns védelem megerősítésének jelentősége és annak végrehajtása

Az AO-k elektrononorként szolgálhatnak a szabadgyökök számára és ezzel részben az OS kialakulásának megelőzésében, másrészt azok kártételének mérséklésében játszanak fontos szerepet (Sies és mtsai., 1985, Cadenas és Packer, 2002). Az AO hatású anyagok két nagy csoportja az elsődleges és a másodlagos AO-k. Az elsődlegesek elsősorban enzimek, mint például a preventív hatású SOD, a CAT, a GPx, a GSSG-R, illetve a javító, helyreállító hatású lipáz, proteáz, DNS javító enzimek, a transzferáz. A másodlagosok pedig jellemzően kis molekulatömegű molekulák, mint például a GSH, vagy vitaminok és pro-vitaminok (pl.: E-vitamin, C-vitamin, ubiquinol, karotinoidek), mikroelemek (pl.: szelén, mangán, zink, vas, réz, stb.) és egyéb AO hatású anyagok (pl.: polifenolok és ezen belül bioflavonoidok, melatonin, urát, bilirubin, ALB, aminosavak, omega-3 és omega-6 zsírsavak), (Palmieri és

Sblendorio, 2007, Spears és Weiss, 2008, Heidarpour és mtsai., 2012, Celi és Gabai, 2015, Talukder és mtsai., 2017, Park és mtsai., 2019). Bár a C-vitamint a kérődzők képesek szintetizálni és ezért a gyakorlatban nem foglalkoznak a C-vitaminnal történő kiegészítéssel, habár vannak olyan, a szervezetet megterhelő külső- és belső hatások (hőstressz, májkárosodás, intenzív hizlalás, mastitis), amikor alacsony C-vitamin szint mérhető a plazmában és érdemes kiegészítéssel támogatni a szervezetet, amelyhez megfelelő, bendőbeli lebontástól védett, készítményt érdemes használni (Kleczkowski és mtsai., 2005, Matsui, 2012).

A karotinoidok (β -karotin, α -karotin, lutein és zeaxantin, likopin, and β -kriptoxantin) szerepe is elsődleges az OS elleni védekezésben, amelyet az is bizonyít, hogy a karotinoidok koncentrációja a plazmában fordított irányú szignifikáns statisztikai összefüggést mutat az OS biomarker 8-iso-PGF 2α mennyiségével (Park és mtsai., 2019). A szakszerű kolosztrum menedzsmennek ezzel kapcsolatban jelentős a szerepe, mert a borjak megszületéskori plazma karotin szintje az első kolosztrum felvétel után mintegy ötszörösére emelkedik ($0,05 \pm 0,04 - 0,27 \pm 0,14 \mu\text{mol/l}$), de ezt követően hat hetes korig csökken, és csak két hónapos kortól növekszik ismét. Ez a tény rávilágít a szilárd takarmányokra történő átállás fontosságára az AO ellátás szempontjából (Bouda és Jagos, 1984).

Az evolúció során kialakult természetes OS elleni védelmi rendszer kis molekulatömegű AO hatású anyagokra és enzimekre épül. A nem enzimikus AO rendszer legfontosabb tagja a tripeptidek közé sorolható GSH, amely glutation-szintetáz enzim hatására képződik glutamátból, ciszteinből és glicinből. Oxidálódva GSGG-vé alakul. A GSH az enzimikus AO védelemben a GPx és a glutation-S-transzferáz (GST) enzimek ko-szubsztrátjaként vesz részt. A GSSG-t a glutation-reduktáz (GR) redukálja a NADPH-ből nyert elektronnal (Li és mtsai., 2000, Espinosa-Diez és mtsai., 2015, Mézes, 2020), A rendszer aktivitása függ a szervezet szelén ellátottságától. A GPx 30%-a szelénfüggő, 42%-a szeléntől független (Mézes, 2020). Épp ezért a szelén kulcsfontosságú szerepet játszik a megfelelő intrauterin és posztnatalis fejlődésben. A teheneiben gyakran állapítható meg az optimálisnál ($>1,00 \mu\text{mol/l}$) alacsonyabb, marginális ellátottság. A szelén képes átjutni mind a placentán, mind a tőgy barrieren, azonban a placentán keresztüli átvitel sokkal hatékonyabb. Ezért már a vemhes tehene szelén ellátottságára is érdemes hangsúlyt helyezni (Konvičná és mtsai., 2015).

Az E-vitamin szerepet játszik a ROS neutralizálásában, ezáltal gátolva a gyulladási folyamatok kialakulását. Az E-vitaminból pro-oxidáns hatású E-vitamin reaktív gyök képződik, amely részt vesz a ROS neutralizálásában, majd normál élettani körülmények között újból E-vitaminná regenerálódik, GSH vagy C-vitamin jelenlétében (Chan és mtsai.,

1991). Egy héttel az ellés előtt kb. 50%-kal csökken az E-vitamin plazmában mérhető szintje és csak a 3-4 héttől emelkedik ismét. Ennek oka lehet a napi szárazanyagfelvétel csökkenése, illetve a kolosztrum elválasztás magas AO igénye. A tehenek ellés előtti E-vitaminnal történő kezelése javítja azok AO státuszát, csökkenti a gyulladással kapcsolatos citokin termelést és a tögygyulladások kialakulását (Konvičná és mtsai., 2015). Hőstresszben megnövekszik a plazma fehérjék peroxidációja miatt az AOPP koncentrációja, amit a szokásosnál magasabb adagban alkalmazott E-vitamin és szelén kiegészítéssel mérsékelni lehet (Chauhan és mtsai., 2014), ami szintén bizonyítja együttes AO hatásukat. Ezek figyelembevételével megállapítható, hogy a tejítetés időszakában nagy jelentősége van a szelén és E-vitamin kiegészítéssel készített tejpótló tápszereknek, mivel ennek hiányában a tejpótló AO elleni védőhatása jelentősen elmarad a tejétől (Soberon és mtsai., 2012, Abuelo és mtsai., 2019).

Az AO kiegészítést azonban szakszerűen kell végrehajtani, mivel a nem megfelelő módon és időben alkalmazott AO-k pro-oxidánsokká válva akár maguk is okozhatják az OS kialakulását (Mézes és Balogh, 2009). Az aszkorbinsav vas,- illetve réz ionokkal vagy H₂O₂-dal együttes jelenléte serkentheti a lipid-peroxidációt, mivel a C-vitamin ilyen esetben többlet Fe²⁺ iont szolgáltat a Haber-Weiss reakció során történő hidroxilgyök képződéshez (Kankofer, 2001, Kleczkowski és mtsai., 2005, McMichael, 2007). Ez azonban *in vitro* rendszerben koncentráció függően jelentkezett. ugyanis az aszkorbinsav alacsony koncentrációban pro-oxidáns, míg magasabb koncentrációban AO hatású volt (Gaetke és Chow, 2003, McMichael, 2007). Réz ion jelenlétében az E-vitamin szintén pro-oxidánsként viselkedhet (Gaetke és Chow, 2003). Az E-vitamin magasabb adagban történő használata veszélyes is lehet a tehenek egészségére nézve, ha minden tehenre kiterjedően alkalmazzák azt és közben nem veszik figyelembe azok E-vitamin ellátottságát és OS státuszát. Ezt bizonyítja, hogy a szárazonállás alatt emelt adagban alkalmazott E-vitamin használata esetén megemelkedett az ellés után a tehenek körében a tögygyulladásos esetek száma (Bouwstra és mtsai., 2010). Az AO hatású kezelés sikeressége szempontjából tehát meghatározó jelentőségű az állatok redox státusza. Emiatt az élő állatokon, gyakorlati körülmények között kivitelezhető állomány szintű OS monitorozás nélkülözhetetlen a szakszerű AO kiegészítés végrehajtásában (Carletti és mtsai., 2007, Celi és mtsai., 2010, Celi és Gabai, 2015, Talukder és mtsai., 2017).

2.9 Az oxidatív stressz kimutatására leggyakrabban alkalmazott biomarkerek

Bár a szuperoxid-aniont már az 1930-as években felfedezték, az oxigén eredetű szabadgyökök és az OS élettani hatásainak vizsgálatával foglalkozó kutatások elindulását leginkább az SOD-

enzim felfedezése (McCord és Fridovich, 1969) lendítette fel a 60-as évek végén (Soares és Costa, 2009).

Jelenleg a kutatások olyan faktorok azonosítására irányulnak, amelyek kapcsolódnak

1) Az OS fennállásához

- az AO védelmi rendszer hatékony működésére utalnak, mint például a GPx és SOD aktivitás, a GSH és a glutation-diszulfid (GSSG) aránya, a szelénkoncentráció, valamint egyes vitaminok (A, E) szintje, és a béta-karotin koncentráció,
- a lipid-peroxidációra, nukleinsav-, illetve fehérjekárosodásra utaló termékek, mint pl. az MDA, PGF-Izoprosztánok, 8-hidroxi-2'-deoxiguanozin, a vörösvérsejtek OS hatására bekövetkező szétesését kimutató tesztek, mint pl. a Kit Radical Libres – KRL-teszt, amelyekből következtetni lehet a vérplazma és a vörösvérsejtek AO kapacitására, stb.);

2) A metabolikus egyensúly zavaraihoz:

- az energiahányra utalók (GLU, inzulin, inzulinszerű növekedési faktor, glikált hemoglobin),
- a fokozott zsírmobilizációhoz kapcsolódnak (NEFA, BHB);
- a májműködés zavarait jelzik (AST, DBIL, TBIL, CHE);

3) a gyulladáshoz kapcsolódnak (mieloperoxidáz, kalciumkoncentráció, akut fázis fehérjék), (Pastorelli és mtsai., 2013, Sordillo és Mavangira, 2014, Abd Ellah és mtsai., 2016).

Az OS vizsgálatára a gyakorlatban leggyakrabban alkalmazott diagnosztikai eljárásokat az

1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: A különböző oxidatív stressz biomarkerek, használatuk előnyei és hátrányai (Celi, 2011)

BIOMARKER	MÉRÉSI MÓDSZEREK	ELŐNYÖK	HÁTRÁNYOK
MDA (malondialdehid)	Kolorimetria, luminometria, kemilumineszcencia, HPLC, GC/MS	Jó érzékenység és ismételhetőség	Nem specifikus terméke a lipidperoxidációnak, interferál a TBARS méréssel
TBARS (tiobarbitursav reaktív anyagok)	Spektrofotometria, luminometria, kemilumineszcencia	Gyors, népszerű, könnyű és gazdaságos	Nem specifikus, nem ismételhető, nincs kvantitatív kapcsolat a lipidperoxidációval
F2 – Izoprosztán	EIA, ELISA, HPLC, GC/MS	Specifikus, ismételhető, érzékeny	Drága, a minták auto-oxidációja, a minták derivatizációja szükséges
ORAC (oxigén gyök abszorpciós kapacitás)	Fluoreszcencia	Érzékeny és lefedi az antioxidánsok széles spektrumát	Spektrofluorimétert igényel, AAPH*: a szabadgyök forrás spontán lebomlása, érzékeny a hőmérsékletre
FRAP (vasredukáló képesség mérése)	Spektrofotometria	Szérumdilúciós hatás nem látható	A Fe szabadgyököket generálhat, nem minden szabadgyök redukálja a Fe-t és a GSH-t nem méri
TEAC (trolox ekvivalens antioxidáns kapacitás)	Spektrofotometria	Nagyon gyors és egyszerű	Az eredmények változóak a mintahígítás függvényében, az alkalmazott antioxidáns kölcsönhatásba léphet az oldott molekulákkal, specifitása változó
TRAP (teljes reaktív antioxidáns potenciál)	Kemilumineszcencia	Információt nyújt a szabadgyök-formáció arányáról	Az alkalmazott antioxidánsok nem fogják be az oxigén szabadgyökök összes típusát
ROMs (reaktív oxigén metabolitok)	Spektrofotometria	Nagyon gyors, egyszerű, kevés minta, teljes vérből-, gyulladássos izzadmányból, sejt kivonatokból és légzőszervi váladékokból is elvégezhető	Na-azid gátolhatja
BAP (biológiai antioxidáns potenciál)	Spektrofotometria	Nagyon gyors, egyszerű, az antioxidánsok széles spektrumát lefedi, kis mennyiségű vérplazmából vagy vérszérumból elvégezhető	Csak vérszérum, illetve vérplazma alkalmas a vizsgálatra, hiperlipémiás minták esetében az eredmény alul becsült lehet

* AAPH: 2,2'-azobis (2-amidinopropán) dihidroklorid

A lipid peroxidáció folyamata három fő szakaszra különíthető el: 1) az iniciáció, szabadgyökök képződése (pl.: egy aktiválódott ROS), ami létrejöhet a szinglet oxigén lipid szubsztráttal való reakciójában, vagy a lipid hidroperoxidok átmeneti fémek által előidézett lebomlásakor, 2) a propagáció, a szabadgyökképződés láncreakció szerűvé válik és 3) a termináció, amikor stabil állapotú gyökök és más metabolitok képződése történik. Az 1. táblázatban bemutatott biomarkerek közül a lipid peroxidáció terminális szakaszában képződik például az MDA, TBARS, illetve az F2-izoprosztán (El-Aal, 2012). A dROM a szervezet pro-oxidáns státuszának jellemzésére szolgáló teszt. Méri a hidroperoxidok koncentrációját, amelyek a sejtekben ROS hatásra képződnek (Carratelli, 2015), tehát szintén a lipid peroxidáció terminális szakaszának jellemzésére alkalmas. A táblázatban bemutatott további biomarkerek között vannak olyanok, amelyek az AO kapacitás kifejezésére szolgálnak, mint például a TAC, TEAC, TRAP és FRAP, BAP tesztek, amelyek más-más biokémiai reakciókkal mutatják ki a vizsgált minta AO kapacitását (El-Aal, 2012). A PAT teszt a BAP teszt továbbfejlesztett változata, amely kiküszöböli a plazmában lévő foszfátok vas megkötő képessége miatt fellépő interferenciát (Benedetti és mtsai., 2013).

A célzott OS-vizsgálatok jól illeszthetők a különböző állománymonitoring vizsgálatokhoz, mint pl. a ketózis-monitoring, a kondíciópontozás, termelési és szaporasági mutatók, illetve a megbetegedések nyomon követése, amelyek rámutathatnak az állományban fennálló metabolikus stresszre. Ebből kifolyólag kézenfekvő lehetőség lehet például az anyagcsereprofil-vizsgálatokkal párhuzamosan az OS-mutatók elemzése, amelynek segítségével összefüggések tárhatók fel az OS és a metabolikus változások között.

Az eddig kidolgozott módszerek többsége általában csak az OS fennállásának egyedi kimutatására alkalmas, de annak állományszintű monitoringjára nem, így ez lehet a további kutatások egyik meghatározó iránya, mivel a preventív állatorvosi szemlélet egyik legfontosabb eleme az állományok folyamatos és reprezentatív mintaszámon alapuló vizsgálata, azaz monitorozása, az egyes rendellenességek, egészségzavarok, betegségek minél korábbi felismerése érdekében (Leblanc, 2006, Sordillo és Mavangira, 2014).

2.10 A FRAS-4 Evolvo berendezés, mint egy lehetséges állománymonitoring eszköz

Az OS méréséhez két funkcióra van általában szükség: a szabadgyök, illetve a szervezet AO kapacitásának kvantitatív mérésére (Cesarone és mtsai., 1999, Carratelli, 2015).

A Mauro Carratelli és Fabrizio Callegari által tervezett Free Radical Analytical System 4 (FRAS 4) analitikai berendezés (H & D s.r.l., Parma, Olaszország) alkalmas az említett mérések elvégzésére (H and D, 2015).

2.10.1 A dROM teszt

A reaktív oxigén metabolitok derivátumainak (dROM) kimutatására szolgáló teszt által a kvantitatív meghatározásra egy csepp (kb. 20 μ l) kapillárisvérből nyílik lehetőség a berendezés használatával. A mérés elve, hogy a vérszérumban jelen lévő szerves hidroperoxid szabadgyökké alakul, miközben oxidálja az N,N-dietil-para-feniléndiamint, és ez a színváltozással járó folyamat spektrofotometriás módszerrel detektálható (Cornelli és mtsai., 2001). A mérés során a kb. 2ml vérből szobahőmérsékleten izolált, centrifugált (1 \times g, 1 min), majd a vizsgálatig $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on fagyasztva tárolt vagy friss szérummintákat savas pufferben elosztatva, a H_2O_2 reakcióba lép a savas közegben (pH 4,8), a fehérjékből felszabaduló fémionokkal és eközben alkoxi- és peroxigyökké alakulnak át. Az így keletkező szabadgyökök a hozzáadott N,N-dietil-para-feniléndiamint szabadgyök tulajdonságú kationokká oxidálják. Ezek koncentrációja spektrofotometriásan (505nm abszorpció) mérhető.

A berendezés Carratelli-egységben (U. Carr) fejezi ki a reakció eredményét. 1 U. Carr egység megfelel 0,8 mg/l H_2O_2 -nak. Az U. Carr normál tartománya embernél 250–300 (**2. táblázat**). A normál tartományon kívül eső értékek felhívják a figyelmet a peroxidáció és antioxidáció közötti egyensúly (redox egyensúly) felbomlására. Ember esetében, ha az U. Carr értéke > 300, akkor fennáll az OS állapota.

2. táblázat: dROM teszt emberre vonatkozó referencia értékek (H and D, 2015)

U. Carr érték	OS szintje
300-320	határérték
321-340	alacsony
341-400	közepes
401-500	magas
>500	nagyon magas

2.10.2 A Plazma Antioxidáns Teszt (PAT)

A módszer a vérplazma AO védelmének hatékonyságát határozza meg. Különböző fehérjék, vitaminok és más anyagok képesek csökkenteni a szabadgyökök reaktivitását. A teszt gyakorlatilag a korábban elszíneződött, fémionok sóit és egy tiocianát-derivátumot tartalmazó

oldat elszíntelenedését méri, ami közvetlen arányban áll a biológiai AO potenciállal. Ember esetében ennek optimális értéke 2200 $\mu\text{mol/l}$ (U. Cor). Az alacsonyabb érték a plazmában található AO védelem hatékonyságának csökkenésére utal (**3. táblázat**).

3. táblázat: PAT teszt emberre vonatkozó referencia értékek (H and D, 2015)

PAT $\mu\text{mol/l}$ (U. Cor)	Antioxidáns potenciál
2200-4000	optimum
2200-2000	határérték
2000-1800	mérsékelt hiány
1800-1600	hiány
1600-1400	súlyos hiány
<1400	nagyon súlyos hiány

2.10.3 Az Oxidatív Stressz Index (OSI) kiszámítása

A dROM és a PAT értékéből lehetséges egy index számítása, amelynek használatával pontosabb kép kapható a szervezet OS-terheltségéről (Abuelo és mtsai., 2013). Az index jól kifejezi és integrálja az oxidatív és AO folyamatok arányát. Kiszámítása az alábbiak szerint történik: $\text{dROM/PAT} \times 100$.

2.10.4 A FRAS4 alkalmazása OS vizsgálatára tejelőtehén-állományokban

A tejelőszarvasmarha-állományok egyedeit különböző élettani és kórélettani kondíciók esetén az OS éppen úgy érinti, mint más állatfajokat, azonban bizonyos faji sajátosságok is feltételezhetők. Például a kutyákra számolt referencia tartományok: dROM 56,4 – 91,4 U. Carr, BAP 1440 – 3260 $\mu\text{mol/l}$ (Pasquini és mtsai., 2008); versenylovakra: ménéknél a dROM 143,7 – 152,6 U. Carr, a BAP 2616 – 2691 $\mu\text{mol/l}$, kancáknál a dROM 145,5 – 171,7 U. Carr, a BAP 2264 – 2630 $\mu\text{mol/l}$ (Kusano és mtsai., 2016). A kutyák referenciaértékével kapcsolatban a szerzők felhívják a figyelmet arra is, hogy a BAP szempontjából érdekes lehet az a tény, hogy a kutyák képesek az aszkorbinsav szintézisére, míg az ember nem (Pasquini és mtsai., 2008). Ez a szempont az embereknél mért referenciaértékekkel való összehasonlítás esetén a legtöbb állatfaj (kérődzők, sertés, ló, kutya, macska, stb.), és így a szarvasmarha esetében is fontos lehet, hiszen ezek a fajok mind képesek aszkorbinsav szintézisére (Matsui, 2012).

Mivel az OS jelentősen befolyásolja a termelékenységet és az egészségi állapotot, számos kutatás irányul ennek az állapotnak mind teljesebb körű megértésére. Mind a fiatal-, mind kifejlett állatok érintettek lehetnek az OS káros hatásaira. Az ilyen irányú vizsgálatok száma rohamosan növekszik és a FRAS4-berendezést már többen is használták szarvasmarhával kapcsolatos kutatásokban (Celi, 2010, Celi és mtsai., 2011). Jelenleg azonban a dROM, a PAT és az OSI adatok értékeléséhez még nem állnak rendelkezésre szarvasmarhára vonatkozó referenciaértékek.

Mivel a tejtermelő tehenek az egyes termelési szakaszokban (szárazonállás, elléskörüli időszak, csúcstermelés, kései laktáció) eltérő élettani sajátosságokkal rendelkeznek, továbbá tartási és takarmányozási környezetük is különböző, emiatt az egyes referenciaértékeket célszerű ennek megfelelően meghatározni.

Ehhez iránymutatásul szolgálhat néhány korábbi vizsgálat eredménye. A dROM-tesztet elvégezve egy vizsgálatban átlagosan 142 U. Carr értéket találtak nagy tejtermelésű tehenekben és 134 U. Carr értéket az alacsonyabb szinten termelő állatok mintáiban (Baticz és mtsai., 2001). Egy másik vizsgálatban a dROM átlagos értéke az ellés után a 80. napig terjedő időszakban 122,1 U. Carr, a 80–120. nap között 139,3 U. Carr, a 120. nap után pedig 155,7 U. Carr volt. A PAT értéke ugyanilyen felosztásban 2776 $\mu\text{mol/l}$ (U. Cor), 2872 $\mu\text{mol/l}$ (U. Cor) és 2733 $\mu\text{mol/l}$ (U. Cor) volt. Az ezekből számított OSI-értékek pedig 4,4; 4,8 és 5,6 voltak (Celi és mtsai., 2011).

2.11 A referenciaérték tartomány számítás

Az orvosi értelemben vett referencia érték vagy normálérték tartomány a vizsgált paraméterre vonatkozóan az egészséges populáció 95%-át jellemző értéktartomány. A számítási módszert az adatok statisztikai eloszlása határozza meg. Ha az adatok normál (Gauss-féle) eloszlást mutatnak akkor a számítás képlete: $\text{átlag} \pm 2\text{SD}$. Ha az adatok nem normál eloszlásúak, abban az esetben a Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (IFCC) ajánlása szerint nem parametrikus statisztikai módszerrel kell megállapítani a referencia tartományt. Ilyenkor az alsó és felső 2,5% kvantiliseket egyszerűen el kell hagyni és így kapjuk meg a minták 97,5%-át jellemző referencia értékeket (Petit Clerc és Solberg, 1987, Bland, 2000, Szabó és Vásárhelyi, 2015). Ehhez nyújthat segítséget a vizsgált paraméterek statisztikai eloszlásának és biológiai variációjának meghatározása.

3 Saját vizsgálatok

3.1 Első vizsgálat

3.1.1 Vizsgálat megnevezése

A ketolakcia előfordulásának és következményeinek felmérése magyarországi tejtermelő szarvasmarha állományokban szemikvantitatív kolorimetriás gyorseszteszt alkalmazásával és egyes hajlamosító tényezők vizsgálata.

3.1.2 A vizsgálat elvégzésének indoklása

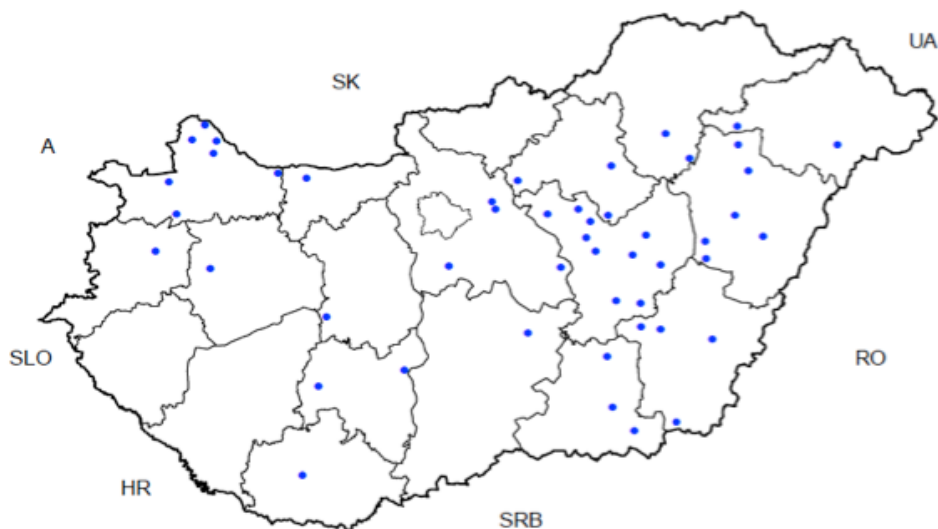
A vizsgálat célja a ketózis prevalenciájának megállapítása volt hazai tejelő tehén állományokban a BHB tejből történő szemikvantitatív mérésével, Keto-Test™ (Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd., Nagoya, Japán) istállópróba használatával. Emellett a legfontosabb kockázati tényezők, illetve a ketolakcia és a gyakoribb ellés körüli megbetegedésekkel való kapcsolat elemzését szintén elvégeztük.

Ez a vizsgálat az OS kutatás előkészítése volt. Elvégzését az indokolta, hogy az energiahány az OS kialakulásának egyik legfontosabb rizikófaktora (Lee és mtsai., 2016). Ennek kompenzálására ugyanis fokozódik a sejtek energiatermelő folyamatainak intenzitása, emiatt a mitokondriumokban is nagyobb eséllyel képződik ROS. Kíváncsiak voltunk arra is, hogy a hazánkban leggyakrabban alkalmazott tartástechnológiai és takarmányozási rendszerekkel kiszolgált állományokban milyen gyakorisággal fordul elő a NEB következtében kialakuló ketózis. A prevalencia ismeretében eldönthetjük, hogy indokolt lehet-e az OS állományszintű monitoring módszer kidolgozásával kapcsolatos kutatások elvégzése és egy gyakorlatias, de ugyanakkor megbízható, protokoll kifejlesztése.

3.1.3 Anyag és módszer

3.1.3.1 Mintavétel

Az 52 nagylétszámú (187 - 1815 tehén) szarvasmarha állomány bevonásával (**1. ábra**) elvégzett vizsgálat 2013 júliusa és 2014 augusztusa között történt.



1. ábra: A ketolactia vizsgálat helyszínei (n=52) Magyarország térképén ábrázolva

Mintegy 1669 holstein-fríz fajtájú tehén vizsgálata történt meg, amelyek a vizsgálat idején a 0 – 75. laktációs nap között voltak. (A tehenek 97 %-a /n = 1620/az 1 – 27. laktációs nap között volt, és csupán 3 %-uk /n = 47/ volt a 0. vagy ≥ 28 . napon). A számítások két hibás adat kihagyásával történtek. A tehenek laktációs szám szerinti megoszlása a **4. táblázatban** látható.

4. táblázat: A vizsgálatba vont állatok laktációs szám szerinti megoszlása

Lakt.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	N.A.*
n=	462	544	340	170	75	48	24	2	4
%	27,7	32,6	20,1	10,2	4,5	2,9	1,4	0,0	0,2

*N.A.: adat nem áll rendelkezésre.

Az állományokat méretük szerint három csoportba sorolva vizsgáltuk: kislétszámú (1-500 tehén), közepes (501-1000 tehén) és nagylétszámú (> 1000 tehén). Az állományokat termelési szint szerint a 305 napos lezárt laktációk átlaga alapján két csoportba soroltuk: alacsony termelésű (<9000 kg) és magas termelésű (> 9000 kg).

