



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

Índice

1. Resumen.....	2
2. Introducción.....	4
3. Justificación y objetivos.....	6
4. Metodología.....	6
5. Resultados y discusión.....	7
1. Consideraciones generales sobre neonatología equina.....	7
2. Adquisición de inmunidad pasiva mediante el calostro.....	7
3. Isoeritrolisis neonatal equina.....	10
• 3.1.Etiopatogenia.....	10
○ 3.1.1. Factores que condicionan el desarrollo de la INE.....	10
▪ 3.1.1.1. Incompatibilidad entre el grupo sanguíneo de la yegua y del potro.....	11
▪ 3.1.1.2. Contacto entre la sangre de la yegua y del potro y desarrollo de alo-anticuerpos.....	12
▪ 3.1.1.3. Absorción de alo-antígenos con el calostro.....	13
○ 3.1.2. Desarrollo de la enfermedad.....	14
• 3.2. Sintomatología.....	17
• 3.3. Diagnóstico.....	18
○ 3.3.1 . Pruebas laboratoriales.....	19
• 3.4. Tratamiento.....	21
• 3.5. Pronóstico.....	25
• 3.6 Prevención.....	27
6. Conclusiones.....	30
7. Valoración personal.....	32
8. Bibliografía.....	32

1. Resumen

La isoeritrolisis neonatal equina (INE) es una enfermedad inmunomediada adquirida que puede afectar a los potros durante sus primeros días de vida. Por su interés en neonatología equina, el objetivo de este trabajo fin de grado será realizar una revisión bibliográfica sobre sus aspectos más relevantes. Esta patología se produce cuando el potro hereda del semental antígenos sanguíneos que la yegua no posee y, debido a un contacto entre sangres, esta desarrolla aloanticuerpos frente a los eritrocitos del potro, que serán ingeridos con el calostro tras el nacimiento. Generalmente, en la primera gestación incompatible el potro no desarrollará la enfermedad ya que la inmunización de la madre es más probable al final de la gestación o durante el parto, no habiendo tiempo para que un título suficiente de aloanticuerpos alcance el calostro. Cuando el potro absorbe los anticuerpos se produce la lisis o aglutinación de los eritrocitos, dando lugar a una anemia hemolítica que puede conllevar fallo renal y hepático, tanto por la hipoxia de los tejidos como por la eliminación y metabolismo de la hemoglobina liberada. En casos graves, puede llegar a producirse la muerte. La ictericia es el signo más característico y fácil de detectar pero no siempre se observa, y puesto que el resto de signos son bastante inespecíficos, el diagnóstico definitivo requiere pruebas laboratoriales, siendo la principal la de compatibilidad hemolítica cruzada. Debido a su variable gravedad, el tratamiento puede requerir desde simplemente soporte nutricional hasta transfusiones y cuidados intensivos. Del mismo modo, el desenlace de la enfermedad puede ser favorable o llegar a provocar la muerte. Por tanto, la prevención es fundamental y puede realizarse de una forma relativamente sencilla estudiando la compatibilidad de los progenitores antes del cruce, o bien monitorizando el desarrollo de anticuerpos al final de la gestación.

Abstract

Equine neonatal isoerythrolysis (ENI) is an acquired immune-mediated disease which can affect foals during their first days of life. The purpose of this final degree project will be to perform a bibliographic review concerning the main issues of the disease, due to its interest in equine neonatology. This pathology appears when the foal inherits from the stallion some blood antigens that the mare lacks. If contact between their bloods takes place, the mare can develop antibodies against foal's erythrocytes, which will be ingested and absorbed together with other immunoglobulins of the colostrum after birth. Generally, the first incompatible gestation does not lead to development of ENI in the foal. Since the mare's immunization is more likely to happen at the end of the gestation or during the calving, there is no time for enough alloantibodies to reach the colostrum. When the foal absorbs the antibodies, its erythrocytes are targeted and lysed or agglutinated, thus causing an hemolytic anemia which can provoke renal and hepatic failures due to both tissues hypoxia and the elimination and metabolism of the released hemoglobin. In severe cases, ENI can even cause the death. Jaundice is the most distinctive and easy to detect sign but it is not always noticeable. Since the other signs are quite unspecific, the final diagnosis requires laboratory tests, being the cross hemolytic compatibility the main one. Due to the variable severity of ENI, its treatment can range from just nutritional support to transfusions and intensive care. In the same way, the outcome of the disease can be favorable or even lead to death. Prevention is therefore key and can be done in a relatively simple way by studying the compatibility of the progenitors before the breeding or by monitoring the development of antibodies at the end of gestation.

2. Introducción

El censo de équidos en España ha experimentado un aumento progresivo del 21,9% desde el año 2008, pasando de contar con 536.682 ejemplares en dicho año, a contar con 654.217 en abril de 2019, según datos del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, con fecha de actualización en mayo de 2019, reflejando la importancia creciente de este sector de producción animal en nuestro país. La reproducción es la base de la producción de nuevos ejemplares, por lo que este área es muy importante dentro de la clínica equina.

Dentro de la reproducción equina, la neonatología es un campo muy relevante, puesto que los potros al nacimiento son animales muy sensibles que requieren un cuidado y seguimiento continuo para garantizar su correcto desarrollo. En las primeras horas de vida deben adaptarse al nuevo medio en el que se encuentran, tanto anatómicamente, como es el inicio de la actividad respiratoria o el incremento de la frecuencia cardíaca, como funcionalmente, produciéndose cambios en los sistemas cardiovascular, pulmonar e inmune, así como en la capacidad de termorregulación (Morel, 2005).

Puesto que el sistema inmune de los neonatos es inmaduro al nacimiento, necesitan recibir inmunidad pasiva de la madre como parte de su adaptación post-natal. Esto no ocurre en otras especies, como es el caso de los lagomorfos, en los que el paso de anticuerpos se realiza a través del saco vitelino mayoritariamente en el último periodo de la gestación. Tampoco ocurre de este modo en los primates, en los que se produce a través de la placenta de tipo corioalantoidea, principalmente durante los últimos 50 días de gestación (Pentšuk & van der Laan, 2009). Sin embargo, en 1924 ya se demostró que en la especie equina no se produce dicho paso de anticuerpos a través de la placenta, ya que éstos no se pudieron encontrar en el suero del potro inmediatamente después de su nacimiento. Por el contrario, se comprobó que el calostro tenía un título de anticuerpos muy elevado, y que éste también se elevaba en el suero del potro al ingerir dicho calostro. Varios estudios posteriores confirmaron que no existía inmunidad prenatal en potros de madres correctamente inmunizadas. De este modo, se comprobó que la mayor fuente de inmunidad pasiva de los potros es el calostro (Jeffcott, 1972).

Por lo tanto, la toma del calostro es indispensable para la correcta adaptación del potro al medio extrauterino. Sin embargo, existen ciertas patologías de base inmune que se desarrollan precisamente por la toma del calostro y que no son consecuencia de un fallo en dicha adaptación. Un ejemplo de estas patologías es la isoeritrolisis neonatal equina (INE), tema a desarrollar en este trabajo.

La INE es una anemia hemolítica inmunomediada adquirida que ocurre cuando el potro hereda del semental un antígenos sanguíneos que la yegua no posee y, además, se produce un contacto entre la sangre del potro y la de la madre (Harold, 2018). Como consecuencia de esa exposición, la madre produce anticuerpos contra los glóbulos rojos del potro y debido a la falta de transferencia de anticuerpos durante la gestación a través de la placenta, esta enfermedad solo se manifiesta una vez el potro ha ingerido el calostro (Felippe, 2017). La destrucción de glóbulos rojos por los anticuerpos maternos provoca una anemia hemolítica y por tanto esta patología cursa con una marcada ictericia y con una serie de síntomas debidos a la hipoxia tisular que provoca dicha anemia, desarrollándose una acidosis metabólica y posible fallo hepático y renal, pudiendo desencadenar una situación muy grave que incluso ponga en riesgo la vida del animal (Harold, 2018).

3. Justificación y objetivos

La INE es una importante enfermedad inmunomediada en potros recién nacidos ya que, como se ha comentado anteriormente, la hipoxia tisular que se genera como consecuencia de la anemia puede dar lugar a un fallo multiorgánico que acabe con la vida del neonato. Sin embargo, es posible prevenir la INE realizando un estudio previo de los reproductores y de sus historiales reproductivos, así como con un correcto manejo del potro neonato.

Para una adecuada prevención es imprescindible conocer los factores implicados y la fisiopatogenia de la INE. Por tanto, el objetivo de este trabajo de fin de grado será realizar una revisión bibliográfica sobre los distintos aspectos de la INE haciendo especial énfasis en la etiopatogenia de la misma y en las medidas para su prevención, por ser los aspectos más relevantes para el manejo de esta patología.

4. Metodología

La metodología empleada para alcanzar el objetivo propuesto consistirá en la revisión de bibliografía sobre la INE consultando libros especializados de editoriales científicas, así como artículos y actas de congresos de sociedades científicas. Para su búsqueda se utilizarán bases de datos y motores de búsqueda tales como Pubmed, Scopus o ScienceDirect, así como repositorios como IVIS. Para esta búsqueda se emplearán palabras clave como “maternal antibodies”, “colostrum”, “isoerythrolysis”, “hemolytic anemia”, “foal” o “equine”. Solo se consultará bibliografía redactada en inglés o en español. La gestión de las referencias bibliográficas se llevará a cabo mediante el programa RefWorks. La búsqueda de bibliografía se centrará en las publicaciones más recientes, pero debido a su interés también se incluirán ciertas publicaciones menos actuales con el fin de reflejar la evolución en el conocimiento de esta enfermedad.

5. Resultados y discusión

1. Consideraciones generales sobre neonatología equina

La neonatología es el área de la medicina humana y veterinaria que se encarga del cuidado de los neonatos. En el caso de la clínica equina tiene especial relevancia por la susceptibilidad de los potros neonatos a desarrollar diversas condiciones, lo que hace que precisen un seguimiento continuado para garantizar su correcto desarrollo.

Por ello, es imprescindible llevar a cabo una exploración completa del animal en sus primeras horas de vida, comprobando el correcto funcionamiento de todos los sistemas. En esta exploración el animal debe presentar una mucosa oral húmeda y de color rosáceo, con un tiempo de rellenado capilar de 1-2 segundos. Tanto la frecuencia cardíaca como la respiratoria deben ser superiores a 60 por minuto respectivamente en el momento del nacimiento, alcanzando posteriormente una frecuencia cardíaca de 80-120 pulsaciones por minuto y una frecuencia respiratoria de 30-40 respiraciones por minuto (Magdesian, 2014). Además, su temperatura corporal debe estar entre 37.5-38.5 °C. El potro tiene que ser capaz de levantarse entre los 35 minutos y la primera hora de vida, momento en el cual empieza a buscar la ubre de la madre. La expulsión del meconio, que consiste en las secreciones glandulares del intestino junto con detritos de células, debe producirse durante las primeras 12 horas de vida (Morel, 2005). Una exploración de este tipo nos permitirá detectar desde el primer momento los posibles problemas que puedan poner en peligro la vida del animal.

2. Adquisición de inmunidad pasiva mediante el calostro

Uno de los factores más importantes e imprescindibles para que el potro neonato se adapte a las condiciones extrauterinas con éxito es la toma del calostro. Esto es así debido a que la placenta de las yeguas es de tipo epiteliocorial difusa por lo que no permite el paso de moléculas de gran tamaño a través de ella, por tanto no se produce una transmisión de proteínas inmunes (anticuerpos) durante la gestación. Esto quiere decir que los potros nacen agammaglobulinémicos y con un sistema inmune inmaduro, puesto que el útero es un ambiente en el que, en condiciones normales, no se produce exposición a patógenos. Por lo tanto, en los primeros días de vida los potros no son capaces de generar una respuesta inmune rápida, lo que los hace muy susceptibles a infecciones ambientales y por ello resulta imprescindible que adquieran inmunidad pasiva (Raidal et al., 2005; Sellon, 2006).

Mediante la toma del calostro la yegua es capaz de aportar al potro inmunidad pasiva temporal frente a microorganismos a los que esta se ha enfrentado con anterioridad. Se trata de la primera leche que producen los mamíferos después del parto y está compuesta por dos grupos de proteínas: unas específicas de la leche como son la caseína, β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina y lactoferrina; y otras proteínas del plasma como son la albúmina sérica, α -antitripsina, glicoproteína ácida α , β_1 A/C-globulina e inmunoglobulinas (Ig) de tipo A, M y G. En la especie equina las IgG son las que se encuentran en mayor concentración en el calostro (Jeffcott, 1972).

Las inmunoglobulinas no son producidas por la glándula mamaria, si no que llegan selectivamente al calostro desde la sangre de la madre, impulsadas por cambios en los niveles de estrógenos y progesterona que tienen lugar en la yegua durante las últimas 4 semanas de gestación. Este paso de anticuerpos a la leche disminuye significativamente a las 24 horas después del parto, alcanzando niveles inferiores al 10% de los niveles preparto (Becht & Semrad, 1985).

Cuando el potro ingiere el calostro, estas moléculas son absorbidas de manera no selectiva a lo largo de todo su intestino delgado mediante células especializadas del epitelio veloso. El pico de mayor absorción de inmunoglobulinas se produce poco después del nacimiento y sufre una disminución progresiva hasta las 24 horas de vida, momento en el que se produce un reemplazo de las células intestinales por otras más maduras, las cuales no pueden realizar esta tarea de absorción (Raidal et al., 2005). Por tanto, coinciden en el tiempo la finalización de la absorción intestinal por parte del potro y la disminución total de la secreción de Igs en el calostro por parte de la madre. Por ello, es imprescindible que el potro ingiera el calostro lo antes posible, tanto para adquirir anticuerpos cuanto antes como por la disminución de estos en el calostro y en la capacidad del potro para absorberlos.

En un plazo de 6 horas desde el nacimiento del potro se puede demostrar la presencia de anticuerpos adquiridos pasivamente en su circulación sanguínea y en torno a las 24- 48 horas su nivel de anticuerpos se acercará al de un adulto (Becht & Semrad, 1985). La concentración de Igs en el suero del potro debe ser $>800\text{mg/dl}$ a las 24 horas del nacimiento para considerar que la transferencia de inmunidad pasiva se ha realizado correctamente. En el caso de que esta concentración se encontrara entre $400\text{-}800\text{mg/dl}$ se consideraría que se ha producido una transferencia parcial de anticuerpos, mientras que si se detectan concentraciones inferiores a 400mg/dl de Ig se considera que ha habido un fallo en la transferencia de inmunidad pasiva (Sellon, 2006).

Para llevar a cabo estas determinaciones existen diversas pruebas entre las que elegir en función de la precisión, simplicidad, tiempo requerido para realizarlo y su coste. Mediante refractometría se puede cuantificar la proteína sérica total, aunque resulta inexacta como indicador para la concentración sérica de IgG (Sellon, 2006). De este modo, las pruebas más usadas son los kits de detección rápida, puesto que se pueden llevar a cabo en el campo sin necesidad de remitir las muestras a un laboratorio, lo que permite ahorrar tiempo y comenzar a tratar al animal lo antes posible si fuera necesario.

Como ejemplo de estos kits encontramos el *Snap Foal test* o el test de coagulación con glutaraldehído. El *Snap Foal Test* es un inmunoensayo enzimático para la detección semicuantitativa de IgG en el suero equino, plasma o sangre entera (Figura 1). Se lleva a cabo añadiendo en un soporte poroso la muestra junto con un diluyente que incluye como reactivo un anticuerpo anti-IgG equina conjugado con peroxidasa para dar una reacción colorimétrica, cuya intensidad será proporcional a la concentración de IgG de la muestra. Se debe entonces comparar la intensidad de color de la muestra con la de los puntos de calibración, los cuales indican la intensidad de color correspondiente a 400mg/dl y a 800mg/dl. De esta manera sabremos el rango en el que nos encontramos (Figura 2) (Pusterla et al., 2002).



Fig. 1. Snap Foal Test (Kummer et al., 2018)

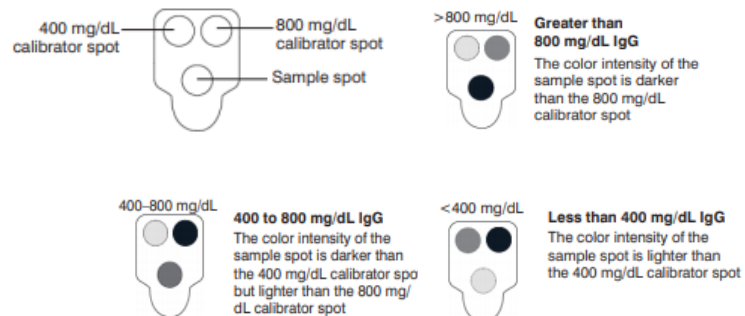


Fig.2. Comparación de diferentes concentraciones de IgG (Laboratorio IDEXX)

Por otra parte, el test de coagulación con glutaraldehído se basa en el tiempo que tarda el suero en coagular al mezclarlo con una solución de glutaraldehído al 10% para determinar el nivel de IgG. De esta manera, si la coagulación se produce dentro de los primeros 10 minutos indica que el nivel de IgG se encuentra por encima de los 800 mg/dl. Por el contrario, si esta coagulación se retrasa hasta 60 minutos indica que se encuentra entre 400 y 800 mg/dl. Coagulaciones más tardías sugieren un nivel muy bajo de IgG y por tanto fallo en la transferencia de inmunidad pasiva (Kummer et al., 2018).

Ambas pruebas son rápidas, fáciles de usar y presentan la misma especificidad y valor predictivo positivo. Sin embargo, el test de coagulación con glutaraldehído cuenta con una mayor sensibilidad y precisión, lo que significa que tiene mayor capacidad para detectar el fallo en la transferencia de IgG, además de suponer un menor coste (Kummer et al., 2018).

La obtención de resultados falsos positivos y falsos negativos es más común al intentar identificar con precisión un potro con fallo parcial en la transferencia. En estos casos se puede llevar a cabo la confirmación de la concentración de IgG mediante pruebas de inmunodifusión radial simple, con el inconveniente de un mayor coste y el requerimiento de más tiempo para la obtención de los resultados, pero con la ventaja de resultar más precisa que las otras pruebas mencionadas (Sellon, 2006).

Por su relevancia en la adaptación y supervivencia del potro, la concentración sérica de IgG es utilizada como un criterio más para determinar el *foal sepsis score*, una escala de puntuación que se desarrolló para facilitar la identificación de potros con sepsis y estimar su pronóstico. Esta escala utiliza diferentes datos sobre la historia clínica, parámetros laboratoriales y de la exploración del animal a los que asigna una puntuación determinada en función de su grado de alteración (Constable et al., 2017 b).

3. Isoeritrolisis neonatal equina

3.1. Etiopatogenia

Aunque la toma del calostro es imprescindible para la supervivencia del potro, existe una patología que se desarrolla a propósito del encalostramiento: se trata de la isoeritrolisis neonatal equina (INE). En esta enfermedad, parte de los anticuerpos que el potro adquiere mediante el calostro van precisamente dirigidos frente antígenos en sus glóbulos rojos, causando una anemia hemolítica inmunomediada adquirida.

3.1.1. Factores que condicionan el desarrollo de la INE

Para que esta enfermedad se desarrolle se deben dar una serie de factores al mismo tiempo. En primer lugar, el semental debe poseer un antígeno de glóbulos rojos en particular del cual la yegua carece, y el potro debe heredarlo de su padre. En segundo lugar, debe producirse un contacto entre la sangre del potro y la de la madre, de forma que el sistema inmune de esta reconozca como extraños los glóbulos rojos del potro y genere anticuerpos frente a ellos. En tercer lugar, dichos anticuerpos deben llegar al calostro y el potro debe

absorberlos (Johnson, 2006). A continuación, se abordará en mayor profundidad cada uno de estos factores.