A betegségek előfordulására vonatkozó adatok (MBV; metritis; OHV; nehézellés; ellés utáni megfekvés; sántaság, illetve a klinikai tünetekben megnyilvánuló ketózis) a mintavétel napján kerültek rögzítésre az ellátó állatorvos jelentése alapján. A vetelés, illetve az ikerellés tényét szintén rögzítettük.

A tejmintavétel a reggeli fejes alkalmával, a tőgy fejesre történő előkészítése és az első tejsugarak kifejeése után történt. Oetzel (2007) adatait alapul véve és a teszt gyártójának ajánlását követve egy alkalommal minimum 12 minta vizsgálata történt meg. A tejmintavétel 10 ml űrtartalmú műanyag csőbe történt. A mérés Keto-TestTM szemikvantitatív tesztsíkkal történt, amely színreakció alapján méri a tej BHB koncentrációját. A mérés 20 °C-ra, szobahőmérsékleten lehűlt, tejből történt. A tesztsík bemártása előtt a tejmintákat kíméletes átfogatva homogenizáltuk. Az eredmény leolvasása 60 másodperc elteltével történt a tesztsíkhhoz mellékelt színskála alapján, miszerint a BHB koncentráció alapján a mintákat 0, 50, 100, 200, 500 és 1000 µmol/l kategóriába soroltuk. A gyártó ajánlása szerint a pozitív eredmény határértéke 100 µmol/l BHB, azaz e feletti ketolakcia esetén az eredményt szubklinikai ketózisra pozitívnak tekintettük.

3.1.3.2 Statisztikai vizsgálatok

A korrigált prevalencia értékét Rogan-Gladen estimator (Rogan és Gladen, 1978) alapján számítottuk a szenzitivitás (**SE**) és a specificitás (**SP**) kiszámítására szolgáló teszt használatával. A dichotomizált BHB függő változó kapcsolatát a független változókkal logisztikus regresszióval állapítottuk meg. A statisztikai elemzéshez az R-környezetet használtuk (R Core Team 2015).

Az állatorvosi gyakorlatban mind téves negatív, mind téves pozitív eredmények előfordulhatnak a tesztek érzékenységének és az adott biomarker specifikusságának függvényében, ezért a szakirodalomban kétféle prevalencia értéket találhatunk: látszólagos és valódi prevalenciát (Rogan és Gladen 1978). A Keto-TestTM megbízható eredményt (SE 73 %, SP 96 %) biztosít (Carrier és mtsai., 2004), ezért a valódi prevalencia adatokat is közöljük.

3.1.4 Eredmények

3.1.4.1 A leíró statisztikai elemzés eredménye

A tejből mért BHB értékek kategóriánkénti eloszlását az **5. táblázat** mutatja be. A táblázatból kiolvasható, hogy a megvizsgált minták 29,3%-a volt pozitív ($BHB_{Tej} \geq 100 \mu\text{mol/l}$). Az enyhébb ketolakcia ($BHB_{Tej} 100 - 200 \mu\text{mol/l}$) aránya 25,6%, a súlyos pozitív esetek ($\geq 500 \mu\text{mol/l}$) aránya pedig 3,7% volt.

5. táblázat: A tejből mért BHB-értékek kategóriánkénti megoszlása

BHB _{Tej} kategóriák	Minták száma	Arány (%)
BHB ₀	829	49.7
BHB ₅₀	349	21.0
BHB ₁₀₀	316	19.0
BHB ₂₀₀	110	6.6
BHB ₅₀₀	44	2.6
BHB ₁₀₀₀	19	1.1
Összesen	1667	100

A ketolakcia termelési szint, illetve állományméret szerinti prevalenciáját a **6. táblázat** mutatja be.

6. táblázat: A ketolakcia prevalenciája

Csoport	Látzólagos prevalencia	95 % CI	Valódi prevalencia	95 % CI
Termelési szint				
<9000 kg	0,34	0,28 – 0,40	0,43	0,35 – 0,52
>9000 kg	0,38	0,33 – 0,43	0,49	0,41 – 0,57
Állományméret				
<500 tehén	0,34	0,28 – 0,41	0,44	0,35 – 0,53
500 -o 1000 tehén	0,32	0,26 – 0,39	0,41	0,33 – 0,50
> 1000 tehén	0,46	0,38 – 0,55	0,61	0,49 – 0,74

3.1.4.2 Az elemző statisztikai értékelés eredményei

3.1.4.2.1 A ketolakcia és a kockázati tényezők közötti kapcsolat vizsgálata

3.1.4.2.1.1 Állományméret

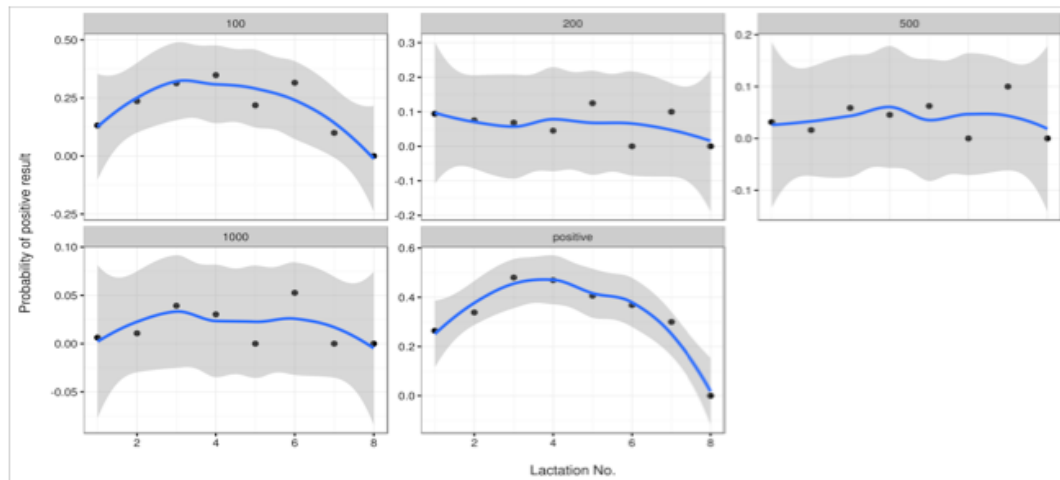
A ketózis kialakulásának esélye magasabb volt a nagyobb létszámú állományok esetében. A legsúlyosabb esetek (BHB₁₀₀₀) csaknem kétszer olyan gyakran fordultak elő a legnagyobb létszámmal (>1000 tehén) működő állományokban, mint a két másik kategóriában (esélyhányados, odds ratio (**OR**): 1,81; 95 % CI: 1,13 – 2,92; p = 0,01101), de több, mint ötször nagyobb eséllyel fordult elő a legnagyobb állományokban a legkisebbekkel összehasonlítva (OR: 5,74; 95 % CI: 1,01 – 59,06; p = 0,02439).

3.1.4.2.1.2 Termelési színvonal

Nem találtunk szignifikáns kapcsolatot a prevalencia és az állomány átlagos tejtermelése (< vagy >9000 kg) között (BHB₁₀₀ p = 0,552; BHB₂₀₀ p = 0,753; BHB₅₀₀ p = 0,651; BHB₁₀₀₀ p = 0,362; BHB_{összes pozitív} p = 0,384).

3.1.4.2.1.3 Ellésszám

Az ellésszám és a pozitív eredmény kialakulásának esélye közötti kapcsolat az **2. ábrán** látható.



2. ábra: Az ellésszám és a pozitívítás kialakulásának esélye közötti kapcsolat a 100, 200, 500 és 1000 $\mu\text{mol/l}$ BHB_{Tej} kategóriákra vonatkozóan

Szignifikáns ($p = 0.01199$), nem lineáris pozitív kapcsolatot találtunk az ellésszám és a pozitív diagnózis valószínűsége között. A pozitívítás valószínűsége a 3. és 4. laktációban volt a legmagasabb (OR: 2,02; 95 % CI: 1,32 – 3,10, $p = 0,0007522$; OR: 1,99; 95 % CI: 1,35 – 2,92, $p = 0,0002814$)

3.1.4.2.1.4 Laktációs napok száma

A pozitív esetek száma a laktáció 10. napja körül volt a legmagasabb. A pozitívítás esélye a laktáció első tíz napjában magasabb volt, mint később (OR: 1,6; 95 % CI: 1,11 – 2,31, $p = 0,008861$).

3.1.4.2.1.5 Ikerellés

A súlyosabb mértékű ketózis (BHB₅₀₀ és BHB₁₀₀₀) kialakulásának valószínűsége magasabb volt az ikervemhes tehenek esetében ($n = 42$), (OR: 4,17; 95 % CI: 1,03 – 12,42, $p = 0,02268$; OR: 4,73; 95 % CI: 0,51 – 21,02, $p = 0,0807$). A kevésbé súlyos (szubklinikai) ketózis BHB₁₀₀, és BHB₂₀₀) esetében ez az összefüggés bár tendenciaszerű volt, de nem szignifikáns.

3.1.4.2.1.6 Nehézellés

Mindössze 37 nehézellés történt a vizsgálat alatt. A többször ellett nehézelléses tehenek körében magasabb volt a legsúlyosabb mértékű pozitívítás (BHB₁₀₀₀) kialakulásának valószínűsége (OR: 10,53; 95 % CI: 1,07 – 52,52, $p = 0,02196$). A további BHB kategóriákban, illetve az első laktációsok körében nem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat.

3.1.4.2.1.7 Vetelés

A mintegy 21 vetélt tehén esetében magasabb volt az enyhébb, szubklinikai ketózis (BHB₁₀₀) kialakulásának esélye (OR: 2,68; 95 % CI: 0,95 – 7,03, p = 0,04295). A további BHB kategóriára nézve azonban nem volt szignifikáns mértékű összefüggés.

3.1.4.2.1.8 MBV és metritis

A MBV-s esetekben (n = 155) szignifikánsan nagyobb volt a ketózis-pozitivitás (BHB_{Tej} ≥ 100 μmol/l) valószínűsége (OR: 1,85; 95 % CI: 1,30-2,63, p = 0,0006). Az egyes pozitivitást jelző kategóriákat külön-külön megvizsgálva csupán a BHB₁₀₀ kategória esetében volt szignifikánsan nagyobb az esélyhányados (OR: 1,94; 95 % CI: 1,31 – 2,84, p = 0,0008).

A méhgyulladásos esetekben (n = 140) viszont nem volt szignifikánsan magasabb a ketózis kialakulásának esélye.

3.1.4.2.1.9 Mastitis

A tőgygyulladásos esetekben (n = 114) a Keto-TestTM pozitív diagnózis (BHB₁₀₀-BHB₁₀₀₀) valószínűsége szignifikánsan magasabb volt (OR: 1,63; 95 % CI: 1,07 – 2,45, p = 0,0186). A pozitív diagnózist jelentő kategóriákat külön megvizsgálva a BHB₁₀₀, BHB₂₀₀ és BHB₁₀₀₀ csoportokban szignifikánsan magasabb esélyhányadost találtunk (OR: 1,66; 95 % CI: 1,04 – 2,60, p = 0,02527; OR: 1,08; 95 % CI: 0,44 – 2,28, p = 0,8443; OR: 2,60; 95 % CI: 0,48 – 9,27, p = 0,1354;), A BHB₅₀₀ kategóriában azonban ez a kapcsolat nem volt felfedezhető (OR: 0,998; 95 % CI: 0,20-3,21, p = 1).

3.1.4.2.1.10 Ellési utáni megfekvés, sántaság

Az ellés utáni megfekvés (n = 16) és a sántaság (n = 41) esetében nem találtunk statisztikailag kimutatható összefüggést a betegség és a ketolaktáz pozitívitas kialakulása között.

3.1.4.2.1.11 Klinikai tünetekben megnyilvánuló ketózis

Jelentősen megemelkedett BHB₅₀₀ és BHB₁₀₀₀ eredményeket sokkal magasabb arányban találtunk a klinikai ketózis tüneteket mutató egyedek (n = 27) esetében, ami várható is volt (BHB₅₀₀: OR: 4,87; 95 % CI: 0,90-17,04, p = 0,03217; BHB₁₀₀₀: OR: 26,17; 95 % CI: 6,79-85,71, p < 0,0001).

3.1.5 Megvitatás

A tejtermelő gazdaságok számára az egyik legnagyobb mértékű veszteséget a hiperketonémia miatt, különösen a laktáció első szakaszában jelentkező alacsony szintű tejtermelés okozza (Duffield és mtsai., 2009). A ketózis miatti veszteségek becsült mértéke, a hivatkozott

közlemény megjelenésének évében érvényes tej átvételi árral számolva, 257 €/tehen/laktáció (Raboisson és mtsai. 2015). Ez egyrészt abból adódik, hogy a ketózisos tehenek kb. 300-500 kilogrammal kevesebb tejet termelnek egy laktációban, mint egészséges társaik. Ezen túlmenően az is megállapítható, hogy a ketózis és az ahhoz kapcsolódó megbetegedések gyógykezelése, illetve az azok miatt végrehajtott selejtezés szintén jelentős költséget jelent (Geishauser és mtsai. 1998, Oetzel 2007, LeBlanc 2012, Mckay 2012, Suthar és mtsai., 2013). Szubklinikai ketózis esetén a tej beltartalma szintén kedvezőtlenül alakul, ami egyrészt további bevételkiesést jelenthet, másrészt a betegség egyik állomány szintű indikátora lehet (Oetzel 2004).

A vizsgálat során magas ketolaktacia prevalenciát sikerült feltárnunk a vizsgált tejelő állományokban. Összességében a laktáció első 30 napjára vetítve a minták 29,3%-a volt pozitív ($\geq 100 \mu\text{mol/l}$). A kapcsolódó szakirodalmi adatok meglehetősen változatosságot mutatnak (7 - 73 %) a szubklinikai ketózis prevalenciájára vonatkozóan (Duffield és mtsai. 1997; Geishauser és mtsai. 1998, Enjalbert és mtsai. 2001, Ingvarsen 2006, Macrae és mtsai. 2006, 2012, McLaren és mtsai. 2006, Mckay 2012, Valergakis és mtsai. 2012, Suthar és mtsai. 2013). Egy, az Egyesült Királyságban végzett, vizsgálat szerint, amelyben kb. 43000 tejtermelő tehenet vizsgáltak meg 1200 állományban, a tehenek 1,4 %-a szenvedett klinikai ketózisban, míg a betegség szubklinikai formája ($1,0-2,9 \text{ mmol/l BHB}_{\text{vér}}$) 27%-ban volt jelen a laktáció 10-20. napja közötti időszakban (Mckay 2012). Egy hazai vizsgálatban a tehenek ($n=294$) 12,9%-ában mértek $>1.4 \text{ mmol/l}$ és 55,2%-ban $>0,8 \text{ mmol/l}$ vér BHB koncentráció értéket (Szelényi és mtsai. 2013). Egy másik, az Egyesült Királyságban végzett felmérés során 15 állományból származó 763 tehenet vizsgáltak meg a tej BHB kimutatásra alkalmas teszttel és a szubklinikai ketózis prevalenciája átlagosan 30 % volt, ami az egyes állományokban 10 % - 60 % között változott (Fletcher 2013). Összességében tehát elmondható, hogy a vizsgálatunk során megállapított 30% körüli prevalencia összhangban áll a legtöbb korábbi kutatás eredményével. Érdemes figyelembe venni, hogy saját vizsgálatunk során csak a tejből határoztuk meg a BHB szintet és a gyártó által ajánlott $100 \mu\text{mol/l}$ határértéket használtuk a pozitív diagnózis felállításához.

A vérben és a tejben mérhető BHB koncentráció között szoros kapcsolat áll fenn ($r=0,89$), emiatt a tej jól használható a ketózis állomány szintű monitorozására (Denis-Robichaud és mtsai. 2014). A vér BHB tartalma ugyanakkor hatszorosa (Denis-Robichaud és mtsai. 2014), illetve nyolcszorosa (Carrier 2007) a tejben mérhető értéknek.

A szubklinikai ketózis megállapításához használt $\text{BHB}_{\text{vér}}$ diagnosztikai határértékre vonatkozóan a szakirodalomban több adat található: $1,0 \mu\text{mol/l}$ (Macrae és mtsai. 2006,

Ospina és mtsai. 2010a,b), 1,2 $\mu\text{mol/l}$ (Geishauser és mtsai. 1998, Leslie és mtsai. 2000), illetve 1,4 $\mu\text{mol/l}$ (Leslie és mtsai. 2000, Carrier és mtsai. 2004). A hazai állományegészségügyi monitoring programokban pedig 0,8 $\mu\text{mol/l}$ határértéket használnak (Brydl és mtsai. 2008, Szelényi és mtsai. 2013). A határérték megválasztását befolyásolja az alkalmazott mérési módszer, de valójában kevésbé befolyásolja az eredmények interpretációját (Oetzel 2007).

Vizsgálatunkban a pozitivitás aránya a 10. laktációs nap körül halmozódott. Ez nagyban egybevághat mások korábbi eredményeivel, amelyekben szintén az ellést követő első és második héten figyelték meg a legmagasabb előfordulási arányt (Duffield és mtsai., 1998, Duffield, 2004, Duffield és mtsai., 2009, Oetzel, 2013). Egy nagy, 25 állományból 1010 tehén bevonásával végzett, ontariói vizsgálat eredménye szerint a szubklinikai ketózis (szérum BHB $>1200 \mu\text{mol/l}$) valószínűsége (esélyhányados, OR) 12,17 és 12,20 volt az első és a második laktációs héten, és a csúcserőérték (24,37 OR) is a második héten regisztráltak, továbbá a kilenc hétig tartó megfigyelés során a kumulatív esélyhányados érték 39,8 volt (Duffield és mtsai. 1998).

Szignifikáns ($p = 0,01199$), nem lineáris pozitív kapcsolatot találtunk az ellésszám és a ketózis kialakulásának esélye között. Az összes általunk regisztrált pozitív esetet megvizsgálva azt találtuk, hogy a ketózis kialakulásának a 3-4. laktációs tehének körében a legnagyobb a valószínűsége.

Az ellésszám fontos meghatározó tényező a ketózis kialakulásának esélye szempontjából (Andersson 1988). Egy 3586 tehén 17 éves (1980-1996) periódus alatt megfigyelt adatait elemző tanulmány szerint a ketózis jelentős mértékben függött az ellésszámtól, és a szerzők a legmagasabb incidenciát szintén a 3-4. laktációban mérték. Ugyanebben a tanulmányban beszámoltak arról is, hogy a ketolaktáció szignifikáns, nem lineáris korrelációban áll az ellésszámmal (Rasmussen és mtsai. 1999).

Vizsgálatunkban a ketózis kialakulásának esélye nagyobb volt az iker magzatot ellő tehének körében, amely harmonizál a más szerzők által publikált eredményekkel (Fricke 2001, Silva-del-Río és mtsai. 2010).

Környezeti és menedzsment tényezők, mint például a hőstressz, az állomány méret, a zsúfoltság, az évszak, a takarmány kiosztás gyakorisága és a napi adag összetétele, a szárazonálló időszak nem megfelelő menedzsmentje, a bendőhámadaptáció hiánya, stb., egyaránt szerepet játszhatnak a metabolikus zavarok kialakulásában, és ez magyarázhatja a ketózis prevalenciájának állományok közötti variációját (Andersson 1988, Leslie és mtsai. 2000, Brydl és mtsai. 2008). Az állományméret és a termelési szint ketózisra gyakorolt

hatásának vizsgálatát korábbi munkák inspirálták (Leslie és mtsai. 2000). Hasonlóan mások eredményeihez pozitív korrelációt találtunk az állomány méret és a ketózis kialakulásának kockázata között (Stengärde és mtsai. 2012). A kisebb állományokkal rendelkező gazdálkodók túl-, míg a nagyobb állományokkal rendelkezők alulbecsülték a klinikai ketózis incidenciáját (Oetzel 2013). Feltételezzük, hogy nagyobb állományok (> 1000 tehén) esetében a gondozók és az állattartók figyelme megosztottabb az állatok nagyobb száma miatt, ezért kevesebb figyelem jut az egyedekre, amely növeli a nem észlelt, így nem is regisztrált, esetek valószínűségét. Nagyobb állományokban emellett nehezebb is úgy kialakítani a termelési rendszert, hogy az minden állat igényeit kielégítse.

Eredményeink alapján nem volt megállapítható, hogy az állomány termelési szintje befolyásolná a ketózis kialakulásának kockázatát. Ez is összhangban van egyes korábbi eredményekkel (Stengärde és mtsai. 2012). McKay (2012) is bemutatta, hogy nincs közvetlen kapcsolat a ketózis és a tejtermelés mértéke között. Figyelembe kell azonban venni, hogy vizsgálatunk nem az egyedek termelésének tükrében vizsgálta a ketózis kockázatát, hanem a 305 napra korrigált lezárt laktációk állományra vetített átlaga alapján, így e vizsgálat eredménye alapján nem állíthatjuk, hogy a tejtermelés nem befolyásolja a ketózis kockázatát.

Szintén összhangban a korábbi kutatások eredményével (Duffield és mtsai., 2009, Könyves és mtsai., 2009a, b, Fletcher, 2013), mi is azt találtuk, hogy a BHB koncentrációjának emelkedése és a vetélés, nehézellés, MBV és a klinikai mastitis között kapcsolat van.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a ketózis kialakulása nagylétszámú tejtermelő szarvasmarha állományokban a laktáció 10 napja körüli időszakban, és a 3-4. laktációban a legvalószínűbb. Azt is megállapítottuk, hogy nagyobb létszámú állományokban magasabb a ketózis prevalenciája. A vizsgálat eredményei alapján megállapítható volt továbbá a ketolakcia és a nehézellés, a MBV és a mastitis közötti kapcsolat is. Emellett azt is megállapítottuk, hogy ikerellés esetén nagyobb a ketózis kialakulásának kockázata.

A ketózis az energiaforgalom zavara, azaz a NEB, miatt alakul ki, így a metabolikus stressz egyik tünete. Mivel a metabolikus stressz és az OS közötti kapcsolat jól ismert, ezért az OS-prevenció egyik fontos eleme lehet a ketózis idejekorán történő felismerését célzó állomány-egészségügyi monitoring programok megvalósítása.

3.2 Második vizsgálat

3.2.1 A vizsgálat megnevezése

A redox státusz vizsgálata tejtermelő tehenekben a dROM, és PAT plazma paraméterek és az OSI meghatározásával.

3.2.2 A vizsgálat elvégzésének indoklása

Második vizsgálatunkban azt kutattuk, hogy a tejlő szarvasmarhák egyes jól elkülöníthető élettani és termelési szakaszaiban - úgymint az előkészítés (ellés -21 nap), az ellés (ellés+7 nap), a fogadó (7-30. nap) és a csúcstermelés (30-150. nap) időszakában - miként változik a tehenek vérplazmájának redox státusza, továbbá van-e különbség a dROM, PAT és OSI értékekben az egyes élettani és termelési szakaszok függvényében. Célul tűztük ki az általunk vizsgált redox paraméterek referencia értéktartományainak meghatározását is.

3.2.3 Anyag és Módszer

3.2.3.1 Mintavétel

A vizsgálatok 40 hazai nagy létszámú (248 - 2841 / tehen / állomány) tejtermelő állományban történtek 2017. március és 2019. április közötti időszakban (**3. ábra**).



3. ábra: A vizsgálati helyszínek ábrázolása Magyarországn térképén

A vérmintavételek (n=628) mindig olyan, véletlenszerűen kiválasztott állatokból történtek, amelyek a mintavétel napján aktuálisan az előkészítő (EK; -21 – -1 nap postpartum; n = 117), az ellető (ELL; 0 – 7 nap postpartum; n = 137), a fogadó (FO; 8-30 nap postpartum; n = 139) és a csúcstermelés időszakokban (CSL; 31 – 150 nap postpartum; n = 235) csoportokban voltak. A vizsgált csoportoknál nem azonos állatokat követtünk nyomon, hanem az egyes mintavételek során az adott időpontban azonos élettani állapotban lévő állatokból történtek a mintavételek.

A vizsgálatba vont állatok a mintavételkor és az azt megelőző két hétben klinikailag egészségesek voltak, ezzel biztosítva a referenciaérték-tartomány számítás feltételeit az *American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP)* ajánlásának megfelelően (Friedrichs és mtsai., 2012).

Az állatokat kötetlen tartású istállóban tartották és *ad-libitum* fogyaszthattak az adott élettani, termelési szakasz igényeihez igazított és a telepi szakemberek által rendszeresen ellenőrzött TMR-t. Az EK-ben a tehenek átmenet nélkül, az áthelyezés napjától kapták a csoport számára összeállított takarmányadagot. Mivel a bendőflóra új takarmányokhoz történő teljes adaptációjához több hétre van szükség, gyakorlatilag minden, a csoportban lévő tehen az alkalmazkodás valamely szakaszában volt, ezért az EK csoportot takarmányozási szempontból egy egységnek tekintettük.

A mintavételek a reggeli etetés után 3 – 5 órával történtek. Ehhez az állatokat egyedi kezelőállásban rögzítették, maximum 30 perc időtartamra. A vérvétel (10ml) 15G x 1 ½” egyszerhasználatos tűvel a tőgyvénából (*vena epigastrica superficialis*) történt Nátrium-heparinnal preparált üvegcsővekbe. A minták a levételt követően azonnal 4°C-ra lehűtve kerültek a laboratóriumba. A minták laboratóriumi vizsgálata 12 – 24 órán belül megtörtént a tesztet gyártó útmutatásait követve (H and D, 2015): (1) A dROM mérésére a vérmintákból a vérplazmát a műszer beépített centrifugájával szeparáltuk (6000 fordulat/perc 90 másodpercig), majd 10 µl plazmához adtuk az "R2" kromogén reagenst (*N, N-dietil-parafeniléndiamin*), majd 10 másodperc múlva áttöltöttük a tesztbe biztosított küvetta, amelyben az átmeneti fém ion keletkezése katalizálta a hidroperoxidok lebontását, reaktív anyagok mint például a hidroperoxid és az alkoxid gyökök keletkezése mellett. A mintában lévő hidroperoxidok mennyiségi meghatározása fotometriával történt a minta 505 nm-en. Az olvasási folyamat 300 másodpercig tartott, majd a dROM eredmény leolvasható volt a kijelzőről. (2) A PAT-koncentráció vizsgálatához 40 µL "R1" reagenst (tiokianát származék előre adagolt oldatból) adtuk a 10 µL plazmához. A leolvasás 505 nm-en 60 másodperc után volt lehetséges.

A vérplazma mintákból Unicam Helios Gamma (Unicam Ltd., Cambridge, Egyesült Királyság) automata mintaadagolóval ellátott fotométer használatával meghatároztuk a vérplazma NEFA koncentrációját. A vizsgálat során a szabad zsírsavak réznitráttal komplexet képeznek, szerves oldószer eleggyel kirázhatók, a zsírsavakkal stöchiometrikus mennyiségű réz-dietilditio karbamáttal sárga színű komplexet képez, ami fotometriás módszerrel mérhető (Noma és mtsai., 1973).

A vérplazma BHB koncentrációját kinetikus enzimátikus módszerrel határoztuk meg, melynek során a 3-hydroxybutirát dehydrogenáz enzim a D-3-hydroxybutirátot acetoacetáttá oxidálja (McMurray és mtsai., 1984). A méréseket Autohumalyser 900S Plus klinikai-kémiai analizátorral (Hunam GmbH, Wiesbaden, Németország) végeztük.

A vérplazma Cu koncentrációját Perkin Elmer Optima 8300 DV készülékkel (Perkin Elmer Inc. Waltham, MA, USA), ICP-OES módszerrel határozzuk meg a 324,752 nm-es analitikai vonalon, 1 mg/l koncentrációjú belső standard oldat alkalmazása mellett.

Az AST enzimaktivitási értéket Autohumalyser 900S Plus klinikai-kémiai analizátorral (Hunam GmbH, Wiesbaden, Németország) határoztuk meg. A módszert alapja, hogy az AST enzim hatására a 2-ketoglutarát L-glutamáttá alakul, miközben végbemegy az L-aszparát - oxalacetát átalakulás. Az oxalacetátból malonsavdehydrogenáz hatására malát képződik. A kapcsolt NADH +H - NAD reakció spektrofotometriás követésével az AST enzimaktivitás mérhető (Wallnöfer, és mtsai., 1974).

A vérplazma össz-karotin koncentrációt spektrofotometriás extrakciós módszerrel határozzuk meg (Davis és Madsen, 1941).