3.1.1.1. Incompatibilidad entre el grupo sanguíneo de la yegua y del potro

Los grupos sanguíneos de los caballos resultan bastante complejos, puesto que sus glóbulos rojos portan en la superficie una gran variedad de antígenos al existir muchos sistemas y factores sanguíneos diferentes. En concreto existen 8 grupos o sistemas sanguíneos mayores, a los que se nombra mediante una letra mayúscula, encontrando de este modo los grupos A, C, D, K, P, Q, T y U. Además, cada uno de estos grupos puede tener uno o varios factores, por lo que podemos distinguir entre grupos sanguíneos simples y complejos. Dentro de los grupos simples se encuentran los grupos C, K, T y U puesto que solo tienen un factor controlado por un sistema de 2 alelos (presencia/ausencia). Por otra parte, dentro de los grupos más complejos tenemos el A, D, P, y Q, los cuales cuentan con 2 o más factores controlados por múltiples alelos (serie alélica). Estos factores se nombran con una letra minúscula junto a la letra mayúscula que designa el grupo sanguíneo (Sandberg & Cothran, 2000).

Por tanto, los eritrocitos equinos pueden presentar distintos antígenos de un sistema y de varios sistemas a la vez, haciendo que haya múltiples combinaciones posibles y reduciendo mucho la probabilidad de encontrar dos animales con antígenos eritrocitarios totalmente idénticos.

Para comprenderlo mejor se puede hacer una comparación con la especie humana puesto que en esta también existen antígenos en la superficie de los glóbulos rojos que permiten distinguir los diferentes grupos sanguíneos. Aunque existen otros sistemas, en la especie humana se usan principalmente dos: el ABO y el Rhesus (Rh). En el sistema ABO encontramos dos tipos de antígenos de superficie, denominados A y B, que están controlados por 3 alelos dando lugar a los grupos sanguíneos A, B, AB o O, en función de la presencia del antígeno A, el B, ambos o ninguno de ellos (Hosoi, 2008). Además, el sistema ABO se complementa con otra denominación, dependiendo de la presencia o ausencia, controlada por dos alelos, del antígeno Rh (Rh+ o Rh-, respectivamente) (Izetbegovic, 2013). Utilizando ambos sistemas obtenemos la nomenclatura de los grupos sanguíneos que conocemos, como pueden ser A+, AB- o O+, por ejemplo.

De este modo, la presencia de distintos antígenos en los glóbulos rojos humanos provoca, al igual que ocurre en la especie equina, que debido a incompatibilidades sanguíneas

entre la madre y el feto se desarrolle en los recién nacidos una patología muy similar a la INE de los potros. Esta patología también es debida a que el recién nacido porta un antígeno sanguíneo heredado del padre y que la madre no posee, y principalmente tiene lugar cuando la madre es Rh-negativo y el feto es Rh-positivo. Si existe contacto entre la sangre de ambos se puede desarrollar la llamada enfermedad hemolítica del recién nacido, que al igual que ocurre en la INE, provoca una anemia hemolítica en el feto causada por anticuerpos anti-RhD que genera la madre a causa de su inmunización contra los antígenos extraños de los glóbulos rojos fetales (Delaney & Matthews, 2015).

En el caso de la especie equina, la mayoría de antígenos sanguíneos no tienen una fuerte capacidad inmunogénica, puesto que solo el 25% de los factores conocidos se han asociado a la INE, siendo los factores Aa en el sistema A y Qa en el sistema Q, los responsables de la mayoría de casos. Sin embargo, en algunas ocasiones también se han asociado a esta enfermedad los factores Ab, Qrs, Qc, Da, Db, Dc, Ka, Pa y Ua (Johnson, 2006).

En un estudio publicado en The Cornell Veterinarian en 1983 en el que reprodujeron experimentalmente el desarrollo de la INE en diferentes potros, obtuvieron que en uno de ellos el factor antigénico C fue el responsable del desarrollo de la enfermedad. No obstante, este factor tiene una débil antigenicidad y los anticuerpos que se producen contra él no tienen una capacidad hemolítica tan elevada como contra otros factores. Esto puede explicar que dicho potro afectado se convirtiera posteriormente en serológicamente negativo para los anticuerpos contra este factor. Además, el animal recuperó la normalidad clínica ya que, a pesar de que su recuento de eritrocitos disminuyera inicialmente, volvió a niveles normales al mes de edad. Esta recuperación espontánea de animales serológicamente diagnosticados hace pensar que la INE tenga lugar más habitualmente de lo que se piensa, puesto que pueden ser animales levemente afectados en los que no se llega a realizar un diagnóstico serológico (Bech et al., 1983).

3.1.1.2. Contacto entre la sangre de la yegua y del potro y desarrollo de alo-anticuerpos

Además de esta situación de incompatibilidad de grupo sanguíneo entre la madre y el potro, es necesario que los aloantígenos del potro contacten con el sistema inmune de la madre para que esta genere anticuerpos. Esto suele darse cuando se produce un contacto entre las sangres de ambos, que puede darse por distintas situaciones. Dentro de estas circunstancias encontramos algunas que se deben a procesos patológicos y que no tendrían

por qué ocurrir, como es una fuga de eritrocitos fetales al torrente sanguíneo materno debido a una patología placentaria, como puede ser la placentitis (Johnson, 2006).

Sin embargo, existen otras posibilidades de contacto que no incurren en una situación patológica en sí. Dentro de este grupo se haya la posibilidad de que se produzca una pequeña hemorragia debido a la gestación avanzada o que se generen heridas en el momento del parto que expongan las sangres de la yegua y del potro, ambas fortuitas y prácticamente sin posibilidad de prevención (Snook, 2001). Además, existe otra posibilidad en la que la madre puede haber estado previamente expuesta a antígenos eritrocitarios extraños, como en caso de que se le realice una transfusión sanguínea con sangre incompatible a la suya (Snook, 2001).

Por otro lado, es muy común encontrar en las yeguas la presencia de anticuerpos anti-Ca, aun cuando no ha tenido lugar una situación claramente desencadenante para la producción de los mismos, siendo de este modo aloanticuerpos naturales. Sin embargo estos anticuerpos no están generalmente asociados al desarrollo de la INE, sino que al contrario, pueden tener un efecto protector puesto que eliminan de la circulación materna los eritrocitos fetales antes de que su organismo se inmunice frente a sus antígenos extraños (Johnson, 2006; Snook, 2001).

3.1.1.3. Absorción de alo-anticuerpos con el calostro

Al darse alguna de las situaciones comentadas, se produce la exposición de la yegua a antígenos extraños y como tales, son reconocidos por su sistema inmune que reacciona generando anticuerpos contra ellos. Como se ha desarrollado en apartados anteriores, mediante del calostro el potro ingiere dichos anticuerpos y los absorbe, llegando a través del sistema linfático a la sangre y distribuyéndose por todo su organismo (Constable et al., 2017b).

El hecho de que la absorción de anticuerpos solo tenga lugar durante el primer día de vida y principalmente durante las primeras horas, provoca que una parte de los neonatos no se lleguen a encalostrar o se encalostren parcialmente, alcanzando tasas de entre el 10% y el 20% de potros con fallo de transferencia de inmunidad pasiva (McCue, 2007). En principio, el encalostramiento inapropiado es desfavorable para el potro (McCue, 2007). Sin embargo, si la madre estuviera inmunizada contra los glóbulos rojos del potro pero este no se encalostrara correctamente, no llegaría a ingerir los anticuerpos contra sus eritrocitos y no se desarrollaría la INE (Snook, 2001).

Hay que destacar que, una vez se ha producido el contacto con el antígeno extraño, el organismo debe reaccionar y generar anticuerpos en suficiente cantidad. Además, estos anticuerpos deben llegar a la glándula mamaria para formar parte del calostro y que de esta manera el potro llegue a ingerirlos. No obstante, este proceso requiere cierto tiempo, por lo que la enfermedad no suele desarrollarse en el potro que provoca la inmunización de la yegua sino en el siguiente potro, generalmente del mismo semental, que porte los antígenos sanguíneos contra los que la madre está inmunizada (Felippe, 2017). Esto ocurre por mecanismos de memoria inmune humoral que hacen que el sistema inmune de la yegua reaccione con mayor rapidez e intensidad al tener lugar el segundo contacto con el antígeno extraño (re-exposición), de forma que producirá mayor cantidad de anticuerpos de manera más temprana, que alcanzarán el calostro a tiempo para que sean ingeridos por el potro (Constable et al., 2017a).

3.1.2. Desarrollo de la enfermedad

En este punto es preciso destacar que los potros afectados de INE son animales cuya gestación y parto pueden realizarse de manera completamente normal. Así mismo, sus primeras horas de vida o incluso días también pueden transcurrir sin ningún problema (Constable et al., 2017a), siendo la toma del calostro el detonante de esta patología (Richardson, 2012). Puede existir bastante variabilidad en el tiempo que tardan en aparecer los primeros síntomas, pudiendo ir desde las 8 a las 36 horas en casos hiperagudos, de 2 a 4 días después del nacimiento en casos agudos, y de 4 a 5 días en casos subagudos (Constable et al., 2017a). Esta diferencia en el comienzo de aparición de los síntomas depende de la concentración de anticuerpos anti-eritrocitos que contenga el calostro, que producirá más síntomas y de mayor gravedad cuanto mayor sea (Constable et al., 2017a).

Así mismo, la gravedad también dependerá del tipo de factor antigénico contra el que vayan dirigidos los anticuerpos, puesto que los anticuerpos anti-Aa provocan casos hiperagudos y de mayor severidad mientras que, por el contrario, los anticuerpos anti-Qa suelen producir formas más leves de INE (Snook, 2001). Este hecho fue descubierto ya en 1975 por Trommershausen-Smith y colaboradores y fue respaldado más adelante en un estudio realizado por Becht en 1983. En dicho estudio se reprodujo experimentalmente el desarrollo de la INE mediante la inmunización de 11 yeguas con eritrocitos de sementales incompatibles con los suyos. Dos de las yeguas que estaban siendo inmunizadas frente al factor antigénico Aa sufrieron una reacción anafiláctica, lo que corrobora su fuerte antigenicidad (Becht et al., 1983).