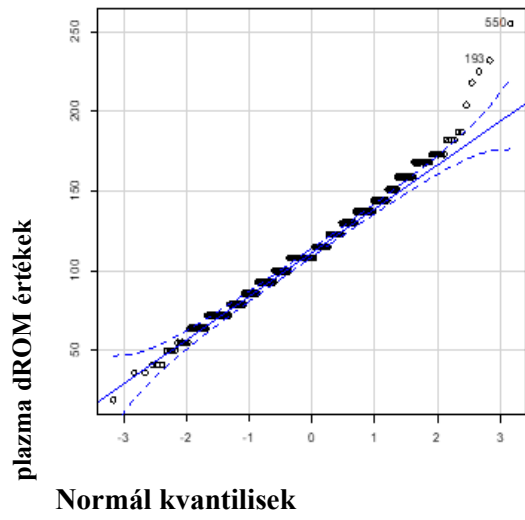
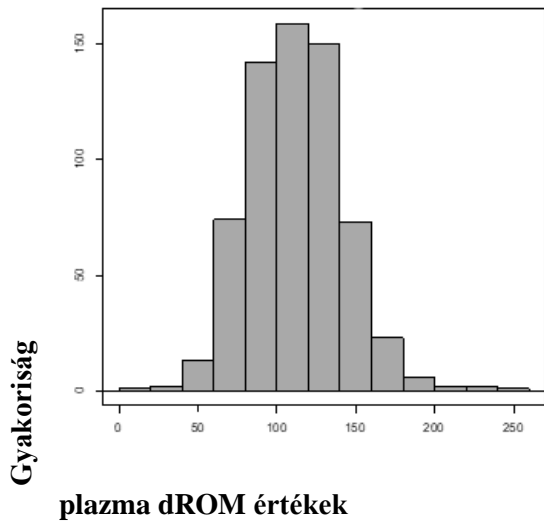
A mérési eredmények tárolása és elsődleges feldolgozása Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) programmal történt.

3.2.3.2 Statisztikai vizsgálatok

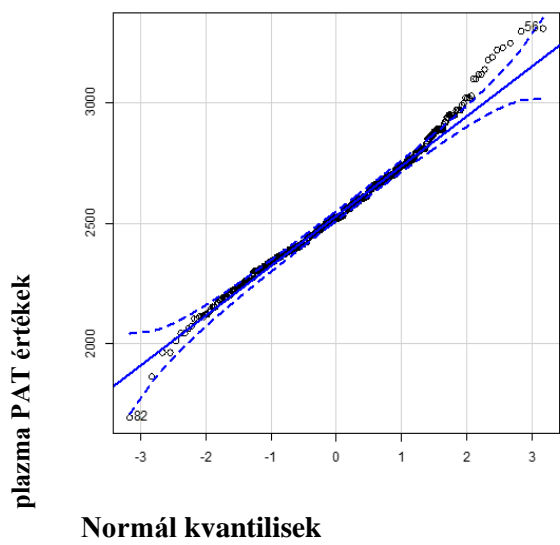
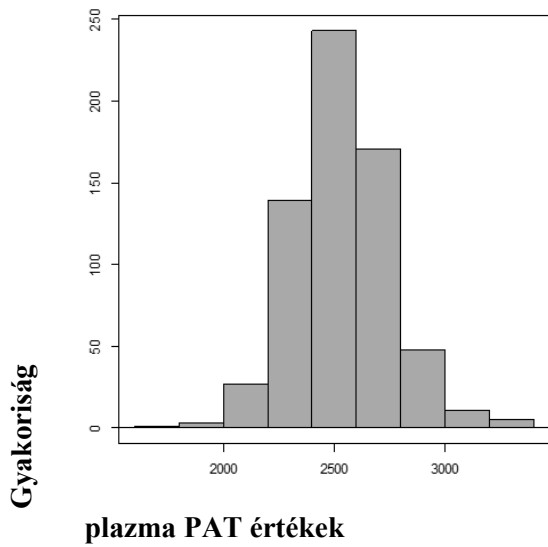
Az adatok leíró és analizáló statisztikai értékelése az R statisztikai program 3. 3. 1. verziójával történt (R Core Team, 2018), melynek során az adatok eloszlását Saphiro-Wilk teszt használatával (Shapiro és Wilk, 1965), illetve az átlag és szórásértékek csoportok közötti varianciáját ANOVA (Fisher, 1925) és Tukey (Tukey, 1949) tesztekkel vizsgáltuk.

3.2.4 Eredmények

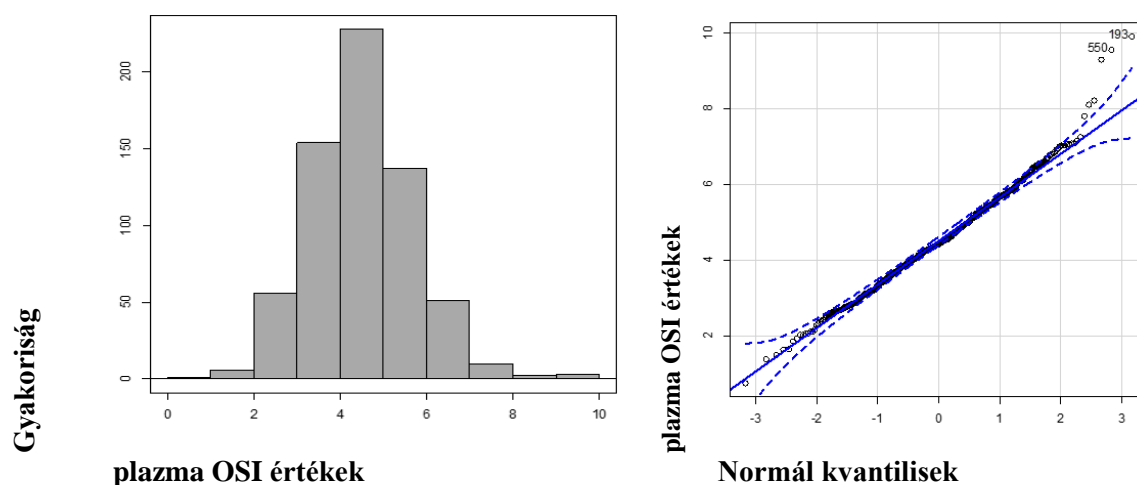
A dROM, PAT és OSI adatok normál eloszlást mutattak, amelyet Saphiro-Wilk teszttel, hisztogramokkal és Q- Q plot ábrákkal állapítottunk meg (**4., 5., 6. ábra**).



4. ábra: a dROM értékek statisztikai eloszlása (Saphiro-Wilk teszt $p < 0,0001$)



5. ábra: A PAT értékek statisztikai eloszlása (Saphiro-Wilk teszt $p < 0,0001$)



6. ábra: Az OSI értékek statisztikai eloszlása (Saphiro-Wilk teszt $p < 0,0001$)

A dROM, PAT és OSI értékek átlag- és szórásértékeit a **7. táblázat** mutatja be.

7. táblázat: A dROM, PAT és OSI átlag és szórásértékek csoportonként

Csoport / OS paraméter	EK (n=117)	ELL (n=137)	FO (n=139)	CSL (n=235)
dROM [U. Carr] átlag (szórás)	112 (23)	133 (31)	114 (28)	104 (28)
PAT [U. Cor] átlag (szórás)	2533 (256)	2520 (205)	2550 (240)	2538 (187)
OSI átlag (szórás)	4,44 (0,89)	5,30 (1,23)	4,48 (1,16)	4,10 (1,11)

EK = előkészítő, ELL=ellető, FO=fogadó, CSL= csücszlaktáció

Az adatok vizsgálata laktációs szám szerinti bontásban is megtörtént. Az első laktációs ($n = 195$) és a két vagy több alkalommal ellett ($n = 433$) tehenek értékei szignifikánsan különböztek ($p < 0,05$), (**8. táblázat**). Ennek megfelelően a további elemzések laktációs szám szerinti bontásban történtek.

8. táblázat: A dROM, PAT és OSI átlagok korosztályok közötti különbsége

OS paraméter / laktációs szám	1. laktációs (n=195)	2+. laktációs (n=433)	p-érték*
dROM [U. Carr] átlag (szórás)	119 (30)	112 (29)	<u>0,0184</u>
PAT [U.Cor] átlag (szórás)	2539 (197)	2541 (219)	0,99
OSI átlag (szórás)	4,71 (1,24)	4,42 (1,16)	<u>0,0132</u>

2+ laktációs = ≥ 2 alkalommal ellettek

A dROM és OSI értékekben több esetben is szignifikáns különbség ($p < 0,05$) volt, azonban a PAT értékek különbségét nem igazolta a statisztikai vizsgálat egyetlen esetben sem. (9. és 10. táblázat).

9. táblázat: A dROM, PAT és OSI átlagok összehasonlítása korosztályonként

		EK 1 L (n=42)	EK 2+ L (n=75)	ELL 1 L (n=47)	ELL 2+ L (n=90)	FO 1 L (n=48)	FO 2+ L (n=91)	CSL 1 L (n=58)	CSL 2+ L (n=177)
dROM	átlag	114	112	141	129	121	109	103	104
(szórás)	[U. Carr]	(22)	(23)	(25)	(33)	(31)	(27)	(29)	(27)
p-érték		0,844		<u>0,0357</u>		<u>0,0358</u>		0,768	
PAT	átlag	2514	2554	2523	2522	2542	2567	2549	2531
(szórás)	[u.Cor]	(202)	(275)	(194)	(214)	(229)	(243)	(188)	(184)
p-érték		0,869		0,983		0,581		0,536	
OSI	átlag	4,57	4,43	5,58	5,14	4,79	4,28	4,05	4,10
(szórás)		(0,88)	(0,90)	(0,94)	(1,31)	(1,29)	(1,08)	(1,21)	(1,06)
p-érték		0,756		<u>0,0414</u>		<u>0,0232</u>		0,764	

EK = előkészítő, ELL=ellető, FO=fogadó, CSL= csúcslaktáció; 1 L= első laktációsok, 2+ L= ≥ 2 alkalommal ellettek

10. táblázat: A dROM, PAT és OSI átlagok csoportonkénti összehasonlítása

	p-érték					
	dROM		PAT		OSI	
	1L	2+L	1L	2+ L	1L	2+ L
EK - ELL	<u><0,01</u>	<u><0,001</u>	0,979	0,794	<u><0,001</u>	<u><0,001</u>
EK - FO	0,74561	0,908	1,000	0,984	0,72477	0,845
EK - CSL	0,13320	0,112	0,997	0,878	0,15873	0,136
ELL - FO	<u>0,00264</u>	<u><0,001</u>	0,965	0,574	<u>0,00334</u>	<u><0,001</u>
ELL - CSL	<u><0,001</u>	<u><0,001</u>	0,913	0,989	<u><0,001</u>	<u><0,001</u>
FO - CSL	<u>0,00424</u>	0,489	0,998	0,654	<u>0,00517</u>	0,655

EK = előkészítő, ELL=ellető, FO=fogadó, CSL= csúcslaktáció; 1L= első laktációsok, 2+L= ≥ 2 alkalommal ellettek

Mivel a megfigyelt változók normál (Gauss-féle) eloszlást mutattak, a referencia tartományok számítása átlag \pm 2SD számítással történt (PetitClerc és Solberg, 1987, Bland, 2000, Szabó és Vásárhelyi, 2015). Az egyes csoportokhoz kalkulált értékeket a **11. táblázat** mutatja be.

11. táblázat: Becsült referencia tartományok a dROM, PAT és OSI paraméterekre

	EK (n=117)	ELL 1 L (n=47)	ELL 2+ L (n=90)	FO 1 L (n=48)	FO 2+ L (n=91)	CSL (n=235)
Átlag dROM [U. Carr] (szórás)	112 (23)	141 (25)	129 (33)	121 (31)	109 (27)	104 (28)
dROM referencia tartomány	66- 158	91- 191	63- 195	59- 183	55- 163	48- 160
Átlag OSI (szórás)	4,44 (0,89)	5,58 (0,94)	5,14 (1,31)	4,79 (1,29)	4,28 (1,08)	4,10 (1,11)
OSI referencia tartomány	2,64- 6,22	3,70- 7,46	2,52- 7,76	2,21- 7,37	2,12- 6,44	1,88- 6,32
Átlag PAT [U. Cor] (szórás)	2533 (256)	2523 (194)	2522 (214)	2542 (229)	2567 (243)	2538 (187)
PAT referencia tartomány	2021- 3045	2135- 2911	2094- 2950	2084- 3000	2081- 3053	2164- 2912

EK = előkészítő, ELL=ellető, FO=fogadó, CSL= csúclaktáció; 1 L= első laktációsok, 2+ L= ≥ 2 alkalommal ellettek

Összehasonlító statisztikai elemzést végeztünk arra irányulóan, hogy az OS paraméterek (dROM, PAT és OSI) átlagai különböztek-e az egészséges állatokban a hiperketonémiás, fokozott zsírmobilizációt mutató, illetve emelkedett AST és Cu koncentrációval rendelkező teheneekben. A vizsgálat eredményét a **12 – 16. táblázatok** tartalmazzák.

12. táblázat: Egyes anyagforgalmi paraméterek és a dROM értékek kapcsolata

Vizsgálati szempont/ átlag dROM [U. Carr mmol/l]	Pozitív	Negatív	p-érték
Hiperketonémia [,+', ha BHB >0,8 mmol/l]	116 (\pm 34) n= 40	110 (\pm 29) n= 190	0,251
Zsírmobilizáció [,+', ha NEFA > 0,2 mmol/l]	131 (\pm 34) n= 22	109 (\pm 29) n= 208	0,001
Máj egészségi állapota [,+', ha AST > 80 U/l]	115 (\pm 34) n= 94	108 (\pm 27) n= 136	0,124
Karotin hiány [,+', ha karotin <5,6 umol/l]	112 (\pm 31) n= 199	107 (\pm 23) n= 31	0,389
Réztöbblet [,+', ha Cu > 18,9 umol/l]	144 (\pm 33) n= 7	110 (\pm 29) n= 223	0,003

13. táblázat: Egyes anyagforgalmi paraméterek és a PAT értékek kapcsolata

Vizsgálati szempont/ átlag PAT [u.cor mmol/l]	Pozitív	Negatív	p-érték
Hiperketonémia [,+', ha BHB >0,8 mmol/l]	2728 (± 293) n= 40	2585 (± 272) n= 190	0,003
Zsirmobilizáció [,+', ha NEFA > 0,2 mmol/l]	2700 (± 345) n= 22	2600 (± 272) n= 208	0,113
Máj egészségi állapota [,+', ha AST > 80 U/l]	2654 (± 273) n= 94	2580 (± 282) n= 136	0,048
Karotin hiány [,+', ha karotin <5,6 umol/l]	2592 (± 284) n= 199	2726 (± 227) n= 31	0,013
Réztöbblet [,+', ha Cu > 18,9 umol/l]	2932 (± 167) n= 7	2600 (± 277) n= 223	0,002

14. táblázat: Egyes anyagforgalmi paraméterek és az OSI értékek kapcsolat

Vizsgálati szempont/ átlag OSI	Pozitív	Negatív	p-érték
Hiperketonémia [,+', ha BHB >0,8 mmol/l]	3,42 (± 1,39) n= 40	2,93 (± 1,12) n= 190	0,018
Zsirmobilizáció [,+', ha NEFA > 0,2 mmol/l]	4,01 (± 1,72) n= 22	2,91 (± 1,06) n= 208	<0,001
Máj egészségi állapota [,+', ha AST > 80 U/l]	3,12 (± 1,32) n= 94	2,94 (± 1,08) n= 136	0,245
Karotin hiány [,+', ha karotin <5,6 umol/l]	3,03 (± 1,23) n= 199	2,92 (± 0,77) n= 31	0,630
Réztöbblet [,+', ha Cu > 18,9 umol/l]	4,92 (± 1,20) n= 7	2,96 (± 1,13) n= 223	<0,001

15. táblázat: Egyes magas dROM értékre hajlamosító tényezők vizsgálata

Magas dROM értéket okozó kockázati tényező	OR	95% CI	p-érték
Gyenge kondíció (BCS<2.5)	0,4595965	0,04848327-2,18909108	0,3064
Túlzott kondíció (BCS>3.5)	1,345913	0,1407891-5,29355942	0,7034
Magas NEFA (\geq 0,2 mmol/l)	0,7463625	0,01706477-4,5256510	0,7801
Magas BHB (\geq 0,8 mmol/l)	1,200686	0,2060506-4,9045314	0,7299
Magas réz koncentráció (>18,9 μ mol/l)	68,00462	9,647211-293,988284	<0,0001

16. táblázat: Egyes magas OSI értékre hajlamosító tényezők vizsgálata

Magas OSI értéket okozó kockázati tényező	OR	95% CI	p-érték
Gyenge kondíció (BCS<2.5)	0,6102301	0,1444266-1,9754421	0,3838
Túlzott kondíció (BCS>3.5)	0,3796877	0,008987845-2,475633851	0,3304
Magas NEFA (\geq 0,2 mmol/l)	1,033283	0,1131003-4,5256510	0,9656
Magas BHB (\geq 0,8 mmol/l)	1,36049	0,3760626-4,0968128	0,5681
Magas réz koncentráció (>18,9 μ mol/l)	18,1173	5,960525-65,929510	<0,0001

3.2.5 Megvitatás

Az ellés körüli időszak jelentősen megterheli a tehenek szervezetét és megfigyelhető, hogy az anyagforgalmi- és a fertőző eredetű megbetegedések túlnyomó többsége is ebben az

időszakban jelentkezik (Goff és Horst, 1997). Az OS bizonyítottan szerepet játszik az egyes megbetegedések kialakulásában és súlyosbodásában (Abuelo és mtsai., 2013).

Amikor a szervezet redox-homeosztázisa felborul, a túlsúlyba kerülő ROS-ok miatt súlyos sejtkárosító folyamatok indulnak meg, veszélyeztetve ezzel az állatok általános egészségi állapotát (Abuelo és mtsai., 2015). Ennek veszélye magasabb lehet az ellés körüli időszakban, aminek magyarázata lehet a NEB miatt kialakuló metabolikus stressz (Sordillo és Aitken, 2009). A NEB kompenzálására ugyanis intenzívebbé válnak az energiatermelő anyagcsere folyamatok, aminek következtében nagyobb valószínűséggel keletkeznek ROS anyagok. Jelen vizsgálat eredményei alapján azonban nem ez volt a legveszélyesebb időszak, mivel bár enyhe emelkedés látszott az első laktációs és a többször ellett tehenek esetében is (121 ± 31 és 109 ± 27 U. Carr), ez nem különbözött szignifikáns mértékben ($p > 0.05$) az előkészítő időszakban mért adatoktól (114 ± 22 and 112 ± 23 U. Carr), (**9. táblázat**). A fogadó időszakban mért dROM átlagértékek ugyanakkor szignifikánsan különböztek ($p < 0,01$) az elletőben és a csúcslaktáció időszakában lévő tehenek adataitól (**10. táblázat**). Ez összhangban van azzal, hogy a ketolakcia előfordulásának meghatározására irányuló vizsgálatunkban a fogadó időszakban találtuk a legmagasabb prevalenciát, tehát mi is kimutattuk mind az ekkor jelentkező metabolikus stresszt, mind az ennek következtében kialakuló OS gyakoribb előfordulását a fogadó időszakban.

Az adatok azt mutatták, hogy közvetlenül az ellés körüli időszakban volt a legnagyobb kockázata az OS kialakulásának, mivel ilyenkor volt a legmagasabb a dROM és az OSI értéke mindkét korosztályban (dROM: 141 ± 25 és 129 ± 33 U. Carr; OSI: $5,58 \pm 0,94$ és $5,14 \pm 1,31$), (**9. táblázat**). Ez a megfigyelés összhangban van azon korábbi kutatások eredményeivel, amelyek bizonyították, hogy az elléskor/megszületéskor nagyobb az OS kialakulásának veszélye mind a tehenekben, mind az újszülöttekben (Castillo és mtsai., 2005, Gaál és mtsai., 2006, Albera és Kankofer, 2011). Megnövekedett mitokondriális aktivitás figyelhető meg nőkben is a várandósság időszakában, aminek következtében fokozódik a ROS képződés (Wisdom és mtsai., 1991, Albera és Kankofer, 2011) és feltételezhető, hogy ez más emlős fajokban is érvényesül. Az elléssel járó fizikai igénybevétel szintén hozzájárul a fenti metabolikus változásokhoz, így ennek is szerepe lehet a megnövekedett ROS képződésben (Miller és mtsai., 1993, Albera és Kankofer, 2011). Megszületéskor a légzés megindulásának hatására (Halliwell and Gutteridge 2015, Covarrubias és mtsai., 2008) és a fokozódó oxigén terhelés miatt kialakuló lipid-peroxidáció következtében (Castillo és mtsai., 2005) magasabb arányban képződnek ROS anyagok az újszülöttek szervezetében.

A tőgy mirigyállományának intenzív proliferációja és a kolosztrum-, majd ezt követően a tejelválasztás jelentősen megterheli a tehenek szervezetét (Goff és Horst, 1997). Emellett a tehenek jelentős mennyiségű AO anyagot használnak fel a kolosztrum termeléshez (Goff és Horst, 1997). Ennek következményeként ebben az időszakban jelentősen csökken a főbb AO-k, mint például az A- és E vitamin koncentrációja a szervezetben (Goff és Stabel, 1990), amelynek következtében az AO védelmi kapacitás már nem elegendő a fokozódó ROS képződés ellensúlyozására. Mindezek a hajlamosító tényezők magyarázzák, hogy miért alakul ki nagyobb eséllyel OS az ellés körüli időszakban, amit a jelen vizsgálatban mért magasabb dROM és OSI koncentrációk is jeleztek (**9. táblázat**).

A legalacsonyabb dROM (első laktációsok: 103 ± 29 és többször ellettek: 104 ± 27 U. Carr) és OSI értékek (első laktációsok $4,05 \pm 1,21$ és többször ellettek: $4,10 \pm 1,06$) a csúcstermelés időszakában voltak mérhetőek (**9. táblázat**). Az ekkor mért dROM és OSI értékek szignifikánsan különböztek az elletőben és a fogadóban mért értékektől (**10. táblázat**). Ez egybevág egyes korábbi kutatások eredményével, amelyből arra következtethetünk, hogy az ebben az időszakban rendszerint már stabilizálódott a metabolikus egyensúly, amely a jobb AO státuszban is megnyilvánul (Castillo és mtsai., 2006, Konvičná és mtsai., 2015).

Az egyes csoportok összehasonlítása során statisztikailag kimutatható különbségek voltak a dROM- és az OSI-értékekben, emiatt helyénvalónak tűnt a különbséget mutató laktációs időszakok figyelembevételével meghatározni a referenciatartományokat. Az elletőben mért dROM és OSI értékek például szignifikánsan eltértek a többi időszakban mért értékektől, ezért a referencia tartományok megállapítása is ennek figyelembevételével történt (**11. táblázat**), ezzel biztosítva az élettani, illetve laktációs stádium figyelembevételét az eredmények interpretálása során.

A PAT biomarker saját vizsgálatunkban nem mutatott statisztikai különbséget az egyes termelési csoportok között (**10. táblázat**). Ennek okát nem tárta fel a vizsgálat, emiatt érdekes kutatási terület lehet a jövőben.

Az összefüggés vizsgálatok érdekes kapcsolatot tártak fel az általunk vizsgált OS paraméterek (dROM, PAT és OSI) és a hiperketonémia, a fokozott zsírmobilizáció, az emelkedett AST enzimaktivitás, illetve plazma Cu és összkarotin koncentrációi között. A dROM átlagértékek szignifikánsan magasabbak voltak a fokozott zsírmobilizációt (NEFA > 0,2 mmol/l, $p = 0,001$) és magas Cu koncentrációt (Cu > 18,9 $\mu\text{mol/l}$, $p = 0,003$) mutató állatokban a normál értéket mutató társaikhoz viszonyítva (**12. táblázat**). Ehhez hasonlóan az OSI értékek is magasabbak voltak az emelkedett NEFA értéket mutató ($p < 0,001$) és a magas Cu koncentrációjú (p

<0,001) állatokban, sőt még emelkedett BHB szint esetén is (BHB > 0,8 mmol/l, p= 0,018), **(14. táblázat)**.

A PAT átlagok is szignifikánsan különböztek magas BHB koncentráció (p= 0,003), karotin hiány (vér karotin <5,6 mmol/l, p= 0,013) és réz többlet (p= 0,002) esetén, de az emelkedett AST (>80 U/l) esetén is magasabb volt, azonban ez csak éppen elérte a szignifikancia határát (p= 0,048). **(13. táblázat)**.

Fokozott zsírmobilizáció során nő a vérben a szabad zsírsavak koncentrációja, ami elsődleges szubsztrátot jelent a lipidek peroxidációs folyamataihoz (Miller és mtsai., 1993), ezért várható volt, hogy a dROM és az ebből számított OSI értéke is magasabb az ilyen állatokban. Ezt találták korábbi vizsgálatok során is, amikor megállapították, hogy az ellés körüli időszakban lévő tehenekben a megemelkedett NEFA koncentráció súlyosbíthatja a gyulladós folyamatokat és az OS-t. A máj nagyobb NEFA felvétele miatt ugyanis fokozódnak a hepatikus peroxisomális oxidációs folyamatok, ami növeli a májsejtek teljes oxidatív kapacitását, amelynek következtében több H₂O₂ képződik, amely adekvát CAT aktivitás hiányában eszkalálhatja a ROS akkumulációt a magas NEFA koncentrációval jellemezhető időszakban (Drackley, 1999). Érdekes itt kitérni arra is, hogy vizsgálatunkban a máj egészségi állapotára utaló AST érték emelkedése esetén nem szignifikáns mértékben ugyan, de magasabb volt a dROM és OSI értéke, a PAT értéke viszont gyengén szignifikáns mértékben magasabb volt (p= 0,048).

Ismert, hogy az OS az előzőekkel összefüggésben fokozza az ún. „pro-inflammatikus fenotípus” kialakulását és befolyásolja a pro-inflamatorikus eicosanoidok bioszintézisét szarvasmarhák endotel sejtjeiben, aminek következtében az ellés körüli időszakban lévő tehenekben fokozott szisztémás gyulladós állapot alakulhat ki, amely hajlamosíthat mind a metabolikus, mind a fertőző eredetű megbetegedések kialakulására (Sordillo és Aitken, 2009, Sordillo és mtsai., 2009 [b], Sordillo és Raphael, 2013). Ezek a megállapítások ráirányítják a figyelmet annak fontosságára, hogy érdemes volna mielőbb meghatározni az OS prediktív diagnosztikai értékét az ellés körüli időszakban előforduló betegségekre vonatkozóan.

A vizsgálat során azt találtuk, hogy azokban az állatokban, amelyekben a plazma réztartalma magasabb volt a megengedettnél (18,9 µmol/l), szignifikánsan magasabb volt a vér dROM (144 (± 33) vs 110 (± 29) U. Carr, p= 0,003), PAT (2932 (± 167) vs 2600 (± 277) U. Cor), p= 0,003) és OSI értéke (4,92 (± 1,2) vs 2,96 (± 1,13), p <0,001) is **(12., 13., 14. táblázatok)**. A magasabb átlagértékek mellett annak kockázata, hogy a normálérték tartománynál magasabb lesz a dROM (OR: 68,00462, 95% CI: 9,647211-293,98828, p <0,001), **(15. táblázat)** és az OSI (OR: 18,1173, 95% CI: 5,960525-65,929510, p <0,001), **(16. táblázat)** értéke szintén

kimutatható volt az adatokból. A plazma magas réz koncentrációja és az OS közötti kapcsolat megértését célszerű azzal kezdeni, hogy a réz fontos AO hatású mikroelem, mivel az enzimikus AO védelmi rendszer bizonyos elemeinek fő funkcionális alkotója, hiszen például a Cu/Zn SOD dizmutáló kapacitása, azaz, hogy a $O_2^{\bullet-}$ -t H_2O_2 -á redukálja, egyértelműen Cu és Zn függő (Mavangira és Sordillo, 2017). A szervezet teljes AO kapacitása nagyban függ az enzimikus AO védelmi rendszer működésétől, ezért rézhiányos állapot hajlamosíthat az OS kialakulására (Xinhuan és mtsai., 2017).

A réz főként fehérjékhez (pl. ceruloplazmin, ALB) kötött és a vizsgálatunkban alkalmazott módszer nem volt alkalmas a szabad és kötött réz mennyiségi elkülönítésére, feltételezhető, hogy a kiválasztott normálértékhez mérten magasabb koncentráció esetén volt annyi szabad réz jelen a vérplazmában, hogy a Fenton-típusú reakció révén katalizálhatja a hidroxil-gyökök képződését. Mind a heveny, mind a krónikus réz túladagolás esetén fokozódhat a sejtek oxidatív károsodása.

Ezek alapján látható, hogy a réz hiánya mellett a réz túlzott jelenléte is éppannyira káros lehet.

Az oxidatív sejtkárosodás jeleit mutatták ki réz akkumulálódás esetén holstein-fríz tehének májában (Lyman és mtsai., 2015). Érdeemes megjegyezni, hogy a réz számos más táplálékanyaggal kölcsönhatást mutat, például az E-vitamin mérsékli, az aszkorbinsav viszont súlyosbíthatja a réz által indukált oxidatív sejtkárosodásokat. A cink leszoríthatja a réz annak kötőhelyéről, így a szabad állapotban lévő réz katalizálhatja reaktív anyagok képződését. A béta-karotin, az alfa-liponsav és a polifenolok mérséklék a réz által indukált oxidatív sejtkárosodásokat (Gaetke és Chow, 2003). Itt érdemes utalni arra is, hogy vizsgálatunkban is alacsonyabb PAT átlagértéket mértünk azokban az állatokban, amelyek hiányos béta-karotin ellátottságot mutattak (PAT= 2592 ± 284 vs 2726 ± 227 , $p=0,013$), (**13. táblázat**).

3.3 Harmadik vizsgálat

3.3.1 A vizsgálat megnevezése

A harmadik vizsgálatban felmértük a borjak redox státuszában bekövetkező változásokat az itatásos borjúnevelés időszakában, 3-8; 14-16; 21-25 és 42-74 napos életkorban. Elemeztük továbbá a vizsgált redox (dROM, PAT, OSI) és egyes metabolikus (ALB, TP, BUN, GLU, BHB, AST) változók közötti kapcsolatot.

3.3.2 A vizsgálat elvégzésének indoklása

A vizsgálat célja a borjak redox státuszának nyomon követése a tejtáplálás időszakában és annak vizsgálata, hogy a szervezet AO védelmi kapacitása elegendő-e a ROS ártalmatlanítására, vagy pedig az AO/ROS egyensúly zavartsága miatt az alkalmazott technológia mellett számítani lehet ebben az időszakban az OS kialakulására. Ezen kívül a vizsgálat kiterjedt néhány metabolikus paraméter (ALB, TP, BUN, GLU, BHB, AST) és az OS indikátorok (dROM, PAT és OSI) közötti kapcsolat feltárására is.

3.3.3 Anyag és módszer

3.3.3.1 A kísérleti helyszín és a vizsgálatba vont állatok kijelölése

A vizsgálatok egy hazai nagylétszámú tejtermelő állományban történtek 26, klinikailag egészséges, normál lefolyású ellésből származó, 3-8 napos holstein-fríz fajtájú nőivarú borjú bevonásával. Az állatok egyedileg voltak elhelyezve szalmával almozott, 147 x 109 x 117 cm méretű Agrobox-1 típusú műanyag borjúházakban (Agroplast Kft., Gyál, Magyarország), amelyek alapterülete 1580 x 1280 mm volt és egy 2 m² alapterületű kifutó is tartozott hozzá. A borjak a kolosztrum felvétele után 22% nyersfehérje tartalmú tejpótló borjútápszert (Rosalac Red 30, Schils B.V., GM Sittard, Hollandia) fogyasztottak *ad-libitum* (1 melléklet).

3.3.3.2 Mintavételek és vizsgált paraméterek

A kísérlet alatt a borjaktól négy alkalommal, az (1) 3-8 napos; (2) 14-16 napos; (3) 21-25 napos és (4) 42-74 napos korban, a reggeli etetés után vettünk egyedi vérmintát a *vena jugularis*-ból nátrium-heparin alvadásgátlót tartalmazó 10 ml úrtartalmú üvegcsövekbe. A mintákat hűtve tároló konténerben szállították a laboratóriumba, ahol a Free Radical Analytical Sytem 4 Evolve (H&D s.r.l., Parma, Olaszország) berendezéssel mértük a dROM és PAT értékeket, amelyekből kiszámítottuk az OSI-t, a korábban már említett dROM/PAT x 100 képlettel. A vérplazma mintákból a fehérje anyagcserét jellemző paraméterek közül az ALB koncentrációt komplexképzéssel határoztuk meg. Ennek során az ALB brómkrezolzóldddel pH 3,9 értéknél színes komplexet képez, amelynek abszorbanciáját fotometriásan mérjük (Doumas és mtsai., 1971). A TP meghatározásához használt módszer alapja, hogy a réz ionok fehérjével alkalikus oldatban lila komplexet képeznek. A komplex abszorbanciája arányos a minta fehérje koncentrációjával (Weichselbaum, 1946, Josephson és Gyllensward, 1957). A BUN meghatározására használt módszert alapja, hogy a karbamid víz és ureáz jelenlétében ammóniára és széndioxidra hidrolizál. A reakció során felszabaduló

ammónia glutamátdehidrogenáz jelenlétében a 2-oxoglutaráttal és NADH-val vegyül, eredményképpen glutamát és NAD keletkezik. Az abszorbancia csökkenése az adott időintervallumon belül arányos a karbamid koncentrációval (MacKay és MacKay, 1927, Tietz, 1987),

A szénhidrát anyagcsere paraméterei közül a GLU meghatározását Trinder (1969) szerint végeztük el. Ennek során a β -D-glükózt a glükóz-oxidáz enzim glükonsavvá és hidrogén peroxiddá oxidálja. A keletkezett hidrogén peroxide a peroxidáz enzim jelenlétében fotometrián jól mérhető quinoneimint képez 4-amino-fenazonból és fenolból. A vérplazma BHB koncentrációját, valamint AST enzimaktivitási értékét a 3.2.3.1 fejezetben leírtakkal azonos módon határoztuk meg.

3.3.3.3 Statisztikai elemzés

Az adatok tárolása és elsődleges feldolgozása a Microsoft® Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) programmal, míg a statisztikai elemzés az R statisztikai program 3.1 verziójával (R Core Team, 2018) történt. A vizsgálatok során leíró statisztikai módszerekkel meghatároztuk a dROM, PAT és OSI értékek eloszlását, átlagát és szórásértékeit, valamint megvizsgáltuk ezeknek a fent leírt metabolikus paraméterekkel való kapcsolatát Pearson-féle korreláció vizsgálattal.

3.3.4 Eredmények

A vizsgált OS paraméterek egyes mintavételek alkalmával mért átlag és szórásértékeit a **17. táblázat** tartalmazza. A dROM átlagos értéke 3-8 napos életkorban volt a legalacsonyabb (113 ± 21 U. Carr), míg 42-74 napos korban a legmagasabb (120 ± 42 U. Carr). A mintavételek során nem volt egyértelmű trend kimutatható, az adatok hullámzóan változtak. Az OSI átlagértéke 3-8 napos korban volt a legalacsonyabb ($4,24 \pm 0,93$) és 21-25 napos korban a legmagasabb ($5,03 \pm 1,08$). Az egyes mintavételek során mért dROM és OSI adatok átlagai között nem volt statisztikailag kimutatható szignifikáns ($p > 0,05$) különbség. A PAT adatok ugyanakkor szignifikáns különbséget mutattak, kivéve a 3-8 és a 42-74 napos, illetve a 14-16 és 21-25 napos korban vett mintákat (**18. táblázat**). A PAT átlagértékek csökkenő trendet mutattak a 3-8, 14-16 és 21-25 napos korban végzett mintavételek során (2689 ± 316 ; 2439 ± 333 ; 2264 ± 165 U. Cor), de 42-74 napos korban már emelkedés volt, és az ekkor mért értékek átlaga meghaladta 3-8 napos korban végzett mintavétel értékeit (2822 ± 222 U. Cor), (**17. táblázat**).

A redox és metabolikus paraméterek közötti kapcsolatokat bemutató korrelációmátrixot a **19. táblázat** tartalmazza.

17. táblázat: A dROM, PAT és OSI változók átlag és szórásértékei mintavételenként

Paraméter	Mintavétel 1 3 – 8. nap (n = 22)	Mintavétel 2 14 – 16. nap (n = 26)	Mintavétel 3 21 – 25. nap (n = 26)	Mintavétel 4 42 – 74. nap (n = 26)
dROM [U.Carr]	113	117	114	120
átlag (szórás)	(21)	(17)	(26)	(42)
PAT [U.Cor]	2689	2439	2264	2822
átlag (szórás)	(316)	(333)	(165)	(222)
OSI	4,24	4,85	5,03	4,29
átlag (szórás)	(0,93)	(0,82)	(1,08)	(1,53)

18. táblázat: A dROM, PAT és OSI változók átlag és szórásértékeinek különbsége mintavételenként (ANOVA és Tukey)

Mintavétel	dROM p-érték	PAT p-érték	OSI p-érték
1. – 2.	0.952	0.00871	0.2507
1. – 3.	0.998	<0.001	0.0801
1. – 4.	0.782	0.31327	0.9982
2. – 4.	0.973	<0.001	0.2945
2.– 3.	0.983	0.08872	0.9375
3. – 4.	0.853	<0.001	0.0939

19. táblázat: A vizsgált paraméterek közötti Pearson-féle korreláció

	AST	BHB	BUN	OSI	PAT	ALB	dROM	GLU	TP
AST	1	0,5848	-0,1294	-0,2998	0,3141	0,3793	-0,1811	- 0,2784	0,0283
<i>p-érték</i>	-	<0,0001	0,1996	0,0024	0,0015	<0,0001	0,0714	0,0050	0,7801
BHB	0,5848	1	0,1366	-0,2090	0,3142	0,2509	-0,0565	-0,3474	0,0652
<i>p-érték</i>	<0,0001	-	0,1755	0,0369	0,0015	0,0118	0,5768	0,0004	0,5191
BUN	-0,1294	0,1366	1	0,0001	0,2112	-0,0363	0,1410	-0,0190	0,1972
<i>p-érték</i>	0,1996	0,1755	-	0,9995	0,0349	0,7200	0,1617	0,8512	0,0492
OSI	-0,2998	-0,2090	0,0001	1	-0,4285	0,3140	0,8678	0,0623	0,0899
<i>p-érték</i>	0,0024	0,0369	0,9995	-	<0,0001	0,0015	<0,0001	0,5382	0,3735
PAT	0,3141	0,3142	0,2112	-0,4285	1	0,2580	0,0594	-0,1432	0,3697
<i>p-érték</i>	0,0015	0,0015	0,0349	<0,0001	-	0,0095	0,5569	0,1552	0,0002
ALB	0,3793	0,2509	-0,0363	0,3140	0,2580	1	0,4752	-0,3249	0,4041
<i>p-érték</i>	<0,0001	0,0118	0,7200	0,0015	0,0095	-	<0,0001	0,0010	<0,0001
dROM	-0,1811	-0,0565	0,1410	0,8678	0,0594	0,4752	1	-0,0210	0,3117
<i>p-érték</i>	0,0714	0,5768	0,1617	<0,0001	0,5569	<0,0001	-	0,8360	0,0016
GLU	-0,2784	-0,3474	-0,0190	0,0623	-0,1432	-0,3249	-0,0210	1	-0,0374
<i>p-érték</i>	0,0050	0,0004	0,8512	0,5382	0,1552	0,0010	0,8360	-	0,7117
TP	0,0283	0,0652	0,1972	0,0899	0,3697	0,4041	0,3117	-0,0374	1
<i>p-érték</i>	0,7801	0,5191	0,0492	0,3735	0,0002	<0,0001	0,0016	0,7117	-

3.3.5 Megvitatás

A dROM értékek átlaga 3-8 napos korban volt a legalacsonyabb és 42-74 napos korban a legmagasabb (113 ± 21 és 120 ± 42 U. Carr), (**17. táblázat**). Korábban más szerzők is megfigyelték, hogy a hidroperoxidok koncentrációja az élet 3-7. napja közötti periódusban alacsonyabb volt mint a megszületéskor, majd a 2-3. héten ismét emelkedett (Gaál és mtsai., 2006). Vizsgálatunkban a dROM értékek átlaga hasonló volt 3-8 napos és 21-25 napos korban vett mintákban (113 ± 21 és 114 ± 26 U. Carr), majd 14-16 napos (117 ± 17 U. Carr) és 42-74 napos korban (120 ± 42 U. Carr) enyhe emelkedés látszott (**17. táblázat**). A legmagasabb átlagos dROM érték a 42-74 napos korban vett mintákban volt, bár a különbség a többi mintavételi időponthoz viszonyítva nem volt szignifikáns (**18. táblázat**). Más szerzők is relatíve stabilnak találták a dROM értékét ebben az időszakban (Ranade és mtsai. 2014). A dROM teszt a szerves hidroperoxidok mennyiségét méri (Alberti és mtsai. 2000). Ezek közül a konjugált szerves hidroperoxidok a többszörösen telítetlen zsírsavak elsődleges peroxidációs termékei (Lee és mtsai., 2004). Az egymással nem egybevágó adatok arra engednek következtetni, hogy ebben az időszakban, amikor inkább a nagy fehérje igényű intenzív növekedés jellemző, kevésbé a zsírok, mint inkább a fehérjék peroxidációja a domináns, ezért a fehérje peroxidációs származékok (pl.: AOPP) mérése célszerűbb lehet az OS előfordulásának monitorozására.

A PAT átlagértékek csökkenő tendenciát mutattak az első három mintavételkor (3-8, 14-16 és 21-25 napos korban), majd ezt követően szignifikáns növekedés volt megfigyelhető, bár a 42-47 napos korban vett mintákból mért PAT átlagérték nem különbözött szignifikánsan 3-8 napos borjakban mérttől (2689 ± 316 és 2822 ± 222 U. Cor; $p = 0.311327$), (**17. táblázat**). Az eredményekből arra következtethetünk, hogy a második és harmadik héten látható csökkenés után az AO-k mennyisége ismét eléri a kolosztrum felvétele után mért értéket, tehát rendeződik a ROS és AO közötti egyensúly. A különbség a második (14-16. nap) és harmadik (21-25. nap) mintavétel adataiban trendszerű, de nem szignifikáns (2439 ± 333 és 2264 ± 165 U. Cor; $p = 0,08872$), (**18. táblázat**). A további mintavételek eredményeit összehasonlítva (3-8 napos – 14-16 napos; 14-16 napos – 42-74 napos; és 21-25 napos – 42-74 napos), a különbség szignifikáns volt (**18. táblázat**). Az adatok alapján feltételezhető, hogy a fejletlen AO védelmi kapacitással rendelkező újszülött borjak a kolosztrum felvételével jutnak jelentős mennyiségű AO anyaghoz és ezt használják fel saját AO védelmi rendszerük teljes kialakulásáig.

Az OSI a PAT-hoz hasonlóan változott. A legalacsonyabb ($4,24 \pm 0,93$) a 3-8 napos, a legmagasabb ($5,3 \pm 1,08$) pedig a 21-25 napos korú borjakban volt, ezt követően azonban, a 42-74 napos borjakban mért érték, ismét alacsonyabb volt ($4,29 \pm 1,53$), (**17. táblázat**). Az egyes mintavételi időpontokban mért átlagértékek között nem sikerült szignifikáns különbséget kimutatni (**18. táblázat**). Az OSI értékét a dROM és PAT aránya határozza meg. Bár az átlagos dROM értéke emelkedett a negyedik mintavételkor (42-74 napos korban), a PAT csökkenése is megfordult és magasabb értéket mutatott, tehát az AO-k mennyisége ebben az életkorban magasabb volt, ami végső soron az OSI értékének csökkenését eredményezte a 42-74 napos korban végzett mintavételkor. A teljes választást, azaz a tejtáplálás befejezését és a borjak új helyre történő átszállítását átmenettel végezték, azaz a tervezett áttelepítés előtt egy héttel napról-napra csökkentették az itatott tej mennyiségét míg az utolsó napon – az átszállítás napján - már egyáltalán nem adtak tejet az állatoknak. Ez a tényező magyarázhatja a 21-25 és 42-74 napos korban végzett mintavételek közötti különbségeket.

A vizsgált redox paraméterek közül csak a dROM és az is csupán egyetlen metabolikus biomarkerrel, az ALB-nal, mutatott közepes vagy annál szorosabb ($r > 0,4$) korrelációt. A többi változó esetében semmilyen, vagy csak laza korreláció volt megfigyelhető (**19. táblázat**). A dROM és ALB között talált közepes erősségű pozitív korrelációt ($r = 0,48$, $p < 0,0001$) magyarázza, hogy az ALB a vér egyik legjelentősebb AO hatású komponense (Roche és mtsai., 2008). Az ALB számos élettani és farmakológiai funkciója ismert. Struktúrája miatt jelentős megkötő képességgel rendelkezik, így például jelentős szerepet játszik egyes fémek, zsírsavak, koleszterin, epefesték, egyes hormonok és a gyógyszerhatóanyagok szállításában, de szerepe van az ozmotikus viszonyok szabályozásában is. Jelentős AO aktivitását jelzi, hogy a szabadgyökök több, mint 70%-át a szérum ALB köti meg. Az ALB fehérjéhez kötött réz és vas ionok kevésbé vesznek részt Fenton-típusú reakciókban, amelyekben a Cu^{2+} vagy Fe^{2+} ionokból H_2O_2 jelenlétében hidroxigyökök képződnek.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a PAT és OSI biomarkerek alkalmasak az AO védelmi kapacitás számszerűsítésére, így jól használhatók az állomány monitoringban a borjakban kialakuló OS monitorozására. A legfőbb lipid-peroxidációs termékek, a szerves hidroperoxidok kimutatására tervezett dROM teszt azonban nem volt elég érzékeny az általunk megvizsgált életszakaszokban az OS kimutatására, aminek az lehet a magyarázata, hogy ilyenkor inkább a fehérje, és nem a zsír, peroxidációs termékek dominálnak.

3.4 Negyedik vizsgálat

3.4.1 A vizsgálat megnevezése

A választásig azonos, majd a választást követően eltérő környezeti feltételek között tartott borjak testtömeg gyarapodásának, egészségi állapotának és redox státuszát jellemző változások vizsgálata.

3.4.2 A vizsgálat elvégzésének indoklása

A kísérletben a borjak redox státusza, egyes mikroklimatikus tényezők és a környezet élőcsira terhelése, valamint a borjak egészségi állapota közötti kapcsolatot vizsgáltuk üzemi körülmények között tartott holstein fríz fajtájú borjakban. Munkánkat nagymértékben inspirálták a néhány évtizeddel korábbi, e témakörben elvégzett hazai vizsgálatok (Ballasch és mtsai., 1978, 1983, Kudron és mtsai., 1983, Ballasch, 1987, Rafai és mtsai., 1987, Ballasch és Tamási, 1988), amelyek több aspektusból is felhívták a figyelmet a tartási környezet és az egészségi állapot közötti kapcsolatra. Mivel a vizsgálatokat hőstressz-mentes időszakban végeztük és az egyes csoportok egyedeinek takarmányozása is megegyezett, ezért a bőséges szakirodalmi adat alapján feltételeztük, hogy a választás utáni eltérő tartástechnológiai és környezeti tényezők hatással lehet a borjak oxidatív státuszára és egészségi állapotára (Ballasch és mtsai., 1978, 1983, Rafai és mtsai., 1987, Macaulay és mtsai., 1995, Ózsvári és Búza, 2015, Hubert és Moisa, 2016).

3.4.3 Anyag és módszer

3.4.3.1 A vizsgálat ideje és a mintavételek ütemezése

A vizsgálatokat 2019. szeptember és 2020. február közötti időszakban végeztük. A kísérlet két szakaszra volt osztható: a) a megszületéstől a választásig terjedő (szeptember 09-től - december 2-ig) időszak, amikor az 1-4. mintavétel történt és b) a választás és a választás utáni (december 04-től - február 24-ig) időszak, amikor az 5-7. mintavétel történt (**20. táblázat**).

3.4.3.2 Tartás és takarmányozás

Az a) szakaszban az állatok tartási és takarmányozási körülményei azonosak voltak. Elhelyezésük először (megszületéstől - a 30. életnapig) Agrobox-1 típusú (Agroplast Kft., Gyál, Magyarország) 1580 x 1280 mm alapterületű, üvegszálerősítésű poliészter műanyagból készült, fehér színű, szalma almozású egyedi borjúházban és az ahhoz tartozó 2 m²

alapterületű fedetlen kifutóban történt. Naponta kétszer kaptak Sprayfo Yellow (Trouw Nutrition Nutreco N.V., Hollandia) tejpótló tápszert (**1. melléklet**) 130-140 g/l koncentrációban, napi 6-7 liter/borjú adagban, amit a második héttől granulált borjútáppal egészítettek ki (**1. melléklet**). A borjakat 30 napos korban az áthelyezték az egyedi borjúházakból kiscsoportos tartást lehetővé tevő Agrobox-7 típusú (Agroplast Kft., Gyál, Magyarország) 3000 x 2800 mm alapterületű, üvegszálerősítésű poliészter műanyagból készült, fehér színű, szalma almozású 7 borjú elhelyezésére alkalmas kiscsoportos borjúházba és az ahhoz tartozó 2800 x 2700mm alapterületű fedetlen, nyakrögzítővel ellátott kifutóba. Az állatok ebben az időszakban is Sprayfo Yellow (Trouw Nutrition Nutreco N.V., Hollandia) borjútápszert a korábbival azonos adagban, valamint granulált borjútápot (**1. melléklet**) és jó minőségű fűszénát kaptak. A tejpótló tápszer megvonása fokozatosan történt a 75-83 napos korban tervezett választás/áttelepítés dátuma előtti héten, amikor a mennyiséget naponta csökkentették, majd az utolsó napon, amely egybeesett az áttelepítéssel már egyáltalán nem kaptak tejpótlót a borjak.

Az első, a megszületéstől a választásig (75-83. nap) tartó időszakban a vizsgálatok elsősorban az oxidatív státusz változásainak- és a megszületés utáni korai szakaszban jelentkező megbetegedések felderítésére irányultak. A vizsgálatokkal azt is ellenőriztük, hogy a későbbiekben kialakított csoportokba sorolt borjak különböztek-e egymástól bármely, a vizsgálat szempontjából lényeges, paramétert illetően.

3.4.3.3 A kísérleti állatok jellemzői, a csoportkialakítás szempontjai

A választás napján (75-83 napos korban), véletlenszerűen soroltuk az állatokat a kísérleti, illetve a kontroll csoportba. A kísérleti csoportokat ugyanazon az állattartó telepen alakítottuk ki. Az állatok takarmányozása, az ellátó gondozók személye és az időjárási körülmények is azonosak voltak, továbbá az esetleg előforduló, az állatok nyugalmaét megzavaró, környezeti körülmények is egyformán érték mindkét csoportot. Az egyetlen különbség a tartásukra kialakított hely volt.

A kísérleti állatok létszámát a borjúház férőhelykapacitása határozta meg, ami 2x6 állat (n=12) volt. A kontroll csoportba ennél négygyel több állat került (n=16), mert a technológia szerint a kísérleti állatokon kívül minden egykorú borjú azonos istállóba (hagyományos borjúnevelő istálló - kontroll) került. Ennek magyarázata, hogy az üzemi kísérleteknél szem előtt kell tartani az üzemben alkalmazott technológiát és a lehetőségekhez képest ahhoz igazodóan kell a kísérletet lefolytatni. Ez a kis mértékű létszámbeli különbség azonban nem zavarta a statisztikai elemzésen alapuló összehasonlítást.

A kísérletben a választást követően két, egymástól különböző tartási körülmény modellezése történt meg: (1) A kísérleti csoport a modern kor elvárásainak leginkább megfelelő, 2 db, egyenként 6 m², összesen 19 m² (1,58 m²/állat) alapterületű műanyag borjúházban (gyártók: HolmésLaue Multimax Duo Veranda® és CalfTel® USA, forgalmazó: Inter-Mix Kft., Budapest) és a hozzá tartozó 7 m² alapterületű, fedett kifutóban került elhelyezésre (**1. kép**).



1. kép: A kísérleti csoport elhelyezésére szolgáló korszerű kiscsoportos műanyag borjúház és fedett kifutó

(2) A kontroll csoportot a hazánkban széles körben elterjedt hagyományos, 60 m x 10 m alapterületű, téglá építésű, tetőzet nélküli kifutóval ellátott, csoportos borjúnevelő épületben helyeztük el. A kontroll csoport elhelyezésére szolgáló épületben a különböző korcsoportba tartozó borjak egymástól ugyan csőkorlátokkal elválasztva, de egy légtérben voltak elhelyezve (**2. kép**). A kontroll csoport állatait a kísérleti csoport részére biztosított 23 m² (1,58 m²/állat) alapterülettel megegyező istálló részben helyeztük el.



2. kép: A kontroll csoport elhelyezésére szolgáló hagyományos 60m x 10m alapterületű borjúnevelő és az épülettel közel azonos alapterületű fedetlen kifutó

3.4.3.4 A vizsgált paraméterek

A kialakított tartási helyek mikroklimatikus- (hőmérséklet, relatív páratartalom,) illetve levegőminőségi (CO_2 [ppm], lebegő részecskék [particulate matter $\text{PM}_{2.5}$ és PM_{10}]) adatait a kísérlet időtartama alatt folyamatosan mértük Dräger X-AM8000 (Dräger Norge AS, Oslo, Norvégia), illetve Trotec PC-220 (TKL GmbH, Heinsberg, Németország) készülékekkel (**3. kép**). A méréseket a klinikai vizsgálatokkal egy időben, kétnaponta végeztük. Alkalmanként és tartási helyenként három pontmérést végeztünk, amelyek átlagával számoltunk. A napi mérésekből megállapítottuk a havi átlag- és szórásértékeket.



Dräger X-AM8000 készülék a levegő CO_2 tartalmának mérése



Trotec PC-220 készülék a levegő hőmérsékletének, relatív páratartalmának és lebegő részecske tartalmának mérésére

3. kép: A levegő minőségének ellenőrzésére használt műszerek

A kísérlet alatt rendszeresen ellenőriztük és dokumentáltuk a tartási helyek környezeti élőcsíra terhelésének mértékét az épületen belüli levegő mikrobiológiai vizsgálatával, amihez a mintavételt a MicroBio Air Sampler MB2 (Cantium Scientific Limited, Dartford, Kent, Egyesült Királyság) típusú készülékkel végeztünk (**4. kép**). A minták vizsgálatát, azaz az összes telepkepző egység (CFU)/m³ számának meghatározását az Eurofins Food Analytica Kft. laboratóriumában (5700. Gyula, Magyarország) végeztettük el.



4. kép: MicroBio Air Sampler MB2 készülék

A kísérlet során az **20. táblázat** szerinti ütemezésben végeztük az állatokhoz kötődő változók vizsgálatát.

Az újszülött borjak immunitásának kialakulásához elengedhetetlen, hogy a méhen kívüli élet első óráiban legalább 4 liter jó minőségű, minimum 50 mg/ml IgG tartalmú kolosztrumot kapjanak, mert csak így juthatnak elegendő mennyiségű IgG-hez, ami a megfelelő immunitáshoz szükséges. Ezt nevezzük passzív felszívódásnak, melynek sikerességét a kolosztrum és vérszérum minták refraktométerrel történő vizsgálatával kontrolláltunk. Milwaukee MA-871 (Milwaukee Instruments, Inc., Rocky Mount, NC, USA) típusú digitális refraktométerrel Brix% értékben határoztuk meg a minták IgG tartalmát. A vizsgálat során az ioncserélt vízzel nullára kalibrált műszerrel egy csepp (0,5-1 ml), szobahőmérsékletű kolosztrum mintából 1-2 másodperc alatt meghatározható az érték.