Una vez absorbidos los anticuerpos anti-eritrocitos en el intestino delgado, estos llegan a la circulación sistémica del potro donde provocan una crisis hemolítica al unirse al antígeno de la membrana de los glóbulos rojos y provocar la lisis celular o la aglutinación de los mismos (Figura 3) (MacLeay, 2001). En el estudio nombrado anteriormente realizado por Becht en 1983, se analizaron los calostros de las 11 yeguas que habían sido inmunizadas para inducir el desarrollo de INE en sus respectivos potros y hallaron un título de hemolisina calostrual más elevado que el de las aglutininas. Estas sustancias son globulinas que provocan la lisis o la aglutinación de los glóbulos rojos, respectivamente. Este hallazgo revela que los aloanticuerpos equinos en la INE inducen en mayor medida hemólisis y de forma menos marcada aglutinación de eritrocitos (Becht et al., 1983).

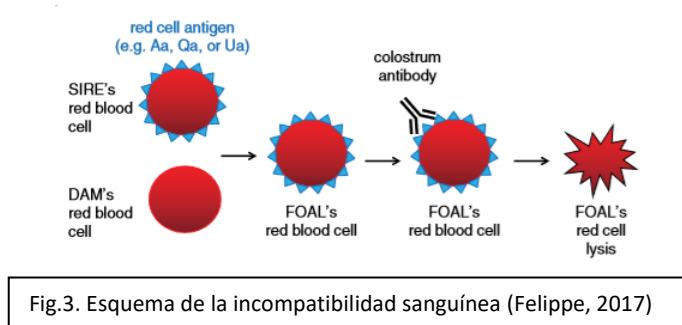


Fig.3. Esquema de la incompatibilidad sanguínea (Felippe, 2017)

La destrucción de los glóbulos rojos se da de manera tan rápida que a la médula ósea no se le da tiempo de compensar las pérdidas ocasionadas, por lo que a causa de esta hemólisis el animal desarrolla una anemia normovolémica (Constable et al., 2017a). La mayoría de potros afectados presentan hematocritos de entre el 10 y el 20%, aunque puede llegar a desarrollarse una anemia muy grave con hematocritos de hasta un 5% (Harold C., 2018). Esto se ve reflejado en un estudio en que se analizaron casos confirmados de INE entre el año 1988 y 2003 y obtuvieron que en la evaluación inicial de 15 de los 18 potros afectados, 6 de ellos tenían hematocritos por debajo del 11% y los 9 restantes tenían un hematocrito por debajo del 15%. De los 3 potros restantes no pudieron tener acceso a estos datos (Boyle et al., 2005).

La disminución del volumen total de glóbulos rojos ocasionada por la lisis de los mismos puede conllevar una marcada disminución de la concentración de oxígeno venoso (Harold C., 2018). En el mismo estudio de Boyle y colaboradores, también están disponibles las mediciones de la presión parcial de oxígeno en sangre venosa para 8 de los 18 potros que se incluyeron. Los autores observaron que esta medición se encontraba muy por debajo de los valores fisiológicos, encontrando valores entre 18.2 y 45.2 mm Hg y siendo el rango de referencia de 39 a 47 mm Hg (Boyle et al., 2005).

Al producirse una bajada de la concentración de oxígeno en sangre ocasionada por la disminución de la capacidad para transportarlo, se producen daños hipóxicos en los tejidos (Corley, 2010). Esta hipoxia tisular desencadena el cambio del metabolismo aeróbico fisiológico al metabolismo anaeróbico, puesto que no hay suficiente oxígeno disponible para llevarlo a cabo el primero. Lo que genera este cambio es una acidosis metabólica, ocasionada por la producción de ácido láctico como producto final del metabolismo anaeróbico (Harold, 2018).

El aumento del nivel de ácido láctico en sangre, llamado hiperlactatemia, tiene un significado clínico muy importante, puesto que tanto su grado de aumento como su duración en el tiempo están relacionados con el posterior desarrollo de fallo multiorgánico (Castagnetti et al., 2010). Esto se debe a que el mantenimiento del metabolismo anaeróbico y la hipoxia tisular no se pueden prolongar mucho en el tiempo sin llegar a provocar la muerte celular, puesto que la energía que se obtiene con el metabolismo anaeróbico es significativamente inferior a la que resulta del metabolismo aeróbico (De Backer, 2003).

Además, a consecuencia de la lisis de los glóbulos rojos se produce un aumento del nivel de hemoglobina libre en sangre que se elimina en parte por la orina, por lo que si llega a alcanzar una alta concentración puede provocar la tinción de la orina hacia una coloración más oscura de lo habitual, lo que se conoce como hemoglobinuria. Asimismo, en animales que se encuentran en estado hipovolémico, este hecho puede desencadenar en una nefropatía derivando en casos graves en una insuficiencia renal (Harold, 2018).

En estados avanzados de la enfermedad el riñón no es el único órgano que se ve afectado, puesto que como producto de la degradación de la hemoglobina liberada, aumentan significativamente los niveles de bilirrubina total y bilirrubina no conjugada en la sangre del potro (Snook, 2001). De esta manera, el efecto tóxico de la hiperbilirrubinemia, unido a las lesiones que se generan en el hígado como consecuencia de la hipoxia tisular, pueden causar una necrosis hepática que dé lugar a una insuficiencia hepática (Tan et al., 2005).

Además de estos factores, el desarrollo de insuficiencia hepática también podría estar relacionado con el tratamiento que recibe el animal, puesto que se ha observado que el riesgo de desarrollar dicha insuficiencia aumenta conforme también se incrementa el volumen de hemoderivados que se administran, como se verá más adelante. (Constable et al., 2017a).

Como consecuencia de la hiperbilirrubinemia puede llegar a desarrollarse, en los casos más graves, una complicación llamada encefalopatía por bilirrubina, puesto que esta es

potencialmente tóxica para el cerebro (Corley, 2010). En condiciones normales, al degradarse la hemoglobina se produce monóxido de carbono y biliverdina, que posteriormente será transformada en bilirrubina no conjugada por los macrófagos y los hepatocitos. A continuación, la bilirrubina no conjugada llega al hígado unida a las proteínas plasmáticas a través de la circulación sanguínea. Una vez se encuentra en el hígado, se conjuga con el ácido glucurónico, con el que forma una molécula no tóxica que es excretada por la bilis (Loynachan et al., 2007).

Sin embargo, cuando tiene lugar una hemólisis severa se genera una gran cantidad de bilirrubina no conjugada que acaba saturando los receptores de las proteínas plasmáticas, por lo que el nivel en sangre de bilirrubina no conjugada libre aumenta. Este tipo de bilirrubina puede introducirse en diferentes tipos de células, produciendo la coloración amarilla del tejido conocida como ictericia. Además, debido a la falta de desarrollo de la barrera hematoencefálica de los neonatos, la bilirrubina no conjugada puede cruzarla e introducirse en las neuronas, en las que provoca degeneración, necrosis y/o apoptosis, dando lugar a la encefalopatía por bilirrubina (Loynachan et al., 2007).

3.2 Sintomatología

La progresión de la enfermedad va ligada a la aparición de una serie de signos clínicos característicos visibles en el animal que ayudan al diagnóstico de la misma. Estos síntomas están originados principalmente por la anemia producida y secundariamente por la hipoxia que se instaura. Dentro de estos signos clínicos encontramos una serie de síntomas inespecíficos como son letargo progresivo, debilidad, taquipnea y taquicardia (Harold, 2018).

Por otro lado, existen una serie de síntomas más específicos y distintivos de INE. Aunque la aparición de ictericia es el signo más característico de este proceso (Figura 4), en algunos casos en cambio puede observarse palidez de las mucosas (Figura 5). La aparición de una u otra depende de la velocidad con la que se desarrolla esta patología. Es más probable que se produzca palidez de mucosas cuando tiene lugar un inicio rápido de la enfermedad, puesto que no da tiempo a que la hemoglobina se degrade en los pigmentos que dan la coloración amarilla a las mucosas y que, por lo tanto, se elimine en mayor cantidad por orina. Por otra parte, se instaura la ictericia en los casos en los que la anemia hemolítica se da de manera más prolongada en el tiempo (Johnson, 2006).



Fig.4.- Esclerótica icterica (Johnson, 2006)



Fig. 5.- Membranas mucosas pálidas (Richardson, 2012)

La aparición de estos síntomas varía por tanto en función de si se trata de un caso hiperagudo, agudo o subagudo. En el primer caso, el potro presentará hemoglobinuria severa y una marcada palidez de las mucosas ocasionada por una anemia muy grave generada en cuestión de horas, pudiendo producirse el colapso del animal. En este tipo de casos la tasa de mortalidad es elevada (Constable et al., 2017a). En los casos agudos ya es notable la ictericia y solo suele presentarse una leve hemoglobinuria. Por último, en los casos subagudos, que pueden tardar varios días en manifestarse, sí que llama la atención una marcada ictericia pero no suele observarse hemoglobinuria (Constable et al., 2017a).

A causa de la debilidad ocasionada es común que el potro se mantenga en decúbito esternal largos períodos de tiempo. A su vez, debido a la hipoxia tisular generada por la anemia y la consiguiente acidosis metabólica, el ritmo respiratorio del animal se va incrementando alcanzando las 120 respiraciones/min y pudiendo llegar a una situación de disnea (Constable et al., 2017a). La hipoxia también es la causante, en fases más avanzadas de la enfermedad, del desarrollo de cólico y melena como resultado de la anoxia del intestino. Asimismo, la baja presión de oxígeno también puede causar síntomas neurológicos como convulsiones, las cuales también pueden aparecer debido a la encefalopatía por bilirrubina, asociada a niveles totales de bilirrubina en sangre superiores a 20mg/dl (Johnson, 2006).

3.3 Diagnóstico

Por los síntomas que presentan los potros afectados de INE, caracterizados principalmente por debilidad y letargo progresivo, se pueden incluir diferentes enfermedades en el diagnóstico diferencial. Algunos de estos procesos o desequilibrios pueden ser septicemia, potros dismaduros, traumatismos en el nacimiento, uroperitoneo o hipoglucemia (Constable et al., 2017a).