A kolosztrum IgG tartalma és a Brix% százalék között szoros pozitív korreláció (r=0,98) van (Bielmann és mtsai., 2010). Minimum 22 Brix% (50 mg/ml IgG) értékű kolosztrum alkalmas a megfelelő IgG szint biztosítására (Bielmann és mtsai., 2010).

A borjak vérszéumának IgG tartalmát szintén a fenti refraktométerrel, azonos módszerrel határoztuk meg. A szérum Brix% értéke és IgG tartalma között is szoros korreláció van ($r=0,93$). Akkor tekinthető megfelelőnek az anyai immuntranszfer, ha a vérszérum Brix% értéke minimum 8,4, ami 10 mg/ml IgG tartalomnak felel meg (Weaver és mtsai., 2000, Biemann és mtsai., 2010, Deelem és mtsai., 2014).

Vérplazmából FRAS4 Evolvo készülékkel elvégeztük a dROM, PAT és OSI értékek meghatározását a korábban részletesen ismertetett módszerrel (H and D s.r.l, 2015).

Rendszeres testtömegmérést végeztünk egy PS 1000 típusú digitális állatmérleg (Brecknell Avery Weight-Tronix LLC, Smethwick, West Midlands, Egyesült Királyság) használatával.

A fent felsorolt mérésekkel, a vérminták fehérvérsejt-számának meghatározásával (ADVIA[®] 120 Hematology System, Siemens Healthineers AG, Erlangen, Németország), illetve 48-72 óránként Microlife VT 1831 (Microlife AG Swiss Corporation, Widnau, Svájc) típusú állatorvosi hőmérővel elvégzett testhőmérséklet méréssel, valamint klinikai vizsgálattal (Horváth, 1974) állapítottuk meg az állatok biológiai, élettani státuszát.

20. táblázat: A mintavételek ütemezése

Sorszám	Időpont	Tartási hely*	Élőtöm mérés	Vér		Kolosztrum	Környezeti élőcsíra terhelés	Mikroklimatikus tényezők és levegőminőség	
	Az elléshez/megszületéshez viszonyítva, illetve adott technológiai időpontban			FRAS 4	IgG (Brix %)	IgG (Brix%)	Levegő CFU/m ³	Klimatikus paraméterek(hőmérséklet, páratartalom) és levegő minőség (CO ₂ , PM2.5, PM10)	
1.	24 – 48 óra (a kísérletbe vont állatok megszületési időszakában minden megszülető borjúból)	EBK	x	x	x	x	A vizsgálat alatt egyes tartási helyeken 2 naponként	x	
2.	30 - 35 nap (egyedi kettecből 7-es kettecbe)	7CSBH	x	x	x			x	
3.	68 - 75 nap (tejmegvonás előtt)	7CSBH	x	x	x			x	
4.	75 - 82 nap (tejmegvonás befejeztekor, az áthelyezés előtt)	7CSBH	x	x	x			x	
ÁTHELYEZÉS									
5.	86 n (áthelyezés után 72 órával)	HCSB KCSB	x	x	x			x	
6.	100. nap (átszállítás előtt)	HCSB KCSB	x	x	x			x	
7.	120. nap (kísérlet befejezése)	HCSB KCSB	x	x	x		x		
<p>*EBK= egyedi borjúkettec; 7CSBH= hét borjú kiscsoportos kettecbe; HCSB= hagyományos csoportos borjúház; KCSB= kísérleti csoportos borjúház</p> <p>**A 83. napon a borjak véletlenszerűen kerülnek a kísérleti, illetve a kontroll csoportba</p>									

3.4.3.5 Statisztikai elemzés

Az egyes mintavételek alkalmával mért változókat ANOVA próbával (Fisher, 1925) hasonlítottuk össze. Az a) szakaszban az összehasonlítást azért végeztük el, hogy lássuk, a két csoport egyedei között a b) szakasz kezdetekor volt-e számottevő különbség.

Az állatok egészségi állapotát a kísérlet lezárása után retrospektív módon értékeltük és négy kategóriát különítettünk el annak alapján, hogy hányszor volt lázas, azaz >39,5 °C rektális hőmérséklet (Boersema és mtsai., 2010). Az adott állat: kiváló (egyszer sem), jó (egyszer), közepes (kétszer) és gyenge (\geq háromszor), majd e kritérium alapján is elvégeztük az összehasonlítást ANOVA próbával.

ANOVA próbával összehasonlítottuk a mintavétel napján bármilyen klinikai tünetet mutató és tünetmentes állatok redox paramétereit (dROM, PAT, OSI) is.

Korábban leírták a gyulladás és az OS kapcsolatát, ezért ANOVA teszttel összehasonlítottuk a mintavétel napján magas fehérvérsejtszámú borjak megfigyelt redox paramétereit (dROM, PAT és OSI) a normál fehérvérsejtszámmal (Jezek és mtsai., 2011) rendelkező állatokéval.

ANOVA próbával összehasonlítottuk a mintavétel napján lázasnak talált (rektális testhőmérséklet $>39,5$ °C), (Boersema és mtsai., 2010) borjak megfigyelt redox paramétereit (dROM, PAT és OSI) a láztalan egyedekével.

Végül, mivel a gyulladás a fehérvérsejt szám emelkedését okozhatja (Kerr, 2002), ezért összehasonlítottuk a dROM, PAT és OSI értékeket aszerint, hogy a mintavétel napján mért fehérvérsejt szám Jezek és mtsai. (2011) adatai alapján emelkedett volt-e vagy sem.

3.4.4 Eredmények

Az a) szakaszban gyűjtött adatok alátámasztják, hogy a későbbiekben kialakított csoportok egyedei nem különböztek egymástól egyetlen lényeges paramétert illetően sem (**7., 8., 9. ábra és 22. táblázat**).

A kísérlet során mért fontosabb környezeti paraméterek változását az **21. táblázat** tartalmazza.

21. táblázat: A mért környezeti változók csoportonkénti átlaga és különbsége évszakonként

Hőmérséklet átlagértékek [°C]			
Csoport	Hónap		
	December	Január	Február
Kontroll	5,29	1,01	7,05
(Szórás)	(3,31)	(2,03)	(1,80)
Kísérleti	5,93	2,25	6,82
(Szórás)	(3,38)	(1,76)	(1,85)
p-érték	0,72	0,01	0,95

Relatív páratartalom átlagértékek [%]			
Csoport	Hónap		
	December	Január	Február
Kontroll	82,05	83,80	62,99
(Szórás)	(8,54)	(11,04)	(18,96)
Kísérleti	77,58	73,05	65,70
(Szórás)	(10,14)	(8,87)	(15,02)
p-érték	0,1870	<0,0001	0,8253

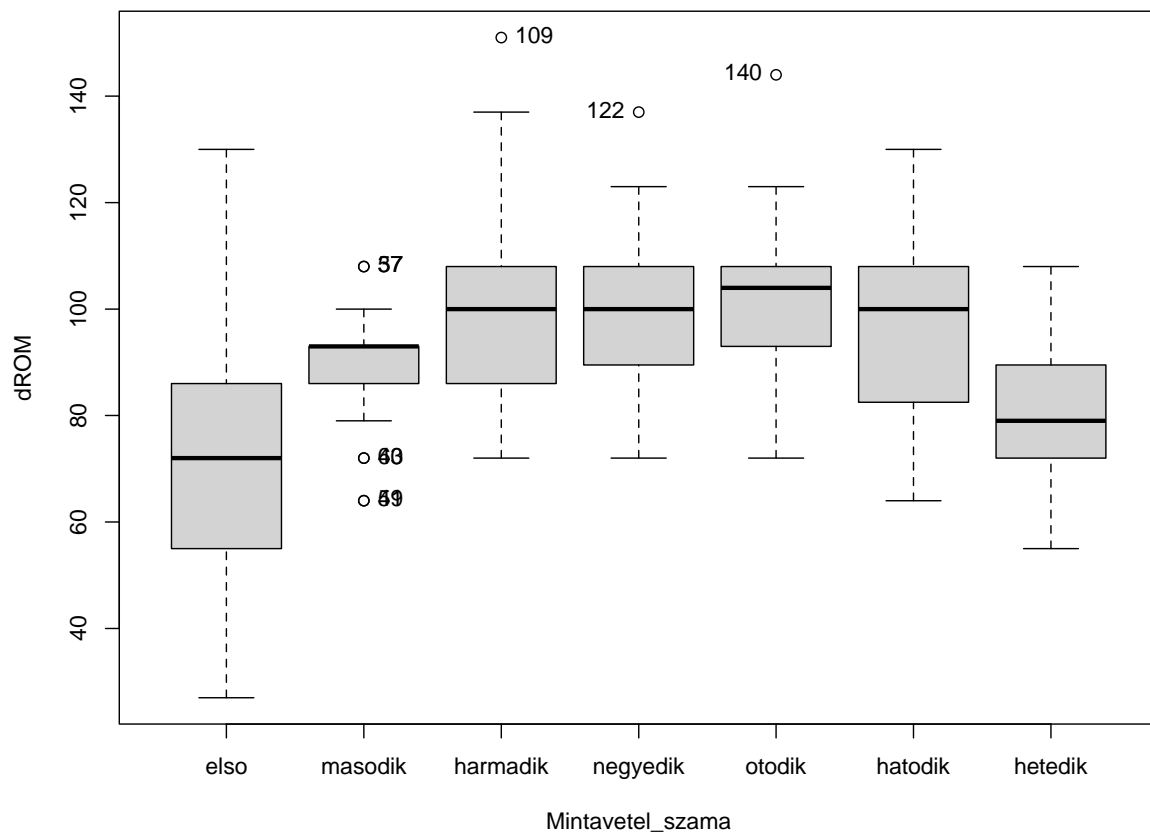
CO₂ átlagértékek [ppm]			
Csoport	Hónap		
	December	Január	Február
Kontroll	669,70	602,94	594,64
(Szórás)	(105,28)	(84,51)	(77,39)
Kísérleti	598,48	605,00	508,93
(Szórás)	(103,44)	(69,91)	(79,41)
p-érték	0,0428	0,9934	<0,001

<2,5 µm méretű levegőben lebegő részecskeszám átlagértékek (PM_{2,5})			
Csoport	Hónap		
	December	Január	Február
Kontroll	87,03	213,10	18,21
(Szórás)	(99,87)	(228,87)	(33,43)
Kísérleti	97,94	44,42	13,07
(Szórás)	(211,10)	(36,91)	(10,54)
p-érték	0,9930	0,0145	0,6800

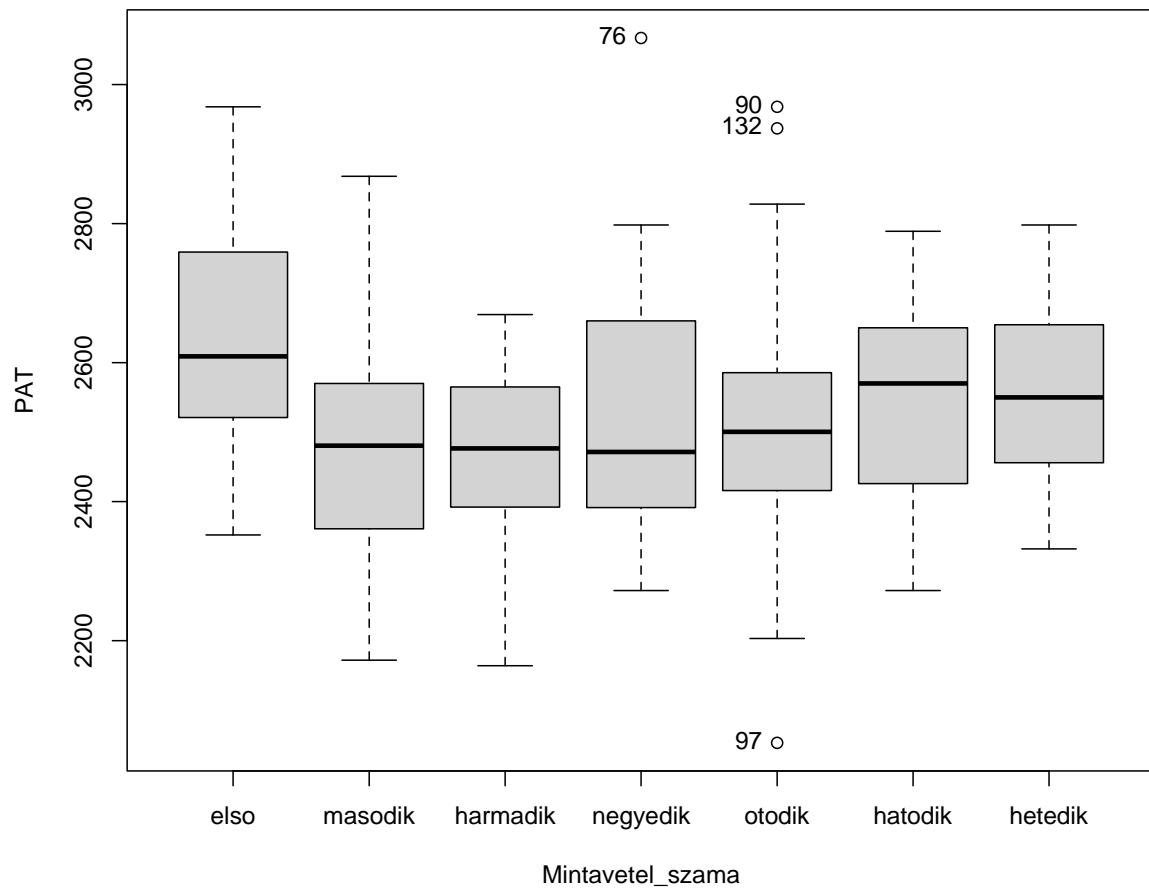
<10 µm méretű levegőben lebegő részecskék átlagértékek (PM₁₀)			
Csoport	Hónap		
	December	Január	Február
Kontroll	148,12	352,18	48,43
(Szórás)	(99,87)	(352,30)	(79,72)
Kísérleti	146,94	102,92	31,32
(Szórás)	(221,10)	(71,77)	(21,43)
p-érték	0,9999	0,0296	0,4910

Levegő élőcsíra tartalom átlagértékek (CFU/m³)			
Csoport	Hónap		
	December	Január	Február
Kontroll	6330,33	6866,67	6100,00
(Szórás)	(6380,78)	(4927,474)	(4782,26)
Kísérleti	8100,00	12962,50	6644,44
(Szórás)	(6318,23)	(8704,34)	(4761,07)
p-érték	0,676	0,0912	0,867

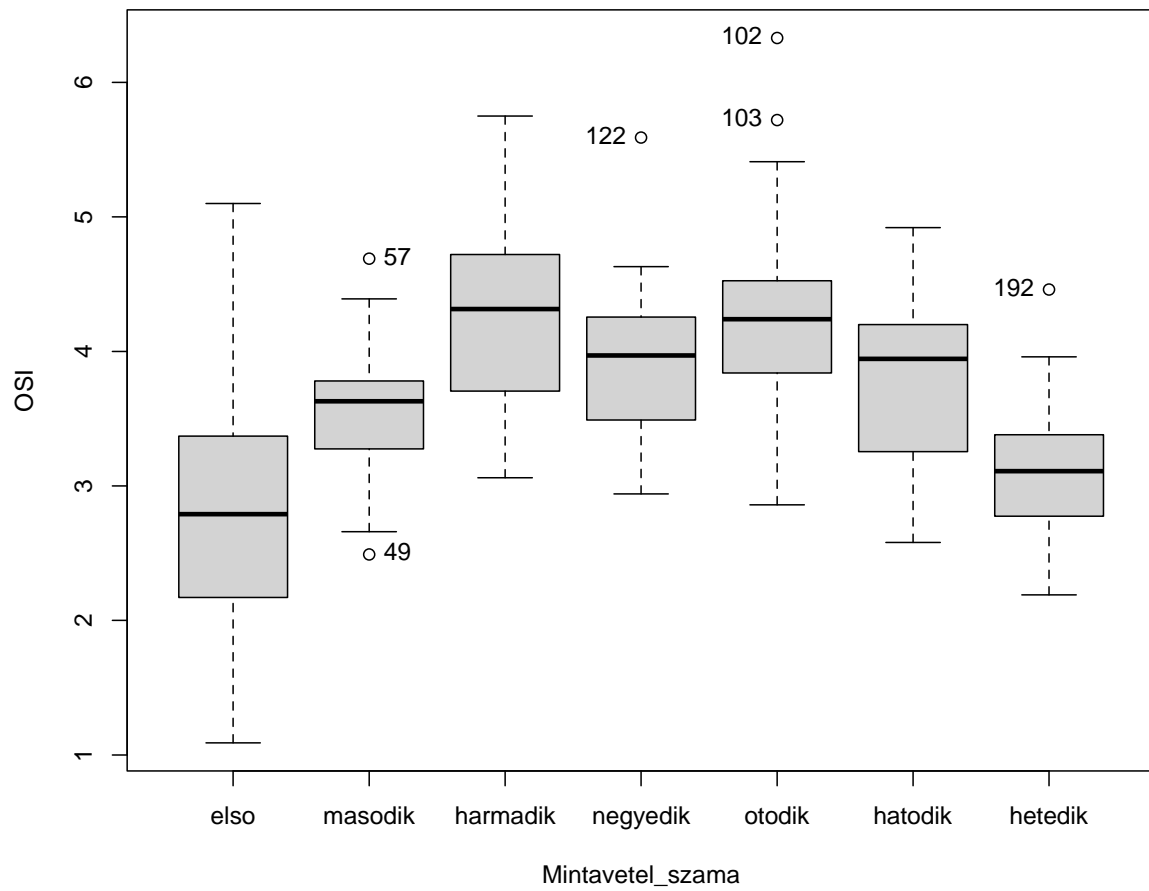
A borjából mért paraméterek közül csak az 1-2 napos korban végzett 1. mintavétel PAT adataiból számított különbség volt szignifikáns ($p = 0,0167$), (**22. táblázat**).



7. ábra: A dROM-érték alakulása mintavételenként



8. ábra: A PAT-érték alakulása mintavételenként



9. ábra: Az OSI-érték alakulása mintavételenként

22. táblázat: A testtömeg, a kor, az ellenanyag koncentráció és a redox egyensúlyi paraméterek összehasonlítása mintavételenként a választás előtti időszakban

1. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Kolosztrum Brix [%]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll (n=16)	37,06	1,75	27,38	9,43	3,01	2630,00	79,06
(Szórás)	(4,83)	(0,68)	(2,80)	(1,34)	(0,97)	(177,04)	(24,98)
Kísérleti (n=16)	37,36	2,20	28,58	9,48	2,67	2582,67	69,17
(Szórás)	(6,41)	(0,65)	(3,23)	(0,82)	(0,88)	(113,41)	(24,12)
p-érték	0,716	0,350	0,513	0,868	0,480	0,0167	0,535

2. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll (n=16)	65,54	39,44	8,69	3,51	2483,94	86,81
(Szórás)	(4,46)	(2,68)	(0,41)	(0,57)	(132,33)	(12,58)
Kísérleti (n=12)	64,35	39,33	8,61	3,67	2465,00	90,17
(Szórás)	(7,64)	(2,99)	(0,63)	(0,34)	(170,18)	(7,20)
p-érték	0,716	0,924	0,665	0,384	0,743	0,416

3. Mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll (n=16)	106,2	76,94	9,10	4,23	2475,38	98,75
(Szórás)	(9,63)	(4,12)	(9,42)	(0,58)	(114,83)	(19,52)
Kísérleti (n=12)	104,05	76,83	9,42	4,23	2457,00	106,00
(Szórás)	(8,51)	(4,73)	(0,60)	(0,82)	(130,79)	(20,74)
p-érték	0,545	0,951	0,312	0,986	0,696	0,352

4. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll (n=16)	114,44	83,94	9,26	3,95	2527,44	94,5
(Szórás)	(12,58)	(4,12)	(0,36)	(0,40)	(199,85)	(11,44)
Kísérleti (n=16)	114,07	83,83	9,38	3,93	2520,67	103,50
(Szórás)	(7,16)	(4,73)	(0,59)	(0,74)	(151,47)	(16,07)
p-érték	0,928	0,951	0,516	0,928	0,923	0,0947

A két tartási helyen mért paraméterek közül csak a 7. mintavétel dROM és OSI adataiból számított különbség volt szignifikáns ($p = 0,002$ és $p = 0,01$), (23. táblázat).

23. táblázat: A testtömeg, a kor, az ellenanyag koncentráció és a redox egyensúlyi paraméterek összehasonlítása mintavételenként a választás utáni időszakban

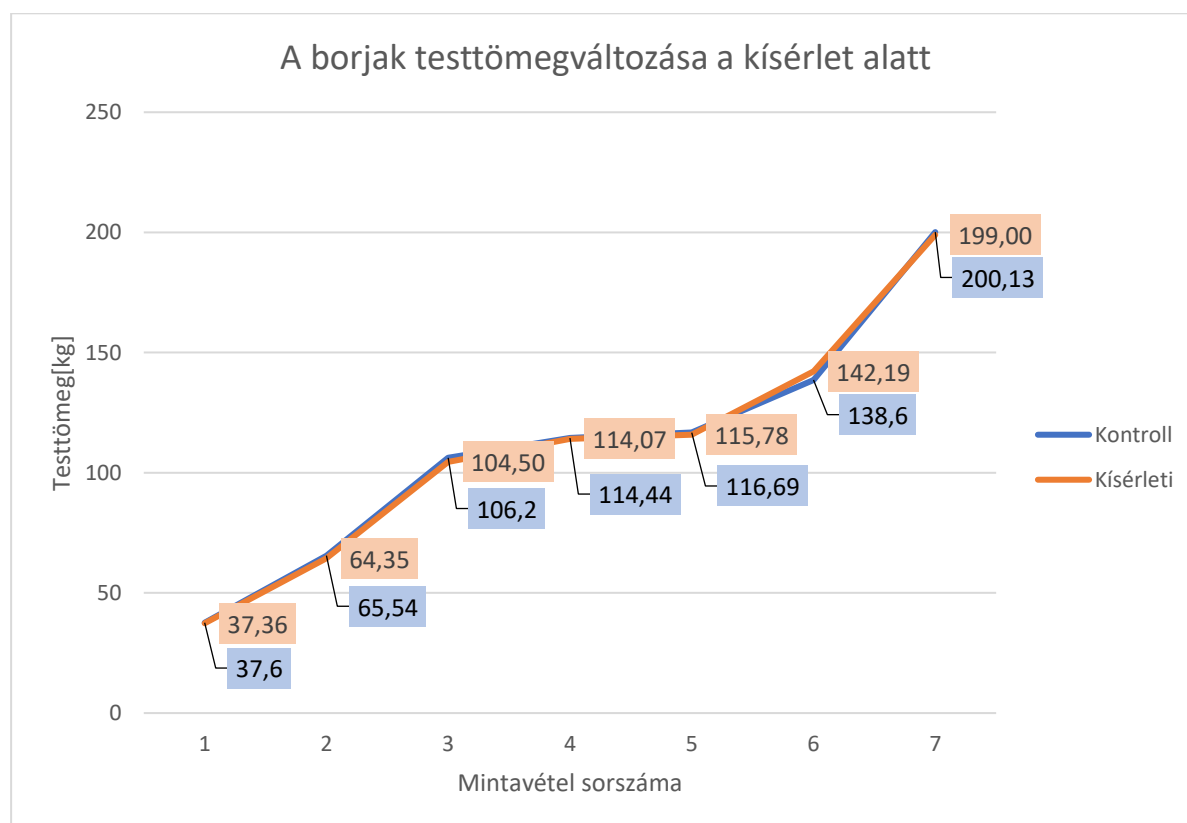
5. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll (n=16)	116,69	85,94	9,81	4,04	2488,88	99,50
(Szórás)	(12,19)	(4,12)	(0,31)	(0,72)	(221,45)	(11,76)
Kísérleti (n=12)	115,78	85,83	9,70	4,44	2541,17	107,33
(Szórás)	(6,44)	(4,73)	(0,55)	(0,80)	(177,62)	(18,25)
p-érték	0,08	0,95	0,52	0,18	0,51	0,18

6. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll(n=16)	138,60	119,94	9,73	3,79	2509,38	95,06
(Szórás)	(16,17)	(4,12)	(0,39)	(0,49)	(128,31)	(13,26)
Kísérleti (n=12)	142,19	119,83	9,86	3,84	2598,42	100,00
(Szórás)	(7,35)	(4,73)	(0,52)	(0,74)	(137,82)	(20,85)
p-érték	0,48	0,95	0,44	0,82	0,09	0,45

7. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kontroll (n=16)	200,13	158,94	9,08	2,92	2528,63	73,81
(Szórás)	(20,83)	(6,20)	(0,43)	(0,40)	(128,40)	(10,02)
Kísérleti (n=12)	199,00	158,83	9,12	3,45	2591,58	89,08
(Szórás)	(14,95)	(6,53)	(0,55)	(0,57)	(118,20)	(13,08)
p-érték	0,88	0,97	0,82	0,01	0,20	0,002

24. táblázat: A borjak testtömegváltozása a kísérlet alatt

Minta- vétel	Kontroll (n=12)			Kísérleti (n=16)			Különbség (kis-kon) [kg]
	Testtömeg átlag (Szórás) [kg]	Kor [nap]	Napi ttgyarapodás [kg]	Testtömeg átlag (Szórás) [kg]	Kor [nap]	Napi ttgyarapodás [kg]	
1.	37,6 (4,83)	1,75	0	37,36 (6,41)	2,2	0	0
2.	65,54 (4,46)	39,44	0,71	64,35 (7,64)	39,33	0,69	-0,03
3.	106,2 (9,63)	76,94	0,53	104,5 (8,51)	76,83	0,52	-0,02
4.	114,44 (12,58)	83,94	0,10	114,07 (7,16)	83,83	0,11	0,00
5.	116,69 (12,19)	85,94	0,03	115,78 (6,44)	85,83	0,02	-0,01
6.	138,6 (16,17)	119,94	0,18	142,19 (7,35)	119,83	0,22	0,03
7.	200,13 (20,83)	158,94	0,39	199,00 (14,95)	158,83	0,36	-0,01



10. ábra: A borjak testtömegváltozása a kísérlet alatt

Az egyes paraméterekben látható különbségek az esetek többségében nem voltak szignifikánsak, csupán a 1-2 napos korban végzett 1. mintavételnél különbözött a PAT értéke (kontroll: $2630 \pm 177,04$ és kísérleti: $2582 \pm 113,141$, $p = 0,0167$), **(22. táblázat)**.

25. táblázat: A testtömeg, a kor, az ellenanyag koncentráció és a redox egyensúlyi paraméterek összehasonlítása egészségi kategóriák szerint a választás utáni időszakban

5. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kitűnő (n=5)	123,70	88,00	9,60	3,76	2525,50	102,25
(Szórás)	(12,73)	(5,94)	(0,37)	(0,75)	(142,65)	(7,23)
Jó (n=6)	116,11	84,86	9,47	4,40	2436,43	96,29
(Szórás)	(6,76)	(5,01)	(0,41)	(0,94)	(149,53)	(10,93)
Közepes (n=5)	116,64	85,60	9,60	4,13	2475,20	106,20
(Szórás)	(9,50)	(0,55)	(0,17)	(0,34)	(71,89)	(13,03)
Gyenge (n=12)	113,80	85,92	10,05	4,29	2565,25	105,50
(Szórás)	(10,77)	(4,44)	(0,36)	(0,81)	(270,26)	(19,45)
p-érték	0,42	0,73	0,0038	0,60	0,60	0,61

6. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kitűnő (n=5)	150,15	122,00	9,73	3,90	2384,00	9325
(Szórás)	(11,83)	(5,94)	(0,22)	(0,50)	(109,49)	(15,44)
Jó (n=6)	141,66	118,86	9,44	3,65	2558,86	93,29
(Szórás)	(5,93)	(5,01)	(0,40)	(0,43)	(158,71)	(11,84)
Közepes (n=5)	137,02	119,60	9,78	3,74	2644,00	99,20
(Szórás)	(18,14)	(0,55)	(0,34)	(0,82)	(97,94)	(24,01)
Gyenge (n=12)	137,22	119,92	10,00	3,91	2555,25	99,92
(Szórás)	(13,78)	(4,44)	(0,47)	(0,66)	(108,57)	(17,70)
p-érték	0,36	0,73	0,06	0,82	0,03	0,82

7. mintavétel	Testtömeg [kg]	Kor [nap]	Szérum Brix [%]	OSI	PAT [U.Cor]	dROM [U.Carr]
Kitűnő (n=5)	212,00	161,00	9,03	3,11	2592,25	80,50
(Szórás)	(21,15)	(4,08)	(0,17)	(0,45)	(150,74)	(12,40)
Jó (n=6)	203,29	158,86	8,89	3,08	2534,43	77,86
(Szórás)	(14,12)	(6,47)	(0,72)	(0,47)	(135,49)	(10,46)
Közepes (n=5)	190,00	162,80	9,14	3,21	2589,80	83,00
(Szórás)	(18,32)	(6,06)	(0,26)	(0,65)	(126,28)	(16,40)
Gyenge (n=12)	197,42	156,58	9,22	3,18	2541,5	80,67
(Szórás)	(18,76)	(6,33)	(0,44)	(0,62)	(124,07)	(15,71)
p-érték	0,31	0,26	0,54	0,97	0,81	0,94

A választás utáni mintavételek alkalmával csupán a 158-159. napos korban végzett 7. mintavétel alkalmával különbözött statisztikailag a két csoport között a dROM (kontroll:

73,81 ± 10,2 és kísérleti: 89,08 ± 13,08, p = 0,002) és az OSI értéke (kontroll: 2,92 ± 0,40 és kísérleti: 3,45 ± 0,57, p=0,01), (23. táblázat).

A klinikai tüneteket mutató, illetve nem mutató csoport összehasonlításában nem kaptunk szignifikánsan különböző eredményeket a vizsgált redox paraméterekben (26. táblázat).

26. táblázat: A mintavétel napján klinikai tüneteket mutató és tünetmentes borjak dROM, PAT és OSI paramétereinek összehasonlítása

Mintavétel sorszáma	Tünetet mutató/ Tünetmentes	dROM átlag [U.Carr] (Szórás)	PAT átlag [U.Cor] (Szórás)	OSI átlag (Szórás)
1.	tünetmentes (n=13)	70,69 (25,50)	2610,00 (169,93)	2,70 (0,95)
	tünetet mutató (n=20)	77,00 (21,48)	2665,00 (175,85)	2,89 (0,83)
	p-érték	0,45	0,376	0,547
2.	tünetmentes (n=19)	86,68 (11,48)	2492,32 (168,25)	3,49 (0,53)
	tünetet mutató (n=9)	91,56 (7,91)	2441,00 (85,19)	3,75 (0,32)
	p-érték	0,263	0,399	0,190
3.	tünetmentes (n=18)	99,83 (17,37)	2493,61 (106,15)	4,27 (0,71)
	tünetet mutató (n=10)	105,50 (24,65)	2420,50 (134,32)	4,16 (0,65)
	p-érték	0,483	0,124	0,685
4.	tünetmentes (n=17)	99,59 (14,60)	2486,12 (141,95)	3,91 (0,54)
	tünetet mutató (n=11)	96,45 (13,71)	2583,91 (215,76)	3,99 (0,60)
	p-érték	0,575	0,159	0,726
5.	tünetmentes (n=20)	103,8 (15,95)	2511,05 (220,12)	4,23 (0,64)
	tünetet mutató (n=8)	100,50 (13,43)	2511,88 (160,72)	4,16 (1,08)
	p-érték	0,611	0,992	0,839
6.	tünetmentes (n=23)	97,35 (16,28)	2561,61 (121,36)	3,80 (0,62)
	tünetet mutató (n=5)	96,40 (20,94)	2482,80 (200,43)	3,85 (0,58)
	p-érték	0,911	0,253	0,868
7.	tünetmentes (n=28)	80,36 (13,59)	2555,61 (125,93)	3,15 (0,54)
	tünetet mutató (n=0)	NA (NA)	NA (NA)	NA (NA)
	p-érték	NA	NA	NA

A lázas és nem lázas borjak összehasonlításának eredményét az **27. táblázat** mutatja be. Ebben az összehasonlításban a 83-84 naposan végzett 4. mintavétel PAT eredményei különböztek szignifikánsan (nem lázas: $2497,56 \pm 145,36$ és lázas: $2749,33 \pm 295,73$, $p = 0,0172$), (**27. táblázat**).

27. Táblázat: A mintavétel napján láztalan és lázas borjak dROM, PAT és OSI paramétereinek összehasonlítása

Mintavétel sorszáma	Lázás/ nem lázas	dROM átlag [U.Carr] (Szórás)	PAT átlag [U.Cor] (Szórás)	OSI átlag (Szórás)
1.	nem lázas (n=31)	75,84 (22,61)	2651,61 (175,44)	2,86 (0,86)
	lázás (n=2)	54,00 (25,46)	2521,00 (55,15)	2,15 (1,06)
	<i>p-érték</i>	<i>0,197</i>	<i>0,308</i>	<i>0,274</i>
2.	nem lázas (n=27)	88,07 (10,73)	2474,52 (149,67)	3,57 (0,49)
	lázás (n= 1)	93,00 (NA)	2511,00 (NA)	3,70 (NA)
	<i>p-érték</i>	<i>0,656</i>	<i>0,813</i>	<i>0,794</i>
3.	nem lázas (n= 25)	101,16 (20,75)	2470,20 (126,26)	4,21 (0,70)
	lázás (n= 3)	107,67 (13,28)	2444,33 (44,09)	4,40 (0,47)
	<i>p-érték</i>	<i>0,604</i>	<i>0,73</i>	<i>0,652</i>
4.	nem lázas (n= 25)	98,36 (13,37)	2497,56 (145,36)	3,93 (0,53)
	lázás (n= 3)	98,33 (23,07)	2749,33 (295,73)	4,00 (0,93)
	<i>p-érték</i>	<i>0,998</i>	<i>0,0172</i>	<i>0,849</i>
5.	nem lázas (n= 25)	104,00 (14,61)	2517,32 (202,13)	4,25 (0,78)
	lázás (n= 3)	93,33 (19,09)	2461,00 (236,99)	3,94 (0,66)
	<i>p-érték</i>	<i>0,255</i>	<i>0,657</i>	<i>0,528</i>
6.	nem lázas (n= 27)	96,22 (16,29)	2540,44 (134,77)	3,79 (0,60)
	lázás (n= 1)	123,00 (NA)	2739,00 (NA)	4,49 (NA)
	<i>p-érték</i>	<i>0,118</i>	<i>0,16</i>	<i>0,258</i>
7.	nem lázas (n= 28)	80,36 (13,59)	2555,61 (125,93)	3,15 (0,54)
	lázás (n= 0)	NA (NA)	NA (NA)	NA (NA)
	<i>p-érték</i>	<i>NA</i>	<i>NA</i>	<i>NA</i>

A mintavétel napján magas fehérvérsejtszámú borjak redox értékeinek összehasonlításakor szignifikáns statisztikai különbséget a dROM-ban a 76-77 napos korban végzett, 3. mintavételkor (normál: $98,42 \pm 16,96$ és magas: $122,50 \pm 27,09$ U. Carr, $p = 0,0227$) és a 158-159 napos korban végzett, 7. mintavételkor (normál: $78,52 \pm 12,50$ és magas: $95,67 \pm 14,98$ U. Carr, $p = 0,0363$) találtunk. A PAT értékek szintén a 7. mintavételkor voltak szignifikánsan különbözők (normál: $3,07 \pm 0,47$ és magas: $3,77 \pm 0,77$, $p = 0,031$), **(28. táblázat)**.

28. táblázat: A mintavétel napján magas és normál fehérvérsejt számmal rendelkező borjak dROM, PAT és OSI paramétereinek összehasonlítása

Mintavétel sorszám	Fehérvérsejt	dROM átlag	PAT átlag	OSI átlag
	Szám*	[U.Carr]	[U.Cor]	
	[x10 ⁹ /l]	(Szórás)	(Szórás)	(Szórás)
1.	Normál (n=33)	74,52	2643,70	2,82
	<14,80	(22,97)	(173,06)	(0,87)
	Magas (n=0)	NA	NA	NA
	>14,80	(NA)	(NA)	(NA)
	<i>p-érték</i>	NA	NA	NA
2.	Normál (n=23)	87,52	2459,70	3,57
	<14,6	(11,50)	(135,08)	(0,53)
	Magas (n=5)	91,60	2550,00	3,60
	>14,60	(3,13)	(192,85)	(0,21)
	<i>p-érték</i>	0,445	0,220	0,899
3.	Normál (n=24)	98,42	2451,58	4,17
	<14,6	(16,96)	(115,10)	(0,66)
	Magas (n=4)	122,50	2563,00	4,58
	>14,60	(27,09)	(116,89)	(0,79)
	<i>p-érték</i>	0,0227	0,0853	0,275
4.	Normál (n=28)	98,36	2524,54	3,94
	<15,64	(14,08)	(177,62)	(0,56)
	Magas (n=0)	NA	NA	NA
	>15,64	(NA)	(NA)	(NA)
	<i>p-érték</i>	NA	NA	NA
5.	Normál (n=28)	102,86	2511,29	4,21
	<15,64	(15,10)	(201,97)	(0,77)
	Magas (n=0)	NA	NA	NA
	>15,64	(NA)	(NA)	(NA)
	<i>p-érték</i>	NA	NA	NA
6.	Normál (n=26)	96,88	2554,58	3,79
	<15,64	(15,33)	(130,30)	(0,57)
	Magas (n=2)	101,00	2456,00	4,05
	>15,64	(41,01)	(260,22)	(1,24)
	<i>p-érték</i>	0,745	0,338	0,579
7.	Normál (n=25)	78,52	2555,88	3,07
	<15,64	(12,50)	(127,84)	(0,47)
	Magas (n=3)	95,67	2553,33	3,77
	>15,64	(14,98)	(134,03)	(0,77)
	<i>p-érték</i>	0,0363	0,974	0,031

*A fehérvérsejt szám kor szerinti normálérték tartomány Jezek és mtsai., 2011 alapján került meghatározásra

3.4.5 Megvitatás

3.4.5.1 Környezeti adatok

A kísérlet második b) szakaszában, a választást követően a mikroklimatikus tényezőkre (hőmérséklet, relatív páratartalom) és a levegő fizikai-kémiai minőségére (lebegő részecskék, CO₂) irányuló monitoring vizsgálatok eredménye alapján a kísérleti és kontroll helyszínek között decemberben a CO₂ (kísérleti: 598,48 ppm /± 103,44/, kontroll: 669,70 ppm /± 105,28/) szignifikánsan különbözött (p= 0,0428) és februárban (kontroll: 594,64 ppm /± 77,39/ és kísérleti: 508,93 ppm /± 594,64/, p <0,001), **(21. táblázat)**.

A különbség leginkább januárban volt számottevő, és több esetben statisztikailag is igazolható volt, hogy a kontroll csoport esetében a klimatikus környezet kedvezőtlenebb volt. Ekkor a hőmérséklet a kísérleti borjúnevelőben átlagosan 2,25°C (± 1,76), míg a kontroll istállóban 1,01°C (± 2,03) volt (p= 0,01). A relatív páratartalom a kísérleti borjúnevelőben átlagosan 73,05% (± 8,87), míg a kontroll istállóban 83,80% (± 11,04) volt (p <0,0001). A PM_{2,5} a kísérleti borjúnevelőben átlagosan 44,42 (± 36,91), míg a kontroll istállóban 213,10 (± 228,87) volt (p = 0,0145); a PM₁₀ pedig a kísérleti borjúnevelőben átlagosan 102,92 (± 71,74), míg a kontroll istállóban 352,18 (± 352,30) volt (p = 0,0296), **(21. táblázat)**.

Februárban a kísérleti és kontroll helyszínek között szintén a CO₂ (kísérleti: 508,93 ppm /± 79,41/, kontroll: 594,64 ppm /±77,39/) különbözött szignifikánsan (p <0,01) **(21. táblázat)**.

A CO₂ jól jelzi az istálló belső levegőjének elhasználódását, a szellőztetés szükségességének önálló indikátora. A jól átszellőztetett, folyamatosan jó levegőjű környezet javítja az állatok egészségét és termelékenységét (Hanekamp, 1994). A gyakoribb légzőszervi megbetegedések oka lehet a hiányos szellőztetés miatt kialakuló magasabb páratartalom, por és élőcsíratelhelés (Woolums és mtsai., 2009). Az adatok alapján látszik, hogy a kísérleti tartási körülmények környezeti szempontból kedvezőbbek voltak, hiszen a hőmérséklet magasabb, a relatív páratartalom, a CO₂ és lebegő részecske koncentráció viszont alacsonyabb volt.

A levegő összes csíraszámában (CFU/m³) nem volt kimutatható szignifikáns különbség a kísérleti és a kontroll tartási hely között egyik hónapban sem **(21. táblázat)**.

3.4.5.2 A kolosztrum és szérum Brix% értékek

A borjak kórokozókkal szembeni védekezésében a megszületés után minél hamarabb és megfelelő mennyiségben felvett kolosztrum meghatározó jelentőségű. A vizsgált állományban különös gondot fordítanak a kolosztrum menedzsmentre. Minden újszülött borjú ellenőrzött minőségű és pasztörözött, 4 liter mennyiségű kolosztrumot kap megszületése után.

A Brix% érték szoros pozitív korrelációt ($r=0,98$) mutat a radial immunodiffusion (RAID) módszerrel meghatározott Ig tartalommal (Bielmann és mtsai., 2010). Jó minőségű, az újszülött borjak táplálására alkalmas, kolosztrumról 22 Brix% (kb. 50 mg/ml Ig) érték felett beszélünk (Bielmann és mtsai., 2010). A vizsgálati adatokból látszik, hogy mind a később kísérletinek, illetve kontrollnak választott borjak magas, 27,50 – 28,60 Brix% értékű kolosztrumot kaptak (**22. táblázat**).

A szérum összes fehérjetartalma szoros pozitív korreláció mellett ($r=1,00$) is meghatározható a Brix% érték használatával. A Brix% szintén szoros pozitív korrelációt ($r=0,93$) mutatott a szérum IgG tartalmával (Deelen és mtsai., 2014). A hiányos passzív felszívódásra (<10 g/l szérum IgG) a legpontosabb becslést a 8,4 Brix% határérték adott, amikor a szenzitivitás és a specificitás is 88,9% volt (Deelen és mtsai., 2014). Az adatokból az látszik, hogy minden borjú ennél jóval magasabb (9,43-9,48) Brix% értékű kolosztrumot kapott.

Ezek alapján elmondható, hogy a borjak mindkét csoportban egyformán magas IgG tartalmú, jó minőségű és elegendő mennyiségű kolosztrumot kaptak, így védettséget szerezve a fertőző eredetű megbetegedések ellen. A jó minőségű kolosztrum AO anyagokban is gazdag, ami fontos a megszületéskori OS káros hatásának kivédésében (Abuelo és mtsai., 2019). Bár a kolosztrumban található AO anyagok közvetlen mérését nem végeztük el, de a Brix% alapján jó minőségű kolosztrumot kaptak a borjak, így feltételezhető, hogy az extrauterin élet kezdetekor ez a tényező is megfelelő volt. A borjak megszületés utáni dROM és OSI értékei nem különböztek szignifikánsan, azonban a PAT érték igen (kontroll: $2630 \pm 177,04$ és kísérleti: $2582,67 \pm 113,41$, $p = 0,0167$), (**22. táblázat**).

A dROM és OSI értékek az 1-2 napos és a 39-40 napos korban végzett mintavétel idején emelkedtek, majd a választásig (83 napos korig) hasonló szinten maradtak. A választást követően a 119-120 napos és a 158-159 napos korban végzett mintavétel idején viszont csökkentek (**7. és 9. ábra**). A PAT értékek ennek mintegy tükörképét mutatták, azaz a 86 napos és 119-120 napos korban végzett mintavételkor csökkentek, a 76-77 és a 85-86 napos mintavételek estén hasonló szinten voltak, majd a 119-120 és 158-159 napos korban végzett mintavételkor emelkedtek (**8. ábra**). Ez az összefüggés megerősíti az AO védelmi kapacitás és az OS kialakulása közötti összefüggést (Sies és mtsai., 1985). Az AO anyagok nagyrészt a megszületés után, a kolosztrummal jutnak a szervezetbe, majd a tejpótló tápszerre való átállás után csökkennek, mert a tejpótlók AO tartalma alacsonyabb és általában nem alkalmaznak AO kiegészítést (Lindmark-Månsson és Åkesson, 2000, Friel és mtsai., 2002, Chen és mtsai., 2003, Clausen és mtsai., 2009, Soberon és mtsai., 2012, McGrath, 2016,

Abuelo és mtsai., 2019). Ugyanakkor ebben az időszakban jelentős az állatok testi fejlődése, ami fokozott anyagcserét igényel, ez pedig növelheti a ROS képződést (Miller és mtsai., 1993). Az első egy-két hónapban a fiatalok borjú betegségei is jelentősen megterhelik a szervezetet, ezért gyakran alakul ki OS. Bár az egyes élettani szakaszokban jól látható számszerű emelkedés mutatkozott a dROM és PAT értékekben, vizsgálataink során nem sikerült szignifikáns különbséget kimutatni a két csoport között ezekben a paraméterekben. Azt azonban nem tudjuk megítélni, hogy kóros mértékben emelkedett-e a ROS szintje, illetve így módon alacsony-e a PAT értéke, tehát valóban beszélhetünk-e OS-ről, mivel nem ismerjük a borjakra vonatkozó normálérték tartományokat. A tehenekhez hasonlóan, ezt is érdemes volna a jövőben meghatározni.

3.4.5.3 A borjak testtömegének alakulása

A kísérlet alatt a csoportokban a borjak testtömegváltozása nem különbözött szignifikánsan, amit a **22.** és **24. táblázatban**, valamint a **10. ábrán** láthatunk. A kísérlet végére (159 napos kor) a kontroll csoport egyedeinek átlagos testtömege 200,13 ($\pm 20,83$) kg, míg a kísérleti csoportban 199,0 ($\pm 14,95$) kg volt, a különbség tehát elenyésző, csupán 1,13 kg/állat mértékű, ami nem szignifikáns ($p=0,88$), (**24. táblázat**). Sőt, mintegy 0,24 kg mértékű különbség már a megszületéskor is volt a későbbi kontroll (37,6 \pm 4,83 kg) és a kísérleti (37,36 \pm 6,41 kg) állatok átlagos testtömegében, de ez a különbség sem volt szignifikáns ($p=0,716$), (**22.** és **24. táblázat**) Az adatok alapján úgy tűnik, hogy a tartási hely nem befolyásolta a borjak testtömegének alakulását. A kísérlet során nem volt módunk mérni az egyes csoportonk pontos takarmányfogyasztását, így a szárazanyagra vetített takarmány értékesítést nem tudtuk kiszámítani.

A növekedés üteme, amit a napi testtömeg-gyarapodással fejezünk ki, a 40-80. nap között volt a legmagasabb (kontroll: 39-40. naposan 710 g/nap, 76-77 naposan 530 g/nap, kísérleti: 39-40 naposan 690 g/nap, 76-77 naposan 520 g/nap), (**24. táblázat**). Ebben az időszakban történt a 2. és 3. mintavétel, amikor mindkét csoport esetében a dROM és OSI értékek magasabbak, a PAT értékek viszont alacsonyabbak voltak (**7., 8., 9. ábra**). Az eredményt magyarázhatja, hogy az intenzív növekedés fokozza a mitokondriumokban a ROS képződést (Rollo, 2002).

3.4.5.4 A borjak egészségi állapota

A kísérlet során kétnaponta elvégeztük az összes állat klinikai vizsgálatát. A rektális testhőmérséklet, mint objektív indikátor, alapján a kísérlet végén kategorizáltuk az állatokat.

Négy kategóriát különböztettünk meg: 1) kitűnő (nem volt lázas), 2) jó (maximum egyszer volt lázas), 3) közepes (maximum kétszer volt lázas) és 4) gyenge (három vagy több alkalommal volt lázas). Az egyes kategóriákba sorolt borjak száma az alábbiak szerint alakult:

29. táblázat: Az egyes egészségi állapot kategóriák csoportonkénti egyedszáma

Egészségi állapot	Kontroll [egyed, db]	Kísérleti [egyed, db]
Kitűnő	4	1
Jó	1	5
Közepes	3	2
Gyenge	8	4

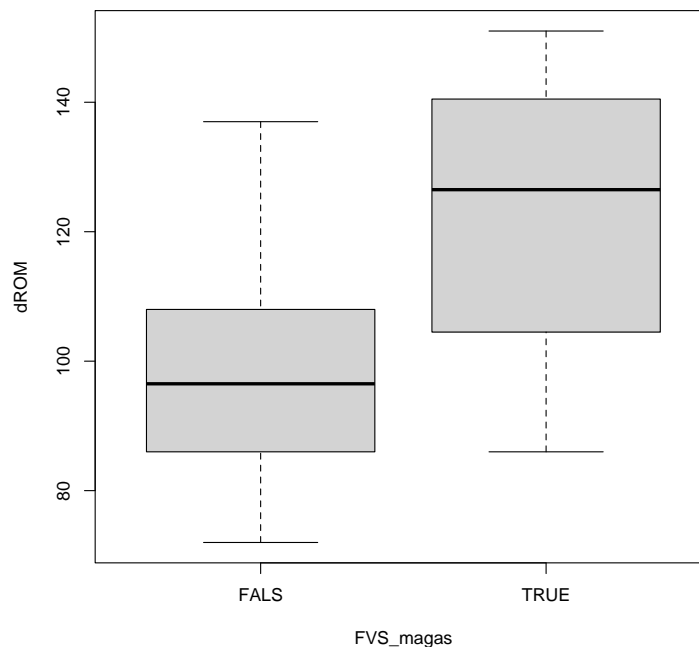
Az adatok statisztikai elemzésekor nem találtunk szignifikáns különbséget a dROM, PAT és OSI értékekben az egyes csoportok között, kivéve a hatodik mintavétel PAT értékeit, ahol gyengén szignifikáns különbség ($p=0,03$) volt a csoportok között (**25. táblázat**).

Az általános egészségi állapot hatásának vizsgálatára összehasonlítottuk a dROM, PAT és OSI paraméterek alakulását a kísérlet során bármilyen klinikai tünetet mutató, illetve tünetmentes állatokban (**26. táblázat**). Ezek alapján nem találtunk kapcsolatot az általános egészségi állapot és az általunk vizsgált redox paraméterek között, ami meglepő, mivel a szakirodalomban számos, az egészségi állapot és a redox státusz közötti összefüggésre vonatkozó adat érhető el (Ranjan és mtsai., 2006, Al-Qudah, 2009, Joshi és mtsai., 2018). Ezért további összehasonlításokat végeztünk.

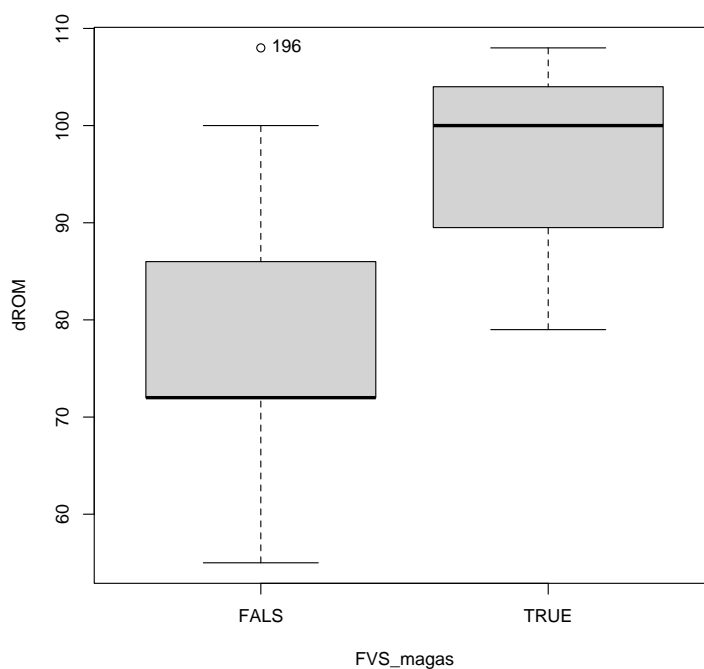
Mivel az OS kialakulását többen leírták olyan gyulladással járó megbetegedésekben, mint például a borjak heveny és krónikus bronchopneumoniája (Al-Quadah, 2009), vagy hasmenéssel járó megbetegedései (Ranjan és mtsai., 2006) és a gyulladás egyik tünete a láz, ezért megvizsgáltuk, hogy a vérmintavétel napján lázas (rektális hőmérséklet $> 39,5^{\circ}\text{C}$), (Boersema és mtsai., 2010) állatok dROM, PAT és OSI értékei különböznek-e láztalan társaikétól. Az adatok alapján azonban nem találtunk összefüggést (**27. táblázat**).

Az **28. táblázatban** és a **11., 12., 13. ábrán** található adatokból látszik, hogy az emelkedett fehérvérsejtszámú (Jezek és mtsai., 2011) állatokban mindig magasabb volt a dROM és az OSI értéke, a különbség azonban csak a harmadik és hetedik mintavételnél volt szignifikáns mértékű.

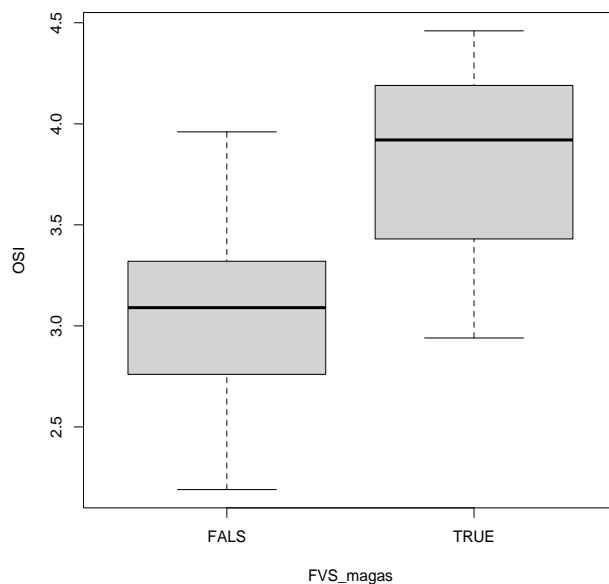
A gyulladás a fehérvérsejt szám emelkedését okozhatja (Kerr, 2002), így az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy az általunk vizsgált paraméterek közül a dROM és OSI értékek emelkedése összefügghet a gyulladásos megbetegedésekkel, ami összhangban áll Jezek és mtsai. (2011) eredményeivel is. A makrofágok és az aktivált neutrofil granulociták bizonyítottan a ROS anyagok egyik forrásai a szervezetben (Sugino, 2005), mivel ezek a sejtek a bekebelezett kórokozók elpusztításához ROS anyagokat szabadítanak fel az ún. oxidatív burst mechanizmus során, így az általunk is megfigyelt dROM és OSI értékek a magasabb fehérvérsejt számmal rendelkező egyedekben kimutatott emelkedése ezzel magyarázható.



11. ábra: A dROM különbsége az emelkedett és normál fehérvérsejtszámú egyedekben a harmadik mintavétel adataiban (p= 0,0227)



12. ábra: A dROM különbsége az emelkedett és normál fehérvérsejtszámú egyedekben a hetedik mintavétel adataiban (p= 0,0363)



13. ábra: Az OSI különbsége az emelkedett és normál fehérvérsejtszámú egyedekben a hetedik mintavétel adataiban (p= 0,031)

A borjak egészségi állapota és redox státusza közötti kapcsolatra vonatkozó vizsgálatunkban nem tudtunk összefüggést kimutatni a dROM, PAT és OSI paraméterek és az általános

egészségi állapot, illetve a lázas állapot között, a magasabb fehérvérsejt szám azonban több esetben is, - a harmadik (76-77 napos korban) és a hetedik (158-159 napos korban) mintavételkor - szignifikánsan magasabb dROM és OSI értékekkel járt együtt.