En caso de que también esté presente la ictericia, el diagnóstico diferencial debe incluir causas hemolíticas y enfermedad hepatobiliar. En cuanto a las causas hemolíticas, la más común es la INE, pero la hemólisis también puede estar ocasionada por coagulación intravascular diseminada (CID) asociada a septicemia, destrucción bacteriana de los eritrocitos inducida por toxinas o transfusiones de sangre incompatibles. Por otra parte, la enfermedad hepatobiliar puede estar producida por una necrosis hepatocelular asociada a infección por herpesvirus equino tipo 1 (EHV-1), hepatitis bacteriana secundaria a septicemia o disfunción hepática producida por asfixia en el parto (Vaala, 2003).

Además, podrían incluirse en el diferencial causas iatrogénicas de ictericia, como la administración intravenosa de fluidos hipotónicos o la administración rápida de soluciones de dimetil sulfóxido diluidas insuficientemente, puesto que ambas son causa de hemólisis (Polkes et al., 2008).

Mediante la exploración del neonato y la realización de analíticas sanguíneas y pruebas como el *foal sepsis score* se pueden descartar la mayoría de ellas. Por ejemplo, en caso de que la causa de ictericia sea la hemólisis, encontraremos anemia y hemoglobinuria, o por el contrario si existe enfermedad hepatobiliar, observaremos un aumento de las concentraciones séricas de enzimas marcadoras de lesión hepática o colestasis, como son la aspartato aminotransferasa (AST) o la fosfatasa alcalina (FA) respectivamente (Vaala, 2003).

El diagnóstico presuntivo de INE se basa en primer lugar en la sintomatología, derivada de la patogenia, que se ha descrito anteriormente. El signo más revelador es la ictericia pero, como se ha mencionado, dependiendo del curso de la enfermedad esta no siempre aparece. Un hemograma completo permitirá detectar la anemia y establecer que es de tipo hemolítico, así como determinar su gravedad. Dicho hemograma suele ser de gran ayuda en las primeras etapas de la patología, puesto que los signos clínicos pueden no manifestarse hasta pasados varios días si la anemia no es grave. Además, también es importante recopilar el historial reproductivo de la yegua, especialmente en cubriciones con el mismo semental, para comprobar si anteriormente ha estado relacionada con casos similares (Felippe, 2017).

3.3.1. Pruebas laboratoriales

La clínica y la anamnesis permitirán establecer la sospecha, más o menos evidente, de INE, pero además es recomendable realizar una confirmación laboratorial mediante pruebas específicas. Dichas pruebas están orientadas a demostrar la presencia de aloanticuerpos en el

siero o calostro de la yegua contra los antígenos de glóbulos rojos del potro, o bien de aloanticuerpos de la madre unidos a los glóbulos rojos del potro (Harold, 2018).

En cuanto a las pruebas que detectan aloanticuerpos en suero o calostro, pueden dividirse principalmente en dos grupos: pruebas hemolíticas mediadas por complemento y pruebas de aglutinación (Felippe, 2017). El primer tipo de prueba suele ser el análisis de elección y consiste en comprobar la compatibilidad hemolítica del suero de la yegua con glóbulos rojos del potro, añadiendo además un complemento exógeno que desencadena la hemólisis en caso de que haya habido unión antígeno-anticuerpo. Sin este complemento, tendría lugar una reacción de aglutinación pero sin producirse hemólisis. Las pruebas de aglutinación tienen menor sensibilidad que la comparación cruzada hemolítica, pero a pesar de sus limitaciones, se utilizan en la clínica frecuentemente debido a que son más fáciles de llevar a cabo y permiten obtener los resultados de manera más rápida (Harold, 2018).

A pesar de que la prueba de compatibilidad hemolítica cruzada sea la de elección, existen otras pruebas que pueden ayudar al diagnóstico de INE y que se basan en la detección de aloanticuerpos unidos a los glóbulos rojos del potro. Una de estas pruebas es la de la antiglobulina directa, también conocida como test de Coombs. Para demostrar la existencia de la unión IgG – glóbulo rojo utiliza las antiglobulinas, que son un tipo de anticuerpo que tiene como objetivo las IgG unidas a la membrana de los eritrocitos, dando como resultado una reacción visible de aglutinación (Parker & Tormey, 2017). El valor predictivo positivo de esta prueba es bajo, por lo que no es de los análisis más recomendados para realizar el diagnóstico de INE. Sin embargo, su valor predictivo negativo es elevado por lo que la obtención de un resultado negativo debe orientar el diagnóstico hacia causas no inmunes (Parker & Tormey, 2017).

De este modo, existe una tercera prueba, llamada prueba de aglutinación en potros con ictericia, que permite detectar anticuerpos en el calostro de la yegua contra los glóbulos rojos del potro. Dicha prueba consiste en mezclar la sangre entera del potro con diluciones seriadas del calostro de la madre (Figura 6). La aglutinación de los glóbulos rojos en una dilución 1:16 o superior (calostro más diluido) es considerada positiva. Como se verá más adelante, esta prueba es utilizada más como medida de prevención que como diagnóstico, puesto que al utilizar el calostro debe realizarse durante las primeras horas tras el parto, de tal forma que si el resultado es positivo el potro no debería ingerir dicho calostro, evitando así un posible desarrollo de INE (Felippe, 2017).

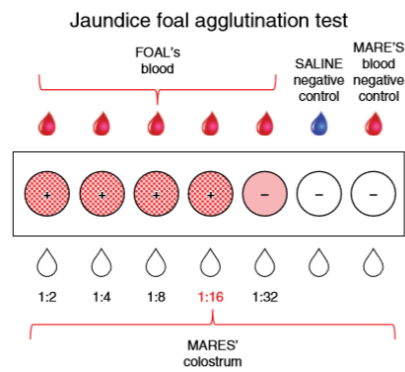


Fig.6. Test de aglutinación en potros con ictericia (Felippe, 2017)

3.4. Tratamiento

El tratamiento de la INE debe estar condicionado principalmente por la gravedad del cuadro, actuando de diferente modo según se trate de casos leves de afectación o por el contrario se presente de forma muy severa. La gravedad se debe valorar tanto por los signos clínicos presentes como por el grado de anemia hemolítica, basada en principalmente en el hematocrito (Constable et al., 2017a).

El tratamiento está orientado principalmente a contrarrestar o disminuir los efectos adversos de la anemia y, en segundo lugar, a prevenir las complicaciones secundarias a la hemólisis como son la insuficiencia renal y hepática y, en los casos más graves, la encefalopatía por bilirrubina. Además, también es muy importante prevenir posibles infecciones secundarias en animales gravemente enfermos, minimizar el estrés del animal y facilitar una nutrición adecuada (Constable et al., 2017a). En los animales gravemente enfermos el cuadro puede complicarse con una septicemia a causa de su débil sistema inmunitario y/o a que no se ha producido correctamente la transferencia de inmunidad pasiva. Es por esto por lo que en casos graves también se recomienda la administración de una terapia antibiótica de amplio espectro (Constable et al., 2017a).

Como medida general, en caso de que la enfermedad se detecte durante las primeras 24 horas de vida del animal, sería necesario evitar que este siguiera lactando de su madre, puesto que solo se conseguiría empeorar la situación al seguir ingiriendo calostro. Del mismo modo, es muy recomendable llevar a cabo una suplementación con IgG, mediante calostro de otra yegua o plasma congelado para garantizar una correcta transferencia de inmunidad pasiva (Harold, 2018).

Los animales afectados de forma leve necesitan principalmente terapia de soporte y una monitorización continuada para poder seguir de cerca el progreso de la enfermedad,

pudiendo actuar de forma rápida si esta empeora. De esta manera, puede ser suficiente con evitar el estrés en el manejo y proporcionarles una nutrición adecuada que facilite su recuperación (Harold, 2018).

Los animales que muestran signos de enfermedad más severos, como son la taquicardia o taquipnea a causa de la hipoxia tisular, necesitan un tratamiento complementario. Este tratamiento va dirigido a restaurar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre, mejorando así la oxigenación de los tejidos y contrarrestando la hipoxia originada (Harold, 2018). La administración intranasal de oxígeno puede ayudar a la saturación completa de la hemoglobina disponible, pero si el déficit de glóbulos rojos es severo se requerirá una trasfusión sanguínea (Vaala, 2003).. Esta está recomendada cuando el hematocrito se aproxima al 12%, aunque hay que basarse en primer lugar en la condición clínica del potro (Johnson, 2006).

El primer paso para poder realizar la transfusión es localizar un donante compatible cuyos glóbulos rojos no reaccionen con los aloanticuerpos desarrollados y transmitidos por la yegua. Para comprobar la compatibilidad sanguínea es preferible utilizar el suero de la yegua en lugar del suero del potro, puesto que aunque este también tenga anticuerpos en su circulación la mayoría ya estarán unidos a sus glóbulos rojos (Johnson, 2006).

Entre los posibles donantes se podría pensar en el padre, pero esto no sería una opción adecuada puesto que el potro heredó de él el antígeno sanguíneo al que ha reaccionado la madre (Constable et al., 2017a). Otra opción por cercanía puede ser la propia madre del potro, ya que sus glóbulos rojos no van a reaccionar contra sus propios anticuerpos. Sin embargo, antes de llevar a cabo la transfusión hay que realizar un lavado de los eritrocitos para eliminar los anticuerpos y de este modo transfundir únicamente los glóbulos rojos, de lo contrario solo conseguiremos agravar la situación (Johnson, 2006).

La técnica más eficaz para realizar el lavado de los eritrocitos y retirar el plasma con los anticuerpos es por centrifugación de los mismos, pero si no es posible llevarla a cabo también se puede hacer mediante sedimentación por gravedad. De este modo, se realizan centrifugaciones o sedimentaciones seriadas de los glóbulos rojos maternos con anticoagulante junto con una solución salina isotónica estéril, extrayendo y descartando el sobrenadante en cada ocasión, de manera que se eliminen los anticuerpos existentes y se pueda llevar a cabo la trasfusión sin complicaciones (Harold, 2018).

Otra opción a contemplar son los llamados “donantes universales”, los cuales son animales reconocidos negativos para Aa y Qa, los antígenos que más frecuentemente se ven involucrados en la INE (Johnson, 2006). Las posibilidades de encontrar un donante universal aumentan al seleccionar animales Pura Sangre Inglés o Pura Raza Árabe puesto que en estas razas existe una mayor prevalencia de animales negativos a estos antígenos (Constable et al., 2017a). La forma de determinar el tipo sanguíneo para encontrar estos donantes universales es la misma que se explicará posteriormente en el apartado de prevención. En la Tabla 1 se resumen las ventajas e inconvenientes a tener en cuenta a la hora de seleccionar al donante.

Tabla 1. Tabla explicativa de las ventajas y desventajas de las diferentes opciones en cuanto a la selección del donante para transfusión sanguínea a un potro con INE.

	VENTAJAS	DESVENTAJAS
SEMENTAL	-	Va a seguir produciéndose hemólisis, puesto que tiene el antígeno sanguíneo objetivo de los anticuerpos maternos
MADRE	Es la fuente más cercana al potro y los anticuerpos no van a reaccionar contra sus glóbulos rojos	Es necesario realizar un lavado de los eritrocitos para transfundir únicamente los glóbulos rojos y no los anticuerpos que contiene el plasma
DONANTE UNIVERSAL	Se asegura que no se van a producir reacciones de incompatibilidad	Debe organizarse pronto puesto que se puede tardar un tiempo en localizar un donante y transportar su sangre
HEMOGLOBINA BOVINA POLIMERIZADA	Resulta fácil de encontrar y no necesita condiciones especiales de conservación	Tiene una vida media muy corta y probablemente seguirá necesitando una transfusión posterior

A no ser que se pueda recurrir a un banco sanguíneo con hemoproductos ya tipificados, es complicado localizar donantes que sean universales con seguridad y de forma rápida. En caso de que no se pudiera disponer de un donante universal y que los eritrocitos de la yegua no pudieran ser lavados a tiempo, puesto que es un proceso demasiado largo si se

requiere la transfusión con inmediatez, cabe la posibilidad de realizar una prueba de comparación cruzada con los posibles donantes disponibles. Esta prueba consiste en hacer coincidir el suero de la madre con los glóbulos rojos del donante, así como el suero del donante con los glóbulos rojos del potro. De esta forma, podría excluirse tanto que los aloanticuerpos de la madre reaccionaran con los eritrocitos del donante, como que el propio donante tuviera anticuerpos frente a los glóbulos rojos del potro (Constable et al., 2017a).

En función de la severidad de la anemia puede llegar a ser necesaria la transfusión de hasta 4 litros de sangre para que se produzca mejoría en el estado del potro (Snook, 2001). Para ello se calculan de 20 a 100ml de sangre entera por kilo de peso en función de la condición clínica del potro y de la progresión de la anemia, que deben ser administrados de forma lenta, a ritmo de 1L/hora, para evitar la sobrecarga del sistema circulatorio. A partir de los 4 litros de sangre aumenta considerablemente el riesgo de insuficiencia hepática, ocasionada por la sobrecarga de hierro que se genera al añadirse la de la transfusión a la de la hemólisis (Constable et al., 2017a).

El volumen de sangre a trasfudir también se puede calcular mediante la siguiente fórmula, teniendo en cuenta que el volumen sanguíneo de un potro de dos días se puede estimar en 150 ml/Kg (Snook, 2001):

$$\frac{\text{Peso Corporal (Kg)} \times \text{Volumen sanguíneo (ml / Kg)} \times (\text{Htc deseado} - \text{Htc observado})}{\text{Hematocrito del donador}}$$

La vida media de los glóbulos rojos transfundidos es de aproximadamente 5 días, tiempo que debería ser suficiente para mantener al potro hasta que se dé una respuesta hematopoyética suficiente de la médula ósea (Snook, 2001).

Por otra parte, hay estudios que tratan la posibilidad de utilizar hemoglobina bovina polimerizada como alternativa para incrementar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (Harold, 2018). Se trata de una solución de hemoglobina de origen bovino ultra pura que contiene aproximadamente 13g/dl de hemoglobina en una solución modificada de ringer lactado. Existen distintas presentaciones comerciales que resultan fáciles de encontrar y no necesitan condiciones especiales de conservación. Sin embargo, no puede ser utilizada como alternativa a la trasfusión sanguínea puesto que su vida media es muy corta, alcanzando únicamente las 30 – 40 horas. Es por esto por lo que se puede utilizar en primer lugar como tratamiento de soporte hasta que se encuentre un donante adecuado, pero sigue siendo necesario llevar a cabo la transfusión (Snook, 2001).

Además de llevar a cabo el tratamiento mencionado anteriormente, es muy importante la administración de fluidos intravenosos para apoyar la función cardiovascular y, del mismo modo, mejorar la perfusión de los tejidos (Harold, 2018). Para ello se pueden utilizar fluidos isotónicos poliiónicos, como es el Ringer Lactato, suplementados con bicarbonato de sodio si existe acidosis metabólica y/o con glucosa para favorecer el aporte nutricional (Constable et al., 2017a). Esta terapia a base de fluidos estimula la diuresis, la cual es un factor muy importante en la prevención de los posibles efectos nefrotóxicos de la hemoglobina, reduciendo por tanto las posibilidades de desarrollo de una insuficiencia renal. En contraposición, la fluidoterapia debe ser administrada de manera conservadora para evitar la hemodilución, con especial atención en los animales gravemente afectados que tienen ya un hematocrito muy bajo (Harold, 2018).

Otro aspecto que hay que tener en cuenta es el soporte nutricional que debemos proporcionar al potro, tanto para facilitar su recuperación como porque no puede mamar de su madre. Un potro necesita aproximadamente 100 Kcal/Kg al día que se pueden administrar en forma de leche de yegua o de sustitutos de leche de yegua comerciales (Constable et al., 2017a).

Por último, es muy importante tomar medidas en cuanto al manejo de los animales para evitar agravar la situación, siendo la principal el no permitir que el potro se amamante de la yegua. Para ello, se recomienda utilizar bozales o elementos que cubran la ubre de la yegua, puesto que es aconsejable no separar al potro de su madre para minimizar así el estrés de ambos, otro aspecto muy importante en cuanto al manejo de un animal con una oxigenación deficiente. En caso de que no sea posible utilizar estos elementos, se puede recurrir a cercados dentro de la cuadra en los que mantengan el contacto visual pero no el físico (Richardson, 2012). En cualquier caso, esta situación requiere una vigilancia casi continuada, puesto que es de vital importancia que el potro no ingiera el calostro.

3.5. Pronóstico

La INE es una enfermedad potencialmente mortal para los potros afectados pero no siempre se llegará a esta situación. El pronóstico de la INE dependerá de la gravedad con que se desarrolle la patología, teniendo en cuenta el inicio y la progresión de la enfermedad, ya que se puede dar de manera hiperaguda, aguda o subaguda. El curso de la enfermedad, así como el manejo, determinarán el reconocimiento rápido de la misma y la intervención temprana, factores también de mucho peso en el pronóstico (Richardson, 2012).

En casos que comienzan de manera hiperaguda la mortalidad es muy elevada y los animales pueden llegar a morir antes incluso de que se conozca el origen de la enfermedad. Por otra parte, los casos agudos en los que la anemia va en aumento durante dos o tres días se pueden resolver con éxito si se realiza un rápido diagnóstico de la enfermedad y por tanto una rápida intervención, en la que a menudo se requieren transfusiones. Por último, en los casos subagudos los potros no desarrollan una anemia severa y, a pesar de que presenten una marcada y llamativa ictericia, el pronóstico es favorable en la mayoría de las ocasiones (Johnson, 2006).

La medición del nivel de lactato en cuidados intensivos de equinos neonatos es clínicamente relevante y debe llevarse a cabo de manera continuada para monitorizar su evolución. De esta manera se ha comprobado que la persistencia de la hiperlactatemia durante la hospitalización está relacionada con la no supervivencia, mientras que si este nivel disminuye a rangos normales dentro de las primeras 24 horas de hospitalización, aumenta significativamente la probabilidad de supervivencia (Castagnetti et al., 2010).

El pronóstico de los animales afectados depende también de las complicaciones secundarias que se originen de las que se ha hablado anteriormente. En un estudio retrospectivo realizado por Polkes y colaboradores en 2008 se analizaron un total de 72 historiales hospitalarios correspondientes a potros diagnosticados de INE en dos hospitales veterinarios situados en Estados Unidos. De los 72 animales incluidos sobrevivieron 54, es decir, el 75% de los afectados. En este estudio demostraron que la insuficiencia hepática y la encefalopatía por bilirrubina son las causas más comunes de muerte en potros con INE, seguidas de las complicaciones asociadas con la septicemia (Polkes et al., 2008). De hecho, de los 18 animales que no sobrevivieron, 7 potros tuvieron un diagnóstico de insuficiencia hepática, 6 lo tuvieron de encefalopatía por bilirrubina, 3 murieron por complicaciones relacionadas con la septicemia y, en los 2 casos restantes, no se pudo determinar la causa de la muerte (Polkes et al., 2008).

De todas las variables analizadas en dicho estudio, como pueden ser la edad al ingreso, el hematocrito, el volumen total de productos sanguíneos administrados o la bilirrubina máxima registrada, únicamente se encontró correlación significativa con el pronóstico para la variable de volumen total de productos sanguíneos administrados. De este modo, se observó que la probabilidad de desarrollar insuficiencia hepática se duplicaba (2.11 veces) con cada litro de producto sanguíneo que se administraba, independientemente de que fuera sangre entera o eritrocitos lavados (Polkes et al., 2008).

Este estudio respalda otro análisis de menor tamaño realizado tres años antes por Boyle y colaboradores en el que analizaron 18 casos de potros diagnosticados de INE. De los 18 animales, 15 sobrevivieron y 3 fueron sacrificados debido al desarrollo de enfermedad hepática, neurológica o septicemia durante el periodo de hospitalización (Boyle et al., 2005).