4 Új tudományos eredmények

- (1) A ketolakcia kimutatásán alapuló alternatív vizsgálati módszer segítségével reprezentatív és aktuális adatokat nyertünk szubklinikai ketózis prevalenciájáról hazai tejelő tehenállományokban. A megvizsgált mintákban magas, 29,3%-os volt a pozitív esetek aránya. Kimutattuk, hogy a ketolakcia szignifikáns, nem lineáris kapcsolatban áll az ellésszámmal és a 3-4. laktációs tehenekben fordul elő a leggyakrabban. Míg az állományméret igen, addig a termelési szint azonban nem befolyásolta szignifikánsan a ketolakcia előfordulását. A nehézellés, a vetelés, az MBV és a mastitis esetekben magasabb ketolakcia-előfordulást találtunk.
- (2) Meghatároztuk a tejelő szarvasmarhák egyes jól elkülöníthető élettani és termelési szakaszaiban - úgymint az előkészítés (ellés -21 nap), az ellés (ellés+7 nap), a fogadó (7-30. nap) és a csúcstermelés (30-150. nap) a redox státuszt jellemző dROM, PAT és OSI paraméterek referencia értéktartományait. Megállapítottuk, hogy dROM és az OSI értéke közvetlenül az ellést követő 1-7 napon volt a legmagasabb.
- (3) Megállapítottuk, hogy a vérplazma dROM értéke szignifikánsan magasabb volt a vérplazma $>0,2$ mmol/l NEFA és $>18,9$ $\mu\text{mol/l}$ Cu koncentrációja mellett. A plazma PAT szignifikánsan magasabb értéket mutatott a vérplazma $>0,8$ mmol/l BHB és $>18,9$ $\mu\text{mol/l}$ Cu koncentrációja továbbá >80 U/l AST enzimaktivitási értéke mellett. Ugyanakkor a $<5,6$ $\mu\text{mol/l}$ vérplazma összkarotin koncentráció szignifikánsan alacsonyabb PAT értékekkel társult. Az OSI értéke szignifikánsan magasabb volt a vérplazma $>0,2$ mmol/l NEFA, $>0,8$ mmol/l BHB és $>18,9$ $\mu\text{mol/l}$ Cu koncentrációja mellett.
- (4) Borjakban a normálértéknél magasabb fehérvérsejt számmal rendelkező egyedekben a vérplazma dROM és OSI értékek szignifikánsan magasabbak voltak, mint a normál fehérvérsejt számot mutató egyedekben.

5 Irodalomjegyzék

1. Abd Ellah M.R., Okada K., Uchiza M., Morita E., Sato R., Yasuda J.: **Evaluation of oxidative DNA damage in blood lymphocytes during the transition period in dairy cows.** Journal of Applied Animal Research, 44. 323–325., 2016.
2. Abuelo A., Gandy J.C., Neuder L., Brester J., Sordillo L.M.: **Short communication: Markers of oxidant status and inflammation relative to the development of claw lesions associated with lameness in early lactation cows.** Journal of Dairy Science, 99(7). 5640–5648., 2016[a].
3. Abuelo A., Alves-Nores V., Hernandez J., Muiño R., Benedito J.L.L., Castillo C.: **Effect of Parenteral Antioxidant Supplementation During the Dry Period on Postpartum Glucose Tolerance in Dairy Cows.** Journal of Veterinary Internal Medicine, 30., 1–7., 2016[b].
4. Abuelo A., Hernández J., Benedito J., Castillo C.: **Redox Biology in Transition Periods of Dairy Cattle: Role in the Health of Periparturient and Neonatal Animals.** Antioxidants, 8. 20., 2019.
5. Abuelo A., Hernández J., Benedito J.L., Castillo C.: **Oxidative stress index (OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period.** Animal : an International Journal of Animal Bioscience, 7. 1374–1378., 2013.
6. Abuelo A., Hernández J., Benedito J.L., Castillo C.: **The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: Revisiting antioxidant supplementation.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 99. 1003–1016., 2015.
7. Al-Gubory K.H., Fowler P.A., Garrel C.: **The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes.** International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 42. 1634–1650., 2010.
8. Al-Qudah K.M.: **Oxidative stress in calves with acute or chronic bronchopneumonia.** Revue de Medecine Veterinaire, 160. 231–236., 2009.
9. Albera E., Kankofer M.: **The Comparison of Antioxidative/Oxidative Profile in Blood, Colostrum and Milk of Early Post-partum Cows and Their Newborns.** Reproduction in Domestic Animals, 46. 763–769., 2011.
10. Alberti A., Bolognini L., Macciantelli D., Caratelli M.: **The radical cation of N, N-diethyl-para- phenylendiamine: a possible indicator of oxidative stress in biological samples.** Research on Chemical Intermediates, 26. 253–267., 2000.

11. Bakony M., Könyves L., Hejel P., Kovács L., Jurkovicsh V.: **Hőstressz tejlő teheneiben 1.: A tejtermelés-csökkenés háttérében álló élettani tényezők. Irodalmi összefoglaló.** Magyar Allatorvosok Lapja, 141. 341–350., 2019[a].
12. Bakony M., Könyves L., Mézes M., Kovács L., Jurkovich V.: **Hőstressz tejlő teheneiben 2.: Az alkalmazkodást segítő takarmányozási megoldások. Irodalmi összefoglaló.** Magyar Allatorvosok Lapja 141. 397–408., 2019[b].
13. Ballasch, A.: **A csíraszegény környezet hatása a borjak egészségére.** Magyar Állatorvosok Lapja, 42.551–554., 1987.
14. Ballasch,A., Brydl E., Kudron E.: **A termelőkörnyezeti feltételek javításának hatása a nagyüzemi borjúnevelés állategészségügyi helyzetére és eredményességére.** Magyar Állatorvosok Lapja, 33. 529–533., 1978.
15. Ballasch A., Brydl E., Kudron E.: **Adatok a légző és emésztőszervi borjúbetegségek megelőzéséhez.** Magyar Állatorvosok Lapja, 38. 461–465., 1983.
16. Ballasch A., Tamási G.: **Adatok a szabadban egyedi ketrecekben nevelt és az istállózott borjak levegőből származó bakteriális eredetű csíraterheléséhez.** Magyar Állatorvosok Lapja, 43. 453–457., 1988.
17. Barrier A.C., Haskell M.J., Birch S., Bagnall A., Bell D.J., Dickinson J., Macrae A.I., Dwyer C.M.: **The impact of dystocia on dairy calf health, welfare, performance and survival.** Veterinary Journal, 195. 86–90., 2013.
18. Baticz O, Vida L, Tömösközi S.: **Determination of acetone in cow's raw milk by flow injection and gas chromatographic methods.** Acta Alimentaria, 30. 297–311., 2001.
19. Benedetti S., Primiterra M., Catalani S., Finco A., Canestrari F., Cornelli, U.: **Performance evaluation of the innovative PAT test, comparison with the common BAP test and influence of interferences on the evaluation of the plasma antioxidant capacity.** Clinical Laboratory, 59. (9–10), 1091–1097., 2013.
20. Bernabucci U., Lacetera N., Baumgard L.H., Rhoads R.P., Ronchi B., Nardone A.: **Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants.** Animal 4. 1167–1183., 2010.
21. Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A.: **Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season.** Journal of Dairy Science, 85. 2173–2179., 2002.
22. Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A.: **Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient**

- dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, 88. 2017–2026., 2005.
23. Bertoni G., Trevisi E., Lombardelli R.: **Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows.** *Italian Journal of Animal Science*, 8. 491–518., 2010.
 24. Besser T.E., Szenci O., Gay C.C.: **Decreased colostrum immunoglobulin absorption in calves with postnatal respiratory acidosis.** *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 196. 1239–1243., 1990.
 25. Biemann V., Gillan J., Perkins N.R., Skidmore A.L., Godden S., Leslie K.E.: **An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle.** *Journal of Dairy Science*, 93. 3713–3721., 2010.
 26. Blakebrough-Hall C., Dona A., D’occhio M.J., McMeniman J., González L.A.: **Diagnosis of Bovine Respiratory Disease in feedlot cattle using blood 1H NMR metabolomics.** *Scientific Reports*, 10. 1–12., 2020.
 27. Bland M.: **An introduction to medical statistics.** 3. kiadás, Oxford University Press, 2000.
 28. Blum J.W., Hadorn U., Sallmann H.P., Schuep W.: **Delaying Colostrum Intake by One Day Impairs Plasma Lipid, Essential Fatty Acid, Carotene, Retinol and α -Tocopherol Status in Neonatal Calves.** *The Journal of Nutrition*, 127. 2024–2029., 1997.
 29. Boersema S.J., DaSilva J.C., Mee J., Noordhuizen J.: **Farm Health and Productivity Management of Dairy Young Stock.** Wageningen Academic Publishers, p 177., 2010.
 30. Bouda J., Jagos P.: **Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control.** *Acta Veterinaria Brno*, 53. 137–142., 1984.
 31. Bouwstra R.J., Nielen M., Newbold J.R., Jansen E.H.J.M., Jelinek H.F., Werven T.: **Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part II: oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum.** *Journal of Dairy Science*, 93. 5696–706., 2010.
 32. Buchet A., Belloc C., Leblanc-Maridor M., Merlot E.: **Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs.** *Plos One*, 12. e0178487., 2017.
 33. Cadenas E., Packer L.: **Handbook of Antioxidants.** 2. kiadás. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, , pp. 1–707., 2002.
 34. Carletti M., Cantello M., Giantin M., Nebbia C., Cannizzo F.T., Bollo E., Dacasto M.: **Serum antioxidant enzyme activities and oxidative stress parameters as possible biomarkers of exposure in veal calves illegally treated with dexamethasone.**

- Toxicology in Vitro, 21. 277–283., 2007.
35. Carratelli M.: Carratelli Panel (Diacron International s.r.l.). Internetes hivatkozás: <http://www.diacron.com/en/carratelli-panel.html>., 2015.
 36. Castillo C., Hernandez J., Bravo A., Lopez-Alonso M., Pereira V., Benedito J.L.: **Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows.** Veterinary Journal, 169. 286–292., 2005.
 37. Castillo C., Hernández J., Valverde I., Pereira V., Sotillo J., Alonso M.L., Benedito J.L.: **Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows.** Research in Veterinary Science, 80. 133–139., 2006.
 38. Castillo C., Pereira V., Abuelo Á., Hernández J.: **Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production.** The Scientific World Journal, 2013. 1–8., 2013.
 39. Celi P.: **The role of oxidative stress in small ruminants' health and production.** Revista Brasileira de Zootecnia, 39. 348–363., 2010.
 40. Celi P.: **Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine.** Immunopharmacology and immunotoxicology, 33. 233–240., 2011.
 41. Celi P., Gabai G.: **Oxidant/Antioxidant Balance in Animal Nutrition and Health: The Role of Protein Oxidation.** Frontiers in Veterinary Science, 2. 1–13., 2015.
 42. Celi P., Merlo M., Barbato O., Gabai G.: **Relationship between oxidative stress and the success of artificial insemination in dairy cows in a pasture-based system.** Veterinary Journal, 193. 498–502., 2012.
 43. Celi P., Merlo M., Dalt L.D., Stefani A., Barbato O., Gabai G.: **Relationship between late embryonic mortality and the increase in plasma advanced oxidised protein products (AOPP) in dairy cows.** Reproduction Fertility and Development, 23. 527–533., 2011.
 44. Celi P., Sullivan M., Evans D.: **The stability of the reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential (BAP) tests on stored horse blood.** Veterinary Journal, 183. 217–218., 2010.
 45. Cesarone M.R., Belcaro G., Carratelli M., Cornelli U., De Sanctis M.T., Incandela L., Barsotti A., Terranova R., Nicolaidis A.: **A simple test to monitor oxidative stress.** International Angiology : A Journal of the International Union of Angiology, 18. 127–130., 1999.
 46. Chan Á.C., Tran K., Raynor T., Ganz P.R., Chow C.K.: **Regeneratiolt oJ'vitamin E in hurnan platelet.** Journal of Biological Chemistry, 26. 17290–17295., 1991.

47. Chauhan S.S., Celi P., Leury B.J., Clarke I.J., Dunshea F.R.: **Dietary antioxidants at supranutritional doses improve oxidative status and reduce the negative effects of heat stress in sheep.** *Journal of Animal Science*, 92. 3364–3374., 2014.
48. Chen J., Lindmark-Månsson H., Gorton L., Åkesson B.: **Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods.** *International Dairy Journal*, 13. 927–935., 2003.
49. Clark J.H.: **Requirements of Dairy Cattle.** 7. átdolgozott kiadás. National Academy Press, Washington D.C., USA., 2001.
50. Clausen M.R., Skibsted L.H., Stagsted J.: **Characterization of major radical scavenger species in bovine milk through size exclusion chromatography and functional assays.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57. 2912–2919., 2009.
51. Cornelli U., Terranova R., Luca S., Cornelli M., Alberti A.: **Bioavailability and antioxidant activity of some food supplements in men and women using the D-Rom's test as a marker of oxidative stress.** *The Journal of Nutrition*, 131. 3208–3211., 2001.
52. Covarrubias L., Hernández-García D., Schnabel D., Salas-Vidal E., Castro-Obregón S.: **Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active?** *Developmental Biology*, 320. 1–11., 2008.
53. Curtis S.E., Price E.O., Moberg G.P., Levine S., Ewbank R., Dantzer R., Morméde P., Porges S.W., Kitchell R.L., Johnson R.D., Reite M., Henry J.P., Stephens-Larson P., Golub M.S., Gershwin M.E., Kelley K.W., Roth J.A., Klasing K.C., Irving G.W., Besch E.L.: **Animal Stress.** szerkesztő: Moberg G.P., Springer New York and American Physiological Society. pp. 1–324., 1985.
54. Davis R.E., Madsen L.L.: **Carotene and vitamin A in cattle blood plasma with observations on reproductive performance at restricted levels of carotene intake: One figure.** *The Journal of Nutrition*, 21. 135–146., 1941.
55. Deelen S.M., Ollivett T.L., Haines D.M., Leslie K.E.: **Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves.** *Journal of Dairy Science*, 97. 3838–3844., 2014.
56. Descalzo M., Sancho M.: **A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina.** *Meat Science*, 79. 423–436., 2008.
57. Van Donkersgoed J., Ribble C.S., Boyer L.G., Townsend H.G.: **Epidemiological study of enzootic pneumonia in dairy calves in Saskatchewan.** *Canadian journal of veterinary research. Revue canadienne de recherche vétérinaire*, 57. 247–254., 1993.

58. Donovan G.A., Dohoo I.R., Montgomery D.M., Bennett F.L.: **Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA.** Preventive Veterinary Medicine, 33. 1–10., 1998.
59. Doumas B.T., Watson W.A., Biggs H.G.: **Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green.** Clinica Chimica Acta, 31. (1) 87–96., 1971.
60. Drackley J.K.: **Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier.** Journal of Dairy Science, 82, 2259–2273., 1999.
61. Drackley J.K., Dann H.M., Douglas N., Janovick Guretzky N.A., Litherland N.B., Underwood J.P., Looor J.J.: **Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders.** Italian Journal of Animal Science, 4. (4) 323–344., 2005.
62. El-Aal M.A.: **Lipid peroxidation end-products as a key of oxidative stress: effect of antioxidant on their production and transfer of free radicals.** In: Catala A. (ed.): Lipid peroxidation. InTech, Rijeka, Croatia., p. 68., 2012.
63. Espinosa-Diez C., Miguel V., Mennerich D., Kietzmann T., Sanchez-Perez P., Cadenas S., Lamas S.: **Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress.** Redox Biology, 6. 183–197., 2015.
64. Frandson R.D., Wilke W.L., Fails A.D.: **Anatomy and Physiology of Farm Animals,** 7. kiadás. A John Wiley és Sons Publication Inc., New Jersey, USA., 2013.
65. Fisher R.A.: **Statistical methods for researchworkers.** Oliver and Boyd, Tweeddale Court, Edinburgh, 1925.
66. Friedrichs K.R., Harr K.E., Freeman K.P., Szladovits B., Walton R.M., Barnhart K.F., Blanco-Chavez J.: **ASVCP reference interval guidelines: Determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics.** Veterinary Clinical Pathology, 41. 441–453., 2012.
67. Friel J.K., Martin S.M., Langdon M., Herzberg G.R., Buettner G.R.: **Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula.** Pediatric Research, 51. 612–618., 2002.
68. Gaadee H.I.M., Ghada O.F.A., Mohamed A.E., Thabet M.H.: **Prevalence of Cryptosporidium parvum with oxidative stress and antioxidant status in sucker cattle calves suffering from diarrhea.** Journal of Agriculture and Research, 4. 20–31., 2018.
69. Gaál T., Ribiczeyné-Szabó P., Stadler K., Jakus J., Reiczigel J., Kövér P., Mézes M, Sümeghy L.: **Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving.** Comparative Biochemistry and Physiology

- Biochemistry and Molecular Biology, 143. 391–396., 2006.
70. Gabai G., De Luca E., Miotto G., Zin G., Stefani A., Dalt L.D., Barberio A., Celi P.: **Relationship between Protein Oxidation Biomarkers and Uterine Health in Dairy Cows during the Postpartum Period.** *Antioxidants*, 8. 21., 2019.
 71. Gaetke L.M., Chow C.K.: **Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients.** *Toxicology*, 189. 147–163., 2003.
 72. Gerschman R., Gilbert D.L., Nye S.W., Dwyer P.: **Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common.** *Science*, 119. 623–626., 1954.
 73. Goff J.P., Horst R.L.: **Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders.** *Journal of Dairy Science*, 80. 1260–1268., 1997.
 74. Goff J.P., Stabel J.R.: **Decreased Plasma Retinol, α -Tocopherol, and Zinc Concentration During the Periparturient Period: Effect of Milk Fever.** *Journal of Dairy Science*, 73. 3195–3199., 1990.
 75. Graugnard D.E., Moyes K.M., Trevisi E., Khan M.J., Keisler D., Drackley J.K., Bertoni G., Loor J.J.: **Liver lipid content and inflammometabolic indices in periparturient dairy cows are altered in response to preparturient energy intake and postparturient intramammary inflammatory challenge.** *Journal of Dairy Science*, 96. 918–935., 2013.
 76. Gumen A., Keskin A., Yilmazbas-Mecitoglu G., Karakaya E., Wiltbank M.: **Dry Period Management and Optimization of Post-Partum Reproductive Management in Dairy Cattle.** *Reproduction in Domestic Animals*, 46. (SUPPL. 3), 11–17., 2011.
 77. Habashy W.S., Milfurt M.C., Rekaya Samuel E., Aggrey S.E.: **Expression of genes that encode cellular oxidant/antioxidant systems are affected by heat stress.** *Molecular Biology Reports*, 45, 389–394., 2018.
 78. Hanekamp W.J.A., Smits A.C., Wierenga H.K.: **Open versus closed barn and individual versus group-housing for bull calves destined for beef production.** *Livestock Production Science*, 37. 261–270., 1994.
 79. H & D: **The Measurement of Oxidative Stress.** Internetes hivatkozás: <http://www.hedsrl.it>, 2015.
 80. Halliwell B., Gutteridge J.M.C.: **Free Radicals in Biology és Medicine**, 5. kiadás. Oxford University Press, Oxford, UK. pp. 1–905., 2015.
 81. Haraszti J.: **A tehén nemi működése és szaporodási zavarai.** In: *A háziállatok szülészete és szaporodásbiológiája* szerkesztő: Haraszti J., Zöldág L. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 327–411., 1993.
 82. Heidarpour M., Mohri M.B., Fallah-Rad A.H., Shahreza F.D., Mohammadi M.:

- Oxidative stress and trace elements before and after treatment in dairy cows with clinical and subclinical endometritis.** *Revue de Medecine Veterinaire*, 163. 628–633., 2012.
83. Hejel P., Zechner G., Csorba Cs., Könyves L.: **Survey of ketolactia, determining the main predisposing management factors and consequences in Hungarian dairy herds by using a cow-side milk test.** *Veterinary Record Open*, 5. 1–8., 2018.
84. Horváth Z.: **Bevezetés az állatorvosi belgyógyászatba.** Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1–330 pp., 1974.
85. Hulbert L.E., Moisé S.J.: **Stress, immunity, and the management of calves.** *Journal of Dairy Science*, 99. (4) 3199–3216., 2016.
86. Jasirowski H.: **A borjak és növendékmarhák felnevelésének fiziológiai és biológiai alapjai** In: *Szarvasmarhatenyésztés.* Szerkesztő: Horn A. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, pp. 1–931., 1973.
87. Jezek J., Nemeč M., Staric J., Klinkon M.: **Age related changes and reference intervals of haematological variables in dairy calves.** *Bulletine of Veterinary Institute, Pulawy*, 55. 471–478., 2011.
88. Josephson B., Gyllensward C.: **The development of the serum electrolyte concentration in the normal infants and children.** *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 9. (1) 29–38., 1957.
89. Joshi V., Bhanuprakash A.G., Mandal R.S.K., Alam S., Gupta V.K., Dimri U.: **Oxidative stress and imbalance of serum trace mineral metabolism contribute to bovine respiratory disease in dairy calves.** *Indian Journal of Animal Sciences*, 88. 295–299., 2018.
90. Jóźwik A., Krzyżewski J., Strzałkowska N., Poławska E., Bagnicka E., Wierzbicka A., Niemczuk K., Lipińska P., Horbańczuk J.O.: **Relations between the oxidative status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairy cows—A review.** *Animal Science Papers and Reports*, 30. 297–307., 2012.
91. Kandemir F.M., Erisir M., Yuksel M.: **Comparison of lipid peroxidation and several antioxidants in blood of normally calved and dystocia affected cows and their newborn calves.** *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 71. 19–23., 2016.
92. Kankofer M.: **Non-enzymatic antioxidative defence mechanisms against reactive oxygen species in bovine-retained and not-retained placenta: Vitamin C and glutathione.** *Reproduction in Domestic Animals*, 36. 203–206., 2001.
93. Kankofer M., Podolak M., Fidecki M., Gondek T.: **Activity of Placental Glutathione**

- Peroxidase and Superoxide Dismutase in Cows with and with out Retained Fetal Membranes.** Placenta, 17. 591–594., 1996.
94. Kehrlí M.E., Nonnecke B.J., Roth J.A.: **Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period.** American Journal of Veterinary Research, 50. 207–214., 1989.
95. Kerr M.G.: **Veterinary Laboratory Medicine - Clinical Biochemistry and Haematology.** Blackwell Science., New Jersey, USA., 2002.
96. Kleczkowski M., Kluciński W., Shaktur A., Sikora J.: **Concentration of ascorbic acid in the blood of cows with subclinical mastitis.** Polish Journal of Veterinary Sciences, 8. 121–125., 2005.
97. Konvičná J., Vargová M., Paulíková I., Kováč G., Kostecká Z.: **Oxidative stress and antioxidant status in dairy cows during prepartal and postpartal periods.** Acta Veterinaria Brno, 84. 133–140., 2015.
98. Kudron, E., Szalay D. C., Brydl E., Ballasch A.: **A borjak vírusfertőzöttségének alakulása.** Magyar Állatorvosok Lapja, 38. 466–371., 1983.
99. Kumar B., Manuja A., Aich P.: **Stress and its impact on farm animals.** Frontiers in Bioscience - Elite edition, 4. 1759–1767., 2012.
100. Kusano K., Yamazaki M., Kiuchi M., Kaneko K., Koyama K.: **Reference range of blood biomarkers for oxidative stress in Thoroughbred racehorses (2–5 years old).** Journal of Equine Science, 27. 125–129., 2016.
101. Lacetera N., Bernabucci U., Khalifa H.H., Ronchi B., Nardone A.: **Interactions between climate and animal production.** EAAP Technical Series. The Netherlands., 2003.
102. Leblanc S.: **Monitoring Programs for Transition Dairy Cows.** In: Proceedings of XXIVth World Buiatrics Congress. Nice, France., 2006.
103. Lee J., Koo N., Min D.B.: **Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 3. 21–33., 2004.
104. Li Y., Ding H.Y.Y., Wang X.C.C., Feng S.B.B., Li X.W., Wang Z, Liu GWW.: **An association between the level of oxidative stress and the concentrations of NEFA and BHBA in the plasma of ketotic dairy cows.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 100. 1–8., 2016.
105. Li S., Yan T., Yang J.Q., Oberley T.D., Oberley L.W.: **The role of cellular glutathione peroxidase redox regulation in the suppression of tumor cell growth by manganese**

- superoxide dismutase.** *Cancer Research*, 60. (3) 927–939., 2000.
106. Leroy J.L.M.R., Van Soom A. Opsomer G., Bols P.E.J.: **The consequences of metabolic changes in high-yielding dairy cows on oocyte and embryo quality.** *Animal*, 2. 1120–1127., 2008.
107. Leslie K.: **Health and Immune Function of Dairy Calves.** *WCDS Advances in Dairy Technology*, 24. 177–188., 2012.
108. Lindmark-Månsson H., Åkesson B.: **Antioxidative factors in milk.** *British Journal of Nutrition*, 84. 103–110., 2000.
109. Liu S., Liao X., Wang X., Zhang L.: **Interaction of electron leak and proton leak in respiratory chain of mitochondria - proton leak induced by superoxide from an electron leak pathway of univalent reduction of oxygen.** *Science in China*, 39. 168–178., 1996.
110. Lorenz I., Earley B., Gilmore J., Hogan I., Kennedy E., More S.J.: **Calf health from birth to weaning. Part III: Housing and management of calf pneumonia.** *Irish Veterinary Journal*, 64. 1–9., 2011.
111. Lyman D., Clark L.J., Campbell K.: **Copper Accumulation in Wisconsin Holsteins with Indications of Oxidative Liver Damage.** *Journal of Veterinary Medicine and Research*, 2. 1021., 2015.
112. Macaulay A.S., Hahn G.L., Clark D.H., Sisson D.V.: **Comparison of Calf Housing Types and Tympanic Temperature Rhythms in Holstein Calves.** *Journal of Dairy Science*, 78. (4) 856–862., 1995.
113. Mandel R., Whay H.R., Klement E., Nicol C.J.: **Invited review: Environmental enrichment of dairy cows and calves in indoor housing.** *Journal of Dairy Science*, 99. 1695–1715.
114. Margerison J.K., Robarts A.D.J., Reynolds G.W.: **The effect of increasing the nutrient and amino acid concentration of milk diets on dairy heifer individual feed intake, growth, development, and lactation performance.** *Journal of Dairy Science*, 96. 6539–6549., 2013.
115. Matsui T.: **Vitamin C nutrition in cattle.** *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25. 597–605., 2012.
116. McCord J.M., Fridovich I.: **Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein).** *The Journal of Biological Chemistry*, 244. 6049–6055., 1969.
117. McGrath J.J.: **Accelerated pre-weaning growth rates in dairy calves: do**

- antioxidants have a place?** *Animal Production Science*, 56. 1275–1284., 2016.
118. MacKay E.M., MacKay L.L.: **The concentration of urea in the blood of normal individuals.** *Journal of Clinical Investigation*. 4. (2) 295 – 306., 1927.
119. McMichael M.A.: **Timely Topics in Nutrition: Oxidative Stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231. 714–720., 2007.
120. McMurray C.H., Blanchflower W.J., Rice D.A.: **Automated kinetic method for D-3-hydroxybutyrate in plasma or serum.** *Clinical Chemistry*, 30. (3) 421–425., 1984.
121. Mézes M., Balogh K.: **Prooxidant mechanisms of selenium toxicity - A review.** *Acta Biologica Szegediensis*, 53. 15–18., 2009.
122. Mézes M.: **A mikotoxinok és az oxidatív stressz: ok vagy okozat?** In: Székfoglaló előadások a Magyar Tudományos Akadémián. Magyar Tudományos Akadémia, Budapest., pp. 31., 2020.
123. Miller J.K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F.C.: **Oxidative stress, antioxidants, and animal function.** *Journal of Dairy Science*, 76. 2812–2823., 1993.
124. Mitchell P.D.: **Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism.** *Nature*, 191. 144–148., 1961.
125. Morin D.E., McCoy G.C., Hurley W.L.: **Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves.** *Journal of Dairy Science*, 80. 747–753., 1997.
126. Mulligan F.J., Doherty M.L.: **Production diseases of the transition cow.** *Veterinary Journal*, 176. (1) 3–9., 2008.
127. Mutinati M., Pantaleo M., Roncetti M., Piccinno M., Rizzo A., Sciorsci R.L.: **Oxidative Stress in Human Neonatology. A Review article.** *Reproduction of Domestic Animals*, 49. 7–16., 2014.
128. Noma A., Okabe H., Kita M.: **A new colorimetric micro-determination of free fatty acids in serum.** *Clinica Chimica Acta*, 43. 317., 1973.
129. Oetzel G.R.: **Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease.** *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 20. 651–674., 2004.
130. Ózsvári L. és Búza L.: **The risk factors and prevalence of bovine respiratory disease complex (BRDC) in Hungarian large-scale cattle herds.** Poster. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 137(3), 139–149., 2015.
131. Page S.W.: **The Role of Enteric Antibiotics in Livestock Production.** In: *Advanced Veterinary Therapeutics*. Avcare Limited, Canberra, Australia, 2003.