Por tanto, según los estudios analizados, la INE resulta letal entre el 15 y el 25% de los casos, aunque es una cifra variable, puesto que depende mucho del curso de la enfermedad. De este modo, el porcentaje aumenta en los casos hiperagudos puesto que conllevan una hemólisis más severa y en consecuencia una mayor probabilidad de desarrollar daño hepático y neurológico. Además, estos casos requieren llevar a cabo transfusiones, a veces en repetidas ocasiones, lo que conlleva un aumento de las probabilidades de desarrollar daño hepático, una de las principales causas de muerte. Por el contrario, los casos agudos y subagudos, en los que el curso de la enfermedad no es tan rápido, permiten analizarlos mejor pudiendo llegar al diagnóstico y de este modo ser tratados con las terapias más adecuadas, contando con un pronóstico más favorable.

3.6. Prevención

A pesar de que la INE no tiene un tratamiento complejo y la mayoría de casos tienen un pronóstico favorable, existe un porcentaje significativo de mortalidad, por ello el tratamiento más efectivo es la prevención de la misma (Harold, 2018).

La INE es una enfermedad que se puede evitar por completo siempre que se tomen las precauciones adecuadas. Esto se debe en buena medida a que su patogenia está bien caracterizada, ya que es imprescindible conocer los factores implicados para poder manejarlos. Las estrategias de prevención pueden dividirse en dos grupos, según se lleven a cabo antes de que la yegua se quede preñada, o por el contrario tengan lugar una vez esté gestante (Blackmer, 2010).

Las estrategias que se llevan a cabo antes de la gestación están basadas en la identificación de las yeguas en riesgo de tener descendencia susceptible a desarrollar INE. Esta identificación se puede realizar mediante la tipificación sanguínea de las mismas, o bien mediante la recopilación del historial reproductivo, pudiendo comprobar de esta manera si la yegua ha tenido potros afectados por INE en preñeces anteriores (Blackmer, 2010).

A través de la tipificación sanguínea se puede identificar a las yeguas Aa o Qa negativas (al igual que los donantes universales), las cuales serán consideradas de riesgo, puesto que estos son los factores sanguíneos más comúnmente implicados en el desarrollo de INE (Snook,

2001). Sin embargo, la falta de uno o ambos factores sanguíneos no predice con absoluta certeza el desarrollo de INE, puesto que como se ha visto en apartados anteriores se deben dar otra serie de situaciones para que esta tenga lugar (Blackmer, 2010).

El porcentaje de yeguas con mayor predisposición por ser Aa o Qa negativas varía en función de la raza, puesto que las frecuencias alélicas de los genes que controlan la expresión de estos factores son variables entre poblaciones. Mediante estudios de tipificación genética se han podido determinar estas frecuencias para varias razas, encontrando un porcentaje estimado de yeguas con riesgo a causa de ser Aa negativas del 2% en los Pura Sangre Inglés, 3% en los Pura Raza Árabe y 25% en el Cuarto de Milla. Por otra parte, en estas mismas razas se observan porcentajes notablemente altos de yeguas con riesgo por ser Qa negativas, estimándose frecuencias del 16% en el Pura Sangre Inglés, 72% en el Pura Raza Árabe y 68% para el Cuarto de Milla (Bowling & Clark, 2009).

Para realizar este estudio y estimar las frecuencias nombradas analizaron durante el periodo de 1973 a 1983 un total de 78.105 caballos Pura Sangre Inglés, 25.196 Pura Raza Árabe y 2.336 Cuarto de Milla (Bowling & Clark, 2009).

Sin embargo, se ha observado que el porcentaje de sementales compatibles es semejante al porcentaje de yeguas con riesgo en cada raza. Esto quiere decir que, aunque el porcentaje de yeguas Qa negativas sea elevado y pueda parecer que hay un alto riesgo de provocar INE, existe un porcentaje similar de sementales también Qa negativos que por tanto son compatibles y su cruce no produciría el desarrollo de aloanticuerpos y la consiguiente INE del potro (Blackmer, 2010).

Además de comprobar la presencia o no de los factores Aa y Qa también se debería evaluar el factor Ca, puesto que muchas yeguas que no poseen dicho factor con frecuencia producen anticuerpos frente a él de manera natural, es decir sin que se haya dado una exposición previa. Por el momento no se ha relacionado el desarrollo de INE con anticuerpos contra el factor Ca, sin embargo pueden interferir en las pruebas diagnósticas de compatibilidad cruzada produciendo falsos positivos, puesto que se detectan IgG anti-eritrocito pero no se puede distinguir entre factores causantes (Snook, 2001).

Una vez identificadas las yeguas en riesgo, y dentro de las estrategias de prevención anteriores a la reproducción, existe la posibilidad de seleccionar un semental compatible con ella. Por la enorme variabilidad de antígenos sanguíneos que existe en la especie equina, una compatibilidad absoluta es extremadamente difícil de encontrar, por lo que en este contexto,

que el semental sea compatible con la yegua significa que carezca de los mismos factores antigénicos que ella, prestando especial atención a los anteriormente citados por su mayor asociación con el desarrollo de INE. De modo, el potro no podrá heredar del padre factores que la yegua no posea (Blackmer, 2010). Sin embargo, desde un punto de vista práctico, es bastante difícil decidir un apareamiento basándose únicamente en los grupos sanguíneos, ya que en la mayoría de los casos el semental es elegido en base a características como su conformación, habilidades deportivas, etc. (Snook, 2001).

Es por esto por lo que existe un segundo grupo de estrategias preventivas a adoptar una vez la yegua ya está preñada. Estas estrategias se basan en el análisis del suero de la yegua en busca de anticuerpos contra antígenos eritrocitarios equinos. Se recomienda llevar a cabo estos análisis dentro de las últimas 2 a 4 semanas anteriores al parto, puesto que es el momento en el que más aumenta el título de anticuerpos en el suero de la yegua (McCue, 2014). Este análisis se puede realizar de forma seriada en este periodo de tiempo para detectar un título creciente de anticuerpos que revele un aumento en el riesgo de INE (Felippe, 2017).

Estas pruebas de detección de alo-anticuerpo serían las mismas de compatibilidad hemolítica ya explicadas en el apartado 3.3 *Diagnóstico*, pero en este caso, en lugar de utilizar sangre del potro, se puede utilizar la sangre del semental por ser la fuente más fiable de cualquier antígeno que haya podido heredar el potro. Sin embargo, en ocasiones no es posible disponer de dicha sangre, por lo que en estos casos se puede utilizar la sangre de un grupo de caballos que representen una serie de factores conocidos (Blackmer, 2010).

El hecho de hallar anticuerpos antieritrocitos en el suero de la yegua quiere decir que el potro tiene riesgo significativo de desarrollar INE si ingiere su calostro. En esta situación y una vez se ha producido el parto, se puede comprobar la incompatibilidad sanguínea entre el potro y su madre realizando la prueba de aglutinación del potro con ictericia. Esta prueba determinará si se produce aglutinación entre el calostro y los glóbulos rojos del potro, indicando por tanto que se debe impedir la ingestión del mismo. Por el contrario, aunque se hayan detectado anticuerpos en suero de la yegua, puede que estos no hayan llegado al calostro y por tanto no se dé tal reacción, no existiendo de esta forma riesgo para el potro (McCue, 2014).

En caso de que se hayan detectado anticuerpos antieritrocitos en el suero de la yegua y no se pueda llevar a cabo esta prueba para confirmar o excluir el riesgo, no se debe permitir que el potro se alimente de su madre, siendo necesaria por tanto la administración de una

fuentes seguras de inmunidad pasiva. Del mismo modo, se debe ordeñar a la yegua cada pocas horas y desechar el calostro. Este procedimiento se debe repetir hasta pasadas entre 24 y 36 horas, momento en el cual la glándula mamaria ya no producirá calostro y el intestino del potro ya no podrá absorber anticuerpos, por lo que será seguro que se alimente de su madre (McCue, 2014).

La prueba de aglutinación del potro con ictericia también se puede utilizar para monitorizar la disminución del título de anticuerpos en el calostro y de esta manera determinar el momento en el que es seguro que el potro se amamante de su madre. De esta forma, se puede acortar el tiempo que tienen que estar separados o utilizando elementos que impidan el amamantamiento, pudiendo volver a una situación normal cuanto antes y causando el menor estrés posible (Blackmer, 2010).

6. Conclusiones

Una vez realizada la presente revisión bibliográfica sobre la isoeritrolisis neonatal equina, se han podido obtener las siguientes conclusiones:

- Debido a la diversidad de factores implicados en el desarrollo de la INE, esta no siempre seguirá el mismo curso ni se presentará con la misma gravedad. Por lo tanto, su detección, las actuaciones necesarias para solventarla y su pronóstico también cambiarán en función del caso.
- Dentro de la sintomatología de la INE el signo clínico más llamativo, fácil de reconocer y que más se asocia con esta enfermedad, es la ictericia. Sin embargo, en los casos de INE de curso muy rápido no llega a desarrollarse esta pigmentación amarilla de las mucosas. De este modo, se puede estar infradiagnosticando esta enfermedad en casos hiperagudos en los que el animal muere sin desarrollar ictericia si no se llevan a cabo *post mortem* las pruebas necesarias.
- La prueba de compatibilidad hemolítica cruzada es la principal prueba de elección para el diagnóstico de la INE, siendo la que se lleva a cabo con mayor frecuencia por su sensibilidad, sencillez para realizarla y fácil interpretación.
- El tratamiento de los casos graves de INE que presentan marcada anemia hemolítica requiere transfusión sanguínea, pero administrar más de 4 litros de productos sanguíneos aumenta notablemente el riesgo de provocar una insuficiencia hepática, estando este factor más significativamente correlacionado con dicho riesgo que otros aspectos intrínsecos del proceso.

- La prevención es un factor esencial en la INE puesto que entre un 15 y un 25% de los casos pueden ser mortales y la buena caracterización de su etiopatogenia permite tomar medidas de prevención poco complejas y muy eficaces. Sin embargo, en la práctica no es muy común comprobar la compatibilidad de los progenitores y, generalmente, hasta que no aparece un potro afectado por INE no se suele llevar a cabo su prevención en los siguientes cruces y partos.

Conclusions

The following conclusions have been obtained from this bibliographic review addressing the equine neonatal isoerythrolysis (ENI):

- Due to the variety of factors involved in the development of ENI, the process will not always follow the same path nor will it be presented with the same severity. Therefore, its detection, the necessary therapeutic actions and its prognosis will vary depending on the case.
- Within the symptomatology of the ENI, the sign most remarkable, easy to recognize, and associated with this disease is jaundice. However, in those cases in which ENI rapidly progresses, this yellow pigmentation of the mucous membranes may not be developed. Thus, this disease may be underdiagnosed in hyperacute cases in which the animal dies without showing jaundice unless the necessary post-mortem tests are carried out.
- The cross hemolytic compatibility test is the usual test of choice for ENI diagnosis, provided its sensitivity, simplicity to perform, and easy interpretation.
- Treatment for ENI severe cases with a marked hemolytic anemia requires blood transfusion. However, the administration of more than 4 liters of blood products increases significantly the risk of provoking hepatic failure, being this factor more significantly correlated with such risk than other factors intrinsic to the ENI
- Prevention is a crucial factor for ENI management since between 15 and 25% of cases can be fatal and the proper characterization of its pathogenesis allows taking non-complex and very effective prevention measures. However, in practice the compatibility of the progenitors is not commonly checked to check, prevention is not usually carried out until an ENI affected foal is found.

7. Valoración personal

La realización de este trabajo ha permitido ampliar mis conocimientos sobre la neonatología equina, una de las áreas que más me interesan dentro de la clínica equina. Desgraciadamente, durante el año de estancia como alumna interna en el Servicio de Medicina y Cirugía Equina en el Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza (HVUZ) no tuve la oportunidad de ver ningún caso de Isoeritrolisis Neonatal.

Llevar a cabo una revisión bibliográfica me ha ayudado a aprender a manejar herramientas, como son gestores de referencias o buscadores académicos, que hasta ahora no había tenido la oportunidad de utilizar a este nivel. Además, también me ha servido para mejorar y aumentar mi vocabulario y capacidad de comprensión en inglés científico, aspecto que considero muy importante y necesario desarrollar.

Por último, dar las gracias a mis tutoras, Laura Barrachina y Arantza Vitoria, por su trabajo y esfuerzo continuo, proporcionándome un apoyo imprescindible en la realización de esta memoria.

8. Bibliografía

Becht, J. L., Page, E. H., Morter, R. L., Boon, G. D., & Thacker, H. L. (1983). Experimental production of neonatal isoerythrolysis in the foal. *The Cornell Veterinarian*, 73(4), 380-389.

Becht, J. L., & Semrad, S. D. (1985). Hematology, blood typing, and immunology of the neonatal foal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 1(1), 91-116. doi:10.1016/s0749-0739(17)30771-x

Blackmer, J. M. (2010). *Strategies for prevention of neonatal isoerythrolysis in horses and mules*. *Equine Veterinary Education*, 15(S6), 6-10. doi:10.1111/j.2042-3292.2003.tb01806.x

Bowling, A. T., & Clark, R. S. (2009). *Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the united states*. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 16(2), 93-108. doi:10.1111/j.1365-2052.1985.tb01458.x

Boyle, A. G., Magdesian, K. G., & Ruby, R. E. (2005). Neonatal isoerythrolysis in horse foals and a mule foal: 18 cases (1988-2003). *Journal of The American Veterinary Medical Association*, 227(8), 1276-1283. doi:10.2460/javma.2005.227.1276

Castagnetti, C., Pirrone, A., Mariella, J., & Mari, G. (2010). *Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. Theriogenology*, 73(3), 343-357. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.09.018

Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2017a). Chapter 11: Diseases of the hemolymphatic and immune systems. In P. D. Constable, K. W. Hinchcliff, S. H. Done & W. Grünberg (Eds.), *Veterinary medicine* (Eleventh Edition ed., pp. 716-844) doi:10.1016/b978-0-7020-5246-0.00011-5

Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2017b). Chapter 19: Perinatal diseases. In P. D. Constable, K. W. Hinchcliff, S. H. Done & W. Grünberg (Eds.), *Veterinary medicine* (Eleven edition ed., pp. 1830-1903)

Corley, K. (2010). Interactive foal cases: Neonatal isoerythrolysis and kernicterus . Paper presented at the *Proceedings of the 16th Italian Association of Equine Veterinarians Congress*, Carrara, Italy.

De Backer, D. (2003). *Lactic acidosis* , 29(5), 699–702. *Intensive Care Medicine*, 29(5), 699-702. doi:10.1007/s00134-003-1746-7

Delaney, M., & Matthews, D. C. (2015). *Hemolytic disease of the fetus and newborn: Managing the mother, fetus, and newborn. 2015(1)*, 146–151. *Hematology American Society Hematology*, 2015(1), 146-151. doi:10.1182/asheducation-2015.1.146

Felippe, J. B. (2017). Equine neonatal isoerythrolysis. *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics* , 251-255. doi:10.1002/9781118922798.ch42

Harold, C. M. (2018). In Reed S. M., Bayly W. M. and Sellon D. C.(Eds.), *Chapter 20 - disorders of foals* W.B. Saunders. doi: 10.1016/B978-0-323-44329-6.00020-6

Hosoi, E. (2008). *Biological and clinical aspects of ABO blood group system. The Journal of Medical Investigation*, 55(3,4), 174-182. doi:10.2152/jmi.55.174

Izetbegovic, S. (2013). *Occurrence of ABO and RhD incompatibility with rh negative mothers. Materia Socio Medica*, 25(5), 255-258. doi:10.5455/msm.2013.25.255-258

Jeffcott, L. B. (1972). Passive immunity and its transfer with special reference to the horse.47(4), 439-464. doi:10.1111/j.1469-185X.1972.tb01078.x

Johnson, J. (2006). Neonatal immunology. Case 3-2 foal with isoerythrolysis. In M. R. Paradis (Ed.), *Equine neonatal medicine A case-based approach* (pp. 40-50) doi:doi:10.1016/b978-1-4160-2353-1.50008-9

Kummer, L. L., Govaere, J., & Egri, B. (2018). *Comparison of the reliability of snap foal ig test, gamma-check E test, refractometry and electrophoresis for determining the immune status of newborn foals in the first hours of life.* *Acta Veterinaria Hungarica*, 66(4), 573-586. doi:10.1556/004.2018.051

Loynachan, A. T., Williams, N. M., & Freestone, J. F. (2007). *Kernicterus in a neonatal foal.* *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(2), 209-212. doi:10.1177/104063870701900215

Magdesian, K. (2014). Capítulo 31: neonatología. In James A. Orsini y Thomas J. Divers (Ed.), *Equine emergencies (fourth edition) treatment and procedures* (pp. 528-564)

McCue, P. M. (2007). *Evaluation of a turbidimetric immunoassay for measurement of plasma IgG concentration in foals.* *American Journal of Veterinary Research*, 68(9), 1005-1009. doi:10.2460/ajvr.68.9.1005

McCue, P. M. (2014). *Screening the pregnant mare to prevent neonatal isoerythrolysis.* *Equine Reproductive Procedures*, 289-290. doi:10.1002/9781118904398.ch87

Morel, D. (2005). Capítulo 16: Manejo de la yegua lactante y el potro joven. *Fisiología de la reproducción de los équidos, cría y manejo de la yeguada* (pp. 233-266)

Parker, V., & Tormey, C. A. (2017). The direct antiglobulin test: Indications, interpretation and pitfalls. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 141(2), 305-310. doi:10.5858/arpa.2015-0444-rs

Pentšuk, N., & van der Laan, J. W. (2009). *An interspecies comparison of placental antibody transfer: New insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies.* *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 86(4), 328-344. doi:doi:10.1002/bdrb.20201

Polkes, A. C., Giguère, S., Lester, G. D., & Bain, F. T. (2008). *Factors associated with outcome in foals with neonatal isoerythrolysis (72 cases, 1988-2003)*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(5), 1216-1222. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0171.x

Pusterla, N., Pusterla, J. B., Spier, S. J., Puget, B. and Watson, J. L. (2002): Evaluation of the SNAP foal IgG test for the semiquantitative measurement of immunoglobulin G in foals. *Vet. Rec.* 151, 258–260

Raidal, S. L., McTaggart, C., & Penhale, J. (2005). Effect of withholding macromolecules on the duration of intestinal permeability to colostral IgG in foals. *Australian Veterinary Journal*, 83, 78-81. doi:10.1111/j.1751-0813.2005.tb12202.x

Richardson, A. (2012). *Understanding neonatal isoerythrolysis*. *Equine Health*, 2012(7), 56-59. doi:10.12968/eqhe.2012.1.7.56

Sandberg, K., & Cothran, E. G. (2000). Blood groups and biochemical polymorphisms. In A. T. Bowling, & A. Ruvinsky (Eds.), *The genetics of the horse* (pp. 85-89)

Sellon, D. C. (2006). Neonatal immunology; case 3-1 foal with failure of passive transfer. In M. R. Paradis (Ed.), *Equine neonatal medicine A case-based approach* (pp. 30-39)

Snook, C. Update on Neonatal Isoerythrolysis in Recent Advances in Equine Neonatal Care. Wilkins, P.A. and Palmer, J.E. (Eds.) International Veterinary Information Service, Ithaca, EE. UU. (Documento No. A0416.1201)

Tan, R. H. H., Hughes, K. J., & Hodgson, D. R. (2005). Hyperlipaemia, neonatal isoerythrolysis and hepatocellular necrosis in a 3-day-old thoroughbred foal. *Australian Veterinary Journal*, 83(12), 740-741. doi:10.1111/j.1751-0813.2005.tb11581.x

Vaala, W. How to Evaluate the Icteric Foal: Differential Diagnosis and Management Strategies in 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, International Veterinary Information Service, Ithaca, EE.UU. (Documento No. P0623.1103)

2019. El sector equino en cifras: Principales Indicadores Económicos. https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/indicadoreseconomicossectorequino2018comentarios_tcm30-420793.pdf

Fecha de consulta: 04/09/2019 Zaragoza, España.