132. Palmieri B., Sblendorio V.: **Oxidative stress tests: Overview on reliability and use. Part II.** European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 11. 383–399., 2007.
133. Park Y-M.M., Erve T., O'Brien K., Nichols H., Weinberg C., Sandler D.: **Association of Dietary and Plasma Carotenoids with Urinary F2-isoprostanes.** Current Developments in Nutrition, 3. 469., 2019.
134. Pasquini A., Luchetti, E., Marchetti V., Cardini G., Iorio E.L.: **Analytical performance of d-ROMs test and BAP test in canine plasma.** Definition of the normal range in healthy Labrador dogs. Veterinary Research Communications, 32. 137 – 143., 2008.
135. Pastorelli G., Faustini M., Corino C., Rossi R.: **Kit Radicaux Libres, a new innovative biological application for monitoring oxidative stress in pigs.** Italian Journal of Animal Science, 12. 432–435., 2013.
136. Pedernera M., Celi P., García S.C., Salvin H.E., Barchia I., Fulkerson W.J.: **Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture.** Veterinary Journal (London, England : 1997), 186. 352–357., 2010.
137. PetitClerc C., Solberg H.: **Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values.** Clinica Chimica Acta, 170. S3–S12., 1987.
138. Puppel K., Kapusta A., Kuczyńska B.: **The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review.** Journal of Science Food Agric., 95:2179–2184., 2015.
139. Raeth-Knight M., Chester-Jones H., Hayes S., Linn J., Larson R., Ziegler D., Ziegler B., Broadwater N.: **Impact of conventional or intensive milk replacer programs on Holstein heifer performance through six months of age and during first lactation.** Journal of Dairy Science, 92.799–809., 2009.
140. Rafa P., Ballasch A., Frenyó V.L., Fodor É.: **A mikroklíma hatása a maternális IgG eliminálódására borjakban.** Magyar Állatorvosok Lapja, 42. 215–219., 1987.
141. Rafai P., Tamási G.: **A mikroklíma hatása a háziállatok termelésére és egészségére.** In: Állathigiénia (Szerkesztő: Rafai P.). Agroinform Kiadó, Budapest, 1 – 343 pp., 2003.
142. Rafai P., Nagy G., Tamási G., Mézes M., Bokori J., Mátrai T., Szigeti G., Sályi G.: **Állathigiénia. 1.** (Szerkesztő: Rafai P.). Agroinform Kiadó, Budapest., 2004.
143. Ranade R., Talukder S., Muscatello G., Celi P.: **Assessment of oxidative stress biomarkers in exhaled breath condensate and blood of dairy heifer calves from birth to weaning.** Veterinary Journal (London, England : 1997), 202. 583–587., 2014.
144. Ranjan R., Naresh R., Patra R.C., Swarup D.: **Erythrocyte lipid peroxides and blood zinc and copper concentrations in acute undifferentiated diarrhoea in calves.**

- Veterinary Research Communications, 30. 249–254., 2006.
145. Rizzo A., Minoia G., Trisolini C., Manca R., Sciorsci R.L.: **Concentrations of free radicals and beta-endorphins in repeat breeder cows.** *Animal Reproduction Science*, 100. 257–263., 2007.
146. Rizzo A., Minoia G., Trisolini C., Mutinati M., Spedicato M., Jirillo F., Sciorsci R.L.: **Reactive Oxygen Species (ROS): involvement in bovine follicular cysts etiopathogenesis.** *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 31. 631–635., 2009.
147. Rizzo A., Pantaleo M., Mutinati M., Minoia G., Trisolini C., Ceci E., Sciorsci R.L.: **Blood and milk oxidative status after administration of different antioxidants during early postpartum in dairy cows.** *Research in Veterinary Science*, 95. 1–6., 2012.
148. Rollo C.D.: **Growth negatively impacts the life span of mammals.** *Evolution and Development*, 4. 55–61., 2002.
149. Schumann G., Klauke R.: **New IFCC reference procedures for the determination of catalytic activity concentrations of five enzymes in serum: preliminary upper reference limits obtained in hospitalized subjects.** *Clinica Chimica Acta*, 327. 69–79., 2003.
150. Saphiro S.S., Wilk M.B.: **An analysis of variance test for normality (complete samples).** *Biometrika* 52. 591 – 611., 1965.
151. Sejian V., Naqvi S.M., Ezeji T., Lakritz J., Lal R.: **Environmental Stress and Amelioration in Livestock Production.** Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, Germany. pp. 1–569., 2012.
152. Shi X., Li X., Li D., Li Y., Song Y., Deng Q., Wang J., Zhang Y., Ding H., Yin L., Zhang Y., Wang Z., Li X., Liu G.: **β -Hydroxybutyrate activates the NF- κ B signaling pathway to promote the expression of pro-inflammatory factors in calf hepatocytes.** *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 33. 920–932., 2014.
153. Sies H., Beckmann R., Brigelius R., Cadenas E., Clark I.A., Cohen G.C., Cowden W.B., Evans C.G., Flohé L., Frei B., Früstenberger G., Giertz H., Hamers M.N., Jones D.P., Kappus H., Loschen G., Marks F., Orrenius S., Reed D.J., Richter C., Roos D., Schulte-Frohlinde D., Smith M.T., Stern A., Thor H., Sonntag C., Wills E.D., Willson R.L.: **Oxidative Stress.** (Szerkesztő: Sies, H.). Academic Press Inc., London, pp. 1–507., 1985.
154. Šlosárková S., Fleischer P., Pěnkava O., Skřivánek M.: **The assessment of colostral immunity in dairy calves based on serum biochemical indicators and their relationships.** *Acta Veterinaria Brno*, 83. 151–156., 2014.

155. Soares R., Costa C. (Szerk.): **Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis in the Metabolic Syndrome**. Springer Science-Business Media BV., 2009.
156. Soberon F., van Amburgh M.E.: **The effect of nutrient intake from milk or milk replacer of preweaned dairy calves on lactation milk yield as adults: A meta-analysis of current data**. (Lactation Biology Symposium). Journal of Animal Science, 91. 706–712., 2013.
157. Soberon M.A., Liu R.H., Cherney D.J.R.: **Short communication: Antioxidant activity of calf milk replacers**. Journal of Dairy Science, 95. 2703–2706., 2012.
158. Sordillo L.M., Aitken S.L.: **Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle**. Veterinary Immunology and Immunopathology, 128. 104–109., 2009.
159. Sordillo L.M., Contreras G.A., Aitken S.L.: **Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows**. Animal Health Response Review 10. (1) 53–63., 2009.
160. Sordillo L.M., Mavangira V.: **The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows**. Animal Production Science, 54. 1204–1214., 2014.
161. Sordillo L.M., Raphael W.: **Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders**. Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice, 29. 267–278., 2013.
162. Spears J.W., Weiss W.P.: **Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows**. Veterinary Journal, 176. 70–76., 2008.
163. Van De Stroet D.L., Calderón Díaz J.A., Stalder K.J., Heinrichs A.J., Dechow C.D.: **Association of calf growth traits with production characteristics in dairy cattle**. Journal of Dairy Science, 99. 8347–8355., 2016.
164. Suarez-Mena F.X., Hill T.M., Heinrichs A.J., Bateman H.G., Aldrich J.M., Schlotterbeck R.L.: **Effects of including corn distillers dried grains with solubles in dairy calf feeds**. Journal of Dairy Science, 94. 3037–3044., 2011.
165. Sugino N: **Reactive oxygen species in ovarian physiology**. Reproductive Medicine and Biology, 4. 31–44., 2005.
166. Szabó A., Vásárhelyi B.: **Bevezetés a laboratóriumi medicinába, 2.**, Semmelweis Kiadó, Budapest. pp. 1–420., 2015.
167. Szenci O., Bajcsy Á.Cs., Horváth A., Szelényi Z., Vincze B., Baumgartner W.: **Diagnosis of foetal, neonatal and postnatal well-being of dairy calves**. Magyar

- Állatorvosok Lapja, 134. 643–652., 2012.
168. Talukder S., Inghoff L., Kerrisk K.L., Celi P.: **Plasma oxidative stress biomarkers and progesterone profiles in a dairy cow diagnosed with an ovarian follicular cyst.** *The Veterinary Quarterly*, 34. 113–117., 2014.
169. Talukder S., Kerrisk K.L., Gabai G., Celi P.: **Role of oxidant – antioxidant balance in reproduction of domestic animals: Review.** *Animal Production Science (CSIRO Publishing on-line, <https://doi.org/10.1071/AN15619>), 5 April. 2017.*
170. Talukder S., Kerrisk K.L., Gabai G., Fukutomi A., Celi P.: **Changes in milk oxidative stress biomarkers in lactating dairy cows with ovulatory and an-ovulatory oestrous cycles.** *Animal Reproduction Science*, 158. 86–95., 2015.
171. Tietz N.W.: **Fundamentals of Clinical Chemistry**, 3rd edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 676–679., 1987.
172. Tukey J.: **Comparing individual means in the analysis of variance.** *Biometrics*, 5: 99 – 114., 1949.
173. Trinder, P.: **Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor.** *Annual Clinical Biochemistry*, 6. 24–27., 1969.
174. Vanholder T., Opsomer G., De Kruif A.: **Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle. A review article.** *Reproduction Nutrition Development*, 46. 105–119., 2006.
175. Vermorel M., Vernet J., Dardillat C., Demigne C., Davicco M.J.: **Energy metabolism and thermoregulation in the newborn calf; Effect of calving conditions.** *Canadian Journal of Animal Science*, 122, 113–122., 1989.
176. Waldner C.L., Rosengren L.B.: **Factors associated with serum immunoglobulin levels in beef calves from Alberta and Saskatchewan and association between passive transfer and health outcomes.** *Canadian Veterinary Journal*, 50. 275–281., 2009.
177. Wallnöfer H., Wallnöfer H., Schmidt E., Schmidt F.W.: **Synopsis der Leberkrankheiten: Lehrbuch und Atlas zur Diagnostik.** Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 1–299., 1974.
178. Wankhade P.R., Manimaran A., Kumaresan A., Jeyakumar S., Ramesha K.P., Sejian V., Rajendran D., Varghese M.R.: **Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review.** *Veterinary World*, 10. (11) 1367–1377., 2017.
179. Weary D.M., Jasper J., Hötzel M.J.: **Understanding weaning distress.** *Applied Animal Behaviour Science*, 110. 24–41., 2008.
180. Weaver D.M., Tyler J.W., VanMetre D.C., Hostetler D.E., Barrington G.M.: **Passive**

- transfer of colostral immunoglobulins in calves.** *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14. 569–577., 2000.
181. Weichselbaum T. E.: **An accurate and rapid method for the determination of proteins in samlla amounts of blood serum and plasma.** *American Journal of Clinical Pathology*, 16. (10) 40–49., 1945.
182. Windeyer M.C., Leslie K.E., Godden S.M., Hodgins D.C., Lissemore K.D., LeBlanc S.J.: **Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age.** *Preventive Veterinary Medicine*, 113. 231–240., 2014.
183. Wisdom S.J., Wilson R., McKillop J.H., Walker J.J.: **Antioxidant systems in normal pregnancy and in pregnancy-induced hypertension.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 165. 1701–1704., 1991.
184. Wisnieski L., Norby B., Pierce S.J., Becker T., Gandy J.C., Sordillo L.M.: **Predictive models for early lactation diseases in transition dairy cattle at dry-off.** *Preventive Veterinary Medicine*, 163. 68–78., 2019.
185. Woolums A.R., Ames T.R., Baker J.C.: **The bronchopneumonias (respiratory disease complex of cattle, sheep, and goats).** In: *Large Animal Internal Medicine*. 4. kiadás. Edited by (Szerkesztő: Smith B.P., Mosby, Elsevier, pp. 602–643., 2009.
186. Xinhuan X., Chuchu X., Shi S., Cheng X., Gang W., Yunlong B., Ling W.: **Correlations between Copper Deficiency and Oxidative Stress in Dairy Cows.** *Journal of Residuals Science & Technology*, 14. 85–89., 2017.
187. Xu C., Shu S., Xia C., Wang B., Zhang H.: **Investigation on the Relationship of Insulin Resistance and Ketosis in Dairy Cows.** *Journal of Veterinary Science Technology*, 5. 100–162., 2014.
188. Yildiz H., Şimşek H., Saat N., Yüксе M.: **Effects of dystocia on lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidants in crossbred dairy cows.** *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 55. 135–139., 2011.
189. Yin J., Wu M.M., Xiao H., Ren W.K., Duan J.L., Yang G., Li T.J., Yin Y.L.: **Development of an antioxidant system after early weaning in piglets.** *Journal of Animal Science*, 92. 612–619., 2014.
190. Yokus B., Bademkiran S., Cakir D.U.: **Total anti-oxidant capacity and oxidative stress in dairy cattle and their associations with dystocia.** *Medycyna Weterynaryjna*, 63. 167–170., 2007.
191. Zamboni L.: **Fine morphology of the follicle cell-oocyte association.** *Biology of Reproduction*, 10. 125–149., 1974.

192. Zimbelman R.B., Collier R.J.: **Feeding strategies for high-producing dairy cows during periods of elevated heat and humidity.** In: Proceedings of Tri-State Dairy Nutrition Conference. Fort Wayne, IN, USA, pp. 111–126., 2011.

6 Saját közlemények

6.1 A dolgozat témájában, referált lapokban megjelent közlemények

Hejel P., Jurkovich V., Sobiech P., Wysocka D., Kiss G., Horváth B., Könyves L.: Examination of the redox status of calves during the milk feeding period in a Hungarian large-scale dairy farm. **Élelmiszervizsgálati Közlemények (Journal of Food Investigation) Special Ed**, 26–32. 2020.

Hejel P., Sáfár J., Bognár B., Kiss L., Jurkovich V., Brydl E., László Könyves L.: The impact of the oxidative status on the reproduction of cows and the calves' health. A review. **Acta Veterinaria Brno**, 90. 003 – 013. 2021.

Hejel P., Jurkovich V., Bognár B., Kovács P., Brydl E., Könyves L.: Monitoring redox status of lactating dairy cows by use plasma dROM, PAT and OSI biomarkers. A kézirat elbírálás alatt az Acta Veterinaria Brno folyóiratban

Hejel P., Jurkovich V., Bognár B., Kovács P., Brydl E., Könyves L.: Az oxidatív stressz jelentősége és a monitoring lehetősége tejhasznú szarvasmarha-állományokban. Irodalmi összefoglaló. **Magyar Állatorvosok Lapja**. 141 (8). 471–480. 2019.

Hejel P., Zechner G., Csorba Cs., Könyves L.: Survey of ketolactia, determining the main predisposing management factors and consequences in Hungarian dairy herds by using a cow-side milk test. **Veterinary Record Open**. 5 (e000253). 1–8. 2018.

6.2 A dolgozat témájában tartott előadások

Hejel P.: Az oxidatív státusz jelentősége. Az oxidatív stressz, okok, következmények, állománydiagnosztikai lehetőségek és megelőzés tejhasznú szarvasmarha állományokban. Előadás a Kérődző-egészségügyi Szakállatorvos képzés keretein belül. Állatorvostudományi Egyetem, Budapest, 2020. október 13.

Hejel P., Jurkovich V., Kovács P., Brydl E., Könyves L.: A possible method for *in vivo* determination of the oxidative stress in dairy herds; Preliminary results.

In: Sebastian Opaliński (szerk.) Proceedings of the XIXth International Congress of International Society for Animal Hygiene, Wrocław, 2019.09.08. – 2019.09.12.

pp 26-29 (2019)

Hejel P., Könyves L.: Egy lehetséges módszer az oxidatív stressz tejelő állományokban történő in-vivo meghatározására: Előzetes eredmények. Magyar Állatorvosok Lapja. 140 (Suppl 1). 98–103. 2018. 18. Közép-európai Buiatrikus Kongresszus, a Magyar Buiatrikus Társaság 28. Nemzetközi Kongresszusa. Eger, 2018.05.30. – 2018.06.02.

6.3 Nem a dolgozat témájában, referált lapokban megjelent közlemények

Jurkovich V., Hejel P.: Az állományszintű sántaság felderítése tejtermelő tehenészetekben. Irodalmi összefoglaló, Magyar Állatorvosok Lapja. 142. 653–663. 2020.

Kovács L., Pálffy M., Hejel P., Baumgartner W., Szenci O.: Subacute ruminal acidosis in dairy cows - physiological background, risk factors and diagnostic methods. **Veterinarska Stanica**, 51. 1–13. 2020.

Bakony M., Könyves L., Hejel P., Kovács L., Jurkovich V.: Hőstressz tejelő tehenekben I. A tejtermelés-csökkenés háttérében álló élettani tényezők. Irodalmi összefoglaló. **Magyar Állatorvosok Lapja**, 141. 341–350. 2019.

Hejel P., Jurkovich V., Kovács P., Bakony M., Könyves L.: A robotizált fejési rendszerek elterjedését és hatékony működtetését befolyásoló tényezők; Szakirodalmi Összefoglaló, **Magyar Állatorvosok Lapja**. 140. 289–301. 2018.

Könyves L., Jurkovich V., Hejel P., Kovács P., Brydl E.: Hipokalcémia monitoring. Helyszíni gyorsvizsgálatok tejhasznú tehenállományokban. **Magyar Állatorvosok Lapja**, 140. 80–83. 2018.

Hejel P., Harnos A., Könyves L.: A bendőbeli pH- és hőmérsékletértékek változásának vizsgálata a környezeti hőmérséklet és páratartalom, valamint a tejtermelés függvényében többször ellett holstein-fríz tehenekben. Előzetes eredmények. In: Szenci O., Brydl E. (szerk.) Konferencia Közlemények. A Magyar Buiatrikus Társaság XXVII. Nemzetközi Kongresszusa, Hévíz, Magyarország 2017.10.15. – 2017.11.18. Budapest: Magyar Buiatrikusok Társasága, pp 156–165 (2017)

Könyves L., Kovács P., Bartyik J., Csorba Cs., Gubik Z., Jónás S., Tibold J., Dojcsák G., Hejel P.: A Keto-Test^(TM) szemikvantitatív tejvizsgálattal megállapított szubklinikai ketosis prevalenciája hazai tejelő tehénállományokban. **Magyar Állatorvosok Lapja**, 138. 323–331. 2016.

Hejel P., Csorba Cs., Gubik Z., Jónás S., Könyves L.: A gyakoribb takarmányozási, állomány-egészségügyi és tartástechnológiai kockázati tényezők az ellés körüli időszakban tejelő tehenekben; Irodalmi összefoglaló. **Magyar Állatorvosok Lapja**, 138. 391–400. 2016.

Hejel P., Katona K., Békési Sz., Szemethy L.: Effects of natural and artificial beech regeneration methods on food diversity and browsing intensity in the Inner Western Carpathians. **Austrian Journal of Forest Science**, 133. 139–156. 2016.

Hejel P., Katona K., Békési Sz., Szemethy L.: Bükkös felújítások szerepe a növényevő nagyvad táplálkozóterületeként. **Vadbiológia**, 15. 9–16. 2013.

7 Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném megköszönni néhai drága szüleimnek, hogy mindig hittek bennem, valamint szeretett feleségemnek és gyermekeinknek, hogy sokszor lemondással járó odaadásukkal mindig biztosították a munkához szükséges nyugodt háttérrel és folyamatos bátorításukkal ösztönöztek a munka folytatására.

Hálásan köszönöm egykori tanárainknak és korábbi munkatársaimnak, hogy tanítottak és segítettek az évek során abban, hogy a szarvasmarhák iránt elkötelezett szakemberré váljak, majd hogy gyakorlatot szerezzek, megélhetést találjak és végül elvégezhessem ezt a munkát.

Külön szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Könyves Lászlónak, aki több évtizedes ismeretség után munkatársává fogadott a Tanszéken, ezzel lehetővé téve számomra

az egyetemi munkába való bekapcsolódást és túl azon, hogy segítette a szakmai fejlődésemet, emberileg is mindig számíthattam rá. Hálásan köszönöm opponenseimnek: Prof. Dr. Mézes Miklós akadémikusnak és Prof. Dr. Szenci Ottónak, hogy rendkívül értékes véleményükkel segítettek abban, hogy a doktori értekezésem megfelelő színvonalú munka legyen.

Köszönöm a kutatásban közreműködő munkatársaimnak: Prof. Dr. Brydl Endrének, aki folyamatosan figyelemmel kísérte a kutatást, a publikációkat és a dolgozat elkészítését és eközben rengeteg hasznos tanáccsal látott el. Dr. Jurkovich Viktornak, Dr. Sáfár Jánosnak, Dr. Bognár Barbarának, Dr. Zolnai Ferencnek, Dr. Kiss Gerdának, akik a mintavételekben és a laboratóriumi vizsgálatokban nyújtottak számomra jelentős segítséget. Dr. Bartha Andrásnak, Dr. Brydlné Németh Erzsébetnek, Szabó Piroskának, Rössler Gyulánának, akik a laboratóriumi munkában segítettek. Kövesdnyé Csollány Klárának, aki az adminisztrációs háttérrel biztosította a több éves munkához. Dr. Gerhard Zechnernek, aki korábbi munkatársam és szerzőtársam volt. Dr. Helyes Katalinnak a publikációban nyújtott segítségért. Szintén le szeretném róni hálámat Kiss László úrnak, aki lehetővé tette számunkra, hogy egy hosszú, több hónapon át folyó kísérletet lefolytassuk a reá bízott szarvasmarhaállományban. Köszönöm Szőke Zsolt úrnak és az Inter-Mix Kft.-nek, hogy rendelkezésünkre bocsátották a kísérleti borjúházakat. És végül, de nem utolsó sorban a vizsgálati helyszíneken dolgozó kollégáknak is szeretném megköszönni a segítséget.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024), projekt címe: Intelligens szakosodást szolgáló fejlesztések az Állatorvostudományi Egyetem és a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának együttműködésében).

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.2-16-2017-00012, projekt címe: Funkcionális, egészséges és biztonságos élelmiszer termékpálya modell kidolgozása a szántóföldtől az asztalig elv alapján, tematikus kutatási hálózatban

8 Mellékletek

1 számú melléklet: A kísérletbe vont állatok takarmányai

Schils Rosalac Red 30 tejpótló tápszer beltartalma

Táplálóanyag	Beltartalom
Fehérje	22%
Zsír	19%
Hamu	7,00%
Laktóz	38%
Rost	0,10%
Vas	100mg
A vitamin	25000NE
D vitamin	5000NE
E vitamin	100mg
Sovány tejpor	30%
Schils Protection Plus csomag	igen

Sprayfo Yellow tejpótló tápszer (Trouw Nutrition BV, Hollandia)

Táplálóanyag	Mennyiség [%]
Nyers fehérje	21,5
Nyers zsír	17,5
Ásványia anyagok	9,0
Nyers rost	0,0

Vitaminok és mikroelemek	Beltartalom a termékben [kg]
A Vitamin	25000 NE
D3 Vitamin	5000 NE
E Vitamin	300 mg
Szelén	0,3 mg
Réz	10 mg
Vas	90 mg

Adagolása: 130-140 g/l, 45-55 Celsius fokos vízben feloldva

Borjútáp 3-6 hónapos borjak részére (készítette: Vitafort Zrt., Dabas)

A borjútáp összetétele:

Takarmánykomponens megnevezése	kg	%
Extrahált napraforgódara (3326)	48	48
Kukorica dara	25	25
Árpa dara	15	15
Növendék premix (231-600)	12	12
Összesen:	100	100
Száranyag: 90,47 (9,5% nedvesség)		

Részletes beltartalmi adatok:

Analízisek	Mértékegység	Gramm (g)/egys	%sza
Száranyag	%	90,47	90,47
NE _I	MJ	549,86	6,08
Nyers fehérje	g	20337,88	22,48
Oldódó fehérje	g	4591,05	5,07
Védett fehérje arány	%	31,03	31,03
MFE	g	10384,03	11,48
MFN	g	13080,78	14,46
Fehérje mérleg	g	2696,75	2696,75
Cukor	g	2685,00	2,97
Keményítő	g	24908,00	27,53
Nyers rost	g	11326,99	12,52
Összes zsír és olaj	g	2096,30	2,32
Hamu	g	13231,80	14,63
Ca	g	2795,20	3,09
P	g	1122,00	1,24
Mg	g	267,43	0,30
Na	g	587,20	0,65
K	g	669,70	0,74
Mn	mg	11472,00	126,81
Zn	mg	11424,00	126,28
Cu	mg	1680,00	18,57
Se	mg	36,00	0,40
A-vitamin	NE	2640000,00	29182,56
D-vitamin	NE	480000	5305,92
E-vitamin	mg	2520,00	27,86

Szár TMR receptúra 3-6 hónapos üszők részére (készítette: Vitafort Zrt., Dabas)

A borjútáp összetétele:

Takarmánykomponens megnevezése	kg	%
Lucerna széna	2,50	32,05
Borjú táp 3-6 hón.	2,50	32,05
Víz	2,00	25,64
Melamix-44	0,80	10,26
Összesen:	7,80	100
Száranyag: 5,10 (34,7% nedvesség)		

Részletes beltartalmi adatok:

Analízisek	Mértékegység	Gramm (g)/egys	%sza
Száranyag	%	5,10	65,33
NE _i	MJ	29,51	5,79
Nyers fehérje	g	927,11	18,19
Keményítő	g	685,10	13,44
Tömegetakarmány	%	2302,50	45,18
Nyers rost	g	1158,18	22,73
ADF	g	1292,97	25,37
NDF	g	1780,43	34,94
Összes zsír és olaj	g	90,12	1,77
Hamu	g	601,03	11,79
Ca	g	109,42	2,15
P	g	35,27	0,69
Ca/P	arány	3,10	3,10
Mg	g	12,76	0,25
Na	g	16,62	0,33
K	g	69,34	1,36
Mn	mg	297,16	58,31
Zn	mg	291,12	57,13
Cu	mg	44,07	8,65
Se	mg	0,92	0,18
I	mg	46,72	0,92
Co	mg	18,00	0,35
A-vitamin	NE	66000,00	12951,08
D-vitamin	NE	12000,00	2354,74
E-vitamin	mg	63,00	12,36

Receptúra 6-12 hónapos üszők részére (készítette: Vitafort Zrt., Dabas)

A borjútáp összetétele:

Takarmánykomponens megnevezése	kg	%
Lucerna szenázs	4,00	29,63
Kukorica szilázs	4,00	29,63
Lucerna széna	3,00	22,22
Borjútáp 3-6 hón.	2,50	18,52
Összesen:	13,50	100
Száranyag: 8,65 (35,9% nedvesség)		

Részletes beltartalmi adatok:

Analízisek	Mértékegység	Gramm (g)/egys	%sza
Száranyag	%	8,65	64,06
NE _i	MJ	48,56	5,61
Nyers fehérje	g	1435,05	16,59
Keményítő	g	1159,50	13,41
Tömegtakarmány	%	6387,00	73,85
Nyers rost	g	2264,78	26,19
ADF	g	2639,57	30,52
NDF	g	3508,68	40,57
Összes zsír és olaj	g	190,06	2,20
Hamu	g	928,78	10,74
Ca	g	148,08	1,71
P	g	45,05	0,52
Ca/P	arány	3,29	3,29
Mg	g	22,28	0,26
Na	g	16,88	0,20
K	g	144,74	1,67
Mn	mg	308,59	35,68
Zn	mg	302,15	34,94
Cu	mg	46,43	5,37
Se	mg	0,93	0,11
I	mg	46,90	0,54
Co	mg	18,49	0,21
A-vitamin	NE	66000,00	7631,29
D-vitamin	NE	12000,00	1387,51
E-vitamin	mg	63,00	7,28